

**T.C.**  
**EGE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE OSTEOPONTİN GEN  
POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

Periodontoloji (Dişhekimliği) Programı

**Doktora Tezi**

**Diş Hekimi**

**Burç TAYLAN**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Tunç İLGENLİ**

**İZMİR**

**2007**



**DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ**

**(Adı Soyadı)**

**(İmza)**

**Başkan** : Prof.Dr. TUNÇ İLGENLİ .....

**(Danışman)**

**Üye** : Prof.Dr. Nurgün BIÇAKÇI .....

**Üye** : Prof.Dr. Afig BERDELİ .....

**Üye** : Prof.Dr. Meral SAKIZLI .....

**Üye** : Doç.Dr. Nurcan BUDUNELİ .....

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: .....

## ÖNSÖZ

Son yıllarda dünya literatüründe artan genetik çalışmalar çeşitli hastalıklarda moleküler biyoloji bilimdeki gelişmelerden faydalanarak hastalıkların genetik temelini belirlemeye çalışmaktadır. Bu şekilde risk altındaki bireyler saptanarak erken teşhis ve tedavi imkanı doğacaktır. Benzer amaç ile hazırlanan bu çalışmada yoğun ve titiz katkılarını esirgemeyen başta danışmanım Prof. Dr. Sayın Tunç İLGENLİ olmak üzere; Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Araştırma Laboratuvarı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sayın Afig BERDELİ'ye, laboratuvar çalışanları Biyolog Sayın Kadriye GÜLER'e, Biyolog Sayın Nurcan ÖZDEMİR'e, Biyolog Sayın Aykut TİRELİ'ye; Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Sayın Timur KÖSE'ye; Dekanımız ve Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Serhat ÇINARÇIK'a; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sayın Nurgün BIÇAKÇI'ya; Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Nurcan BUDUNELİ'ye; Anabilim Dalımızda görevli değerli hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma ve çalışmanın yürütülmesinde maddi ve manevi desteğini esirgemeyerek en kritik noktada çalışmanın devamlılığını sağlayan ebeveynlerim Sayın Ecz. Mualla TAYLAN ve Sayın Arkg. Nejat TAYLAN'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İZMİR / 04.12.2006

Burç TAYLAN



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No.</b>
TABLO ve ŞEKİL DİZİNİ	vii
BÖLÜM I	1
1.1.GİRİŞ	1
1.2.GENEL BİLGİLER	4
1.2.1.Periodontal Hastalığın Tarihsel Geçmişi	4
1.2.2.Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	6
1.2.3.Periodontal Hastalık Patogenezi	6
1.2.4.Genetik Kavramlar	8
1.2.5.Mendel Yasaları	8
1.2.6.İnsan Genomu Hakkında Genel Bilgiler	9
1.2.7.DNA ve mutasyon	11
1.2.8.Genetik polimorfizm	12
1.2.8.1.Tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) / Single nucleotide polymorphisms (SNP)	13
1.2.8.2.Değişik sayıda ardaşık tekrarlar (DSAT) / Variable number of tandem repeats (VNTR)	13
1.2.9.Polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan yöntemler	14
1.2.10.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	15
1.2.11.Agaroz jel elektroforezi	19
1.2.12.Periodontal hastalıklarda genetik faktörlerin rolü	20
1.2.13.Dental patogenezi ve genetik	22
1.2.14.Kemik matriksi	22

1.2.15.Kemik hücreleri	24
1.2.15.1.Osteoblastlar	24
1.2.15.2.Osteositler	25
1.2.15.3.Osteoklastlar	25
1.2.16.Osteopontin (OPN)	26
1.2.16.1.Osteopontin yapısı	28
1.2.16.2. Osteopontin ekspresyonunun düzenlenmesi	29
1.2.16.3. Osteopontinin işlevleri	29
<b>BÖLÜM II</b>	<b>35</b>
<b>2.1.GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>35</b>
2.1.1.Hasta ve kontrol gruplarının belirlenmesi	35
2.1.2.Klinik parametreler	36
2.1.3.Hasta tedavi protokolü	38
2.1.4.Analizlerde kullanılan gereçler	39
2.1.4.1.Laboratuvar cihazları	39
2.1.4.2.Kimyasal madde ve çözeltiler	44
2.1.4.3.Kitler	46
2.1.4.4.Sarf malzemeleri	47
2.1.4.5.Diğer maddeler	49
2.1.5.Periferik kan örneklerinin toplanması	52
2.1.6.DNA ekstraksiyonu	52
2.1.7.Jelin hazırlanışı ve kantitasyon işlemi	54
2.1.8.Polimeraz zincir reaksiyonu	55
2.1.9.PCR Ürünlerinin Alu I restriksiyon endonükleazı ile kesimi	56
2.1.10. Veri analiz yöntemleri	59

BÖLÜM III	61
3.1.BULGULAR	61
BÖLÜM IV	74
4.1.TARTIŞMA	74
BÖLÜM V	106
5.1. SONUÇ ve ÖNERİLER	106
BÖLÜM VI	108
6.1.ÖZET	108
6.2.ABSTRACT	110
BÖLÜM VII	112
7.1.YARARLANILAN KAYNAKLAR	112
EKLER	149
ÖZGEÇMİŞ	154

**1. TABLO ve ŞEKİL DİZİNİ**

**Tablo 1.** OPN (+8090) C/T polimorfizminde PCR işlemi için gerekli ana karışım

**Tablo 2.** OPN (+8090) C/T polimorfizminde restriksiyon endonükleaz enzim kesim işlemi için gerekli karışım

**Tablo 3.** Kronik periodontitis grubu ile sağlıklı kontrol grubunun demografik özellikleri

**Tablo 4.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının klinik periodontal parametreleri (Ortalama  $\pm$  Standart sapma)

**Tablo 5.** OPN genotip ve allel dağılımı

**Tablo 6.** (+8090) CC genotip dağılımına göre (+8090) CT dağılımı ve (+8090) TT dağılımı karşılaştırılması

**Tablo 7.** OPN (+8090) TT dağılımının yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş p ve odds ratio değerleri

**Tablo 8.** Osteopontin (+8090) C/T genotip-cinsiyet dağılımı

**Tablo 9.** Hardy-Weinberg değerlendirmesi

**Tablo 10.** Kronik periodontitisli grupta başlangıç periodontal tedaviyi takiben (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının yaş ve cinsiyet değerlendirmeleri

**Tablo 11.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının periodontal klinik parametrelerinin değerlendirilmesi

**Tablo 12.** OPN (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının periodontal klinik parametrelerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerinin değerlendirilmesi

**Tablo 13.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımı ile (+8090) CC dağılımını taşıyan bireylerde sondalanan cep derinliği (SCD) gruplarının (Sığ, orta, derin) değerlendirilmesi

**Tablo 14.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımı ile (+8090) CC dağılımını taşıyan bireylerde klinik ataşman seviyesi (KAS) gruplarının (Sığ, orta, derin) değerlendirilmesi

**Tablo 15.** Sondalanan cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) grup (Sığ, orta, derin) değerlerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerinin değerlendirilmesi

**Tablo 16.** Periodontal hastalıklarda genotip-fenotip ilişkisini inceleyen çalışmalar

**Şekil 1.** Termal karıştırıcı (Thermomixer Comfort)

**Şekil 2.** Elektroforez güç kaynağı (EC 105)

**Şekil 3.** Elektroforez tankı (B2)

**Şekil 4.** PCR aleti (Perken Elmer GeneAmp PCR System 9700)

**Şekil 5.** UV görüntüleme cihazı (In-Genius)

**Şekil 6.** Santrifüj cihazı (Mikro 22 R)

**Şekil 7.** Mikropipet

**Şekil 8.** Vorteks cihazı (Reax Top)

**Şekil 9.** DNA ekstraksiyon solusyonları

**Şekil 10.** Vacuette vakumlu tüp

**Şekil 11.** Mikro amp PCR tüpleri

**Şekil 12.** Vacuette 21G iğneler

**Şekil 13.** UV görünüm

## BÖLÜM I

### 1.1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar doku yıkımıyla karakterize lokal yangılı ağız hastalıklarıdır. Periodontal hastalıklarda birincil derecede önemli ana etiyolojik etkenin mikrobiyal dental plak olduğu yapılan çalışmalarda büyük ölçüde ortaya konmuştur (39, 183). Buna karşın periodontal hastalıklar toplumda farklı oranlarda gözlenmekte ve farklı yıkım şiddetleri göstermektedir. Bunun en önemli sebebi periodontal hastalıklarda rol oynayan risk faktörleridir (144). Bu risk faktörleri arasında yer alan çevresel ve genetik risk faktörlerinin rolünün önemi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (138). Genetik risk faktörleri hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan çeşitli moleküllere etkiyerek, hastalığın toplumda görülme sıklığında ve yıkım şiddetinde rol oynar (192). Bu durum periodontal hastalık patogenezinde, çevresel ve genetik risk faktörlerini daha da ön plana çıkartmaktadır (75, 132).

Son yıllarda genetik risk faktörlerini araştıran çalışmalar soy ağacı çalışmaları, ikizlerde yapılan çalışmalar (41, 45, 80), lokosit antijeni (HLA) polimorfizmleri (193), defektli genleri saptamaya yönelik çalışmalar, polimorfizmler olarak 5 ana grupta toplanabilir. Periodontitis hastaları genetik olarak incelendiğinde, riskli ve sağlıklı bireyler arasındaki farkların bağışıklık sistem elemanlarını kodlayan

genlerdeki polimorfizmler olduğu ortaya konulmuştur (195). Periodontal hastalıkların genetiği ile ilgili polimorfizm çalışmaları ise enzim polimorfizmleri, sitokin polimorfizmleri ve diğer moleküllerdeki polimorfizmlerdir (121).

Kemik hücreleri, hücresel yapışmayı sağlayan 4 önemli glikoprotein salgılar. Bunlar fibronektin, trombospondin, kemik sialoprotein ve osteopontindir (122). Osteopontin (OPN)'nin yapılan dişeti oluğu sıvısı çalışmalarıyla kronik periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayabilecek öncül yangı (pro-enflamatuvar) sitokini olabileceği belirtilmiştir (97, 178). Böylelikle OPN polimorfizmi toplumda kronik periodontitise yatkınlık yaratabilecek risk faktörlerinden biri olabilir. OPN ncl yangı görevinin yanı sıra kemik ve dişin ekstraselüler matriksinin önemli yapı taşlarından biri olup, pre-osteoblastların olgunlaşmasında, osteoblastların farklılaşmasında ve osteoklastların kemik matriksine tutunarak rezorpsiyon oluşturmasından sorumludur (163). OPN'nin kronik yangılı hastalıklardaki rolünü ortaya koyan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (32, 161, 173, 227, 232). Eksikliğinde savunma hücrelerinin kemotaksi ve yapışma bozukluklarına, bazı sitokin ve büyüme faktörlerinin bağışıklık sistemindeki rollerinde farklılaşmalara, nitrik-oksit inhibisyonunda eksikliklere rastlanır (153). Ayrıca osteopontin hücre canlılığını koruma amaçlı anti-apoptik faaliyette, yara iyileşmesinde ve granülomatöz oluşumlarda da rol alır (184).

Periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayan çeşitli sitokinlerin polimorfizmleri saptanmaya çalışılarak hastalığa yatkınlık gösterebilecek risk grupları birçok çalışmayla belirlenmeye çalışılmıştır (192). Bu moleküllerden biri olabileceği saptanan OPN (97, 178) polimorfizminin kronik periodontitiste



etkinliğini inceleyen sadece tek bir yayına rastlanılmaktadır. Benzer şekilde kronik yangılı yıkım gösteren multiple skleroz (27, 81, 145) ve sistemik eritematosus (SLE) (50, 63) gibi hastalıklarda da OPN polimorfizminin etkisi incelenmiştir. Bu çalışma osteopontin gen polimorfizmlerini inceleyerek Türk toplumundaki kronik periodontitisli hastalarda osteopontin genotip dağılımını belirleyecek ve genotip-fenotip ilişkisini saptamaya yönelik ilk çalışma olacaktır.

## 1.2. GENEL BİLGİLER

### 1.2.1. Periodontal Hastalığın Tarihsel Geçmişi

Periodontal hastalıklar çeşitli formlarıyla insanları tarihin ilk çağlarından beri etkilemişlerdir. Paleontologlar, ilk insan kalıntılarında rastladıkları çene kemiğindeki kayıplarla o dönemlerde oluşmuş olan yıkıcı periodontal hastalığa dikkati çekmektedirler. Yedinci yüzyılın başlarına dayanan Asur'lara ait tabletler, dental ve ağız yangılarından kaynaklanan sistemik hastalıklardan söz eder (144).

On dokuzuncu yüzyılın başlarında çeşitli araştırmacılar tarafından, periodontal hastalık için hayvan modelleri geliştirilmiş ve hastalık üzerinde etkisi olabilecek lokal ve sistemik faktörlerin rollerini ortaya çıkarmak amaçlı çalışmalar yapılmıştır. Periodontal hastalık etiolojisinde primer rolün bakteriyel plağa ait olduğu gerçeği aynı dönemde kabul görmüştür (215). Ağızda rastlanan hastalıkların etiyolojisi ve patogenezi ile ilgili bilgilerimiz, bilimsel verilerin artışıyla çoğalan ve değişen bir karakter sergilemektedir. Günümüzde mikroorganizmaların ve bağışıklık sisteminin rolü, pek çok araştırmanın odak noktasını oluşturmaktadır.

Periodontal hastalıkların etiolojisini anlamamıza yönelik ileri gelişmeler son on beş seneye dayanır (138). 1900'lerin ortalarında plakta bulunan bütün bakteri türlerinin periodontal hastalık oluşturmada eşit etkiye sahip olduklarına ve periodontitisin sadece dental plağın birikmesi sonucunda ortaya çıktığına inanılıyordu (144). Fakat bazı hastalarda plak ve diş taşına karşın var olan gingivitis tablosunun yıkıcı periodontal hastalığa dönüşmemesi ve periodontitisli ağızlarda,

bazı bölgelerde yıkımların daha şiddetli oluşu, bu yöndeki araştırmaların seyrini değiştirmiştir (144).

1960'larda periodontal olarak hastalıklı bireyler ile sağlıklı bireylerin plak örneklerinin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda, farklı bakteriyel morfolojilerin gözlenmesi ile özel bakteri türlerinin hastalıkla olan ilişkileri ortaya çıkarılmıştır. Bunun sonucunda iki tür plak hipotezi ortaya atılmıştır. Non-spesifik plak hipotezinde temel görüş, "Periodontal hastalığın kontrolünün plak kontrolüne dayandığı" şeklindedir (203). Spesifik plak hipotezi ise, "Plağın patojenitesi plağın barındırdığı spesifik mikroorganizmaların varlığına bağlıdır" görüşünü destekler (120). Loesche'nin spesifik plak hipotezini ortaya atmasıyla aynı dönemde, periodontal mikroorganizmaların belirlenmesi ve izolasyonu ile ilgili tekniklerde önemli gelişmeler kaydedilmiştir (143, 181). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* patojeninin lokalize agresif periodontitiste etkinliğinin bulunması da spesifik plak hipotezini destekleyerek, bu görüşü daha hakim kılmıştır (182).

Periodontal hastalığın klinik bulguları, dental plakta bulunan spesifik bakteriler ile konak dokuları arasındaki karmaşık etkileşim sonucunda ortaya çıkar. Periodontal hastalıkta rol alan etiyolojik ajanlar bakteri ile konak arasındaki ilişkiyi modifiye eden lokal ve sistemik pek çok faktörden oluşmaktadır (144). 1970'lerde periodontal hastalığın etiyolojisinde genetik faktörlerden de bahsedilmeye başlanmıştır. Günümüzde bu konu üzerinde geniş araştırmalar yapılmış ve yapılmaktadır (77, 147).

### **1.2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması**

Önemli oranlarda destek doku kaybı ve buna bağlı diş kaybı oluşturabilen periodontal hastalığın tedavisinde en önemli faktör, doğru tanı koymak ve bu tanıya uygun tedavi planını seçebilmektir. Bu amaçla çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. 1993, 1996 yılındaki sınıflamaların ardından 1999 yılında yapılan düzenleme, günümüzde geçerliliğini sürdüren ve en yaygın olarak kullanılan son sınıflamadır (4).

Çalışmamızda kullandığımız grup olan kronik periodontitis doku yıkımıyla karakterize, yavaş ilerleyen, lokal yangılı ağız hastalığıdır. Ağızda yaygın olarak gözleendiği formuna “Generalize Kronik Periodontitis”, lokal olarak gözlenen formuna ise “Lokalize Kronik Periodontitis” adı verilir. Genellikle erişkin bireylerde rastlanan bu hastalığın görülme sıklığı %35’dir (2).

### **1.2.3. Periodontal Hastalık Patogenezi**

Fakültatif anaerob ve gram (-) bakteri türlerinin subgingival gelişimi yangılı karakter sergileyen periodontal hastalıkları oluşturur (7). Hasara yol açan bu iritanlara karşı doku yangı ile yanıt verir. İltihabi yanıtın amacı; incinmeye neden olan ajanlara karşı savunma mekanizması oluşturmaktır (117). Bu amaçla nötrofil ve makrofajlar dişeti oluğu sıvısına ve komşu dokulara geçerek bakterileri yok etmeye çalışırlar (42). Mikrobiyal dental plak iritasyonu karşısında yetersiz kalabilen bu doğal ve adaptif savunma mekanizması zamanla dengesizleşir ve hastalık kronik bir hal alır. Sonuçta, dokuyu savunan yangı yanıtı zamanla komşu dokulara zarar verebilir (123). Uzun süren kronik yangı sonucunda tamir ve çeşitli derecelerde doku

hasarı kaçınılmazdır. Bu doku hasarı kronik yangı yanıtında önemli rol üstlenen nötrofil ve makrofajların ürettiği moleküllerin, tüm biyolojik yapıları yok edebilme özellikleriyle açıklanabilir (204).

Enfeksiyon ve doku yanıtı arasındaki bu denge, çeşitli faktörlerden etkilenecek periodontal hastalıklara multifaktöryel nitelik kazandırır ve toplumda rastlanma sıklığını artırır (109). Bu tür hastalıklarda, hastalığın ilerleyişi ve şiddetini konak faktörlerini etkileyen çevresel faktörler ve genetik faktörler belirler (170). Periodontal hastalıklarda rol oynayan konak faktörleri; doku yıkımında aracılık eden kininler, kompleman aktivasyon ürünleri, matriks metalloproteinazlar (MMP) ve sitokinler ile diğer yangı mediyatörleri olarak özetlenebilir (77, 83, 203). Bu faktörlerin salım dereceleri ise yangı ve doku yıkımının derecesini belirleyecektir (151). Farklı salım dereceleri lokal (İyatrojenik ve dişe bağlı faktörler), sistemik, sosyal durum ve alışkanlıklara bağlı çevresel faktörler ile genetik faktörler tarafından kontrol edilir (83, 147, 191). Bu etkileşimler kişiye özgü bağışıklık yanıtını oluşturacaktır.

Bağışıklık yanıtı, uyarana özgü olarak ortaya çıkar. Zaman içinde patojendeki değişikliklere adapte olabilir ve hafızası vardır. Dolayısıyla hızlı bir bağışıklık sistemi yanıtının oluşabilmesi için, konağın daha önceden karşılaştığı bir ajan olması gereklidir (204). Bağışıklık sistemi; mast hücreleri, histiyositler, periferik dentritik hücreler, nötrofiller, monosit/makrofajlar, T-hücreleri ve B-hücreleri gibi yangı ve konak savunmasında öneme sahip hücrelerden oluşur (17). Konak bağışıklık sistemi, hücreler ve düzenleyici moleküller arasındaki karmaşık iletişim ağına dayanır ve bakteriyel endotoksine karşı, polimorfonükleer lökositler (PMNs), makrofajlar ve

monositlerden salınan sitokinleri kapsar (177). Bu konak kaynaklı mediyatörler kemik rezorbsiyonunu uyarmada etkilidirler ve periodontal hastalıktaki kemik kaybının büyük kısmı bu düzenleyici moleküller tarafından oluşturulmaktadır (7).

Genetik faktörler bireye özgü bağışıklık yanıtının şekillenmesini sağlar ve hastalık prognozunun bireyler arasında çeşitlilik göstermesine neden olur. Kişilerin ailelerinden edindikleri genetik yapı ve özellikleri hastalığa yatkınlık veya dayanıklılık derecesini belirleyecektir (7, 195).

#### **1.2.4. Genetik Kavramlar**

Yirminci yüzyılın başlarında doğmuş bir bilim dalı olan genetik; bireyin iç ve dış karakterlerini nasıl kazandığını, anne-babasına veya akrabalarına neden benzediğini, tabiatta bitki ve hayvanların gösterdiği sonsuz çeşitlilik nedenlerini incelemeyi amaç edinmiştir. 1900 yılında Correns, Tschermak ve De Vries kendi çalışmalarının Mendel'in buluşlarını doğruladığını belirterek, elde ettikleri sonuçları "Mendel Yasaları" adı altında toplamışlardır (189).

#### **1.2.5. Mendel Yasaları**

##### *1- Ayrışım İlkesi (Segregasyon)*

Ebeveyn allel çiftinin cinsiyet hücrelerine girmek için birbirinden ayrılmasıdır (9).

## 2- Bağımsız Düzenlenme

Gamet oluşumu sırasında, birim faktörlerin birbirinden bağımsız olarak dağılmasıdır (9, 100).

## 3- Çiftler halindeki birim faktörler

Genetik karakterlerin her bir organizmada çiftler halinde bulunan birim faktörler tarafından kontrol edilmesidir (100).

## 4- Baskınlık/Çekiniklik

Tek bir bireydeki tek bir karakterden, birbirinden farklı iki faktör sorumlu olduğunda, birim faktörlerden biri diğerine baskındır, diğeri ise çekiniktir (100).

Mendel'in ilkeleri genetik biliminin temelini oluşturarak, genetik mutasyonlarda da geçerliliğini sürdürür ve mutasyon analizlerinde kullanılır (9).

## 1.2.6. İnsan Genomu Hakkında Genel Bilgiler

Bir bireyin veya tek hücreli bir canlının tüm genetik materyaline genom denir. İnsan genomu, 22 çift kromozomda bulunan 3 milyon bazdan (Nükleotid) ve 2 seks kromozomundan olmak üzere 23 çift (Toplam 46) kromozomdan oluşur. İnsan genomundaki DNA'nın %10'dan az bir parçası genleri kodlar. Nükleik asitler, genetik bilginin saklanması, çoğaltılması, genetik çeşitlilik ve aktarımı sağlarlar.

İnsan genetik kodunu oluşturan DNA ikili sarmal yapıda uzun bir polimerdir (161). Nükleotid bazlarının (Adenin, Guanin, Timin, Sitozin) sıralaması ile oluşur. DNA'nın Watson ve Crick modeli 1953 yılında benimsenmiştir. Bu modele göre DNA zincirleri iki uzun zincirden oluşmakta, bu iki zincir uzun eksenleri etrafında birbirine sarılarak çifte sarmalı oluşturmaktadır (214). İki zincir birbirine antiparaleldir. Yani bir zincirin nükleotid bağları 3'→ 5' iken diğesinde 5'→ 3' doğrultusundadır (51). DNA barındırdığı genetik bilgiyi özel bir RNA molekülü olan mRNA (Haberci ribonükleik asit) vasıtasıyla ribozom denilen protein yapım merkezine iletir. Hücre sitoplazmasında bulunan ribozomlar, mRNA ile gelen emre göre protein sentezini gerçekleştirirler. Böylece kişiye özgü yapısal proteinler üretilmiş olur. Bu işlemler organizmanın görünüş ve durumu olan fenotipi belirleyecektir (92).

Fenotipi belirleyen işlemler esnasında çoğalan DNA, eski orijinal DNA modeline göre replikasyonunu tamamlar. Böylece kromozom duplikasyonu ve hücre çoğalması sağlanır (131). Gerek bu sırada gerekse daha önceden mutajenik ajanların etkisiyle normal baz sırası bozulup, genetik maddede sapmalar olabilir. DNA'nın bir diğere temel özelliği olan varyasyonlar bu şekilde gerçekleşmiş olur (137).

### **1.2.7. DNA ve Mutasyon**

Mutasyon; DNA'da kalıcı değişiklik olarak tanımlanmaktadır. Mutasyonlar hem somatik hem de üreme hücrelerinde ortaya çıkar. Üreme hücrelerindeki mutasyonlar bir kuşaktan diğesine devam ederek geçer ve bunlar kalıtsal hastalıklardan sorumludur (101). Gen mutasyonları, baz çifti yer değiştirmesi, kaybı,



eklenmesi gibi durumlar içerir ve iki tip mekanizma ile oluşur (196).

DNA replikasyonu normal koşullarda kesin bir işlemdir. Mutasyonlar her milyon baz çiftinde oluşsa bile; DNA polimeraz aracılığıyla bu değişimler tamir edilirler (186). Bu değişimler, DNA tamir enzimleriyle gerçekleşir. İnsan genomunda her hücre bölünmesinde birden daha az yeni bir mutasyon oluşur (179). DNA hasarı kimyasal işlemlerle de oluşabilir. Çevresel kimyasallarla, ultraviyole ışığı, iyonizan radyasyon bunlara örnektir. Bunların sonucu ortaya çıkan mutasyon kalıcıdır (16).

İnsan kalıtsal hastalıklarında mutasyon tipleri şunlardır (1):

- *Nükleotid yer değişimleri (Nokta Mutasyonları)*

Kodlayan DNA dizisindeki tek nükleotid değişimi üçlü bazlardaki kodları değiştirerek gen ürünündeki amino asidi değiştirebilir (171). Nükleotid yapısında meydana gelen bu değişiklikler değerlendirildiğinde, yer değiştirme 2 şekilli olabilir. Purin grubu yerine purin grubundan veya pirimidin grubu yerine pirimidin grubundan meydana gelen değişiklik (transition), veya purin grubu yerine pirimidin yada pirimidin grubu yerine purin grubu görülen geçiş (transversion) mutasyonları olarak bilinir (164). Nükleotid değişimi her zaman amino asit farklılığı yaratmayabilir. Amino asit anlamı değişmeyen kodon mutasyonları anlamlı (Sense) mutasyon olarak adlandırılır. Amino asit anlamı değişen mutasyonlarda farklı bir amino asit tanımlanıyorsa yanlış anlamlı (Misesense), amino asit yerine dur kodonu tanımlanıyorsa anlamsız (Non-sense) mutasyon denir (218).

- *Delesyon ve insersiyonlar*

Gen dizilimine eklenen veya çıkartılan bazlar ile, bir veya birden fazla nükleotid sayısı için katları şeklinde değilse; amino asit dizisinde okumada kayma olur ki ortaya çıkan protein farklı yapıda gelişir . Bu mutasyonlara çerçeve kayması (Dizi değişikliği, Frameshift) mutasyonları denir (44).

