



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**BETA DEFENSİN-2 FONKSİYONEL GEN
POLİMORFİZMİNİN KRONİK PERİODONTİTİSLE
İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Sevda KURT

**Samsun
Mart-2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**BETA DEFENSİN-2 FONKSİYONEL GEN
POLİMORFİZMİNİN KRONİK PERİODONTİTİSLE
İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Sevda KURT

**Danışman
Doç. Dr. Ayla ÖZTÜRK**

**Samsun
Mart-2016**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sevda KURT tarafından Doç. Dr. Ayla ÖZTÜRK danışmanlığında hazırlanan 'Beta Defensin-2 Fonksiyonel Gen Polimorfizminin Kronik Periodontitisle İlişkisi' başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 04 /03 /2016 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr., Adnan TEZEL, Ankara Üniversitesi

Üye: Prof.Dr., Gökhan AÇIKGÖZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof.Dr., Banu Arzu ALKAN, Erciyes Üniversitesi

Üye: Doç.Dr., Ayla ÖZTÜRK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Yrd.Doç.Dr., Ali OKUYUCU, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Doç. Dr. Aydın HİM
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösterip destekleyen, tezimin her aşamasında emeğini ve yardımını esirgmeden yanımda olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayla ÖZTÜRK'e,

Eğitim hayatım boyunca desteğini her zaman arkamda hissettiğim, bizlere ihtiyaç duyduğumuz eğitim ve çalışma ortamını sağlayan Sayın hocam Prof. Dr. Gökhan AÇIKGÖZ'e,

Çalışmalarım süresince gereken her türlü imkanı sağlayan, yaratıcı eleştirileriyle beni yönlendiren, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Sayın hocalarım Prof. Dr. Nurten KARA ve Yrd. Doç. Dr. Ali OKUYUCU'ya,

Tezimin laboratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde bilgi, beceri ve deneyimlerini hiç esirgmeden paylaşan ve sabırla yardımcı olan değerli arkadaşım Esra TEKCAN'a,

İhtiyaç duyduğumda yardımlarını esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına,

Eğitimim süresince ilgi ve yardımlarını gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlanmış olduğum, çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Çalıştığım yıllar içerisinde her zaman yanımda olup her anımı paylaşan değerli Periodontoloji Anabilim Dalı asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca beni her alanda maddi ve manevi olarak destekleyen aileme; biricik annem, babam ve ablama...

sonsuz teşekkürler...

ÖZET

BETA DEFENSİN-2 FONKSİYONEL GEN POLİMORFİZMİNİN KRONİK PERİODONTİTİSLE İLİŞKİSİ

Amaç: Kronik periodontitis plak varlığı ile birlikte konağa bağlı genetik faktörler ve çevresel faktörlerin rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Günümüzde periodontal hastalığın genetik faktörlerle ilişkisi en merak edilen konuların başında gelir. Bu çalışmanın amacı bir antimikrobiyal peptit olan beta defensin-2 fonksiyonel gen polimorfizmi varlığının kronik periodontitis ile ilişkisinin incelenmesi, genotip-fenotip ilişkisinin ortaya konulması ve polimorfizmin kronik periodontal hastalığa yatkınlıktaki rolünün değerlendirilmesidir.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza kronik periodontitisli 100 hasta, kontrol grubumuza 100 birey dahil edildi. Kontrol grubu ve çalışma grubunu oluşturan 200 bireyin klinik muayeneleri yapılarak bütün bireylerden periodontal muayenede rutin olarak uygulanan klinik indeks ölçümleri alındı ve kemik seviyelerini gözlemleyebilmek için rutin radyografik değerlendirmeler yapıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden periferik kan örneği alındı ve alınan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. Daha önce gen ekspresyonu etkilediği gösterilen beta defensin-2 rs3762040 promoter polimorfizmi ve çevresindeki bölge sekans dizileme işlemleri yapılarak tarandı.

Bulgular: Laboratuvar sonuçları değerlendirildiğinde beta defensin-2 rs3762040 promoter polimorfizmi açısından çalışma grupları arasında gerek genotip dağılımları ($p=0,720$) gerekse allel frekansları ($p=1$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak beta defensin-2 rs3762039 promoter polimorfizmi açısından genotip dağılımları ($p=0,002$) ve allel frekansları ($p=0,005$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda beta defensin-2 geninin rs3762039 bölgesi polimorfizmi ile kronik periodontitis arasında ilişki bulundu; daha önceki çalışmalar değerlendirildiğinde bu polimorfizm periodontal hastalık riskini belirlemede potansiyel bir marker olabilir.

Anahtar kelimeler: Beta Defensin; Genetik; Kronik periodontitis; Polimorfizm

Sevda KURT, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Mart-2016

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN BETA DEFENSIN-2 FUNCTIONAL GENE POLYMORPHISM AND CHRONIC PERIODONTITIS

Aim: Chronic periodontitis is a multifactorial disease in which genetic and environmental factors play role together with the presence of plaque. The relationship between genetic factors and periodontal diseases is one of the most curious subjects in today. The aims of this study was to examine the relationship between beta defensin-2 functional gene polymorphism and chronic periodontitis, to reveal the genotype-phenotype relationship and to evaluate the role of polymorphisms on predisposition to chronic periodontal disease.

Material and Method: In our study, 100 patients with chronic periodontitis and 100 individuals for control group were included. 200 individuals were included in routine clinical examination, performed measurements of clinical indexes and radiographic evaluations were performed to observe bone levels. Genomic DNA was isolated from whole blood samples of this subjects and patients. rs3762040 promoter polymorphism of beta defensin-2 and surrounding area was determined by sanger-sequencing analysis.

Results: Statistically no significant differences could be found between the genotype ($p=0.720$) or allele frequencies ($p=1$) of rs3762040 promoter polymorphism of the beta defensin-2. However genotype ($p=0.002$) and allele frequencies ($p=0.005$) of rs3762039 promoter polymorphism of the beta defensin-2 are statistically significant.

Conclusions: rs3762039 polymorphism of the beta defensin-2 gene has association with chronic periodontitis in our study. When the other available studies evaluated this polymorphism may be a potential marker for determining the risk of periodontal disease.

Keywords: Beta defensin; Chronic periodontitis; Genetic; Polymorphism

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AgP	Agresif periodontitis
BE	Bağlantı epiteli
BOP	Sondalamada kanama indeksi
CNP	Kopya sayısı farklılığı
DEH	Dişeti epiteli hücresi
dk	Dakika
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
ER2	Endotelin reseptör 2
GI	Gingival indeks
hBD-1	Beta defensin-1
hBD-2	Beta defensin-2
hBD-3	Beta defensin-3
hBD-4	Beta defensin-4
IFN-GR	İnterferon gamma reseptörü
IFN- γ	İnterferon gama
Ig	İmmüoglobulin
IL-1	İnterlökin 1
IL-1ra	İnterlökin 1 reseptör antagonisti
IL-1 α	İnterlökin 1 alfa

IL-1 β	İnterlökün 1 beta
IL-2	İnterlökün 2
IL-4	İnterlökün 4
IL-4ra	İnterlökün 4 reseptör antagonisti
IL-6	İnterlökün 6
IL-6ra	İnterlökün 6 reseptör antagonisti
IL-8	İnterlökün 8
IL-8ra	İnterlökün 8 reseptör antagonisti
IL-10	İnterlökün 10
IL-12	İnterlökün 12
IL-13	İnterlökün 13
KAK	Klinik ataşman kaybı
KAS	Klinik ataşman seviyesi
KP	Kronik periodontitis
LJP	Lokalize juvenil periodontitis
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MMP	Matrix metalloproteinaz
MPO	Myeloperoksidaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
OE	Oral epitel
OHİ	Oral hijyen indeksi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PMN	Polimorfonükleer nötrofil
RAGE	İleri glikasyon son ürünleri reseptörü
RNA	Ribonükleik asit
SCD	Sondalama cep derinliği
SE	Sulkuler epitel
SK	Sondalamada kanama
sn	Saniye
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
TGF- β	Transforme edici büyüme faktörü beta
TLR-2	Toll-like reseptörü 2
TNF	Tümör nekroz faktör
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
UV	Ultraviyole

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sağlıklı Periodonsiyum ve Periodontal Hastalık Durumu	4
2.1.1. Kronik Periodontitis	5
2.1.2. Kronik Periodontitisin Patogenezi	6
2.1.3. Bağışıklık Sisteminin Periodontal Hastalıktaki Rolü	8
2.1.4. Beta Defensinler	11
2.2. Genel Genetik Kavramlar	13
2.2.1. Hastalıkların Genetik Temelleri	13
2.2.2. Tek Nükleotit Polimorfizmleri	15
2.3. Genetik Analiz Yöntemleri	16
2.3.1. Ailesel Geçiş	17
2.3.2. İkiz Çalışmaları	18
2.3.3. Segresyon Analizleri	19
2.3.4. Bağlantı Analizleri	20
2.3.5. İlişki Çalışmaları	22
2.4. Periodontal Hastalık ve Genetik İlişkisi	22
2.4.1. Periodontal Hastalık ile Gen Polimorfizmi İlişkisi	24
2.5. Beta Defensinlerin Periodontal Hastalıktaki Rolü	27
2.5.1. Periodontal Hastalıkta Beta Defensin-2 Gen Polimorfizmleri	31
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Çalışma Grubu	33
3.2. Periodontal Değerlendirme	34
3.3. DNA izolasyonu	36
3.4. Primer Dizaynı, PCR Optimizasyonu ve PCR Purifikasyonu	37
3.5. Sanger Dizileme	39
3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	40

4. BULGULAR	41
4.1. Demografik Özellikler.....	41
4.2. Klinik Periodontal Bulgular	42
4.3. Laboratuvar Bulgular	43
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	57
EK-1 Etik Kurul Onayı	75
EK-2 Hasta Onay Formu Örneği	76
ÖZGEÇMİŞ	80



1.GİRİŞ

Kronik periodontitis (KP); gingivitis ile başlangıç gösteren, iltihabi olaylar sonucu diři destekleyen dokulara yayılarak kemik veya ataşman kaybına yol ačan kronik iltihabi bir hastalıktır. Diđer periodontitis tiplerine göre daha sık görülen ve daha yavaş ilerleyen kronik periodontitiste yıkım dişler üzerindeki eklenti miktarıyla doğru orantılıdır (Ustun ve ark., 2008; Hinrichs ve Novak, 2012). KP için risk faktörleri; mikrobiyal dental plaktaki periodontopatojenlerin miktarı ve patojenitesi, stres, yaş, sigara kullanımı, sistemik hastalık varlığı ve genetik faktörlerdir. Bundan dolayı günümüzde periodontal hastalığın tanısı yapılırken, plak varlığı ile birlikte konağa bağlı genetik faktörler ve çevresel faktörlerin de rol oynadığı ‘multifaktöriyel’ bir hastalık olduğu vurgulanmaktadır (Kinane ve Lindhe, 2003; Ustun ve ark., 2008).

Periodontal hastalıklarda rol oynayan bakteriler salgıladıkları proteolitik enzimler ile yada patojen ürünlerinin yardımıyla yıkıcı enzim salgısı yaparak immün cevabı tetiklemektedirler. Savunma mekanizmaları tarafından başlatılan reaksiyon zinciri, bazı risk faktörleri varlığında bağ dokusu ve alveol kemiği yıkımı ile yani periodontal hastalık ile sonuçlanmaktadır (Abe ve ark., 1991; Ustun ve ark., 2008).

Antimikrobiyal peptitler farklı işlevlerde görev alan doğal antibiyotiklerdir (Zasloff, 2002; Oppenheim ve ark., 2003; De Smet ve Conteras, 2005). Antimikrobiyal peptitler ailesinde yer alan defensinlerin insanlarda alfa(α) ve beta(β) olmak üzere iki alt tipi vardır (Philpott, 2003; Gursoy ve Könönen, 2012). Defensinlerin birçok mikroorganizmaya karşı yüksek mikrobisidal etkisinin yanı sıra edinsel immün cevabı güçlendirici etkisi de vardır (Frye ve ark., 2000; Fellermann ve Stange, 2001). Literatürde defensinlerin alt tipi olan beta-defensinlerin (β -defensin) mikrobiyal veya proenflamatuvar uyarımlarla ilişkili olduğu ayrıca sitokinler ve çeşitli bakteriyel ürünlerin β -defensin üretimini artırdığına dair veriler bulunmaktadır (Diamond ve ark., 1996; Harder ve ark., 1997; Stolzenberg ve ark.,1997; Raj ve Dentino, 2002).

β -defensinlerden β -defensin 1 (hBD-1) ve β -defensin 2 (hBD-2) esas olarak periodontal hastalığın etiyolojik faktörlerinden olan gram negatif bakterilere karşı mikrobisidal etki göstermektedir (De Smet ve Conteras, 2005; Gursoy ve Könönen, 2012). HBD-2'nın periodontal hastalıklı bölgelerde değişim gösterdiği ve periodontal hastalıkta enflamasyonun klinik bir göstergesi olduğu düşünölmektedir (Lu ve ark., 2005; Lu ve ark., 2009). Ayrıca daha önceden de bahsedildiği üzere enflamasyon

durumunda hBD-2'nin salınımı çeşitli bakteriyel ürünler ve sitokinlere cevaben uyarılmaktadır. Mevcut literatürler ışığında enflamatuvar bir hastalık olan KP'de defensinlerdeki herhangi bir fonksiyon ya da kalite değişiminin konağın hastalığa olan yatkınlığını değiştirebileceği; aynı zamanda hastalık patogenizinde etkinliği olan β -defensin üretiminin genetik faktörlerden de etkilenebileceği görülmektedir (Hollox ve ark., 2003; Groth ve ark., 2010; Schaefer ve ark., 2010; Jaradat ve ark., 2013).

Günümüzde periodontal hastalığın genetik faktörlerle ilişkisi en merak edilen konuların başında gelir ve kronik periodontitisin genetik varyasyonların etkisini araştırmaya yönelik en popüler yöntem ikiz çalışmalarıdır; özellikle tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalar periodontal hastalıkta genetiğin belirleyici bir faktör olduğunu kanıtlamaktadır (Michalowicz ve ark., 1991a; Corey ve ark., 1993; Michalowicz ve ark., 2000). Bununla birlikte bu konuda yapılan bağlantı analizleri (Beaty ve ark.,1987; Marazita ve ark.,1994) ve ilişki çalışmaları (Kornman ve ark., 1997) da genetiğin periodontitiste belirleyici etkisini göstermektedir.

KP'in genetik geçişi ile ilgili araştırmalarda; hücre yüzey molekülleri, kemokinler gibi sitokinlerin veya antijen tanıma ile ilişkili bazı diğer moleküllerin gen polimorfizmi ile hastalık mevcudiyeti arasında ilişki olabirliği üzerinde durulmuştur. Hastalık durumunda daha sık izlenen bir gen aleli varlığı ve bu aday genin hastalık duyarlılığını arttırdığı düşünülmektedir. Fakat sağlıklı bireylerde de bu aday gene raslanması, genetiğin tek başına değil çevresel faktörler ile etkileşime girerek kombine etkiyle hastalıkta rol aldığını göstermekte ve desteklemektedir (Vijayalakshmi ve ark., 2010; Doğan ve ark., 2012). Kronik periodontitis ile bu aday genler arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmayı hedefleyen çalışmalar günden güne artmaktadır (Schenkein, 2002).

Japonlar üzerinde yapılan bir çalışmada hBD-2 geni üzerindeki -1029 bölgesinde tanımlanan tek nükleotit polimorfizminin (SNP) hBD-2 salınımını etkilediği ve periodontal hastalık gibi gram negatif bakterilerin sebep olduğu enflamatuvar hastalıkların oluşmasında etkinliğinin olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür (Kusano ve ark., 2005). Bu durum, hBD-2'nin KP'de aday gen olabileceği düşüncesini akla getirmektedir.

Yapılan çalışmalar hBD-2'nin peridontal hastalıkta ve dişeti enflamasyonunda etkisi olabileceğini gösterdiği halde (Ebrahem, 2013; Ertugrul ve ark., 2014; Dommisch ve ark., 2015) bu zamana dek bu genin genetik polimorfizminin periodontal hastalıklarla

ilişki değerlendirilmemiştir. Bu çalışmanın amacı hBD-2 rs3762040 promoter gen polimorfizimi ve çevresindeki bölgenin KP ile ilişkisini ortaya koymaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sağlıklı Periodonsiyum ve Periodontal Hastalık Durumu

Periodonsiyum, dişi destekleyen yapıların bütününe ifade eden bir terimdir; dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiği olmak üzere dört farklı dokudan oluşmaktadır (Lindhe ve ark., 2008; Fiorellini ve ark., 2012). Periodonsiyumun dişi çene kemiğinin içinde tutmak, çiğneme kuvvetlerinin çene kemiğine iletilmesini sağlamak, çiğneyici mukoza yüzeyinin oral kaviteye uyumunu sağlamak ve ağız içerisinde koruyucu bariyer benzeri davranmak gibi çeşitli görevleri vardır (Kinane, 2001; Lindhe ve ark., 2008).

Sağlıklı periodonsiyumda periodontal dokuların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü bozulmamıştır, bu bütünlüğün devamını doku yıkımı ile tamiri arasındaki denge sağlamaktadır. Hem gingivitis hem de periodontitis durumu 'periodontal hastalık' olarak tanımlanmaktadır (Kinane, 2001).

Gingivitis, gingival sulkusta veya ona yakın bölgelerde biriken bakteriler ve konağın savunma cevabı arasındaki dengenin konak aleyhinde bozulması ile ortaya çıkan; dişetin rengi, kıvamı, boyutu ve şekline değişiklikler meydana getiren enfeksiyonel bir hastalıktır. Gingivitiste iltihabi yanıt sadece dişeti dokusuyla sınırlıdır ve mikrobiyal dental plağın uzaklaştırılmasıyla geri dönebilmektedir (Kinane, 2001).

Periodontitis ise dişin destekleyici dokularında geri dönüşümü mümkün olmayan hasar, klinik ataşman kaybı, alveol kemik yıkımı ile karakterize kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Multifaktöriyel bir hastalık olan periodontitis tedavi edilmemesi durumunda, ilerleyen alveol kemiği kaybı, buna bağlı olarak dişlerde mobilite artışı, dişeti çekilmesi, dişin migrasyonu ve dişin kaybedilmesi ile sonuçlanabilmektedir (Offenbacher, 1996; Flemmig, 1999; Sánchez ve ark., 2004).

Periodontitisin farklı türlerinde klinik ve histopatolojik bulgular ayırıcıdır ve hastalığın ilerleme hızı farklılık göstermektedir. Hastalığın ilerleme hızı mikrobiyal dental plağın mikrobiyal kompozisyonuna, sosyal, çevresel, sistemik, genetik ve diş kaynaklı faktörlere göre de değişmektedir. 1999 yılında gerçekleştirilen Uluslararası Çalıştay'da periodontitis; kronik, agresif, nekrotizan, sistemik hastalıklarla birlikte görülen periodontitis şeklinde sınıflandırılmıştır (Kornman, 1996; Armitage, 1999).

2.1.1. Kronik Periodontitis (KP)

KP, periodontal dokularda lokal etyolojik faktörlerin miktarı ile doğru orantılı olarak ataşman kaybı ve kemik yıkımına sebep olan kronik enflamatuvar bir periodontal hastalıktır (Kinane ve Lindhe 2003; Kinane ve ark., 2008). Diğer periodontitis tiplerine göre daha sık görülmektedir ve daha yavaş ilerleyen bir hastalıktır (Flemmig 1999).

Kronik periodontitiste klinik olarak diştaşı, supragingival ve subgingival plak birikimi söz konusudur. Hastalık dişetinde renk ve kıvam değişimi, sondalamada ya da spontan kanama ile başlamaktadır; tedavi edilmezse patolojik ceplere, radyografik olarak izlenebilen kemik kayıplarına ve hatta diş kayıplarına sebep olabilmektedir (Novak ve Novak., 2006; Hinrichs ve Novak, 2012). KP'in genellikle ağrısız seyretmesi hastaların tedaviye ihtiyaç duymalarını engelleyen en önemli faktördür, bununla birlikte kök yüzeyi açıkta kalan vakalarda hassasiyet, gıda birikimi olan bölgelerde rahatsızlık ve periodontal abse oluşumuna bağlı akut ağrı da olasıdır (Novak ve Novak; 2012).

