

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

**PERİODONTAL HASTALIKLI BİREYLERDE**  
**SERUM MANNOZ BAĞLAYICI LEKTİN DÜZEYLERİ VE GEN**  
**POLİMORFİZMİNİN GENOTİP- FENOTİP İLİŞKİSİ**

Periodontoloji (Dişhekimliği) Programı

**DOKTORA TEZİ**

**Diş Hekimi**  
**Özgün ÖZÇAKA TAŞDEMİR**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Nurgün BIÇAKÇI**

**İZMİR-2006**



**DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ**

**(Adı Soyadı)**

**(İmza)**

**Başkan** : Prof. Dr. Nurgün BIÇAKÇI .....

**(Danışman)**

**Üye** : Prof. Dr. Afig BERDELİ .....

**Üye** : Prof. Dr. Füsun ÜNLÜ .....

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

**Üye** : Prof. Dr. Tunç İLGENLİ .....

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: .....

## ÖNSÖZ

Tezimin belirlenmesinde, çalışmalarım esnasında ve tezin yazımı sırasında değerli fikirlerini ve desteğini esirgemeyen doktora tez danışmanım Prof. Dr. Sayın Nurgün BIÇAKÇI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın planlanmasında ve laboratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde gülen yüzleri ile bilgi, deneyim ve becerilerini benimle paylaşan ve sonuçların yorumlanmasında büyük desteği olan Prof. Dr. Sayın Afig BERDELİ'ye ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D. Moleküler Tıp Araştırma Laboratuvar'ı çalışanları Sayın Biyolog Kadriye GÜLER, Sayın Biyolog Aykut TİRELİ, Sayın Biyolog Nurcan ÖZDEMİR'e, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Hayvan Hücre Kültürü Laboratuvarından Sayın Ayşe NALBANTSOY'a ve araştırmamın istatistiksel analizlerinde ve yorumlamalarında sabırla yardımcı olan Yrd. Doç. Dr Sayın Timur KÖSE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma arkadaşlarım Sayın Dt. Demet PİRHAN ve Sayın Dt. Burç TAYLAN'a örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca ve çalışmalarım sırasında maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan aileme, Asuman ve Tahsin ÖZÇAKA'ya, moral kaynağım kardeşim Özgür Hakkı ÖZÇAKA'ya ve sabırla bana yardımcı olan ve desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Özgür Önder TAŞDEMİR'e içtenlikle teşekkür ederim.

Bornova, İZMİR, 2006

Dt. Özgün ÖZÇAKA TAŞDEMİR

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>TABLO DİZİNİ</b>	<b>VIII</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b>	<b>IX</b>
<b>GRAFİK DİZİNİ</b>	<b>X</b>
<b>TANIMLAMALAR</b>	<b>XI</b>
<b>BÖLÜM I</b>	<b>1</b>
<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Periodontal Hastalığın Patogenezi</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. MBL'nin Primer Yapısı</b>	<b>10</b>
<b>1.2. Peridontal Hastalıkta Genetik Faktörlerin Rolü</b>	<b>12</b>
<b>BÖLÜM II</b>	<b>19</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Klinik Ölçümler</b>	<b>20</b>
<b>2.2. Başlangıç periodontal tedavi</b>	<b>21</b>
<b>2.3. Kan Örneklerinin Toplanması</b>	<b>21</b>

<b>2.4. Serum MBL Analizi</b>	<b>22</b>
<b>2.5. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu</b>	<b>22</b>
<b>2.6. MBL Genotiplenmesi</b>	<b>24</b>
<b>2.7. PCR Amplifikasyon Koşulları</b>	<b>24</b>
<b>2.8. PCR Şartları</b>	<b>25</b>
<b>2.9. Agaroz Jel Elektrofrezisi</b>	<b>25</b>
<b>2.10. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Koşulları</b>	<b>26</b>
<b>2.11. İstatistiksel Değerlendirme</b>	<b>28</b>
<b>BÖLÜM III</b>	<b>30</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>30</b>
<b>3.1. Serum MBL Düzeyinin Değerlendirilmesi</b>	<b>31</b>
<b>3.2. MBL Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi</b>	<b>32</b>
<b>3.2.1. Serum MBL düzeyleri ile MBL geni kodon 54 genotiplerinin ilişkisinin değerlendirilmesi</b>	<b>37</b>
<b>3.2.2. MBL kodon 54 gen polimorfizminin tüm ağız klinik parametrelerle ilişkisinin değerlendirilmesi</b>	<b>39</b>
<b>BÖLÜM IV</b>	<b>45</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>45</b>

<b>BÖLÜM V</b>	<b>55</b>
<b>SONUÇ</b>	<b>55</b>
<b>BÖLÜM VI</b>	<b>58</b>
<b>ÖZET</b>	<b>58</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>60</b>
<b>EK I</b>	<b>62</b>
<b>BÖLÜM VII</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>63</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>82</b>

<b>TABLO DİZİNİ</b>	<b>Sayfa</b>
	<b>No</b>
<b>Tablo 1.</b> Kronik periodontal hastalıklarda araştırılan genler ve hastalıkla olan ilişkileri	<b>16</b>
<b>Tablo 2.</b> PCR şartları	<b>25</b>
<b>Tablo 3.</b> Hastaların gruplara göre dağılımı	<b>30</b>
<b>Tablo 4.</b> Serum MBL analizi yapılan bireylerin klinik ve demografik verileri	<b>31</b>
<b>Tablo 5.</b> MBL gen polimorfizmi değerlendirilen bireylerin klinik ve demografik verileri	<b>33</b>
<b>Tablo 6.</b> Hardy–Weinberg eşitliğine göre beklenen genotip frekansı ve sayısı	<b>34</b>
<b>Tablo 7.</b> Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupların MBL geni kodon 54 polimorfizmi için genotip dağılımı	<b>34</b>
<b>Tablo 8.</b> Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 allel dağılımı ve en az bir mutant allel taşıyıcılığı	<b>35</b>
<b>Tablo 9.</b> Lojistik regresyon analizi sonucu mutant allel taşıyıcılığı	<b>36</b>
<b>Tablo 10.</b> MBL geni kodon 54 genotiplerinin serum MBL düzeyi ortalamaları (ng/μl)	<b>37</b>
<b>Tablo 11.</b> Kronik periodontitisli ve sağlıklı kontrollerin B allel + ve B allel – gruplarında serum MBL düzeyleri	<b>38</b>
<b>Tablo 12.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel - gruplarının sondalanan cep derinliği (SCD) ortalamaları (mm)	<b>39</b>



<b>Tablo 13.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel – gruplarının klinik ataşman seviyesi (KAS) ortalamaları (mm)	<b>41</b>
<b>Tablo 14.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel – gruplarının tüm ağız papil kanama indeksi ortalamaları (%)	<b>42</b>
<b>Tablo 15.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel - gruplarının plak indeksi ortalamaları (%)	<b>43</b>
<b>Tablo 16.</b> Farklı populasyonların MBL geni ekzon 1 allel frekansları	<b>50</b>

## ŒEKİL DİZİNİ

## Sayfa No

Œekil 1. Periodontal hastalığın patogenezi	5
Œekil 2. 3 farklı yol ile kompleman sistemin aktivasyonu	8
Œekil 3. Klasik ve lektin yolu ile kompleman aktivasyonu	10
Œekil 4. MBL'nin yapısal elemanları	11
Œekil 5. İnsan geninin genel yapısı ve polimorfizmin gelişebileceği bölgeler	12
Œekil 6. Periodontal hastalığın fenotipik özelliklerini etkileyen faktörler	15
Œekil 7. MBL geni 1. ekzon kodon 54 PCR sonrası <b>Ban I</b> enzim kesimi jel fotoğrafı	27

<b>Grafik 1.</b> Kronik periodontitisli ve sağlıklı kontrol gruplarının serum MBL ortalamaları (ng/ $\mu$ l)	<b>32</b>
<b>Grafik 2.</b> Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 polimorfizmi için genotip dağılımı	<b>35</b>
<b>Grafik 3.</b> Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 allel dağılımı	<b>36</b>
<b>Grafik 4.</b> B allel + ve B allel - gruplarının serum MBL ortalamaları (ng / $\mu$ l)	<b>38</b>
<b>Grafik 5.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel – gruplarının sondalanan cep derinliği değerleri (mm)	<b>40</b>
<b>Grafik 6.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel - gruplarının klinik ataşman seviyesi ortalamaları (mm)	<b>41</b>
<b>Grafik 7.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel – gruplarının papil kanama indeks ortalamaları (%)	<b>42</b>
<b>Grafik 8.</b> Kronik periodontitis grubunda B allel + ve B allel - gruplarının plak indeksi ortalamaları (%)	<b>44</b>

## TANIMLAMALAR

**Gen:** Fenotipi tanımlayan, kromozomların üzerinde bulunan ve kalıtımla ilgili işlevleri olan basit kalıtımsal yapı

**Lokus:** Bir genin DNA molekülünde kapladığı fiziksel alan

**Genom:** Kalıtsal elementlerin oluşturduğu bütün

**Genotip:** Bireyin genetik yapısı

**Fenotip:** Bir hastalık veya özellik olarak genotipin gözle görünür ifadesi

**Allel:** Populasyonda mevcut olan bir genin alternatif bir versiyonudur.

**Allel frekansı:** Allelin toplumdaki dağılışı şekli, allel görülme sıklığı

**Heterozigot:** Belirli bir karakter bakımından değişik alleller taşıyan, bunlar genellikle bir normal ve bir hastalıklı allellerdir.

**Homozigot:** Belirli bir karakter bakımından özdeş allelleri taşıyan bunlar genellikle iki normal veya iki hastalıklı allellerdir

**Haplotip:** Genotipi oluşturan her genin bir allelinin toplamı

**Polimorfizm:** Genom üzerindeki bir bölgenin populasyonun belirli oranında çeşitlilik göstermesi

**Mutasyon:** Referans bölgeden genomik dizinin farklılık göstermesi

**Pseudogen:** Yalancı gen, genetik fonksiyonları olmayan gene benzeyen DNA yapısı

## BÖLÜM I

### GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontal hastalıklar subgingival bölgede kolonize olan spesifik patojen bakterilerin ve buna karşı verilen spesifik konak cevapları arasındaki etkileşim sonucu oluşan enfeksiyöz hastalıklardır. Başta *Porphyromonas gingivalis* ve *Actinobacillus actinomycetemcomitans* olmak üzere çok sayıda periopatojenin periodontal hastalık etkeni oldukları belirlenmiştir.

Periodontal hastalıklar, genel olarak dişler ve çevresindeki sert ve yumuşak dokuları etkileyen, histolojik olarak dişeti ekstrasellüler bağ dokusunda enflamatuvar hücre birikimi, klinik olarak ise alveoler kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve bunu izleyen diş kaybı ile karakterizedir. Bağlantı epitelinin apikale göç etmesinin ardından ataşman kaybı gözlenmektedir. Periodontal hastalıkların en sık görülen formu olan kronik periodontitis, yavaş seyreden periodontal ataşman kaybı ile karakterizedir (74, 89, 106, 130). Ancak, bir çok kronik enfeksiyonda olduğu gibi periodontal enfeksiyonların da başlaması ya da ilerlemesi çeşitli lokal ve sistemik etkenlerin diğer bir deyişle risk faktörlerinin varlığında konağın bu patojenlere karşı gösterebildiği direnç ile doğrudan ilgilidir.

Günümüzde en önemli sistemik risk faktörü olarak diabetes mellitus ve sigara alışkanlığı kabul görmekte ise de (31, 32), bu faktörlere osteopeni ve nötrofil bozuklukları da eklenmektedir (17, 125). Periodontal hastalıkların şiddetindeki bireysel farklılıklar, hastalık etkeni ile periodontal doku yıkım derecesi arasındaki ilişkinin her zaman pozitif yönde olmayışı, enflamatuvar periodontal hastalıkların etyolojisini karmaşık bir duruma sokmaktadır. Bazı bireyler, bazı dişler veya dişlerin bazı yüzeyleri periodontal hastalıktan daha şiddetli

etkilenirken, sağlıklı durum ile hastalığın farklı safhaları aynı hastada ve aynı dişlerde birlikte bulunabilir (68, 69).

Epidemiyolojik çalışmalarda erişkin popülasyonunun %80-90'ında geçirilmiş veya aktif periodontitise işaret eden klinik ataşman kaybı veya radyografik kemik kaybı görüldüğü, yanı sıra aynı popülasyonun ancak %7-15'inin şiddetli ve yaygın periodontitisten etkilendiği bildirilmektedir (10, 35, 46, 73).

Yaygın olarak görülen periodontal hastalıkların etiolojisinin belirlenmesi ve sınıflandırılmasının yanı sıra, hastalığın genetik özelliklerinin de tanımlanması, hastalığın tanı ve tedavisinde de oldukça önemlidir.

Konağın savunma sistemi, bakterilerin antijenleri, lipopolisakkarit ve diğer virulans faktörlerine karşı, antikorlar ve polimorfonükleer lökositler ile yanıt verir. Konak savunmasının bakteriler tarafından aktivasyonu ile bağ dokusu ve kemikte yıkım meydana gelir. Bağışıklık ve konak savunma sistemi hücreleri, periodontal dokuların savunmasını ve bütünlüğünü sağlamanın yanı sıra doku hasarına ve yıkımına da yol açabilirler. Çevresel ve genetik faktörler ise konak bağışıklık yanıtını, bağ dokusu ve kemik metabolizmasını etkileyerek periodontal hastalığın oluşmasına katkıda bulunurlar (43, 77).

Hart ve Kenneth (38) , periodontal hastalıkları genetik olarak inceledikleri çalışmada, riskli ve sağlıklı bireyler arasındaki farklılıkların immun sistemin elemanlarını kodlayan genlerdeki polimorfizmler olduğunu belirtmişlerdir.

Periodontal hastalıkların fenotipleri ile enflamatuvar hastalıkların gen polimorfizimleri arasındaki ilişki, hastalığın gelişimini de etkileyebilmektedir. Genetik farklılıklar ise mikrobiyal enfeksiyonda immun ve enflamatuvar yanıtı da etkilemektedir. Periodontitisin başlamasında mikrobiyal dental plak temel etken olmasına karşın, çevresel ve genetik faktörler de periodontitisin şiddeti ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır.

Doğal bağışıklık sisteminde anahtar rol oynayan ve karaciğerden sentezlenen C tipi lektin ailesinin akut faz proteini olan MannoZ Bağlayıcı Lektin (MBL), n6trofillerin aktivasyonunda rol alan doğal bağışıklık sistemi elemanlarından olan kompleman sistemin yanı sıra, antikor cevabından 6nce de serumda bulunmakta ve bağladığı bakterileri kompleman sistemin lektin yolunu aktive ederek n6tralize etmektedir. Serum MBL d6zeyinin d6ş6k veya y6ksek olmasına bağlı olarak 7eşitli hastalıklar ve hastalık komplikasyonları g6r6lmektedir. MBL iki ucu keskin bir bı7ak gibi etki g6stermektedir. Serum MBL d6zeyinin d6ş6k olması enfeksiyon riskini artırırken, y6ksek olması bazı enflamatuvar hastalıklara ve organ nakillerinde organ reddine neden olabilmektedir. Serum MBL d6zeyi ile ilişkili olarak da MBL geninin 7eşitli allelleri tanımlanmaktadır.

Yaptığımız kaynak taramasında serum MBL d6zeyinin romatoid artrit, menenjit, sistemik lupus eritamosus (6, 21, 49, 113), t6berk6loz (109) ve kistik fibrozis (27) gibi bir 7ok enflamatuvar hastalıkla ilişkisi 6zerine 7ok sayıda 7alışmanın bulunduğu buna karşın enflamatuvar bir hastalık olup yaygın ataşman ve kemik kaybı ile seyrederek diş kayıplarına neden olan periodontal hastalıklarla ilişkisinin araştırılmadığını saptadığ. Ayrıca genetik fakt6rlerin 7eşitli hastalıklardaki katkılarının geniş bir bi7imde irdelendiği g6n6m6zde bu 7alışma ile, kronik periodontal hastalıkta ve başlangı7 periodontal tedaviye cevapta, MBL serum d6zeylerinin etkisini ve periodontal hastalıklı bireylerin fenotip - genotip ilişkisini değerlendirmeyi ama7ladık.

## GENEL BİLGİLER

2000'li yılların başlarında, insan vücudunun, insan davranış ve düşüncesinin merkezini oluşturan 16 trilyon hücrenin dizilimi, yani genetik kodu konusunda büyük gelişmeler olmuştur. Bu gelişmeler patogenezi hala tam olarak açıklanamamış olan periodontal hastalıklar ve diğer bir çok hastalığın diagnozu ve tedavisinde önemli ilerlemelerin yapılmasında öncülük etmektedir ve daha da edecektir.

### 1.1. Periodontal Hastalığın Patogenezi

Periodontal hastalıkların en yaygın formu olan kronik periodontitis, erişkin popülasyonunun %30'unda görülmekte, bunun da %7-13'ünü ileri periodontitisli bireyler oluşturmaktadır (94).

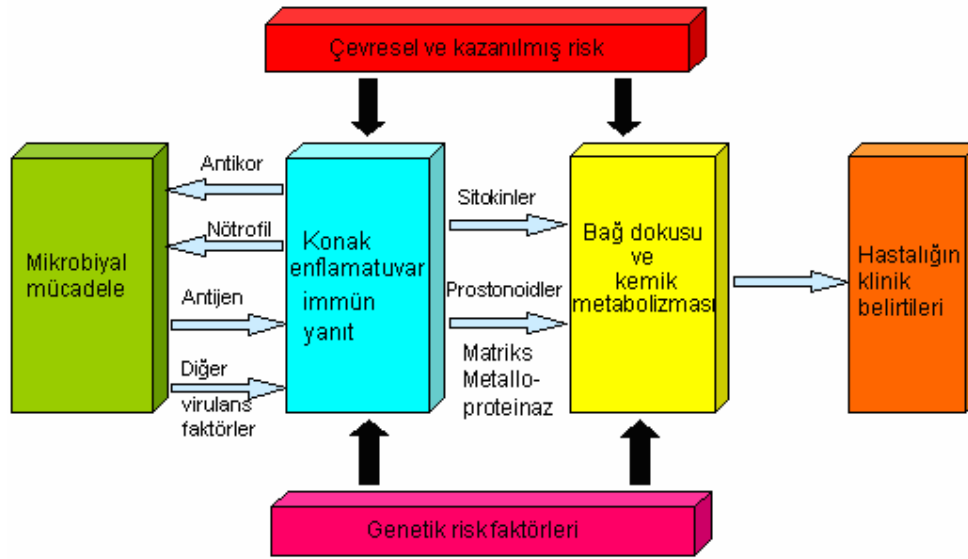
Popülasyonda bu kadar yaygın olarak gözlenen periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde, dental plakta bulunan mikroorganizmalar ve ürünlerinin periodontal hastalıktan sorumlu primer etiyolojik ajanlar olduğu ve konak savunma mekanizmaları ile etiyolojik ajanlar arasındaki etkileşimlerin önemli belirleyici faktörler olduğu ve bilinmektedir (39, 72, 78).