### **1.2.8. Genetik Polimorfizm**

Genetik polimorfizm, aynı lokustaki herhangi iki genin toplumda birbirinden kesinlikle ayrılabilen ve bir arada bulunan birden çok fenotip oluşturması durumudur. Yani bir toplumda var olan genetik çeşitliliğe polimorfizm denir (62). Polimorfizm, DNA üzerinde hastalığa neden olmayan suskun nükleotid değişimleri olarak da tanımlanabilir. Bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa Mendel yasalarına göre aktarılırlar (100).

Genom, haploid (Normal bir gamet tarafından taşınan kromozom sayısı) gamet tarafından taşınan genlerin tümüne verilen isimdir (1). İnsan genomunda tek nükleotid değişiklikleri (Single nucleotide polymorphism) genlerin içinde yada VNTR (Variable number of tandem repeat) gibi çeşitli tekrar dizilerinde bulunabilir (118).

#### **1.2.8.1. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) / Single nucleotide polymorphisms (SNP)**

İnsan genomunda yaklaşık her 1000 nükleotitten birisinde yanlış yerleşim görülür (107). DNA dizimizin %3 veya %5'i proteinlerin yapımından sorumlu

olduğu için SNP'lerin çoğu kodlanmayan bölgede (intronlarda) yer alır. Bu yüzden SNP'lerin çoğunun zararsız olduğu düşünülmektedir. Yine de bazı SNP'lerin bir gen ürününün fonksiyonunu değiştirerek ilgili yanıtın farklılaşmasına sebep olabileceği gösterilmiştir (108).

#### **1.2.8.2. Değişik sayıda ardışık tekrarlar (VNTR) / Variable number of tandem repeats (VNTR)**

Gen dizisi içerisinde yer alan iki nükleotidin mitoz bölünme sonrasında homolog kromozomlar arasında yer değiştirmesi (Crossing over) sonucunda ayrı kromozomlarda yer alma ihtimali, ikisi arasındaki mesafe yakınlaştıkça azalırken, aradaki mesafe arttıkça bunun tam tersi gerçekleşir. Bu prensipten hareket ederek, VNTR polimorfizmlerinin varlığının ve yerlerinin bulunmasında kullanılmaktadır (209). VNTR'a bağlı olarak ortaya çıkan allel dağılımı, aynı zamanda o bölge içerisinde ve yakınında yer alan diğer allellerin de dağılımı hakkında bilgi verir. Kontrol ve deney grupları arasında görülen farklılığa neden olan allel, genin önemli bir bölgesinde veya bir ekzonunda yer alan polimorfizmin varlığını gösterebilir (208). Bazı araştırmacılar bu tür polimorfizmin sıklık oranını 100 baz çiftinde 1 olarak belirtmiştir. Bu nükleotid değişikliklerinin çoğunluğu ise zararsızdır (212).

Kromozom, üzerinde çoklu genlerin sıralandığı, DNA protein kompleksidir. Kromozom üzerindeki bir bölgede haritalanabilen herhangi bir nükleotid sıralaması "genetik marker" olarak adlandırılır. Toplumda polimorfik olan bir marker hastalık allelini saptamada kullanılır (1).

### 1.2.9. Polimorfizmlerin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

#### *1- Kesim Parçası Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) / Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*

DNA üzerinde yer alan mutasyonun uygun enzimler ile kesilip, mutasyon bulunan ve bulunmayan kişiler arasındaki farklılığın kesim ürün uzunluklarının karşılaştırılması yöntemidir (188). DNA'nın kesimi, PCR yöntemi ile kesim enzimleri kullanılarak gerçekleştirilir. Restriksiyon endonükleazlar (RE) değişik mikroorganizmalardan elde edilen, çok uzun çift sarmal DNA moleküllerini spesifik parçalara kesen ve bu şekilde DNA'yı manüple etmeyi mümkün kılan çok önemli enzimlerdir (188). Bu amaçla kesim haritalarından yararlanılır. Kesim haritası, kesim enzimlerinin genetik harita üzerinde sırasıyla uygun olan her nükleotide yerleştirildiği bir veri tabınıdır. SNP'de ilgili polimorfizmi kapsayan uygun büyüklükte bir gen parçası PCR yöntemiyle çoğaltıldıktan sonra, elde edilen ürünün enzim ile kesimi yapılarak gerçekleştirilir (20).

#### *2- Genotipleme/Genotyping*

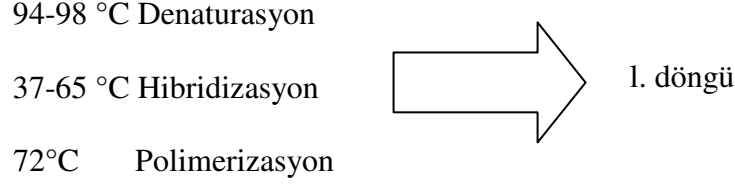
Bir genin ilgili bölümünün RFLP'dan yararlanılarak, gruplar arasındaki allel dağılımını belirlemek amacıyla yapılır. Bu amaçla incelenecek gen parçası PCR yöntemi ile çoğaltılıp elde edilen ürünler elektroforeze tabi tutularak büyüklüklerine göre allellerin dağılımı belirlenir (118).

### 1.2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İlk kez 1985'de bilim dünyasına sunulduğundan itibaren polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); hem araştırmada hem de klinik laboratuarlarda tanıda yeni bir çığır açmıştır. ABD'de Cetus Corporation'da çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiştir. Yöntem basitçe tüpte nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılmasıdır (172). Bu bulusundan dolayı K.Mullis, 1993 yılı Nobel Kimya Ödülü'ne hak kazanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in-vitro bir yöntemdir (60). Polimeraz zincir reaksiyonu çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanmasını ve uzaması esasına dayanır. Amplimer olarak da adlandırılan oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerini tamamlayıcı olan bölgelerle hibridize olurlar (197).

PCR, reaksiyonu DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyonu); sonra zincirin uzamasını (polimerizasyonu) (çift iplikçikli DNA'ların sentezi) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. Bu üç adım (Denatürasyon / primer bağlanması / DNA sentezi) bir PCR siklusunu oluşturur. Her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir. (Sırasıyla 94°C–98°C; 37°C-65°C; 72°C ). PCR tekniği tek veya çift iplikçili DNA'yı; RNA'ya hedef olarak kullanabilir.



*Denaturasyon (Ayrılma):* Çoğaltma karışımı 94-98°C'a kadar ısıtılarak, kalıp DNA'nın iki zincirini birbirinden ayırır.

*Hibridizasyon (Bağlanma):* Sıcaklığın düşürülmesi ile primerler kendilerine özgü dizileri tanıyıp bağlanırlar. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık genellikle 55°C ile 65°C arasında değişmektedir. Ortamın ısısı düşürüldüğünde birbirine komplementer iki DNA zincirinin birbiriyle bağlanması, primerlerin kalıp DNA zincirine bağlanması ihtimalinden daha düşüktür. Bunun nedeni, daha küçük olan primerler kalıp DNA'ya oranla daha hızlı hareket ederler ve ortamda kalıp DNA'ya oranla milyonlarca kez daha fazladırlar.

*Polimerizasyon (Uzama):* Ortamın ısısı DNA polimerazın çalıştığı optimum sıcaklık olan 72°C'ye getirildiğinde, enzim molekülleri primerlerin 3' ucuna bağlanarak, kalıp DNA'ya uygun nükleotidleri eklemek yoluyla DNA sentezi yaparlar. Uzama aşaması için çoğu zaman 2 dakika yeterli olmakla birlikte, eğer uzun amplikonlar ( PCR ile çoğaltılan DNA parçası) çoğaltılıyorsa süre arttırılır. PCR ürünü olan tüm moleküllerde reaksiyonun tamamlanmasını garanti altına almak için son döngünün uzama süresi çoğunlukla uzun (10-15 dakika) tutulur.

PCR'da primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve 4 çeşit

deoksiribonükleozid trifosfatları (dNTP'ler: dATP, dCTP, dGTP, dTTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA ipliğinde tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur. Arka arkaya tekrarlanan denatürasyon, primerlerin bağlanması ve uzaması evreleriyle DNA fragmentleri üssel olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucunda sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primer için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin 2 katına çıkması ile sonuçlanır. PCR boyunca biriken ürünlerin boyu iki primerin boyu ve hedef DNA bölgeleri arasındaki mesafelerin toplamı kadardır. Potansiyel olarak her döngünün % 100 verimle gerçekleştiği varsayılırsa, örneğin 20 döngü sonucu  $2^{20}$  kat ürün meydana gelir. PCR verimini etkileyen en önemli faktör, DNA polimeraz enzimidir. Normalde enzim miktarı, 25-30 PCR döngü sonucunda hedef dizi artışı ve termal denatürasyon nedeniyle sınırlayıcı bir etken haline gelir. Verimliliği azaltan bir diğer faktör de konsantrasyonu artan hedef dizilerin primer ile bağlanma yarışmasıdır.

PCR ile istenilen genler ya da DNA dizilerinin replikasyonu hızlandırılmış bir şekilde gerçekleşir. Yaklaşık 30 siklus sonunda seçilmiş DNA dizisi milyar kez kopyalanır. Bu teknikle bir DNA hedefini  $10^6$  -  $10^{12}$  arasında çoğaltmak mümkündür. (214). Bu tekniği anlattıkça; yüzyılın en önemli buluşlarından birisi olduğu kolaylıkla anlaşılacaktır. Yöntem özetle, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-30 baz uzunluğunda) kullanılarak; bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır (11).

Komplementer ipliğinin sentezlenmesi için gerekli malzemeler ve özellikleri:

- *Genomik DNA*

- *Primerler:* Oligonükleotid primerler genel olarak 20-30 nükleotid uzunluğundadırlar. Primerler çoğaltılmak istenen DNA dizisinin iki ucundaki gen bölgesinin nükleotid dizisine göre tasarlanır ve komplement ipliğin başlangıç noktasını oluştururlar. Tasarımda dört bazın eşit olarak kullanılmamasına, tekrarlanan bölgelerden ve polipürin, polipirimidinden kaçınılmasına ve primerlerin birbirine tamamlayıcı olmamasına dikkat edilmelidir.

- *dNTP:* Deoksiribonükleotid trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) tek tek veya karışım halinde satılabilen serbest nükleotidlerdir. Primerlerin devamından ipliğin tamamlanmasını sağlarlar. Optimal konsantrasyon çoğaltılacak ürün boyuna, magnezyum klorür ( $MgCl_2$ ) konsantrasyonuna, primer konsantrasyonuna ve döngü sayısına göre belirlenir.

- *Taq DNA Polimeraz:* PCR için kullanılan polimerazlar ısıya dayanıklı olmalıdır. Bu polimerazlar primerlerin serbest 3' OH ucuna ortamdaki dNTP'leri ekleyerek yeni zincirin polimerizasyonunu sağlarlar. Fosfat bağlan oluşturarak serbest nükleotidleri birbirine bağlar. Taq DNA Polimeraz 70-80 °C'de saniyede 35-100 nükleotidi polimerize eder.

- *MgCl<sub>2</sub>:* Taq Polimerazın ko-enzimidir. Magnezyum (Mg) iyonları dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluşturur ve polimeraz aktivitesini stimüle ederler. Ayrıca primer-kalıp DNA etkileşimini sağlarlar.



- *Tampon*: Taq tamponudur. Genelde enzimle beraber gelir ve MgCl<sub>2</sub> içerir. Polimerazın çalışmasını kolaylaştırır. Nötr, pH 7 olan bir ortam oluşturur.

### 1.2.11. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR işlemi ile çoğaltılan hedef DNA ve ekstrakte DNA moleküllerinin kontrolünde çok çeşitli yöntemler kullanılmakla beraber tüm laboratuvarlarda rutin olarak yararlanılan en basit yöntemlerden biri jel elektroferezidir. Yöntemin avantajları basit ve hızlı olması, ayrıca diğer yöntemlerle yeterli düzeyde ayrılmayan DNA fragmentlerinin ayrılabilmesini sağlamaktır (100). UV ışığı altında fluoresan etki gösteren etidyum bromür (EtBr) boyasının kullanımı ile çok düşük konsantrasyonlarda (1-10 g) olsa bile, DNA'nın jel üzerindeki yerini belirlemek mümkündür (211).

DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektriksel bir, alanda, jel üzerindeki göçüne dayanır. Bu göç hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir (9).

Jel elektrofrezinde kullanılan destekleyici madde (matriks) mekaniksel etkiyi engellemek ve molekülleri büyüklüklerine göre ayırmak için kullanılır. Matriks nişasta, poliakrilamid, agaroz veya agaroz-akrilamid karışımı olabilir (197). Poliakrilamid jeller genellikle küçük DNA fragmentleri (5-500 baz çifti) ve RNA moleküllerinin ayırımında kullanılır. Bu tip jeller, ayırım güçleri çok fazla olduğundan, boyut bakımından birbirine çok yakın DNA fragmentlerinin analizleri

için daha uygundur. Ancak poliakrilamid jelleri hazırlamak zordur ve uzun süre alır (38). Ayrıca uygulanacak DNA'nın yüksek konsantrasyonda olması gerektiğinden bu tip jellerin kullanılması pratik değildir. Bu nedenle rutin olarak 100 ile 20,000 nükleotidlik DNA ve RNA moleküllerinin ayırımı için en fazla kullanılan yöntem agaroz jel elektroforezidir (71).

### **1.2.12. Periodontal Hastalıklarda Genetik Faktörlerin Rolü**

Dokudaki patojenlere karşı konak savunması, doğal ve kazanılmış bağışıklık mekanizmaları ile sağlanmaktadır. İnsanlarda yapılan çalışmalar, genetik faktörlerin patojenlere karşı konak yanıtını güçlü oranda etkilediğini göstermiştir (124).

Multifaktöriyel hastalıklarda yer alan genler, hassas genler (yatkınlık allelleri) olarak adlandırılırlar. Bu hassas genler, eğer durumu kötüleştiren çevresel faktörler olmazsa hastalığa sebep olmazlar (174). Periodontal hastalık için önem taşıyan çevresel faktörler; gr (-) anaerobik mikroorganizmalar, sigara ve yetersiz ağız bakımındır (3, 150).

Enfeksiyon karşısında konağın sergilediği olaylar zinciri, çok sayıda genler tarafından düzenlenmektedir. Periodontal dokuların gelişimini veya hücresel ve sıvısal bağışıklık sisteminin yeterliliğini kontrol eden genlerdeki varyasyonlar hastalık için bireysel risk seviyesini belirler. Sitokin genlerindeki allelik varyasyonlar, bireyler arası sitokin yanıtında fenotipik farklılıklar yaratır (98, 124). Periodontitise karşı konak yanıtı üzerinde genetik faktörlerin etkisi olduğu, ikiz çalışmaları ile de doğrulanmıştır (25, 49, 132, 147, 175). Bu araştırmaların

sonucunda konak hassasiyeti üzerinde rolü olan genetik risk ve hastalık hassasiyetini arttıran özel gen değişkenini belirlemek periodontolojinin odak noktası haline gelmiştir (147).

Sitokinler veya spesifik proteinler gibi konak savunma sistemi moleküllerini kodlayan genlerdeki polimorfizmler, potansiyel genetik markerlar olarak hedeflenmiştir (105). Genetik koddaki değişimlerin bazı formları, kodlanmış moleküllerin fonksiyonlarında veya salımlarında değişikliklere yol açabilir. Bu durum ise hastalığın şiddetlenmesi veya hastalığa yatkınlığın artmasıyla sonuçlanabilir (138).

### **1.2.13. Dental Patogenez Ve Genetik**

Moleküler biyolojideki ilerlemeler genetik mutasyonların belirlenip, hastalıkların genotip ve fenotiplerini ilişkilendirerek tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesine yol açmaktadır. Dental hastalıkların patogenezini üzerine çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalar:

- Soy ağacı çalışmaları
- İkizlerde yapılan çalışmalar (41, 45, 80)
- HLA polimorfizmleri (193)
- Defektli genleri saptamaya yönelik çalışmalar
- Polimorfizmler

Bu çalışmalarla elde edilen veriler tek gene bağlı olarak periodontal

hastalıkların gelişemeyeceği sonucuna varmaktadır. Sadece Katepsin C (CTSC) polimorfizmlerinin prepubertal periodontitiste tek gen değişikliğiyle önemli etkileri gösterilmiştir (74, 76, 78, 79). Periodontal hastalıklar multifaktöryel gen hastalığı olup, birçok faktörle etkilenir (21, 77, 105, 121).

#### 1.2.14. Kemik Matriksi

Kemiğin histolojik yapısını incelersek aşağıdaki tablo ortaya çıkacaktır (8):

- *Organik yapı (%30)*

-%98 Başlıca tip 1 Kollagenöz yapı ve non-kollagenözler (Osteopontin, osteonektin, kemik sialoprotein, osteokalsin, kemik morfojenik proteini (BMP), trombospondin, fosfoprotein, fosfolipid, proteoglikan)

-%2 Kemik hücreleri (Osteoblast, osteosit, osteoklast)

- *İnorganik yapı (%62-65)*

-%95 Kalsiyum hidroksilapatit kristalleri

-%5 Başlıca kalsiyum, fosfat; az miktarda bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum

- *Su (%5-8)*

Mineral matrikse gömülmüş ağ yapıdaki kollagen fibriller kemik matriksini ve kemiğin büyük bir kısmını oluşturur (224). Matriksteki tip 1 kollagenin öncü molekül olarak salımını takiben, molekülün amino ve karboksil uçlarındaki propeptid grupları proteolitik enzimlerle ayrışacaktır (125). Bu durum, kollagen fibrillerin 3 zincirli Tip 1 kollagen demetlerini oluşturmasını sağlar (19). Kollagen fibriller, hidroksil apatit kristallerine bağlanarak periferal yönde düzenlenirler (8). Kemik matriksindeki glikoprotein ve proteoglikan, anyonik iyon bağlama özelliği ve hidroksil apatit kristallerini kollagen fibrillerine bağlama yeteneklerinden dolayı kalsifikasyonda rol oynar (200).

Kemikteki kollagen fibriller tabaka tabaka sıralanarak kemiğe lameller yapısını kazandırır. Bu lameller yapı yoğun olarak kollagen fibrillerin kemikte depolanmasını sağlayacaktır (8).

### **1.2.15. Kemik Hücreleri**

Kemik dokusunda ağırlıklı olarak osteoblastlar ve osteoklastlar yer alırken, daha az miktarda olmak üzere osteosit, kondrosit ve ilişkideki diğer hücreler bulunur. Kemikle ilişkili olan bu hücreler projenitör hücreler, makrofaj ve hematopoetik kök hücreleridir (43).

#### **1.2.15.1 Osteoblastlar**

Kemik mineralizasyonundan sorumlu olan ve kemik matriksini sentezleyen hücrelerdir (57). Matriks yüzeyinde bulunan osteoblastlar başlıca tip 1 kollagen

sentezleyerek yeni kemik tabakalarının oluşmasını sağlar (224). Osteoblastlar ayrıca genellikle osteokalsin ve osteonektinden oluşan non-kollagenöz proteinlerin salgılanmasından da sorumludur (125). Sialoprotein, osteopontin, fibronektin, vitronektin ve thrombospondin gibi diğer proteinler integrinler yardımıyla osteoblastların kemiğe bağlanmasını sağlar (122). Kalsifiye olmamış kemik matriksinin mineralizasyon süreci hidroksil apatit kristallerinin birikmesinden ibarettir (8). Osteoblastlar, hidroksil apatitin oluşumunu, kalsiyum ve fosfatın lokal konsantrasyonlarını ayarlayarak kontrol eder (57).

Osteoblastların membranlarında fazlaca alkalın fosfataz görülür ve osteoblastlar östrojen, D vitamini ve sitokin reseptörlerini uyarabilir (221).

#### **1.2.15.2. Osteositler**

Osteositler kemiğe gömülü olarak kalsifiye kemik matriksinde yer alırlar. Kemiğin içinde osteositler yoğun miktarlarda gözlenebilirler (125). Olgunlaşan kemik matriksinde hapis kalan osteoblastlar osteositleri oluşturur. Osteositlerin bol miktarda mikrofilamentlerce zengin hücresel uzantıları bulunur. Osteosit uzantıları diğer osteositlerle ve kemik yüzeyinde yer alan diğer hücre uzantılarıyla ilişkidir (43). Kalsifikasyon sırasındaki matriks formasyonu esnasında osteosit uzantılarının oluşturduğu kanaliküler ağ önemli bir rol oynarken, kemik rezorpsiyonunda osteositler kemik mineralleriyle birlikte rezorbe olurlar (125).

### 1.2.15.3. Osteoklastlar

Osteoblastlar kemik matriksi depolarken, osteoklastlar tam ters bir görev üstlenerek kalsifiye kemik ve kıkırdağı rezorbe eder. Osteoklastlar, 3 ila 20 çekirdek içeren çok çekirdekli büyük hücrelerdir (168). Bu hücreler bol miktarda golgi aygıtı, mitokondria, vakoller ve lizozomlar içerir (187). Osteoklast öncü hücreleri kana monosit olarak karışır, kemik rezorpsiyon bölgelerinde toplanarak birbirlerine yapışır ve çok çekirdekli osteoklastları oluşturur (187).

Osteoklastlar yüksek hareket kabiliyetine sahip hücrelerdir. Bunu kemiğe yapışmasını veya serbest hareketini sağlayan aktin hücre iskeletine borçludur (110). Aktin yapı osteoklastların podozomal yapılarını aktive ederek kemik matrikse tutunmasını sağlar (91). Bu tutunum ise osteoklast göçüne, yapışmasına ve kemik rezorpsiyonuna izin verecektir (36).

Osteoklastların başlıca karakteristik özelliği membran yüzeyinin tırtıklı görünümü (Ruffled Border) ve yine yüzeydeki düz alanlarının (Clear Zone) varlığıdır (187). Düzensiz sınır, kemik yüzeyine komşu bölgede derin parmaksı uzantılardan oluşur (187). Düzensiz sınırı takiben görülen düz alanlar ise sitoplazmik organel içermez (201, 207). Bu düz alanlar osteoklastı kemiğe bağlayarak, düzensiz sınır ve kemik yüzeyi arasında oluşan ilişkiyi çevreden izole eder (187).

Osteoklastik kemik rezorpsiyonu inorganik mineral içeriğinin çözülmesini (Asidik mikroortam) ve protein matriksin parçalanmasını (Proteaz faaliyeti) içerir. Kemik demineralizasyonu, osteoklastların demineralize edici asit ve kalsiyum

şelasyon iyonları salgılamasıyla gerçekleşir (113). Demineralizasyonu takiben osteoklastlar sindirim vesikül ve vakollerindeki asit hidrolazları salgılayarak matriks parçalanmasını sağlar (168). Osteoklastik faaliyet “tartrate resistant acid phosphatase” (TRAP) enzim artışı ile ölçülebilir. Bu enzim kollagen yıkımını sağlayan yüksek aktiviteli oksijen radikallerinin üretiminde görev alır (207).

### **1.2.16. Osteopontin (OPN)**

Osteopontin (OPN) aspartik asitten zengin yüksek oranda fosforolize ve glikolize salgısal bir proteindir (54). Young ve ark. tarafından 1990 yılında tarif edilen OPN asidik, hidrofilik ve negatif yük yoğunluğuna sahip bir moleküldür (232).  $Ca^{+2}$  bağlayıcı motifi hidroksil apatit kristalleri ile birleşebilecek oranda yüksek afiniteye sahiptir (68). İnsanda gen diziliminin 4q13 kolunda bulunan OPN 7 ekzon ve 6 introndan oluşur (231). OPN başlıca kemikte gözlemlenmesine ve osteoblast ile osteoklastlarca sentezlenmesine karşın makrofaj, endoteliyal hücreler, düz kas hücreleri, aktif T lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NK), epitel ve tümör hücreleri tarafından da salgılanır (127). OPN; biyomineralizasyonda, yangıda, distrofik kalsifikasyonda, yara iyileşmesinde, granülomatöz oluşumlarda, fibrozisde, nitrik oksit düzenlenmesinde, tümöral metazda ve hücre canlılığını korumada rol alır (127). Mineralize dokuların ekstraselüler matriksinde, yangı anında ekstraselüler sıvıda bulunur. Buna göre OPN kemik ve böbreklerde en çok bulunsa da epitelyel örtü hücrelerinin çoğu bu proteini salgılar (55). OPN en çok tükürük, süt ve safrada bulunur. Böbreklerdeki görevi nitrik oksit sentazın (NOS) düzenlenmesi ve üriner kalsiyum oksalat birikim inhibisyonudur (228).



OPN salgısının arttığı bazı hastalıklar aşağıdadır:

- Kanser (205)
- Arteryal restenoz (148)
- Arteriyoskleroz (65)
- Native valvuler stenoz (176)
- Bioprostetik valvuler stenoz (149)
- Renal tubulointerstitial fibroz (67)
- Miyokart enfarktüsü ( 135)
- Felç (59)
- Sarkoidoz
- Granülomlar
- Tüberküloz (28, 141)
- Nefrolitiaz (129)

#### **2.2.16.1. Osteopontin Yapısı**

Osteopontin proteinin yapısında (Ek 3)  $\alpha v\beta 3$ ,  $\alpha v\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 5$ ,  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha 8\beta 1$  reseptörleri ile bağlanabilen RGD (arginin-glisin-aspartat) motifi bulunur (93). RGD en önemli integrin bağlayıcı kompleks olarak da bilinir. Ayrıca SVVYGLR (serin-valin-valin-tirosin-glutamik asit-lösin-arginin) motifi  $\alpha 9\beta 1$  reseptörü ile ilişkidir (229). Bu bağlamlar ancak OPN trombin ile kesilirse açığa çıkan serbest uçlar vasıtasıyla olur. Trombin ile ayrışması değişik serbest uçları açığa çıkarırken, kemotaktik fonksiyonel fragmanların üretimine katkıda bulunur (55). Lösin-prolin-valin (LPV) inhibitör N-terminal ucu da  $\alpha 4\beta 1$  reseptörü ile ilişkidir. Bu reseptör

ilişkisi tam olarak kesinleştirilmemiştir (10). Ayrıca CD44 transmembran protein OPN reseptörü olarak adlandırılrsa da, bu ilişki de tartışılmaktadır. Fakat değişik isoformların değişik etkileşim özellikleri vardır. Standart form CD44 etkileşim göstermez. CD44v3-v6 tümör hücrelerinde OPN ilişkisi ile yapışma ve göç göstermektedir (217). Bunu  $\beta 1$  integrinlerinin yardımıyla yaptığı düşünülmele beraber kesin mekanizma belli değildir (93). Ayrıca heparin bağlayıcı diğer iki uç OPN-ekstraselüler matriks (Ecm) ilişkisini düzenler. Bu uç kollagen, osteokalsin ve fibronektine doğrudan bağlanma özelliği göstermektedir (68). Bunlara ek olarak OPN yapısında poliaspartat içeren (pAsp) motif ile  $CA^{+2}$  bağlayıcı uç da bulunmaktadır. Bu motifler OPN'nin yüksek bir afiniteyle hidroksil apatit kristallerine bağlanmasını sağlar (68).