Kronik periodontitis geniş bir yaş grubunda görülebilmesine rağmen yaşın artışıyla prevalansı artmaktadır; yani yaşa bağlı olmasa bile yaşla ilişkili bir hastalıktır. Bu artışın sebebi periodontal dokuların mikrobiyal dental plağa maruz kaldığı sürenin uzamasıdır. Hastalığın ilerleme hızı da lokal etyolojik faktörlerle ilişkilidir ve ağızda her bölgede eşit oranda ilerleme göstermez, çoğunlukla plak birikiminin olduğu bölgeler daha hızlı ilerleme göstermektedir (Novak ve Novak; 2012).

Periodontal dokuların etkilenme miktarına göre lokalize kronik periodontitis ve generalize kronik periodontitis olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Lokalize kronik periodontitiste ağızda mevcut yüzeylerin %30'undan azında ataşman ve kemik kaybı mevcuttur, generalize kronik periodontitiste ise %30'undan daha fazla ataşman ve kemik kaybı mevcuttur. Hastalığın şiddetine göre yapılan sınıflandırma ise; hafif şiddetli, orta şiddetli ve şiddetli periodontitis şeklindedir (Wolf ve ark., 2007; Hinrichs ve Novak, 2012; Novak ve Novak., 2012).

Şiddete göre yapılan sınıflandırmada görülen klinik özellikler şöyledir;

Hafif şiddetli periodontitiste ; 1-2 mm klinik ataşman kaybı (KAK) vardır, minimal düzeyde furkasyon girişi, sondlamada kanama (SK), supragingival ve subgingival plak ve diştaşı birikimi ve radyografide minimal düzeyde kemik kaybı görülmektedir.

Orta şiddetli periodontitisde; 3-4 mm KAK vardır, dişlerde hafif-orta derecede mobilite mevcuttur, SK , radyografide horizontal kemik kaybı ve furkasyon bölgesinde radyolusent görünüm vardır..

Şiddetli periodontitisde; 5mm ve daha fazla ataşman kaybı vardır, dişlerde artmış mobilite, belirgin furkasyon defektleri, SK, radyografide %40'ın üstünde alveoler kemik kaybı görülmektedir (Flemmig, 1999; Greenstein, 2000; Novak ve Novak, 2012).

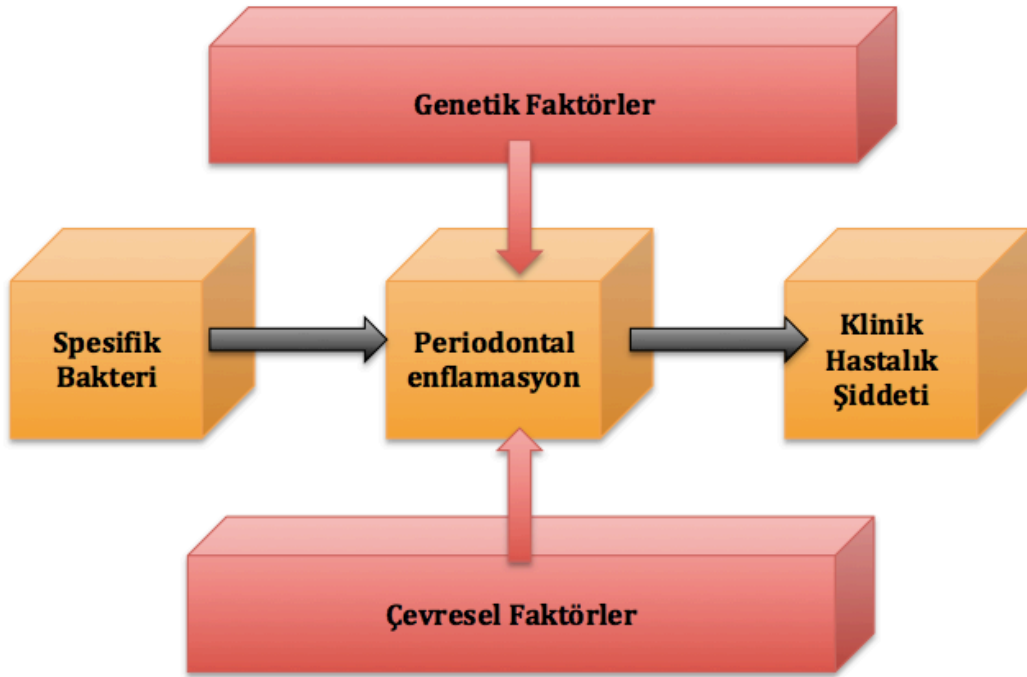
2.1.2. Kronik Periodontitisin Patogenezi

Periodontal hastalıklar; diş yüzeylerine veya dişeti kenarının altına kolonize olan bakterilerin neden olduğu kronik enfeksiyonel hastalıklardır (Socransky ve Haffajee, 2002). Yapılan kültür çalışmaları dental plakta 500'den fazla mikroorganizma olduğunu göstermekte ve KP'nin ilerlemesindeki rolü desteklenen mikroorganizma türleri; *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* ve *Treponema denticola* olarak bilinmektedir (Moore ve Moore, 1994; Pihlstrom ve ark, 2005; Rossa ve Kirkwood, 2012; Teughels ve ark., 2012). Bakteriyel dental plaktaki içerik farklılıklar göstermekte ve hastalıklı subgingival bölgeden alınan plağın mikroskopik incelemesinde, yüksek düzeyde anaerobik (%90) gram negatif (%75) bakteri türlerine rastlanılmıştır (Slots, 1977; 1979).

Periodontitisin karakteristik özelliği doku yıkımıdır. Periodontal yıkımda bakterilerin yanı sıra konağın mikroorganizmalara verdiği yanıt, savunma sisteminde fonksiyon bozukluğu ve/veya zayıflığı, oral hijyen durumu, belirli patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu, yetersiz beslenme, stres ve çeşitli sosyo-ekonomik faktörler de periodontal hastalığın patogenezinde çok önemli bir rol oynamaktadırlar (Genco, 1992; Page ve Kornman, 1997) (Şekil 1). Mikroorganizmalar bağışıklık sistemini tetikleyici özellik gösterirler, Böylece aktive edilen bağışıklık sistemi hücreleri, enzimler, uyarılan sitokinler, diğer öncü enflamatuvar ürünler doku yıkımına sebep olmaktadır ve hastalık ortaya çıkmaktadır (Offenbacher S., 1996; López ve ark., 2002).

Mikrobiyal dental plak üzerindeki mikroorganizmalar salgıladıkları proteolitik enzimlerle konak ekstraselüler matriksini parçalamaktadır (Harrington, 1996; Potempa

ve ark., 2000). Bu esnada oluşan mikroorganizma metabolitleri ve yan ürünler İnterlökin 8 (IL-8), İnterlökin 1 alfa (IL-1 α), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), prostaglandin E₂ (PGE₂) ve matrix metalloproteinazlar (MMP) gibi enflamatuvar mediatörlerin sentezlenmesine sebep olmaktadır (Kornman ve ark, 1997; Bartold ve Narayaman, 2006). Bunu bradikinin ve histamine gibi lokal vazküler reaksiyonu düzenleyen enflamatuvar mediatörlerin üretilmesi ve sonrasında damar geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak mast hücreleri ve kompleman sistemi aktive olmaktadır. Kompleman sistemi elemanları ile bakterilerin kompleks oluşturması bölgeye nötrofil kemotaksisini gerçekleştirmektedir. Monositler bölgeye gelip nötrofillerin yerini makrofajların almasıyla interlökin 1 beta (IL-1 β), interlökin 1 reseptör antagonisti (IL-1ra), interlökin 6 (IL-6), interlökin 10 (IL-10), interlökin 12 (IL-12), TNF- α , PGE₂, MMP'ler ve interferon gama (IFN- γ) gibi enflamatuvar medyatörler üretmektedir.



Şekil 1. Periodontal enflamasyonun oluşumu (Kornman, 2001'den uyarlanmıştır)

Enflamasyonun ileri aşamalarında bağ dokusuna yayılım gösteren olaylar devreye T ve B lenfositlerini sokmaktadır (Yamazaki ve ark., 2003; Berglundh ve Donati, 2005).

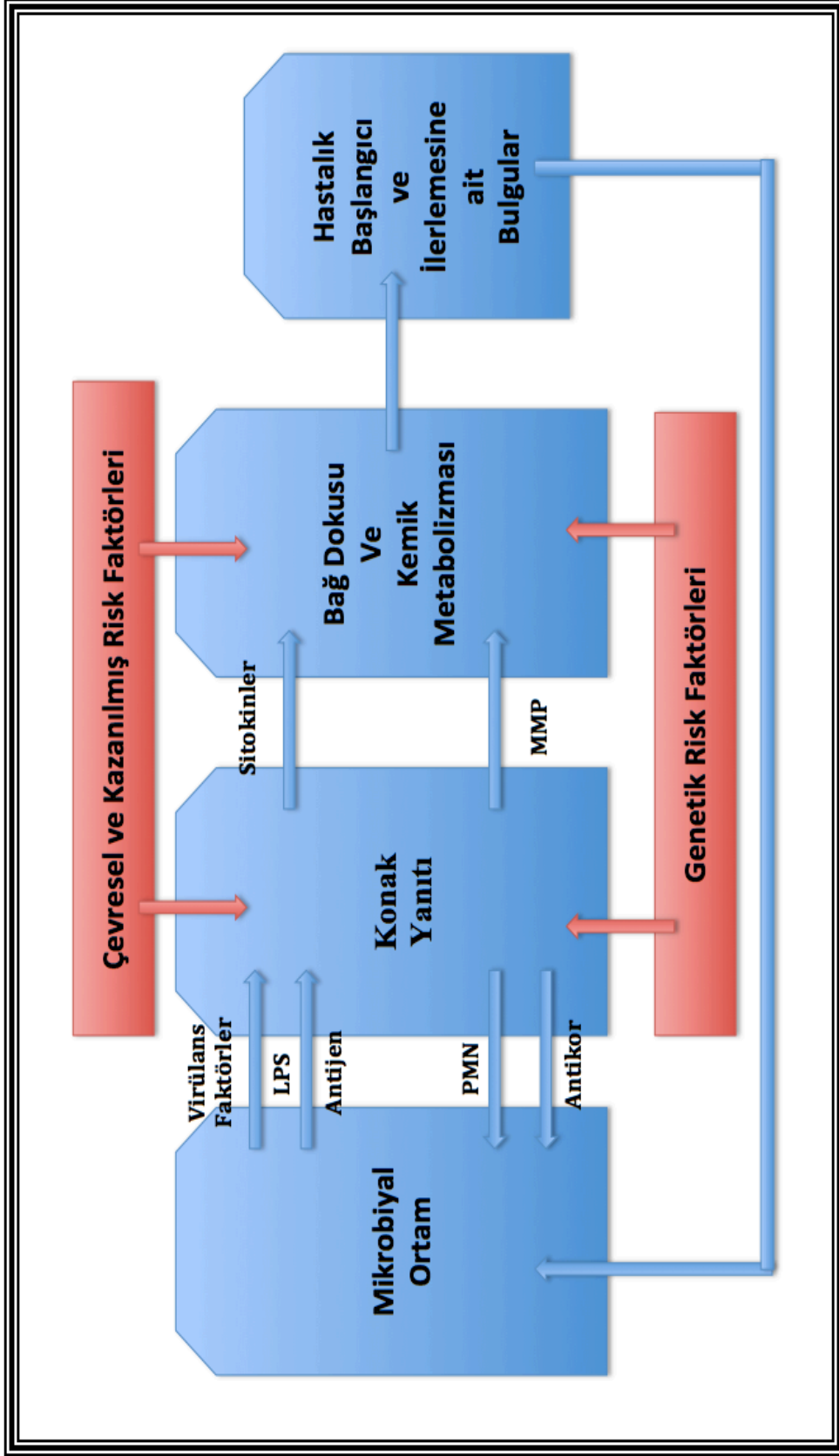
Bu olaylar zinciri epitelin bütünlüğünün bozulmasına ve birleşim epitelin apikale doğru göç ederek periodontal cep oluşumuna sebep olmaktadır ve flora gittikçe anaerobik hale gelmektedir (Kornman ve ark, 1997; Pihlstrom ve ark, 2005).

Konakta mikrobiyal dental plağa karşı gelişen savunma mekanizması ve mikroorganizmalar arası dengenin bozulmasıyla oluşmaktadır. Aslında süreci mikrobiyal faktörler başlatmış olsada yıkıma sebebiyet veren konağın ürettiği enzimlerdir. Dokunun savunma sisteminde yer alan bu sitokin ve enflamatuvar medyatörler de konakta genetik kontrol altında üretilmektedir (Kinane, 2001) (Şekil 2).

Süreçten anlayabileceğimiz gibi subgingival ve supragingival plağın bakteriyel komponentlerini nötralize etmek için dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve tükürkte lizozim, laktoferrin, komplement, bradikinin gibi bazı enzim ve antimikrobiyal faktörler mevcuttur. Bunlardan biri de antimikrobiyal peptitlerdir (Schenkels ve ark., 1995; Darveau ve ark., 1997; Dale ve ark., 2001). Antimikrobiyal peptitlerden biri de β -defensinlerdir. β -defensinler antimikrobiyal etkinliklerinin yanı sıra memory T hücreleri ve immativ dentritik hücrelerinin kemotaksisindeki etkinlikleri ile kazanılmış immün sistemdeki etkinlikleri ile de bilmektedirler (Yang ve ark., 1999). Litaratürlerde β -defensinlerin bazı türlerinin enflamasyon ile değişimini gösteren çalışmalar mevcuttur (Liu ve ark., 1998; Harder ve ark., 2001). KP patogeneğinde, enflamatuvar süreçte β -defensinlerin de etkinliğinin olduğu düşünülmektedir.

2.1.3. Bağışıklık Sisteminin Periodontal Hastalığıdaki Rolü

KP'in diş plağı ve onun mikrobiyal ürünleri ile konakçı arası etkileşim sonrası meydana geldiğini ve bu hastalıkta konakçı koruma mekanizmalarının etkinliğinin fazlaca olduğu bilinmektedir. Bu koruma mekanizmaları dişetin kendi bünyesinden kaynaklanabileceği gibi DOS ve tükürük bezleri gibi çevre dokular tarafından da desteklenmektedir (Curby, 1953; Brandtzaeg ve ark., 1970; Crawford ve ark., 1975). Bağışıklık sistemi bu koruyucu mekanizmaların öncüsüdür, doğuştan ve edinsel bağışıklık olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Froy, 2005).



Şekil 2. Periodontitisin Patogenezi (Page ve Kornman, 1997'dan uyarlanmıştır)

Doğuştan bağışıklık sistemi daha önce karşılaşmadığı patojenlere karşı hızlı ve devamlı koruma sağlamakta aynı zamanda konağın mikroorganizmaları tanınması için gereken reseptörleri, savunma sistemi iletişimde görev alan sinyalizasyon moleküllerini ve mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesini sağlayan efektör molekülleri içermektedir (Froy, 2005; Bevins, 2006). Doğal bağışıklık sistemi bu şekilde vücut savunmasını gerçekleştirerek aynı zamanda etkili bir şekilde kazanılmış bağışıklığın da ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Turvey ve Broide, 2010; Aksoy, 2013). Doğal bağışıklık yanıtında kalıtsal ve korunmuş bir şekilde kodlanan ve konağın mikroorganizmaları tanınmasını sağlayan az miktarda reseptör kullanılmaktadır. Ayrıca bir çok yönden kazanılmış bağışıklıktan farklıdır (Aksoy, 2013) (Tablo 1). Doğal bağışıklık elemanlarının ortak özelliği mikroorganizmaları tanıyıp cevap vermelerine rağmen diğer maddelere karşı reaksiyon oluşturmamaktadırlar. Kazanılmış bağışıklık sisteminde ise mikroorganizmaların dışındaki antijenlere karşı da cevap verme özelliği mevcuttur, ayrıca özgüllük ve antijenle karşılaşma sonrası gelişen bellek özelliği ile doğal bağışıklıktan farklıdır (Abbas, 2007).

Bağışıklık sistemi ve enflamatuvar yanıt gingival dokulardaki enfeksiyonun önlenmesinde aynı zamanda kronik periodontitisin önlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Page, 1991). Aslında enflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalık da mikrobiyal dental plağa karşı konakta oluşan savunma mekanizması ile mevcut mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması ile oluşmaktadır (Kinane, 2001). DOS ve tükürkte de mikrobiyal dental plağa karşı savunma mekanizmasının ürettiği çeşitli enzimler ve antimikrobiyal peptitler bulunmaktadır (Schenkels ve ark., 1995; Darveau ve ark., 1997). Periodontal hastalık mikrobiyal bir hastalık olduğundan antimikrobiyal peptitlerin hastalık oluşumu ve ilerlemesinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında dişeti, DOS ve tükürkte yapılmış bağışıklık sisteminin periodontal hastalıktaki rolünde antimikrobiyal peptitlerin etkinliğini konu alan bir çok çalışma mevcuttur (Brissette ve Lukehart, 2007; Jaradat ve ark. 2013; Ertugrul ve ark., 2014; Dommisch ve ark., 2015; Kumar ve ark., 2015; Yong ve ark., 2015).

Tablo 1: Doğal ve kazanılmış yanıt arasındaki farklar (Aksoy, 2013'den uyarlanmıştır).

	<u>Doğal bağışıklık</u>	<u>Kazanılmış bağışıklık</u>
Hüresel elemanlar	Hemotopoetik hücreler: Makrofaj, Dentritik hücre, Nötrofil, Eazinofil, NK hücre, Mast hücresi Nonhematopoetik hücreler: Epitel hücreleri	Hematopoetik hücreler: T ve B lenfositleri
Humoral elemanlar	Kompleman proteinleri, LPS bağlayıcı protein, C-reaktif protein ve diğer akut faz reaktanları, antimikrobiyal peptidler, mannoz bağlayıcı lektin	B hücrelerin sentezlediği antikorlar
Özgüllük	Mikroorganizmalar tarafından paylaşılan ortak yapılar	Mikrobiyal yapıların yapısal detayı (antijenler) Nonmikrobiyal antijenleri de taniyabilir
Yanıt	Hızlı (dakikalar) Kısa süreli Özgün değil Tekrar karşılaşmada benzer Hafıza yok	Gecikmiş (saatler-günler) Daha uzun süreli Özgün Tekrar karşılaşmada çok daha etkili Hafızası var
Öz olan ve olmayanın ayrımı	Evet Reseptör ligandları konak hücrede bulunmaz	Evet Kendine reaksiyon veren lenfositlerin seçimi, Hatalı olursa otoimmünite gelişir

2.1.4. Beta Defensinler

Antimikrobiyal peptitler doğuştan bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve genlerle kodlanan doğal antibiyotiklerdir (Zasloff, 2002; Bevins, 2006). Antimikrobiyal etkisinin yanı sıra antikanser etki, enflamasyonda etkinlik, yara iyileşmesi, sitokin salınımı, adezyon moleküllerinin salınımı, hemostaz, kemotaksis, mast hücrelerinden histamine salınımı, apoptoz gibi de birçok işlevleri vardır (Oppenheim ve ark., 2003;

De Smet, 2005). Memelilerde en önemli antimikrobiyal peptit gruplarından biri defensinlerdir (Granz, 2003; Froy, 2005).

İnsan defensinleri yapılarındaki sistein rezidülerine ve 3 disülfit bağının bağlantı yerlerine göre α ve β defensin olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (Granz ve Lehrer, 1995; Philpott, 2003; Gursoy ve Könönen, 2012). İnsan defensin genleri 8. kromozomda telomer bölgesine yakın p22-23.1 bölgesinde bulunmaktadır (Liu ve ark., 1997; Liu ve ark. 1998; Fellermann ve Stange, 2001). Mevcut çalışmalar insanlarda altı çeşit α -defensin ve dört çeşit β -defensin olduğunu göstermektedir (Abiko ve ark., 2007; Vardar-Sengul ve ark., 2007; Jin, 2011).