İnsanlarda bugüne kadar, oral kaviteden 300'den fazla bakteri türü izole edilmiş olmasına karşın, bunların sadece %5'i periodontitis ile yakından ilişkilidir. Subgingival plaktan izole edilen birçok bakteri türünden, Gram (-) çomak ve hareketli bakterilerin periodontal hastalığın başlaması, ilerlemesi ve aktif doku yıkımı ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, çeşitli *Bacteroides* ve *Porphyromonas* türleri, *Wolinella recta* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi spesifik bazı bakterilerin özel



virulans faktörlerine sahip oldukları ve periodontitise özgü doku yıkımından sorumlu oldukları bilinmektedir (59, 92). Periodontal patojenler, konak savunma sistemini aktive ederek dolaylı olarak bağ dokusu ve kemikte yıkım meydana getirmekte ve periodontal hastalık oluşumunda primer rol oynamaktadırlar. Periodontitisin ortaya çıkması ve ilerlemesi, spesifik patojen bakterilerin yanı sıra, diabetes mellitus, sigara alışkanlığı, stres gibi çevresel ve genetik risk faktörlerinin varlığında konağın bu patojenlere karşı gösterebildiği immün yanıt ile doğrudan ilgilidir (2, 38, 59, 64). (Şekil 1)

**Şekil 1.** Periodontal hastalığın patogenezi (38)



Bilindiği gibi, enflamasyon doku travmasını takiben gelişen ve doku onarımının azalması ile tamamlanan kompleks bir süreçtir (79, 114). Enflamasyonun başlamasını takiben doğal ve kazanılmış (adaptif) immün sistem doku onarımında rol oynamaktadır. Doğal immün sistem, kazanılmış immün sistemden önce ilk savunma hattını oluşturur. Ayrıca enflamatuvar yanıtın başlamasında, ilerlemesinde ve sınırlandırılmasında da doğal immün

sistem önemli rol oynar. Bu yüzden doku yaralanmasına karşı oluşan yanıtta gözlenen bireysel farklılıklar ve klinik olarak enflamasyonun oluşumundaki çeşitlilik, genetik varyasyonlar ile açıklanabilmekte ve anormal enflamatuvar yanıtın gelişmesinde bu varyasyonlar bireyleri hastalığın görülme sıklığı açısından yüksek riskli olarak tanımlanmasına da neden olmaktadır.

Doğal immun yanıt, konağın enfeksiyona yatkınlığının tanımlanmasında da oldukça önemlidir (79, 83). Doğal ve kazanılmış immun sistemin oluşturduğu savunmada önemli rol oynayan kompleman sistem, bir dizi biyolojik reaksiyonlar sonucunda aktive olmaktadır.

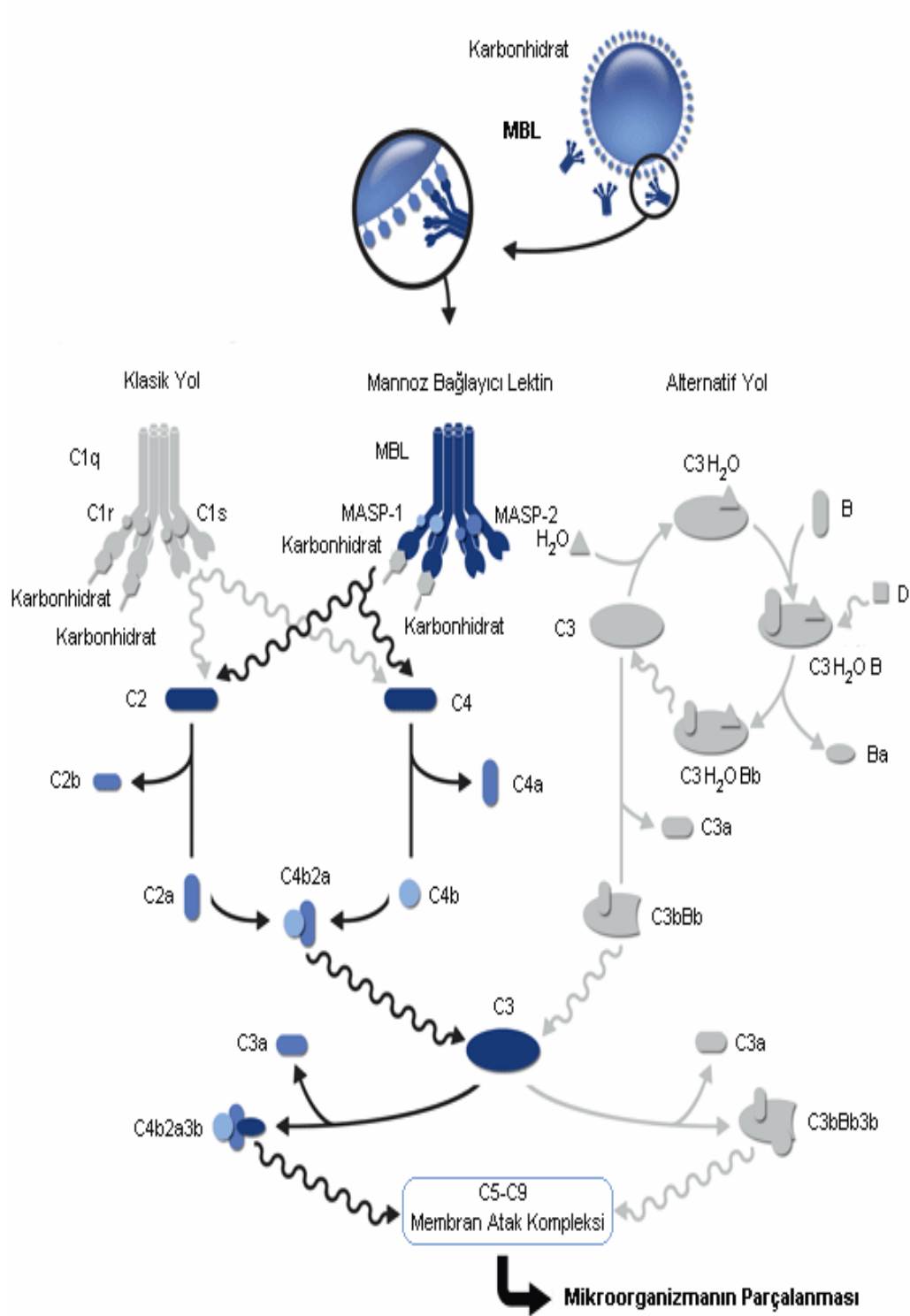
İlk olarak 1890'larda tanımlanan komplemanın, ısıya dayanıklı antikorların, serumdaki ısıya duyarlı proteinlerle tamamlanması sonucu bakterilerin öldürülmesini sağladığı belirtilmiştir. Bu tanımlamadan 50 yıl sonra komplemanın antikordan bağımsız alternatif yol olan, bakteriyel yüzeylerle de aktive olabileceği belirtilmiştir (26). Günümüzde ise, Fujita (25) tarafından üçüncü bir aktivasyon yolu olan 'lektin yolu' tanımlanmıştır. Kısaca kompleman sistemin aktivasyonunda, kompleman sistemin en kritik ve proteolitik aktivasyon basamağı olan C3'ün aktivasyonunda birleşen 3 farklı aktivasyon yolu, klasik, alternatif ve lektin yolu bulunmaktadır (25, 119). (Şekil 2).

Klasik yolun aktivasyonu; C1q, C1r ve C1s'den oluşan C1 kompleksinin bakteri yüzey antijenine bağlanması ile başlar. C1q'nun yapışmasının ardında C1r serin proteazın oto aktivasyonu gerçekleşir ve C1r parçalanarak C1s'nin aktivasyonunu sağlar. C1q, C4 ve C2'nin parçalanmasını sağlayan C1 esteraz enzimi olarak adlandırılır. C4 ve C2'nin parçalanmasının ardından C4b2a enzimini oluşturur. Bu enzim C3 konvertaz gibi hareket eder ve C3'ü parçalayarak C3a ve C3b'ye ayırır. Anaflaktoksin olarak da adlandırılan C3a, mast hücreleri ve bazofillerden histamin salınımına neden olur ve bu vazodilatasyon vasküler permeabilitenin artışı ile sonuçlanır. C3b, kompleman aktivasyonunun çağlayan (kaskat) tarzında devam etmesine ve membran saldırı kompleksi (membrane attack complex) (MAC)

olarak adlandırılan C5 - C9 aktivasyonu ve bakterinin lizisi ile sonuçlanmasına neden olur (26, 119).

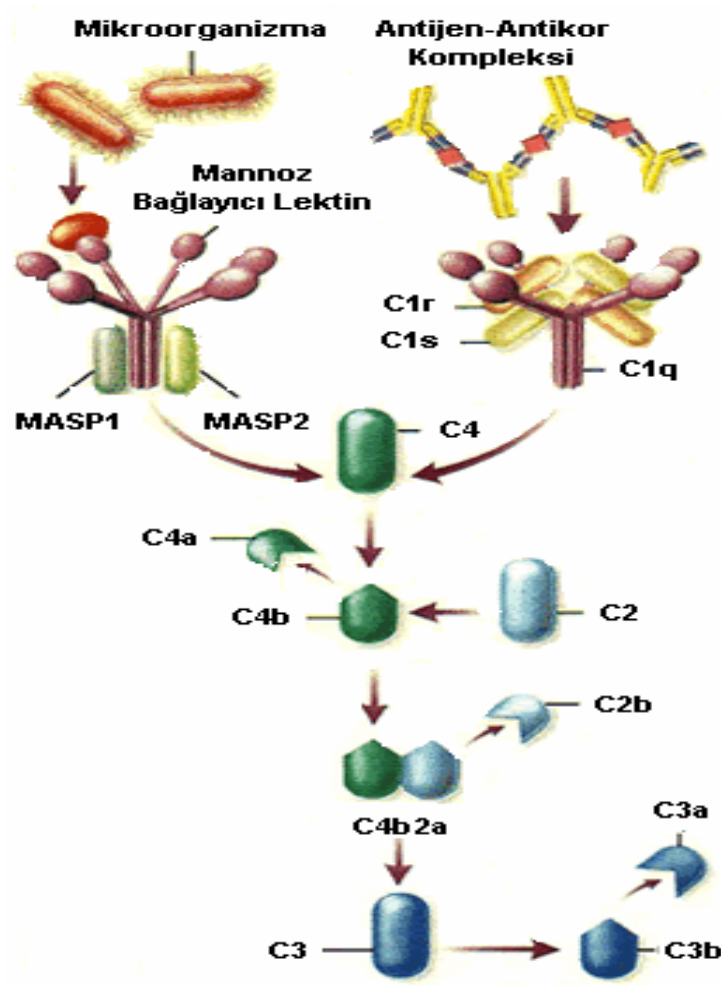
Alternatif yolun aktivasyonu, hidrolize olmuş C3 [C3(H<sub>2</sub>O)] ve aktif faktör B (Bb)'nin C3'ü düşük derecede aktive etmesi ile başlar. Aktive olmuş C3b alternatif yolun C3 konvertaz [C3bBb] enzimini oluşturmak için faktör D ile birleşir. C3 konvertaz C3a ve C3b'yi oluşturur, Böylece alternatif yol ile MAC oluşmuş ve bakterinin lizis'i gerçekleşmiş olur.

**Şekil 2.** 3 farklı yol ile kompleman sistemin aktivasyonu



Kompleman aktivasyonunun diğer bir yolu olan lektin yolu doğal immun yanıtın önemli komponentlerindedir (62, 82, 118, 120). Karaciğerden sentezlenen C-tipi (kalsiyuma bağımlı) serum lektin proteini olan MBL (42), antikor aktivasyonundan bağımsız olarak, patojen mikroorganizmalara yapışarak kompleman sistemi aktive eden immun sistemin ilk savunma hattıdır (20, 29, 85). Patojen mikroorganizmalarda görülen yüksek yoğunluklu mannoz ve N-asetilglukozamin şeker yapılarına yapışmasını takiben yapısal değişime giderek MASP1 ve MASP2 (MBL-associated serine proteases) aktivasyonu gerçekleşir. C4 ve C2'nin aktivasyonundan sorumlu olan MASP1 ve MASP2, klasik yolda oluşan enzim ile aynı yapıya sahip C3 konvertaz enzimini oluştururlar. Daha sonra klasik yol ile ortak şekilde ilerler ve olay yine bakterinin lizisi ile sonuçlanır (Şekil 3) (22, 26, 48, 93, 126).

Şekil 3. Klasik ve lektin yolu ile kompleman aktivasyonu

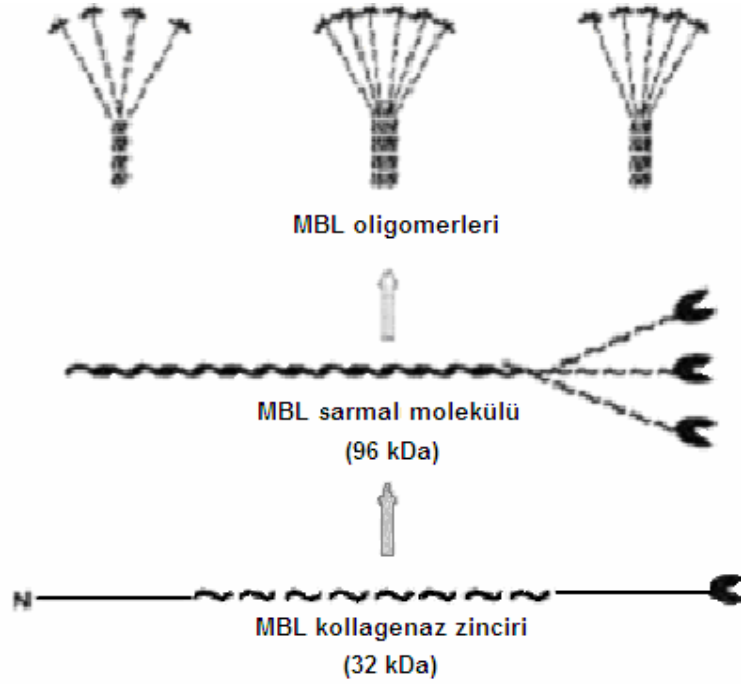


### 1.1.1. MBL'nin primer yapısı

MBL, herbirinde C-terminal karbohidrat tanımlayıcı bölgesi (Carbonhydrate-recognition domain, CRD) olan 3 adet 32 kDa kollagenaz zincirinin oluşturduğu 96 kDa sarmal bir moleküldür (Şekil 4). MBL'nin yapısal birimi, sisteinden zengin N-terminal disülfid bağlarla güçlendirilmiştir (20, 79).

MBL yapısındaki her bir CRD, N-asetilglukozamin D-mannoz, N-asetilmannozamin ve L-fukoz oligosakkaritlerine yapışabilme yeteneğine sahiptir (9, 112).

**Şekil 4.** MBL'nin yapısal elemanları (112)



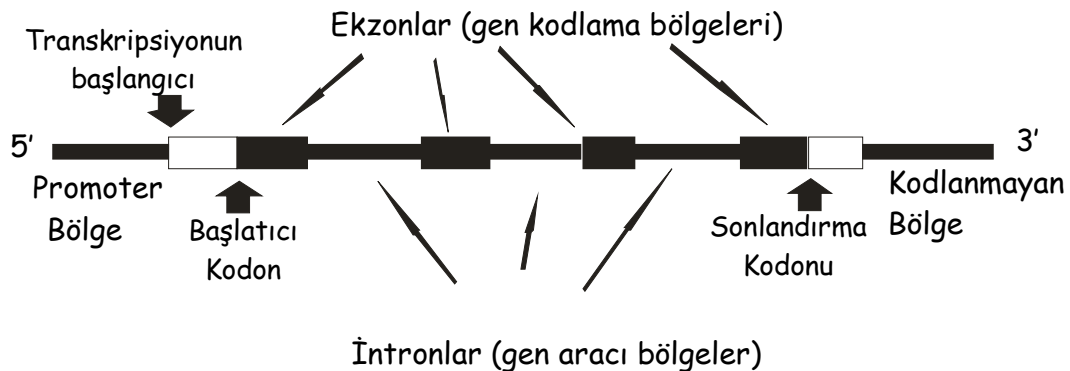
Patojenlere karşı doğal savunmada önemli rol oynayan MBL, mikrobiyal yüzeylerdeki karbohidratlara yapışarak bir dizi tanıma işlemi başlatır (47). Bazı mikroorganizmalarda yapılan çalışmalar, MBL' ye bağlanma özelliklerine göre mikroorganizmaları yüksek, orta, düşük ve bağlanma göstermeyen olarak gruplandırmışlardır (47). Bunlardan *Candida albicans* MBL'ye yüksek bağlanma gösterirken, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* orta derecede bağlanma göstermektedir.

## 1.2. Peridontal hastalıkta genetik faktörlerin rolü

Doğadaki canlıların tümüne yakın kısmının genetik materyali deoksiribonükleik asit (DNA)'dir. Birbirini tamamlayıcı ikili sarmal yapıda uzun bir polimer olan DNA'nın temelini şeker ve fosfat tekrarları oluşturur. Fosfatlar deoksiriboz yapısındaki şekere 3' ve 5' hidroksil gruplarından bağlanır (127). Şekerin 1' bölgesine ise nitrojen içeren nükleotid bazları bağlanır. Bu bazlardan adenin (A) ve guanin (G) purin yapısında, sitozin (C) ve timin (T) ise primidin yapısındadır. Nükleotid baz çiftlerinin farklı diziler halinde sıralanması ile genetik bilgi oluşur. Bir bireyin taşıdığı tüm genler "Genom" olarak adlandırılmaktadır (83). Genom üzerindeki bir bölgenin popülasyonda anlamlı oranda bireylerde çeşitlilik göstermesine "Polimorfizm" denilmektedir. İnsan geninde polimorfizmin gelişebildiği bir veya birkaç bölge bulunmaktadır (Şekil 5); (114).

1. Promoter bölge veya 5'- kenar (flanking) bölge
2. Ekzon veya gen kodlama bölgesi
3. İntron (Ekzonlar arasına yerleşen ve aminoasit kodlamayan) bölge
4. Kodlanmayan bölge veya 3'- UTR (untranslated) bölge

Şekil 5. İnsan geninin genel yapısı ve polimorfizmin gelişebileceği bölgeler (114)





Genomik DNA'daki tek baz çiftindeki değişiklikler polimorfizimlerin en yaygın formu olan "Tek Nükleotid Polimorfizmi" Single Nükleotid Polymorphisms (SNPs) olarak adlandırılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri genin fonksiyonunu etkilemektedir (114).

Polimorfizmlerin diğer bir formu olan "Tek Dizi Tekrarları" (Simple Sequence Repeats) dinükleotid ve trinükleotid tekrarlarıdır. Ardışık tekrarların belirli sayılarda olması, genin fonksiyonunu etkileyebilse de, bu tekrarlar genellikle gendeki fonksiyonel bir polimorfizm ile ilişkilendirilmektedir. İnsan genomunda gözlenen diğer bir polimorfizm olan "Ekleme veya Silme" (Insertions or deletions) de proteinlerin yapısı ve fonksiyonunda değişiklikler meydana gelmektedir. Ekleme ve silmeler 1 baz kadar küçük olabilirler, böyle durumlarda tek nükleotid polimorfizmi ile aynı grupta sınıflandırılabilirler. Fakat birkaç bazın, bir veya daha fazla ekzonunda veya genin tümünde de olabilir.

Doğada en kompleks canlı türü olarak bilinen insan genomu, bilinen 30,000 – 40,000 genin farklı dizilimleri ile oluşmaktadır. Dizilimlerdeki farklılıklar sonucunda ortaya çeşitli genetik hastalıklar da çıkabilmektedir (83).

Genetik çalışma yapan araştırmacılar, genetik hastalıkları 2 ana gruba ayırmışlardır;

- Basit Mendel Kalıtımı Hastalıkları (Tek gen hastalıkları)
- Kompleks Hastalıklar (Poligenik hastalıklar)

Basit mendel kalıtımı hastalıkları, adından da anlaşılacağı gibi klinik hastalık fenotipinin görülmesi, ailede basit modellerinin olması, kromozom veya genomik DNA'nın bir parçasını tutan fiziksel lokasyondaki bir tek gen lokusunda genetik farklılaşmanın görülmesi ile tanımlanmaktadır. Mendel hastalıklarının populasyonda görülme prevalansı oldukça düşüktür (%0.1'den az). Amelogenesis Imperfekta, Ehlers-Danlos sendromu, Chediak Higashi, Papillon Lefevre sendromu gibi hastalıklar Mendel hastalıklarındandır.