#### **1.2.16.2. Osteopontin Ekspresyonunun Düzenlenmesi**

OPN ekspresyonunun düzenlenmesi tam olarak anlaşılamamıştır. D vitamini cevabı, interferon uyarıcı elementler, glukokortikoidler, pürinden zengin dizilim OPN'yi uyarır (53, 157, 106). Öncül yangı sitokini olan nitrik oksit (NO) ve endotoksin de makrofaja etkiyerek OPN yazılım ve ekspresyonunu artırır (73). IL-1 $\beta$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , PDGF gibi sitokinler protein kinaz C'ye etkiyerek OPN transkripsiyonunu sağlar (53, 157, 234). Ayrıca anjiotensin 2, TGF- $\beta$ , hipoksi, hiperglisemi de OPN'nin düzenlenmesini hızlandırır. (84, 163, 185, 194). Vasküler kalsifikasyon üretiminin artmasının ektopik kalsifikasyonu önleme çabasından olduğu sanılmaktadır (216). Osteoklast kaynaklı OPN hidroksilapatit formasyonunu inhibe eder ve üriner kristalizasyonu kontrol eder (219, 220).

### 1.2.16.3. Osteopontinin İşlevleri

#### *1-Yangı:*

Makrofaj ve T hücreleri için önemli bir kemoatraktan olan OPN yangı anında başlıca makrofaj, aktif T hücreleri, epitel ve endotel hücreler ile düz kas hücrelerince salgılanır (127). Bu kemoatraktan öncü yangı etkisi makrofaj ve T hücrelerinin etkileşimini sağlar ve onları modüle eder (66, 94, 135, 156). Bu işlem ayrıca diğer sitokinlerin makrofaj kemotaksisine (MMP düzenlenmesi vasıtasıyla) de etki etmiş olur. OPN'nin bu özelliğine ETA-1 etkisi de denir (5, 154). Bu etki çerçevesinde OPN, integrin ve CD44 ile etkileşerek TH1'i aktiflerken TH2'yi inhibe eder ve makrofajlardaki OPN-integrin etkileşimi ile TH1'in IL-12, IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$  ve GM-CSF salımını sağlar (5, 115). Aynı hücrelerde yine CD44-OPN etkileşimi, LPS ve IFN- $\gamma$  uyarımıyla aktiflenen TH2 hücrelerinin IL-10 ve IL-4 salımını önler (115). Ayrıca OPN makrofaj CD3 reseptörünün IFN- $\gamma$  ile etkileşimini artırarak veya CD40 ligandlarına T hücrelerinin etki etmesini sağlayarak IL-12 salımını kontrol eder (55). Sonuç olarak yangının geç döneminde OPN'nin TH1 etkisi B lenfositlerince IgG2a salgılanmasını sağlar ve hücre içi patojenlerin öldürülmesi ile organa özgü bağışıklık gerçekleşmiş olur (115).

Ayrıca, yapılan bazı fare çalışmalarında OPN B lenfosit direkt etkileşiminin IgM, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 salımını sağladığı görülmüştür (13, 89, 111, 158).

Geçikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarında ise OPN rolü tam netleşmemiştir. Bir çalışma OPN'den yoksun farenin *herpes simplex ve listeria*

*monocytogenes* enfeksiyonuna daha hassas olduğunu gösterirken bir diğeri fark bulamamıştır (5, 18).

Özetle in vitro çalışmalar, OPN'nin makrofaj yapışmasını düzenlediğini (66, 140); göçünü sağladığını (66, 140, 180); reaktif oksijen radikallerini kontrol ettiğini (88); sitokin salınımını ayarladığını (5, 142); makrofaj farklılaşma safhasında görevli olduğunu (47) ve fagositozda rol aldığını (130) gösterir. Son yıllarda yapılan in vivo çalışmalar da bu sonuçları desteklemiştir (114, 152, 233).

## *2-Biyomineralizasyon*

OPN kemik ve diş yapısında büyük oranda bulunan en önemli non-kollagenöz proteinlerdendir. Biyomineralizasyondaki başlıca görevleri aşağıda sıralanmıştır (69):

- Kemik hücrelerinin yapışmalarının düzenlenmesi
- Osteoklast fonksiyonunun düzenlenmesi
- Matriks mineralizasyonunun düzenlenmesi

Kemik oluşum ve remodelasyonunda OPN kemik ekstraselüler matriksinde artar (23, 54, 128). Fakat yapılan fare çalışmalarında OPN yokluğunda da kemik oluşum ve gelişiminin gözlemlendiği görülmüştür (114, 166). Buna dayanarak araştırmacılar bu safhalarda OPN'nin görevini kemikte bulunan diğeri non-kollagenöz proteinlerin tamamladığını belirtmektedirler (69). Fakat OPN kemik remodelasyonu için öneme sahiptir (70, 198, 230). OPN aspartat ve fosforalize serin uçlarıyla

mineralize dokuda kalsiyum fosfat kristallerine bağlanır ve kristal büyümeyi inhibe eder (86, 87). OPN mineralize tutunma için fosforalize olma zorunluluğu bulunmakta ve bu ekstraselüler fosfat ve kinazlar sayesinde kontrol edilmektedir. Bu serbest moleküller OPN'yi fosforalize ederek rezorpsiyonu hızlandırır. Hızlanan rezorpsiyon ise fosfataz enzimiyle kontrol edilir (55).

OPN kemik rezorpsiyonu 2 aşamalıdır:

- CD44 (Hyalarunik asit reseptörü) ve  $\alpha\beta3$  reseptörü ile kemiğe osteoklastı bağlar (72, 162, 169).
- Kemik rezorpsiyonunu aynı integrin vasıtasıyla düzenler (34, 35, 36).

OPN'nin rezorpsiyon etkisi ve birikimi distrofik kalsifikasyonlarda da karşımıza çıkar (52). Bu etkinin düz kas hücreleri, endotelial hücreler ve makrofajlar tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Özellikle kalsiyum oksalat kristalleri üzerine olan inhibisyon etkisiyle kristal retansiyonunu bozarak, kristal oluşumunu kontrol ettiği düşünülür (99, 127). OPN kalsiyum oksalat kristalizasyonunu monohidrat formdan dihidrat forma yönlendirerek veya kristal yüzeye etkiyerek kristaldeki kimyasal ve spesifik reseptörlerin etkileşimini azaltarak kristalin yapışmasını inhibe ettiği düşünülmektedir (99). Böylece OPN, mineralize dokularda distrofik kalsifikasyon için öncü bir düzenleyici olup yangıyı şekillendirir (69). Artış gösterdiği kalsifikasyon patolojileri aşağıda sıralanmıştır:

- İleri arteriosklerotik lezyonlar (65)
- Üriner taşlar (102)

- Başarısız native ve gluter aldehit korumalı bioprostetik valfler (149, 176)
- Böbrek taşları (129)
- Dental plak (97)
- Pilomatrikoma (82)
- Kalsifikasyon içeren tümörler (12)

### *3-Hücre Canlılığını Koruma*

OPN hücre canlılığını korur ve hücrelerin apoptoza girmesini engeller (127). Vasküler düz kas hücrelerinde, pro-B hematopoetik hücrelerde, endoteyal ve epithelyal hücrelerde anti-apoptik faaliyetini gösteren çalışmalar vardır (46, 119, 152, 165). Fakat OPN'in anti-apoptik faaliyetinin kesin mekanizması belli değildir.

### *4-Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Düzenlenmesi ve Kanser*

OPN makrofajlarda ve renal tübüler epitel hücrelerde nitrik oksit sentaz enzimini inhibe eder (88, 167). OPN geni çıkartılmış farelerde yapılan çalışmalarda NOS artmış, nitrotirosin artıklar fazlalaşmış ve histolojik zarar daha da artmıştır (146). NO makrofajlar tarafından salgılanan ve özellikle tümör hücrelerinde etkili bir salgıdır (48).

### *5-Yara İyileşmesi ve graniümatöz oluşum*

OPN doku iyileşmesi görevi başlıca skatrisyel iyileşme ve fibrozisde karşımıza çıkar (139, 235). Bu etkinin makrofajların infiltrasyonunu ve TGF-  $\beta$  salgısını

arttırdığı için olduğu düşünülmektedir (152). Son çalışmalar fibroz doku gelişiminde OPN'nin direkt etkisi de olabileceğini göstermektedir (116, 161, 190). Bu etki OPN'nin fibroblastlar için kemotaktik olması, proliferasyonunu artırması ve MMP üretimini düzenlemesinden kaynaklanır. MMP üretimiyle de ekstraselüler matrikste hücre göçünü kolaylaştıracaktır (127).

Ayrıca OPN, makrofaj ve anjiyojenik endotel hücrelerince yara iyileşmesi (135) ve biyomateryalle iyileşmenin (69) granülasyon safhasında da salgılanır. Anjiyojenik endotel hücrelerindeki OPN görevi muhtemelen yeni kapiller oluşum esnasında endotel göçünde ve canlılığın devam etmesinde faydalıdır (69). OPN eksikliğindeki yangı düzeninde, yara kapanması gerçekleşse de daha fazla atık hücre açığa çıkmış, matriks organizasyonunda azalma ve kollagen fibrillogenesisinde bozukluklar gözlenmiştir. Bu yangı düzeni, OPN'in makrofajları  $\alpha\beta 3$  reseptörü ile bağlayarak fagositoz yapmalarına (61) ve MMP düzenlenmesine dayanmaktadır (22).

Doku yangısı, biyomineralizasyon, hücre canlılığını koruma ve yara iyileşmesinde görevleri bulunan OPN proteini kronik yangılı seyir gösteren ve kemik ile periodontal çevre dokuları ilgilendiren hastalık olan kronik periodontitiste de önemli rol alır. OPN'nin yapılan dişeti oluğu sıvısı çalışmalarıyla kronik periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayabilecek öncül yangı sitokini olabileceği belirtilmiştir (97, 178). Böylelikle OPN polimorfizmi toplumda kronik periodontitise yatkınlık yaratabilecek risk faktörlerinden biri olabilir. Bugüne kadar periodontal hastalıklarda OPN +8090 C/T polimorfizmini inceleyen yayınlamış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamaktadır.

İnsandaki OPN gen bölgesi 4. kromozomun uzun kolunda lokalize olup 6 intron ve 7 ekzondan oluşarak 300 amino asit içeren ve 34 kDa'lık moleküler ağırlığa sahip proteinin sentezini sağlar (184). OPN geninin 6. ekzonunda yer alan +8090 C/T polimorfizmini Iwasaki H. ve ark. (90), Niino M. ve ark. (145) ile Hensiek A.E. ve ark. (81) çalışmalarıyla incelemişlerdir. Bu araştırmalardan Niino M. ve ark. (145) yaptığı çalışmada Japon ırkına ait 116 hastadan oluşan multiple skleroz grubu ile 124 adet kişiden oluşan kontrol grubu karşılaştırılarak OPN +8090 C/T polimorfizminin etkinliğini saptamışlardır. Benzer şekilde kronik yangılı hastalık olan kronik periodontitiste de olası genetik ilişkiyi saptamak muhtemel olabilir. Çalışmamızda Türk toplumunda OPN +8090 C/T polimorfizmini kronik periodontitisli hastalarda incelenerek osteopontin genotip dağılımı ile allel sıklığı belirlenecek ve genotip-fenotip ilişkisi saptanmaya çalışılacaktır.



## BÖLÜM II

### 2.1. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 2.1.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi

Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne çeşitli dental şikayetler ile başvuran 50 adet periodontal sağlıklı kriterlerine (117) uygun birey ile 50 adet kronik periodontitisli (4) birey araştırmaya dahil edilmiştir. Hastalar, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'nun 16.09.2003 tarih ve 03-9/28 sayılı kararı ile aşağıda belirlenen kriterlere göre seçilmişlerdir. Bu kriterler :

- 30 yaş ve üstü olmak,
- Ağızda en az 20 dişin bulunması,
- Periodontal herhangi bir sebepten dolayı diş kaybetmemiş olmak
- Diabetes mellitus hikayesi bulunmamak
- Antibiyotik proflaksisine gerek duyulmamak
- Hamilelik ve laktasyon döneminde olmamak
- Antienflamatuar ilaçları kronik olarak kullanmamak
- Hepatit veya HIV hikâyesi bulunmamak
- Sigara ve benzeri kullanmamak

Klinik muayenede, radyografik inceleme ve hasta hikayesi değerlendirmeleri yapıldı. Periodontal hastalık ve bu hastalığın ailesel kalıtım ile olan ilişkileri hakkında bilgilendirilen hastalara yapılması dūřünülen araştırma ve olası sonuçları anlatıldı. Bilgilendirilen hastalar “Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Araştırma Etik Kurulu” standartlarınca hazırlanmış “Bilgilendirilmiř Gönüllü Olur Formu” nu (Ek 1) okuyarak, imzalı onayları alındı ve araştırmaya dahil edildiler.

Hastanın adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, telefon numarası, adresi, protokol numarası ve sistemik hastalık bakımından durumu ile ilgili hasta takip formları çalışmaya katılan tüm bireyler tarafından dolduruldu.

Çalışmaya katılan kronik periodontitisli grubun gerekli acil müdahaleleri tamamlandıktan sonra tedavi öncesinde ve takip eden 1., 3., 6. aylardaki periodontal durumları aşağıda belirtilen klinik parametreler kullanılarak saptandı (Ek 2).

### **2.1.2. Klinik Parametreler**

Hastaların periodontal durumlarının değerlendirmesinde kullanılan periodontal klinik parametreler şunlardır:

*Sondalanan Cep Derinliği (SCD):* Hastaların tüm dişlerinin mezial, mid-bukkal/mid-labial, distal, meziopalatinal/mezio-lingual, mid-palatinal/mid-lingual ve disto-palatinal/disto-lingual olmak üzere 6 bölgesinden, Williams sondası

(PWDL-8)<sup>®</sup> ile milimetrik olarak, dişeti kenarından cebin en derin noktasına kadar olan mesafe ölçülerek SCD değerleri kaydedildi.

*Sondalamada Kanama Değeri (BOP, Ainamo & Bay, 1975):* Cep tabanı ve cebin yangı durumunu saptamak amacıyla hasta bireylerin tüm dişlerinin mezial, mid-bukkal/mid-labial, distal, meziopalatinal/mezio-lingual, mid-palatinal/mid-lingual ve disto-palatinal/disto-lingual olmak üzere 6 bölgesinden cep derinliği ölçümünden 30 saniye sonra sulkusta kanama olup olmamasına göre değerlendirme yapıldı. Elde edilen değerler tüm ağız için % olarak hesaplandı.

*Klinik Ataşman Seviyesi (KAS):* Hastaların tüm dişlerinin mezial, mid-bukkal/mid-labial, distal, meziopalatinal/mezio-lingual, mid-palatinal/mid-lingual ve disto-palatinal/disto-lingual olmak üzere 6 bölgesinden, Williams periodontal sondası (PWDL-8)<sup>®</sup> ile milimetrik olarak, periodontal cep tabanı-mine sement sınırı arası mesafe ölçülerek klinik ataşman seviyeleri saptandı. Protetik restorasyonlu, subgingival alana veya mine-sement sınırına uzanan restorasyon ve çürük bulunan dişlerdeki mine-sement sınırı ise komşu dişler referans alınarak belirlendi.

*Plak İndeksi (O'Leary T.J., 1972):* Hastaların ağız bakımı durumlarını belirlemek ve motivasyonlarını değerlendirmek amacıyla hastaların tüm dişlerinin bukkal, lingual ve palatinal olmak üzere 2 bölgesinden % 10'luk bazik fusin boya ile dişler boyandıktan ve ağız çalkalandıktan sonra diş yüzeyinde plak olup olmamasına göre değerler kaydedildi. Elde edilen değerler tüm ağız için % olarak hesaplandı.

Hastalara uygulanan tüm klinik ölçümlerde 3. molar dişler değerlendirilmeye alınmadı.

### **2.1.3. Hastaların Tedavi Protokolü**

Başlangıç seasında gerekli ölçümler yapıldıktan sonra, ultrasonik alet kullanılarak tüm ağza diş yüzeyi temizliği yapıldı. Bireylere Modifiye Bass fırçalama tekniği ve ara yüz temizliği model üzerinde anlatıldı. Bunu izleyen haftalık seanslarda, lokal anestezi altında Universal ve Gracey küretler kullanılarak, her kuadrantta gözle görülen ve düz sondla hissedilebilen eklenti kalmayana kadar kök yüzeyi düzleştirmesi yapıldı (30, 33). Haftalık seanslarda, bireylerin fırçalama ve ara yüz temizliği uygulamaları kontrol edildi. Kök yüzeyi düzleştirmesi işlemleri, sağ üst yarım çeneden başlayarak sağ alt yarım çenede sonlanacak şekilde saat yönünde bir sıra izlenerek 4 seansta tamamlandı. 1., 3., ve 6. aylardaki kontrol seanslarında hastalara ultrasonik alet ile diş yüzeyi temizliğine ek olarak polisaj işlemleri yapıldı ve ağız bakımı uygulamaları kontrol edildi. Hastaların kontrol seansları tamamlandıktan sonra ise gerekli görülen bölgelere cerrahi periodontal tedaviler uygulandı ve hastaların takibine devam edildi.

## 2.1.4. Analizlerde Kullanılan Gereçler

### 2.1.4.1. Laboratuvar Cihazları

#### 1- Termal Karıştırıcı (Thermomixer)

Şekil 1. Thermomixer Comfort \*



#### 2- Elektroforez Güç Kaynağı

Şekil 2. EC 105<sup>#</sup>



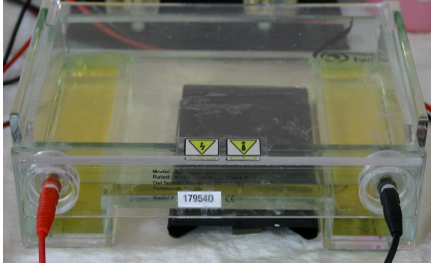
\*Eppendorf North America Inc., One Cantiague Road, P.O. Box 1019, Westbury, N.Y., A.B.D.

(www.eppendorf.com)

<sup>#</sup>E-C Apparatus Corp., 100 Colin Drive, Holbrook, NY, A.B.D. (www.savec.com)

### 3- Elektroforez Tankı

**Şekil 3.** B2<sup>¶</sup>



### 4- PCR Aleti (Thermalcycler)

**Şekil 4.** Perken Elmer GeneAmp PCR System 9700<sup>†</sup>

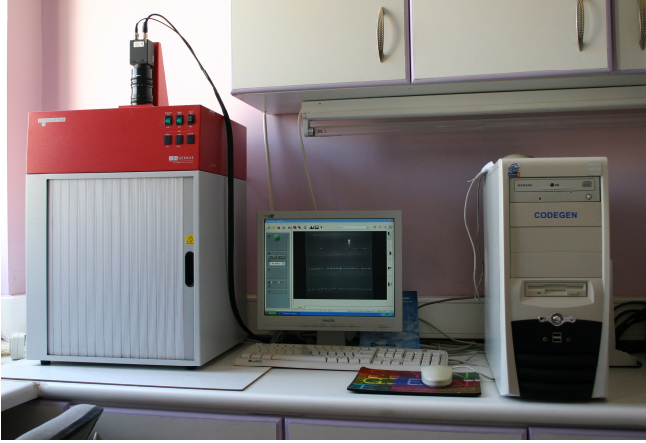


<sup>¶</sup>Owl Separation Syst., 55 Heritage Avenue, Portsmouth, NH 03801, A.B.D. ([www.owlsci.com](http://www.owlsci.com))

<sup>†</sup>Applied Biosys., 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, CA 94404, A.B.D.  
([www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com))

## 5- UV Görüntüleme Cihazı

**Şekil 5.** In-Genius<sup>§</sup>



## 6- Santrifüj Cihazı

**Şekil 6.** Mikro 22 R<sup>§§</sup>



<sup>§</sup>Syngene, Beacon House, Nuffield Road, Cambridge, CB41TF, İngiltere ([www.syngene.com](http://www.syngene.com))

<sup>§§</sup>Hettich GmbH & Co. KG, Föhren str. 12, D-78532 Tuttlingen, Almanya ([www.hettichlab.com](http://www.hettichlab.com))

## 7- Mikropipet

0.5-10  $\mu\text{l}$ \*

5-50  $\mu\text{l}$  (Finnpipette®)‡

20-200  $\mu\text{l}$  (Biohit Proline®)##

100 -1000  $\mu\text{l}$ \*

### Şekil 7. Mikropipet



\*Eppendorf North America Inc., One Cantiague Road, P.O. Box 1019, Westbury, N.Y., A.B.D.  
([www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com))

‡Thermo Elelectron Corp., 1601 Cherry Street, Suite 1200 Philadelphia, Pennsylvania 19102, A.B.D.  
([www.thermo.com](http://www.thermo.com))

##Isolab Inc., Drawer 4350, Akron, OH 44321, A.B.D.



*8- Vorteks***Şekil 8.** Reax Top<sup>®</sup>

### 2.1.4.2. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

#### *1- Tris- Borat (Tbe) Tamponu<sup>††</sup>*

Stok çözeltisi (10x)

0.89 M Tris-Borate

0.02 M EDTA

pH 8.3

#### *2- Pcr Tamponu<sup>†</sup>*

Stok Çözeltisi (10x)

15mM/l Tris HCL (pH 8.0)

50mM/l KCl

Cat. No. N808-0156

Lot. No. F14368

<sup>††</sup>Sigma Chemical Corp., PO Box 14508, St. Louis, MO, A.B.D. ([www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com))

<sup>†</sup>Applied Biosys., 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, CA 94404, A.B.D.  
([www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com))

*3- Tampon B1\*\**

10 ml (pH 7.4)

Lot No. PAF0016497

*4-Tampon B2\*\**

12.5 ml (pH 7.4)

Lot No. PAF0017785

*5- Tampon B5\*\**

20 ml (pH 7.4)

Lot No. PAF0018233

*6- Tampon BW\*\**

30 ml (pH 7.4)

Lot No. PAF0016623

*7- Proteinaz K (Liyofilize)\*\**

75 mg.

Lot No. P05345

*8- Proteinaz Tamponu\*\**

8ml (pH 7.4)

Lot No. PAF0019081

**Şekil 9.** DNA ekstraksiyon solusyonları



**2.1.4.3. Kitler**

*Nucleospin® DNA Blood Minikit*

Tam kan örneklerinden DNA elde etmek için Nucleospin® DNA Blood Minikit\*\* kullanılmıştır.

\*\*Macherey-Nagel Inc., 6 South Third St., Suite 402 Easton, PA 18042, A.B.D. (www.mn-net.com)

#### 2.1.4.4. Sarf Malzemeleri

##### 1- Tüpler

8-10 cc (1,8mg/ml EDTA) Vacuette vakumlu tüp<sup>‡‡</sup>

NucleoSpin<sup>®</sup> Kan Örnek Kolon Tüpleri\*\*

Eppendorf tüpleri

##### Şekil 10. Vacuette vakumlu tüp



##### 2- Mikropipet Uçları<sup>###</sup>

10 µl (Filtreli)

100 µl (Filtreli)

200 µl (Filtreli)

1000 µl (Filtreli)

<sup>‡‡</sup>Greiner Bio-One, Inc., 1205 Sarah St., Longwood, FL 32750, A.B.D. (<http://greinerbiooneinc.com>)

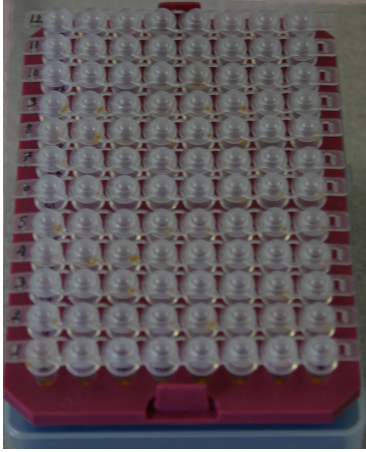
\*\*Macherey-Nagel Inc., 6 South Third St., Suite 402 Easton, PA 18042, A.B.D. ([www.mn-net.com](http://www.mn-net.com))

<sup>###</sup>BioSphere Medical Inc., 1050 Hingham Street, Rockland, MA 02370, A.B.D.

### 3- Mikro AMP PCR Tüpleri<sup>†††</sup>

200 µl hacminde, 8' li gruplandırılmış, ince duvarlı plastik tüpler kullanılmıştır.

**Şekil 11.** Mikro amp PCR tüpleri



### 4- İğne Uçları

**Şekil 12.** Vacuette 21G iğneler<sup>‡‡</sup>



<sup>†††</sup>Sarstedt AG & Co. KG, Rommelsdorfer Straße, Postfach 122051582, Numbrecht, Almanya

<sup>‡‡</sup>Greiner Bio-One, Inc., 1205 Sarah St., Longwood, FL 32750, A.B.D. (<http://greinerbiooneinc.com>)

### 2.1.4.5. Diğer Maddeler

1- *Agaroz*<sup>††</sup>

2- *Taq DNA Polimeraz Enzimi*<sup>†</sup>

Cat. No. N808-0156

Lot. No. F14368

3- *Primerler*<sup>‡‡‡</sup>

5-TACCCTGATGCTACAGACGAGG-3' (F)

3-CTGACTATCAATCACATCGGAATG-5 (R)

4- *DNTP*<sup>§§§</sup>

10 mM

<sup>††</sup>Sigma Chemical Corp., PO Box 14508, St. Louis, MO, A.B.D. ([www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com))

<sup>†</sup>Applied Biosys., 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, CA 94404, A.B.D.  
([www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com))

<sup>‡‡‡</sup>Qiagen Inc., 28159 Avenue Stanford, Valencia, CA 913555, A.B.D. ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com))

<sup>§§§</sup>Promega Corp., 2800 Woods Hollow Poad, Madison, WI 53711, A.B.D.

5-  $MgCl_2$ <sup>†</sup>

25 mM/1.5 ml

Cat. No. N808-0156

Lot. No. F14368

6- *Boy Standartı; 50 Bp DNA Ladder*<sup>§§§</sup>

0.34 µg/µl

Cat. No: G4521

Lot. No. 193544

7- *Alu I Restriksiyon Endonükleaz*<sup>\*\*\*</sup>

5' AGCT 3'

10 u/ µl

Cat. No. RO137L

Lot No. 73

<sup>†</sup>Applied Biosys., 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, CA 94404, A.B.D.  
(www.appliedbiosystems.com)

<sup>§§§</sup>Promega Corp., 2800 Woods Hollaw Poad, Madison, WI 53711, A.B.D.