β -defensinler insanlarda epitelial dokularda eksprese edilmektedir; bu dokulardan bazıları dişeti, dil, tükürük bezleri ve ağız mukozasıdır (Mathews ve ark., 1999; Dale ve Fredericks, 2005; Kohlgraf ve ark., 2010). İnsanlarda hBD-1, hBD-2, beta defensin-3 (hBD-3) ve beta defensin-4 (hBD-4) olmak üzere dört çeşit β -defensin mevcudiyetine rağmen ağız boşluğunda hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 eksprese edilmektedir (Dale ve ark., 2001; Vardar-Sengul ve ark., 2007; Gomes ve Fernandes, 2010).

β -defensinlerin insan vücudundaki bazı işlevleri şunlardır;

- Bakteri, fungus, klamidy, zarflı virüslere karşı antimikrobiyal etki,
- T hafıza hücreleri, immature dentritik hücreler ve nötrofillerin kemotaksisi,
- İmmatür dentritik hücrelerin matürasyonu,
- Mast hücre kemotaksisi ve degranülasyonu (Soylu ve Öztürk, 2008).

β -defensinlerden hBD-1 ve hBD-2 esas olarak gram negatif bakterilere karşı mikrobisidal etki göstermektedirler. Gram pozitif bakterilere karşı etkisi daha azdır (De Smet ve Contreas, 2005).

Sağlıklı dokularda mikroorganizma veya ürünleri varlığında hBD-2 artış gösterebilmektedir. Proenflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve tumor nekrozis faktör γ tarafından uyarılan alveolar makrofajlar ve monositler hBD-2 artışını sağlamaktadır (Duits ve ark., 2002; Ertugrul ve ark., 2014).

β -defensinler antibakteriyel ve bağışıklık sistemi düzenleyici özelliklerinin yanı sıra yara iyileşmesinde de katkıda bulunmaktadır. hBD-1 olmasa bile hBD-2 ve hBD-3 keratinosit göçü ve proliferasyonunu arttırmaktadır (Niyonsaba ve ark., 2007).

2.2. Genel Genetik Kavramlar

Genetik, biyolojinin kalıtım ve varyasyonlarla yani çeşitlilikle ilgilenmektedir ve alan olarak hücre, birey bazında ve ayrıca nesil ve organizmaların yaşadıkları popülasyonları konu almaktadır (Klug ve ark., 2006). İnsan genetiği genetik prensiplerin ve metodlarının insanda incelenmesini konu alan; somatik ve fonksiyonel, normal ve patolojik bazı durumların doğuştan mevcudiyeti ayrıca benzerliklerin bir kuşaktan diğer kuşağa geçişini inceleyen bilim dalıdır (Kayahan, 1965).

Gen, kalıtımın işlevsel birimidir ve genetik bilgi depolayan karmaşık bir birimdir. Genlerin organize olması ile uzunca ve genellikle dairesel şekilli Deoksiribonükleik asit (DNA) moleküllerinden kromozomlar oluşmaktadır. Klasik olarak incelendiğinde genetik çeşitliliğin iki kaynağı mevcuttur; bunlar kromozomal mutasyonlar ve gen mutasyonlarıdır. Genin mutasyonları sonrasında oluşan değişik formlarına allel denmektedir. Allel çeşitliliği, toplumların genetik çeşitliliği olarak sayılmakta ve akla polimorfizm ve heterozigotluk kavramlarını getirmektedir. Her gen lokusu (kromozom alanı) bir allelin birbirinin aynı iki kopyasını (homozigot) ya da farklı 2 allelin birer kopyasını (heterozigot) taşımaktadır ve iki ya da daha fazla alternatif genotip varlığı polimorfizm olarak adlandırılmaktadır (Klug ve Cummings, 2000; Loos ve ark., 2005).

En çok görülen polimorfizm tipi DNA üzerinde tek baz çiftinin değişmesi ile meydana gelen SNP'lerdir (Nielsen, 2004). SNP'ler, popülasyonlarda yaygındırlar aynı zamanda etnik ve coğrafik farklılıklar göstermektedirler ve hücre metabolizması için çok önemli olan genlerin kritik pozisyonlarında yer almaktadırlar. Kritik pozisyonlarda mevcut olan polimorfizimler proteinin fonksiyonu ya da enzim aktivitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu durum bazı hastalıklara yol açmakta veya sadece hastalığa riski arttırmaktadır (Deligezer ve ark., 2004).

Periodontal hastalıkta genetiğin etkisi zayıf olsa bile tekrarlayan olumsuz çevresel koşullar sonrası hem hastalık yatkınlığı hem de hastalığın şiddet ve ilerleyişinde genetiğin ve polimorfizimlerin etkisi olduğu düşünülmektedir (Ergüven, 2002).

2.2.1. Hastalıkların Genetik Temelleri

Genetik hastalıklar 'Klasik Mendelyen Hastalıklar' ve 'Kompleks Genetik Hastalıklar' olarak iki gruba ayrılmaktadır. Bir çok hastalığın genetik temeli vardır,

fakat genetik faktörler hastalık üzerinde minimal bir etkiye sahip olabildiği gibi doğrudan doğruya ortaya çıkmasına da sebep olabilmektedirler (Kinane ve ark., 2005; Manolia ve Collins, 2007).

Genellikle tek bir gendeki değişime bağlı olarak basit bir modelle geçiş gösteren klasik mendelyen hastalıklar otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı kalıtım şekli gösterebilmektedir. Sorumlu gen tanımlandığında teşhis için çeşitli testler yapılabilmekte ve hastalığın geçiş olasılığı saptanabilmektedir (Kinane ve ark., 2005).

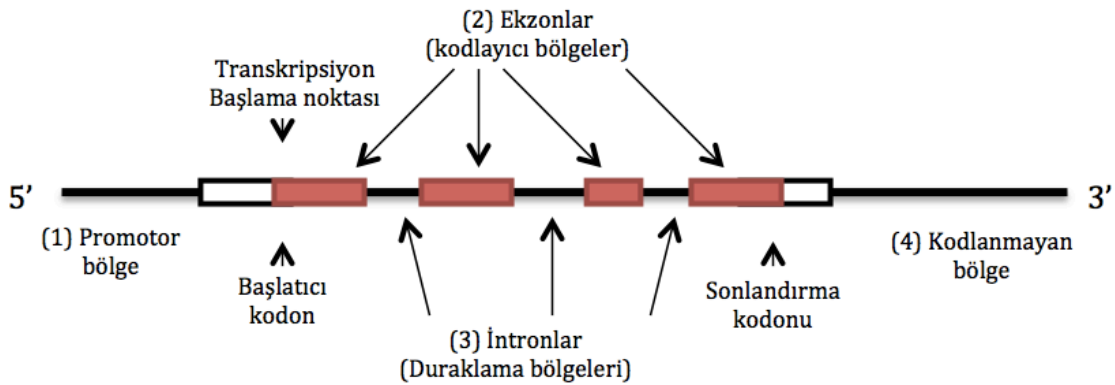
Klasik mendelyan hastalıkların aksine tek bir genin katkısı değil bir çok genin küçük oranlarda toplu şekilde katkısı, çevresel faktörler ve yaşın da etkin olduğu hastalıklara ise kompleks genetik hastalıklar denir. Klasik mendelyen hastalıklara göre toplumda daha yaygın görülen kompleks genetik hastalıklarda yatkınlığa sebep olan genlerin tanımlanması hem gen ilişkileri hem de çevresel faktörlerden dolayı daha zordur (Kinane ve Hart, 2003; Manolia ve Collins, 2007; Manolia ve ark., 2009).

Kompleks hastalıkların temelinde bireyler arasındaki çeşitlilikler yatmaktadır, bazı varyantların kompleks poligenik hastalıklara yatkınlığını arttırdığını ve hastalığı etkileme kapasitesine sahip her bir varyantın hastalık fenotipi üzerine küçük bir etkisinin olduğu varsayılmaktadır. Kompleks hastalıklar, polimorfizm adı verilen genom üzerindeki DNA değişiklikleri ile karakterizedir ve bu durum yaygın hastalık-yaygın DNA değişiklikleri hipotezi ile açıklanmaktadır (Reich ve Lander, 2001; Kinane ve ark., 2005).

Bireyler arasında genom çeşitliliği; nükleotit ilavesi ya da silinmesi, basit sekans tekrarları ve tek bir baz ikilisinin değişimi şeklinde olabilen gen polimorfizmleri ve kopya sayısı farklılığı (CNP) şeklinde olabilmektedir (Takashiba ve Naurishi, 2006; Reich ve Lander, 2001; Jasinska ve ark., 2003; Ottolini ve ark., 2014). SNP'ler penetrasyonları düşük olmalarına rağmen yaygındırlar ve tek başlarına hastalığa yol açmamaktadırlar, bireyler arasındaki hastalık yatkınlığı ve tedaviye verilen cevap üzerinde etkinlikleri mevcuttur. Bu polimorfizmler özellikle kompleks hastalıklarda yatkınlığı etkileyen yaygın varyantların incelenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Kompleks hastalıklarda bireyin hastalıkla ilgili alleli taşıyor olması teşhis için yeterli değildir, hastalıkla ilişkilendirilmiş allellere hastalığın görülmediği bireylerde de raslanabilmektedir (Kinane ve Hart, 2003; Kinane ve ark., 2005).

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar yani mutasyonlar klasik mendelyen hastalıkların ortaya çıkmasında belirleyici rol almaktadır. Mutasyon sebebiyle oluşan fenotip değişiklikleri ve bu durumlarda gözlemlenen hastalık durumu, bu genetik değişimi dengeleyecek faktörlerin bulunmadığını ve mutasyonların hastalık için direk belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Kompleks genetik hastalıklara sebep olan polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanmaktadır. Polimorfizimler toplumdaki genetik çeşitlik tipi ve gen seçeneklerinden doğmaktadır. Polimorfizimlerde hastalık ile ilişkili gen allelleri sağlıklı bireylerde de bulunabilmektedir fakat hasta bireylerde görülme sıklığı daha fazladır. Yani polimorfizim varlığı hastalık varlığı ile doğrudan ilişkilendirilerek teşhis koymak için yeterli değildir. Kompleks hastalıklarda fizyolojik ve biyolojik mekanizmalar dengeleyici unsur görevi görmektedirler, sadece genetik etki söz konusu değildir. Bu durumda polimorfizmin varlığının, klinik açıdan her zaman anlam ifade eden bir etkisinin olmadığı net olarak söylenebilmektedir (Kinane ve Hart, 2003; Kinane ve ark., 2005).

Gen polimorfizimleri, genomik DNA'nın bir popülasyonun normal bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz çifti değişiklikleridir (Deligezer ve ark., 2004). Polimorfizimler; promotor bölge, ekzonlar, intronlar, kodlanmayan bölgenin birinde ya da daha fazla alanında meydana gelebilmektedir (Takashiba ve Naurishi, 2006) (Şekil3).



Şekil 3. İnsan geninin yapısı. (1), (2), (3), (4) polimorfizm görülebilecek bölgeler (Takashiba ve Naurishi, 2006'dan uyarlanmıştır)

2.2.2. Tek Nükleotit Polimorfizimleri (SNP'ler)

SNP'ler genomda belli alandaki tek nükleotidde meydana gelen polimorfizimlerdir ve en sık raslanan polimorfizm türüdür. SNP'lerin %1'i fonksiyonel değişiklik ve insanlar arasında çeşitliliği sağlamaktadır. Bu da 100.000 civarında

polimorfik bölgeye karşılık gelmektedir. Bu SNP'lere genom boyunca; protein kodlayan bölgelerde (ekzonlar) ve ya kodlamayan bölgelerde de (intron ve düzenleyici bölgeler) raslanabilmektedir (Sadee, 1999; Ingelman-Sundberg, 2001; Taylor ve ark., 2004).

SNP'ler ; tanı ver risk profillenmesinde, aday gen tayini ve haritalamada, polimorfizm testlerinde, epidemiyolojik çalışmaların planlamasında ve birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Popülasyonlardaki genetik farklılıklar SNP'lerin de rolü ile hastalık duyarlılığı üzerinde etkilidirler. Bu genetik farklılıkların hastalığa duyarlılıkta, hastalığa karşı dirençte ve hastalık prognozu üzerindeki rolleri büyüktür. Yapılan çalışmalarla hasta bireyler ve sağlıklı bireyler üzerindeki gen farklılıkları araştırılarak, hastalıklardaki mevcut SNP profilleri analiz edilmeye çalışılmıştır. Hangi varyant allellerinin hastalıkla yakın ilişkili olduğu belirlenmiş aynı zamanda da SNP'lerin ilaç metabolizmasında rol alan enzimlerin fonksiyonlarını değiştirdiği düşünüldüğü için hastaların genotiplerine uygun ilaç kullanımı üzerine de yoğunlaşmıştır.

SNPlerin tespiti için birçok yöntem kullanılabilir, günümüzde en yaygın yöntem olarak 'polimeraz zincir reaksiyonu' (PCR) yöntemi kullanılmaktadır. Hassas bir teknik olan PCR diğer yöntemlere göre daha kısa sürede ilgilenilen DNA bölgesini DNA polimeraz enzimi yardımı ile birkaç milyon kopya haline getirebilmektedir (Nussbaum ve ark., 2005).

Bu güne kadar kullanılan genetik analiz metodları şunlardır:

- a) Ailesel geçiş (soyaçekim)
- b) İkiz çalışmaları
- c) Segregasyon analizleri
- d) Bağlantı analizleri
- e) İlişkilendirme çalışmaları

2.3.Genetik Analiz Yöntemleri

Genler, periodontal hastalık devamlılığında ve yatkınlığında anlaşılır net bir biçimde rol oynamaktadırlar (Hart, 1994; 1996). Genetikçiler, hastalıkların genetik temellerini göstermek için genel içerikli ya da belli hastalıkla bağlantılı genetik varyantların tanımlanmasına olanak sağlayan çeşitli yöntemler uygulanmaktadır (Kinane ve ark., 2005).

2.3.1.Ailesel Geçiş

Aynı karakter ve ya özelliğin birden fazla aile üyesinde olması durumudur ve incelendiğinde hastalıklarda ailesel genetik etiyojolojiyi göstermek mümkündür. Fakat ailelerde diyet ve beslenme, çeşitli zararlı maddelere birlikte maruz kalma, aktif ya da pasif olarak sigara kullanımı gibi bir çok yaygın durum birlikte paylaşılmaktadır. Bazı enfeksiyonla ilişkili ajanlar bazı ailelerde yaygın bulunabilmektedir. Dolayısıyla ailesel geçiş aslında ortak genler, ortak çevresel koşullar ve benzer sosyoekonomik durumlar sebebiyle olabilmektedir (Boughman ve ark., 1988; Hassell ve Harris, 1995; Hart ve Kornman, 1997).

Ailesel geçişi göstermek için bir çok hastalık ve özellik başına ailesel, ailevi veya famiyal sıfatı eklenerek ötekilerden ayrılmak istenmiştir.

Aile araştırmalarında üç amaç vardır. Bunlar; mevcut durum ve hastalığın teşhis ve tedavisi ile ilgili gerekli genetik öğütlerin verilmesi, etki edebilecek çevresel etkenlerin ortaya çıkarılması, elde edilen bulgulara göre daha ileri veya özel araştırmalara başlanmasıdır (Şaylı, 1981).

Ailesel geçiş yöntemi tek başına iki değişkeni ayırmaya yetmemektedir. Bunun sebebi seyrek gözükten hastalık ve durumlarda ailesel geçiş düşüncesi kalıtsal etkileri daha kuvvetli bir şekilde akla getirirken, toplumda gözükme konsantrasyonu yüksek, sık raslanan hastalık veya durumlarda aile içi geçiş varlığı ancak kuşku uyandırmaktadır (Şaylı, 1981).

Periodontitisteki ailesel geçişle ilgili bir çok klinik rapor bulunmaktadır fakat yakın zamana kadar bu raporların takibi eksik bir şekilde yapılmıştır ve bunları karşılaştırabilmek zordur (Kinane ve ark., 2005).

Periodontal terminoloji yıllar boyunca birçok kez değişim göstermesine rağmen erken yerleşimli periodontitisin yaygın ailesel formları şuanda agresif periodontitis (AgP) olarak adlandırılmaktadır. Periodontitisin kronik formları ise ailesel geçiş bakımından daha düşük frekanslar göstermektedir fakat aile incelendiğinde genetik yatkınlık ile tutarlı sonuçlar elde edilmektedir. Daha önceden de söylediğimiz gibi aynı ailede eğitim, sosyoekonomik durum, beslenme ve diyet, zararlılara maruz kalma, sigara içiciliği, aynı çevresel faktörler, benzer oral hijyen alışkanlıkları nedeniyle hastalık durumuna genetik harici başka faktörlerde birlikte etki edebilmektedir. Dolayısıyla genler ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimi tam olarak

ölçmek zordur, fakat yine de periodontal hastalıktaki riskler göz önüne alındığında ailesel geçişin önemi kaçınılmaz ve muhtemeldir (Kinane ve ark., 2005).

2.3.2. İkiz Çalışmaları

Özellikle tek bir yumurtanın döllenmesi ile oluşan tek yumurta ikizleri genetik olarak birbirlerinin eşi olması sebebiyle; genetik yatkınlığın etkisini, kalıtımda çevrenin etkisini ve gen dağılımının incelenmesi açısından kıymetlidir. Çift yumurta ikizlerinde genlerin sadece yarısı ortaktır. Tek yumurta ikizlerinde tamamen ortak genler bulunduğu için hastalık durumundaki farklılıklar sadece çevresel faktörlerden kaynaklı meydana gelmekte; çift yumurta ikizlerinde hem çevresel hem de genetik faktörler rol oynamaktadır (Hodge ve Michalowicz, 2001).

Genetik çalışmalarında, ikizlerin inceleme metodlarının değeri, ilk defa Francis Galton tarafından açıklanmış ve böylece ikizler arasında saptanabilecek farklılıklardan dolayı genotipik oluşum üzerinde bir fikir edinebileceği düşünülmüştür (Tezok, 1977).

Tek yumurta ikizleri tam veya tama yakın benzerlik gösterdiği bilinmektedir. Bu durum ilgilenilen karakterin genetik etkenler tarafından yaratıldığını kuvvetle belgelemektedir. Bu saptanırken tabiki de çevresel koşullar da dikkate alınmalıdır, çünkü mevcut fark veya farkların bazılarında çevresel koşullar sorumlu olabilmektedir. O yüzden tek yumurta ikizlerinin benzerliği aynı cinsiyetten çift yumurta ikizlerinin benzerliği ile ve sonra beraber yetiştirilmiş tek yumurta ikizlerinin benzerliği ayrı yetiştirilmiş tek yumurta ikizlerinininkiyle karşılaştırılmaktadır. Basitçe, eğer bir nitelik kalıtsal ise o nitelik bakımından tek yumurta ikizleri arasında hiç fark bulunmaz veya pek az bulunurken çift yumurta ikizleri arasında önemli farklılıklar gözlenmektedir (Şaylı, 1981).

64 tek yumurta ve 53 çift yumurta ikizi ile yapılan çalışmada KP ile genetik ilişkisi incelenmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonrasında tek yumurta ikizlerinde hastalık durumu ile ilgili değerlerin birbirlerine daha yakın olduğu gözlenmiştir. Hastalık şiddeti ve yaygınlığı üzerinde genetik farklılıkların ilişkisindeki önemi vurgulayıp ve hastalık gelişiminde kalıtımın %50 oranında etkin olduğunu ifade etmişlerdir (Michalowicz ve ark., 2000).

İkiz çalışmaları periodontal hastalığın yalnızca mikrobiyolojik veya çevresel etkenler sebebiyle değil genetik yatkınlık sebebiyle de oluştuğunu kanıtlamaktadır.