Kompleks hastalıklar ise Basit Mendel Kalıtımı hastalıklarından farklı olarak ailesel geçiş göstermezler ve hastalığın ortaya çıkmasına bir çok gendeki allellerin (genin alternatif versiyonu) farklılaşması neden olmaktadır. Etiyolojik olarak çevresel faktörler, kompleks hastalıkların gelişmesinde önemlidir. Bu tür hastalıkların popülasyonda görülme prevalansı Mendel hastalıklarına oranla daha fazladır (%1'den fazla).

Genetik polimorfizmlerle ilişkili hastalıklar popülasyonda yaygın olarak görülmektedir. Geniş popülasyonları kapsayan çalışmalarda, böyle hastalıklarda genellikle allel görülme frekansının (sıklığının) %20'den fazla olduğu gösterilmiştir. Kompleks hastalıklarda, hastalığın görülmesinde genetik farklılıkların olması yeterli olmamaktadır. Hastalıkla ilişkili alleller, hastalıktan etkilenmemiş popülasyonun büyük bir bölümünde de bulunabilir. Bu nedenle de hastalıkla ilişkili alleli taşıyan bireyde klinik tanının konulmasında yetersiz kalınmaktadır (57).

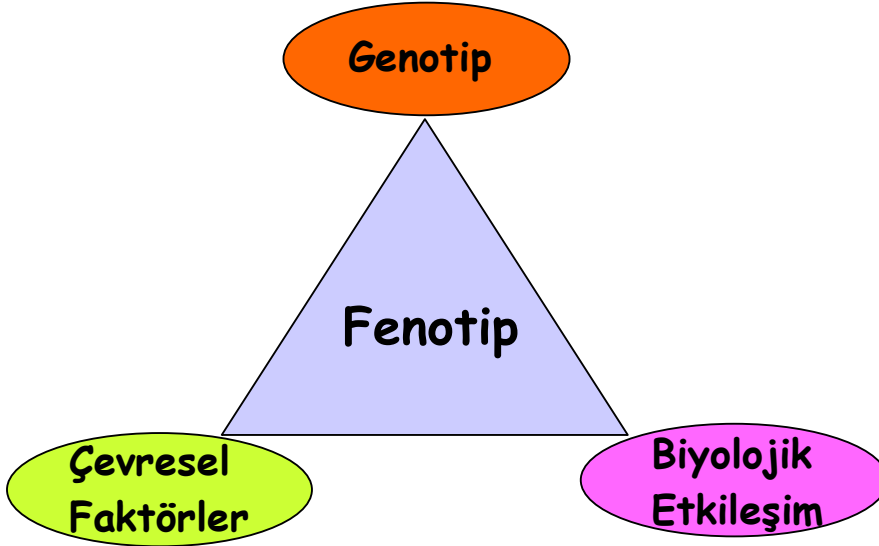
Popülasyonun allel frekansının araştırılması, hastalıkla ilişkili allelin hastalığın seyrine etkisi ve şiddetinin tanımlanmasında büyük önemi vardır.

Nitekim, periodontal hastalıkların şiddetindeki bireysel farklılıklar, hastalık etkeni ile periodontal doku yıkım derecesi arasındaki ilişkinin her zaman pozitif yönde olmayışı, enflamatuvar periodontal hastalıkların etiyojisini karmaşık bir duruma sokmakta ve olaya karışan başka etkenlerin de olabileceğinin sorgulanmasını gerekli kılmaktadır. Örneğin sigara içicisi olmak ve plak kontrolünün yetersiz olması, periodontal hastalık fenotipi için çevresel risk faktörleri olarak belirtilebilir. Periodontal hastalıkta rol oynayan genetik faktörler ise hastalığın etiyojisinde, tanı ve tedavisinde oldukça önemli bir yere sahiptir.

Kinane ve Hart (56) araştırmaları sonucunda hastalığın fenotipik özelliklerinin gözlenmesinde etkisi olan faktörleri bir formül ile tanımlamışlardır.

*Fenotip = Çevresel faktörler + Genotip + Biyolojik etkileşim (Şekil 6)*

**Şekil 6.** Periodontal hastalığın fenotipik özelliklerini etkileyen faktörler (56)



Erişkinlerde yaygın olarak görülen kronik periodontitiste hastalığın gelişimi yıllarca sürebilmektedir (58, 114). Bireyin ailesel genetik geçmişi, periodontal hastalığa yatkınlığını ve hastalığın görülme şiddetini etkileyebilmektedir. Periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde etkili interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), human leukocyte antigens (HLA) gibi sitokinler ve matrix metalloproteinase (MMP), cathepsin-C , vitamin D gibi proteaz ve yapısal moleküllerin ekspresyonunda etkili genlerin yanı sıra, immuno reseptörler ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (3, 4, 7, 11, 16, 18, 40, 60, 72, 97, 103, 107) .

Takashiba ve Naruishi (114) 140 orijinal çalışmayı derledikleri araştırmalarında, periodontitisin ilerlemesi ve şiddeti ile pozitif ve negatif ilişkisi olan genlerin polimorfizmlerini değerlendirmişlerdir (Tablo 1).

Araştırmacıların bu derlemeleri ile, periodontal hastalıklar ve çevresel faktörlerin ilişkisini inceleyen kapsamlı genetik çalışmalara gereksinim olduğu sonucu çıkmıştır.

**Tablo 1.** Kronik periodontal hastalıklarda araştırılan genler ve hastalıkla olan ilişkileri

<i>Kategori</i>	<i>Gen (n)</i>	<i>İlişki</i>	
		Pozitif (n)	Negatif (n)
Sitokin ve sitokin reseptörleri	IL-1 (36)	22	13
	TNF (14)	6	4
HLA		15	2
İmmunoreseptör	FcR (14)	13	2
Proteaz	MMP	2	1
Yapısal moleküller	Katepsin C (6)	4	1
	Vitamin D (6)	5	1
Diğerleri		9	7

Periodontal hastalıkla ilişkili bir çok enzim, reseptör, yapısal komponent ve sitokinlerin gen polimorfizmlerinin değerlendirilmesine karşın, kompleman aktivasyonunda rol oynayan MBL gen polimorfizmi ile periodontal hastalık ilişkisi araştırılmamıştır.

MBL, 248 amino asit uzunluğunda, 24.000 kDa büyüklüğünde bir glikoproteindir (90). MBL'nin insan gen haritası üzerinde 10. kromozomun uzun kolunda bulunduğu belirtilmiştir (90, 102). İnsanda iki tane MBL geni bulunur, fakat bunlardan sadece *MBL2*, protein kodlaması yapmakta, *MBL1* ise pseudogendir (70, 121).

MBL (*MBL2*) geninin 4 ekzon içerdiği gösterilmiştir. Ekzon 1 bölgesinde, kodon 52 (Arginine-Cysteine) ki genel olarak allel D ile tanımlanan, kodon 54 (Glycine-Aspartic acid) allel B ve kodon 57 (Glycine-Glutamic acid) allel C ile tanımlanan 3 tek nükleotid polimorfizmi bulunmaktadır (15, 29). *MBL2* geni normal alleli olan (wildtype) "A" ile, kodlama bölgesindeki allel B, C veya D mutasyonlarından birini taşıyan ise "O" ile tanımlanmaktadır. Normal homozigot olanlar A/A, heterozigot olanlar A/O ve homozigot olup üç polimorfizmi birden içeren diğer bir grup da O/O ile tanımlanmaktadır (28, 30, 79, 84, 90, 109, 129).

MBL geninin ekzon 1 (kodlama bölgesi) polimorfizmlerinin, fonksiyonel serum MBL düzeyinin düşük olmasına da neden olabileceği belirtilmektedir (8, 20, 24, 42, 76, 96, 102, 105, 109, 112, 122).

Kaynaklarda, serum MBL düzeyinin gerek düşük gerekse de yüksek olmasına bağlı olarak farklı populasyonlarda (22) çeşitli enflamatuvar (41, 109) ve otoimmün hastalıkların (9, 37) yanı sıra tekrarlayan enfeksiyonların da (12, 67, 131) görüldüğü belirtilmiştir.

Keller ve arkadaşları (51) koroner arter hastalığı olan Hollanda'lı hastalarda yaptıkları çalışmada serum MBL düzeyinin hastalık riski ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Farklı populasyonlarda, MBL geni ekzon 1 polimorfizmleri ve serum MBL düzeyleri ile birbirleri arasındaki etkileşimler çeşitli hastalıklarda araştırılmıştır. Homozigot ekzon1 polimorfizmi görülen beyaz ırkda pnemokokal hastalıklarda artış görülürken (9, 20, 100). Avrupalı hastalarda yapılan çalışmada ise bir ilişki bulunamamıştır (61).

Song ve arkadaşları (110) vietnamlı 123 hepatit B hastası ve 112 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, hepatit B enfeksiyonunun klinik belirtilerinin gözlenmesinde MBL geni kodon 54 polimorfizminin etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Soborg ve arkadaşlarının Danimarkada yaşayan tüberküloz hastalarında yaptıkları araştırmada, MBL polimorfizmi görülen bireylerde serum MBL düzeyinin düşük olduğu ve bunun da klinik tüberküloza karşı koruyucu etki gösterebileceği belirtilmiştir.

Japon populasyonunda yüksek serum MBL düzeyinin, hepatit B görülme riskini yükselttiği, Avrupalı bireylerde ise bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (9).

Hansen ve arkadaşlarının (37) yaptıkları çalışmada, serum MBL düzeyindeki artışın tip I diabet hastalarının renovasküler komplikasyonlarının patogeneğinde rol oynadığını belirtmişlerdir.

Farklı populasyonlarda, çeşitli enflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklar ile MBL serum düzeyleri ve gen polimorfizminin ilişkisi araştırılmış olmasına karşın, başlamasında ve

ilerlemede, mikroorganizmalar ile konak immün yanıtının etkileşimlerinin önemli rol oynadığı periodontal hastalıklarla olan ilişkisi incelenmemiştir.

Kaynaklardaki bu eksiklikten yola çıkarak biz bu çalışmada iki tarafı keskin bıçak gibi davranan MBL'nin serum düzeyinin ve gen polimorfizminin kronik periodontal hastalıkta ve başlangıç periodontal tedaviye yanıtı olan etkisini ve periodontal hastalıklı bireylerin fenotip - genotip ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

## BÖLÜM II

### GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamıza, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran, yaşları 31 ile 71 arasında değişen (ortalama  $48.00 \pm 8.50$ ) 33 kadın, 50 erkek toplam 83 yaygın ileri kronik periodontitis hastası ile yaşları 23 ile 57 arasında değişen (ortalama  $39.64 \pm 8.35$ ) 46 kadın, 43 erkek toplam 89 periodontal olarak sağlıklı birey, MBL gen polimorfizminin değerlendirilmesi amacıyla dahil edildi.

Araştırmamızın ana amacını oluşturan ve dünyada bu çalışma ile ilk kez periodontal hastalıklarla ilişkisi araştırılan MBL gen polimorfizmi ve genotip-fenotip ilişkisinin öneminin vurgulanabilmesi için çalışma gruplarımızı oluşturan bireylerin serum MBL düzeylerinin öncelikle belirlenmesi gerektiği düşünüldü. Bu nedenle çalışmaya katılan bireylerden, başlangıç periodontal tedavilerini yapan ve kan örneklerini alan araştırmacı dışında, grupların genotip dağılımları hakkında bilgisi olmayan ikinci bir araştırmacı tarafından serum MBL düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla rastgele 40 periodontal sağlıklı ve 43 kronik periodontitisli toplam 83 birey seçildi.

Çalışmaya dahil edilen bireylerde; diyabet, miyokard enfarktüsü, anjina rahatsızlığı olmaması, halen herhangi bir antiinflamatuvar ve immünespresif ilaç kullanmıyor olması, yanı sıra dental tedavi için antibiyotik premedikasyonuna gereksinimi bulunmaması, son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olması ve son 3 ayda antibiyotik kullanmamış olması koşulu arandı. Hamile ve emzirme döneminde olan kadınlar araştırmaya dahil edilmedi. Bireylerin sigara kullanma alışkanlıkları kaydedildi. Günde 10 ve üzeri sigara kullananlar aktif sigara kullanıcısı olarak değerlendirildi ve çalışma dışında bırakıldı (75).

Yapılan klinik ve radyografik muayenelerde yaygın ileri kronik periodontitis tanısı konulan, ağızda toplam en az 14, her kuadrantta en az 3 dişi bulunan ve her kuadrantta en az 2 adet sondalamada kanamalı 5mm ve üzerinde periodontal cebi olan hastalar kronik periodontitis grubunu oluşturdu. Sondalamada 3mm den az cep derinliği olan, kanaması olmayan ve diğer klinik enflamasyon belirtileri bulunmayan bireyler ise sağlıklı grubu oluşturdu.

Araştırma başlangıcında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu onayı alındı (Onay No, Tarih: 04-3.1/24, 31/03/2004). Çalışmaya başlandığında öncelikle serum MBL düzeylerinin belirlenmesi gerektiği düşünüldüğünden bireylerden ikinci kez kan örneği alınabilmesi için ikinci bir etik kurul onayı alındı (Onay No, Tarih:05-7/8, 01/07/2005) Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan bireylere, araştırmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildikten sonra, onayları alınarak gönüllü olur formu imzalatıldı (Ek I).

## **2.1. Klinik Ölçümler**

Kronik periodontitisli bireylerin ilk muayenesinde kalibre edilmiş 3 araştırmacı tarafından, tüm ağız sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), papilla kanama indeksi (PKİ) (1) ve plak indeksi (Pİ) (88) ölçümleri tüm dişlerin 6 bölgesinden Williams tipi periodontal sonda ile yapılarak periodontal durumları kaydedildi.

## **2.2. Başlangıç periodontal tedavi**

Araştırmaya katılan tüm bireylerin klinik ölçümlerinin tamamlanması ve venöz kanlarının alınmasının ardından aynı seansta bireyler periodontal atlas ile gingivitis ve periodontitis hakkında bilgilendirildi ve plak boyayıcı ajanlar yardımıyla dişlerin yüzeyindeki mikrobiyal plak gözle görülür hale getirilerek bireylere ağız bakımının yetersiz kaldığı yerler gösterildi. Bireylere hastalıkları hakkında bilgi verildikten sonra Modifiye Bass tekniği ile



fırçalama yöntemi gösterildi ve gereksinimlerine göre dışarısı fırçası ve diş ipi kullanımı öğretilti. Bir sonraki seansta plak kontrolleri değerlendirildi ve belirlenen eksiklikler düzeltildi.

Motivasyonun ardından aynı seansta kronik periodontitisli hastalarda ultrasonik alet kullanılarak tüm ağıza diş yüzeyi temizliği yapıldı. İzleyen seanslarda, her seansta bir yarım çenedeki tüm dişlere lokal anestezi altında subgingival diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemleri uygulandı.

Başlangıç periodontal tedaviyi izleyen 1., 3. ve 6. aylarda periodontal klinik ölçümlerin yinelenmesinin ardından gerekli olan bölgelerde diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemleri ile ağız bakımı eğitimi yapıldı.

### **2.3. Kan Örneklerinin Toplanması**

Araştırmaya katılmayı kabul eden kronik periodontitisli bireylerin diş yüzeyi temizliğinin yapıldığı ilk seansta, bireylerin tüm ağız klinik ölçümlerinin yapılmasının ardından, MBL serum analizi için tüm bireylerden Vacutainer® firmasına ait hemogram tüplerine 9 ml. kan alınarak 13.000 rpm (round per munit = devir/dakika) 'de (Nüfuge CN090) 10 dakika santrifüj edilerek serumu ayırıştırıldı. DNA izolasyonu için, bireylerden ayrıca alınan 2 ml. kan örnekleri, EDTA antikoagulanı içeren Vacutainer® firmasına ait tüplere alındı. Alınan serum ve kan örnekleri, analizlerin yapılacağı tarihe kadar – 80 °C' de saklandı.

### **2.4. Serum MBL Analizi**

Bireylerin serum MBL düzeyleri, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Hayvan Hücre Kültürü Laboratuvarında MBL ELISA kiti (Kit 029) (Antibody Shop, Gentofte, Denmark) kullanılarak saptandı. Bunun için serum örnekleri ve kit solüsyonları oda ısısına

getirildi. Kuyucuklara, standart ve 1/100 oranında seyreltilmiş örneklerden 100'er µl aktarılarak oda sıcaklığında 1 saat enkübe edildi. Bu sürenin sonunda, her kuyucuk 300 µl yıkama solüsyonu ile 3'er kez yıkandı ve solüsyonun fazlası emici kağıtlar ile alındı. Daha sonra her kuyucuğa Biotin ile işaretlenmiş MBL antikorlarından 100 µl eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat enkübe edildi. Bu süre sonunda yıkama işlemleri yineleni ve hemen sonra 100 µl streptavidin ile konjuge edilmiş horseradish peroksidaz (HRP) solüsyonu eklenmesinin ardından, oda sıcaklığında 1 saat enkübe edildi. Yıkama işlemleri bir kez daha yineleni ve 100 µl tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika karanlıkta enkübasyona bırakıldı. Kuyucuklara 100 µl durdurucu solüsyon eklenerek enzimatik reaksiyonun durdurulmasının ardından ilk yarım saat içerisinde kuyucukların optik dansiteleri (absorbansları) ELISA okuyucusunda 450 nm'de değerlendirildi. Örneklerdeki MBL düzeyleri, standartlara ait absorbans değerleriyle çizilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı.

## **2.5. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu**

Oda ısısına getirilen tam kan örneklerinin, genomik DNA izolasyonu için Nucleospin® Blood L, (Macherey-Nagel, Germany) izolasyon kiti kullanıldı.

İzolasyon işlemi aşağıdaki sıra ile yapıldı;

1. EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden 200 µl alınarak, 1.5 ml'lik ependorf tüplerin içerisine konuldu ve 28 µl proteinaz K ile 200 µl Lysis Buffer B3 (B1 + B2) solüsyonu eklendi. Elde edilen karışımlar 10-20 saniye süresince vortekslendi. Örnekler daha sonra 70°C'de, 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

2. İnkübasyon sonrası her bir örneğe, 210 µl %100'lük ethanol eklendi ve tekrar vortekslendi.

3. Her bir örnek için, 2 ml'lik santrifüj tüpünün içerisine Nucleospin<sup>®</sup> filtreli tüp yerleştirilerek karışım bu filtrenin içerisine aktarıldı. 12.000 rpm'de 1 dakika süresince santrifüj edildi. 2 ml'lik santrifüj tüpleri içerisine toplanan sıvıyla birlikte atıldı.

4. Nucleospin<sup>®</sup> filtreleri, yeni 2 ml'lik santrifüj tüpleri içerisine yerleştirildi ve 500 µl buffer BW eklendi. 12.000 rpm'de 1 dakika süresince santrifüj edildi. Nucleospin<sup>®</sup> filtreleri tekrar yeni 2 ml'lik tüpler içerisine yerleştirildi ve önceden %96'lık ethanol eklenmiş, 600 µl buffer B5 eklenerek 12.000 rpm'de 1 dakika süresince santrifüj edildi.

5. Nucleospin<sup>®</sup> filtreleri, 1,5 ml'lik Eppendorf tüpler içerisine yerleştirildi. Önceden 70 °C'ye ısıtılmış buffer BE solusyonundan 150 µl eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika beklendi ve 10.000 rpm'de 1 dakika süresince santrifüj edildi.