<sup>\*\*\*</sup>New England Biolabs Inc., 32 Tozer Road, Beverly, MA 01915-5599; A.B.D. (www.neb.com)



*8- 10X Reaksiyon Soliisyonu\*\*\**

Cat. No. RO137L

Lot No. 73

### 2.1.5. Periferik Kan Örneklerinin Toplanması

Hasta ve kontrol gruplarının klinik ve radyografik değerlendirmeleri tamamlandıktan sonra, bireylerden DNA ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla 2 cc periferik kan alındı. Kan alımı için Vacuette 21G iğneler ve EDTA'lı (1,8mg/ml EDTA) Vacuette vakumlu tüpler kullanıldı. Kan örnekleri, -40 °C'da DNA ekstraksiyon işlemleri başlayana kadar muhafaza edildiler. Alınan kan örneklerini saklayan tüplerin üzerine her hastanın kendi kodu işlendi.

### 2.1.6. DNA Ekstraksiyonu

Genomik DNA'lar hastalardan alınan kan örneklerinden, 50 testlik Nucleospin<sup>®</sup> Blood gen kitleri kullanılarak elde edildi. Kit içeriği aşağıdaki gibidir:

- Tampon B1 ( B2 solusyonuyla karıştırılarak B3 solusyonunu oluşturur.)
- Tampon B2 ( B1 solusyonuyla karıştırılarak B3 solusyonunu oluşturur.)
- Tampon B5
- Tampon BW
- Proteinaz K (Liyofilize)
- Proteinaz tampon
- NucleoSpin<sup>®</sup> Kan Örnek Kolon Tüpleri
- 2 ml toplama tüpleri

Genomik DNA'ya ulaşmak için uygulanan DNA ekstraksiyon yöntem aşamaları aşağıdaki gibidir.

- Öncelikle kan örneklerinin lizisi sağlandı. İşlem:

Oda sıcaklığına getirilen kan örneklerinden pipet yardımıyla 200 µl alınarak 28 µl proteinaz K ile karıştırıldı. Daha sonra ise 72 °C'ye ısıtılan tampon B3 solüsyonu bu karışıma eklenerek karışım vortexlendi ve 25-30 dk. süreyle thermomixer aracılığıyla enkübe edildi. Bu işlem kandaki proteinleri parçalayarak genomik DNA'nın açığa çıkmasını sağlayacaktır. Enkübasyon süresince karışım çalkalandı (300 rpm).

- 210 µl etanol uygulanarak, DNA'nın çökmesi sağlandı. Etanolle karışım vortexlendi ve 5 dk beklendi.

• Çöken DNA, pore içeren ve sadece belli büyüklükteki moleküllerin geçmesine izin verebilen NucleoSpin® kan örnek kolon tüplerine yüklenerek 12.000 rpm de 1dk boyunca santrifüje edildi. Böylece kimyasal olarak silika filtre membrana takılan nükleik asit molekülleri kanın diğer elemanlarından ayrılmış oldu.

• Silika filtre membran önce 500 µl Tampon BW solüsyonuyla yıkanarak 1dk boyunca 12.000 rpm'de santrifüje edildi. Sonra membran tekrar 600 µl Tampon B5 solüsyonuyla yıkanarak 1 dk boyunca santrifüje edildi. Bu yıkama işlemlerinin amacı tamamen membran üstünde saf DNA'yı elde etmektir.

• Membran daha sonra santrifüj aletinde 3 dk boyunca 14.000 rpm'de çevrilerek ortamda arta kalan etanol de uzaklaşmış oldu.

- Membrana daha sonra 72°C'de ısıtılmış 150 µl tampon BE solüsyonu eklenerek karışım 1 dk boyunca enkübe edildi. Daha sonra karışım 1dk boyunca 10.000 rpm de santrifüje edilerek kimyasal olarak tutunan DNA membrandan uzaklaştı ve DNA saklama çözeltisiyle (Tampon BE) beraber +4°C'de saklanmak üzere elde edildi. Bu işlem sonucunda genomik DNA çift iplikli (Ds DNA) olarak görülecektir.

### **2.1.7. Jelin Hazırlanışı ve Kantitasyon İşlemi**

Periferik kanda elde edilen DNA'ların kontrolü için kullanılacak olan %1'lik jel [10 ml. Tris Borate EDTA (TBE Tamponu) x 1 gr. Agaroz] karışımı erlen içine hazırlandı. Mikrodalga fırın (Beko, Türkiye) vasıtasıyla 700 watt güçte karışım beyazlaşana, yani agarozun tampon içerisinde eriyene kadar kaynaması sağlandı. Agaroz, tampon içinde iyice kaynayıp eriyince üzerine 10 µl etidyum bromid eklendi. Agarozun içine eklenen etidyum bromür (EtBr) boyası, DNA'nın baz çiftleri arasına bağlanarak, ultra-viole (UV) ışık altında DNA'yı görünür hale getirmektedir (1).

Hazırlanan jel, tablaya döküldü ve donması beklendi. Donduktan sonra taraklar çıkartılarak jel üzerinde DNA'nın yükleneceği kuyucuklar elde edildi.

Jel, içerisinde TBE tampon solüsyonu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. TBE tampon solüsyonunun amacı, elektrik akımını iyi iletme ve jelin ısınarak parçalanmasını engellemektir.

Jelin yerleştirilmesi tamamlandıktan sonra, her bir kuyucuğa, elde edilen DNA yüklendi ve çalışma listesine not edildi. Kantitasyon için jele mutlaka moleküler ağırlık standardı oluşturacak, bilinen ağırlıklı bir DNA rneği kontrol olarak konuldu. Bu kontrollere “DNA merdiveni” denir ve jelin en dış şerisinde yürütülürler. Buradaki amaç, DNA veya PCR rnlerinin baz uzunluklarının belirlenmesidir (197).

Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra elektroforez güç kaynağı tarafından sağlanan elektrik akımı açılarak DNA'nın ya da PCR ürününün jel üzerinde koşması sağlandı. UV işığı altında boya, dolayısıyla DNA görünür hale geldi. Jel tamamlandıktan sonra UV cihazında gözlenen DNA'ların fotoğrafları çekildi ve DNA merdiveniyle karşılaştırma yapılarak kantitasyon sağlandı.

### **2.1.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

+4°C'de saklanan ve elektroforez kontrolleri yapılmış olan genomik DNA'lar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemine tabi tutularak hedef bölge olan osteopontine özgü DNA'lar çoğaltıldı. Osteopontine zg DNA amplifikasyonu için kullanılan primerler ve PCR protokolü aşağıda belirtilmiştir.

5-TACCCTGATGCTACAGACGAGG-3' (F)

3-CTGACTATCAATCACATCGGAATG-5 (R)

PCR işlemi 1mmol genomik DNA, 25pmol forward ve revers primerleri, 1.5 mmol MgCl<sub>2</sub>, 1.0 U Amplitag Polimeraz, 15mmol/l Tris HCl (pH 8.0), 50 mmol/l

KCl ve DNTP'lerin (dGTP, dATP, dTTP, dCTP) her birinden 50mmol/l olacak şekilde toplam 25  $\mu$ l'lik karışımda gerçekleştirilmiştir. Bu PCR karışımı için Pre-PCR işlemi 94 °C'de 10 dk., primerin bağlanma ısısı 59 °C'de 45 dk., uzama ısısı 72 °C'de 45 dk. ve final uzama işlemi 72 °C'de 7 dk. olacak şekilde programla yapılmıştır.

**Tablo 1.** OPN (+8090) C/T polimorfizminde PCR işlemi için gerekli ana karışım

<i>Ana Karışım</i>	<i>Hacim (<math>\mu</math>l)</i>
Genomik DNA	3
10X PCR Tampon	2.5
Tag DNA Polimeraz	0.2
MgCl <sub>2</sub>	1.5
DNTP	0.5
Forward Primer	1
Revers Primer	1
H <sub>2</sub> O (distile)	15
Toplam	25

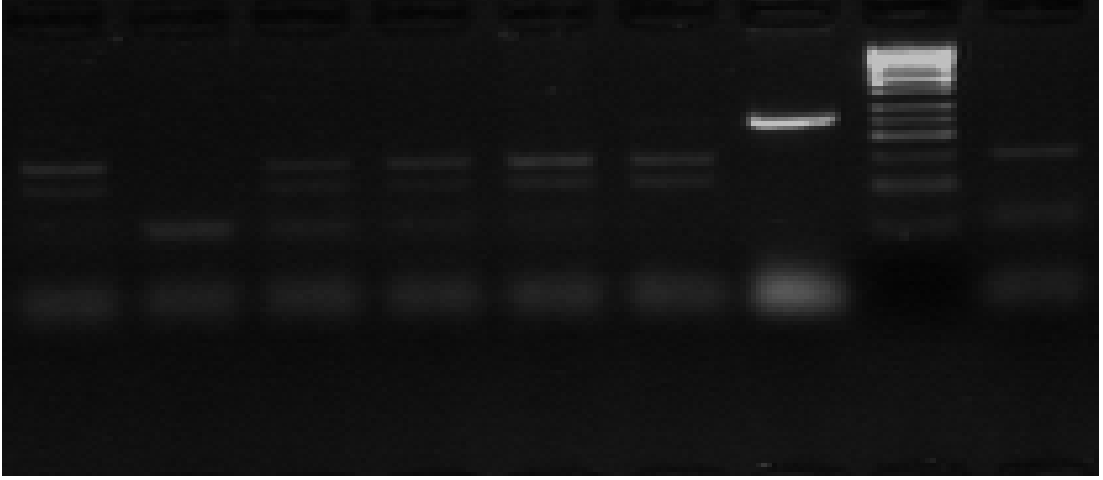
PCR'ı yapılan hasta ve kontrollere ait ürünlerin 5  $\mu$ l'si %2'lik (10ml TBE Tamponu x 2 gr Agaroz) etidyum bromürlü agaroz jelde 102 mV (117 mA)'da ayrıştırılarak ürünlerin varlığı UV eşliğinde saptanmıştır. Saptanan PCR ürünü 252 bp'de görülür (Şekil 1).

### 2.1.9. PCR Ürünlerinin Alu I Restriksiyon Endonükleaz ile Kesimi

OPN polimorfizmi Alu I enzim kesim bölgesindedir. Amplifikasyon sonrası kontrolü tamamlanmış olan 252 bp'lik PCR ürünlerinden 8 µl, Alu I enziminden 0.5 µl ve 10X reaksiyon solüsyondan 2 µl alınarak oluşturulan 20 µl final volümlü karışım 37 °C'de bir gece süren Alu I (5' AGCT 3') restriksiyon endonükleaz enzimi kesimine tabi tutulmuştur. Kesim ürünleri %3'lük (10ml TBE Tamponu x 3 gr Agaroz) etidium bromürlü agaroz jelde 100mV (115 mA) akımda 60 dk.'da ayrıştırılmış ve UV eşliğinde genotiplendirilmesi yapılmıştır. Enzim kesimi sonucu 105+61+44+42 bp'deki alleller (CC) normal , 147+61+44 bp'deki alleller (TT) mutant olarak bulunmuştur. 147+105 bp'de görülen alleller ise heterozigot olarak kabul edilmiştir (Şekil 1).

**Tablo 2.** OPN (+8090) C/T polimorfizminde restriksiyon endonükleaz enzim kesim işlemi için gerekli karışım

	<i>Hacim (µl)</i>
H <sub>2</sub> O (distile)	9.5
10X Reaksiyon Solüsyonu	2
Alu I (Restriksiyon endonükleaz)	0.5
PCR ürünü	8
Toplam	20

**Şekil 13.** UV görünüm

3 1 3 3 3 2 4 5 3

1-105 bp CC homozygot

2-147 bp TT homozygot

3-105 ve 147 bp birlikteliği CT heterozygot

4-PCR ürünü 250 bp

5-DNA merdiveni (50 bp'lik)



### 2.1.10. Veri Analiz Yöntemleri

Çalışma sonucunda klinik ve laboratuvar kaynaklı tüm verilerin ve hesaplanan değerlerin istatistiksel analizleri, bilgisayar ortamında SPSS 14.0 paket programı kullanılarak yapıldı.

Kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerin yaşlarının karşılaştırılması bağımsız iki grup t testi kullanılarak, cinsiyet değerlendirilmesi ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher's Exact Test kullanılarak yapıldı.

Sağlıklı ve kronik periodontitisli grupların tüm ölçümler için KAS ortalama değerleri, SCD ortalama değerleri, tüm ağız kanama ve plak yüzdeleri hesaplandı. Gruplar arası analizler bağımsız iki grup t testi kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca cep ve ataşman değerleri tedavi etkinliğini incelemek için sığ ( $x \leq 3$ ), orta ( $4 \leq x \leq 6$ ) ve derin ( $7 \leq x$ ) olmak üzere gruplara ayrıldı.

Kronik periodontitisli ve sağlıklı bireyler için osteopontin genotip ve allel dağılım frekansları belirlendi. Pearson Ki-Kare Testi kullanılarak gruplara göre bu dağılım frekansları arası fark olup olmadığı ve genotip dağılımı ile cinsiyet arası ilişki değerlendirildi. Ayrıca çalışmaya dahil edilen gruplar için Hardy-Weinberg analizi yapılarak seçilen gen havuzunun toplumdaki yansımasına bakıldı.

Genotiplerin yarattığı risk oranları yani "odds ratio" değerleri ve güven aralıkları lojistik regresyon analizi kullanılarak hesaplandı. Ayrıca aynı analiz yöntemi ile yaş ve cinsiyete göre gerekli düzeltmeler yapılarak genotip dağılım

frekansları yeniden belirlendi.

Genotip dağılımının kronik periodontitisli bireylerin tedavisi üzerine etkileri ise tekrarlayan ölçümler için varyans analizi (ANOVA) yöntemi ile değerlendirildi.

## BÖLÜM III

### 3.1. BULGULAR

Çalışmamıza 44 erkek, 56 kadın toplam 100 birey katılmıştır. Bu bireylerin 50 tanesi sağlıklı kontrol grubunu (K), 50 tanesi kronik periodontitis grubunu (KP) oluşturmuşlardır.

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grubunun demografik özellikleri bakımından karşılaştırılması Tablo 3’de verilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet oranları bakımından istatistiksel fark ortaya çıkmazken yaş ortalamaları farklılık taşımaktadır.

**Tablo 3.** Kronik periodontitis grubu ile sağlıklı kontrol grubunun demografik özellikleri

	<b>Kronik Periodontitis</b>	<b>Sağlıklı Kontrol</b>	<b>P</b>
<b>Yaş</b> (Ortalama ± Standart sapma)	47.92±8.75	41.6±6.65	< 0.001*
<b>Yaş Aralıkları</b> (Minimum – Maximum)	30-71	30-57	
<b>Erkek/Kadın</b>	26/24	18/32	0.1

İki grup arasında, sondalanan cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) ölçümleri ile kanama ve plak yüzdelerini içeren periodontal parametreler açısından istatistiksel anlamlı fark gözlemlenmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının klinik periodontal parametreleri (Ortalama  $\pm$  Standart sapma)

	<b>Kronik Periodontitis</b>	<b>Sağlıklı Kontrol</b>	<b>P</b>
<b>SCD</b>	3.75 $\pm$ 0.82	1.35 $\pm$ 0.33	< 0.001*
<b>KAS</b>	4.98 $\pm$ 1.19	0.40 $\pm$ 0.48	< 0.001*
<b>Kanama %</b>	70.34 $\pm$ 24.61	7.12 $\pm$ 9.45	< 0.001*
<b>Plak %</b>	77.67 $\pm$ 23.14	12.83 $\pm$ 9.26	< 0.001*

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupların osteopontin (OPN) (+8090) C/T genotip ve allel dağılımları ve istatistiksel p değerleri Tablo 5’de verilmiştir. Genotip dağılımları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunurken allel dağılımları arasında fark bulunmamıştır.

**Tablo 5.** OPN genotip ve allel dağılımı

OPN (+8090) C/T		Kronik Periodontitis N(%)	Sağlıklı Kontrol N(%)
Genotip*	CC	14(28)	16(32)
	CT	24(48)	32(64)
	TT	12(24)	2(4)
	T pozitif**	36(72)	34(68)
Allel***	T	48(48)	36(36)
	C (Referans)	52(52)	64(64)

\* $\chi^2=8.42$ , p=0.015

\*\*  $\chi^2=0.19$ , p=0.663

\*\*\* $\chi^2=2.95$ , p=0.86, OR: 1.64, %95 CI: 0.932–2.891

OPN (+8090) CC genotip dağılımlarına göre (+8090) CT dağılımı ve (+8090) TT dağılımları istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 6’de verilmiştir. Buna göre OPN (+8090) TT genotipinin kronik periodontitis grubunda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı bulunmuştur.

**Tablo 6.** (+8090) CC genotip dağılımına göre (+8090) CT dağılımı ve (+8090) TT dağılımı karşılaştırılması

	Genotipler		
	CC (Referans)	CT	TT
<b>Kronik Periodontitis</b> N: 50	14	24	12
<b>Sağlıklı Kontrol</b> N:50	16	32	2
<b>P</b>	-	0.7	0.02*
<b>%95 CI (OR)</b>	-	0.35–2.09 (0.85)	1.3–36.06 (6.85)

Tablo 5 ve 6'da istatistiksel anlamlı gözlenen OPN (+8090) TT dağılımının yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş p ve odds ratio değerleri Tablo 7'de verilmiştir. Yaş ve cinsiyete göre düzeltmeler yapıldığında da benzer anlamlı sonuçlar bulunmuştur.

**Tablo 7.** OPN (+8090) TT dağılımının yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş p ve odds ratio değerleri

	<b>OR</b>	<b>%95 CI</b>	<b>P</b>
<b>Yaş</b>	1.12	1.05-1.20	< 0.001*
<b>Cinsiyet</b>	1.86	0.72-4.80	0.19
<b>(+8090) TT</b>	12.48	1.99-78.25	0.007*

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları için osteopontin (+8090) C/T genotip-cinsiyet dağılımları Tablo 8’de verilmiştir. Sonuçta genotip dağılımının cinsiyet üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

**Tablo 8.** Osteopontin (+8090) C/T genotip-cinsiyet dağılımı

OPN (+8090) C/T	Genotip	Erkek N (%)	Kadın N (%)	p
<b>Kronik Periodontitis</b>	CC	7 (26.9)	7 (29.2)	0.25 $\chi^2=2.75$
	CT	15 (57.7)	9 (37.5)	
	TT	4 (15.4)	8 (33.3)	
<b>Sağlıklı Kontrol</b>	CC	5 (27.8)	11 (34.4)	0.45 $\chi^2=1.57$
	CT	13 (72.2)	19 (59.4)	
	TT	0 (0.0)	2 (6.3)	



Araştırmamızda incelenen kronik periodontitisli, sağlıklı ve toplam hasta sayılarının Hardy-Weinberg değerlendirilmesi Tablo 9’de verilmiştir. Buna göre sağlıklı grup heterozigot birey sayısının fazlalığından dolayı Hardy-Weinberg yasasına uyum sağlamazken, kronik periodontitis ve toplam hasta sayıları uyum göstermektedir.

**Tablo 9.** Hardy-Weinberg değerlendirmesi

Tanı	Genotip	İncelenen Değer	Tahmin Edilen Değer	P
<b>Kronik Periodontitis</b> (N:50)	CC	14	$p^*p^*N = 13.52$	0.96 $\chi^2=0.07$
	CT	24	$2*p^*q^*N = 24.9599$	
	TT	12	$q^*q^*N = 11.5199$	
<b>Sağlıklı Kontrol</b> (N:50)	CC	16	$p^*p^*N = 20.48$	0.02* $\chi^2=7.56$
	CT	32	$2*p^*q^*N = 23.0399$	
	TT	2	$q^*q^*N = 6.4799$	
<b>Toplam</b> (N:100)	CC	30	$p^*p^*N = 33.64$	0.32 $\chi^2=2.23$
	CT	56	$2*p^*q^*N = 48.7199$	
	TT	14	$q^*q^*N = 17.6399$	

Kronik periodontitisli grupta başlangıç periodontal tedaviyi takiben idame protokolünü tamamlayan 38 adet örnekte, OPN (+8090) T alleli taşıyan CT ve TT grubu ile alleli taşımayan CC grubunun yaş ve cinsiyet açısından değerlendirilmeleri Tablo 10'de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında tedavinin sonucunu etkileyebilecek yaş ve cinsiyet gibi kavramlar açısından fark önem taşımamaktadır.

**Tablo 10.** Kronik periodontitisli grupta başlangıç periodontal tedaviyi takiben (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının yaş ve cinsiyet değerlendirmeleri

<b>Genotip</b>	<b>(+8090) CT+TT N:27</b>	<b>(+8090) CC N:11</b>	<b>P</b>
<b>Yaş (Ortalama ± Standart sapma)</b>	49.29±8.24	48.63±10.00	0.83
<b>Erkek/Kadın</b>	16/11	6/5	1.00

Kronik periodontitisli grupta osteopontin gen diziliminin +8090 nükleotid pozisyonunda T alleli taşıyan CT ve TT dağılımı ile alleli taşımayan CC dağılımına sahip bireylerde tedavi öncesi (Zaman 0) ve takip eden idame seanslarındaki sonдалanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), sondalamada kanama ve plak indeksi ortalama değerleri ile aralarındaki istatistiksel ilişki Tablo 11’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında klinik ataşman seviyesi değerlendirilmesinde farklılık gözlenmektedir.

**Tablo 11.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının periodontal klinik parametrelerinin değerlendirilmesi

Zaman	Periodontal Klinik Parametreler	CT ve TT N:27	CC N:11	P
0	SCD	3.62±0.69	3.81±0.61	0.44
	KAS	4.68±0.83	5.46±1.16	0.02*
	Kanama %	64.92±24.47	73.09±27.98	0.17
	Plak %	77.17±22.43	75.64±29.69	0.71
1. ay	SCD	2.78±0.50	2.74±0.61	0.44
	KAS	3.87±0.67	4.48±1.23	0.02*
	Kanama %	13.55±9.69	27.73±23.20	0.17
	Plak %	21.31±16.33	28.71±27.06	0.71
3. ay	SCD	2.61±0.43	2.85±0.52	0.44
	KAS	3.71±0.59	4.54±1.29	0.02*
	Kanama %	22.32±18.78	27.56±26.63	0.17
	Plak %	29.78±19.82	30.66±24.25	0.71
6. ay	SCD	2.65±0.34	2.77±0.58	0.44
	KAS	3.92±0.65	4.49±1.34	0.02*
	Kanama %	21.35±18.13	25.16±22.90	0.17
	Plak %	25.98±21.09	27.41±18.39	0.71

Tablo 11'deki genotip dağılımlarının periodontal klinik parametrelerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerin değerlendirilmesi Tablo 12'da verilmiştir. Buna göre tüm periodontal klinik parametreler açısından Zaman 0 ile diğer aylardaki fark istatistiksel anlamlıdır.

**Tablo 12.** OPN (+8090) CT+TT dağılımları ile (+8090) CC dağılımının periodontal klinik parametrelerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerinin değerlendirilmesi

Zaman	Zaman	SCD P	KAS P	Kanama % P	Plak % P
0	1. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*
	3. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*
	6. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*
1. ay	3. ay	1.000	1.000	0.690	0.657
	6. ay	1.000	1.000	1.000	1.000
3. ay	6. ay	1.000	0.892	1.000	1.000

Kronik periodontitisli grupta osteopontin gen diziliminin +8090 nükleotid pozisyonunda T alleli taşıyan CT ve TT dağılımı ile alleli taşımayan CC dağılımına sahip bireylerde tedavi öncesi (Zaman 0) ve takip eden idame seanslarındaki sondalanan cep derinlikleri (SCD) sığ ( $x \leq 3$ ), orta ( $4 \leq x \leq 6$ ) ve derin ( $7 \leq x$ ) olmak üzere gruplara ayrılmıştır. Bu gruplardaki değerlerin ortalamaları ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 13’de verilmiştir. Buna göre fark anlamsızdır.

**Tablo 13.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımı ile (+8090) CC dağılımını taşıyan bireylerde sondalanan cep derinliği (SCD) gruplarının (Sığ, orta, derin) değerlendirilmesi

Zaman	SCD	CT ve TT N:27	CC N:11	P
0	0-3 mm	85.96±26.77	75.91±21.47	0.10
	4-6 mm	48.37±20.96	49.82±18.15	0.31
	$7 \geq$ mm	8.81±8.72	11.18±9.52	0.52
1. ay	0-3 mm	113.15±26.84	99.73±23.95	0.10
	4-6 mm	26.19±18.50	31.18±17.78	0.31
	$7 \geq$ mm	3.37±4.83	3.91±4.61	0.52
3. ay	0-3 mm	116.78±25.50	101.91±22.84	0.10
	4-6 mm	20.37±15.46	28.18±18.50	0.31
	$7 \geq$ mm	2.63±4.54	3.73±3.66	0.52
6. ay	0-3 mm	117.85±22.47	100.73±26.24	0.10
	4-6 mm	20.37±14.83	29.55±23.97	0.31
	$7 \geq$ mm	2.59±4.80	3.45±3.72	0.52

Kronik periodontitisli grupta osteopontin gen diziliminin +8090 nükleotid pozisyonunda T alleli taşıyan CT ve TT dağılımı ile alleli taşımayan CC dağılımına sahip bireylerde tedavi öncesi (Zaman 0) ve takip eden idame seanslarındaki klinik ataşman seviyeleri (KAS) sığ ( $x \leq 3$ ), orta ( $4 \leq x \leq 6$ ) ve derin ( $7 \leq x$ ) olmak üzere gruplara ayrılmıştır. Bu gruplardaki değerlerin ortalamaları ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 14’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında 7 mm. ve üstü ataşman seviyesine sahip bölge sayılarında farklılık vardır.

**Tablo 14.** Kronik periodontitisli grupta (+8090) CT+TT dağılımı ile (+8090) CC dağılımını taşıyan bireylerde klinik ataşman seviyesi (KAS) gruplarının (Sığ, orta, derin) değerlendirilmesi

Zaman	KAS	CT ve TT N:27	CC N:11	P
0	0-3 mm	45.41±31.58	32.82±24.19	0.32
	4-6 mm	75.44±25.21	65.00±19.15	0.17
	7≥ mm	22.41±20.36	39.45±28.01	0.01*
1. ay	0-3 mm	65.78±30.98	53.18±34.95	0.32
	4-6 mm	63.41±26.15	55.27±14.25	0.17
	7≥ mm	12.52±10.91	25.27±20.97	0.01*
3. ay	0-3 mm	73.89±32.23	57.82±37.88	0.32
	4-6 mm	56.81±26.23	50.36±15.09	0.17
	7≥ mm	10.37±9.47	27.36±24.08	0.01*
6. ay	0-3 mm	63.22±36.65	59.45±36.92	0.32
	4-6 mm	65.33±28.74	48.27±15.83	0.17
	7≥ mm	12.07±11.54	26.82±25.62	0.01*

Tablo 13 ve 14'deki sondalanan cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) grup (Sığ, orta, derin) değerlerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerinin değerlendirilmesi Tablo 15'de verilmiştir. Buna göre sonuçlarda Zaman 0 ile diğer aylar arasındaki tüm farklar anlamlıdır.