2.3.3. Segresyon Analizleri

Elston ve Stewart tarafından 1971 yılında ortaya koyulan bir yöntem olan segregasyon analizi insanlarda tek lokus aktarım olasılıklarının Mendel beklenenleriyle uyumunun test edilmesidir. Daha sonra Morton ve MacLean tarafından 1974 yılında major lokusun yanı sıra çevresel etkiler ve poligenik unsurların da kapsandığı yeni bir görüş olarak ortaya konmuştur (Cemal ve Karaca, 2006).

Bu yöntemin amacı ailesel geçişin hangi kalıtım modeline göre gerçekleştiğini belirlemektir. Kalıtımda genetik modelleri karşılaştırıldığında kalıtım türü, kalıtımın penetransı, hastalık ile ilişkili veya ilişkili olmayan allel frekanslarının değişik modellerdeki genetik karakteristiği, fenokopi oranları incelenmektedir. Kalıtım türünde; otozomal, resesif, kompleks, multilokus ya da raslantısal çevresel olup olmadığını tespit etmeye çalışmaktadır (Kinane ve Hart, 2003).

Segresyon analizi ile genetik ve çevresel etkileri içeren verilerin farklı genetik modeller altındaki olabilirliklerini karşılaştırmaktadır. Major gen belirleme amacıyla olabilirliklere bakarak, poligenik unsurlar ile major genin etkisini birlikte ele alan kombine model altında maksimum olabilirlikleri birlikte karşılaştırmaktadır (Cemal ve Karaca, 2006).

Segresyon analizlerindeki varsayımlar bazen hatalı olabilmektedir ve bu durum elde edilen sonuçları etkilemektedir. Yani bu analizler sınırlıdır ve her zaman doğru model tespit edememektedir, aslında amacı kalıttan sorumlu geni bulmaktan ziyade alternatif modeller arasından kalıtım karakteristiğini en doğru şekilde tanımlayan türü tespit etmektedir (Kinane ve Hart, 2003).

Çeşitli segregasyon analizleri periodontal hastalıkların genetik incelemesinde de yapılmıştır. Bunlardan birinde belirli avrupa topluluklarında AgP'nin, major bir gen lokusundan düşük penetransla otozomal resesif kalıtım gösterdiği ortaya konulmuştur (Saxén ve Nevanlinna, 1984). Yapılan bazı çalışmalardan elde edilen sonuçlarda bayanların daha çok etkilendiğinin gözlenmesi sebebiyle hatalı bir sonuç olan X'e bağlı kalıtım gösterdiğini destekleyen sonuçlar bulunmuştur (Hart ve ark., 1992). Yine Marazita ve ark. (1994) yaptıkları çalışma sonrasında agresif periodontitisin otozomal dominant özellik gösterdiği bildirilmiştir. Çalışma modellerinde kadın sayısının fazla olması sebebiyle X'e bağlı kalıtım modelinin geçerli olmayacağı ifade edilmiştir.

Araştırmalardan bazılarında otozomal dominant kalıtım (Boughman ve ark., 1992; Marazita ve ark., 1994) bazıları otozomal resesif kalıtımla (Saxen,1980; Beaty ve ark., 1987; Long ve ark., 1987) ilişkilendirilmiş sonuçlar bulmuşlardır. Yine ırklar arası değişen sonuçlar elde eden çalışmalar da mevcuttur fakat tüm ailelerdeki genetik geçişi izah edebilecek bir model belirtilememiş ve genetik heterojeniteye sahip kompleks bir hastalık olduğuna karar verilmiştir.

Yapılan alışmalar, klinik ve laboratuvar sonuçları periodontal hastalıkta genetik heterojenitenin varlığına işaret etmektedir fakat olayın genetik temeli tam olarak anlaşıldığında, farklı genlerde mevcut mutasyonların klinik olarak nasıl benzer sonuçlar yarattığı anlaşılabilecektir (Hart ve ark., 1993).

2.3.4. Bağlantı Analizleri

Bağlantı analizleri, kalıtım üzerinde önemli etkisi olan bir genin kromozom üzerindeki yerinin tespiti için kullanılan bir yöntemdir. Aynı kromozom üzerindeki yakın lokasyonda bulunan genetik lokusların ve/veya allellerin bağlantılı oldukları ve birlikte geçiş eğilimi taşıdıkları söylenmektedir ve bu durum Mendel kanunundaki bağımsız ayırım ilkesinin ihlali anlamına gelmektedir (Hart ve Kornman, 1997). Aynı kromozom üzerinde bulunan bu genlere bağlı gen; bu genlerin oluşturmuş olduğu gruba bağlantı grubu ve bu olaya da bağlantı denilmektedir (Erensayın, 2000). Bu bağımsız ayırım ilkesi ihlalini tespit edecek çeşitli analizlerle genlerin yerleri genetikçiler tarafından belirlenebilmektedir. Daha önceleri hücre yüzey antijenlerini kodlayan genler belirleyici olarak kullanılırken, ‘insan genom projesi’nin uygulanmaya konmasının ardından PCR yöntemi ile kısa bir vakitte belirlenen polimorfizimler belirleyici olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bağlantı analizleri genlerin haritalanmasına olanak sağlamaktadır.

Genetik haritalama ile genlerin ve markırların kromozomlar üzerinde bulunduğu yerler ve aynı zamanda birbirlerine olan uzaklıkların tespit edilmektedir. Crossing-over olayından yararlanarak, bağlı genlerin dizilişi ve aralarındaki uzaklıkların bulunması sonucu genetik bağlantı haritaları oluşturulmaktadır. Sonuç olarak varılan kanı bir kromozom üzerinde bulunan genler birbirlerine ne kadar yakın ise aralarında crossing-over olma olasılığı o kadar azalırken; iki gen arasındaki mesafe arttıķa iki gen arasında crossing-over olma olasılığı da artmasıdır (Passarge, 2000).

Genetik bağlantı analizleri en yaygın olarak gen haritalarının oluşturulmasında, özellikle, ekonomik öneme sahip özelliklerin ve hastalıklara sebep olan gen bölgelerinin belirlenmesi hedeflenen genom tarama çalışmalarında kullanılmaktadır (Cockett ve ark., 1999). Ayrıca türler arası karşılaştırmalı genom çalışmalarında da tercih edilmektedir (Gao ve Womack, 1997; Farber ve ark., 2003).

İlk bağlantı gen haritası Alfred Henry Sturtevant tarafında 1913 yılında yapılmasına rağmen, genetik haritalama çalışmaları tüm canlı türlerinde 20. yüzyılın sonlarında yoğunlaşmıştır (Ozşensoy ve Kurar, 2013).

Bilim adamları belli özelliklerin ve hastalıkları ailelerde geçiş gösterdiklerini tanımlamışlardır. Yapılan bağlantı analizleri ile genetik polimorfizmin, bilinen genetik belirleyici ile tutarlı türde segresyon gösterip göstermediği incelenmektedir. Bağlantı analizleri sıklıkla ilgili genin yaklaşık konumunun tespitinde ilk adım olarak da kullanılmaktadır. Klasik mendelyal hastalıklardan tek gendeki bir mutasyon sorumludur ve dolayısıyla bağlantı analizleri ile bu tür hastalıkların genetik temelleri aydınlatılabilmektedir. Kompleks hastalıklarda çok sayıda genin etkisinin birlikte görülmesi nedeniyle bağlantı analizleri başarılı sonuçlar verememektedir. Çok sayıda gen düşük miktarda etki göstermektedir ve bu durum geleneksel bağlantı analizlerinin etkinliğini azaltmaktadır. Böyle durumlarda ilişki çalışmaları devreye girmektedir (Kinane ve Hart, 2003).

Boughman ve ark. (1986) lokalize agresif periodontitisli hastalarda yaptıkları incelemede kalıtımın otozomal dominant türde geçiş yaptığını tespit etmişlerdir. Çalıştıkları grupta Otozomal dominant geçiş yapan tip 3 dentinogenesis imperfekta varlığını tespit etmişler ve bu hastalığa sebep olan genin 4. Kromozom üzerinde yer aldığı önceden bilindiğinden bağlantı analizleri ile bu kromozom üzerine yürümüşlerdir. Yapılan incelemede agresif periodontitis için şüpheli olan lokusun çok yakın bağlantı gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonrası AgP etyolojisindeki major genlerden biri bulunmuştur. Hart ve ark. (1993) 4. Kromozom bağlantısını inceleyerek hastalığın genetik heterojeniteye sahip olduğunu destekler nitelikte sonuçlar elde etmişlerdir. Li ve ark. (2004) lokalize agresif periodontitise sebep olan genin 1q24'te bulunduğu dair kanıtları sunmuşlardır. Carvalho ve ark. (2009) AgP'nin oluşumda her biri küçük bir etkiye sahip olan bit kaç major genin rol oynadığını belirtmişlerdir.

Bağlantı analizleri gelecekte aday gen gibi stratejilerle kompleks hastalıkların haritalanmasında önemli gelişmelere ışık tutacağı düşünülmektedir.

2.3.5. İlişki Çalışmaları

Tek bir gene bağlı olarak gelişmeyen kompleks hastalıklar hem çok sayıda genin hem de çevresel faktörlerin etkinliği ile oluştuğu için geleneksel bağlantı analizleri yetersiz ve zayıf sonuçlar verebilmektedir. Bu geleneksel bağlantı analizlerinde hastalık oluşmasında etkinliği olabileceği düşünülen genin tam tespiti yapılmayabilir veya hastalıkta etkisi düşük bir gen olursa tespit edilmesi zor olabilmektedir. Dolayısıyla ilgili gen modifiye edici veya zayıf etkili ise değerlendirme aşamasında ilişki analizi kullanılmaktadır (Chen ve ark., 2007).

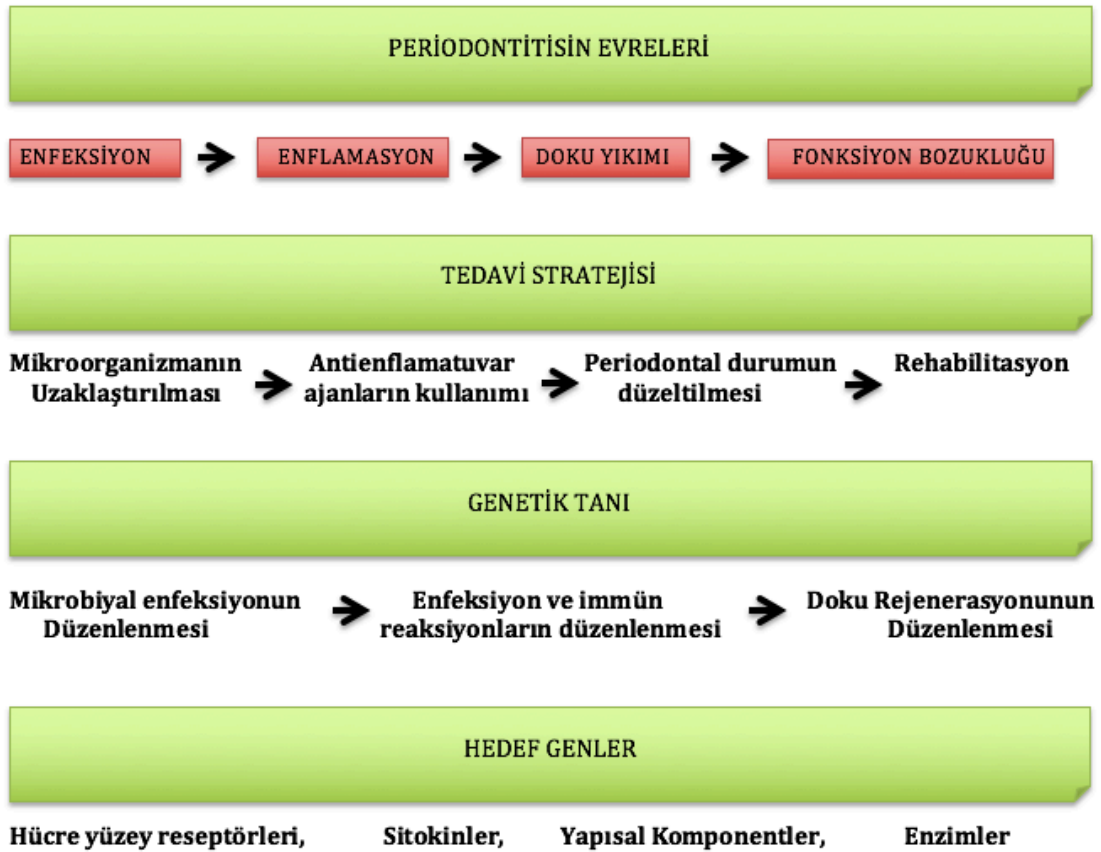
İlişki çalışmalarında toplumu ve/veya aileyi hedef alan çeşitli çalışmalarla uygulanabilmektedir; gen ve hastalık yatkınlığı arasında olası ilişkiler değerlendirilmektedir. Özellikle kompleks hastalıklarda yatkınlıkların ve tek gen polimorfizmi gibi etkenlerin hastalıkla ilişkisinin incelenmesinde olanak sağlaması yönünden önemlidir (Kinane ve ark., 2005).

2.4. Periodontal Hastalık ve Genetik İlişkisi

Periodontal hastalık oluşumunda bir çok faktörün rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır (Beck, 1994; Salvi ve ark., 1997; Hart ve Atkinson, 2007). Daha önceden de belirttiğimiz gibi hastalığın oluşumundan sorumlu birinci etyolojik ajanın mikroorganizmalar olduğu düşünülmektedir fakat çevresel faktörler ve genetik risk faktörleri ile birlikte hastalık oluşumu ve ilerlemesini sağlamaktadır. Bazı bireylerde yatkınlığın olduğu ve riskin çoğunlukla genetik kontrol altında olduğu düşünülmektedir. Aslında hastalığın ortaya çıkışı, genellikle hazırlayıcı çevresel faktörlerin varlığı ile hastalıkta etkinliği olan birkaç genin varlığıyla mümkündür (Kornman, 2001; Shapira ve ark., 2005).

İnsanlarda çeşitli mikrobiyal enfeksiyonlara karşı oluşan bağışıklık sistemi cevabını kontrol eden genetik faktörlerin tanımlanması genetiğin hastalıktaki ve konak cevabındaki önemini arttırmıştır. Son zamanlarda periodontal hastalıklı bireyler üzerinde yapılan çeşitli genetik çalışmaları ve genetik polimorfizmine yönelik araştırmalarda hastalıktaki kalıtımın rolünü desteklemektedir (Offenbacher ve ark., 1993; Kornman ve ark., 1997; Takashiba ve Naruishi, 2006; Zhang ve ark., 2011).

Genetik faktörlerin periodontal hastalık gelişiminde önemli rol oynadığını ifade eden bir çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda periodontal hastalık oluşumu ve ilerleyişinde rolü olabilecek risklerin belirlenmesinde genetik analizler kullanılmakta ve kalıtımın rolü değerlendirilmektedir. Ayrıca hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülen aday genlerin konak cevabı, bağışıklık sistemi üzerinde de etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (Takashiba ve Naruishi, 2006) (Şekil 4). Yani farklı allellerde meydana gelebilecek değişiklikler dokunun yapısında (doğal immünite), antikor yanıtında (kazanılmış immünite) ve enflamatuvar medyatörlerde (non-spesifik enflamasyon) varyasyonlara yol açarak periodontal hastalık durumunda etkinliklerinin gözününe alınması önerilmektedir.



Şekil 4. Genetik tanı, periodontitisin çeşitli evrelerindeki hedef genler ve tedavi stratejileri arasındaki ilişki (Takashiba ve Naruishi, 2006'dan uyarlanmıştır)

Kronik periodontitisteki genetik etkiyi incelemeye yönelik çalışmalardan en popülerleri ikiz çalışmalarıdır. Tek yumurta ikizlerinin aynı genleri taşıdığı, çift yumurta ikizlerinde ise hem genetik hem de çevresel faktörlere bağlı farklılıkların ortaya çıktığı

bilinmektedir. Michalowicz ve ark., 110 çift ikiz üzerinde yaptıkları çalışmalarda çeşitli periodontal klinik ölçümlerde tek yumurta ikizlerinde daha az değişkenlik mevcudiyetini göstermişlerdir (Michalowicz ve ark., 1991a).

Michalowicz'in 1994 yılında ikizler üzerinde yaptığı çalışmada henüz ortaya çıkarılmamış yani bilinmeyen genetik faktörlerin periodontal hastalığın gelişiminde rol oynayabileceği fikrini ortaya atmıştır. Yine Michalowicz ve ark.'nın (2000) ilerleyen yıllarda gerçekleştirdiği başka bir ikiz çalışmasında periodontal hastalıkta genetiğin önemi vurgulanmış, hastalık gelişiminde kalıtımın yaklaşık %50 oranında etkin olduğunu ifade edilmiştir. Bu çalışmada 64 çift tek yumurta ikizi ve 53 çift çift yumurta ikizinin periodontal hastalığa yatkınlıkları incelenmiştir. Yine tüm klinik ölçümlerde tek yumurta ikizlerinin daha benzer özellikler gösterdikleri, periodontal hastalık şiddet ve dağılımı üzerinde yapılan karşılaştırmada da istatistiksel anlamlı sonuçlar tespit edilmiştir (Michalowicz ve ark., 2000).

Agresif periodontitisin genetik etyolojisi üzerindeki çalışmalar da mevcuttur, aslında agresif periodontitis incelendiğinde kronik periodontitisin aksine daha basit bir ailesel geçiş ya da dağılım gözlemlenebilmektedir. Hatta ailesel geçiş üzerine yapılan birçok çalışmada çok güçlü bir şekilde genetik komponent ortaya konulmuş ve diğer çevresel faktörler, risk faktörleri ile birlikte hastalık oluşumunda rolü olduğu belirtilmiştir (Boughman ve ark., 1992). Stabholz ve ark. (1998) lokalize juvenile periodontitis (LJP)'li bireylerde hastalıktan etkilenen bireylerden çoğunun kardeşinin de hastalıktan etkilenmiş olduğu bildirilmiştir.

2.4.1. Periodontal Hastalık ile Gen Polimorfizmi İlişkisi

Periodontal hastalıkların etyolojisinde biricil etken olarak mikrobiyal dental plak rol oynamakla birlikte hazırlayıcı başka faktörlerde hastalık etyolojisi üzerinde etkilidir. Yapılan çalışmalardan bazıları bireysel farklılıklar ile hastalık oluşum süreci ve ilerlemesi üzerinde etkili olan genler de bu grup içerisinde sayılabilmektedir. Aslında konak genetik bilgi birikimi ile bakteriyel yapı arasında karmaşık bir etkileşim olmaktadır ve hastalık duyarlılığının temelleri bu şekilde oluşmaktadır. Mevcut mikrobiyal floranın hastalık oluşumunda ilk aşama olan konak yanıtını uyaracak çeşitli atakları oluşturması fakat bunun her zaman için yıkıcı etkileri oluşturmaması, mikrobiyal plak ile hastalık şiddeti arasında her zaman korelasyon mevcudiyetinin olmaması, her bireyde konağın cevabının farklı olması sonucunda tanı ve tedavide farklı

yollar izlenmesi gerekebilmektedir ve bu durum konak immune yanıtının hastalıktaki önemini vurgulamaktadır (Offenbacher, 1996). Enflamatuvar cevapta etkili role sahip olduğu düşünülen çeşitli sitokinler ve büyüme faktörlerini kodlayan gen polimorfizmleri ile periodontal hastalık ilişkisini inceleyen çalışmalar yapılmıştır ve konak yanıtındaki genetik rolün hastalıkta etkinliği bulunmaya çalışılmıştır. Periodontitisle ilişkilendirilen çeşitli gen polimorfizmleri çalışmalarla desteklenmiştir, bunlar; sitokin gen, fc reseptör gen, metabolizma ile ilişkili gen ve antijenin tanınması ile ilişkili gen üzerinde meydana gelen polimorfizmlerdir.

En çok çalışılan sitokin gen polimorfizmi interlökin-1(IL-1) ve onu takiben TNF- α gen polimorfizmidir. Bunların dışında; IL-2, interlökin-4 (IL-4), interlökin-4 reseptör antagonisti (IL-4ra), interlökin-6(IL-6), interlökin-6 reseptör antagonisti (IL-6ra), interlökin-8(IL-8), interlökin-8 reseptör antagonisti (IL-8ra) ve IL-10 sitokinlerindeki gen polimorfizmleri üzerinde de durulmuştur.