6. Nucleospin<sup>®</sup> Blood filtreleri atıldı ve eppendorf tüpler içerisinde 200 µl. DNA elde edildi.

7. DNA kontrolü %1'lik agaroz jel elektroforezi ile yapılarak UV transillüminatörde görüntülendi. Saklanacak DNA miktarı, spektrofotometri yöntemi ile 100 ng/µl olarak dilüe edildi. Elde edilen DNA örnekleri -20 °C'de saklandı.

## **2.6. MBL Genotiplemesi:**

MBL genotiplemesi genomik DNA'nın, uygun sentetik oligonükleotid primerleri ve uygun PCR kiti kullanılarak yapılan amplifikasyonu sonrası Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi ile yapıldı.

Çalışmada MBL geni 1. ekzonda rastlanan 3 kodon mutasyonu; kodon 52, kodon 54 ve kodon 57 mutasyonları araştırıldı.

## 2.7. PCR Amplifikasyon Koşulları:

Amplifikasyonda aşağıda belirtilen oligonükleotid sentetik primerleri (*MWG Oligo Synthesis*, MWG-Biotech AG, Almanya) kullanıldı.

Forward primer dizilimi: 5'- GAT GGA CAG AGG GCA TGC TC - 3'

Reverse primer dizilimi: 5'- CAG GCA GTT TCC TCT GGA AGG- 3'

### Genomik DNA'nın amplifikasyonu için:

*Genomik DNA*: 3 µl

*PCR Buffer*: 2.5 µl (Applied Bioscience Foster City CA)

*MgCl<sub>2</sub>*: 25 mM – 2.0 µl

*dNTP*: 10 µM - 0.5 µl (Promega, Madison,WI)

*Amplitaq DNA Polimeraz*: 5U/µl – 0.2 µl (Applied Bioscience Foster City CA)

*Forward Primer*: 5 pM – 1 µl

*Reverse Primer*: 5 pM – 1 µl

Deiyonize su ile total hacim 25 µl'ye tamamlanarak karışım hazırlandı. PCR amplifikasyonu GeneAmp 9700 Thermal Cycler makinesi kullanılarak yapıldı.

## 2.8. PCR Şartları:

Başlangıç denatürasyonu 94 °C'de 10 dakika, sonrasında 35 döngüden oluşan ürün çoğaltma aşaması; denatürasyon 94 °C'de 45 saniye, 65 °C'de 45 saniye bağlanma (annealing) ve 72 °C'de 45 saniye uzatma (extention). 1 döngü 72 °C'de 7 dakika son uzatma ile gerçekleştirildi. PCR ürünleri + 4 °C'de saklandı (Tablo 2).

Elde edilen 350 çift baz uzunluğundaki PCR ürünü etidyum bromür ile boyanmış % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi.

**Tablo 2.** PCR şartları

<b>PCR Ürün Çoğaltma</b>						
	<b>Pre denatürasyon</b>	<b>Denatürasyon (Denaturation)</b>	<b>Bağlanma (Annealing)</b>	<b>Uzatma (Extention)</b>	<b>Son Uzatma</b>	<b>Saklama Isısı</b>
<b>Isı °C</b>	94	94	65	72	72	+ 4
<b>Süre</b>	10 dk	45 sn	45 sn	45 sn	7 dk	
<b>Döngü</b>	1	35	35	35	1	

### 2.9. Agaroz Jel Elektroforezi

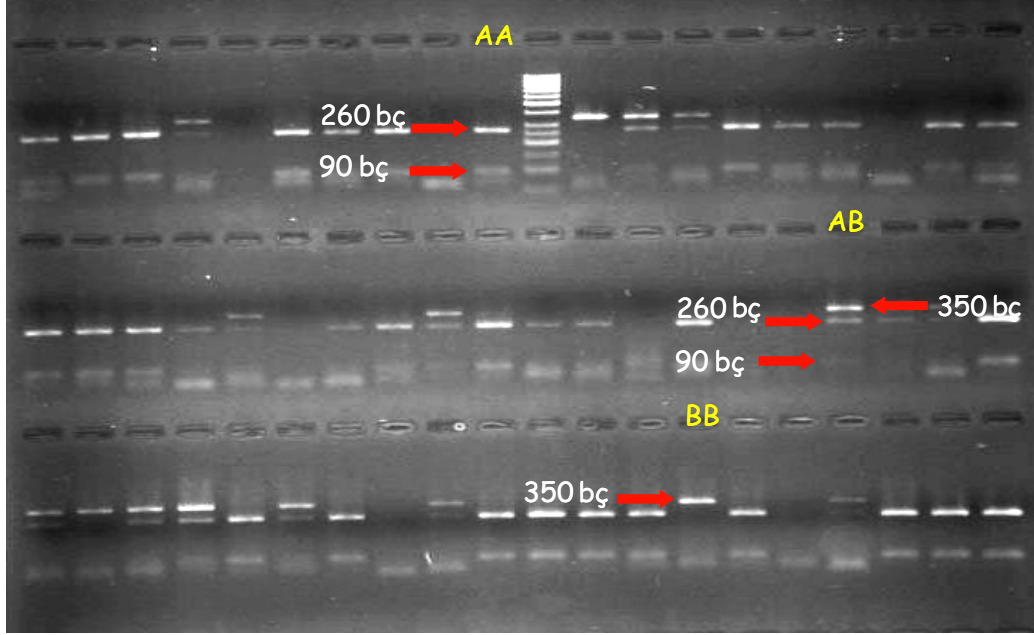
PCR işlemi sonrası, amplifiye olmuş DNA'lar % 2'lik agaroz jelde görüntüledi. Yatay elektroforez tabağına uygun tarak yerleştirildi. 100 ml'lik erlen içerisine, 85 ml 1xTBE (Tris-Borik asit-EDTA tamponu) ve 1.7 g agaroz konuldu. Erlenin ağzı alüminyum folyo ile kapatıldı. Folyo üzerinde bir kaç delik açıldıktan sonra, karışım berraklaşınca kadar mikrodalga fırın içerisinde eritildi. Berraklaştıktan sonra, el ile dokunulacak ısıya geldiğinde, 8.5 µl etidyum bromür eklendi ve homojen şekilde karıştırıldıktan sonra tabağa döküldü. Jelin düz olması için su terazisi kullanıldı. Jel donduktan sonra tarak çıkarıldı ve içerisinde, 1xTBE tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Parafilm üzerinde, 2 µl yükleme tamponu ve 12 µl PCR ürünü karıştırılarak, jeldeki kuyucuklara yüklendi. Amplifikasyon boyutunu kontrol etmek amacı ile, 2 µl DNA marker'ı kullanıldı. PCR ürünleri, 100 voltta, 6 cm yürütüldükten sonra jel görüntüleyiciye konuldu. Görüntü bilgisayar ortamına aktarıldı.

### 2.10. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Koşulları:

Pozitif PCR ürünlerinden RFLP işlemi yapıldı. Kodon 54 için *Ban-I* (New England BioLabs, Beverly MA, USA) ve kodon 57 için *Mbo II* (New England BioLabs, Beverly MA, USA) restriksiyon enzimleri kullanıldı.

Bu amaçla kodon 54 için; 7 µl PCR ürünü, 1.5 µl RFLP NEB buffer ve 0.5 µl **Ban-I** restriksiyon enzimi karıştırıldı ve deiyonize su ile total hacim 15 µl'ye tamamlandı. GeneAmp 9700 Thermal Cycler'da 50 °C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası PCR ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi. AA wildtype genotipi 260+90 baz çifti olarak görüntülendi, mutant BB genotipi tek band 350 baz çifti olarak kesilmemiş formda görüntülendi. AB genotipi ise 3 band olarak 350+260+90 baz çifti olarak görüntülendi (Şekil 7).

Şekil 7. MBL geni 1. ekzon kodon 54 PCR sonrası *Ban-I* enzim kesimi jel fotoğrafı



Kodon 57 için yukarıdaki RFLP koşullarında *Mbo II* enzimi kullanıldı ve 37 °C’de gecelik inkübasyona bırakıldı.

Normal allel taşıyanlarda, *Mbo II* enzimi PCR ürününü kesmediğinden 350bp olarak görüntülendi.

Mutant allel taşıyanlarda ise *Mbo II* enzimi PCR ürününü kesildiğinde 295+55bp olarak görüntülenecektir. Çalışmamızda tüm bireyler normal allel taşıyanlardan olduğundan, yani mutant allel taşıyan olmadığından bu kesim görüntülenmedi.

Kodon 52 mutasyonu Amplification Restriction Mutation System (ARMS) mutasyonu ile yapıldı. Mutasyon için kullanılan primerler aşağıda belirtilmektedir.

5'- F CTT CCC AGG CAA AGA CGG GC 3'

5'- F<sub>1</sub> CTT CCC AGG CAA AGA CGG GT 3'

5'- R CAG GCA GTT TCC TCT GGA AGG 3'

Kodon 52 için uygulanan PCR şartları yukarıdaki ile aynı olup tüm örnekler kodon 52 wildtype olarak belirlendi.

### 2.11. İstatistiksel Değerlendirme

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının demografik verileri ki kare ( $\chi^2$ ) analizi veya Fisher'in tam olasılık testi ile incelendi. Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının klinik periodontal parametrelerindeki farklılıkları T testi ile değerlendirildi.

Serum MBL düzeyleri ile yaş, cinsiyet, sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi ve papil kanama indeksi değerleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi.

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının mutant allel taşıyıcılığı göz önünde bulundurularak serum MBL değerleri iki yönlü varyans analizi ile incelendi.

Çalışmamızda MBL kodon 54 genotip frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğinden sapması ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile değerlendirildi.

Çalışma gruplarının genotip dağılımları ve allel sıklıkları arasındaki farklar ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile analiz edildi. Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplar arasında, %95' lik güven aralığında çoklu lojistik regresyon analizi uygulanarak özellikle mutant allel taşıyıcılığının periodontitis için risk olup olmadığı incelendi.

Kronik periodontitis grubu kendi içinde klinik parametrelerde tedaviye yanıtta MBL kodon 54 mutant allel taşıyıcılığının etkisi, tekrarlayan ölçümler için varyasyon analizi ile



incelendi. Ölçüm zamanları arasındaki farklılıkların önemli olduğu durumlarda dönemlerin ikili analizi Bonferonni testi ile değerlendirildi.

## BÖLÜM III

### BULGULAR

Araştırmamıza dahil edilen bireylerden 6'sı, venöz kan örneklerinin alındığı başlangıç periodontal tedavi seansından sonra tedaviye devam etmedikleri için, sağlıklı kontrol grubundan ise 1 hasta tedavi seansları sırasında yaptırdığı testler sonucunda tip II diabet hastası olduğunun belirlenmesi nedeni ile çalışma dışında bırakılmıştır. Başlangıç periodontal tedaviyi tamamlayan fakat 1. ay kontrolüne gelemeyen 4 hasta ve 3. ay kontrolüne gelemeyen 5 hasta, 6.ay kontrollerini tamamlamış olmaları nedeniyle çalışma kapsamında değerlendirilmişlerdir. Buna göre hastaların dağılımı Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Hastaların gruplara göre dağılımı

	<b>Kronik Periodontitis Grubu (N)</b>	<b>Sağlıklı Kontrol Grubu (N)</b>
Toplam hasta sayısı	89	90
Çalışma dışı kalan hasta sayısı	6	1
1.ay kontrolüne gelmeyen hasta sayısı	4	-
3.ay kontrolüne gelmeyen hasta sayısı	5	-
Çalışmayı tamamlayan hasta sayısı	83	89

Çalışmamız iki aşamalı olduğundan elde edilen bulgular iki bölümde toplanmıştır.

#### **3.1.Serum MBL Düzeyinin Değerlendirilmesi:**

Çalışmanın bu aşamasına toplam 83 birey dahil edilmiştir. 40 sağlıklı ve 43 kronik periodontitisli bireyin oluşturduğu grupların demografik ve klinik değerlendirmeleri tablo 4'de gösterilmiştir.

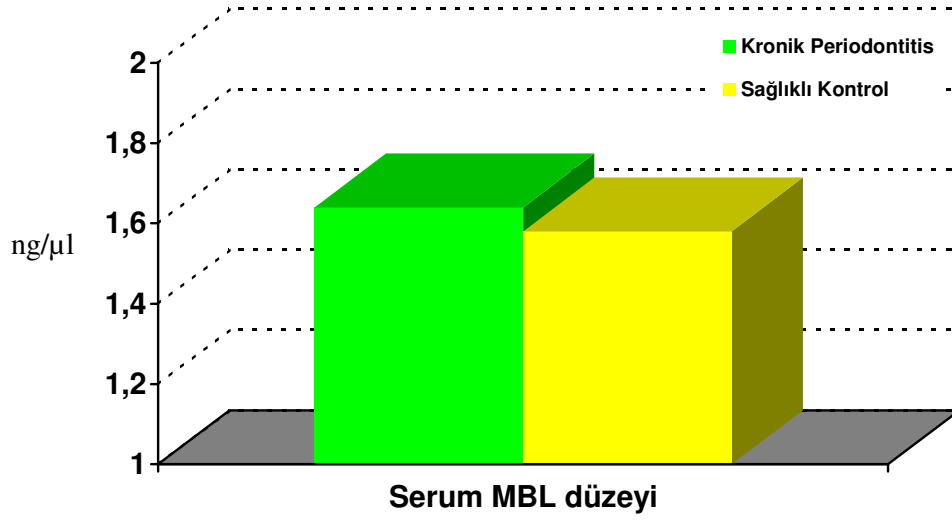
**Tablo 4.** Serum MBL analizi yapılan bireylerin klinik ve demografik verileri

	<i>Kronik Periodontitis Grubu</i>	<i>Sağlıklı Kontrol Grubu</i>
	<i>N=43</i>	<i>N=40</i>
Kadın / Erkek	18 / 25	22 / 18
Yaş (ortalama ± SD)	46.02 ± 8.51	35.20 ± 8.25
Sigara içenler (%)	0	0
Cep derinliği (mm)	4.06 ± 0.84	1.49 ± 0.24
Ataşman kaybı (mm)	5.04 ± 1.38	0.00 ± 0.00
Kanama (%)	71.78 ± 25.10	13.00 ± 9.00
Plak (%)	85.46 ± 21.94	14.85 ± 9.35

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ( $P>0.05$ ), yaş dağılımları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Her iki grup da sigara içmeyen bireylerden oluşmaktadır.

Kronik periodontitis grubunun serum MBL düzeyi ortalaması (1.64 ng/μl), sağlıklı kontrol grubunun serum MBL düzeyi ortalamasından (1.58 ng/μl) yüksek olsa da, bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ) (Grafik 1).

**Grafik 1.** Kronik periodontitisli ve sağlıklı kontrol gruplarının serum MBL ortalamaları (ng/μl)



### 3.2. MBL Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi:

Çalışmanın bu aşamasına 83 kronik periodontitisli ve 89 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 172 birey dahil edilmiştir. Bireylerin demografik özellikleri ve klinik parametreleri tablo 5’de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** MBL gen polimorfizmi değerlendirilen bireylerin klinik ve demografik verileri

	<i>Kronik Periodontitis Grubu</i>	<i>Sağlıklı Kontrol Grubu</i>
	<i>N=83</i>	<i>N=89</i>
Kadın / Erkek	46 / 43	33 / 50
Yaş (ortalama ± SD)	48.00 ± 8.50	39.64 ± 8.35
Sigara içenler (%)	15.7	10.1
Cep derinliği (mm)	3.89 ± 0.81	1.43 ± 0.30
Ataşman kaybı (mm)	5.12 ± 1.33	0.26 ± 0.44
Kanama (%)	70.76 ± 25.00	7.66 ± 9.30
Plak (%)	82.03 ± 22.02	12.85 ± 9.33

Sağlıklı kontrol ve kronik periodontitis gruplarının cinsiyet dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $\chi^2 = 0.117$ ,  $P= 0.128$ ).

MBL gen polimorfizminin değerlendirilmesinde, kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları sigara içen bireylerin dağılımına göre değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $\chi^2 = 0.276$ ,  $P= 0.362$ ).

Yaş dağılımları açısından sağlıklı kontrol ve kronik periodontitis gruplarındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.01$ ).

Çalışmamıza katılan gerek kronik periodontitisli, gerekse sağlıklı kontrol gruplarının MBL genotip frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine uygun olarak dağılım göstermektedir ( $\chi^2 = 0.94$ ,  $P=0.63$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6.** Hardy–Weinberg eşitliğine göre beklenen genotip frekansı ve sayısı

<b>Genotip</b>	<b>AA</b>	<b>AB</b>	<b>BB</b>	<b>N</b>
<b>Gözlenen Genotip Sayısı</b>	104	64	4	172
<b>Beklenen Genotip Frekansı</b>	0.62	0.33	0.05	1
<b>Beklenen Genotip Sayısı</b>	106.6	56.7	8.7	172

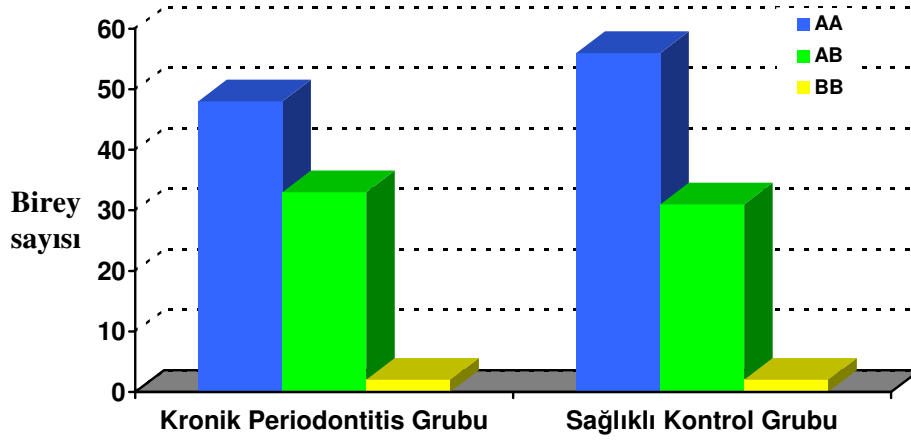
Türk populasyonunda yapılan çalışmamızda, MBL geni kodon 52 ve kodon 57 mutant alleli saptanamamıştır. Bu nedenle çalışma gruplarında MBL geni kodon 54 genotip ve allel dağılımları esas alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

MBL geni kodon 54 polimorfizmi için AA genotipi (normal allel), çalışmaya katılan 83 kronik periodontitisli bireyin % 57.8’inde, 89 sağlıklı bireyin % 62.9’unda görülmüştür. AB genotipinin görülme oranı kronik periodontitis grubunda % 39.8 iken sağlıklı grupta % 34.9 olmuştur. BB genotipi ise kronik periodontitiste % 2.4, sağlıklı grupta % 2.2 oranında görülmüştür (Tablo 7, Grafik 2).

**Tablo 7.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 polimorfizmi için genotip dağılımı

	<b>Kronik Periodontitis Grubu</b>	<b>Sağlıklı Kontrol Grubu</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>
AA	48 (57.8)	56 (62.9)
AB	33 (39.8)	31 (34.9)
BB	2 (2.4)	2 (2.2)
Toplam	83 (100)	89 (100)

**Grafik 2.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 polimorfizmi için genotip dağılımı



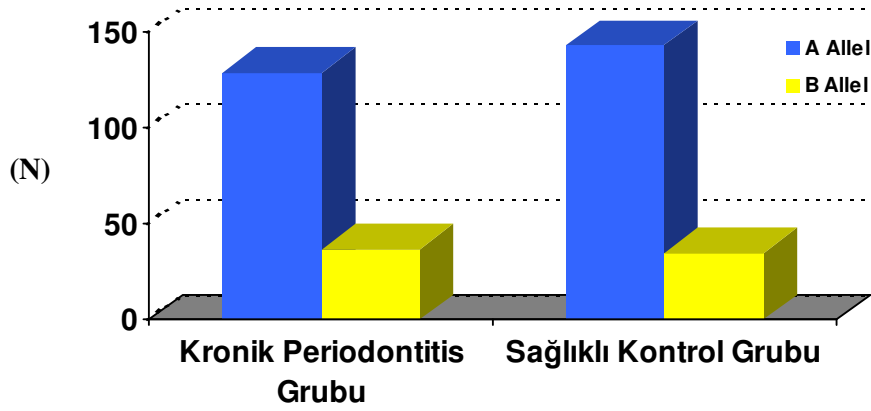
Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 polimorfizmi genotip dağılımlarında hem sağlıklı kontrol, hem de kronik periodontitisli gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P=0.49$ ,  $\chi^2=0.79$ ).