**Tablo 15.** Sondalanan cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) grup (Sığ, orta, derin) değerlerinin tedavi öncesi (Zaman 0) ve idame seansları arasındaki değişimlerinin değerlendirilmesi

Zaman	Zaman	SCD (0-3 mm) p	SCD (4-6 mm) p	SCD (7≥mm) p	KAS (0-3 mm) p	KAS (4-6 mm) p	KAS (7≥ mm) p
0	1. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	0.019*	< 0.001*
	3. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	0.002*	0.001*
	6. ay	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	0.014*	0.001*
1. ay	3. ay	0.479	0.164	0.747	0.125	0.098	1.000
	6. ay	1.000	0.561	0.284	1.000	1.000	1.000
3. ay	6. ay	1.000	1.000	1.000	0.891	1.000	1.000

## BÖLÜM IV

### 4.1.TARTIŞMA

Periodontal araştırmaların temel hedeflerinden biri, hastalık aktivitesini hızlı bir şekilde saptamaktır. Bu hedefe ulaşıldığında, risk faktörlerini ve risk altındaki bireyleri saptama olasılığımız artar. Bu risk faktörleri başta periodontal mikroflora olmak üzere, sigara kullanımı, diabetes mellitus, yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum, stres ve genetik faktörler olarak belirtilir (144). Risk altındaki bireylerin tedavisi, prognozu ve idamesi de bu faktörler tarafından etkilenir.

Bu amaca yönelik olarak hastalığın erken safhasını saptayabilen testler, teşhis ve tedavinin sağlanmasında değer taşıyacaktır. Geçmişte bu amaca yönelik olarak klinik ataşman seviyesi ölçümü ve bu ölçümlerin tekrarlanmasıyla hastalık aktivitesinin belirlenmesi yöntemi ile yangı yanıtlarının dişeti oluğu sıvısında incelendiği yöntemler kullanılmıştır (29, 112). Son yıllarda ise moleküler biyoloji ve buna ait tekniklerin uygulama kolaylığının gelişmesiyle birlikte bu yöntemlere bir yenisini olarak genetik yatkınlık ve genotip-fenotip ilişkisini inceleyen çalışmalar eklenmiştir. Bu çalışmalar periodontal hastalığa bireysel yatkınlıkta kalıtımın rolünü tartışmaktadır (75, 77, 132). Bu çalışmalar başlıca sitokinler, lokosit antijeni (HLA), proteazlar, strüktürel moleküller, immuno-reseptörler ve diğerleri olmak üzere 6 grupta toplanabilir (Tablo 16).



**Tablo 16.** Periodontal hastalıklarda genotip-fenotip ilişkisini inceleyen çalışmalar

<b>SİTOKİNLER</b>				
<b>İncelenen Gen</b>	<b>Periodontal Hastalık</b>	<b>Restriksiyon Bölgesi</b>	<b>İlişki</b>	<b>Araştırmacı</b>
IL-1A	Kronik Periodontitis (İdame Tedavisi)	+4845	Anlamsız	Agerbaek M.R. ve ark
IL-1B		-3954		
IL-1A	Kronik	+4845	Anlamlı	Agrawal A.A. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3954		
IL-1B	Kronik	+3954	Anlamsız	Anusaksathien G.C. ve ark.
IL-1A	Periodontitis	-889		
IL-1A	Kronik	+4845	Anlamsız	Armitage G.C. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3954		
TGF-B1	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	+915, Thr263Ile, -713/8delC	Anlamlı (+915)	Atilla G. ve ark.
IL-1RN	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	VNTR (intron 2)	Anlamlı	Berdeli A. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-10	Kronik Periodontitis	-1087	Anlamlı	Berglundh T. ve ark.
IL-1A	Kronik Periodontitis (Gingival Hiperplazi)	-889	Anlamlı	Bostanci N. ve ark.
IL-1A IL-1B IL-6 Vitamin D reseptörü (VDR) TRL-4	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-889 +3954 -174 -1056 +339	Anlamlı	Brett P.M. ve ark.
IL-1A, IL-1B	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Cafese R.G. ve ark.
IL-1	Kronik Periodontitis	-	Anlamsız	Cattabriga M. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis	-889 +3953	Anlamsız	Christgau M. ve ark.
TNF-A	Kronik Periodontitis	-376, -308, -238, +489	Anlamsız	Craandijk J. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis	+4845 +3954	Anlamsız	Cullinan M.P. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-1A	Kronik Periodontitis	-889	Anlamlı (IL-6)	D' Aiuto F. ve ark.
IL-1B		-511, +3954		
TNF-A		-308		
IL-6		-174		
TRL-4		-299, -399		
IL-1	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	De Sanctis M. ve ark.
TGF-B1	Kronik Periodontitis	-509	Anlamlı	de Souza A.P. ve ark.
IL-1A, IL-1B	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Diehl S.R. ve ark.
IL-1A	Kronik Periodontitis	-889	Anlamlı	Ehmke B. ve ark.
IL-1B		+3953		
TNF-A	Agresif Periodontitis	-1031, -863, -857, -308, -238	Anlamsız	Endo M. ve ark.
IL-1B, TNF-A	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Engbretson S.P. ve ark.
Lenfotoksin	Kronik Periodontitis	+252	Anlamlı	Fassman A. ve ark.
TNF-A	Periodontitis	-308		
TNF-A	Kronik Periodontitis	-308	Anlamsız	Folwaczny M. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-1B TNF-A	Kronik Periodontitis	+3953 -308	Anlamsız	Galbraith G.M. ve ark.
TNF-A	Kronik Periodontitis	-238, -308, +252	Anlamlı	Galbraith G.M. ve ark.
IL-6	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	+48892, -183	Anlamlı (+48892)	Galicia J.C. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis (HIV pozitif)	+4845 +3954	Anlamsız	Goncalves Lde S. ve ark.
IL-4 (PP ve IP)	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Gonzales J.R. ve ark.
IL-10	Agresif Periodontitis	-597, -824	Anlamsız	Gonzales J.R. ve ark.
IL-1A	Agresif Periodontitis	+4845, +3954	Anlamsız	Gonzales J.R. ve ark.
IL-1B	Agresif Periodotitis	+3953	Anlamlı	Gore E.A. ve ark.
IL-1A IL-1B IL-1RN	Kronik Periodontitis	+4845 +3954, -511 +2018	Anlamlı (IL-1B -511)	Guzman S. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-10G	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Henning B.J. ve ark.
IL-1A	Agresif	-889	Anlamsız	Hodge P.J. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3953		
TGF-B1	Kronik Periodontitis	-988, -800, -509, L10P, R25P	Anlamsız	Holla L.I. ve ark.
IL-6	Kronik Periodontitis	-572	Anlamlı	Holla L.I. ve ark.
TNF-B, ACE Endotholin-1 (ET-1)	Kronik Periodontitis	NcoI bi I/D genotipi TaqI	Anlamlı	Holla L.I. ve ark.
IL-1A	Kronik Periodontitis	+4845	Anlamsız	Jansson H. ve ark.
IL-1B		-3954		
IL-6		-174		
IL-1	Gingivitis	-	Anlamsız	Jepsen S. ve ark.
IL-4	Kronik Periodontitis	-590	Anlamsız	Kang B.Y. ve ark.
IL-10, TNF-A	Agresif Periodontitis	R ve G mikrosatellite	Anlamsız	Kinane D.F. ve ark.
IL-1A	Kronik	-889	Anlamlı	Kornman K.S. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3953		

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-1A	Kronik Periodontitis	+4845	Anlamlı	Kornman K.S. ve ark.
IL-1B		+3954, -511		
IL-1RN		+3954		
IL-1A	Kronik	+4845	Anlamsız	Laine M.L. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3954		
IL-1A	Kronik Periodontitis (Peri-Implantitis)	+4845	Anlamlı (IL-1RN)	Laine M.L. ve ark.
IL-1B		+3953, -511		
IL-1RN		VNTR		
IL-1A	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	+4845	Anlamlı	Lang N.P. ve ark.
IL-1B		+3954		
IL-1RN		-		
IL-1A	Agresif Periodontitis	+4845	Anlamlı	Li Q.Y. ve ark.
IL-1B		-511, +3954		
IL-1RN		-		
IL-1A	Kronik	-889	Anlamsız	Mark L.L. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3953		
IL-1A	Kronik Periodontitis	-889	Anlamlı	McDevitt M.J. ve ark.
IL-1B		+3954		

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-889 +3954	Anlamsız	Meisel P. ve ark.
IL-1A IL-1B IL-1RN	Kronik Periodontitis	-889 +3954 -	Anlamsız	Meisel P. ve ark.
IL-1	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamlı	Meisel P. ve ark.
IL-4 (PP ve IP)	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Michel J. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	+4845 +3953	Anlamsız	Papapanou P.N. ve ark.
IL-1B	Agresif Periodontitis	+3953	Anlamlı	Parkhill J.M. ve ark.
TNF-A	Agresif Periodontitis	-308	Anlamsız	Perez J. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-1	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Persson G.R. ve ark.
IL-4	Kronik Periodontitis	-590	Anlamsız	Pontes G.R. ve ark.
IL-1A	Agresif Periodontitis	-889	Anlamlı	Quappe L. ve ark.
IL-1B		+3954		
IL-1A	Kronik Periodontitis	-889	Anlamsız	Rogers M.A. ve ark.
IL-1B	ve Agresif Periodontitis	+3953		
IL-1A	Kronik Periodontitis	+4845	Anlamsız	Sakellari D. ve ark.
IL-1B		+3954		
IL-1A	Kronik Periodontitis	+4845	Anlamsız	Sakellari D. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3954		
TNF-A	ve	-308		
COL1A1	Agresif	Sp1		
IL-1RN	Periodontitis	VNTR (İntron 2)		
IL-1RN	Agresif Periodontitis	+3935	Anlamlı	Scapoli C. ve ark.
IL-1B		-511	(IL-1RN)	
IL-10 (ATA haplotip)	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Scarel Caminaga R.M. ve ark.



İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
IL-2	Kronik Periodontitis	-330	Anlamlı	Scarel Caminaga R.M. ve ark.
IL-4	Kronik Periodontitis	-590	Anlamsız	Scarel Caminaga R.M. ve ark.
TNF-A	Agresif Periodontitis	-308	Anlamsız	Shapira L. ve ark.
TNF reseptör 2	Kronik Periodontitis	+587	Anlamlı	Shimada Y. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis	-889 +3953	Anlamlı	Shirodaira E.S. ve ark.
IL-1A IL-1B	Kronik Periodontitis	+4845 +3954	Anlamlı	Socransky S.S. ve ark.
TNF-A	Kronik Periodontitis	-1031, -863, -857	Anlamlı	Soga Y. ve ark.
IL-1A IL-1B IL-1RN	Agresif Periodontitis	+4845, -511, +3954 VNTR	Anlamlı	Tai H. ve ark.
IL-6	Kronik Periodontitis	-174	Anlamlı	Trevilatto P.C. ve ark.
IL-1A IL-1B TNF-A IL1-RN	Agresif Periodontitis	-889 +3953, -511 -308 Intron 2	Anlamsız	Trevilatto P.C. ve ark.

<b>İncelenen Gen</b>	<b>Periodontal Hastalık</b>	<b>Restriksiyon Bölgesi</b>	<b>İlişki</b>	<b>Araştırmacı</b>
IL-1A	Agresif	-889	Anlamlı	Walker S.J. ve ark.
IL-1B	Periodontitis	+3953	(IL-1B)	
IL-10 (Promotor Bölge)	Kronik Periodontitis	-	Anlamsız	Yamazaki K. ve ark.
<b>LOKOSİT ANTİJENİ (HLA)</b>				
HLA-D	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Alley C.S. ve ark.
HLA-A9, HLA-A10	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Amer A. ve ark.
HLA-DQw1	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Arai H. ve ark.
HLA-DR4	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamlı	Bonfil J.J. ve ark.
HLA-DR2, HLA-A33	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Cogen R.B. ve ark.
HLA-DR2, HLA-DR4, HLA-DR53, HLA-DQw3	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Dyer J.K. ve ark.
HLA-A24, HLA-DR4	Agresif Periodontitis	-	Anlamlı	Firatli E. ve ark.

<b>İncelenen Gen</b>	<b>Periodontal Hastalık</b>	<b>Restriksiyon Bölgesi</b>	<b>İlişki</b>	<b>Araştırmacı</b>
HLA-DQB1	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Hodge P.J. ve ark.
HLA-A2, HLA-A9	Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Izumi Y. ve ark.
HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR	Agresif Periodontitis	-	Anlamli (HLA-A9)	Klouda P.T. ve ark.
HLA-A, HLA-B, HLA-Cw, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5, HLA-DQB1	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Machulla H.K. ve ark.
HLA	Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Nishimura F. ve ark.
HLA-DRB1, HLA-DQB1	Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Nitta H. ve ark.
HLA-DQB1, HLA-DRB1, HLA-DQA1	Agresif Periodontitis	-	Anlamli (HLA-DQB1)	Ohyama H. ve ark.
HLA-DQB1, HLA-A, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamli (HLA-DQB1)	Reichert S. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
HLA-A, HLA-B, HLA-Cw, HLA- DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA- DRB5, HLA-DQB1	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamlı	Stein J. ve ark.
HLA-A2	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Terasaki P.I. ve ark.
HLA-DRB1 HLA-DQB1	Agresif Periodontitis	- BamHI	Anlamlı	Takashiba S. ve ark.

#### PROTEAZLAR

MMP-1	Kronik Periodontitis	-1607, 1G/2G, -519	Anlamsız	Astolfi C.M. ve ark.
MMP-3		-1612		
MMP-1	Kronik Periodontitis	-1607, 2G	Anlamlı	Cao Z. ve ark.
MMP-1	Agresif Periodontitis	-1607, 2G	Anlamlı	Cao Z. ve ark.
MMP-9 TIMP-2	Kronik Periodontitis	-1562 -418	Anlamsız	de Souza A.P. ve ark.
MMP-1	Kronik Periodontitis	-1607, 2G	Anlamlı	de Souza A.P. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
MMP-2	Kronik Periodontitis	-1575, -1306, -790, -735	Anlamsız	Holla L.I. ve ark.
MMP-1	Kronik Periodontitis	-1607, 1G	Anlamlı	Holla L.I. ve ark.
MMP-1 MMP-3	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-1607 -1171	Anlamsız	Itagaki M. ve ark.
Plasminojen Aktivatör İnhibitörü-1 (PAI-1)	Kronik Periodontitis	4G/4G genotipi	Anlamlı	Izakovicova Holla L. ve ark.
MMP-9	Kronik Periodontitis	-1562	Anlamlı	Keles G.C. ve ark.
<b>STRÜKTÜREL MOLEKÜLLER</b>				
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	+587	Anlamlı	Cury V.F. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Kronik Periodontitis	TaqI, BsmI	Anlamlı	De Brito Junior R.B. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	+815, +1213	Anlamlı	de Haar S.F. ve ark.
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	-	Anlamlı	Hart T.C. ve ark.
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	+1040	Anlamsız	Hart T.C. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Agresif Periodontitis	TaqI	Anlamsız	Hennig B.J. ve ark.
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	+386, +935, +1235	Anlamsız	Hewitt C. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	TaqI, ApaI	Anlamlı (ApaI)	Inagaki K. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
Vitamin D reseptörü (VDR)	Agresif Periodontitis	FokI, BsmI, TaqI	Anlamlı (FokI)	Park K.S. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Agresif Periodontitis	TaqI	Anlamlı	Sun J.L. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	TaqI	Anlamlı	Tachi Y. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Kronik Periodontitis	TaqI	Anlamlı	Tachi Y. ve ark.
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	-	Anlamlı	Toomes C. ve ark.
Cathepsin C (CTSC)	Agresif Periodontitis (Papillon Lefevre)	1213-1215 delCAT (ekzon 7) 629-630delGA (ekzon 4)	Anlamlı	Wani A.A. ve ark.
Vitamin D reseptörü (VDR)	Agresif Periodontitis	B/b genotip	Anlamsız	Yoshihara A. ve ark.

## İMMUNORESEPTÖRLER

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
FcγRIIa	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	131R	Anlamsız	Chung H.Y. ve ark.
Gm (23) allotip	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Chung H.Y. ve ark.
FcγRIIa, FcγRIIIa (Haplotip) Gm(23) allotip	Kronik Periodontitis	-	Anlamsız	Colombo A.P. ve ark.
FcγRIIa FcγRIIIb	Agresif Periodontitis	131H NA1/NA2	Anlamlı	de Souza R.C. ve ark.
CD14	Kronik Periodontitis	-159	Anlamlı	Folwaczny M. ve ark.
CCR5 (Delta 32)	Kronik Periodontitis	-	Anlamsız	Folwaczny M. ve ark.
TRL-2 TRL-4		Arg753Gln, Arg677Trp Asp299Gly, Thr399Ile	Anlamsız	Folwaczny M. ve ark.
FMLP (N-formil peptid reseptörü)	Agresif Periodontitis	-	Anlamlı	Gwinn M.R. ve ark.



İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
CD14	Kronik Periodontitis	-1359	Anlamlı	Holla L.I. ve ark.
FcαRI (CD89)	Agresif Periodontitis	-324	Anlamlı	Kaneko S. ve ark.
FcγRIIa	Kronik Periodontitis (Lupus Eritamatosus)	131R	Anlamlı (FcγRIIa)	Kobayashi T. ve ark.
FcγRIIIa		158V		
FcγRIIIb		NA1/NA2		
FcγRIIIb	Agresif Periodontitis	NA2	Anlamlı	Kobayashi T. ve ark.
FcγRIIIa	158F			
FcγRIIIb	Agresif Periodontitis	NA2	Anlamlı	Kobayashi T. ve ark.
FcγRIIIb	Kronik Periodontitis	NA2	Anlamlı	Kobayashi T. ve ark.
FcγRIIIb	Kronik Periodontitis	NA2	Anlamlı	Kobayashi T. ve ark.
FcγRIIIa		158V		
CD14	Kronik Periodontitis	-260	Anlamlı	Laine M.L. ve ark.
TRL4	Periodontitis	299Asp/Gly 399Thr/Ile	(CD14)	ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
FcγRIIa FcγRIIIa	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	H/H genotipi 158V	Anlamlı	Loos B.G. ve ark.
FcγRIIIa	Kronik Periodontitis	V/V genotip	Anlamlı	Meisel P. ve ark.
NADPH oksidaz (CYPA) FcγRIIa FcγRIIIa FcγRIIb FcγRIIIb	Agresif Periodontitis	+242 - - -	Anlamlı (CYPA, FcγRIIIb)	Nibali L. ve ark.
FcγRIIIb	Kronik Periodontitis	NA1	Anlamlı	Sugita N. ve ark.
FcγRIIIa (CD16)	Kronik Periodontitis	-158	Anlamlı	Sugita N. ve ark.
FcγRIIa	Kronik Periodontitis	131R	Anlamlı	Tang Y. ve ark.
FcγRIIa	Kronik Periodontitis	H/H genotip	Anlamsız	Yamamoto K. ve ark.
CD14	Kronik Periodontitis	-159	Anlamsız	Yamazaki K. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
FcγRIIb	Kronik Periodontitis	nt 695/+232 (ekzon 5)	Anlamlı	Yasuda K. ve ark.
FcγRIIb	ve Agresif Periodontitis	nt 646/-184 (intron 4)		

Vitamin D reseptörü (VDR)	Agresif Periodontitis	B/p genotip	Anlamlı	Yoshihara A. ve ark.
FcγRIIb (Haplotip)		NA1/NA2		

#### DİĞER MOLEKÜLLER

Endotelysel nitrik asit sentaz (eNAS)	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	Glu298Asp	Anlamlı	Berdeli A. ve ark.
---------------------------------------	---	-----------	---------	--------------------

Beta Defensin 1 (DEFB1)	Agresif Periodontitis	-44	Anlamsız	Boniotto M. ve ark.
-------------------------	-----------------------	-----	----------	---------------------

NOD2/CARD15	Kronik Periodontitis	3020insC	Anlamsız	Folwaczny M. ve ark.
-------------	----------------------	----------	----------	----------------------

Bakterisidal permeabilite artış proteini (BPI)	Kronik Periodontitis	+645	Anlamsız	Glas J. ve ark.
--	----------------------	------	----------	-----------------

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
Vitamin D bağlayıcı protein	Agresif Periodontitis	4q12-13	Anlamsız	Hart T.C. ve ark.
RAGE	Kronik Periodontitis	-1704, -2184, +G82S	Anlamlı (-1704)	Holla L.I. ve ark.
Sitokrom P450 1A1 (CYP1A1), CYP2E1, Glutathion S-transferaz M1 (GSTM1)	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı (GSTM1, CYP1A1)	Kim J.S. ve ark.
N-asetil transferaz 2 (NAT2)	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Kocher T. ve ark.
NOD2/CARD15	Kronik Periodontitis	3020insC, C2104T	Anlamsız	Laine M.L. ve ark.
Prostaglandin endoperoksidaz sentaz 2 (PTGS2), Siklooksijenaz 2 (COX2)	Agresif Periodontitis	1q25	Anlamsız	Li Y. ve ark.
Myeloperoksidaz (MPO)	Kronik Periodontitis	-463	Anlamlı	Meisel P. ve ark.
NAT2	Kronik Periodontitis	-	Anlamlı	Meisel P. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
CARD15	Agresif Periodontitis	R702W, G908R, L1007fsX1008	Anlamsız	Noack B. ve ark.
Koloni stimule edici faktör-1 (CSF1)	Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Rabello D. ve ark.
Fibrinogen	Kronik Periodontitis	-455	Anlamli	Sahingur S.E. ve ark.
Eksik alfa 1-antitripsin allelleri (PI*Z, PI*S)	Kronik Periodontitis	-	Anlamsız	Scot D.A. ve ark.
RANK, RANKL, OPG	Agresif Periodontitis	-	Anlamsız	Soedarsono N. ve ark.
244 gende 637 snp incelemesi	Kronik Periodontitis	-	Anlamli	Suzuki A. ve ark.
125 gende 310 snp İncelemesi	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	-	Anlamli	Suzuki A. ve ark.

İncelenen Gen	Periodontal Hastalık	Restriksiyon Bölgesi	İlişki	Araştırmacı
Sitotoksik T lenfosit antijeni 4 (CTLA-4)		+49		
Beta defensin 1 (DEFB1)		+692		
İnterselüler adezyon molekülü 1 (ICAM1)		+1548		
Fas ligand (fasL) Başlatıcı	Kronik Periodontitis	-844	Anlamsız	Wohlfahrt J.C. ve ark.
kostimülâtör (ICOS)		+3990		
IL-6		-174		
Sistein-sistein kemokin reseptörü (CCR5)		+59653		
Osteopotegrin (OPG)		+245		
OPN		+707		
Ostrojen reseptör alfa (ER-A)	Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis	PvuII ER restriksiyon enzimi	Anlamsız	Zhang L. ve ark.
Ostrojen reseptör alfa (ER-A)	Kronik Periodontitis	XbaI ER restriksiyon enzimi	Anlamlı	Zhang L. ve ark.

<b>İncelenen Gen</b>	<b>Periodontal Hastalık</b>	<b>Restriksiyon Bölgesi</b>	<b>İlişki</b>	<b>Araştırmacı</b>
Yüksek afiniteli fMLP reseptörü (FPR1)	Agresif Periodontitis	+329, +378	Anlamli	Zhang Y. ve ark.

Çalışmamızda incelediğimiz asidik, hidrofilik özellikleri bulunan ve yüksek oranda negatif yük taşıyan OPN molekülü ise; ETA-1 etkisi, makrofajlar üzerine olan etkileri, biyomineralizasyondaki görevleri ile hem sitokin hem de doku yapı molekülü grubuna dahil edilebilir (153). OPN fosforalize ve glikolize bir protein olup yaklaşık 300 amino asitten oluşur ve içerdiği 6 intron ile 7 ekzonun çeşitli bölgelerinde polimorfik alanlar saptanmıştır (225).

1975 yılında Terasaki ve arkadaşlarının (119) yaptığı doku tipleriyle ilgili çalışmalarıyla genetik faktörler ile periodontal hastalıklar arasında ilk kez ilişki saptanmıştır. Bu çalışmanın ardından çeşitli yangı sitokini (IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, TGF, Lenfotoksin, ET-1, ACE, COL1A1), lokosit antijeni (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, HLA-Cw, HLA-DR, HLA-DQ), proteaz (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-2, PAI-1), strüktürel molekül (CTSC, VDR), immuno-reseptör (FcR, CCR5, CD14, Gm-23, TRL, FMLP) ve belli bir sınıflamaya dahil edilemeyecek çeşitli diğer molekülleri (eNAS, DEFB1, BPI, CSF1, CARD15, RANK, RANKL, OPG, CTLA-4, ICAM1, fasL, ICOS, CCR5, OPN, ER-A, CYP, GSTM1, NAT2, PTGS2, COX2, MPO, Fibrinojen, VitD bağlayıcı protein, PI\*Z, PI\*S, ER-A, FPR1, RAGE, NOD2/CARD15) kodlayan genlerin farklı yapısal formları (polimorfizm) incelenerek periodontal hastalıklar ve genetik faktörler arasındaki ilişkiler saptanmaya çalışılmıştır (192). Periodontal hastalık ve konak genetiği ilişkisi anlamında ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde ise Türk toplumuna yönelik olarak planlanmış araştırma sayısının az olduğu gözlenmektedir (14, 15, 95). Genellikle yapılan bu araştırmaların çoğu tek gen polimorfizmlerini kapsar. Bizim çalışmamız ise Türk toplumundaki kronik periodontitisli hastalarda osteopontin genotip dağılımı ve allel sıklığını belirleyen, genotip-fenotip ilişkisini



saptamaya çalışan ilk araştırmadır.

Çalışmamızda Türk toplumundaki bireylerde, OPN geni +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitise yatkınlıktaki rolü, genotipin fenotip üzerine etkileri ve periodontal tedaviye verilen yanıt ile genotipin ilişkisi değerlendirilmiştir. Verilerimiz Türk toplumunda OPN geninin +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitise yatkınlıkta önem taşıyabileceğini ortaya koymaktadır. Buna göre genotip dağılımları kronik periodontitis (CC %28, CT %48, TT %24) ve sağlıklı kontrol grupları (CC %32, CT %64, TT %4) arasında istatistiksel anlam ifade eder ( $\chi^2=8.42$ ,  $p=0.015$ ). Bu sonuç bu çalışmanın sınırları içerisinde OPN geninin +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitis patogenezinde rol alan önemli faktörlerden biri olabileceğini bize göstermektedir.