IL-1 hem doku yıkımında önemli rol üstlendiği gösterilen proenflamatuvar bir sitokindir hem de periodontitisteki etkinliğine yönelik en çok çalışma IL-1 polimorfizmi üzerinde yapılmıştır (Hönig ve ark., 1989; Laine ve Loss, 2010). İlk olarak Kornman ve ark. IL-1 geninin periodontal hastalıkla ilişkisini bildiren bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmayı takiben IL-1'le ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Diehl ve ark, 1999; Moreira ve ark, 2007; Lain ve ark., 2001). Takip eden birçok çalışmada spesifik IL-1 gen polimorfizmi ile periodontitis arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Fakat gen polimorfizmi ve çevresel koşulların bir arada oluşu ile hastalık riskinin arttığı gözlemlenmiştir (Meisel ve ark., 2003; 2004).

Tümör nekroz faktör (TNF) periodontitiste enflamatuvar süreçte etkinliği olan bir proenflamatuvar sitokindir. (-1031), (-863), (-857), (-376), (-308) ve (-238) pozisyonlarındaki promotor bölgelerinde ve (+489) pozisyonundaki ilk intron içindeki kodlama bölgesinde çalışılmış. Promotor bölgelerden bazıları ile periodontal hastalık arasında ırklarda değişik gösterecek şekilde pozitif ilişki bulunmuştur (Tervonen ve ark., 2007; Schulz ve ark., 2008).

Bir diğer ilişkilendirme çalışmalarında fc reseptör gen polimorfizmleri üzerinde durulmuştur. Bağışıklık sistemi ve konak cevabında rolü büyük olan fc reseptörleri üzerinde yapılan çalışmalarda farklı ırklarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin japonlarda yapılan bir çalışmada kronik periodontitise duyarlılıkla

ilişkilendirilirken (Sugita ve ark., 2001) başka bir çalışmada ilişkilendirme yapılamamıştır (Kobayashi ve ark., 2007). Aynı şekilde Kafkas ırkında yapılan bir çalışmada kronik periodontitise duyarlılıkla ilişkilendirme yapılırken (Yamamoto ve ark., 2004) yine Kafkas ırkında yapılan başka bir çalışmada tam tersi sonuçlar elde edilmiştir (Wolf ve ark., 2006).

Vitamin D reseptör gen polimorfizmi, kalsitonin reseptör gen polimorfizmi, katepsin C gen polimorfizmi, MMP gen polimorfizmi gibi metaabolizma ilişkili polimorfizmler ve human lökosit antijen gen polimorfizmi, CD14 gen polimorfizmi, N-Formil-L-Methiyonil-Lösil-Fenilalanin reseptör polimorfizmleri gibi antijen tanınması ile ilişkili gen polimorfizmleri ile periodontal hastalıklarla ilişki üzerinde çeşitli çalışmalar da mevcuttur. Bunlar harici periodontal hastalık ile ilişkilendirilen anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), endotelin reseptör 2 (ER2), interferon gamma reseptörü (IFN-GR), myeloperoksidaz (MPO), ileri glikasyon son ürünleri reseptörü (RAGE), transforming büyüme faktörü (TGF) ve osteoprotegerin gibi molekülleri konu alan bir çok polimorfizm çalışması mevcuttur (Hollá ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2011; Doğan ve ark., 2012).

Bu polimorfizm çalışmalarında hastalıktan etkilenmiş bireylerde etkilenmeyen bireylere göre fazlaca gözlemlenen bir gen allelini tanımlamaya yönelik ‘aday gen’ yaklaşımı benimsenmiştir, fakat hastalık oluşumu ve ilerlemesindeki riskin sadece bir genden değil uygun çevresel etkiler ile ancak oluşabileceğini düşündüren daha komplike patojenitelerden şüphelenilmiştir (Doğan ve ark., 2012).

Bir hastalık ve polimorfizm ile ilişkilendirme yapabilmek için şu gereklilikler mevcut olmalıdır:

- Polimorfizm gen ürününü etkilemeli
- Çalışma popülasyonundaki sapmalar tanımlanmalı
- Sigara veya sosyoekonomik faktör gibi çeliştiriciler açısından kontrol yapılmalı
- Etkilenen gen ürünü hastalık etyopatolojisinin bir parçası olmalıdır (Kinane ve ark., 2005).

Yapılan polimorfizm çalışmalarında sadece ırk ve etnik kökene dikkat doğru değildir, bunun yanı sıra vaka ve kontrol gruplarının sayısal olarak büyüklüğü, ilişkiyi netleştirebilecek yeterli birey seçimi, aday genlerin seçimindeki duyarlılık, en yakın

döneme ait yöntem ve teknoloji seçimi ve veri sunumunda genetik etkiyi tam anlamıyla göz önüne serebilecek riskin ifade edilmesi de gereklidir (Doğan ve ark., 2012).

2.5. β -defensinlerin Periodontal Hastalıktaki Rolü

β -defensinler ağız boşluğunda mevcut bakterilere karşı savunmada rol alan doğal bağışıklık sisteminin elamanıdır. Antimikrobiyal, kemotaktik, antienflamatuvar rolleri ile periodontal doku yıkımının başlaması, ilerlemesi ve hastalığın sınırlandırılmasında çeşitli rolleri ve sağlıklı dişeti idamesinde fonksiyonları mevcuttur (Harder ve ark., 1997; Dale ve ark., 2001; Niyonsaba ve ark., 2007; Gursoy ve Könönen, 2012).

Periodontal hastalık patogenezinin daha iyi anlaşılması için yapılan çalışmalarda dişeti dokusunu kaplayan epitelin sadece mekanik bir engel değil aynı zamanda kemokinler ve çeşitli proemflamatuvar sitokinler ve antimikrobiyal peptitler salgılayarak iltihap aracılı yıkım ve hastalık ilerlemesinde önemli rol sahibi oldukları kabul edilmiştir (Gursoy ve Könönen, 2012). Bundan dolayı dişeti epitelinden salınan ve doğal bağışıklık sisteminde etkinliği olan β -defensinlerin de konak savunmasındaki rolleri değerlendirilmiş ve periodontal hastalıktaki yeri anlaşılmaya çalışılmıştır (Gursoy ve Könönen, 2012).

Defensinler aslında bir çok organizmada mevcuttur. İnsan defensinleri üzerine yapılan çalışmalar defensinlerin enfeksiyon gibi biyolojik olaylarda savunucu ve düzenleyici etkileri olduğunu göstermektedir. Bu durum bağışıklık sistemindeki rolleri ile açıklanabilmektedir (Pazgier v ark., 2007).

Gram pozitif bakteri, gram negatif bakteri, mantar, parazitlere karşı birçok antimikrobiyal etkisi çalışmalarla desteklenmiş olan defensinlerin hücre zarı geçirgenliği artırma gibi çeşitli etkilerle de antimikrobiyal etkilerini göstermektedirler. Defensinler mikroorganizma hücre zarı üzerinde gözenekler oluşturarak bakteri hücrelerinden daha küçük moleküllerin zardan dışarı sızmasına sebep olarak sonunda onun ölümünü gerçekleştirmektedir. Fakat bunda bakterilerin özellikleri ve defensin tipi de önemlidir (Wimley ve ark., 1994; Yang ve ark., 2007; Gursoy ve Könönen, 2012).

Ancak β -defensinlere karşı bakteriler de direnç gösterebilmektedirler. β -defensinlerin etkinliğine karşı bakteriler bir kapsül oluşumu ile direnç göstermektedirler, kendi hücre moleküllerini modifiye etmektedirler, biyofilmi şekillendirmekte ve ya defensinlerin bölünmesini sağlamaktadır (Campos ve ark, 2004;

Otto, 2006; Lu ve ark., 2009). Mesela *Porphyromonas gingivalis* hBD-3 azalmasına sebep olduğu bilinen bir periodontal patojendir. Bazı patojenler de defensin ekspresyon yolunu inhibe ederek kendilerini koruma yollarına gitmektedirler. Örneğin *Treponema denticola* TNF- α ve toll-like reseptörü 2 (TLR-2) salınımını baskılayarak hBD-2 ve hBD-3 ün sekresyonunu azaltmaktadır. Defensinlerle mücadele eden bu periodontal patojenlerin etkileri virülansları ile ilişkilidir (Gomes ve Fernandes, 2010; Gursoy ve Könönen, 2012).

β -defensin salınımının ilk aşaması vücutta periodontal patojenin tanınması ile gerçekleşmektedir. hBD-2 ve hBD-3 Ribonükleik asit (RNA) ekspresyonu ve sekresyonu hBD-1 gibi değildir, enfeksiyon veya enflamatuvar cevaba bağımlıdır fakat epitel hücrelerden oluşturulmamaktadır (Pazgier ve ark., 2007; Yang ve ark., 2007; Gomes ve Fernandes, 2010). Yani hBD-1 epitelden sürekli salınırken hBD-2 ve hBD-3 ün salgıları stimülasyon bağımlıdır. Bu uyarıda sadece bakteriler etkili değildir aynı zamanda proenflamatuvar sitokinler de β -defensin salınmasını uyarabilmektedir (Gursoy ve Könönen, 2012).

β -defensinler geniş spektrumlu antibakteriyel peptit olmasına rağmen önemli ölçüde tuz bağımlıdır. Yani belirgin şekilde Na^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} gibi iyonların varlığında kendi maksimum antibakteriyel aktivitelerini gösterebilmektedirler (Bowdish ve ark., 2006).

Periodontal hastalıklarda antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra doğal ve immün yanıtı düzenleyici görevleri mevcut β -defensinlerin sadece immune sistemi devreye sokacak etkileşimler değil aynı zamanda immune sistemi baskılayıcı etkileri de olabilmektedir (Gursoy ve Könönen, 2012).

Daha önce de değindiğimiz gibi ağız boşluğunda hBD 1-3 eksprese edilmektedir (Vardar-Sengul ve ark., 2007; Dale ve ark., 2001; Gomes ve Fernandes, 2010), dişeti dokusunda ise hBD-1 ve hBD-2 sulkuler epitelde mevcutken bağlantı epitelinde mevcut değildir. hBD-3 ise ağırlıklı olarak dişetin bazal tabakasında mevcuttur (Dale ve ark., 2001; Hosokawa ve ark., 2006). Yani yapılan çalışmalar defensinlerin ağız boşluğundaki farklı bölgelerdeki sentezlenmelerinin de farklı olduğunu göstermektedir (Mathews ve ark., 1999; Dale ve ark., 2001) (Tablo 2).

Vücutta hBD-1 salınımı sürekli olarak devam ederken hBD-2 ve hBD-3 bir uyarana karşı eksprese edilmektedir. Oral kavitede ise her üçünün de hem sağlıklı hem

de kronik periodontitiste belli bir seviyede sürekli olarak eksprese edildiği görülmüştür. Bu durum bakteriyel saldırının periodontal dokularda sürekli olması ve defensinlerin bu saldırılara karşı koruyucu rolü ile açıklanabilmektedir (Bissell ve ark., 2004).

Literatürde oral kavitede sağlıklı ve hastalıklı duruma göre defensin çalışmaları yapılmış ve salınımlarındaki değişimler anlaşılmasına çalışılmıştır. Periodontal olarak sağlıklı bireylerin dişeti epitelindeki hBD-2'nin kronik periodontitisli hastaların klinik sağlıklı dokularındaki hBD -2'ye göre daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı bireyin dokularından hBD-1 ve hBD-2 salınım seviyeleri ölçüldüğünde, her iki defensinin cep epitelinde bitişik sağlıklı dişeti epiteline göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Lu ve ark., 2005). hBD salınımının sağlıklı bireylerde görülen yüksek başlangıç seviyesinin kronik periodontitis için koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir. Ek olarak, başka bir çalışma kronik periodontitis veya periimplantitisten etkilenen dişeti dokularında hBD-1 ve hBD-2'nin sağlıklı dişetli dokusuyla kıyaslandığında daha yüksek seviyede bulunduğunu ve hBD-1'in enflame dokularda hBD-2'den daha kuvvetli bir şekilde eksprese edildiğini göstermektedir (Kuula ve ark., 2008).

Tablo 2. Dişetinde hBD-1 ve hBD-2 salınımı özeti OE: Oral epitel, SE: Sulkuler epitel, BE: Birleşim epiteli, PMNler: Bağ dokusu ve Bağlantı epitelindeki Polimorfonükleer Nötrofil, DEH: Dişeti epitel hücresi (Dale ve ark., 2001'den uyarlanmıştır)

Peptit					DHE(uyarılmamış)		DEH(uyarılmış)	
	OE	SE	BE	PMler	mRNA	Protein	mRNA	Protein
HBD-1	+	+	-	-	+	+	+	+
HBD-2	+	+	-	-	-	-	+	+

Yapılan başka bir çalışmada; dişeti dokularından hBD-1 ve hBD-2 salınımı gingivitis, kronik periodontitis ve agresif periodontitisli bireylerde incelenmiştir. hBD-1 ve hBD-2 geni bu gruplardaki hastalarda çeşitlilik göstermiştir. Gingivitisli bireylerden alınan hBD-1 ve hBD-2'nin sağlıklı kontrollerden alınanlardan daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında agresif periodontitisli bireylerde hBD-1 salınımının azaldığı, hBD-2'nin arttığı gözlemlenmektedir. Buna karşılık sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında kronik periodontitisli hastalarda artan hBD-1 gözlemlenmektedir. Bu durum her ne kadar periodontal yıkım ve enfeksiyonu engelleyemese de hBD-1'in koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir

(Vardar-Sengul ve ark., 2007). AgP'deki artmış hBD-2 salınımı ise *Actinobacillus actinomycetemcomitance*'ın bu peptit uyarmasına bağlanmaktadır. Bu organizmanın insan oral keratinositlerinde hBD-2 mRNA salınımı uyardığını invitro olarak gösterilmiştir (Chung ve Dale, 2004).

Hücre kültür çalışmalarında da hBD-1 dokularda mevcutken hBD-2 ve hBD-3 ün enfeksiyon varlığı veya enflamasyon etkisi ile ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca, özellikle çok katmanlı (multilayer) modellerde bakteri inkübasyon zamanı ile hBD-2 ve hBD-3 sekresyonunun korelasyon gösterdiği gözlenmektedir (Gursoy ve Könönen, 2012). Fakat hBD-2 ve hBD-3 sekresyonu invivo ve invitro durumları arasında enfeksiyon kaynaklı karakterde bariz farklılıklar gözlemlenmektedir. Periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarından alınan gingival biyopsi analizlerinde hBD-1, hBD-2, hBD-3 mRNA'ları enflame dokularda daha düşük oranda bulunmuştur. Protein seviyeleri ise, periodontitis vakalarında çeşitlilik göstererek, ya biraz daha fazla ya eşit, ya da bazı durumlarda daha düşük olacak şekilde bulunmuştur. (Lu ve ark, 2004; Kuula ve ark., 2008; Brancatisano ve ark., 2011) Eş zamanlı PCR ile periodontitisli dokulardaki biyopsi örneklerinde ise hBD-2'nin ve hBD-3'un salınımı karşılaştırılabilirken, hBD-2'nin anlamlı bir şekilde hBD-1'den yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Dommisch ve ark., 2005).

β -defensinlerin deneysel gingivitis modellerinde inkübasyon aşamasında düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir (Offenbacher ve ark., 2009).

Yapılan araştırma sonuçlarında periodontitis sırasındaki β -defensin salınımının düşüşü net olarak açıklanamasa da konak kaynaklı enzimler veya genetik polimorfizmlerin etkisi ile olduğu düşünülmektedir (Gursoy ve Könönen, 2012). Bu düşüğe sebep olarak defensinlerin periodontal patojenler ve konak proteolitik enzimleri tarafından farklı şekillerde ortadan kaldırılması gösterilebilir (Brancatisano ve ark., 2011; Gursoy ve Könönen, 2012). Örneğin; *Porphyromonas gingivalis*'in tripsin benzeri proteazları ve gingipainleri hBD-1 hBD-2 ve hBD-3 düşürebilmesi (Kuula ve ark., 2008; Brancatisano ve ark., 2011; Maisetta ve ark., 2011) periodontal patojenlerin etkisini desteklemektedir. Yapılan bazı çalışmalarda invitro koşullarda konak makrofajlarından salınan bazı enzimlerin hBD-2 ve hBD-3 ün düşmesine ve inaktivasyonuna sebep olabileceği (Taggart ve ark., 2003) bulgusu ise konağın bu duruma olası etkisini desteklemektedir (Gursoy ve Könönen, 2012). Defensinlerdeki bu

tutarsız durum periodontal hastalık sürecindeki immün yanıtla bağışıklık sistemi cevabındaki değişiklikler sebebiyle de olabilmektedir (Dunsche ve ark., 2002; Gursoy ve Könönen, 2012). Literatürler ışığında bu duruma sebep olacak olası bir başka sebep ise gen polimorfizmleridir (Rivas-Santiago ve ark., 2009; Brancatisano ve ark., 2011). Yani defensin kodlayan genlerde olabilecek gen polimorfizmlerinin ve mevcut varyasyonların hastalık aktivitesi ve bakteri etkinliği ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Jurevic ve ark., 2003; Tiszlavicz ve ark., 2010).

Tip 1 diabetes mellituslu (DM) hastalarda hBD-1 polimorfizminin fazla sayıdaki *Candida albicans* ilişkilendirildiği (Jurevic ve ark., 2003); hBD polimorfizmi ile çürük arasında bağlantı kurulan (Ozturk ve ark., 2010) çalışmalar bu görüşü destekleyen niteliktedir (Gursoy ve Könönen, 2012).

2.5.1. Periodontal Hastalıklarda β -defensin 2 Gen Polimorfizmleri

Vücut yüzeyi sürekli mikrobiyal saldırıya maruz kalan farklı epitel çeşitleri ile kaplıdır. Bu epitelin görevleri bakteriyel enfeksiyonlar için mekanik ve koruyucu bariyer olarak görev almaktır. Oral mukoza bölgesel varyasyonlarla yüksek geçirgenlik gösteren çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır (Squier, 1991). Normal koşullar altında olmasa bile nötrofiller bakteriyel enfeksiyon durumlarında bu geçirgenlik gösteren ağız epiteline sızmaktadır. Enfeksiyonel durumda nötrofil göçünün yanı sıra bazı biyokimyasal olaylar da başlamakta, örneğin antimikrobiyal peptitlerden β -defensin ailesi de enfeksiyon sürecindeki bazı olayların şekillenmesinde görev almaktadır (Dale ve Krisanaprakornkit, 2001; Dale, 2002; Abiko, 2003).

hBD-2 temel olarak gram negatif bakterilerin ölümünde efektiftir ve *Actinobacillus actinomycetemcomitance* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi gram negatif bakteriler periodontal hastalığa sebep olmaktadır (Harder ve ark. 1997; Papapanou ve Lindhe, 2003; Pazgier ve ark. 2007). Bundan dolayı hBD-2 nin periodontal hastalığa karşı oral epitelde koruyucu rolü mevcuttur. Lüteratürde periodontal sağlık durumuna göre hBD-2 nin salınımının dişeti oluğu sıvısında (Ertugrul ve ark., 2014; Dommisch ve ark., 2015; Kumar ve ark., 2015; Yong ve ark., 2015) ve serumda (Brissette ve Lukehart, 2007; Jaradat ve ark 2013), biyopsi örneklerinde (Dommisch ve ark., 2005; Offenbacher ve ark., 2009) ve kültür çalışmasında (Gursoy ve ark., 2012) değerlendirildiği bir çok çalışma vardır.