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarında MBL geni kodon 54 polimorfizmi allel dağılımları ve mutant allel taşıyıcılığı arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $\chi^2=0.49$ ,  $P=0.53$ ), ( $\chi^2=0.71$ ,  $P=0.82$ ) (Tablo 8, Grafik 3).

**Tablo 8.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 allel dağılımı ve en az bir mutant allel taşıyıcılığı

	<i>Kronik Periodontitis</i>	<i>Sağlıklı Kontrol</i>
	<i>Grubu</i>	<i>Grubu</i>
	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>
<i>B Allel taşıyıcılığı</i>		
AA	48 (57.8)	56 (62.9)
AB+BB	35 (42.2)	33 (37.1)
<i>Allel frekansı</i>		
A	129 (77.7)	143 (80.33)
B	37 (22.3)	35 (19.67)

**Grafik 3.** Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının MBL geni kodon 54 allel dağılımı



Lojistik regresyon analizi ile yaş, sigara ve cinsiyet değişkenleri düzeltici faktör olarak alınarak, mutant allel taşıyan (B allel (+) veya ABveBB) genotip odds oranı bakımından kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarında anlamlı farklılık göstermemektedir (Tablo 9). Yani mutant allel taşıyıcılığı, kronik periodontitis için bir risk faktörü olarak saptanmamıştır.

**Tablo 9.** Lojistik regresyon analizi sonucu mutant allel taşıyıcılığı

	Odds Oranı	%95 CI	P değeri
Yaş	1.134	1.083 – 1.187	0.000
Cinsiyet	0.819	0.411 – 1.633	0.570
Sigara	2.921	0.972 – 8.777	0.056
B allel (+) genotip	1.455	0.723 – 2.929	0.294



### 3.2.1. Serum MBL düzeyleri ile MBL geni kodon 54 genotiplerinin ilişkisinin değerlendirilmesi

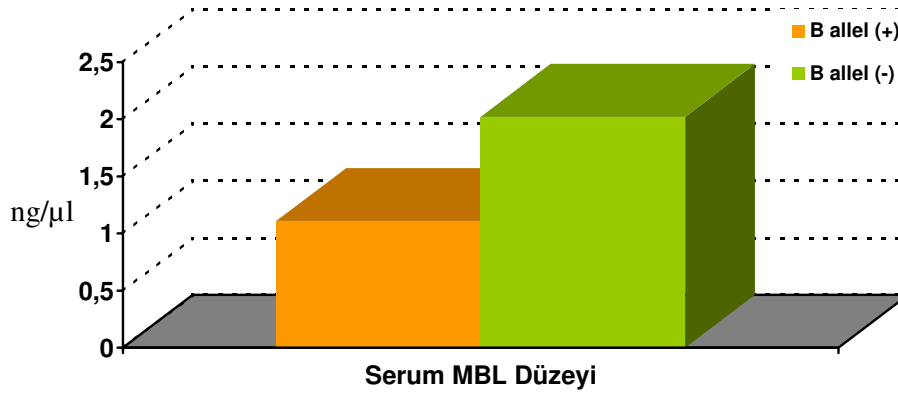
MBL geni kodon 54 polimorfizminin 3 farklı genotip dağılımına göre grupların serum MBL düzeyleri tablo 10'de gösterilmektedir. Serum MBL düzeyi ortalamaları, AA genotip taşıyan bireylerde 2.019 ng/μl, AB genotip taşıyan bireylerde 1.177 ng/μl ilken BB genotip taşıyan bireylerde 0.002 ng/μl olarak saptanmıştır.

**Tablo 10.** MBL geni kodon 54 genotiplerinin serum MBL düzeyi ortalamaları (ng/μl)

MBL genotipleri	AA	AB	BB
Serum MBL düzeyi (ortalama ± SD)	2.019 ± 0.858	1.177 ± 0.973	0.002 ± 0.0007

En az bir mutant allel taşıyan (AB ve BB, B allel (+)) bireyler gruplandırıldığında serum MBL düzeyleri 1.11 ng/μl, normal genotipe (AA, B allel (-)) sahip bireylerde ise 2.01 ng/μl olarak belirlenmiştir. Mutant allel taşıyıcılığı pozitif ve negatif grupların serum MBL düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (Grafik 4).

**Grafik 4.** B allel (+) ve B allel (-) gruplarının serum MBL ortalamaları (ng / $\mu$ l)



İki yönlü varyans analizi sonucunda kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları arasında mutant allel taşıyıcılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P=0.744$ ). Mutant allel taşıyan (B allel (+)) grupta serum MBL düzeyi, B allel (-) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları ile en az bir mutant allel taşıyıcılığı arasında etkileşim anlamlı bulunmadığından hem kronik periodontitis hem de sağlıklı kontrol grupları için mutant allel taşıyan (B allel (+)) grubun serum MBL düzeyindeki azalma anlamlı kabul edilmiştir (Tablo 11).

**Tablo 11.** Kronik periodontitisli ve sağlıklı kontrollerin B allel (+) ve B allel (-) gruplarında serum MBL düzeyleri

	<i>Kronik Periodontitis</i>		<i>Sağlıklı Kontrol</i>	
	<b>B allel (-)</b>	<b>B allel (+)</b>	<b>B allel (-)</b>	<b>B allel (+)</b>
Serum MBL Düzeyleri	2.18 $\pm$ 0.82	1.03 $\pm$ 0.85	1.86 $\pm$ 0.88	1.21 $\pm$ 1.13

### 3.2.2. MBL gen kodon 54 polimorfizminin tüm ağız klinik parametrelerle ilişkisinin değerlendirilmesi

Kronik periodontitis grubunda, periodontal hastalığın şiddetini ve başlangıç periodontal tedaviye cevabını değerlendirmek amacıyla sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi ve papil kanama indeksi ortalamaları başlangıç, 1., 3., ve 6. aylarda değerlendirilmiştir.

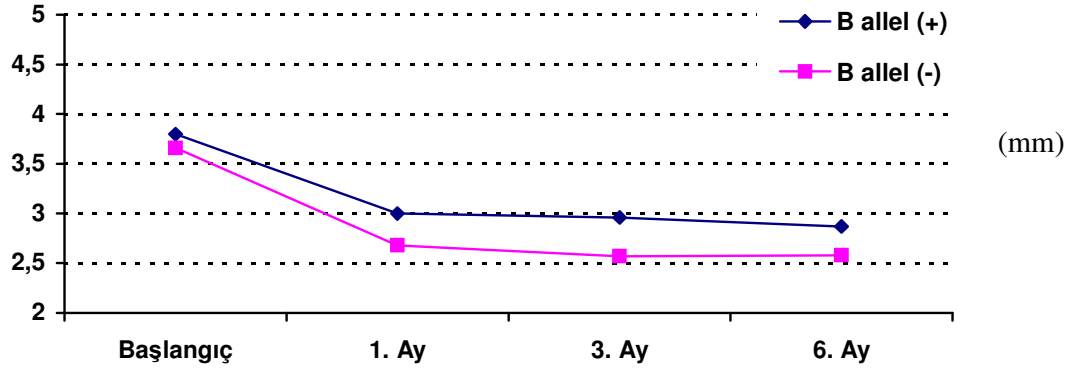
Buna göre, kronik periodontitisli B allel (+) ve B allel (-) gruplarında başlangıç sondalama cep derinlikleri ortalamalarında her iki grupta da tedavi sonrasında 1., 3. ve 6. aylarda başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar saptanmıştır. Başlangıçta B allel (+) grubunda 3.83 mm olan SCD ortalaması 1. ayda 3 mm'ye, 3. ayda 2.96 mm'ye, 6. ay sonunda da 2.87 mm'ye inmiştir. B allel (-) grubunda ise başlangıçta 3.66 mm olan SCD ortalaması 1. ayda 2.68 mm'ye, 3. ayda 2.57 mm'ye, 6. ayda ise 2.58 mm'ye düşmüştür (Tablo 12, Grafik 5).

**Tablo 12.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının sondalanan cep derinliği (SCD) ortalamaları (mm)

	<b>B allel (+) (AB+BB) N=40</b>	<b>B allel (-) (AA) N=43</b>	
Başlangıç	3.83 ± 0.64	3.66 ± 0.52	B
1. ay	3.00 ± 0.56	2.68 ± 0.39	alle
3. ay	2.96 ± 0.49	2.57 ± 0.38	l
6. ay	2.87 ± 0.46	2.58 ± 0.35	(+)

ve B allel (-) grupları arasında ise SCD ortalamaları arasında başlangıçta, 1., 3. ve 6. aylarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $P>0.05$ ).

**Grafik 5.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının sondalanan cep derinliği değerleri (mm)



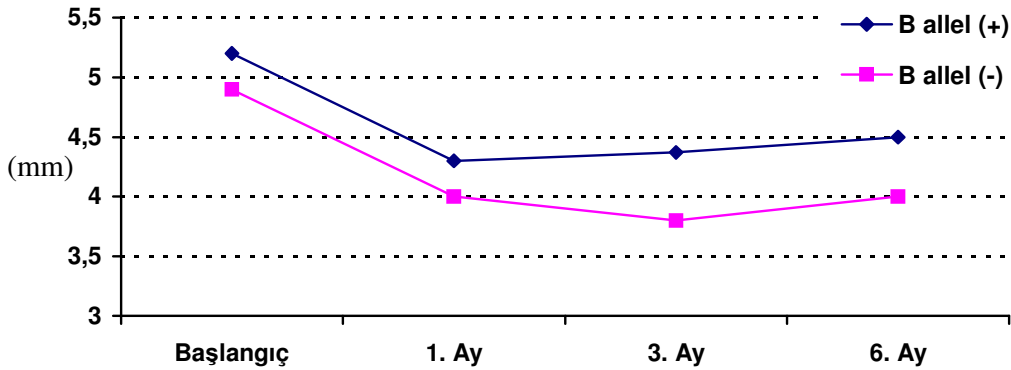
B allel (+) ve B allel (-) olan kronik periodontitisli bireylerin klinik ataşman seviyelerinde tedavi sonrasında her iki grupta da başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı kazançlar belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Başlangıçta B allel (+) grubunda 5.21 mm olan KAS ortalaması 1. ayda 4.30 mm, 3. ayda 4.37 mm, 6. ayda ise 4.46 mm olmuştur. B allel (-) grubunda ise başlangıçta 4.99 mm olan KAS ortalaması, 1. ayda 4.04 mm, 3. ayda 3.88 mm, 6. ayda ise 4.02 mm olmuştur (Tablo 13, Grafik 6).

**Tablo 13.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının klinik ataşman seviyesi (KAS) ortalamaları (mm)

	<b>B allel (+) (AB+BB) N=26</b>	<b>B allel (-) (AA) N=28</b>
Başlangıç	5.21 ± 1.09	4.99 ± 1.05
1. ay	4.30 ± 1.02	4.04 ± 0.90
3. ay	4.37 ± 1.07	3.88 ± 0.89
6. ay	4.46 ± 1.07	4.02 ± 0.91

1., 3., ve 6. aylarda KAS ortalamaları bakımından B allel (+) ve B allel (-) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $P>0.05$ ).

**Grafik 6.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının klinik ataşman seviyesi ortalamaları (mm)



B allel (+) ve B allel (-) gruplarında tüm ağız papil kanama indeksi değerlerinde tedaviden 1, 3 ve 6 ay sonra istatistiksel olarak anlamlı azalmalar saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

Başlangıçta B allel (+) grubunda % 70.74 olan kanama indeksi ortalaması, 1. ayda % 19.95, 3. ayda % 23.08, 6. ayda ise % 30.01 olarak bulunmuştur. B allel (-) grubunun % 65.23 olan

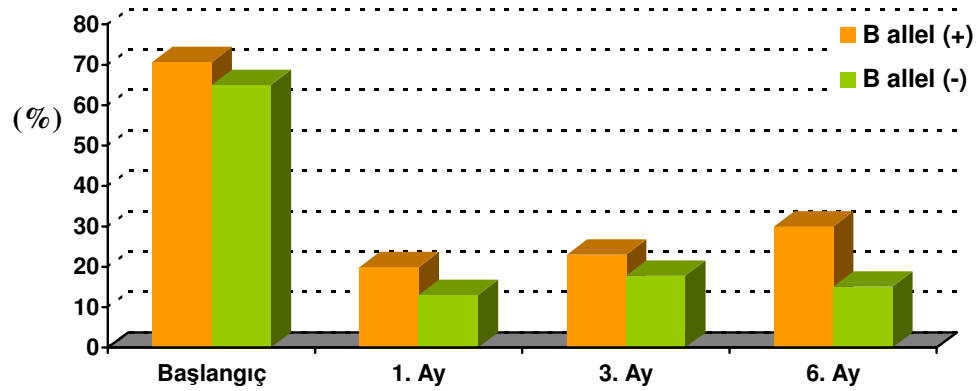
başlangıç kanama indeksi ortalaması, 1. ayda % 12.94, 3. ayda % 17.88, 6. ayda ise % 15.13 olarak belirlenmiştir (Tablo 14, Grafik 7).

**Tablo 14.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının tüm ağız papil kanama indeksi ortalamaları (%)

	<b>B allel (+) (AB+BB) N=26</b>	<b>B allel (-) (AA) N=28</b>
Başlangıç	70.74 ± 22.62	65.23 ± 26.39
1. ay	19.95 ± 20.38	12.94 ± 12.54
3. ay	23.08 ± 22.75	17.88 ± 17.11
6. ay	30.01 ± 26.36	15.13 ± 15.34

B allel (+) ve B allel (-) grupları arasında başlangıç, 1., 3., ve 6. ay kanama indeksi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (P>0.05).

**Grafik 7.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının papil kanama indeks ortalamaları (%)



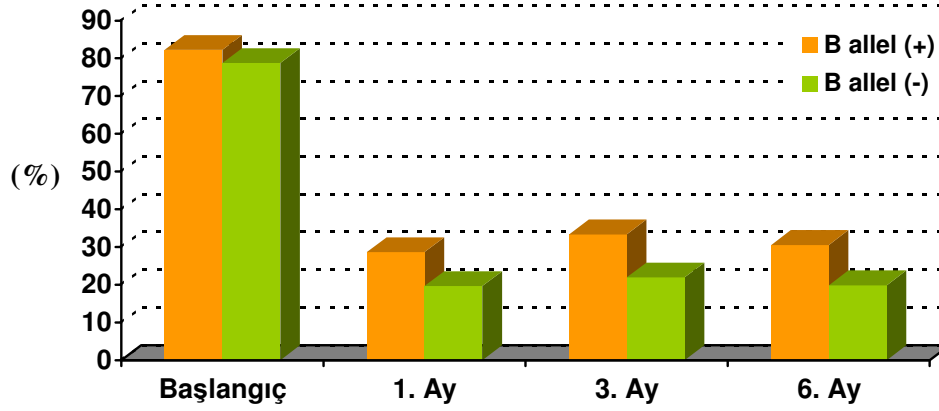
B allel (+) ve B allel (-) gruplarında tedaviden sonra tüm ağız plak indeks skorları ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Başlangıçta % 82.17 olan plak indeksi ortalaması, 1. ayda % 28.58, 3. ayda % 33.26, 6. ayda da % 30.49 olarak belirlenmiştir. B allel (-) grubunun % 78.72 olan başlangıç plak indeksi ortalamasının, 1. ayda % 19.66, 3. ayda % 21.87, 6. ayda ise % 19.78 olduğu bulunmuştur (Tablo 15, Grafik 8).

**Tablo 15.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının plak indeksi ortalamaları (%)

	<b>B allel (+) (AB+BB) N=26</b>	<b>B allel (-) (AA) N=28</b>
Başlangıç	82.17 ± 22.31	78.72 ± 23.66
1. ay	28.58 ± 22.66	19.66 ± 14.92
3. ay	33.26 ± 23.59	21.87 ± 14.36
6. ay	30.49 ± 29.48	19.78 ± 19.97

B allel (+) ve B allel (-) grupları arasında başlangıç, 1., 3., ve 6. ay plak indeksi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $P>0.05$ ).

**Grafik 8.** Kronik periodontitis grubunda B allel (+) ve B allel (-) gruplarının plak indeksi ortalamaları (%)



Başlangıç periodontal tedaviyi takip eden 1., 3., ve 6. ay kontrollerinde tekrarlanan sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi ve papil kanama indeksi ortalamaları ile kontrol zamanları arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Mutant allel taşıyıcılığı açısından, başlangıç, 1., 3., ve 6. ay cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, plak indeksi ve papil kanama indeksi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $P > 0.05$ ).



## **BÖLÜM IV**

### **TARTIŞMA**

Enflamatuvar yanıtın en önemli görevlerinden biri, ilk savunma hattı olarak konağı bakterilerin invazyonundan korumaktır. Kaynaklarda enflamatuvar ve immun yanıtta, spesifik antikor yanıtının gelişmesinden önce serumda bulunan doğal bağışıklık sistemi molekülü olan MBL'nin bir çok enflamatuvar hastalıkla olan ilişkisinin değerlendirildiği yayınların varlığına karşın (19, 21), enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisle ilişkisine ait bir araştırmaya rastlanmamıştır. Fakat periodontal hastalığın şiddetindeki bireysel farklılıklarla ilişkili konak immun yanıtının düzenlenmesinde genetik polimorfizmlerin etkisi ise bir çok çalışmada gösterilmiştir (65, 78, 86, 87).

Bizde bu nedenle, kronik periodontal hastalıkta ve başlangıç periodontal tedaviye yanıtta, serum MBL düzeyinin etkisi ve MBL geni ekzon 1 polimorfizminin periodontal hastalıklı bireylerin fenotipik özellikleri ile olan ilişkisini inceleyerek eksik halkaları tamamlamaya çalıştık.

Görülen odur ki, serum MBL seviyesinin yüksek veya düşük olması çeşitli hastalıklara ve hastalık komplikasyonlarına neden olmaktadır (9).

Jack ve Turner (48), bireylerin serum MBL seviyelerini yükseltmek amacıyla MBL replasmanı uyguladıklarında, başlangıçta monositlerden üretilen sitokinlerde özellikle IL1 $\beta$  ve IL6 düzeylerinde artış olduğunu, fakat MBL konsantrasyonu daha da arttırıldığında TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$  ve IL6'nın baskılandığını belirtmişlerdir (48).

Organ nakillerinde, yüksek MBL seviyesi immun reaksiyonları ve doku yaralanmalarını arttırmakta ve ilk yılda organ reddine neden olabilmektedir (9).

MBL seviyesindeki eksikliğe bağlı olarak enfeksiyöz hastalıklara yatkınlık olduğu da belirtilmektedir (23, 66, 85, 108, 112, 121).

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda, Sistemik Lupus Eritematozus hastalarında serum MBL seviyelerinin düşük olduğu veya MBL mutant allel frekansının artmış olduğu ileri sürölmektedir (23, 34, 111, 121). Jack ve arkadaşları (47), MBL'nin mikroorganizmalara bağlanarak kompleman aktivasyonu sonucu bakterilerin fagosite olduğunu ve serum MBL seviyesinin eksikliği ile hastalık belirtilerinin ortaya çıktığını saptamışlardır.