OPN öncü T hücrelerini aktive ederek yangı ve bağışıklıkta kilit rol oynayan önemli bir sitokindir (5). Periodontal hastalıkların patogenezinde OPN'nin rolünü belirlemek için Sharma C.G. (178) ile Kido J. ve ark. (97) yaptıkları çalışmalarda hastalık aktivitesiyle birlikte dişeti oluğu sıvısında OPN'nin arttığını saptamışlardır. Bu sonuçlara göre OPN, bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçla uyumlu olarak periodontal hastalık gelişimi ve aktivitesini erken teşhisinde önemli bir öncül yangı sitokinidir. OPN C/T polimorfizminin kronik seyirli yangılı hastalıklardaki rolünün incelendiği diğer çalışmalarda da benzer anlamlı sonuçlar bulunmuş ve OPN TT genotipinin öncül yangı özelliği vurgulanmıştır (85, 133, 134, 136).

OPN geni C/T polimorfizminin araştırıldığı kronik periodontitise benzer prognoz ve hastalık gelişimi gösteren sistemik hastalıklar incelendiğinde romatoid

artrit, mutipl skleroz ve sistemik lupus eritematosus karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalıklardan romatoid artritte, Marciano R. ve ark. (126) bizim çalışmamızla uyumlu olarak OPN gen polimorfizminin etkilerini olumlu bulurken Xu G. ve ark. (226) ile Urcelay E. ve ark. (206) bu hastalarda OPN polimorfizminin etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Araştırcılar bu sonucun seçilen farklı restriksiyon bölgeleri veya farklı ırklardaki genotip çeşitliliğinden kaynaklanabileceğini belirtmektedirler. Ancak romatoid artritli bireylerde eklem sinoviyal sıvısında OPN proteinin atışını ve bu artışın yıkımla olan ilişkisini saptayan çalışmalar da vardır (161, 227, 232). Bu bağlamda periodontal hastalıklarda OPN polimorfizmiyle ilgili olarak farklı restriksiyon alanlarında ve farklı ırklarda değişik sonuçlar elde edilebilir.

Diğer bir hastalık olan multipl skleroz (MS) hastalarında ise Caillier S. ve ark. (27) +1284 nükleotid pozisyonunda, Niino M. ve ark. (145) +8090 nükleotid pozisyonunda OPN gen polimorfizminin etkileri saptanırken Hensiek A.E. ve ark. (81) ise OPN geninin 6. ile 7. ekzonlarında benzer etkiyi bulamamışlardır. Çalışmamızda da Niino ve ark. (145) anlamlı sonuç elde ettiği +8090 nükleotid pozisyonu hedef bölge olarak seçilmiştir. D'Alfonso S. ve ark. (50) OPN geni -156 promoter bölgesi ile +1239 nükleotid pozisyonunda, Forton A.C. ve ark. (63) +707 nükleotid pozisyonunda OPN gen polimorfizminin etkilerini sistemik lupus eritematosus (SLE) ile ilişkili bulmuşlardır. Buradan yola çıkarak Wohlfahrt J.C. ve ark. (222)'nın beyaz ırka ait 219 kronik periodontitisli hastada yaptıkları çalışmada +707 nükleotid pozisyonunda OPN gen polimorfizmi ile kronik periodontitis arasında çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak herhangi bir ilişki saptayamamışlardır.

OPN'nin mineralizasyondaki rolünü irdeleyen genetik çalışmalara bakıldığında Cailhier J.F. ve ark. (27), Yamate T. ve ark. (232) ile Gao B. ve ark. (65) çalışmaları görülmektedir. Cailhier J.F. ve ark. (26) 154 çift kardeşi içeren çalışmasında OPN'nin mineralizasyonda genetik rolü olmadığını gösterirken, Gao B. ve ark. (64) 76 adet üriner kalsifikasyonu bulunan hasta grubunu 124 adet sağlıklı bireyle karşılaştırarak OPN'nin 287. amino asit bölgesindeki Arg/His değişiminin etkisini göstermişlerdir. Benzer şekilde Yamate T. ve ark. (228) 36 adet kontrol ve 40 adet üritaliyaz hastası ile 25 adet ailede üritaliyaz hikayesi bulunan birey üzerinde çalışarak OPN'nin 250. amino asit pozisyonuna uygun gelen nükleotid kodonundaki C/T (GCC/GCT, Ala250Ala) polimorfizminin üriner kalsifikasyon üzerinde etkisi olabileceğini belirtmişlerdir.

OPN gen polimorfizminin +8090 C/T nükleotid pozisyonunda kronik periodontitiste genotip-fenotip ilişkisini araştıran herhangi yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu polimorfizm ile Iwasaki H. ve ark. (90), Niino M. ve ark. (145) ile Hensiek A.E. ve ark. (81)'nin çalışmaları vardır. Hensiek A.E. ve ark. (81) çalışmasında beyaz ırka ait 1056 multipl sklerozlu birey ile 325 adet kontrol hastasının genotipleri ve allel sıklıkları karşılaştırılmış fakat anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Niino M. ve ark. (145) yaptığı çalışmada ise Japon ırkına ait 116 hastadan oluşan multiple skleroz grubu ile 124 adet hastadan oluşan kontrol gruplarında OPN genini 3 farklı (+8090, +9250, +9583) polimorfizm açısından karşılaştırarak çalışmamızla uyumlu anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Iwasaki H. ve ark. (90) çalışmalarında 24 Japon bireye ait genomik DNA'dan OPN geni 1, 3, 5 intronu ile 6 ve 7 ekzonu bölgelerine direkt DNA dizileme yöntemi uygulayarak polimorfik bölgeleri saptamaya çalışmışlardır. Ayrıca bu çalışmalardan yola çıkılarak

etnik farklılıkların OPN geni (+8090 C/T) dağılımına etkisi araştırıldığında Türk toplumundaki dağılımın bu çalışmalarla ve pubmed genetik bilgi bankası ile de uyumlu olduğunu görmekteyiz (225).

Araştırmamız Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına başvuran hastalar üzerine tek merkezli olarak planlanmıştır. Epidemiyolojik çalışmalarda, periodontitise bireysel yatkınlık gösteren hastaların fenotiplerinin doğru ve hassas belirlenmesi periodontal hastalıkların genotip-fenotip ilişkisini açıklamada önemli rol oynamaktadır (222). İlişkilendirme yapılacak hastalığın kriterlerini net belirlemeye çalışmak ve bu hastalığın temel kriterlerine sahip bireyleri çalışma grubu olarak seçmek çalışma sonuçlarının daha güvenilir olmasını sağlamaktadır. Hastalık kriterlerini daraltarak genetik heterojiniteyi minimize etmek ve daha kesin sonuçlar elde etmek amacıyla çalışma grubu AAP (4)'nin belirttiği kronik periodontitis kriterlerine göre seçilmiştir. Ayrıca periodontal prognozu etkileyecek sigara kullanımı, kronik antienflamatuvar ilaç kullanımı, diabetes mellitus, hamilelik ve otoimmün sistemik hastalıklar gibi risk faktörleri de elimine edilmiştir (210).

Kronik periodontitis için önemli risk faktörlerinden biri de yaştır. Aynı genetik ve çevresel faktörlerin uzun süreli birikmiş kümülatif etkisi hastalık olasılığını arttırmaktadır (155). Bu sebepten ötürü hastaların yaş grubu Amerika Birleşik Devletleri'nde 1988-1994 yıllarında yapılan epidemiyolojik araştırmaya göre 30 yaş ve üstü olarak belirlenmiştir (2). Cinsiyet ile periodontal hastalık ilişkisi incelendiğinde ise, genel olarak kadınların periodontal hastalığa yakalanma risklerinin erkeklerden daha düşük olduğuna inanılmaktadır (3). Buna dayanarak,

araştırmamızda gruplar arasındaki cinsiyet dağılımı dengeli tutulmaya çalışılmıştır (KP'de Erkek/Kadın 26/24; K'de Erkek/Kadın 18/32; Toplamda Erkek/Kadın 44/56).

Kronik periodontitisin tedavisinde uygulanan başlangıç periodontal tedavisi sonrasındaki doku iyileşmesinin büyük bir bölümü ilk 6 ayda gerçekleşir (144). Buna dayanarak çalışmamıza katılan hastaların tedavi öncesi sondalanan cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, tüm ağız sondalamada kanama ve plak skorları kaydedilmiştir. Bu değerler tedavi bitimini takiben 1, 3 ve 6 aylarda tekrarlanarak tedavi sonrası periodontal iyileşme gözlemlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu iyileşme OPN +8090 C/T polimorfizmini taşıyan ve taşımayan bireylerde karşılaştırılarak OPN polimorfizminin peridontal tedavi sonrası iyileşme üzerine etkileri incelenmiştir. OPN +8090 C/T polimorfizmini taşıyan ve taşımayan kronik periodontitisli bireyler yaş ve cinsiyet açısından da değerlendirilmiş ve anlamlı bir fark bulunamamıştır. Böylece hastaların genotipleri dışında tedavi sonucunu etkileyebilecek faktörler elimine edilmiş olur. Çalışmanın tedavi takip protokolüne uyan 38 adet kronik periodontitisli birey değerlendirildiğinde tedavi sonrası iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç Wolf D.L. ve ark. (223), König J. ve ark. (103), Ehmke B. ve ark. (58)'nın başlangıç periodontal tedavisini genotiple ilişkilendirmeye yönelik IL-1 sitokin ve Fc-gama reseptör polimorfizminin incelendiği çalışmalarıyla uyum sağlamaktadır. Fakat destekleyici periodontal tedavinin genotip ile ilişkisini araştıran Persson G.R. ve ark. (159) polimorfik bireylerin tedaviye daha iyi yanıt verdiğini belirtmiş ve Cattabriga M. ve ark. (31) yaptığı retrospektif çalışmayla da bu farkı destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Caffesse R.G. ve ark. (25) mukogingival cerrahi sonrasındaki doku iyileşmesini IL-1 polimorfizmi ile ilişkilendirerek yaptığı çalışmada da iki grup arasında kök yüzey

örtümü ortalama yüzdesi açısından fark bulamamışlardır. Fakat polimorfizm taşımayan bireylerde kök yüzeyinin tam olarak örtüldüğü diş miktarının daha fazla olduğu belirtmişlerdir. IL-1 polimorfizminin yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tedavisinin başarısıyla ilişkisini irdeleyen Christgau M. ve ark. (37) yaptığı 1 yıl takipli çalışmada anlamlı bir sonuç elde edilemezken, De Sanctis M. ve ark. (56) yaptığı 4 yıllık uzun dönem takipli çalışma sonucunda anlamlı ilişki saptanmıştır. Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere periodontal doku iyileşmesinin değerlendirildiği değişik araştırmalarda elde edilen farklı sonuçlar incelenen polimorfizmlere bağlı olarak değişmektedir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar ise OPN +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitis hastalarında başlangıç periodontal tedaviyi takiben 6 aylık süre sonunda doku iyileşmesinde fonksiyonel bir rol üstlenmediğini göstermektedir. Takip süresinin daha uzun seçildiği yeni çalışmalar ile OPN +8090 C/T polimorfizminin periodontal iyileşme üzerindeki etkilerini belirlemede yararlı olabilir.

Yaptığımız araştırmanın sonucunda, kronik periodontitis grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında başlangıç klinik periodontal parametreler, OPN (+8090) TT homozigot mutant allel dağılımı ve yaş açısından anlamlı farklar gözlenirken cinsiyet açısından fark gözlenmemektedir. Gruplar arasındaki yaş farkının en önemli sebebi hasta sayısı ile ilişkilidir. Benzer şekilde Hardy-Weinberg yasasına kronik periodontitis grubu uyum gösterirken, sağlıklı kontrol grubu hasta sayısına bağlı olarak aynı uyumu göstermez fakat hastaların toplamı yasaya uyum sağlamaktadır. OPN +8090 geninde CT genotip dağılımı (K %64; KP %48), CC dağılımına göre (K %32; KP %28) istatistiksel anlam ifade etmezken ( $p=0.7$ ), TT genotip dağılımı (K %4; KP %24) anlam taşımaktadır ( $p=0.02$ , OR 6.85, %95 CI 1.3–36.06). Bu sonuçta

göre yapılan çalışmanın sınırları içerisinde Türk toplumunda OPN (+8090) TT genotipi taşıyan bireylerde kronik periodontitise rastlanma olasılığı OPN polimorfizmi taşımayan bireylere oranla 6.85 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. OPN T allel sıklığı incelendiğinde ise kronik periodontitis (%48) ve sağlıklı (%36) grupları arasında fark bulunmadığı görülmüştür ( $\chi^2=2.95$ ,  $p=0.86$ , OR: 1.64, %95 CI: 0.932–2.891). Benzer şekilde T allellini taşıyan kronik periodontitis (%72) ve sağlıklı kontrol (%68) gruplarına ait bireyler karşılaştırıldığında da fark gözlenmemektedir ( $\chi^2=0.19$ ,  $p=0.663$ ). Bu sonuçların en önemli sebebi ise sağlıklı kontrol grubundaki OPN CT heterozigot birey sayısının fazlalığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kronik periodontitis grubunda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı saptanan OPN (+8090) TT genotipinin yaş ve cinsiyete göre istatistiksel düzenlemesi yapıldığında da benzer anlamlı sonuçlar görülür ( $p=0.07$ , OR:12.48, %95 CI:1.99-78.25). OPN geni +8090 C/T polimorfizmi Türk toplumunda kronik periodontitise yatkınlık oluşturabilecek genetik faktörlerden biri olabilir. Bu konuda daha fazla hastanın dahil edileceği çalışmalar +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitisin patogenezindeki rolünün belirlenmesine yardımcı olacaktır.

## BÖLÜM V

### 5.1. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kronik periodontitis (KP) ve sağlıklı kontrol (K) hastalarından oluşan toplam 100 bireyin OPN (+8090) C/T gen polimorfizminin değerlendirildiği araştırmamızda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Türk toplumunda OPN (+8090) C/T gen polimorfizmi, KP ve K grupları karşılaştırıldığında anlamlı fark göstermektedir. Buna göre toplumumuzda polimorfizmi taşıyan KP'li bireylerin erken teşhis ve tedavileri, hastaların periodontal idamelerinin düzenli planlanması ile mümkün olabilir.
- Türk toplumunda OPN (+8090) TT genotipi taşıyan homozigot mutant bireylerde kronik periodontitise rastlanma olasılığı OPN polimorfizmi taşımayan bireylere oranla 6.85 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu oran OPN (+8090) C/T polimorfizminin KP için önemli risk faktörlerinden biri olabileceğini belirtir.
- KP ve K gruplarındaki cinsiyet dağılımı göz önüne alınarak OPN (+8090) C/T genotip dağılımının değerlendirilmesi yapıldığında anlamlı bir fark gözlemlenmez ve bu da cinsiyet dağılımının OPN (+8090) C/T polimorfizmi üzerine bir etkisi olmadığını gösterir.



- OPN +8090 C/T polimorfizminin kronik periodontitis hastalarında başlangıç periodontal tedavisini takiben periodontal doku iyileşmesinde fonksiyonel bir rol üstlenmediği ve genotiplerinde OPN +8090 C/T polimorfizmi bulunduran KP hastalarıyla, bulundurmayan KP hastaları arasında periodontal doku iyileşmesi bakımından belirgin bir fark gözlemlenmediği bulunmuştur.

## BÖLÜM VI

### 6.1. ÖZET

**Amaç:** Kronik periodontitisli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerde osteopontin (OPN) geninin genotip dağılımı, allel sıklığı ve genotip–fenotip ilişkisinin araştırılması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Periodontal açıdan sağlıklı 50 birey ve 50 kronik periodontitisli hastada, periodontal klinik (Sondalanan cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, sondalamada kanama ve plak indeksi değerleri) ve radyografik incelemeler yapılarak, periodontal yıkım şiddeti belirlendi. Hastalardan alınan periferik kan örneklerinden elde edilen genomik DNA’da OPN geninin 6. ekzonunda 8090 C/T polimorfizmi, PCR-RFLP yöntemiyle çalışıldı. Kronik periodontitisli bireyler başlangıç periodontal tedavilerinin ardından, 6 ay boyunca belirli aralıklarla klinik takip ve klinik periodontal ölçüm programına yerleştirildiler. Elde edilen veriler Pearson Ki-Kare testi, Fisher’s Exact Test, bağımsız iki grup t testi, lojistik regresyon ve tekrarlayan ölçümler için varyans analizleri kullanılarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Kronik periodontitis (KP) ve sağlıklı kontrol (K) gruplarında OPN (+8090) C/T genotip dağılımlarının sırasıyla CC %28, CT %48, TT %24 ve CC %32, CT %64, TT %4 olduğu saptandı. OPN +8090 geni CT genotip dağılımı (K %64; KP

%48) CC dağılımına göre değerlendirildiğinde (K %32; KP %28), istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken ( $p=0.7$ ), TT genotip dağılımının (K %4; KP %24) istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p=0.02$ , OR 6.85, %95 CI 1.3–36.06). Ancak +8090 T allel sıklığının kronik periodontitis (%48) ve sağlıklı (%36) gruplar arasında farklılık göstermediği belirlendi ( $\chi^2=2.95$ ,  $p=0.86$ , OR: 1.64, %95 CI: 0.932–2.891). Benzer şekilde, T allelini taşıyan kronik periodontitis (%72) ve sağlıklı kontrol (%68) gruplarına ait bireyler arasındaki farkın da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $\chi^2=0.19$ ,  $p=0.663$ ). Ayrıca, OPN (+8090) C/T polimorfizminin kronik periodontitisli bireylerde, başlangıç periodontal tedavisini takiben periodontal doku iyileşmesinde fonksiyonel bir rol üstlenmediği de saptanmıştır.

**Sonuç:** Türk toplumunda OPN geni +8090 C/T polimorfizmi kronik periodontitise yatkınlık oluşturabilecek genetik faktörlerden biri olabilir. Sonuçlarımızın daha fazla hasta üzerinde gerçekleştirilecek ileri çalışmalarla da desteklenmesi gereklidir.

## 6.2. ABSTRACT

**Aim:** To study and evaluate osteopontin (OPN) gene dispersion, allele frequency and genotype-phenotype relations in chronic periodontitis and periodontally healthy subjects.

**Material and methods:** 50 subjects with chronic periodontitis and 50 periodontally healthy subjects were examined radiographically and clinically (Probed pocket depth, probed attachment level, bleeding on probing and plaque indexes) to determine the periodontal destruction levels. 8090 C/T which is in the 6<sup>th</sup> exon of the osteopontin gene was studied with PCR-RFLP method in the genomic DNA gained from the sampled blood of the subjects. The subjects with chronic periodontitis have been placed into a clinical re-examination and maintenance program for 6 months at intervals after receiving initial periodontal therapy. The statistical evaluation of the data was performed with Pearson Chi-Square test, Fisher's Exact Test, independent sample test, logistic regression and analyses of variance.

**Results:** The +8090 C/T genotype frequencies determined for chronic periodontitis (CP) and healthy control (C) groups were CC %28, CT %48, TT %24 and CC %32, CT %64, TT %4 respectively. Although the difference between OPN (+8090) CT genotype dispersion (C %64; CP %48) according to the CC frequency (K %32; KP %28) at +8090 of OPN gene was not statistically significant ( $p=0.7$ ), a statistically significant difference was observed at TT genotype frequency ( $p=0.02$ , OR 6.85, %95 CI 1.3–36.06). However when chronic periodontitis (%48) and healthy control groups (%33.3) were compared for the difference in +8090 T allele

genotype frequency, no statistically significant difference was observed ( $\chi^2=2.95$ ,  $p=0.86$ , OR: 1.64, %95 CI: 0.932–2.891). Similarly, when T allele positive subjects among chronic periodontitis (%72) and healthy control (%68) groups were compared, no significant difference was observed ( $\chi^2=0.19$ ,  $p=0.663$ ). It was also determined that, the OPN (+8090) C/T polymorphism does not hold a functional role in periodontal tissue recover and healing following initial periodontal therapy in chronic periodontitis subjects.

**Conclusions:** It may be concluded that, the OPN gene 8090 C/T polymorphism may be one of the genetic factors which increases the risk of development of chronic periodontitis in Turkish population. Our results have to be confirmed by further studies where more subjects will be included.

## BÖLÜM VII

### 7.1. YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Akar N. (1999). Klinik moleküler patolojiye giriş; 2. baskı, ANTİP A.Ş., Ankara.
2. Albandar J.M., Brunelle J.A., Kingman A. (1999). Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States 1988-1994, *J Periodontol.*; 70(1):13-29.
3. Albandar J.M. (2002). Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases, *Periodontol. 2000*; 29:177-206.
4. Armitage G.C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions, *Ann. Periodontol.*; 4(1):1-6.
5. Ashkar S., Weber G.F., Panoutsakopoulou V., Sanchirico M.E., Jansson M., Zawaideh S., Rittling S.R., Denhardt D.T., Glimcher M.J., Cantor H. (2000). Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity, *Science*; 4, 287(5454):860-4.

6. Atilla G., Emingil G., Kose T., Berdeli A. (2006). TGF-beta1 gene polymorphisms in periodontal diseases, *Clin. Biochem.*; 39(9):929-34.
7. Baker P.J. (2000). The role of immune responses in bone loss during periodontal disease, *Microbes Infect.*; 2(10):1181-92.
8. Baron R. (1999). Anatomy and ultrastructure of bone; primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, Lippincott Williams and Wilkins, New York.
9. Başaran N. (1999). Tıbbi Genetik; ders kitabı 8.baskı, Nobel & Güneş Tıp Kitabevi, Bursa.
10. Bayless K.J., Meininger G.A., Scholtz J.M., Davis G.E. (1998). Osteopontin is a ligand for the alpha4beta 1 integrin, *J. Cell Sci.*; 111 ( Pt 9):1165-74.
11. Bell J. (1989). The polymerase chain reaction, *Immunol Today.*; 10(10):351-5.
12. Bellahcene A., Castronovo V. (1997). Expression of bone matrix proteins in human breast cancer: potential roles in microcalcification formation and in the genesis of bone metastases, *Bull Cancer.*; 84(1):17-24.
13. Bennett J.S., Chan C., Vilaire G., Mousa S.A., DeGrado W.F. (1997). Agonist-activated alphavbeta3 on platelets and lymphocytes binds to the matrix protein osteopontin, *J. Biol. Chem.*; 28, 272(13):8137-40.

14. Berdeli A., Emingil G., Gurkan A., Atilla G., Kose T. (2006). Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases, *Clin. Biochem.*; 39(4):357-62.
15. Berdeli A., Gurkan A., Emingil G., Atilla G., Kose T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism in periodontal diseases, *J. Periodontol.*; 77(8):1348-54.
16. Bishop J.B., Witt K.L., Sloane R.A. (1997). Genetic toxicities of human teratogens, *Mutat Res.*; 12, 396(1-2):9-43.
17. Bolaman Z., Müftüoğlu E., Bilgir O., Ertop Ş. (1993). İmmünoloji; Saray yayıncılık, İzmir.
18. Bonvini J.M., Schatzmann U., Beck-Schimmer B., Sun L.K., Rittling S.R., Denhardt D.T., Le Hir M., Wuthrich R.P. (2000). Lack of in vivo function of osteopontin in experimental anti-GBM nephritis, *J Am Soc Nephrol.*; 11(9):1647-55.
19. Boskey A.L. (1998). Biomineralization: conflicts, challenges and opportunities, *J. Cell Biochem. Suppl.*; 30-31:83-91.
20. Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Am. J. Hum. Genet.*; 32(3):314-31.
21. Boughman J.A., Beaty T.H., Yang P., Goodman S.B., Wooten R.K., Suzuki



- J.B. (1988). Problems of genetic model testing in early onset periodontitis, *J. Periodontol.*; 59(5):332-7.
22. Brooks P.C., Stromblad S., Sanders L.C., von Schalscha T.L., Aimes R.T., Stetler-Stevenson W.G., Quigley J.P., Cheresch D.A. (1996). Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3, *Cell*; 31, 85(5):683-93.
23. Butler W.T., Ridall A.L., Mckee M.D. (1996). Osteopontin. In: Bilezikian J.P., Raisz L.G., Rodan G.A. (Eds.), *Principles of bone biology*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 167-181.
24. Caffesse R.G., De La Rosa M.R., De LaRosa M.G., Mota L.F. (2002). Prevalence of interleukin 1 periodontal genotype in a Hispanic dental population, *Quintessence Int.*; 33(3):190-4.
25. Caffesse R.G., De La Rosa R.M., De La Rosa G.M., Weltman R. (2002). Effect of interleukin-1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery, *J. Clin. Periodontol.*;29(2):177-81.
26. Cailhier J.F., Petrucci M., Valiquette L., Guay G., Ouimet D., Bonnardeaux A. (2001). Exclusion mapping of major crystallization inhibitors in idiopathic calcium urolithiasis, *J. Urol.*;166(4):1484-6.
27. Caillier S., Barcellos L.F., Baranzini S.E., Swerdlin A., Lincoln R.R., Steinman L., Martin E., Haines J.L., Pericak-Vance M., Hauser S.L., Oksenberg J.R. (2003).

Osteopontin polymorphisms and disease course in multiple sclerosis, *Genes Immun.*; 4(4):312-5.

28. Carlson I., Tognazzi K., Manseau E.J., Dvorak H.F., Brown L.F. (1997). Osteopontin is strongly expressed by histiocytes in granulomas of diverse etiology, *Lab. Invest.*; 77(1):103-8.

29. Caton J., Bouwsma O., Polson A., Espeland M. (1989). Effects of personal oral hygiene and subgingival scaling on bleeding interdental gingiva, *J. Periodontol.*; 60(2):84-90.

30. Caton J.G., Ciancio S.G., Blieden T.M., Bradshaw M., Crout R.J., Hefti A.F., Massaro J.M., Polson A.M., Thomas J., Walker C. (2001). Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects, *J. Clin. Periodontol.*; 28(8):782-9.

31. Cattabriga M., Rotundo R., Muzzi L., Nieri M., Verrocchi G., Cairo F., Pini Prato G. (2001). Retrospective evaluation of the influence of the interleukin-1 genotype on radiographic bone levels in treated periodontal patients over 10 years, *J. Periodontol.*; 72(6):767-73.

32. Chabas D., Baranzini S.E., Mitchell D., Bernard C.C., Rittling S.R., Denhardt D.T., Sobel R.A., Lock C., Karpuj M., Pedotti R., Heller R., Oksenberg J.R., Steinman L. (2001). The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease, *Science*; 294(5547):1731-5.