Yapılan alışmalar hBD-2 geninin diş etinin enflamasyonunda etkisi olabileceğini göstermektedir. Japonlar üzerinde yapılan bir çalışmada hBD-2 geni üzerindeki -1029 bölgesinde tanımlanan polimorfizmin hBD-2 salınımını etkilediği ve periodontal hastalık gibi gram negative bakterilerin sebep olduğu enflamatuvar hastalıklarda bu bölgedeki polimorfizmin rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (Kusano ve ark., 2005). Bu durum kronik periodontitis varlığında enflamasyonda etkinliği olan hBD-2 nin salınımını etkileyen -1029 (rs3762040) -defensin 2 polimorfizminin kronik periodontitiste aday gen olabileceği düşüncesini akla getirmektedir.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda -defensin 2 rs3762040 promoter polimorfizmi ve çevresindeki bölge değerlendirilip KP ile ilişkisi araştırıldı.

3. MATERYAL VE METOD

Bu tez çalışması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu tarafından onaylandı. Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda ve son basamağı Done Genetik ve Biyoinformatik A.Ş.'nde yürütüldü.

(Ondokuz Mayıs Üniversitesi klinik araştırmalar etik kurulu tarafından 27.03.2014 tarihinde toplanan kuruldan 2014/558 karar nolu etik kurul onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylere araştırmanın amacı ve içeriği anlatılıp gönüllü olarak araştırmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş gönüllü onay formu imzalatıldı.)

3.1. Çalışma grubu

Çalışmamıza, 100 kronik periodontitisli hasta (grup 1) ve kontrol grubu için 100 birey (grup 2) katılımı uygun görüldü. Çalışmaya dahil edilmesi planlanan hastaların seçilmesinde;

-Sistemik olarak sağlıklı,

- Kardiyovaskuler hastalığı olmayan,
- Diyabeti olmayan,
- Kronik böbrek yetmezliği olmayan,
- Hepatit A, B ve C virüsleri taşımayan,
- Kronik antienflamatuvar ilaç kullanmayan,

-Gebelik ya da süt verme döneminde bulunmayan,

-18 yaş üstünde bireyler olmasına dikkat edildi. Bireyler herhangi bir cinsiyet ayrımı ve seçimi yapmadan çalışma ve kontrol gruplarına yerleştirildi.

Kontrol grubu: Yapılan klinik değerlendirmede 18 yaş üstü, 3 milimetre (mm)'den az cep derinliği olan, klinik ataşman kaybı olmayan, radyografik değerlendirmede herhangi bir patoloji ve kemik kaybı olmayan ve herhangi bir periodontal hastalık geçmişi olmayan, sistemik açıdan sağlıklı 100 birey bu gruba dahil edildi (Şekil 5).

Kronik periodontitisli grup: Yapılan klinik değerlendirmede 18 yaş üstü, en az 2 interproksimal bölgede 4mm ve daha fazla cep derinliği olan, sistemik olarak sağlıklı, radyografik olarak lokalize veya generalize periodontal kemik yıkımı gözlenen 100 birey bu gruba dahil edildi (Şekil 6).



Şekil 5. Kontrol grubundan bir hastadan alınan ağız içi görünüm ve röntgen görünümü



Şekil 6. KP grubundan bir hastadan alınan ağız içi görünüm ve röntgen görünümü

3.2. Periodontal Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilecek hastaların ilk olarak herbirinin dental ve sistemik anamnezleri alındı. Periodontal hastalığın teşhisi sırasında mevcut tüm dişler değerlendirilerek hastaların klinik ve radyografik muayenesi yapıldı.

Klinik değerlendirmeler yapılırken; gingival indeks(GI) (Löe-Sillness, 1963), plak indeksi (Sillness-Löe, 1964), sondalamada kanama indeksi (BOP) (Bleeding on Probing-BOP) (Ainamo ve Bay, 1975), sondalama cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), mobilite indeksi ve basitleştirilmiş oral hijyen indeksi (OHİ) (Green ve Vermilion, 1964) kullanıldı.

GI (Löe-Sillness): Periodontal sonda dişin uzun aksına dik olmak kaydıyla yerleştirilip dişeti kenarına temas ettirilerek oluşan kanama ve dişeti yüzey özelliklerine göre tüm dişlerin altı (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere) yüzeyinden ölçüm alındı ve skorlama şu şekilde yapıldı:

0-Normal dişeti

1-Renkte hafif değişiklik, hafif ödem, sonda ile temasta kanama olabilir

2-Eritem, ödem, parlaklık, sonda ile temasta kanama var

3-Belirgin eritem ve ödem, spontan kanamaya eğilim

Plak indeksi (Sillness-Löe): Periodontal sonda dişeti kenarına yakın bölgede diş yüzeyine paralel olacak şekilde dişeti oluşu bölgesinde gezdirildi ve tüm dişlerin altı (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve distı-lingual olmak üzere) yüzeyindeki değerlendirme ile biriken plak şu şekilde skorlandı:

0-Gingival alanda plak yok,

1-Gözle fark edilmeyen ancak sonda sulkusta gezdirildiğinde fark edilen plak varlığı

2-Dişeti bölgesinde inceden orta kalınlığa kadar plak kaplıdır, çıplak gözle izlenebilen plak varlığı

3-Yumuşak eklentinin fazla olduğu ve plağın sulkusu doldurur.

BOP: Periodontal sonda yardımı ile sulkus içerisinde hafifçe gezilerek tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere) ölçüm yapıldı. Bölge 5 saniye (sn.) sonra incelenerek kanama var (+) ya da kanama yok (-) şeklinde değerlendirildi.

SCD: Williams sondu yardımı ile marjinal dişeti kenarı ve sondalanabilen cep tabanı arasındaki mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve distı-lingual olmak üzere) milimetrik olarak ölçüldü.

KAS: Williams sondu yardımı ile mine-sement sınırından sondalanabilir cep tabanına kadar olan mesafe Tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve distı-lingual olmak üzere) milimetrik olarak ile ölçüldü.

Mobilite: İki metal el aletinin arasına alınan diş bukko-lingual yönde hareket ettirilmeye çalışıldı ve mobilite dereceleri şu şekilde değerlendirildi:

Derece0: Fizyolojik hareketlilik

Derece1: Bukkolingual yönde 1mm hareketlilik

Derece2: Bukkolingual yönde gözle rahatlıkla görülebilen 1-2 mm hareketlilik

Derece3: 2mm'yi aşan, dudak ve dil baskısıyla dahi meydana gelebilen hareketlilik, dikey yönde hareketlilik de gözlenebilmektedir.

Basitleştirilmiş OHI: Tüm dişlerin temsilcisi kabul edilen 16, 26, 11, 31, 36, 46 numaralı altı indeks diş üzerinden değerlendirme yapılır. 16-26-11-31 numaralı dişlerin

fasiyal yüzeyleri ile 36-46 numaralı dişlerin lingual yüzeyleri değerlendirilir. Bu dişler hem debris indeksi hesaplamasında hem de diştaşı indeksi hesaplamasında kullanılır ve sonrasında basitleştirilmiş oral hijyen indeksi elde edilir.

Debris Değerlendirme İndeksi şu şekilde skorlandı:

- 0 Debris yok.
- 1 Diş yüzeyinin 1/3'ünden az debris var.
- 2 Diş yüzeyinin 1/3'ünden fazla 2/3'ünden az debris var.
- 3 Diş yüzeyinin 2/3'ünden fazla debris var.

Diştaşı Değerlendirme İndeksi şu şekilde skorlandı:

- 0 Diştaşı yok.
- 1 Diş yüzeyinin 1/3'ünden az diştaşı var.
- 2 Diş yüzeyinin 1/3'ünden fazla, 2/3'ünden az supragingival diştaşı servikalde bölgesel subgingival diştaşı var.
- 3 Diş yüzeyinin 2/3'ünden fazla supragingival diştaşı ve servikalde bant şeklinde supgingival diştaşı var.

Debris indeksi ve diştaşı indeksi elde edilen rakamların toplamının 6'ya bölünmesi ile tespit edilir. OHI ise debris indeksi ve diştaşı indeksi toplamı ile bulunur. Değerlendirmeye göre: 0,0-1,2 arası, klinik olarak iyi. 1,3-3,0 arası, klinik olarak zayıf. 3,1-6,0 arası, klinik olarak kötü (Green and Vermillion, 1964).

3.3. DNA İzolasyonu

Çalışmaya katılan bireylerden alınan venöz kandan Genoks marka izolasyon kiti kullanılarak genomik DNA elde edildi. Kullandığımız kitin protekülüne uygun olarak şu adımlar izlendi:

1. adım: 2.0 mililitre (ml)'lik santrifüj tüpüne 0.5 ml kan örneği konuldu ve ardından 0.8 ml TBP Buffer eklendi. Ardından tüp oda sıcaklığında 1 dakika (dk) kadar vortekslendi. Bu aşamada eritrositlerin parçalanması ile solüsyonumuz homojen kırmızı renk aldı.

2. adım: 2,000 xg'de (4,000 x rpm) 3 dk santrifüj edildi böylelikle süpernatant ayrılmış oldu.

3. adım: Süpernatant ayrıldıktan sonra tekrar 0.8 ml TBP Buffer eklenerek 2,000 xg'de (4,000 x rpm) 3 dk santrifüj edildi yani ikinci adım tekrarlandı. Supernatant ve

pelletin kırmızı renk aldığı örneklerde yine 2. Adım tekrarlandı. Pellet morumsu ise, pellete 200 mikrolitre (μ l) TE Buffer eklendi.

4. adım: Tüpe 0,5 ml TBM Buffer eklendi ve vortekslendi. Ardından 3 μ l Proteinaz K eklenerek 55 $^{\circ}$ C'de 30 dakika inkübe edildi.

5.adım: Katı madde mevcudiyetinde 2 dk 2.500 xg (5,000 rpm) de santrifüj edildi. Süpernatant 2.0 ml'lik başka bir santrifüj tüpüne aktarıldı ve 260 μ l %100'lük etanol eklendi.

6. adım: Karışım,2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirilen kolon filtreye aktarıldı. 8,000 xg (10,000 rpm) de 2 dk santrifüj edildi ve toplama tüpündeki akışkan kısım atıldı.

7.adım: 500 μ l Yıkama solüsyonu eklenerek 8,000 xg (10,000 rpm) de 1 dk santrifüj edildi.

8.adım: Tekrar 500 μ l Yıkama solüsyonu eklenerek 8,000 xg (10,000 rpm) de 1 dk santrifüj edildi.

9.adım: Akışkan kısım atıldı ve 8,000 xg (10,000 rpm) de yıkama solüsyonunun kalıntısından uzaklaştırmak için bir süre daha santrifüj edildi.

10.adım: Kolon 1.5 ml'lik temiz bir ependorf tüpe alındı. 30-50 μ l Elution Buffer kolondaki membranın orta merkezine eklendi ve 2 dakika 50 derece santigrat ($^{\circ}$ C)'de inkübe edildi.

11.adım: 8,000 xg (10,000 rpm) de 1 dk kolondan DNA'yı ayırmak için santrifüj edilir.

12.adım: Spin kolonlar atılarak 1,5 ml'lik tüplerdeki genomik DNA kullanıma hazır olarak elde edildi. İzole edilen genomik DNA'ların moleküler incelemelerde kullanılabilmesi için varlık, miktar ve kalitesinin belirlenmesi gerekmektedir. Hazırlanmış olan DNA'ların Ultraviyole (UV) spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçüldü ve değerlendirmeler yapıldı sonrasında tüplerin kapakları parafinlenerek örneklerimiz -20 $^{\circ}$ C'de muhafaza edildi.

3.4. Primer Dizaynı, PCR Optimizasyonu ve PCR Purifikasyonu

Örneklerde rs3762040 G<A varyasyonunun bulunduğu bölgede varyasyon listesi oluşturulması amaçlandı ve bu amaçla örneklerle uygun primer dizaynı ve PCR optimizasyonları tamamlandıktan sonra elde edilen PCR ürünleri dizilenerek varyasyonun bulunduğu bölgede tarama yapıldı.

PCR işlemi için ilk olarak DEFB2 gen bölgesinde rs3762040 varyasyonuna uygun primer dizaynı yapıldı. Primer dizaynı NCBI Primer Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) ve Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0>) çevrimiçi programları kullanılarak yapıldı.

Bu varyasyona uygun olarak dizayn edilen primer çifti aşağıdaki gibidir.

Primer Adı	Baz dizisi (5'-3')
DEFB2_F1	CCCATGTCTCTGTCCTGCT
DEFB2_R1	GGTCTCCCTGTTGGTGATGG

Primer dizaynları 60 °C primer bağlanma sıcaklığına göre 18-25 baz uzunluğunda olacak şekilde yapıldı.

PCR optimizasyonları için Genedirex Taq Polymerase kiti kullanıldı. Reaksiyonlar 50 ul toplam hacimde kuruldu (Tablo 3).

Tablo 3. Genedirex Taq Polymerase kiti kullanılarak yapılan reaksiyon içeriği

dNTP mix	1 ul
F Primer	1 ul
R Primer	1 ul
10X PCR Buffer	5 ul
TaqDNA	0,25 ul
Polymerase	
DNA	50 ng
ddH2O	41,75 ul'ye kadar
Toplam	50 ul

Tüm optimizasyonlar Biorad T100 Thermal Cycler cihazında reaksiyon şartları doğrultusunda gerçekleştirildi (Tablo 4).

Tablo 4. Biorad T100 Thermal Cycler cihazında kullanılan reaksiyon şartları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü
İlk denatürasyon	94 °C	4 dk	1
Denatürasyon	94 °C	40 sn.	
Bağlanma	60 °C	1 dk	35
Uzama	72 °C	2 dk	
Final Uzama	72 °C	5 dk	1

PCR Purifikasyonları Genedirex PCR Clean-up & Gel Extraction Kit ile gerçekleştirildi. 45 ul PCR ürünü üzerinde 90 ul Buffer B eklendi. Hacmin tamamı kolona yüklenerek 14000 g'de 30 sn. santrifüj yapıldı. Alt tüpte toplanan sıvı atıldı. 400 ul Buffer W1 eklenerek 14000 g'de 30 sn. santrifüj yapıldı. Alt tüpte toplanan sıvı atıldı. 600 ul Buffer W2 eklenerek 14000 g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Alt tüpte toplanan sıvı atıldı. 14000 g'de 2 dakika santrifüj yapıldı. Kolon 1,5 ml eppendorf tüpüne alınarak 50 ul Buffer E eklendi ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 14000 g'de 2 dk santrifüj yapıldıktan sonra purifiye PCR ürünü dizileme aşamasına kadar -20 °C'de bekletildi.

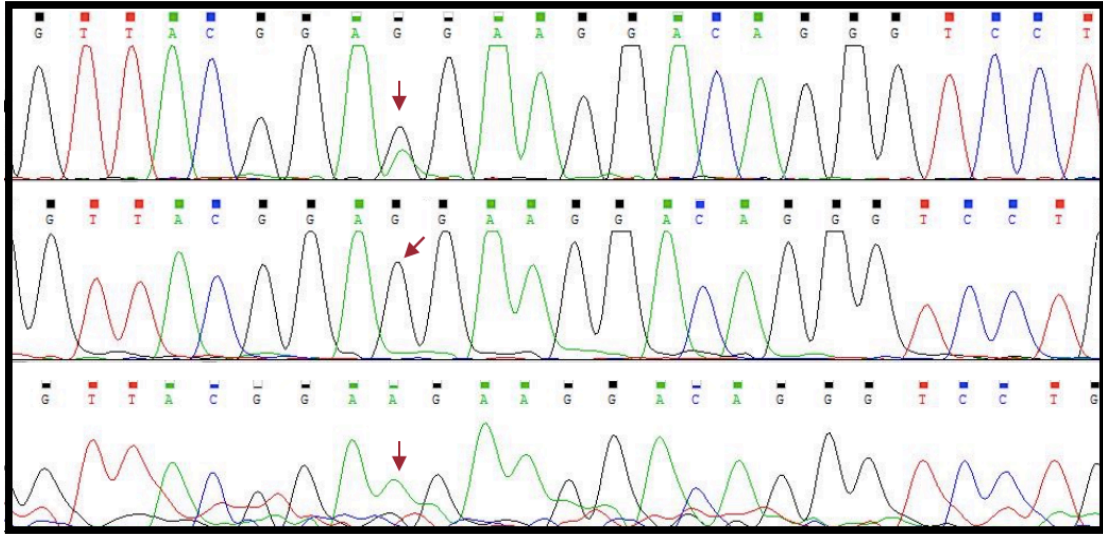
3.5. Sanger Dizileme

Bu işlem ABI prism V1-3100 Big Dye Terminator kit yardımı ile yapıldı. Bu kit, içerisinde sonlandırıcı nükleotitler içermektedir.

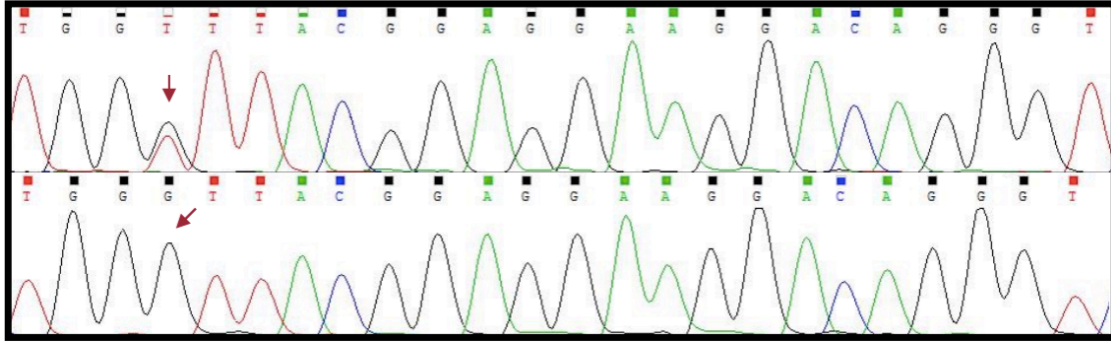
Bu aşamada;

- 8 µl Big Dye PCR tüplerine dağıtıldı.
- Her tüp için 7,5 µl su
- 0.5 µl Forward ve ya Reverse primer kullanıldı.
- 4 µl purifiye PCR ürünü kullanıldı.
- Total volume 20 µl dir.
- Bu PCR mixi cihazının perkin elmer (<pe>) menusun Big Dye Terminator programı ile başlatıldı.

Cycle sequencing aşamasından sonra PCR cihazından çıkarılan örneklerin üzerine 3M 2 µl Na asetat eklendi. Üzerine %95-99 luk -20 °C soğutulmuş etanolden 50 µl eklendi. Bu mix 1,5 ml eppendorf tüplerine alınarak -20 °C 15 dk tutuldu. Bu işlem sonrası tüpler santrifüjde belli bir konuma bakarak 13.000 rpm de 20 dk santrifüj edildi. Santrifüj bittikten sonra tüplerin üzerindeki süpernatant kısmı pelletin olduğu bölgenin tersinden alınarak atıldı ve üzerine +4 °C muhafaza edilen %70 lik etanolden 250 µl eklendi ve 13.000 rpm de beş dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı ve örnekler kurumaya bırakıldı. Kuruma işlemi bittikten sonra her örneğe 22 ul formamid eklendi. ABI 3100 için; plate hazırlandı ve her örnekten 10 ul plate aktarıldı ve 5 dk denatürasyon sonrası plate buzda 2 dk bekletildi. Cihazda belirli yönergeler izlenerek örnekler yürütüldü. Nükleotit dizileri chromas (ver.1,45, <http://www.technelysium.com.au>) softwarci ve FATSA search kullanılarak analiz edildi (Şekil 7,8).