Yapılan alışmalarla, *Neisseria meningitis*, *Mucobacterium tuberculosis* gibi patojenik bakterilerin sebep olduğu menenjit ve tüberküloz gibi enfeksiyöz hastalıklarda, hastalık şiddetiyle serum MBL düzeyleri arasında ters orantılı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (20, 112).

Oysa, araştırmamızda, enfeksiyöz bir hastalık sayılan kronik periodontitis hastaları ile sağlıklı kontrol gruplarının serum MBL düzeyleri birbirlerine yakın bulunmuştur. Nitekim, Jack (47) ve Kuipers (62) gibi araştırmacılar MBL'nin mikroorganizmalara bağlanabilme düzeyine bağlı olarak hastalıkla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşler ve bazı patojen mikroorganizmaların MBL'ye bağlanabilirliğini araştırmışlardır. Çalışmamızda sağlıklı kabul edilen bireylerin de serum MBL düzeyinin hastalık grubumuzla benzer bulunması ağız florasındaki mikroorganizmaların çeşitliliğine bağlı olabilir.

Hastalık riski periodontal hastalıklarda da olduğu gibi, popülasyondaki tüm bireyler arasında farklı dağılım göstermektedir (57). Bu farklılıklar, konağın enfeksiyona yanıtında patojenin virölans özelliği ve genetik polimorfizmlerle açıklanmaktadır (78, 104, 130).

Günümüzde, enfeksiyonlara karşı genetik yatkınlığın, patojenlerle çevresel faktörlerin ve çok sayıda genin etkileşimi ile olduğu bilinmektedir. İkiizlerde yapılan çalışmalarda tek yumurta ikiizlerinde periodontal ölçümlerdeki benzerliklerin çift yumurta ikiizlerinden daha fazla olduğu ve bu farklılığı açıklamada çevresel faktörlerin yetersiz kaldığı belirtilmekte ve

periodontal hastalığa sahip populasyonun yaklaşık %50'sinde genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir (14, 78).

MBL gen polimorfizmlerinin, serum MBL seviyeleri ve çeşitli hastalıklarla olan ilişkilerini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (6, 9, 10, 33, 41, 61, 67, 70, 76, 79, 81, 92, 116). Fakat MBL gen polimorfizminin periodontal hastalıklarla olan ilişkisi hakkında bir çalışma bulunmamaktadır.

Araştırmamızın çalışma grubunda MBL geni 1. ekzonundaki 3 polimorfizmden biri olan kodon 54 polimorfizmi saptanırken diğer ikisi, yani kodon 52 ve kodon 57'nin polimorfizmi gözlenmemiştir. Özbaş-Gerçeker ve arkadaşları (91) 49 tüberküloz hastası ve 69 rekürrent otitis medialis çocuk hastada MBL geni kodon 54 ve kodon 57 polimorfizmlerini değerlendirmişler ve her iki grupta da kodon 57 mutant allelinin görülmediğini, kodon 54 mutant alleli olan B allelinin görülme frekansını ise tüberküloz hastaları için % 9, otitis medialis bireyler için ise % 6 olarak saptamışlardır. Bu bulgular çalışmamızda elde ettiğimiz MBL geni kodon 57 polimorfizmi sonuçları bakımından benzerlik göstermektedir. Bu da Türk populasyonunda kodon 57 mutant allelinin görülmediği kanısını desteklemektedir. Ancak, aynı araştırmacıların belirledikleri kodon 54 B allel frekansının, araştırmamız da elde ettiğimiz aynı allele yönelik bulgular ile farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın araştırmalarındaki birey sayısının bizim çalışmamıza kıyasla daha az olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Turner ve Hamvas (123) farklı etnik gruplarda yaptıkları çalışmalarında MBL geninin kodon 52 polimorfizminin Afrika populasyonunda görülmediğini belirtmişlerdir.

MBL geninin kodon 52 ve kodon 57 polimorfizmlerinin araştırıldığı benzer çalışmalarda Güney Amerikalılarda ve Eskimolarda her iki polimorfizmin de görülmediği bildirilmiştir (9, 28). Kaynaklarda MBL gen polimorfizminin allel dağılımlarını incelemek amacıyla aynı etnik grupta yapılan en kapsamlı çalışma Horiuchi ve arkadaşlarının (44), 2623 sağlıklı japon

bireyde yaptıkları araştırma olup, gerek Horiuchi ve gerekse Gomi ve arkadaşları (33) çalışmalarında Japon popülasyonunda da MBL geninin kodon 52 ve kodon 57 polimorfizmlerinin görülmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacıların elde ettikleri bu sonuçlar farklı popülasyonlarda MBL geni ekzon 1 için farklı kodonlarda polimorfizmlerin olabileceğini ve irksal özelliklere bağlanabileceğini göstermektedir.

Babula ve arkadaşları (5), Litvanyalı rekürrent vulvovajinal kandidiazis'li kadın hastalarda MBL geni kodon 54 polimorfizmini değerlendirmişler ve Kandidiazis'lilerde, AA genotip için % 31, AB genotip için % 61.9 ve BB genotip taşıyanlarda ise % 7.1 oranlarını bulmuşlardır.

Bizim araştırmamızda, her ne kadar farklı hastalık grubu söz konusu ise de kronik periodontitis grubunda AA genotip taşıyan bireyler grubun % 57.8'ini, AB genotip taşıyan bireyler % 39.8'ini ve BB genotip taşıyan bireyler ise % 2.4'ünü oluşturmaktadır. Sağlıklı kontrol grubunda ise bu oranlar AA genotip taşıyanlarda % 62.9, AB genotip taşıyanlarda % 34.9 ve BB genotip taşıyanlarda % 2.2 olarak saptanmıştır. Yani, MBL geni kodon 54 polimorfizmi için genotip dağılımları kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları için benzer bulunmuştur. Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları, en az bir mutant allel taşıyıcılığı açısından değerlendirildiğinde gruplar arasındaki dağılımlar yine benzer bulunmuştur.

Kontrol gruplarında hiçbir bireyin homozigot mutant allel taşımadığını yani, BB genotip taşıyan bireyin olmadığını bildiren Babula ve arkadaşlarının bu bulgularına karşı çalışmamızda, kronik periodontitis MBL geni kodon 54 polimorfizmi mutant alleli olan B allelinin frekansı her iki grup için ayrı değerlendirildiğinde, kronik periodontitis için B allel frekansı % 22.3, sağlıklı kontrol grubu için ise % 19.67 olarak saptanmıştır. Diğer bir deyişle, iki grup arasındaki mutant allel frekans farklılığı saptanmamıştır. Bu açıdan sonuçlarımız

Babula ve arkadaşlarının Litvanya popülasyonunda yaptıkları çalışmadan farklılık göstermekte olup, bu farklılığın irksal özelliklerden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Bilindiği gibi farklı genotipler, farklı popülasyonlarda ve farklı hastalık gruplarında çeşitlilik göstermektedir. MBL geninin kodon 54 mutant alleli olan B allelinin frekansı da popülasyonlar arasında farklılıklar göstermektedir. Avrasya popülasyonunda B allelinin görülme sıklığının % 22 ile % 28 arasında olduğu (121), Avrupa popülasyonunda bu oranın daha az olduğu örneğin İtalyanlarda % 12 (95) ve Avusturalya yerlileri Aborjinlerde B allelinin hiç görülmediği bildirilmiştir (122).

Eskimolarda B allel frekansının % 11 ile % 13 arasında olduğu, Güney Amerika Kızılderililerinde ise % 80 olduğu belirtilmektedir (9). Jülliger ve arkadaşlarının (50), Papua Yeni Gine'de yaptıkları bir çalışmada ise B allel frekansının % 7 olduğu bildirilmektedir. Bazı popülasyonlarda ve etnik gruplarda MBL geni ekzon 1 polimorfizmlerinin mutant allel frekansları tablo 16'da belirtilmiştir.

**Tablo 16.** Farklı popülasyonların MBL geni ekzon 1 allel frekansları

Populasyon	Normal allel	Kodon 52	Kodon 54	Kodon 57
	A alleli	D alleli	B alleli	C alleli
Avrupa	% 79	% 6	% 14	% 1
Afrika	% 75	% 2	% 1	% 22
Çin	% 88	% 1	% 11	0
Japon	% 75	0	% 25	0
Eskimo	% 87	0	% 13	0
Avustralya Aborjinleri	% 100	0	0	0
Arjantin Kızılderilileri	% 54	0	% 44	% 2
Güney Amerika Kızılderilileri	% 20	0	% 80	0
Çalışmamızda	% 79	0	% 21	0

Periodontal hastalığın ilerlemesinde risk faktörlerinin başında plak ve sigara gelmektedir. Hastalık yatkınlığında genetik faktörlerin yanı sıra yaş ve cinsiyetin de etkili olduğu belirtilmektedir (39, 72). Maffei ve arkadaşlarının (75), yaptıkları çalışmalarında MBL serum düzeyi ile sigara arasında ilişki olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda günde 10 ve üzeri sigara içen bireyler serum düzeyi değerlendirmelerinde çalışma dışı bırakılmıştır.

Araştırmamızda, kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının yaş ve sigara dağılımları her iki grup içinde benzerdir. Fakat hem serum düzeyi, hem de polimorfizm değerlendirmelerinde grupların yaş dağılımları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Bu farklılığın serum düzeyi değerlendirmeleri için oluşturulan grupların ikinci bir araştırıcı tarafından rastgele belirlenmesinden dolayı yaş dağılımlarının dengelenememesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Polimorfizm değerlendirmelerinde ise periodontal hastalık için risk oluşturan yaş, sigara ve cinsiyet, düzeltici faktör olarak alınmiş ve çoklu regresyon analizi yapılarak değerlendirilmiştir. Bu durumda da MBL geni mutant allel taşıyıcılığının, kronik periodontitis için bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır.

Papua Yeni Gine’de serum MBL düzeyleri ile MBL geni ekzon 1 polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan çalışmada, mutant allel taşıyıcılığı ile serum MBL düzeyi arasında bir ilişki olmadığı belirtilmişse de (50), araştırmamızda, homozigot mutant allel taşıyanlarda serum MBL ortalamasının düşük olduğu saptanmıştır. Farklı popülasyonlarda ve hastalık gruplarında yapılan ve çalışmamızla benzer sonuçları olan, Babula ve arkadaşlarının (5) Litvanyalı bireylerde yaptıkları çalışmada, MBL geni ekzon 1 mutant allellerini taşıyanlarda serum MBL seviyesinin de azaldığı ve kodon 54 polimorfizminin enfeksiyon şiddetini artırdığı belirtilmektedir.

Takahashi ve arkadaşlarının (113) yaptıkları çalışmada ise sistemik lupus eritematosusta, MBL geni kodon 54 polimorfizminin hastalık yatkınlığını etkilediği fakat hastalığın şiddeti üzerine bir etkisi olmadığı ve serum MBL düzeyi ile homozigot mutant allel taşıyıcılığının ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Benzer şekilde Werth ve arkadaşları (128) da dermatomiyositiste önemli rol oynadığı belirtilen MBL’nin, serum seviyesi ile MBL geni ekzon 1 mutant allel taşıyıcılığı arasında pozitif bir ilişki olduğu, ayrıca hastalığın görölmesiyle de yakın ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Dolayısıyla alışmamızda saptadığımız serum düzeyleri ile MBL geni kodon 54 genotip dağılımları arasındaki anlamlı ilişki bu araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Ancak araştırmamızda kronik periodontitis hastalık şiddeti açısından kendi içersinde sınıflandırılmadığından MBL geni kodon 54 polimorfizminin hastalığın şiddeti üzerine etkisi yönünde bir yorum yapmamız olası değildir.

Kronik periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarını kendi içlerinde, mutant allel taşıyıcısı (B allel (+)) ve normal allel taşıyıcısı (B allel (-)) olarak tekrar gruplandırıp serum MBL ortalamalarını incelediğimizde ise, serum MBL düzeyinin kronik periodontal hastalıkla ilişkili olmadığı ve fakat mutant allel taşıyıcılığı ile hem kronik periodontitis hem de sağlıklı kontrol grubu ile anlamlı ilişki de olduğu saptanmıştır.

Bilindiği gibi diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesinden oluşan başlangıç periodontal tedavi ile sert ve pürüzsüz bir kök yüzeyi elde etmenin yanı sıra biyolojik olarak da kabul edilebilir kök yüzeyleri elde etmek amaçlanmaktadır (13). Başlangıç periodontal tedavi ile sondalanan cep derinliğinde azalma, klinik ataşman kazancı ve periopatojenlerin mikroflorasının baskılanması sağlanmaktadır (98). Araştırmamızda uygulanan başlangıç periodontal tedavi ile supragingival diştaşı, subgingival plak ve diştaşının ayrıca kök yüzeyindeki enfekte sementin uzaklaştırılması, ağız bakımının iyi ve düzenli yapılabilir hale getirilmesi de amaçlanmıştır. Bu nedenle, kronik periodontitis hastalarının başlangıç periodontal tedavi işlemlerinin başlangıcında ve tedavi sonrası 1., 3., ve 6. aylarda alınan sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi ve papil kanama indeksi ortalamaları bireylerin MBL geni kodon 54 mutant alleli taşıyıcılığına ( B allel (+) veya B allel (-)) göre gruplandırılarak, başlangıç periodontal tedaviye yanıtta mutant allel taşıyıcılığının etkisi de değerlendirilmiştir.

Diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesi işlemleri uygulanmasından sonra enflamatuvar yanıtın gerilediği ve periodontal hastalığın ilerlemesinin önlendiği bilinen bir gerçektir. Bunun sonucunda gerek sondalanan cep derinliğinde ve gerekse enflamasyonda azalmanın yanı sıra klinik ataşman kazancı da sağlanmaktadır (13, 98). Araştırmamızda B allel (+) ve B allel (-) gruplarında başlangıç periodontal tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylarda sondalanan cep derinliklerinde ve enflamasyonda azalmalar, klinik ataşman seviyelerinde de kazançlar elde edilmiştir. Klinik parametrelerdeki bu düzelmelerin başlangıç periodontal



tedavi sonrası 1.,3. ve 6. aylarda da anlamlı seviyede devam etmesi, hastaların kontrol seanslarında gerekli görülen bölgelerine diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemlerinin yinelenmesi ve ağız bakımı motivasyonlarının sürekli kontrol edilmesinden kaynaklandığı kuşkusuzdur.

Kaynaklara bakıldığında periodontal hastalığın ilerlemesindeki bireysel farklılıkları incelemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmış olduğu görülmektedir. Løe ve arkadaşlarının (73), ağız bakımı yetersiz Srilankalı çay işçilerinde uzun dönem kontrollü çalışmalarında, periodontitisin ilerlemesinde bireysel farklılıkların fazla olduğunu gözlemlemiştir. Bireyleri 15 yıllık izleme sürecinin sonunda, populasyonun %81'inde hastalığın orta derecede ilerlediği görülürken, %11'inde hiçbir ilerleme gözlenmemiş. %8'inde de periodontitisin hızlı bir şekilde ilerlediği belirtilmiştir (39, 73).

Çalışmamızda kronik periodontitis ile MBL geni kodon 54 polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamamış, ayrıca kontrol seanslarında klinik periodontal parametrelerde gözlenen iyileşme gerek mutant allel taşıyan bireylerde ve gerekse normal allel taşıyan bireylerde anlamlı farklılıklar göstermemiştir. Bu sonuç, Løe ve arkadaşlarının çalışması da göz önünde bulundurularak değerlendirildiğinde mutant allel taşıyıcılığı ile kronik periodontitis arasındaki ilişkinin saptanabilmesi için hastaların uzun dönem izlenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmamız, kaynaklara bakıldığında Türk populasyonunda ve Dünyada MBL geni ile kronik periodontitis arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapılan ilk çalışmadır. Bu nedenle, Türkiye'nin farklı bölgelerinde ve farklı periodontal hastalık gruplarında daha kapsamlı benzer çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

## **BÖLÜM V**

### **SONUÇ**

Enflamatuvar bir hastalık olan kronik periodontal hastalıklı bireylerin serum MBL düzeylerinin değerlendirilmesi yanı sıra, Türk populasyonunda, MBL geni ekzon 1 polimorfizmlerinin kronik periodontal hastalıkta ve başlangıç periodontal tedaviye yanıtı olan etkisi ve periodontal hastalıklı bireylerin fenotip – genotip ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir:

Çalışma gruplarımızı oluşturan kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerin serum MBL düzeyleri her iki grup için benzer bulunmuş ve anlamlı farklılık saptanmamıştır. Buradan yola çıkarak, serum MBL düzeyinin kronik periodontal hastalığın ortaya çıkmasında bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Türk populasyonunda, periodontal hastalıkla MBL geni ekzon 1 polimorfizminin ilk defa araştırıldığı çalışmamızda, MBL geni kodon 52 ve kodon 57 polimorfizminin Türk populasyonunda görülmediği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra MBL geni kodon 54 mutant alleli olan B allelinin Türk populasyonundaki frekansı, kronik periodontitis hastaları için % 22.3 ve periodontal sağlıklı bireyler için ise % 19.6 bulunmuştur. Her iki grup için benzer mutant allel frekansının görülmesi bize, MBL geninin kronik periodontal hastalıkla ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

Araştırmamızda, serum MBL düzeylerinin MBL geni kodon 54 genotip dağılımları ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Yani homozigot normal allel taşıyan AA genotip taşıyan bireylerde serum MBL düzeyi, heterozigot ve homozigot mutant allel taşıyan bireylerden

yüksek bulunmuştur. Ayrıca heterozigot mutant allel taşıyan, yani AB genotip taşıyan bireylerin de serum MBL düzeyleri, homozigot BB genotip taşıyan bireylerden yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda serum MBL düzeyinin, MBL geni mutant allel taşıyıcılığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Diğer bir deyişle MBL gen polimorfizmi, serum MBL düzeyini etkilemektedir.

Araştırmamızda, kronik periodontitisli bireylerin başlangıç periodontal tedaviye olan yanıtta, MBL geni kodon 54 mutant allel taşıyıcılığı ile olan ilişkisini değerlendirmek amacıyla, periodontal tedavi başlangıcında, 1., 3., ve 6. aylarda ölçülen klinik periodontal parametreler, hem mutant allel taşıyan hem de mutant allel taşımayan kronik periodontitisli bireylerde başlangıç ile kontrol seansları klinik parametreleri arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Bu farklılıkların uygulanan periodontal tedavinin etkinliğinin bir sonucu olduğu kanısındayız. Bu nedenle periodontal tedaviye yanıtta MBL geni mutant allel taşıyıcılığının bir etkisi olmadığını düşünüyoruz.

Dünya’da ve Türkiye’de ilk olarak kronik periodontal hastalıklarla MBL gen polimorfizminin değerlendirildiği bu çalışmamızdan elde edilen sonuçların ışığında, bu konu ile ilgili çalışmayı düşünen araştırmacılara yol gösterici olmasının yanı sıra, benzer çalışmaların Türkiye’nin farklı bölgelerinde ve çok merkezli yapılarak Türk popülasyonu ve periodontal hastalıklar ile MBL geninin ilişkisinin değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Ayrıca, çalışmamızın sonuçlarına göre bazı sorulara yanıt aranması gerektiği de ortaya çıkmıştır. Bunlara kısaca değinecek olursak;

Son yıllarda serum MBL düzeyi ve MBL gen polimorfizmi ile ilgili çalışmaların artmış olmasına karşın, yaptığımız kaynak taramasında periodontal patojenlerin MBL’ye bağlanmaları ile ilişkili bir çalışmaya rastlanamamıştır. Araştırmamızda kronik periodontitis ile serum MBL düzeyi arasında bir ilişki bulunamamış olsa da, bazı periopatojen mikroorganizmaların MBL’ye bağlanabilirliklerinin araştırılması gerektiğini düşünüyoruz.