33. Chantry D., Turner M., Abney E., Feldmann M. (1989). Modulation of cytokine production by transforming growth factor-beta, *J. Immunol.*; 15, 142(12):4295-300.
34. Chellaiah M., Fitzgerald C., Alvarez U., Hruska K. (1998). c-Src is required for stimulation of gelsolin-associated phosphatidylinositol 3-kinase, *J. Biol. Chem.*; 8, 273(19):11908-16.
35. Chellaiah M., Hruska K. (1996). Osteopontin stimulates gelsolin-associated phosphoinositide levels and phosphatidylinositol triphosphate-hydroxyl kinase, *Mol. Biol. Cell.*; 7(5):743-53.
36. Chellaiah M.A., Soga N., Swanson S., McAllister S., Alvarez U., Wang D., Dowdy S.F., Hruska K.A. (2000). Rho-A is critical for osteoclast podosome organization, motility, and bone resorption, *J. Biol. Chem.*; 21, 275(16):11993-2002.
37. Christgau M., Aslanidis C., Felden A., Hiller K.A., Schmitz G., Schmalz G. (2003). Influence of interleukin-1 gene polymorphism on periodontal regeneration in intrabony defects, *J. Periodontal Res.*; 38(1):20-7.
38. Chrambach A., Rodbard D. (1971). Polyacrylamide gel electrophoresis, *Science*; 30, 172(982):440-51.
39. Christerson L.A., Zambon J.J., Genco R.J. (1991). Dental bacterial plaques: nature and role in periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*; 18:441-446.

40. Christgau M., Aslanidis C., Felden A., Hiller K.A., Schmitz G., Schmalz G. (2003). Influence of interleukin-1 gene polymorphism on periodontal regeneration in intrabony defects, *J. Periodontal Res.*; 38(1):20-7.
41. Ciancio S.G., Hanzen S.P., Cunat J.J. (1969). Periodontal observations in twins, *J. Periodont. Res.*; 4:42-45.
42. Cimasoni G. (1983). *Crevicular Fluid Updated*; 2nd Ed., S. Karger A.G., Basel.
43. Cireli E. (1989). *Genel Histoloji; hücre ve dokular 3.baskı*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.
44. Clarke C.H., Johnston A.W. (1976). Intragenic mutational spectra and hot spots, *Mutat. Res.*; 36(2):147-64.
45. Corey L.A., Nance W.E., Hofstede P., Schenkein H.A. (1993). Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population, *J. Periodontol.*; 64:1205-1208.
46. Cowan K.N., Jones P.L., Rabinovitch M. (2000). Elastase and matrix metalloproteinase inhibitors induce regression, and tenascin-C antisense prevents progression of vascular disease, *J. Clin. Invest.*; 105(1):21-34.
47. Crawford H.C., Matrisian L.M., Liaw L. (1998). Distinct roles of osteopontin in host defense activity and tumor survival during squamous cell carcinoma progression in vivo, *Cancer Res.*; 58(22):5206-15.

48. Cui S., Reichner J.S., Mateo R.B., Albina J.E. (1994). Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or -independent mechanisms, *Cancer Res.*; 1, 54(9):2462-7.
49. Cullinan M.P., Westerman B., Hamlet S.M., Palmer J.E., Faddy M.J., Lang N.P., Seymour GJ. (2001). A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population, *J. Clin. Periodontol.*; 28(12):1137-44.
50. D'Alfonso S., Barizzone N., Giordano M., Chiocchetti A., Magnani C., Castelli L., Indelicato M., Giacomelli F., Marchini M., Scorza R, Danieli M.G., Cappelli M., Migliaresi S., Bigliardo B., Sabbadini M.G., Baldissera E., Galeazzi M., Sebastiani G.D., Minisola G., Ravazzolo R., Dianzani U., Momigliano-Richiardi P. (2005). Two single-nucleotide polymorphisms in the 5' and 3' ends of the osteopontin gene contribute to susceptibility to systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.*; 52(2):539-47.
51. Davidson M.W., Wilson W.D. (1975). Strand polarity: antiparallel molecular interactions in nucleic acids. *J. Chem. Educ.*; 52(5):323-4.
52. Demer L.L., Tintut Y. (1999). Osteopontin: between a rock and a hard plaque, *Circ. Res.*; 5, 84(2):250-2.
53. Denhardt D.T., Guo X. (1993). Osteopontin: a protein with diverse functions, *FASEB J.*; 7(15):1475-82.

54. Denhardt D.T., Noda M. (1998). Osteopontin expression and function: role in bone remodeling, *J. Cell Biochem. Suppl.*; 30-31:92-102.
55. Denhardt D.T., Noda M., O'Regan A.W., Pavlin D., Berman J.S. (2001). Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival, *J. Clin. Invest.*; 107(9):1055-61.
56. De Sanctis M., Zucchelli G. (2000). Interleukin-1 gene polymorphisms and long-term stability following guided tissue regeneration therapy, *J. Periodontol.*; 71(4):606-13.
57. Ducey P., Schinke T., Karsenty G. (2000). The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance, *Science*; 1, 289(5484):1501-4.
58. Ehmke B., Kress W., Karch H., Grimm T., Klaiber B., Flemmig T.F. (1999). Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy, *J. Clin. Periodontol.*; 26(12):810-3.
59. Ellison J.A., Velier J.J., Spera P., Jonak Z.L., Wang X., Barone F.C., Feuerstein G.Z. (1998). Osteopontin and its integrin receptor alpha(v)beta3 are upregulated during formation of the glial scar after focal stroke, *Stroke*; 29(8):1698-706; discussion 1707.
60. Erlich H.A., Gelfand D., Sninsky J.J. (1991). Recent advances in the polymerase chain reaction, *Science*; 21, 252(5013):1643-51.

61. Fadok V.A., Savill J.S., Haslett C., Bratton D.L., Doherty D.E., Campbell P.A., Henson P.M. (1992). Different populations of macrophages use either the vitronectin receptor or the phosphatidylserine receptor to recognize and remove apoptotic cells, *J. Immunol.*; 15, 149(12):4029-35.
62. Ford E.B. (1966). Genetic polymorphism, *Proc. R Soc. Lond. B. Biol. Sci.*; 22, 164(995):350-61.
63. Forton A.C., Petri M.A., Goldman D., Sullivan K.E. (2002). An osteopontin (SPP1) polymorphism is associated with systemic lupus erythematosus, *Hum. Mutat.*; 19(4):459.
64. Gao B., Yasui T., Okada A., Tozawa K., Hayashi Y., Kohri K. (2005). A polymorphism of the osteopontin gene is related to urinary calcium stones, *J. Urol.*;174(4 Pt 1):1472-6.
65. Giachelli C.M., Bae N., Almeida M., Denhardt D.T., Alpers C.E., Schwartz S.M. (1993). Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques, *J. Clin. Invest.*; 92(4):1686-96.
66. Giachelli C.M., Lombardi D., Johnson R.J., Murry C.E., Almeida M. (1998). Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo, *Am. J. Pathol.*; 152(2):353-8.
67. Giachelli C.M., Pichler R., Lombardi D., Denhardt D.T., Alpers C.E., Schwartz S.M., Johnson R.J. (1994). Osteopontin expression in angiotensin II-induced

tubulointerstitial nephritis, *Kidney Int.*; 45(2):515-24.

68. Giachelli C.M., Schwartz S.M., Liaw L., (1995). Molecular and cellular biology of osteopontin, *Trends Cardiovasc. Med.*; 3, 88-95.

69. Giachelli C.M., Steitz S. (2000). Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization, *Matrix Biol.*; 19(7):615-22.

70. Gluhak-Heinrich J., Villarreal A., Pavlin D. (2000). Reciprocal regulation of osteopontin gene during mechanically induced bone formation and resorption, *J. Bone Miner. Res.*; 14:839-849.

71. Godde R., Akkad D.A., Arning L., Dekomien G., Herchenbach J., Kunstmann E., Meins M., Wiczorek S., Epplen J.T., Hoffjan S. (2006). Electrophoresis of DNA in human genetic diagnostics: state of the art, alternatives and future prospects, *Electrophoresis.*; 27(5-6):939-46.

72. Gravallesse E.M. (2003). Osteopontin: a bridge between bone and the immune system, *J. Clin. Invest.*; 112(2):147-9.

73. Guo H., Cai C.Q., Schroeder R.A., Kuo P.C. (2001). Osteopontin is a negative feedback regulator of nitric oxide synthesis in murine macrophages, *J. Immunol.*; 15, 166(2):1079-86.

74. Hart P.S., Zhang Y., Firatli E., Uygur C., Lotfazar M., Michalec M.D., Marks



J.J., Lu X., Coates B.J., Seow W.K., Marshall R., Williams D., Reed J.B., Wright J.T., Hart T.C. (2000). Identification of cathepsin C mutations in ethnically diverse papillon-Lefevre syndrome patients, *J. Med. Genet.*; 37(12):927-32.

75. Hart T.C. (1994). Genetic considerations of risk in human periodontal disease. *Curr. Opin. Periodont.*; 3-11.

76. Hart T.C., Bowden D.W., Ghaffar K.A., Wang W., Cutler C.W., Cebeci I., Efeoglu A., Firatli E. (1998). Sublocalization of the Papillon-Lefevre syndrome locus on 11q14-q21, *Am. J. Med. Genet.*; 1,79(2):134-9.

77. Hart T.C., Kornman K.S. (1997). Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis, *Periodontol. 2000*; 14:202-15.

78. Hart T.C., Stabholz A., Meyle J., Shapira L., Van Dyke T.E., Cutler C.W., Soskolne W.A. (1997). Genetic studies of syndromes with severe periodontitis and palmoplantar hyperkeratosis, *J. Periodontal. Res.*; 32(1 Pt 2):81-9.

79. Hart T.C., Walker S.J., Bowden D.W., Hart P.S., Callison S.A., Bobby P.L., Firatli E. (2000). An integrated physical and genetic map of the PLS locus interval on chromosome 11q14, *Mamm. Genome.*;11(3):243-6.

80. Hassell T.M., Baehni P., Harris E.L., Walker C., Gabbiani G., Geinoz A. (1997). Evidence for genetic control of changes in f-actin polymerisation caused by pathogenic microorganisms: in vitro assessment using gingival fibroblasts from

human twins, *J. Periodont. Res.*; 32:90-98.

81. Hensiek A.E., Roxburgh R., Meranian M., Seaman S., Yeo T., Compston D.A., Sawcer S.J. (2003). Osteopontin gene and clinical severity of multiple sclerosis, *J. Neurol.*; 250(8):943-7.

82. Hirota S., Asada H., Kohri K., Tsukamoto Y., Ito A., Yoshikawa K., Xu Z., Nomura S., Kitamura Y. (1995). Possible role of osteopontin in deposition of calcium phosphate in human pilomatricomas, *J. Invest. Dermatol.*; 105(1):138-42.

83. Hodge P., Michalowicz B. (2001). Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults, *Periodontol. 2000*; 26:113-34.

84. Hullinger T.G., Pan Q., Viswanathan H.L., Somerman M.J. (2001). TGFbeta and BMP-2 activation of the OPN promoter: roles of smad- and hox-binding elements, *Exp. Cell Res.*; 1, 262(1):69-74.

85. Hummelshoj T., Ryder L.P., Madsen H.O., Odum N., Svejgaard A. (2006). A functional polymorphism in the Eta-1 promoter is associated with allele specific binding to the transcription factor Sp1 and elevated gene expression, *Mol. Immunol.*; 43(7):980-6.

86. Hunter G.K., Goldberg H.A. (1994). Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: role of glutamic acid-rich sequences in the nucleation of hydroxyapatite by bone sialoprotein, *Biochem J.*; 15, 302 ( Pt 1):175-9.

87. Hunter G.K., Hauschka P.V., Poole A.R., Rosenberg L.C., Goldberg H.A. (1996). Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins, *Biochem. J.*; 1, 317 ( Pt 1):59-64.
88. Hwang S.M., Lopez C.A., Heck D.E., Gardner C.R., Laskin D.L., Laskin J.D., Denhardt D.T. (1994). Osteopontin inhibits induction of nitric oxide synthase gene expression by inflammatory mediators in mouse kidney epithelial cells, *J. Biol. Chem.*; 7, 269(1):711-5.
89. Iizuka J., Katagiri Y., Tada N., Murakami M., Ikeda T., Sato M., Hirokawa K., Okada S., Hatano M., Tokuhisa T., Uede T. (1998). Introduction of an osteopontin gene confers the increase in B1 cell population and the production of anti-DNA autoantibodies, *Lab. Invest.*; 78(12):1523-33.
90. Iwasaki H., Shinohara Y., Ezura Y., Ishida R., Kodaira M., Kajita M., Nakajima T., Shiba T., Emi M. (2001). Thirteen single-nucleotide polymorphisms in the human osteopontin gene identified by sequencing of the entire gene in Japanese individuals, *J. Hum. Genet.*; 46(9):544-6.
91. Kanehisa J., Yamanaka T., Doi S., Turksen K., Heersche J.N., Aubin J.E., Takeuchi H. (1990). A band of F-actin containing podosomes is involved in bone resorption by osteoclasts, *Bone*; 11(4):287-93.
92. Karp G. (1996). Cell and molecular biology; John Willey and Sons Inc., New York.

93. Katagiri Y.U., Sleeman J., Fujii H., Herrlich P., Hotta H., Tanaka K., Chikuma S., Yagita H., Okumura K., Murakami M., Saiki I., Chambers A.F., Uede T. (1999). CD44 variants but not CD44s cooperate with beta1-containing integrins to permit cells to bind to osteopontin independently of arginine-glycine-aspartic acid, thereby stimulating cell motility and chemotaxis, *Cancer Res.*; 1, 59(1):219-26.
94. Kawashima R., Mochida S., Matsui A., YouLuTuZ Y., Ishikawa K., Toshima K., Yamanobe F., Inao M., Ikeda H., Ohno A., Nagoshi S., Uede T., Fujiwara K. (1999). Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and Stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: a possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 24, 256(3):527-31.
95. Keles G.C., Gunes S., Sumer A.P., Sumer M., Kara N., Bagci H., Koprulu H. (2006). Association of matrix metalloproteinase-9 promoter gene polymorphism with chronic periodontitis, *J Periodontol.*; 77(9):1510-4.
96. Kido J., Kasahara C., Ohishi K., Nishikawa S., Ishida H., Yamashita K., Kitamura S., Kohri K., Nagata T. (1995). Identification of osteopontin in human dental calculus matrix, *Arch. Oral. Biol.*; 40(10):967-72.
97. Kido J., Nakamura T., Asahara Y., Sawa T., Kohri K., Nagata T. (2001). Osteopontin in gingival crevicular fluid, *J. Periodontal. Res.*; 36(5):328-33.
98. Kinane D.F., Hodge P., Eskdale J., Ellis R., Gallagher G. (1999). Analysis of

genetic polymorphisms at the interleukin-10 and tumour necrosis factor loci in early-onset periodontitis, *J. Periodontal. Res.*; 34(7):379-86.

99. Kleinman J.G., Wesson J.A., Hughes J. (2004). Osteopontin and calcium stone formation, *Nephron Physiol.*;98(2):p43-7.

100. Klug W.S., Cummings M.R. (2003). Genetik kavramlar; 2. baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.

101. Knudson A.G. Jr. (1989). Epidemiology of genetically determined cancer, *Ciba Found. Symp.*; 142:3-12.

102. Kohri K., Nomura S., Kitamura Y., Nagata T., Yoshioka K., Iguchi M., Yamate T., Umekawa T., Suzuki Y., Sinohara H., et al. (1993). Structure and expression of the mRNA encoding urinary stone protein (osteopontin), *J. Biol. Chem.*; 15, 268(20):15180-4.

103. König J., Rühling A., Plagmann H.C., Meisel P., Kocher T. (2005). Influence of interleukin (IL)-1 composite genotype on clinical variables in non-smoking, well-maintained compliant patients with chronic periodontitis, *Swed. Dent. J.*; 29(1):11-6.

104. Kornman K.S., Crane A., Wang H.Y., diGiorgine F.S., Newman M.G., Pirk F.W., Wilson T.G. Jr., Higginbottom F.L., Duff G.W. (1997). The IL-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease, *J. Clin. Perio.*; 24:72-77.

105. Kornman K.S., di Giorgine F.S. (1998). Genetic variations in cytokine

expression: a risk factor for severity of adult periodontitis, *Ann. Periodontol.*; 3(1):327-38.

106. Koszewski N.J., Reinhardt T.A., Horst R.L. (1996). Vitamin D receptor interactions with the murine osteopontin response element, *J Steroid Biochem Mol Biol.*; 59(5-6):377-88.

107. Kwok P.Y., Deng Q., Zakeri H., Taylor S.L., Nickerson D.A. (1996). Increasing the information content of STS-based genome maps: identifying polymorphisms in mapped STSs, *Genomics*; 1, 31(1):123-6.

108. Kwok P.Y., Gu Z. (1999). Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them?, *Mol. Med. Today*; 5(12):538-43

109. Laine M.L., Farre M.A., Gonzalez G., van Dijk L.J., Ham A.J., Winkel E.G., Crusius J.B., Vandenbroucke J.P., van Winkelhoff A.J., Pena A.S. (2001). Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis, *J. Dent. Res.*; 80(8):1695-9.

110. Lakkakorpi P.T., Helfrich M.H., Horton M.A., Vaananen H.K. (1993). Spatial organization of microfilaments and vitronectin receptor, alpha v beta 3, in osteoclasts. A study using confocal laser scanning microscopy, *J. Cell Sci.*; 104 ( Pt 3):663-70.

111. Lampe M.A., Patarca R., Iregui M.V., Cantor H. (1991). Polyclonal B cell

activation by the Eta-1 cytokine and the development of systemic autoimmune disease, *J. Immunol.*; 1, 147(9):2902-6.

112. Lang N.P., Bragger U. (1991). Periodontal diagnosis in the 1990s, *J. Clin. Periodontol.*;18(6):370-9.

113. Lerner U.H. (2000). Osteoclast formation and resorption, *Matrix Biol.*; 19(2):107-20.

114. Liaw L., Birk D.E., Ballas C.B., Whitsitt J.S., Davidson J.M., Hogan B.L. (1998). Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (*spp1*). *J. Clin. Invest.*; 1, 101(7):1468-78.

115. Liew F.Y. (2002). T(H)1 and T(H)2 cells: a historical perspective, *Nat. Rev. Immunol.*; 2(1):55-60.

116. Li G., Chen Y.F., Kelpke S.S., Oparil S., Thompson J.A. (2000). Estrogen attenuates integrin-beta(3)-dependent adventitial fibroblast migration after inhibition of osteopontin production in vascular smooth muscle cells, *Circulation*; 27, 101(25):2949-55.

117. Lindhe J., (1992). Textbook of clinical periodontology; 2nd Ed., Munksgaard, Copenhagen.

118. Lindstedt BA. (2005). Multiple-locus variable number tandem repeats analysis

for genetic fingerprinting of pathogenic bacteria, *Electrophoresis*; 26(13):2567-82.

119. Lin Y.H., Huang C.J., Chao J.R., Chen S.T., Lee S.F., Yen J.J., Yang-Yen H.F. (2000). Coupling of osteopontin and its cell surface receptor CD44 to the cell survival response elicited by interleukin-3 or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, *Mol. Cell Biol.*; 20(8):2734-42.

120. Loesche W.J., Grenier E. (1976). Detection of *Streptococcus mutans* in plaque samples by the direct fluorescent antibody test, *J. Dent. Res.*; 55:A87-93.

121. Loos B.G., John R.P., Laine M.L. (2005). Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action, *J. Clin. Periodontol.*; 32 Suppl 6:159-79.

122. Lynch S.E., Genco R.J., Marx R.E. (1999). Tissue Engineering; applications in maxillofacial surgery and periodontics 1<sup>st</sup> Ed. Quintessence Publishing Co., Illinois.

123. Madianos P.N., Bobetsis Y.A., Kinane D.F. (2005). Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva, *J. Clin. Periodontol.*; 32 Suppl 6:57-71.

124. Malo D., Skamene E. (1994). Genetic control of host resistance to infection, *Trends Genet.*; 10(10):365-71

125. Manolagas S.C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory



mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis, *Endocr. Rev.*; 21(2):115-37.

126. Marciano R., Giacomelli F., Divizia M.T., Gattorno M., Felici E., Pistorio A., Martini A., Ravazzolo R., Picco P. (2006). A polymorphic variant inside the osteopontin gene shows association with disease course in oligoarticular juvenile idiopathic arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*; 65(5):662-5.

127. Mazzali M., Kipari T., Ophascharoensuk V., Wesson J.A., Johnson R., Hughes J. (2002). Osteopontin--a molecule for all seasons, *QJM*; 95(1):3-13.

128. McKee M.D., Nanci A. (1996). Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair, *Microsc. Res. Tech.*; 1, 33(2):141-64.

129. McKee M.D., Nanci A., Khan S.R. (1995). Ultrastructural immunodetection of osteopontin and osteocalcin as major matrix components of renal calculi, *J. Bone Miner. Res.*; 10(12):1913-29.

130. McKee M.D., Nanci A. (1996). Secretion of Osteopontin by macrophages and its accumulation at tissue surfaces during wound healing in mineralized tissues: a potential requirement for macrophage adhesion and phagocytosis, *Anat Rec.*; 245(2):394-409.

131. Meselson M., Stahl F.W. (1958). The replication of DNA in Escherichia Coli, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 15, 44(7):671-82.
132. Michalowicz B.S. (1994). Genetic and heritable risk factors in periodontal disease, *J. Periodontol.*; 65: 479-488.
133. Miyazaki T., Ono M., Qu W.M., Zhang M.C., Mori S., Nakatsuru S., Nakamura Y., Sawasaki T., Endo Y., Nose M. (2005). Implication of allelic polymorphism of osteopontin in the development of lupus nephritis in MRL/lpr mice, *Eur. J. Immunol.*; 35(5):1510-20.
134. Mochida S., Hashimoto M., Matsui A., Naito M., Inao M., Nagoshi S., Nagano M., Egashira T., Mishiro S., Fujiwara K. (2004). Genetic polymorphisms in promoter region of osteopontin gene may be a marker reflecting hepatitis activity in chronic hepatitis C patients, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 23, 313(4):1079-85.
135. Murry C.E., Giachelli C.M., Schwartz S.M., Vracko R. (1994). Macrophages express osteopontin during repair of myocardial necrosis, *Am. J. Pathol.*; 145(6):1450-62.
136. Naito M., Matsui A., Inao M., Nagoshi S., Nagano M., Ito N., Egashira T., Hashimoto M., Mishiro S., Mochida S., Fujiwara K. (2005). SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in patients with chronic hepatitis C, *J. Gastroenterol.*; 40(4):381-8.

137. Nakada D., Strelzoff E., Rudner R., Ryan F.J. (1960). Is DNA replication a necessary condition for mutation?, *Z. Vererbungsl.*; 91:210-3.
138. Nares S. (2003). The genetic relationship to periodontal disease, *Periodontol. 2000*; 32:36-49.
139. Narita I., Nakayama H., Goto S., Takeda T., Sakatsume M., Saito A., Nakagawa Y., Arakawa M. (1997). Identification of genes specifically expressed in chronic and progressive glomerulosclerosis, *Kidney Int. Suppl.*; 63:S215-7.
140. Nasu K., Ishida T., Setoguchi M., Higuchi Y., Akizuki S., Yamamoto S. (1995). Expression of wild-type and mutated rabbit osteopontin in *Escherichia coli*, and their effects on adhesion and migration of P388D1 cells, *Biochem. J.*; 1, 307 ( Pt 1):257-65.
141. Nau G.J., Guilfoile P., Chupp G.L., Berman J.S., Kim S.J., Kornfeld H., Young R.A. (1997). A chemoattractant cytokine associated with granulomas in tuberculosis and silicosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 10, 94(12):6414-9.
142. Nau G.J., Liaw L., Chupp G.L., Berman J.S., Hogan B.L., Young R.A. (1999). Attenuated host resistance against *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice lacking osteopontin, *Infect. Immun.*; 67(8):4223-30.
143. Newman M.G., Socransky S.S. (1977). Predominant cultivable microbiota in periodontosis, *J. Periodontal. Res.*; 12(2):120-8.

144. Newman M.G., Takei H.H., Carranza F.A. (2002). Carranza's Clinical Periodontology; 9<sup>th</sup> Ed., W.B. Saunders Company, New York.
145. Niino M., Kikuchi S., Fukazawa T., Yabe I., Tashiro K. (2003). Genetic polymorphisms of osteopontin in association with multiple sclerosis in Japanese patients, *J. Neuroimmunol.*; 136(1-2):125-9.
146. Noiri E., Dickman K., Miller F., Romanov G., Romanov V.I., Shaw R., Chambers A.F., Rittling S.R., Denhardt D.T., Goligorsky M.S. (1999). Reduced tolerance to acute renal ischemia in mice with a targeted disruption of the osteopontin gene, *Kidney Int.*; 56(1):74-82.
147. Nunn M.E. (2003). Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors, *Periodontol. 2000*; 32:11-23.
148. O'Brien E.R., Garvin M.R., Stewart D.K., Hinohara T., Simpson J.B., Schwartz S.M., Giachelli C.M. (1994). Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques, *Arterioscler. Thromb.*; 14(10):1648-56.
149. O'Brien K.D., Kuusisto J., Reichenbach D.D., Ferguson M., Giachelli C., Alpers C.E., Otto C.M. (1995). Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions, *Circulation*; 15, 92(8):2163-8.

150. Offenbacher S. (1996). Periodontal diseases: pathogenesis, *Ann. Periodontol.*; 1(1):821-78.
151. Offenbacher S., Collins J.G., Heasman P.A. (1993). Diagnostic potential of host response mediators, *Adv. Dent. Res.*; 7(2):175-81.
152. Ophascharoensuk V., Giachelli C.M., Gordon K., Hughes J., Pichler R., Brown P., Liaw L., Schmidt R., Shankland S.J., Alpers C.E., Couser W.G., Johnson R.J. (1999). Obstructive uropathy in the mouse: role of osteopontin in interstitial fibrosis and apoptosis, *Kidney Int.*; 56(2):571-80.
153. O'Regan A., Berman J.S. (2000). Osteopontin: a key cytokine in cell-mediated and granulomatous inflammation, *Int. J. Exp. Pathol.*; 81(6):373-90.
154. O'Regan A.W., Chupp G.L., Lowry J.A., Goetschkes M., Mulligan N., Berman J.S. (1999). Osteopontin is associated with T cells in sarcoid granulomas and has T cell adhesive and cytokine-like properties in vitro, *J. Immunol.*; 15, 162(2):1024-31.
155. Papapanou P.N. (1996). Periodontal diseases: epidemiology, *Ann. Periodontol.*; 1(1):1-36.
156. Patarca R., Freeman G.J., Singh R.P., Wei F.Y., Durfee T., Blattner F., Regnier D.C., Kozak C.A., Mock B.A., Morse H.C. 3rd, et al. (1989). Structural and functional studies of the early T lymphocyte activation 1 (Eta-1) gene. Definition of a novel T cell-dependent response associated with genetic resistance to bacterial

infection, *J Exp Med.*; 1, 70(1):145-61.