Şekil 7. Beta defensin-2 rs3762040 polimorfizmleri



Şekil 8. Beta defensin-2 rs3762039 polimorfizmleri

3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi

İstatistiksel analizler değerlendirilirken R-3.2.2 programı kullanıldı ve anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumu Ki-kare(χ^2) testi ile değerlendirildi. Allel frekanslarının hesaplanmasında gen sayma metodu kullanıldı, allel frekanslarının kontrol ve çalışma gruplarında karşılaştırılması ise z testi ile yapıldı. Kontrol grubu ve çalışma grubu arasındaki yaş, cep derinliği, plak indeksi, sondalamada kanama gibi nümerik değişken karşılaştırmaları bağımsız grup-t testi ile, kategorik veriler ise ki-kare(χ^2) testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Özellikler

Araştırmamız 100 kontrol ve 100 KP hastası olmak üzere toplam 200 (119 kadın, 81 erkek) birey katılımı ile gerçekleştirildi. Kontrol grubunda 64 kadın ve 36 erkek, KP grubunda ise 55 kadın ve 45 erkek birey mevcuttu. Gruplar arasındaki cinsiyet dağılımları Pearson ki-kare testi (χ^2) ile değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,2492$) (Tablo 5). Kontrol grubumuzdan 12 birey sigara kullanıcısıydı, kronik periodontitis grubundan ise 19 birey sigara kullanıcısıydı. Gruplar arasındaki sigara kullanımları Person ki-kare testi (χ^2) ile değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.2411$) (Tablo 6).

Tablo 5. KP ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımları

Cinsiyet	KP Grubu		Kontrol Grubu		P
	n=100	%	n=100	%	
Kadın	55	55	64	64	0,2492
Erkek	45	45	36	36	
TOPLAM	100		100		

Tablo 6. KP ve kontrol grubu sigara kullanım dağılımları

Sigara	KP Grubu		Kontrol Grubu		P
	n=100		n=100		
Kullanan	19		12		0,2411
Kullanmayan	81		88		
TOPLAM	100		100		

Toplam 200 bireyle başladığımız çalışmanın DNA izolasyonu sonrası sekans dizileme işleminde yaşanan problemler dolayısıyla bazı hastaların değerlendirmesi yapılamadı. Genetik laboratuvar değerlendirmeye alınan 88 kronik periodontitisli hasta ve 97 kontrol grubundaki bireylere ait demografik veriler değerlendirildi.

KP grubunda yaş aralığı 18-62 arasında değişiklik göstermektedir ve yaş ortalaması 41.918 (± 10.563)'dir. Kontrol grubunda ise yaş aralığı 20-63 arasında farklılık göstermektedir ve yaş ortalaması 32.352 (± 10.464)'dir. İki grubun yaş ortalaması bağımsız grup t testi ile test edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$) (Tablo 7).

Tablo 7. KP ve kontrol grubunun yaş dağılımları

	KP Grubu	Kontrol Grubu	p
	n=100	n=100	
Yaş ortalaması	41.918±10.563	32.352±10.464	
Yaş aralığı	18-62	20-63	p< 0,001

4.2. Klinik Periodontal Bulgular

KP ve kontrol grubu bireyelerine ait plak indeksi, gingival indeks, sondalama cep derinliği, klinik ataşman seviyesi ve oral hijyen indeksi bağımsız grup t testi ile test edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ortaya çıktı ($p < 0,001$) (Tablo 8).

PI: Plak indeksi ortalamaları Kronik periodontitis grubunda 1.472 ± 0.375 kontrol grubunda 0.845 ± 0.458 olarak bulundu ($p < 0,001$).

GI: Gingival indeks ortalamaları kronik periodontitis grubunda 1.010 ± 0.200 ve kontrol grubunda 0.653 ± 0.450 olarak bulundu ($p < 0,001$).

SCD: Cep derinliği ortalaması kronik periodontitis grubunda 2.581 ± 0.515 kontrol grubunda 1.583 ± 0.481 olarak bulundu ($p < 0,001$).

KAS: Kronik periodontitis grubunda 2.822 ± 0.549 , kontrol grubunda 1.610 ± 0.459 olarak bulundu ($p < 0,001$).

OHI: Kronik periodontitis grubunda 2.532 ± 0.650 , kontrol grubunda 1.244 ± 0.691 olarak bulundu ($p < 0,001$).

BOP: KP grubunda 0.595 ± 0.232 , kontrol gurubunda 0.405 ± 0.254 olarak bulundu ($p < 0,001$).

Tablo 8. Klinik parametrelerin ortalamaları

Klinik periodontal değerlendirme	Kronik periodontitis grubu n=100 m (SD)	Kontrol grubu n=100 m (SD)	p
PI	1.472 (±0.375)	0.845 (±0.458)	p< 0,001
GI	1.010 (±0.200)	0.653 (±0.450)	p< 0,001
SCD	2.581 (±0.515)	1.583 (±0.481)	p< 0,001
KAS	2.822 (±0.549)	1.610 (±0.459)	p< 0,001
OHI	2.532 (±0.650)	1.244 (±0.691)	p< 0,001
BOP	0.595 (±0.232)	0.405 (±0.254)	p< 0,001

m=ortalama

SD=standart deviasyon

4.3. Laboratuvar Bulguları

Kronik periodontitis ve kontrol grubu β -defensin rs3762040 GG, GA, AA genotip dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,720$). GG dağılımı kontrol grubunda %43,53, KP grubunda ise %44,68; GA genotipi kontrol grubunda %56,47, KP grubunda %54,26; AA genotipi ise sırasıyla %0 ve %1 oranında saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762040 polimorfizmine ait genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotip	KP		Kontrol Grubu	
	n	%	n	%
GG	42	44,68	37	43,53
GA	51	54,26	48	56,47
AA	1	1,06	0	0
TOPLAM	94		85	

Yaş, cinsiyet, sigara durumları düzeltilerek odds ratio (OR)
GG vs GA+AA 0,92(0,48-1,78; p=0,81)
düzeltilmeden OR
GG vs GA+AA 0,90(0,50-1,62; **p=0,720**)

β -defensin rs3762040 G alel sıklığı kronik periodontitis grubunda 0,718 kontrol grubunda 0,718 olarak belirlendi. A alel sıklığı KP grubunda %0,282 kontrol grubunda 0,282 olarak tespit edildi. Çalışma grupları arasında allel frekansları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p=1$) (Tablo 10).

Tablo 10. KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762040 polimorfizmine ait allel frekansları

Allel frekansı	KP	Kontrol Grubu
G	0,718	0,718
A	0,282	0,282
P=1		

Periodontal hastalık patogenezinde mikrobiyal dental plak primer etiyolojik faktör olmakla beraber sigaranın da plağa karşı konak yanıtını değiştiren önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (Kinane ve Radvar, 1997; Tonetti, 1998; Tonetti ve Mombelli, 1999; Kinane, 2001; Meisel ve ark., 2004; Mızrak ve Kaya, 2005). Sigaranın karıştırıcı (confounding) etkisini kontrol altına almak için çalışma gruplarımız sigara kullanımına göre içen ve içmeyen şeklinde tabakalama (stratification) yapılarak değerlendirildi. Sigara içen grup çok az olduğu için burada sadece sigara içmeyen grup için analizler verildi.

Sigara içmeyen Kronik periodontitis ve kontrol grubu β -defensin rs3762040 GG, GA, AA genotip dağılımları arasında değerlendirme yapıldığında da istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,927$). GG dağılımı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %41,67, sigara içmeyen kontrol grubunda ise %44,74; GA genotipi sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %56,94, sigara içmeyen kontrol grubunda %55,26; AA genotipi ise sırasıyla %1 ve %0 oranında saptandı (Tablo 11).

Tablo 11. Sigara içmeyen KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762040 polimorfizmine ait genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotip	KP		Kontrol Grubu	
	n	%	n	%
GG	30	41,67	34	44,74
GA	41	56,94	42	55,26
AA	1	1,39	0	0
TOPLAM	72		76	

Yaş, cinsiyet, sigara durumları düzeltilerek OR
GG vs GA+AA 1,14(0,56-2,31; p=0,725)
düzeltilmeden OR
GG vs GA+AA 0,03(0,54-1,96; p=0,927)

β -defensin rs3762040 G alel sıklığı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda 0,701, sigara içmeyen kontrol grubunda 0,724 olarak belirlendi. A alel sıklığı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %0,299 kontrol grubunda 0,276 olarak tespit edildi (Tablo 12). Yani sigara içmeyen çalışma grupları arasında allel frekansları açısından da istatistiksel olarak bir fark bulunamadı (p=0,662).

Tablo 12. Sigara içmeyen KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762040 polimorfizmine ait allel frekansları

Allel frekansı	KP	Kontrol Grubu
G	0,701	0,724
A	0,299	0,276

P=0,662

Kronik periodontitis grubu ve kontrol grubu β -defensin rs3762039 GG, GT, TT genotip dağılımları açısından değerlendirildiğinde ise sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,002). GG dağılımı kontrol grubunda %56,82, KP grubunda ise %78,35; GT genotipi kontrol grubunda %43,18, KP grubunda %21,65; TT genotipi ise sırasıyla %0 ve %0 oranında saptandı (Tablo 13).

Tablo 13. KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs376239 polimorfizmine ait genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotip	KP		Kontrol Grubu	
	n	%	n	%
GG	76	78,35	50	56,82
GT	21	21,65	38	43,18
TT	0	0	0	0
TOPLAM	97		88	

Yaş, cinsiyet, sigara durumları düzeltilerek OR

GG vs GT+TT 0,35(0,17-0,72; p=0,004)

düzeltilmeden

GG vs GT+TT 0,36(0,19-0,69; p=0,002)

β -defensin rs3762039 G alel sıklığı kronik periodontitis grubunda 0,892 kontrol grubunda ise 0,784 olarak belirlendi. T alel sıklığı KP grubunda %0,108 kontrol grubunda ise 0,216 olarak tespit edildi (Tablo 14). Çalışma grupları allel frekansları açısından değerlendirildiğinde de sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,005).

Tablo 14. KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762039 polimorfizmine ait allel frekansları

Allel frekansı	KP	Kontrol Grubu
G	0,892	0,784
T	0,108	0,216

P=0,005

Sigara içmeyen kronik periodontitis ve kontrol grubu β -defensin rs3762039 GG, GT, TT genotip dağılımları açısından değerlendirildiğinde ise yine sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,005). GG dağılımı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %76,92, sigara içmeyen kontrol grubunda ise %55,26; GT genotipi sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %23,08, sigara içmeyen kontrol grubunda %44,74; TT genotipi ise sırasıyla %0 ve %0 oranında saptandı (Tablo 15).

Tablo 15. Sigara içmeyen KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762039 polimorfizmine ait genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotip	KP		Kontrol Grubu	
	n	%	n	%
GG	60	76,92	42	55,26
GT	18	23,08	34	44,74
TT	0	0	0	0
TOPLAM	78		76	

Yaş, cinsiyet, sigara durumları düzeltilerek OR	GG vs GA+AA	0,34(0,16-0,73; p=0,006)
düzeltilmeden OR	GG vs GT+TT	0,37(0,19-0,74; p=0,005)

β -defensin rs3762039 G alel sıklığı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda 0,885; sigara içmeyen kontrol grubunda 0,776 olarak belirlendi. T alel sıklığı sigara içmeyen kronik periodontitis grubunda %0,115 kontrol grubunda 0,224 olarak tespit edildi (Tablo 16). Çalışma grupları allel frekansları açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P=0,011).

Tablo 16. Sigara içmeyen KP ve kontrol grubunda β -defensin geni rs3762039 polimorfizmine ait allel frekansları

Allel frekansı	KP	Kontrol Grubu
G	0,885	0,776
T	0,115	0,224

P=0,011

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda β -defensin rs3762040 ve rs3762039 gen polimorfizmi varlığının KP ile ilişkisi, kronik periodontal hastalığa yatkınlıktaki rolü incelendi. Bildiğimiz kadarıyla bizim çalışmamız bunu değerlendiren ilk çalışmadır. Ayrıca literatürde ele aldığımız bu polimorfizm bölgeleri ile KP arasında ilişkilendirme daha önce hiç yapılmamıştır. Sonuç olarak; çalışmamız β -defensin rs3762040 promoter bölgesi gen polimorfizminin KP ile ilişkili olmadığını ancak β -defensin rs3762039 gen polimorfizminin KP ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Periodontal hastalıklar dışın destek dokularını etkileyen; mikrobiyal dental plak varlığında konakçının enflamatuvar ve immünolojik değişimler ile doku ve kemik tahribatına sebep olan hastalıklardır. Hastalığın meydana gelmesinde patojenik bakteri mevcudiyeti tek başına yeterli değildir; konak faktörleri, uygun çevresel faktörler ve genetik yatkınlığın etkisi de vardır (Nares, 2003; Zhang ve ark., 2011; Preshaw, 2012).

Genetik faktörlerin periodontal hastalıkta enflamatuvar ve immün yanıtta etkinliği, hem periodontitise yatkınlık hem de hastalığın ilerlemesinde belirleyici olduğu yapılan insan ve hayvan çalışmalarıyla desteklenmektedir. Bu çalışmalar doğrultusunda genler açık olarak periodontal hastalıkta rol sahibidir (Sofaer, 1990; Hart, 1994; Michalowicz, 1994; Hassell ve Harris, 1995; Hart, 1996; Hodge ve Michalowicz, 2001; Kinane ve ark., 2005). Özellikle ikiz çalışmaları periodontal hastalıkta klinik ve radyografik değerlendirmede elde edilen değişikliklerin önemli bir bölümünün genetikle açıklanabildiğini göstermiştir (Michalowicz ve ark, 1991a; 1991b; Corey ve ark., 1993). Çalışmamızın amacı; literatürdeki bir çok çalışma gibi periodontal hastalığın genetik temellerini ortaya çıkarmak, β -defensin gen polimorfizminin kronik periodontitis ile ilişkisinin incelemek, genotip-fenotip ilişkisini ortaya koymak ve polimorfizmin periodontal hastalığa yatkınlıktaki rolünü değerlendirmektir.

Genetik yatkınlıkta etkinliği olduğu düşünülen gen polimorfizmleri, genomik DNA'nın bir popülasyonun normal bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz-çifti değişiklikleridir. Polimorfizm ve hastalık arasında ilişkinin belirlenmesinin potansiyel sonuçları olarak bu konu hakkındaki raporlar günden güne artmaktadır (Schenkein, 2002). Periodontal hastalık mikrobiyal dental plağın sebep olduğu enfeksiyöz bir hastalıktır. Dolayısıyla hastalığın patogeneğinde immün cevapta etkinliği olan, hastalık şiddeti ve ilerlemesinde klinik olarak anlamlı görülen faktörlerin ve aynı zamanda

bunlardaki varyasyonların rolü olabilmektedir. Gerçekten de bugüne kadar yapılan pek çok çalışmada konak cevabında etkinliği olan proteinleri kodlayan genler üzerine yoğunlaşmıştır (Greenstein ve Hart, 2002; Kinane ve ark., 2005). Bunlardan bazıları; IL-1, IL-6, TNF, IL-10, E-selectins, Fc-gamma reseptörü, CD14, TLR, caspase recruitment domain 15 ve vitamin D reseptörüdür (Stabholz ve ark., 2010).

Defensinler doğal bağışıklığın bir parçasıdır. Oral kavite ve diğer mukozalar için önemli rolü olduğu, salınımındaki kusurlar veya değişikliklerin mukozal hastalıklar ve enfeksiyona yatkınlık ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Bu durum defensinlerin polimorfizmlerini konu alan çalışmalara öncülük etmiştir. Defensinlere bağlı hastalık ve genetik ilişkilendirme yapılırken SNP ve CNP olmak üzere iki tip polimorfizm şekline bakılmıştır. Defensinlerle ilgili CNP'lerin 8p23 kromozomunda olduğu rapor edilmiştir ve değişen genetik faktörlerin hBD-2 protein üretimine de etki edebileceği bildirilmiştir (Hollox ve ark., 2003; Groth ve ark., 2008). Bu konuya ilişkin SNP'leri ele alan çalışma sayısı CNP'lerine göre oldukça azdır ve mevcut çalışmalar hastalık ile ilişkilendirme yapmaktan çok polimorfizm bölgelerinin belirlenmesine yöneliktir.

Tek nükleotit polimorfizmini konu alan çalışmalardan biri Kusano ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış oldukları çalışmadır. Kusano ve ark. (2005) Japon toplumu üzerinde 50 hasta üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda β -defensin 2 geni üzerindeki polimorfizmleri taramışlar ve 1 tanesi ekson, 9 tanesi promotor bölgesinde olmak üzere toplam 10 SNP tespit etmişlerdir. Ayrıca periodontal hastalıklar gibi gram negative bakterilerin sebep olduğu hastalıklarda genetik etkinliği olabileceği düşünülen -1029 (rs3762040) bölgesinde SNP mevcudiyeti bulunmuşlardır. Yapılan fonksiyonel çalışma sonucunda değerlendirilen -1029 (rs3762040) bölgesindeki SNP'nin hBD-2 salınımını etkileyebileceğini ve enfeksiyonel hastalığa yatkınlıkta genetik varyasyonlara sebep olabileceğini düşünmektedirler. -1029 pozisyonundaki promoter gen polimorfizminin NF-IL6 bağlantısı consensus dizisinde bulunmaktadır. Lusiferase ile değerlendirilerek Japonlar üzerinde yapılan bu çalışmada sadece polimorfizmlerin taraması yapılmıştır. Bu varyantların hastalıkla ilişkisi incelenmediğinden bizim çalışmamız ile polimorfizm dağılımları açısından karşılaştırmamız mümkün değildir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Japon ırkında -1029 pozisyonunda G alel sıklığı 0,72 ve A alel sıklığı 0,28 olarak bulunmuştur. Bizim

çalışmamızda hem KP hem de kontrol grubu bireylerinde β -defensin rs3762040 G alel sıklığı 0,718; A alel sıklığı ise 0,282 olarak tespit edilmiştir. Yani yapılan değerlendirmelerde alel frekanslarının bizim çalışmamız ile Japon ırkında yapılan çalışmaya çok yakın olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda β -defensin rs3762040 genotip dağılım bakımından da kronik periodontitis ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Sigara kullanımı periodontal hastalığın ortaya çıkma riskini arttırmaktadır; var olan yıkımın periodontal hastalığa mı yoksa sigaraya mı bağlı olduğunun ayırımını yapmak zordur. Bundan dolayı sigaranın yaratabileceği etkileri göz önüne alarak sigara içmeyen bireyleri ayrıca değerlendirdiğimizde sigara içmeyen kronik periodontitis ve kontrol grubu arasında da β -defensin rs3762040 alel frekansı ve genotip dağılımı bakımından istatistiksel anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir. Yani bizim çalışmamızda Kusano ve ark.'nın enfeksiyonel hastalıklarda etkinliği olabileceğini düşünerek özellikle üzerinde durdukları β -defensin 1029 (rs3762040) promoter polimorfizmi ile kronik periodontitis arasında beklenenin aksine herhangi bir ilişki bulunmadı. Fakat çalışmamızda hemen bu bölgeye komşu β -defensin geninin rs3762039 polimorfizmi ele alındığında ise kronik periodontitis ve kontrol grubu arasında hem alel frekansı hem de genotip dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edildi. Sigaranın yaratabileceği etkileri göz önüne alarak sigara içmeyen bireyleri ayrıca değerlendirdiğimizde sigara içmeyen kronik periodontitis ve kontrol grubu arasında da alel frekansı ve genotip dağılımı bakımından da istatistiksel anlamlı bir sonuç elde edildi.

Jurevic ve ark. (2002) β -defensin 1 ve β -defensin 2 geni üzerindeki SNP'leri ele alarak 5 farklı etnik grupta yaptıkları çalışma; etnik gruplar arasındaki genotipik çeşitliliğin, hastalığa yatkınlığın ve doğal bağışıklık sistemi mekanizmalarının birarada ele alınması gerektiğini göstermektedirler. Çalıştıkları defensinleri etkileyen 30 tane SNP bulmuşlardır. Sadece polimorfizim taraması yapıldığı, herhangi bir hastalık ile ilişkilendirme yapılmadığı için bu çalışma ile de bizim çalışmamızı karşılaştırmamız mümkün değildir.

Başka bir SNP çalışması da Hollox ve ark. (2008) tarafından psöriasis hastaları üzerinde yapılmıştır. Hollox ve ark. bizim değerlendirdiğimiz β -defensin 2 rs3762040 polimorfizmi ile psöriasis arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bizim çalışmamızın

sonuçlarına benzer şekilde bu polimorfizm ile hastalık arasında anlamlı ilişkilendirme bulunmamıştır.