Böylelikle spesifik periopatojenlerin eliminasyonuna yönelik tedavi yöntemlerine de katkıda bulunulabilecektir.

Araştırmamızda periodontal hastalık ile MBL geni ekzon polimorfizmlerinin değerlendirilmesi sonucu bir ilişki saptanamamıştır. Ancak, MBL geninin promoter bölge polimorfizmlerinin de araştırılmasıyla MBL geni ile periodontal hastalıklar arasındaki ilişkiye daha da açıklık getirilebilecektir. Ayrıca MBL geninin diğer polimorfizmlerinin etkileşimlerinin periodontal hastalık üzerine etkisinin olup olmadığına da yanıt aranmalıdır.

Serumda bulunan MBL'nin periodontal hastalıkla ilişkisinin değerlendirilmesinde, serum yerine dişeti oluğu sıvısının (DOS) da kullanılabilceğini, böylelikle periodontal tedavi öncesinde ve sonrasında DOS'da MBL düzeyi değerlendirilerek tedavinin MBL düzeyine etkinliğinin araştırılabileceğini düşünürüz.

## BÖLÜM VI

### ÖZET

Kompleman sistemin lektin yolunun aktivasyonunda önemli rol oynayan ve doğal immunitenin anahtar komponenti olan MannoZ Bağlayıcı Lektin (MBL) C tipi lektin ailesine ait bir serum proteindir. Enflamatuvar hastalıklarda hastalık riskinin artmasında serum MBL düzeyindeki eksiklik ve MBL gen polimorfizmleri yakın ilişkilidir. Bu amaçla çalışmamızda, enflamatuvar bir hastalık olan kronik periodontitis ile serum MBL düzeylerinin ve Türk populasyonunda MBL gen polimorfizminin ilişkisini ve genotip dağılımlarının uygulanan başlangıç periodontal tedaviye yanıtta olan etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamıza kronik periodontitisli 83 ve periodontal sağlıklı 89, toplam 172 hasta dahil edildi. MBL polimorfizm değerlendirmeleri için çalışmaya katılan bireylerden periferik kan örnekleri alınarak elde edilen genomik DNA'lar PCR-RFLP yöntemi ile değerlendirildi. Sonuçlar ki kare testi ve çoklu lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi.

Çalışmamızda serum MBL düzeyleri ile kronik periodontitis arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Grupların allel frekansları ve genotip dağılımları Hardy-Weinberg eşitliğine uygundur ( $P>0.05$ ,  $X^2<5.99$ ). MBL geni kodon 54 B allel frekansı kronik periodontitis grubu için % 22.3 ve periodontal sağlıklı grup için ise % 19.6 olarak saptanmıştır. Gruplar arasındaki bu farklılık anlamlı bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Serum MBL düzeyleri ile genotip dağılımları arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Genotip dağılımlarının başlangıç periodontal tedaviye yanıtta bir etkisi olmadığı görülmüştür ( $P>0.05$ ).

Sonuç olarak alışmamızda, Türk populasyonunda MBL gen polimorfizmi ile kronik periodontitis arasında bir ilişki bulunmamışsa da, Türkiye'nin farklı bölgelerinde de kapsamlı alışmaların yapılması gerektiği kanısındaız.

## **ABSTRACT**

### **Mannose Binding Lectin Serum Levels and Gene Polymorphisms and Genotype - Phenotype Associations in Periodontal Diseased Patients**

Mannose-binding lectin (MBL) which is a member of C type lectin family plays an important role in the activation of complement system lectin pathway and a key component of innate immunity. Low serum MBL levels and MBL gene polymorphisms have been associated with increased susceptibility to infectious diseases. The aim of the present study was to investigate the associations between serum MBL levels and MBL gene polymorphism with chronic periodontitis (CP) in a Turkish population and the influence of genotypes on response to the non-surgical periodontal therapy.

A total of 172 Turkish subjects were included in the present study for MBL polymorphisms analysis and 83 of them were selected for serum levels analysis. MBL polymorphism was genotyped by polymerase chain reaction amplification following restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method and serum analysis were analyzed by MBL ELISA kit. The data were analyzed by Chi-square test, ANOVA, Spearman correlation test and multi variant logistic regression.

Serum MBL levels were not related with chronic periodontitis ( $P>0.05$ ). Genotype distributions and allele frequencies in this study were found in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ,  $X^2<5.99$ ). MBL gene at codon 54 B allele frequencies were 22.3 % and 19.6 % in chronic periodontitis and healthy group, respectively ( $P>0.05$ ). Serum

MBL levels were related with genotypes ( $P < 0.05$ ). There were no interactions between the treatment effect and genotypes ( $P > 0.05$ ).

Within the limitations of the present study it might be concluded that MBL gene polymorphism is not associated with susceptibility to chronic periodontitis and responses to non-surgical periodontal therapy were not associated with polymorphic allele carriage of MBL gene in Turkish population.



## Ek.1 Gönüllü olur formu

# PERİODONTAL HASTALIKLI BİREYLERDE SERUM MANNOZ BAĞLAYICI LEKTİN DÜZEYLERİ VE GEN POLİMORFİZMİNİN GENOTİP- FENOTİP İLİŞKİSİ

## BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Diş kaybıyla seyreden dişeti hastalığının sebepleri henüz tam olarak anlaşılammıştır. Genellikle yetersiz ağız bakımı sonucu ortaya çıkan dişeti hastalığı dişleri destekleyen dokuların kaybı ile karakterizedir. Şiddetli dişeti hastalığına ilerlemesinde kalıtsal nedenlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Hastalığın oluşum mekanizmasının açıklanması etkin tedavi seçeneklerinin oluşturulması açısından da oldukça önemlidir. Doğal bağışıklık sisteminde, öncelikle etkili olan MBL(mannose binding lectin)'nin kan seviyesinin de dişeti hastalığında etkili olduğu düşünülmektedir. Bu araştırma, MBL'nin diş destek dokularındaki yangı, hakkında bilgi edinmeyi amaçlamaktadır.

Uygulanacak cerrahisiz periodontal tedavi öncesinde, tüm ağız klinik ölçümleri her dişin 6 bölgesinden alınacaktır. Tedavi öncesinde gönüllülerden 2ml. kan alınarak,labratuvar işlemlerinin uygulanacağı döneme kadar - 80 C' de saklanacaktır.

Toplam araştırma süresi 2 yıldır. Fakat sizin araştırmaya dahil olma süreniz dişeti tedavisi sonuna kadardır. Araştırmamıza 50 periodontal hastalıklı, 50 periodontal sağlıklı gönüllü dahil edilecektir. Sizinle ilgili bulgu ve veriler kullanılmakla birlikte kimlikleriniz gizli tutulacaktır.

Yapılacak dişeti tedavileri çalışmaya dahil olmama durumunda da aynen uygulanacaktır. Her hastaya özgü tüp ve iğneler ile alınan kanın tedaviye olumlu veya olumsuz hiçbir etkisi olmamakla birlikte dişeti hastalığının oluşum nedenlerinin açıklanmasında bilimsel açıdan büyük önem taşımaktadır.

Çalışmaya katılmayı reddetme ve/veya herhangi bir zamanda vazgeçme hakkına sahipsiniz. Vazgeçme veya reddetme durumunda da tedavi ve bakımlarınız normal olarak gerçekleştirilecektir. Araştırmada yer almanız durumunda yapılacak tetkik ve tahliller size veya bağlı olduğunuz kuruluşa herhangi bir mali yük getirmeyecektir.Çalışma süresi içinde herhangi bir yakınmanızı bildirmek veya çalışmadan çıkmak istediğinizde *Dr. Özgün ÖZÇAKA* ile irtibat kurabilirsiniz. Tel : 0 232 3881105

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

Gönüllünün Adı, İmzası, Adresi (Varsa Telefon No, Faks No):

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı, İmzası, Görevi:

Tarih:

Rıza Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin Adı,İmzası,  
Görevi: Tarih:

## **BÖLÜM VII**

### **KAYNAKLAR**

1. Ainamo, J., Bay, I. (1975). Problems and Proposals for Recording Gingivitis and Plaque, *Int Dent J*, 25(4): 229-235
2. Aldred, M.J., Bartold, P.M. (1998). Genetic Disorders of the Gingivae and Periodontium, *Periodontology* 2000, 48: 7-20
3. Amer, A., Singh, G., Darke, C., Dolby, A.E. (1988). Association Between HLA Antigens and Periodontal Disease, *Tissue Antigens*, 31: 53-58
4. Annells, M.F., MHS., Hart, P.H., PhD., Mullighan C.G., MD., Heatley, S.L., BmedSc(Path), Robinson, J.S., MBBS, McDonald, H.M., PhD. (2004). Interleukins-1, -4, -6, -10, Tumor Necrosis Factor, Transforming Growth Factor- $\beta$ , FAS, and Mannose-Binding Protein C Gene Polymorphisms in Australian Women: Risk Of Preterm Birth, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 191, 2056-67
5. Babula, O., Lazdane, G., Kroica, J., Ledger, W.J., Witkin, S.S. (2003). Relation Between Recurrent Vulvovaginal Candidiasis, Vaginal Concentrations of Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphism in Latvian Women, *Clinical Infectious Disease*, 37: 733-737

6. Bathum L., Hansen, H., Teisner, B., Koch, C., Garred, P., Rasmussen, K., Wang, P. (2006) Association Between Combined Properdin and Mannose-Binding Lectin Deficiency and Infection with Neisseria Meningitidis, *Molecular Immunology*, 43, 473-479
7. Berglundh, T., Donati, M., Hahn-Zoric, M., Hanson, L.A., Padyukov, L. (2003). Association of the – 1087 IL 10 Gene Polymorphism with Severe Chronic Periodontitis in Swedish Caucasians, *J Clinical Periodontol*, 30: 249-254
8. Bernig, T., Breunis, W., Brouwer, N., Hutchinson, A., Welch, R., Roos, D., Kuijpers, T., Chanock, S. (2005). An Analysis of Genetic Variation Across The MBL2 Locus in Dutch Caucasians Indicates That 3' Haplotypes Could Modify Circulating Levels of Mannose-Binding Lectin, *Human Genetics*, 118: 404-415
9. Bouwman, L.H., Roep, B.A., Roos, A. (2006). Mannose-Binding Lectin: Clinical Implications for Infection, Transplantation, and Autoimmunity, *Human Immunology*, 67:247-256
10. Brown, L.J., Brunelle, J.A., Kingman, A. (1996). Periodontal Status in the United States, 1988-91: Prevalence, Extent and Demographic Variation, *J Dent Res*, 75:672-683
11. 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, *Journal of Clinical Periodontology*, Feb ;29,177
12. Cedzynsky, M., Szemraj, J., Swierzko, A.S., Bak-Romaniszyn, L., Banasik, M., Zeman, K. (2004) Mannan-Binding Lectin Insufficiency in Children with Recurrent Infections of the Respiratory System, *Clin Exp Immunol*, 136:304-311

13. Cobb, C.M. (1996). Non-surgical Pocket Therapy: Mechanical, *Ann Periodontol*, 1: 443-490
14. 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
15. Crosdale, D.J., Ollier, W.E.R., Thomson, W., Dyert, P.A., Jensenius, J., Johnson, R.W.G., Poulton, K.V. (2000). Mannose Binding Lectin (MBL) Genotype Distributions with Relation to Serum Levels in UK Caucasoids, 27: 111-117
16. Cullinan, M.P., Sachs, J., Wolf, E., Seymour, G. (1980). The Distribution of HLA-A and -B Antigens in Patients and Their Families with Periodontitis, *Journal of Periodontal Research*, 15: 177-184
17. Daniel, M. A., Van Dyke, T. E. (1996) Alterations in Phagocyte Function and Periodontal Infection. *Journal of Periodontology* 67(Suppl.), 1070-1075
18. De Souza, A., P., Trevilatto, P., C., Scarel-Caminaga, R., M., Brito Jr, R., B., Line S., R., P. (2003). MMP-1 Promoter Polymorphism: Association with Chronic Periodontitis Severity in a Brazilian Population, *J Clin Periodontol* 30: 154-158
19. Dumestre-Perard, C., Ponard, D., Arlaud, G.J., Monnier, N., Sim, R.B., Colomb, M.G. (2002). Evaluation and Clinical Interest of Mannan Binding Lectin Function in Human Plasma, *Molecular Immunology*, 39: 465-473
20. Eisen, D.P., Minchinton, M.R.(2003) Impact of Mannose-Binding Lectin on Susceptibility to Infectious Diseases, *Clinical Infectious Diseases*, 37: 1496-1505

21. Estabrook, M.M., Jack, D.L., Klein, N.J., Jarvis, G.A. (2004) Mannose-Binding Lectin Binds to Two Major Outer Membrane Proteins, Opacity Protein and Porin, of *Neisseria meningitidis*, *The Journal of Immunology*, 172: 3784-3792
22. Ezekowitz, R.A. (2003) Role of the Mannose-Binding Lectin in Innate Immunity, *The Journal of Infectious Diseases*, 187: S335-S339
23. Fidler, KJ., Wilson, P., Davies, JC., Turner, MW., Pters, MJ., Klein, NJ. (2004) Increased Incidence and Severity of the Systemic Inflammatory Response Syndrome in Patients Deficient in Mannose-Binding Lectin., *Intensive Care Med.*, jul;30(7): 1438-45
24. Frakking, F.N.J., Brouwer, N., Zweers, D., Merkus, M.P., Kuijpers, T.W., Offringa, M., Dolman, K.M. (2006). High Prevalence of Mannose-Binding Lectin (MBL) Deficiency in Premature Neonates, *Clinical and Experimental Immunology*, 145: 5-12
25. Fujita, T. (2002). Evolution of the Lectin-Complement Pathway and Its Role in Innate Immunity, *Nature Rev. Immunol*, 2:346-353
26. Fujita, T., Endo, Y., Nonaka, M. (2004). Primitive Complement System-Recognition and Activation, *Molecular Immunology*, 41:103-111
27. Gabolde, M., Hubert, D., Guilloud-Bataille, M, Lenaerts, C., Feingold, J., Besmond, C. (2001). The Mannose Binding Lectin Gene Influences the severity of Chronic Liver Disease in Cystic Fibrosis, *J Med Genet*, 38: 310-311
28. Gadjeva, M., Takahashi, K., Thiel, S. (2004) Mannan-Binding Lectin-A Soluble Pattern Recognition Molecule, *Molecular Immunology*, 41: 113-121
29. Garred, P., Larsen, F., Madsen, H.O., Koch, C. (2003). Mannose-Binding Lectin Deficiency—Revisited, *Molecular Immunology*, 40(2-4): 73-84

30. Garred, P., Strom, J.J., Quist, L., Taaning, E., Madsen, H.O. (2003) Association of Mannose-Binding Lectin Polymorphisms with Sepsis and Fatal Outcome, in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome, *The Journal of Infectious Diseases*, 188: 1394-403
31. Genco, R. J. (1996) Current View of Risk Factors for Periodontal Diseases, *Journal of Periodontology*, 67:1041-1049
32. Genco, R. J., Ho, A. W., Kopman, J., Grossi, S. G., Dunford, R. G., Tedesco, L. A. (1998) Models to Evaluate the Role of Stress in Periodontal Disease. *Annals of Periodontology* 3,288-302.
33. Gomi, K., Tokue, Y., Kobayashi, T., Takayashi, H., Watanabe, A., Fujita, T., Nukiwa, T. (2004). Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphism is a Modulating Factor in Repeated Respiratory Infections, *Chest*, 126:95-99
34. Gordon, A.,C., Waheed, U., Hansen, T.,K., Hitman, G., A., Garrard, C., S., Turner, M., W., Klein, N., J., Brett, S., J., Hinds, C., J. (2006) Mannose-Binding Lectin Polymorphisms in Severe Sepsis: Relationship To Levels, Incidence, and Outcome, *Shock*, Jan;25(1): 88-93
35. Griffiths, G.S., Wilton, J.M.A., Curtis, M.A., Et Al. (1988). Detection of High Risk Groups and Individuals for Periodontal Diseases, *J Clin Periodontol*, 13:403-410
36. Hansen, T.K. ( 2003). Growth Hormone and Mannan-Binding Lectin: Emerging Evidence for Hormonal Regulation of Humoral Innate Immunity, *Minerva Endocrinology*, 28(1): 75-84

37. Hansen, T.K., Thiel, S., Knudsen, S.T., Gravholt, C.H., Christiansen, J.S., Mogensen, C.E., Poulsen, P.L. (2003). Elevated Levels of Mannan- Binding Lectin in Patients with Type 1 Diabetes, *J Clin Endocrinol Metab.* , 88(10): 4857-4861
38. Hart, T.C., Kornman, K.S. Genetic Factors in the Pathogenesis of Periodontitis *Periodontology* 2000 1997; 14:202-215.
39. Heitz-Mayfield L.J.A. (2005). Disease Progression: Identification of High-Risk Groups and Individuals for Periodontitis, *J Clin Periodontol*, 32(6): 196-209
40. Hennig, B.J.W., Parkill, J.M., Chapple, I.L.C., Heasman, P.A., Taylor, J.J. (1999). Association of a Vitamin D Receptor Gene Polymorphism with Localized Early-Onset Periodontal Disease, *J Periodontol*, 70:1032-1038
41. Hibberd, M.L., Sumiya, M., Summerfield J.A., Booy, R., Levin, M. (1999) The Meningococcal Resesarch Group, Association of Variants of The Gene for Mannose-Binding Lectin with Susceptibility to Meningococcal Disease, *Lancet*, 353: 1049-53
42. Hibberd, M.L., Summerfield, J.A., Levin, M. (2001). Variation in the Mannose Binding Lectin (MBL) Gene and Susceptibility to Sepsis, *Sepsis*, 4(3): 201-207
43. Hodge, P.J., Riggio, M.P., Kinane, D.F., Failure To Detect An Association With IL1 Genotypes in European Caucasians with Generalised Early Onset Periodontitis (2001) *J Clin Periodontology*; 28: 430-436
44. Horiuchi, T., Gondo, H., Miyagawa, H., Otsuka, J., Inaba, S., Nagafuji, K., Takase, K., Tsukamoto, H., Koyama, T., Mitoma, H., Tamimoto, Y., Miyagi, Y., Tahira, T., Hayashi, K., Hashimura, C., Okamura, S., Harada, M. (2005). Asociation of MBL

Gene Polymorphisms with Major Bacterial Infection in Patients Treated with High-Dose Chemotherapy and Autologous PBSCT, *Genes and Immunity*, 6:162-166

45. Horwitz, M. (2000). *Basic Concepts in Medical Genetics*, McGraw-Hill Companies, USA

46. Hugoson, A., Laurell, L. (2000). A Prospective Longitudinal Study on Periodontal Bone Height Changes in a Swedish Population, *J Clin Periodontol*, 27:665-674

47. Jack, D., L., Klein N., J., Turner, M., W. (2001) Mannose-Binding Lectin: Targeting The Microbial World For Complement Attack And Opsonophagocytosis , *Immunological Reviews*, 180: 86-89

48. Jack, D.L., Turner, M.W. (2003). Anti-Microbial Activities of Mannose-Binding Lectin, *Biochemical Society*, 31 Part 4:753-757

49. Jack, L.D., Dodds, A.W., Anwar, N., Ison, C.A., Law, A., Frosch, M., Turner, M.W., Klein, N.J. (1998) Activation of Complement by Mannose-Binding Lectin on Isogenic Mutants of *Neisseria meningitidis* Serogroup B, *The Journal of Immunology*, 160: 1346-1353