157. Patarca R., Saavedra R.A., Cantor H. (1993). Molecular and cellular basis of genetic resistance to bacterial infection: the role of the early T-lymphocyte activation-1/osteopontin gene, *Crit. Rev. Immunol.*; 13(3-4):225-46.

158. Patarca R., Wei F.Y., Singh P., Morasso M.I., Cantor H. (1990). Dysregulated expression of the T cell cytokine Eta-1 in CD4-8- lymphocytes during the development of murine autoimmune disease, *J. Exp. Med.*; 1, 172(4):1177-83.

159. Persson G.R., Matuliene G., Ramseier C.A., Persson R.E., Tonetti M.S., Lang N.P. (2003). Influence of interleukin-1 gene polymorphism on the outcome of supportive periodontal therapy explored by a multi-factorial periodontal risk assessment model (PRA), *Oral Health Prev. Dent.*; 1(1):17-27.

160. Petit M.D., van Steenberg T.J., Scholte L.M., van der Velden U., de Graaff J. (1993). Epidemiology and transmission of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among children and their family members. A report of 4 surveys; *J. Clin. Periodontol.*; 20(9):641-50.

161. Petrow P.K., Hummel K.M., Schedel J., Franz J.K., Klein C.L., Muller-Ladner U., Kriegsmann J., Chang P.L., Prince C.W., Gay R.E., Gay S. (2000). Expression of osteopontin messenger RNA and protein in rheumatoid arthritis: effects of osteopontin on the release of collagenase 1 from articular chondrocytes and synovial

fibroblasts, *Arthritis Rheum.*; 43(7):1597-605.

162. Reinholt F.P., Hultenby K., Oldberg A., Heinegard D. (1990). Osteopontin, a possible anchor of osteoclasts to bone, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 87(12):4473-5.

163. Ricardo S.D., Franzoni D.F., Roesener C.D., Crisman J.M., Diamond J.R. (2000). Angiotensinogen and AT(1) antisense inhibition of osteopontin translation in rat proximal tubular cells, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*; 278(5):F708-16.

164. Ripley L.S. (1975). Transversion mutagenesis in bacteriophage T4, *Mol. Gen Genet.*; 3, 141(1):23-40.

165. Rittling S.R., Denhardt D.T. (1999). Osteopontin function in pathology: lessons from osteopontin-deficient mice, *Exp. Nephrol.*; 7(2):103-13.

166. Rittling S.R., Matsumoto H.N., McKee M.D., Nanci A., An X.R., Novick K.E., Kowalski A.J., Noda M., Denhardt D.T. (1998). Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation in vitro, *J. Bone Miner. Res.*; 13(7):1101-1.

167. Rollo E.E, Laskin D.L., Denhardt D.T. (1996). Osteopontin inhibits nitric oxide production and cytotoxicity by activated RAW264.7 macrophages, *J. Leukoc. Biol.*; 60(3):397-404.

168. Roodman G.D. (1996). Advances in bone biology: the osteoclast, *Endocr. Rev.*; 17(4):308-32.
169. Ross F.P., Chappel J., Alvarez J.I., Sander D., Butler W.T., Farach-Carson M.C., Mintz K.A., Robey P.G., Teitelbaum S.L., Cheresch D.A. (1993). Interactions between the bone matrix proteins osteopontin and bone sialoprotein and the osteoclast integrin alpha v beta 3 potentiate bone resorption, *J. Biol. Chem.*; 5, 268(13):9901-7.
170. Rose L.F., Genco R.J., Cohen D.W., Mealey B.L. (2000). Periodontal medicine; role of genetics in assessment, risk and management of adult periodontitis; Kornman K.S., Newman M.G., Chapter 4, B.C. Decker Inc., London.
171. Roth J.S. (1964). Biological information in a single strand of deoxyribonucleic acid, *Nature*; 11, 202:182-3.
172. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., Arnheim N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia, *Science*; 20, 230(4732):1350-4.
173. Sakata M., Tsuruha J.I., Masuko-Hongo K., Nakamura H., Matsui T., Sudo A., Nishioka K., Kato T. (2001). Autoantibodies to osteopontin in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis, *J. Rheumatol.*; 28(7):1492-5.



174. Salvi G.E., Lang N.P. (2005). Host response modulation in the management of periodontal diseases, *J. Clin. Periodontol.*; 32 Suppl 6:108-29.
175. Schenkein H.A. (2002). Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view?, *Periodontol 2000*; 30:79-90.
176. Schoen F.J., Levy R.J., Hilbert S.L., Bianco R.W. (1992). Antimineralization treatments for bioprosthetic heart valves. Assessment of efficacy and safety, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*; 104(5):1285-8.
177. Shapira L., Wilensky A., Kinane D.F. (2005). Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection, *J. Clin. Periodontol.*; 32 Suppl 6:72-86
178. Sharma C.G., Pradeep A.R. (2006). Gingival Crevicular Fluid Osteopontin Levels in Periodontal Health and Disease, *J. Periodontol.*; 77(10):1674-80.
179. Shcherbakova P.V., Fijalkowska I.J. (2006). Translesion synthesis DNA polymerases and control of genome stability, *Front Biosci.*; 1, 11:2496-517.
180. Singh R.P., Patarca R., Schwartz J., Singh P., Cantor H. (1990). Definition of a specific interaction between the early T lymphocyte activation 1 (Eta-1) protein and murine macrophages in vitro and its effect upon macrophages in vivo, *J. Exp. Med.*; 1, 171(6):1931-42.

181. Slots J. (1976). The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis, *Scand. J. Dent. Res.*; 84(1):1-10.
182. Socransky S.S. (1977). Microbiology of periodontal disease -- present status and future considerations, *J. Periodontol.*; 48(9):497-504.
183. Socransky S.S., Haffajee A.D. (2005). Periodontal microbial ecology, *Periodontol 2000*; 38:135-87.
184. Sodek J., Ganss B., McKee M.D. (2000). Osteopontin, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*; 11(3):279-303.
185. Sodhi C.P., Phadke S.A., Batlle D. (2001). Sahai A. Hypoxia and high glucose cause exaggerated mesangial cell growth and collagen synthesis: role of osteopontin. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*; 280(4):F667-74.
186. Speyer J.F. (1965). Mutagenic DNA polymerase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 8, 21(1):6-8.
187. Suda T., Takahashi N., Martin T.J. (1992). Modulation of osteoclast differentiation, *Endocr. Rev.*; 13(1):66-80.
188. Summers K.M. (1987). DNA polymorphisms in human population studies: a review, *Ann Hum Biol.*; 14(3):203-17.

189. Şaylı B.S. (1976). Temel medikal genetik; 3. baskı, Ankara Üniversitesi Basımevi.
190. Takahashi F., Takahashi K., Okazaki T., Maeda K., Ienaga H., Maeda M., Kon S., Uede T., Fukuchi Y. (2001). Role of osteopontin in the pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*; 24(3):264-71.
191. Takahashi K., Ohyama H., Kitanaka M., Sawa T., Mineshiba J., Nishimura F., Arai H., Takashiba S., Murayama Y. (2001). Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with aggressive periodontitis, *J. Periodontol.*; 72(4):425-37.
192. Takashiba S, Naruishi K. (2006). Gene polymorphisms in periodontal health and disease, *Periodontol. 2000*; 40:94-106.
193. Takashiba S., Ohyama H., Oyaizu K., Kogoe-Kato N., Murayama Y.(1999). HLA genetics for diagnosis of susceptibility to early-onset periodontitis, *J. Periodont. Res.*; 34:374-378.
194. Takemoto M., Yokote K., Yamazaki M., Ridall A.L., Butler W.T., Matsumoto T., Tamura K., Saito Y., Mori S. (2000). Enhanced expression of osteopontin by high glucose. Involvement of osteopontin in diabetic macroangiopathy, *Ann. N Y Acad. Sci.*; 902:357-63.
195. Taylor J.J., Preshaw P.M., Donaldson P.T. (2004). Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease, *Periodontol 2000*; 35:158-82.

196. Taylor C.F., Taylor G.R. (2004). Current and emerging techniques for diagnostic mutation detection: an overview of methods for mutation detection, *Methods Mol. Med.*; 92:9-44.
197. Temizkan G., Yilmazer S., Öztürk M., Arı Ş., Ertan H., Sarıkaya T.A., Arda N. (2004). Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler; 2.baskı, Nobel Tıp Kitapevi, Ankara.
198. Terai K., Takano-Yamamoto T., Ohba Y., Hiura K., Sugimoto M., Sato M., Kawahata H., Inaguma N., Kitamura Y., Nomura S. (1999). Role of osteopontin in bone remodeling caused by mechanical stress, *J Bone Miner Res.*; 14(6):839-49.
199. Terasaki P.I., Kaslick R.S., West T.L., Chasens A.I. (1975). Low HL-A2 frequency and periodontitis, *Tissue Antigens.*; 5(4):286-8.
200. Termine J.D., Belcourt A.B., Conn K.M., Kleinman H.K. (1981). Mineral and collagen-binding proteins of fetal calf bone, *J Biol Chem.*; 256(20):10403-8.
201. Teti A., Marchisio P.C., Zallone A.Z. (1991). Clear zone in osteoclast function: role of podosomes in regulation of bone-resorbing activity, *Am. J. Physiol.*; 261(1 Pt 1):C1-7.
202. Theilade E. (1986). The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases, *J. Clin. Periodontol.*; 13(10):905-11.

203. Trevilatto P.C, Tramontina V.A, Machado M.A., Goncalves R.B., Sallum A.W., Line S.R. (2002). Clinical, genetic and microbiological findings in a Brazilian family with aggressive periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*; 29(3):233-9.
204. Trowbridge H.O., Emling R.C. (1997). Inflammation; a review of the process 5th Ed., Quintessence Publishing Co., Illinois.
205. Tuck A.B., O'Malley F.P., Singhal H., Tonkin K.S., Harris J.F., Bautista D., Chambers A.F. (1997). Osteopontin and p53 expression are associated with tumor progression in a case of synchronous, bilateral, invasive mammary carcinomas, *Arch. Pathol. Lab. Med.*; 121(6):578-84.
206. Urcelay E., Martinez A., Mas-Fontao A., Peris-Pertusa A., Pascual-Salcedo D., Balsa A., Fernandez-Arquero M., de la Concha E. (2005). Osteopontin gene polymorphisms in Spanish patients with rheumatoid arthritis, *J. Rheumatol.*; 32(3):405-9.
207. Vaananen H.K., Zhao H., Mulari M., Halleen J.M. (2000). The cell biology of osteoclast function, *J. Cell Sci.*; 113 ( Pt 3):377-81.
208. van Belkum A. (1999). Short sequence repeats in microbial pathogenesis and evolution, *Cell Mol. Life Sci.*; 30, 56(9-10):729-34.
209. van Belkum A. (1999). The role of short sequence repeats in epidemiologic typing, *Curr. Opin. Microbiol.*; 2(3):306-11.

210. Van Dyke T.E., Sheilesh D. (2005). Risk factors for periodontitis, *J. Int. Acad. Periodontol.*; 7(1):3-7.
211. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Karapetyan A.T. (2003). The binding of ethidium bromide with DNA: interaction with single- and double-stranded structures, *Exp. Mol. Med.*; 31, 35(6):527-33.
212. Vergnaud G., Denoeud F. (2000). Minisatellites: mutability and genome architecture, *Genome Res.*; 10(7):899-907.
213. Voorhees J.J., Duell E.A., Chambers D.A., Marcelo C.L. (1976). Regulation of cell cycles, *J. Invest. Dermatol.*; 67(1):15-9.
214. Vosberg H.P. (1989). The polymerase chain reaction: an improved method for the analysis of nucleic acids, *Hum Genet.*; 83(1):1-15.
215. Waerhaug J., Steen E. (1952). The presence or absence of bacteria in gingival pockets and the reaction in healthy pockets to certain pure cultures; a bacteriological and histological investigation, *Odontol. Tidskr.*; 60(1-2):1-24.
216. Wada T., McKee M.D., Steitz S., Giachelli C.M. (1999). Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin, *Circ. Res.*; 5, 84(2):166-78.
217. Weber G.F., Ashkar S., Glimcher M.J., Cantor H. (1996). Receptor-ligand

interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1), *Science*; 26, 271(5248):509-12.

218. Weigert M.G., Garen A. (1965). Amino acid substitutions resulting from suppression of nonsense mutations. I. Serine insertion by the Su-1 suppressor gene, *J. Mol. Biol.*; 12:448-55.

219. Wesson J.A., Worcester E. (1996). Formation of hydrated calcium oxalates in the presence of poly-L-aspartic acid, *Scanning Microsc.*; 10(2):415-23; 423-4.

220. Wesson J.A., Worcester E.M., Wiessner J.H., Mandel N.S., Kleinman J.G. (1998). Control of calcium oxalate crystal structure and cell adherence by urinary macromolecules, *Kidney Int.*; 53(4):952-7.

221. Willing M., Sowers M., Aron D., Clark M.K., Burns T., Bunten C., Crutchfield M., D'Agostino D., Jannausch M. (1998). Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction, *J. Bone Miner. Res.*; 13(4):695-705.

222. Wohlfahrt J.C., Wu T., Hodges J.S., Hinrichs J.E., Michalowicz B.S. (2006). No association between selected candidate gene polymorphisms and severe chronic periodontitis, *J. Periodontol.*; 77(3):426-36.

223. Wolf D.L., Neiderud A.M., Hinckley K., Dahlen G., van de Winkel J.G., Papapanou P.N. (2006). Fcγ receptor polymorphisms and periodontal status: a prospective follow-up study, *J. Clin. Periodontol.*; 33(10):691-8.

224. Woolf A., Dixon A. (1998). Osteoporosis; a clinical guide, Martin Dunitz Ltd., London.
225. [www.http.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)
226. Xu G., Sun W., He D., Wang L., Zheng W., Nie H., Ni L., Zhang D., Li N., Zhang J. (2005). Overexpression of osteopontin in rheumatoid synovial mononuclear cells is associated with joint inflammation, not with genetic polymorphism, *J. Rheumatol.*; 32(3):410-6.
227. Yamamoto N., Sakai F., Kon S., Morimoto J., Kimura C., Yamazaki H., Okazaki I., Seki N., Fujii T., Uede T. (2003). Essential role of the cryptic epitope SLAYGLR within osteopontin in a murine model of rheumatoid arthritis, *J Clin Invest.*; 112(2):181-8.
228. Yamate T., Tsuji H., Amasaki N., Iguchi M., Kurita T., Kohri K. (2000). Analysis of osteopontin DNA in patients with urolithiasis, *Urol Res.*; 28(3):159-66
229. Yokosaki Y., Matsuura N., Sasaki T., Murakami I., Schneider H., Higashiyama S., Saitoh Y., Yamakido M., Taooka Y., Sheppard D. (1999). The integrin alpha(9)beta(1) binds to a novel recognition sequence (SVVYGLR) in the thrombin-cleaved amino-terminal fragment of osteopontin, *J. Biol. Chem.*; 17, 274(51):36328-34.



230. Yoshitake H., Rittling S.R., Denhardt D.T., Noda M. (1999). Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 6, 96(14):8156-60.
231. Young M.F., Kerr J.M., Termine J.D., Wewer U.M., Wang M.G., McBride O.W., Fisher L.W. (1990). cDNA cloning, mRNA distribution and heterogeneity, chromosomal location, and RFLP analysis of human osteopontin (OPN), *Genomics*; 7(4):491-502.
232. Yumoto K., Ishijima M., Rittling S.R., Tsuji K., Tsuchiya Y., Kon S., Nifuji A., Uede T., Denhardt D.T., Noda M. (2002). Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 2, 99(7):4556-61.
233. Yu X.Q., Nikolic-Paterson D.J., Mu W., Giachelli C.M., Atkins R.C., Johnson R.J., Lan H.Y. (1998). A functional role for osteopontin in experimental crescentic glomerulonephritis in the rat, *Proc. Assoc. Am. Physicians*; 110(1):50-64.
234. Yu X.Q., Fan J.M., Nikolic-Paterson D.J., Yang N., Mu W., Pichler R., Johnson R.J., Atkins R.C., Lan H.Y. (1999). IL-1 up-regulates osteopontin expression in experimental crescentic glomerulonephritis in the rat, *Am. J. Pathol.*; 154(3):833-41.
235. Yu X.Q., Wu L.L., Huang X.R., Yang N., Gilbert R.E., Cooper M.E., Johnson R.J., Lai K.N., Lan H.Y. (2000). Osteopontin expression in progressive renal injury

in remnant kidney: role of angiotensin II, *Kidney Int.*; 58(4):1469-80.

## EKLER

### Ek 1. Gönüllü olur formu

**Araştırmanın Adı:** Kronik Periodontitisli Bireylerde Osteopontin Gen Mutasyonları ile Periodonsiyum Yıkım İlişkisi

**Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu**

Sayın Gönüllü

Dişeti hastalıkları, dişi destekleyen sert ve yumuşak dokularda yıkım oluşturan, dişlerin sallanarak kaybedilmesi ile sonuçlanan bir hastalıktır. Esas neden, ağız ortamında sürekli bulunan olan bakteriler ve zararlı ürünleridir. Kişiler arasında dişeti hastalığında yer alan bakteriler benzer olmasına karşın oluşturdıkları yıkım farklılıklar göstermekte ve bazı hastalarda dişeti problemi hiç oluşmamaktadır. Kişiler arasındaki bu farklılık genetik nedenlerden ileri gelmesi muhtemeldir.

Çalışmamızda tüm çene ortopantomografik röntgenleriniz çekilecek; dişlerinizin her birisinin 6 ayrı bölgesinden kanama indeksi, sondalanan cep derinliği, ataşman miktarı değerleri ile dişlerinizin 2 ayrı bölgesinden plak indeksi değerleri ölçülecektir. Bu ölçümlerle dişeti hastalığımızın yaptığı harabiyet derecesi belirlenecektir.

Çalışmamızda yer alan hastaların adları gizli tutulacaktır. Çalışmaya seçilecek hastaların yaşı 30 ve üstü, sayısı ise 100'dür. Hastalarımızın ağızda en az 20 dişinin bulunması, periodontal herhangi bir sebepten dolayı diş kaybetmemiş olması, diabetes mellitus hikayesi bulunmaması, antibiyotik profilaksisine gerek duyulmaması, hamilelik ve laktasyon döneminde olmaması, antienflamatuar ilaçları kronik olarak kullanmaması, hepatit veya HIV hikayesi bulunmaması, sigara ve benzeri ürünlerin kullanılmaması gerekmektedir. Hastalarımız çalışmayı reddetme hakkına sahiptir. Alınan kan örnekleri yalnızca bu çalışma dahilinde kullanılarak, hiçbir şekilde genetik amaçlı olarak bir başka çalışma için kullanılmayacak ve çalışma bitiminde tarafımızdan imha edilecektir.

Tedavinizle ilgilenecek ve herhangi bir nedenle başvuracağımız kişi;

Diş Hekimi Burç Taylan Tel: 3881105

Ayrıca çalışma için Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. deneyimli sağlık personeli tarafından genel sağlığı ile ilgili olarak kan alımı uygun görülmüş olan tarafınızdan 2 cc kan temin ettiğimiz tüplere alınacaktır. Gerekli dişeti tedavileriniz kliniğimizde bitirilecektir.

-----

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

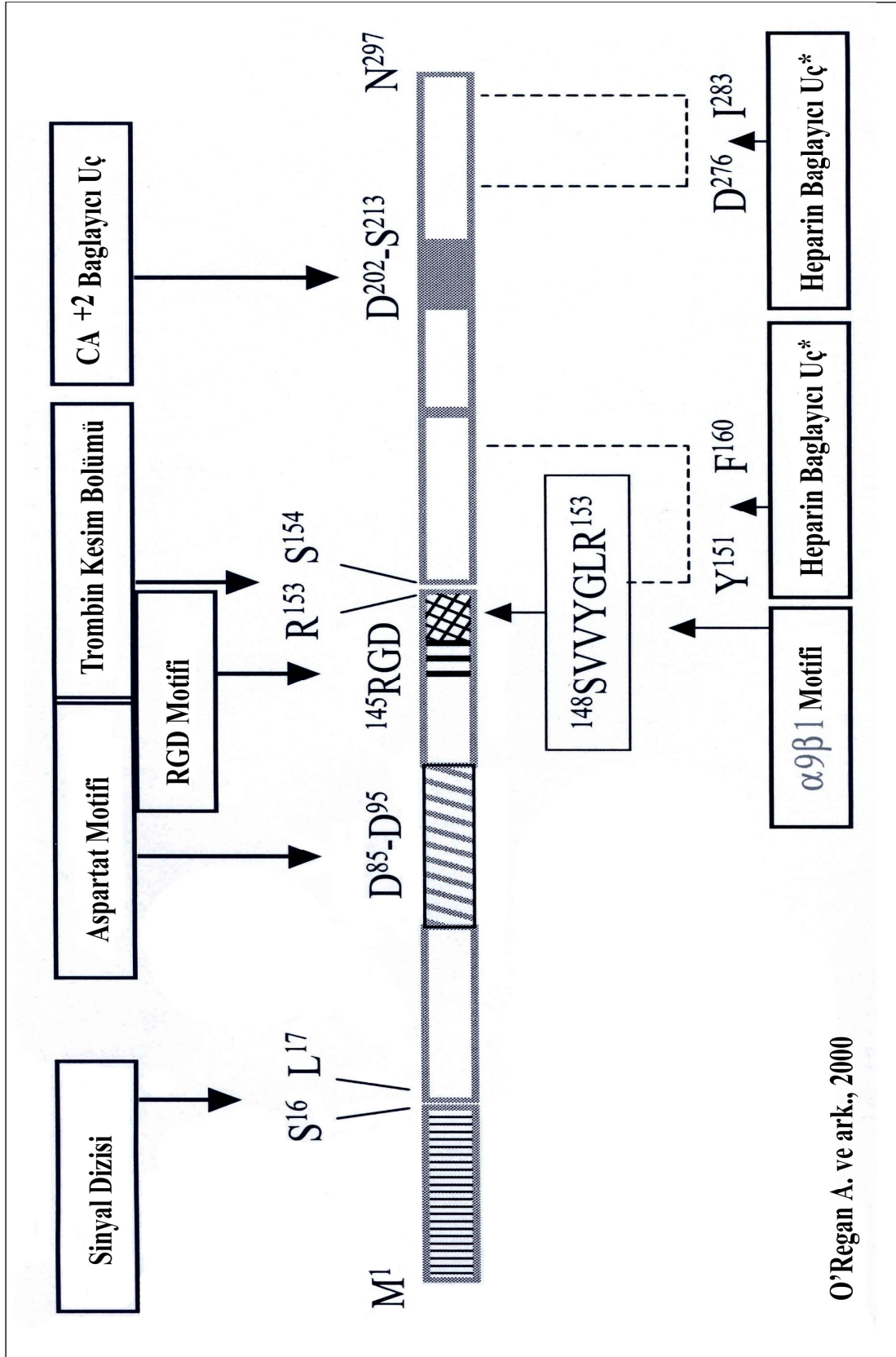
**Gönüllünün adı, imzası, adresi (Varsa telefon no) :** **Tarih**

**Açıklamaları yapan araştırmacının adı, imzası :** **Tarih**

**Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin adı imzası, görevi :**



Ek 3. Osteopontin proteininin yapısı



**Ek 4.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının OPN (+8090) genotipleri

<b>Kronik Periodontitis</b>			<b>Sağlıklı Kontrol</b>		
<b>Laboratuvar Kodu</b>	<b>Ad Soyad</b>	<b>Genotip</b>	<b>Laboratuvar Kodu</b>	<b>Ad Soyad</b>	<b>Genotip</b>
99	D.K.	CT	126	Ö.Ö.	TT
100	M.Ö.	CT	127	N.A.	CT
105	S.K.	CT	128	A.G.	CT
110	F.A.	TT	129	N.P.	CT
111	N.B.	CT	130	G.Ç.	CT
112	F.K.	TT	131	F.B.	TC
115	A.T.	TT	132	S.A.	CT
116	F.G.	CC	133	V.A.	CT
117	A.S.	CC	134	H.A.	CT
118	A.S.	CT	135	M.K.	CC
119	B.Ö.	CT	136	A.A.	CT
121	F.Z.	CC	137	R.G.	CT
122	E.Ş.	CT	138	A.T.	CT
123	E.Ö.	TT	139	H.K.	CT
124	G.K.	CC	141	Ö.A.	CT
125	M.B.	CT	142	İ.A.	CT
206	B.S.	CC	143	M.A.	CT
209	K.B.	TT	144	H.A.	CC
211	G.B.	CC	218	M.S.	CC
212	Y.E.	CT	231	M.U.	CT
214	B.K.	CT	233	F.D.	CC
215	M.U.	CT	234	Y.D.	CT
217	U.Ö.	CT	244	M.S.	CT
219	A.I.	CT	245	İ.K.	CC
220	M.S.	CT	246	İ.C.	CC

Kronik Periodontitis			Sağlıklı Kontrol		
Laboratuvar Kodu	Ad Soyad	Genotip	Laboratuvar Kodu	Ad Soyad	Genotip
223	T.O.	TT	247	C.U.	CT
224	E.Ş.	TT	248	N.K.	CT
225	M.Ç.	CC	252	R.S.	CC
226	A.A.	TT	253	Ş.K.	CC
301	N.H.	CC	254	İ.B.	CT
302	S.E.	TT	255	A.S.	CT
303	H.B.	CT	326	N.B.	CT
304	M.T.	CC	327	Y.Y.	CT
305	Ş.K.	CC	328	Ş.K.	CC
306	İ.A.	CT	329	A.Ö.	CC
307	U.G.	CT	330	İ.N.	CT
308	C.E.	CT	331	N.D.	CT
310	R.K.	CT	334	H.A.	CC
312	A.E.	TT	336	N.K.	CC
314	L.Ç.	CT	337	R.A.	CC
315	S.K.	CT	339	N.E.	CT
316	T.D.	CT	340	M.D.	CT
317	H.K.	CC	341	Ü.Ö.	CC
318	V.B.	CC	343	N.K.	CT
320	N.Ç.	CT	344	G.Ş.	CC
321	N.K.	TT	345	Ö.Ö.	CC
322	İ.S.	CT	346	Z.B.	TT
323	B.D.	TT	347	N.D.	CT
324	S.K.	CC	349	M.G.	CT
325	T.G.	CC	350	G.D.	CT

## **ÖZGEÇMİŞ**

1978 yılında Nazilli'de doğdum. İlk öğrenimimi Bodrum Turgutreis İlkokulu'nda tamamladım. Orta ve lise öğrenimimi ise İzmir Türk Koleji'nde bitirdim. 1996 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başlayarak, 2001 yılında Yüksek Lisans Diploması almaya hak kazandım. 2001 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya devam etmekteyim.