50. Jülicher, S., Kremsner, P.G., Alpers, M.P., Reeder, J.C., Kun, J.F.J. (2002). Restricted Polymorphisms of the Mannose-Binding Lectin Gene in a Population of Papua New Guinea, *Mutation Research*, 505: 87-91

51. Keller, T.T., Van Leuven, S.I., Meuwese, M.C., Wareham, N.J., Luben, R., Stroes, E.S., Hack, C.E., Levi, M., Khaw, K.T., Boekholdt, S.M. (2006). Serum Levels of Mannose-Binding Lectin and The Risk of Future Coronary Artery Disease in Apparently



Healthy Men and Women, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26: 2178-2180

52. Kilpatrick, D.C. (2002) Mannan-Binding Lectin and its Role in Innate Immunity, *Transfusion Medicine*, 12: 335-351

53. Kilpatrick, D.C. (2002). Mannan-Binding Lectin: Significance and Applications, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1572: 401-413

54. Kilpatrick, D.C. (2003). Consensus Statement on the Future of the Mannan-Binding Lectin (MBL)- Replacement Therapy, *Biochemical Society Transactions*, 31(4): 776-781

55. Kilpatrick, D.C. (2003). Therapeutic Applications of Mannan-Binding Lectin, *Biochemical Society Transactions*, 31(4): 745-747

56. Kinane, D.F., Hart, T.C. (2003). Genes and Gene Polymorphisms Associated with Periodontal Disease, *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(6): 430-449

57. Kinane, D.F., Peterson, M., Stathopoulou, P.G. (2006). Environmental and Other Modifying Factors of The Periodontal Disease, *Periodontology 2000*, 40: 107-119

58. Kinane, D.F., Shiba, H., Hart, T.C. (2005). The Genetic Basis of Periodontitis, *Periodontology 2000*, 39:91-117

59. Kornman, K.S., (1999). Host Modulation as a Therapeutic Strategy in The Treatment of Periodontal Disease, *Clin Infect Dis*, 28:520-526

60. Kornman, K.S., Crane, A., Wang, H.Y., Di Giovine, F.S., Newman, M.G., Pirl, F.W., Wilson, T.G.Jr., Higginbottom, F.L., Duff, G.W. (1997). The Interleukin-1

Genotype as a Severity Factor in Adult Periodontal Disease, *J Clinical Periodontol*, 24(1):  
72-77

61. Kronborg, G., Weis, N., Madsen, H.O., Pedersen, S.S., Wejse, C., Nielsen, H., Skinhoj, P., Garred, P. (2002). Variant Mannose-Binding Lectin Alleles are not Associated with Susceptibility to or Outcome of Invasive Pneumococcal Infection in Randomly Included Patients, *the Journal of Infectious Diseases*, 185:1517-1520

62. Kuipers, S., Aerts, PC., Van Dijk, H. (2003) Differential Microorganism-induced Mannose-Binding Lectin Activation, *FEMS Immunol Med Microbiol*, May 15;36(1-2):  
33-9

63. Kurata, H., Sannoh, T., Kozutsumi, Y., Yokota, Y., Kawasaki, T. (1994). Structure and Function of Mannan-Binding Proteins Isolated From Human Liver and Serum, *Journal of Biochemistry*, 115:1148-1154

64. Lamster I., B., Grbic J., T. (2000) Diagnosis of Periodontal Disease Based on Analysis of the Host Response, *Periodontology* 1995, 7: 83-89

65. Lappin D., F., McGregor, A., M., P., Kinane, D., F. (2003) The Systemic Immune Response is More Prominent Than the Mucosal Immune Response in The Pathogenesis of Periodontal Disease, *J Clin Periodontol*, 30: 778-786

66. Lee, H.H. (2003). PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Method to Detect the X/Y Polymorphism in The Promoter Site of the Mannose-Binding Lectin Gene, *Clinical Chemistry*, 49,9: 1557-1558

67. Lewkowicz, N., Lewkowicz, P., Kurnatowska, A., Banasik, M., Glowacka, E. Cedzynski, M., Swierzko, A., Lauk-Puchala, B., Tchorzewski, H. (2003) Innate Immune

System is Implicated in Recurrent Aphthous Ulcer Pathogenesis, *J Oral Pathol Med*, 32: 475-81

68. Listgarten M.A. (1986). A Perspective on Periodontal Diagnosis, *J Clin Periodontol*, 13:175-181

69. Listgarten, M.A. (1986). Pathogenesis of Periodontitis, *J Clin Periodontol*, 13:418-425

70. Liu, H., Jensen, L., Hansen, S., Petersen, S.V., Takahashi, K., Ezekowitz, A.B., Hansen, F.D., Jensenius, J.C., Thiel, S. (2001). Characterization and Quantification of Mouse Mannan-Binding Lectins (MBL-A and MBL-C) and Study of Acute Phase Responses, *Scand J Immunol*, 53: 489-497

71. 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): 159-179

72. Loos, B.G., Leppers-Van De Straat, F.G.J., Van De Winkel, J.G.J., Van Der Velden, U. (2003). Fc $\gamma$  Receptor Polymorphisms in Relation to Periodontitis, *J Clin. Periodontol*, 30:595-602

73. Löe, H., Anerud, A., Boysen, H., Mortrison, E. (1986). Natural History of Periodontol Disease in Man. Rapid, Moderate and No Loss of Attachment in Sri Lankan Laborers 14 to 46 Years of Age, *J Clin Periodontol*, 13:431-440

74. Mackler, B.F., Frostad, K.B., Robertson, P.B., Levy, B. (1977). Immunoglobulin Bearing Lymphocytes an Plasma Cells in Human Periodontal Disease, *J Periodontal Res*, 12:37-45

75. Maffei, G., Brouwer, N., Dolman, KM., Van Der Velden, U., Roos, D. Loos, BG. (2005). Plasma Levels of Mannan-Binding Lectinin Relation to Periodontitis and Smoking, *J Periodontol*, 76(11): 1881-1889
76. Martin, P., Lerner, A., Johnson, L., Lerner, DL., Haraguchi, S., Good, RA., Day, NK. (2003) Inherited Mannose-Binding Lecting Deficiency as Evidenced by Genetic and Immunologic Analyses: Association With Severe Recurrent Infections, *Ann Alergy Asthma Immunol*, 91(4):386-92
77. Mathur, A., Michalowicz, B.S., Cell-Mediated Immune System Regulation in Periodontal Diseases. (1997) *Crit.Rev.Oral Biol. Med.* 8:76-89
78. Michalowicz, B.S., Diehl, S.R., Gunsolley, J.C., Sparks, B.S., Brooks, C.N., Koertge, T.E., Califano, J.V., Burmeister, J.A., Schenkein, H.A. (2000). Evidence of Substantial Genetic Basis for Risk of Adult Periodontitis, *J Periodontol*, 71: 1699-1707
79. Minchinton, R.M., Dean, M.M., Clark, T.R., Heatley, S., Mullighan, C.G. (2002). Analysis of the Relationship Between Mannose-Binding Lectin (MBL) Genotype, MBL Levels and Function in an Australian Blood Donor Population, *J Immunol*, 56:630-641
80. Mullighan, C.G., Heatley, S., Doherty, K., Szabo, F., Grigg, A., Hughes, T.P., Schwarer, A.P., Szer, J., Talt, B.D., To, L.B., Bardy, P.G. (2002) Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms are Associated With Major Infection Following Allogeneic Hemopoietic Stem Cell Transplantation, *Blood*, 99: 3524-3529
81. Mullighan, C.G., Marshall, S.E., Welsh, K.I. (2000). Mannose Binding Lectin Polymorphism are Associated with Early Age of Disease Onset and Autoimmunity in Common Variable Immunodeficiency, *Scand. J Immunol.*, 51: 111-122

82. Nakagawa, T., Ma, B.Y., Uemura, K., Oka, S., Kawasaki, N., Kawasaki, T. (2003). Role of Mannan-Binding Protein, MBP, in Innate Immunity, *Anticancer Research*, 23(6a): 4467-4471
83. Nares, S. (2003) The Genetic Relationship to Periodontal Disease, *Periodontology* 2000, 32: 36-49
84. Neth, O., Hann, Turner W.M., Klein J.N. (2001) Deficiency of Mannose-Binding Lectin and Burden of Infection in Children with Malignancy: A Prospective Study, *The Lancet*, Aug;358: 614-18
85. Neth, O., Jack, D.L., Dodds, A.W., Holzel, H., Klein, N.J., Turner, M.W. (2000) Mannose-Binding Lectin Binds to a Range of Clinically Relevant Microorganisms and Promotes Complement Deposition, *Infection and Immunity*, 68: 688-693
86. Newman, M.G. (1997). Genetic Risk for Severe Periodonal Disease, *Compend Contin Educ Dent*, 18(9): 881-884
87. Nunn, M.E. (2003) Understanding The Etiology of Periodontitis: An Overview of Periodontal Risk Factors, *Periodontology* 2000, 32:11-23
88. O'Leary, T.J. (1972). The Plaque Control Record, *J Periodontol*, 43(1): 38
89. Okada, H., Kida, T., Yamagami, H., (1983). Identification and Distribution of Immunocomponent Cells in Inflamed Gingiva of Human Chronic Periodontitis, *Infect Immun*, 41:365-374
90. Online Mendelian Inheritance in Man; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> OMIM

91. Özbaş-Gerçeker, F., Tezcan, İ., Berkel, A.İ., Özkara, Ş., Özcan, A., Ersoy, F., Sanal, Ö., Özgüç, M. (2003) The Effect of Mannose-Binding Protein Gene Polymorphisms in Recurrent Respiratory System Infections in Children and Lung Tuberculosis, *The Turkish Journal of Pediatrics*, 45: 95-99
92. Page, R. (1991). The Role of Inflammatory Mediators in The Pathogenesis of Periodontal Disease, *J Periodontal Res*, 26:230-242
93. Petersen, S.V., Thiel, S., Jensen L., Steffensen, R., Jensenius, J.C. (2001). An Assay for the Mannan-Binding Lectin Pathway of Complement Activation, *J Immunol Methods*, 257:107-116
94. Petit, M.D., Van Steenberg, T.J., Timmerman, M.F., De Graaf, J., Van Der Velden, U. (1994). Prevalence of Periodontitis and Suspected Periodontal Pathogens in Families of Adult Periodontitis Patients, *J Clin Periodontol*, 21:76-85
95. Pirulli, D., Boniotto, M., Vatta, L., Crovella, S., Spano, A., Morgutti, M., Zezlina, S., Bertola, L., Roccatello, D., Scolari, F., Peruzzi, L., Savoldi, S., Amoroso, A. (2001). Polymorphisms in The Promoter Region and at Codon 54 of the MBL2 Gene are not Associated with IgA Nephropathy, *Nephrol Dial Transplant*, 16:759-764
96. Presanis, J.S., Kojima, M., Sim, R.B. (2003). Biochemistry and Genetics of Mannan-Binding Lectin (MBL), *Biochemical Society Transactions*, 31: 748-752
97. Reinholdt, J., Bay, I., Svejgaard, A. (1977). Association between HLA-Antigens and Periodontal Disease, *J Dent Res*, 56(10): 1261-1263
98. Renvert, S., Persson, G., R. (2004) Supportive Periodontal Therapy, *Periodontology 2000*, 36: 179-195

99. Roos, A., Garred, P., Wildenberg, M.E., Lynch, N.J., Munoz, J.R., Zuiverloon, T.C.M., Bouwman, L.H., Schlagwein, N., Fallaux Van Den Houten, F.C., Faber-Krol, M.C., Madsen, H.O., Schwaeble, W.J., Matsushita, M., Fujita, T., Daha, M.R. (2004). Antibody-Mediated Activation of the Classical Pathway of Complement May Compensate for Mannose-Binding Lectin Deficiency, *Eur. J. Immunol.*, 34: 2589-2598
100. Roy, S., Knox, K., Segal, S., Griffiths, D., Moore, C.E., Welsh, K.I., Smarason, A., Day, N.P., Mcpheat, W.L., Croke, D.W., Hill, A.V.S., The Oxford Pneumococcal Surveillance Group. (2002). MBL Genotype and Risk of Invasive Pneumococcal Disease: A Case Control Study, *Lancet*, 359:1569-1573
101. Sanders, E.A.M., Rijkers, G.T. (2006). Functional Polymorphisms in the Mannan-Binding Lectin 2 Gene: Effect on MBL Levels and Otitis Media, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(6): 1344-1350
102. Sastry, K., Herman, G.A., Day, L., Deignan, E., Bruns, G., Morton, C.C., Ezekowitz R.A.B. (1989). The Human Mannose-Binding Protein Gene, *J. Experimental Medicine*, 170: 1175-1189
103. Schenkein, H.A. (2002). Finding Genetic Risk Factors for Periodontal Disease: is the Climb Worth the View?, *Periodontology 2000*, 30: 79-90
104. Schenkein, H.A. (2006). Host Responses in Maintaining Periodontal Health and Determining Periodontal Disease, *Periodontology 2000*, 40: 77-93
105. Schmiegelow, K., Garred, P., Lausen, B., Andreassen, B., Petersen, B., L., Madsen, H., O. (2002) Increased Frequency of Mannose-Binding Lectin Insufficiency Among Children with Acute Lymphoblastic Leukemia, *Blood*;100: 10

106. Seymour, G.J. (1987). Possible Mechanisms Involved in the Immunoregulation of Chronic Inflammatory Periodontal Disease, *J Dent Res*, 66:2-9
107. Shimada, Y., Tai, H., Endo, M., Kobayashi, T., Akazawa, K., Yamazaki, K. (2004). Association of Tumor Necrosis Factor Receptor Type 2 + 587 Gene Polymorphism with Severe Chronic Periodontitis, *J Clin Periodontol*, 31:464-469
108. Siassi, M., Hohenberger, W., Reise, J. (2003). Mannan-Binding Lectin (MBL) Serum Levels and Post-Operative Infections, *Biochemical Society*, 31,4: 774-775
109. Soborg, C., Madsen, H.O., Andersen, A.B., Lillebaek, T., Kok-Jensen, A., Garred, P.(2003) Mannose-Binding Lectin Polymorphisms in Clinical Tuberculosis, *Journal of Infection Disease*, 188(5): 777-82
110. Song, L., H., Binh, V., Q., Duy, D., N., Jülinger, S., Bock, T., C., Luty, A., J., F., Kremsner, P., G., Kun, J., F., J.(2003) Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms and Hepatitis B Virus Infection in Vietnamese Patients, *Mutation Research*, 522: 119-125
111. Sullivan, K.E., Jawad, A.F., Piliero, L.M., Kim, N., Luan, X., Goldman, D., Petri, M. (2003) Analysis of Polymorphisms Affecting Immune Complex Handling in Systematic Lupus Erythematosus, *Rheumatology*, 42: 446-452
112. Takahashi, K., Ip, W.K.E., Michelow, I.C., Ezekowitz, R.A.B. (2006). The Mannose-Binding Lectin: A Prototypic Pattern Recognition Molecule, *Current Opinion in Immunology*, 18:16-23
113. Takahashi, R., Tsutsumi, A., Ohtani, K., Muraki, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Wakamiya, N., Sumida, T. (2005). Association of Mannose Binding Lectin (MBL) Gene



Polymorphism and Serum MBL Concentration with Characteristics and Progression of Systemic Lupus Erythematosus, *Annals of the Rheumatic Disease*, 64: 311-314

114. Takashiba, S., Naruishi, K. (2006). Gene Polymorphism in Periodontal Health and Disease, *Periodontology* 2000, 40:94-106

115. Temizkan, G., Arda, N. (2004). *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, Nobel Tıp Kitabevleri, Türkiye

116. Terai, I., Kobayashi, K., Matsushita, M., Miyakawa, H., Mafune, N., Kikuta, H. (2003) Relationship Between Gene Polymorphisms of Mannose-Binding Lectin (MBL) and Two Molecular Forms of MBL, *EUR J Immunol*, Oct;33(10): 2755-2763

117. The American Academy Of Periodontology. (1996). The Potential Role of Growth and Differentiation Factors in Periodontal Regeneration, *J Periodontol*, 67:545-553

118. Thiel, S., Holmskov, U., Hviid, L., Laursen, S.B., Jensenius, J.C. (1992). The Concentration of The C-Type Lectin, Mannan-Binding Protein, in Human Plasma Increases During an Acute Phase Response, *Clin Exp Immunology*, 90(1): 31-35

119. Trowbridge, H.O., Emling, R.C. (1997). *Inflammation*, Quintessence Publishing, (USA)

120. Turner, M.W. (1996). Mannose-Binding Lectin: The Pluripotent Molecule of the Innate Immune System, *Immunol Today*, 17:532-540

121. Turner, M.W. (2003). The Role of Mannose-Binding Lectin in Health and Disease, *Molecular Immunology*, 40(7): 423-429

122. Turner, M.W., Dinan, L., Heatley, S., Jack, D.L., Boettcher, B., Lester, S., Mccluskey, J., Robertson, D. (2000). Restricted Polymorphism of the Mannose-Binding Lectin Gene of Indigenous Australians, *9,10*: 1481-1486
123. Turner, M.W., Hamvas, R.M. (2000). Mannose-Binding Lectin: Structure, Function, Genetics and Disease Association, *Review Immunogenetic*, 2(3): 305-322
124. Van Dyke, T.E., Lester, M.A., Shapira, L. (1993). The Role of Host Response In Periodontal Disease Progression: Implications for Future Treatment Strategies, *J Periodontol*, 64:792-806
125. Wactawski-Wende, J., Grossi, S. G., Trevisan, M, Et Al. (1996) The Role Of Osteopenia in Oral Bone Loss and Periodontal Disease. *Journal of Periodontology* 67 (Suppl.), 1076-1084.
126. Wallis, R., Drickamer, K. (1999). Molecular Determinants of Oligomer Formation and Complement Fixation in Mannose-Binding Proteins, *J Biol Chem*, 274:3580-3589
127. Watson, J.D. (2005) İkili Sarmal, Tübitak Popüler Bilim Kitapları İşletme Müdürlüğü, Ankara
128. Werth, V.P., Berlin, J.A., Callen, J.P., Mick, R., Sullivan, K.E. (2002. Mannose Binding Lectin (MBL) Polymorphism Associated with Low MBL Production in Patients with Dermatomyositis, *J Invest Dermatol*, 119: 1394-1399
129. Wiertsema, S.P., Herpers, B.L., Veenhoven, R.H., Salimans, M.M.M., Ruven, H.J.T., Williams, R.C. (1990). Periodontal Disease, *N Engl J Med*, 322:373-376

130. Yamamoto, K., Kobayashi, T., Grossi, S., Ho, A.W., Genco, R.J., Yoshie, H., Nardin, E.D. (2004). Association of Fcγ Receptor IIa Genotype With Chronic Periodontitis in Caucasians, *J Periodontol*, 75:517-522

131. Yang, J., Huang, H.J., Wang, G.B.(2004). Correlation between Mannose-Binding Lectin Gene Codon 54 Polymorphism and Susceptibility of Kawasaki Disease, *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 42(3): 176-179

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılı Uşak doğumluyum. İlköğrenimimi Uşak Mehmetçik İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Uşak Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1996 yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesini kazandım. 2001 yılında fakültemden mezun oldum ve aynı yılın Ekim ayında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başladım. 2002 yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi tahsisli araştırma görevlisi kadrosuna atandım. Procter & Gamble'dan aldığım yol bursu ile, 28.06.2004-6.08.2004 tarihleri arasında Washington Üniversitesi "*Summer Institute in Clinical Dental Research Methods (Seattle, USA)*" kursuna katıldım.

2006 Eylül ayında atandığım Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi kadrosunda çalışmaya devam etmekteyim.

Dt. Özgün ÖZÇAKA TAŞDEMİR