Jaradat ve ark. (2013) gerçekleştirmiş olduğu çalışmada periodontal hastalıkta β -defensin 2 CNP değerlendirmesi yaparak hastalık durumu ile ilişkisini incelenmiştir. Literatürde periodontal hastalık ile β -defensin 2 geni arasındaki ilişkiyi inceleyen tek çalışma bu çalışmadır. Çalışmada kronik periodontitis β -defensin 2 CNP ile kronik periodontitis arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak kronik periodontitis grubu hastalığın şiddetine göre hafif-orta ve şiddetli olarak sınıflandırıldığında düşük CNP ile şiddetli kronik periodontitis arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla doğru orantılı olarak ataşman seviyesi ortalamasındaki artış ile CNP arasında ters ilişki olduğu ve β -defensin 2 CNP ile hBD-2 serum seviyeleri arasında ise doğrusal bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Gözlemlenen bir başka sonuç ise şiddetli periodontitis grubundaki düşük serum β -defensin 2 seviyeleridir. Kısacası CNP'deki azalma ile periodontitis şiddeti arasında ve aynı zamanda serumdaki hBD-2 seviyeleri arasında ilişki olabileceği rapor edilmiştir. Hastalık şiddeti ve CNP arasında ilişki bulunması bizim hipotezimizi destekler niteliktedir. Fakat bu çalışmada SNP değil CNP bakıldığı için bizim çalışmamız ile karşılaştırabilmemiz mümkün değildir.

Ayrıca enflamatuvar hastalıklar ile β -defensin CNP ilişkilendirmesini inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Fellerman ve ark. (2006) crohn hastalığında CNP'ni, onların etkilerinin fenotip varyasyonları ve hastalık üzerinde etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak, crohn hastalığı ile düşük β -defensin 2 gen kopya sayısı arasında ilişki olabileceğini rapor etmişlerdir. Çin toplumunda Ding ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada β -defensin CNP ile ankilozan spondilit arasında bağlantı olabileceği bulunmuştur. Tiszlavicz ve ark. (2010) nın akut pankreatitisli hastalar üzerinde yapmış oldukları çalışmada β -defensin 2 CNP ile şiddetli akut pankreatitis arasında ilişki olabileceği rapor edilmiştir. Aldhous ve arkadaşlarının (2009) enflamatuvar bağırsak hastalıkları üzerinde yaptıkları çalışmada hBD-2 salınımı ile CNP'leri arasında ilişki bulunamamıştır. Yine Çin toplumunda yapılan başka bir çalışmada Cai ve ark. (2015) ankilozan spondilit ile defensin CNP arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Enflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalık konakta mikrobiyal dental plağa karşı gelişen savunma mekanizması ve mikroorganizmalar arası dengenin bozulması ile oluşmaktadır (Kinane, 2001). DOS ve tükürükte mikrobiyal dental plağa ve

komponentlerine karşı lizozim, laktoferrin komplamenti bradikinin gibi bazı enzimler ve antimikrobiyal peptitler bulunmaktadır. Bu antimikrobiyal peptitlerden biri de β -defensinlerdir (Schenkels ve ark., 1995; Darveau ve ark., 1997). β -defensinler üretimleri mikrobiyal ve proenflamatuvar uyarımlarla değişim gösteren antimikrobiyal peptitlerdir (Diamond ve ark., 1996; Harder ve ark., 1997; Stolzenberg ve ark.,1997; Raj ve Dentino, 2002). β -defensin 2 salınımı kişiden kişiyeye değişir (Krisanaprakornkit ve ark., 1998; Jurevic ve ark., 2002) ve bu durum enfeksiyon ve enflamasyona cevap olarak oluşur (Harder ve ark., 1997; Stolzenberg ve ark., 1997; Mathews ve ark., 1999; Krisanaprakornkit ve ark., 2000; Harder ve ark., 2001; Jurevic ve ark., 2002). Literatürde β -defensin 2'nin enflame dokuda salınımının değiştiiğini rapor eden bir çok çalışma mevcuttur (Jin, 2011). Sadece periodontal hastalık değil diğer bir çok enflamatuvar hastalıkta da araştırmalar yapılmış ve hastalık süreciyle β -defensin 2'nin ilişkisinin olabirliği ortaya atılmıştır (Lehmann ve ark., 2002; Aldhous ve ark., 2009; Jansen ve ark., 2009). Yani genetik çalışmaların haricinde biyokimyasal olarak da bu markırın bir çok enflamatuvar hastalıkla ilişkilendirmesi yapılmıştır. Aslında bu durum da defensinlerin enflamatuvar hastalıklarda aday gen olabileceği fikrini desteklemektedir.

β -defensin 2'nin periodontal hastalığın oluşumunda etkinliği olan gram negative bakterilere karşı mikrobisidal etki gösterdiği ve enflamatuvar süreçte klinik bir gösterge olduğu düşünölmektedir (Lu ve ark., 2005). Periodontal duruma göre hBD-2 nin salınımının dişeti oluşu sıvısında (Ertugrul ve ark., 2014; Dommisch ve ark., 2015; Kumar ve ark., 2015; Yong ve ark., 2015), serumda (Brisette ve Lukehart, 2007; Jaradat ve ark. 2013), biyopsi örneklerinde (Dommisch ve ark., 2005; Offenbacher ve ark., 2009) ve kültür ortamında (Gursoy ve ark., 2012) değişimini konu alan bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların bir kısmı kronik periodontitiste β -defensin 2 salınımını incelemiştir (Vardar-Sengul ve ark., 2007; Pereira ve ark., 2012; Jaradat ve ark. 2013; Yong ve ark., 2015). Gingival enflamasyon sürecinde ve agresif periodontal hastalıkta hBD-2 salınımının değişimini gösteren ve hastalıkla anlamlı ilişkilendirilmiştir çalışmalar da mevcuttur (Ebrahim ve ark., 2013; Ertugrul ve ark., 2014; Dommisch ve ark., 2015). Mevcut literatürler ışığında enflamatuvar bir hastalık olan KP'de defensinlerdeki herhangi bir fonksiyon ya da kalite değişiminin konağın hastalığa olan yatkınlığını değiştirebileceği; aynı zamanda hastalık patogenizinde etkinliği olan β -

defensin üretiminin genetik faktörlerden de etkilenebileceği görülmektedir (Hollox ve ark., 2003; Groth ve ark., 2010; Schaefer ve ark., 2010; Jaradat ve ark., 2013).

Periodontal hastalık, multifaktöriyel hastalık olduğu için genetik çalışmaları yapmak oldukça güçtür. Genel olarak hastalıklar ile polimorfizmler arasında ilişkilendirme yapılırken yaşanan bazı zorluklar şunlardır; ilişkilendirilen genlerin sadece bazı toplumlarda olması ve tüm hastalar için geçerli olamaması; bazı bireysel faktörlere bağlı yanlış sonuç elde edilebilme durumu; periodontal hastalığın multifaktöriyel bir hastalık olması sebebiyle etkinin direk genetik değil de çevresel faktörlerle ilişkili yani dolaylı yoldan olabilmesidir. Genetik testler bu limitasyonlara göre yorumlanmalı ve değerlendirme yapılırken bu noktalara da dikkat edilmesi gerekmektedir (Potter, 1990; Schenkein, 2002). Dolayısıyla Polimorfizm çalışmalarında çevresel koşulları mümkün olduğunca standardize etmek; etnik ve coğrafi köken bakımından eşleştirilmiş homojen nüfusta yapmak daha anlamlı sonuçlar verecektir (Zhang ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda da periodontitis gibi çok yönlü bir hastalıkta etkin olabilecek çevresel koşulları da göz önünde alarak gruplarımızı oluştururken hastalardaki mevcut sigara kullanımı ve diğer çevresel koşulları gruplar arasında anlamlı farklılık yaratmayacak şekilde seçildi. Bütün verilerin analizleri yapılırken, periodontal hastalığın etiyolojisinde etkili olan cinsiyet, sigara gibi faktörler ve diğer çevresel risk faktörleri lojistik regresyon analizinde düzeltici faktörler olarak değerlendirilerek analiz yapıldı. Ayrıca çalışmamızda kontrol ve hasta gruplarının tercihinde sistemik hastalık olmaması şartı aranarak değerlendireceğimiz polimorfizm ve periodontal hastalık ilişkilendirmesinde daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi planladı.

Çalışmamızın limitasyonlarından biri periodontal hastalık etyolojisinde etkili faktörlerden biri olan yaş tercihidir. Aslında DNA'nın yaşla birlikte polimorfizmler açısından değişim göstermediğinin bilinmesine rağmen (Hodge ve ark., 2001) kronik periodontitis prevalansı yaşla birlikte artış göstermektedir (Kinane ve ark., 2006). Bundan dolayı çalışmamızda hastalık teşhisinin hatalı konmaması için yaş ortalamalarının yakın olarak seçilmesine dikkat edildi. Kronik periodontitis grubunda yaş aralığı 20-63, kontrol grubunda ise yaş aralığı 18-62 arasında farklılık göstermektedir ve sırasıyla yaş ortalamaları $41,91(\pm 10,56)$ ve $32,17(\pm 10,46)$ olarak tespit edildi. İki grupta da yaşlar birbirine yakın seçilmeye çalışılsa bile istatistiksel

değerlendirmelerde anlamlı bir fark olduğu ortaya çıktı. Bu sorun, yaşın lojistik regresyon analizinde bir değişken olarak ele alınması ile bertaraf edilmeye çalışıldı.

Periodontal hastalıkta hem subgingival flora ekolojisini etkileyebilirliği hem de oral hijyenin etkin bir şekilde yapılamaması ve plak birikiminin fazla olması sebebiyle sigara en önemli çevresel faktörlerden biridir. Sigara kullanımı hastalığın ortaya çıkma riskini arttırmaktadır (Kinane ve Radvar, 1997; Tonetti, 1998; Tonetti ve Mombelli, 1999; Meisel ve ark., 2004; Mızrak ve Kaya, 2005). Bu nedenle periodontitise genetik yatkınlığı değerlendirirken sigara kullanmayan bireyler ile çalışmak daha doğru sonuçlar elde edilmesine imkan tanımaktadır. Çünkü var olan yıkımın periodontal hastalığa mı yoksa sigaraya mı bağlı olarak gerçekleştiğinin ayrımını yapmak zordur. Periodontal tedavide sigara kullanımının ve kullanım miktarının hastalık oluşumu üzerine etkisini (Ismail ve ark., 1983; Kinane ve Radvar, 1997) ve tedavinin gidişatı üzerine etkisini (Preber ve Bergström, 1986; Preber ve Bergström, 1990; Ah ve ark., 1994; Tonetti ve ark., 1995) inceleyen anlamlı sonuçlandırılmış çalışmalar mevcuttur. Ertuğrul ve ark (2013) periodontal hastalık durumunda β -defensin 2 salınımının sigara ile değişimini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Gingivitis ve agresif periodontitisli hasta grupları üzerinde yapılan bu çalışma sonucunda sigara kullanımı ile β -defensin 2 salınımı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Mevcut çalışmamızda hasta sayımızı yüksek tutmak istememiz nedeniyle kontrol ve çalışma grubu arasında istatistiksel anlamlı fark yaratmayacak ($p=0.2411$) şekilde sigara kullanımı olan bireyler de eklendi. Çalışmamıza katılan bireylerde sigara kullanım oranları hem kontrol (%12), hem de kronik periodontitis (%19) grubunda oldukça düşüktü. Yine de sigaranın yaratabileceği etkileri göz önünde bulundurarak istatistiksel analizlerimizi aynı zamanda sigara içmeyen grupta da yaptık. Ancak sigara içmeyen grupta yaptığımız istatistiksel analizler tüm grupta yapılan analizlerle benzer sonuçlar verdi.

Genetik polimorfizmleri periodontal hastalıkta bir risk faktörü olarak inceleyen çalışmalar, polimorfizmlere ait genotip analizi ve alel frekansı değerlendirmelerinde farklı sonuçlar elde edilmesinin sebebi ırk ve etnik farklılıkların bulunmasıdır. Bu durumu açıklayan başka bir etken de yapılan çalışmalarda periodontal hastalığın tanımlanmasında araştırmacıların farklı kriterler kullanması, çalışma ve kontrol gruplarını seçerken çalışmalar arasında oluşabilecek farklılıklardır. (McGuire ve Nunn, 1996; McDevit ve ark., 2000; Greenstein ve Hart, 2002; Kinane ve Hart, 2003). Bu

nedenle çalışmamızda standardizasyonu sağlamak için hastalık sınıflandırması Uluslararası Periodontoloji Çalıştayı'nın 1999 yılında belirlediği kriterlere göre yapıldı.

Tüm bu limitasyonları göz önüne alarak mevcut literatürler ışığında planladığımız çalışmamızın sonucunda β -defensin rs3762040 gen polimorfizmi ile kronik periodontitis arasında ilişki olmadığını düşünmekteyiz fakat hemen bu bölgeye komşu β -defensin rs3762039 promotor bölgesindeki polimorfizmi değerlendirdiğimizde hem allel frekansı hem de genotip dağılımları bakımından çalışma grupları arasında anlamlı sonuçlar elde edildi ve bu polimorfizminin KP ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Tüm klinik periodontal parametreler KP grubunda kontrol grubundan önemli derecede yüksek bulundu.
2. KP grubu ve kontrol grubu β -defensin rs3762040 promoter gen polimorfizmi allel frekansları arasındaki fark anlamsız bulundu.
3. KP grubu ve kontrol grubu β -defensin rs3762040 promoter gen polimorfizmi GG/GA/AA genotip dağılımları arasındaki fark anlamsız bulundu.
4. β -defensin geni rs3762040 bölgesi polimorfizminin KP ile ilişkili olmadığını düşünmekteyiz.
5. KP grubu ve kontrol grubu β -defensin rs3762039 promoter gen polimorfizmi allel frekansları arasındaki fark anlamlı bulundu.
6. KP grubu ve kontrol grubu β -defensin rs3762039 promoter gen polimorfizmi GG/GT/TT genotip dağılımları arasındaki fark anlamlı bulundu.
7. β -defensin geni rs3762039 bölgesi polimorfizminin KP ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.
8. Bulgularımıza göre β -defensin rs3762039 promoter gen polimorfizmi bakımından G alleli mevcudiyetinin yaklaşık olarak 3 kat hastalık yatkınlık artışına sebep olduğunu gösterildi.
9. Tez çalışmamız periodontal hastalığın genetik temellerinin oluşturulmasında yeni bilgilere ve çalışmalara ışık tutacaktır.

Daha önce değerlendirdiğimiz polimorfizm bölgeleri ile kronik periodontitis arasında ilişkilendirme yapılmamıştır. Bizim görüşümüze göre; DOS ve serumda yapılan biyokimya tabanlı çalışmalar ve CNP açısından da değerlendirme yapılan genetik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH: Temel İmmünoloji – İmmün sistemin işlev ve bozu- klukları. Çeviri Ed. Camcıoğlu Y, Deniz G. 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007;6-22.
- Abe T, Hara Y, Aono M. Penetration, clearance and retention of antigen en route from the gingival sulcus to the draining lymph node of rats. *Journal of Periodontal Research*. 1991; 26(5): 429-439.
- Abiko Y, Nishimura M, Kaku T. Defensin in saliva and the salivary glands. *Med Electron Microsc*. 2003; 36(4): 247-252.
- Abiko Y, Saitoh M, Nishimura M, Yamazaki M, Sawamura D, Kaku T. Role of beta-defensins in oral epithelial health and disease. *Med Mol Morphol*. 2007; 40(4): 179-184.
- Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1994; 21(2): 91-97.
- Aksoy B. Derinin doğal bağışıklık sistemi. *Türkderm*. 2013;47(1):2-11.
- Aldhous MC, Noble CL, Satsangi J. Dysregulation of Human β -Defensin-2 Protein in Inflammatory Bowel Disease. *PLoS One*. 2009; 4(7): e6285.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 1-6.
- Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000*. 2006; 40: 29-49.
- Beaty TH, Boughman JA, Yang P, Astemborski JA, Suzuki JB. Genetic analysis of juvenile periodontitis in families ascertained through an affected proband. *Am J Hum Genet*. 1987; 40(5): 443–452.
- Beck JD. Methods of assessing risk for periodontitis and developing multifactorial models. *J Periodontol*. 1994; 65(5): 468-478.
- Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(6): 87–107.
- Bevins CL. Paneth cell defensins: key effector molecules of innate immunity. *Biochem Soc Trans*. 2006; 34: 263- 266.
- Bissell J, Joly S, Johnson GK, Organ CC, Dawson D, McCray PB Jr, Guthmiller JM. Expression of beta-defensins in gingival health and in periodontal disease. *J Oral Pathol Med*. 2004; 33(5): 278–285.

- Boughman JA, Astemborski JA, Suzuki JB. Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships. *J Clin Periodontol.* 1992; 19(4): 233-239.
- Boughman JA, Beaty TH, Yang P, Goodman SB, Wooten RK, Suzuki JB. Problems of genetic model testing in early onset periodontitis. *J Periodontol* 1988; 59(5): 332-337.
- Boughman JA, Halloran SL, Roulston D, Schwartz S, Suzuki JB, Weitkamp LR, Wenk RE, Wooten R, Cohen MM. An autosomal-dominant form of juvenile periodontitis: its localization to chromosome 4 and linkage to dentinogenesis imperfecta and Gc. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology.* 1986; 6(4): 341-350.
- Bowdish DM, Davidson DJ, Hancock RE. Immunomodulatory properties of defensins and cathelicidins. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006; 306: 27-66.
- Brancatisano FL, Maisetta G, Barsotti F, Esin S, Miceli M, Gabriele M, Giuca MR, Campa M, Batoni G. Reduced human beta defensin 3 in individuals with periodontal disease. *J Dent Res.* 2011; 90(2): 241-245.
- Brandtzaeg P, Fjellenger I, Gjeruldsen ST. Human secretory Immunoglobulins I. Salivary Secretions from individual with normal or low levels of serum immunoglobulins. *Scand J Haematol Suppl.* 1970; 12: 3-83.
- Brissette CA, Lukehart SA. Mechanisms of decreased susceptibility to beta-defensins by *Treponema denticola*. *Infect Immun.* 2007; 75(5): 2307-2315.
- Cai G, Xia Q, Fan D, Li X, Ding N, Hu Y, Yang X, Liu L, Xin L, Wang L, Xu S, Xu J, Zou Y, Ding C, Pan F. Association between DEFB103 gene copy number variation and ankylosing spondylitis: a case-control study. *Tissue Antigens.* 2015; 86(3): 195-8.
- Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompert CM, Alberti S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun.* 2004; 72(12): 7107-7114.
- Carvalho A, Lima-Brito J, Maças B, Guedes-Pinto H. Genetic Diversity and Variation Among Botanical Varieties of Old Portuguese Wheat Cultivars Revealed by ISSR Assays. *Biochem Genet.* 2009; 47(3-4): 276-294.
- Cemal İ, Karaca O. Çiftlik hayvanlarında major genlerin belirlenmesi ve genotip ayrımı. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2006; 21(1): 105-115.
- Chen GK, Jorgenson E, Witte JS. An empirical evaluation of the common disease-common variant hypothesis. *BMC Proc.* 2007; 1(1): 5.

- Chung WO, Dale BA. Innate immune response of oral and foreskin keratinocytes: utilization of different signaling pathways by various bacterial species. *Infect Immun*. 2004; 72(1): 352–358.
- Cockett NE, Shay TL, Beever JE, Nielsen D, Albrechtsen J, Georges M, Peterson K, Stephens A, Vernon W, Timofeevskaia O, South S, Mork J, Maciulis A, Bunch TD. Localization of the locus causing Spider Lamb Syndrome to the distal end of ovine chromosome 6. *Mamm Genome*. 1999; 10(1): 35–38.
- Corey LA, Nance WE, Hofstede P, Schenkein HA. Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *J Periodontol*. 1993;64(12): 1205-1208.
- Crawford JM, Taubman MA, Smith DJ. Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science*. 1975; 19(190): 1206-1209.
- Curby WA. Device for collection of human parotid saliva. *J. Lab. Clin. Med*. 1953; 41(3): 493-496.
- Dale BA, Fredericks LP. Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol*. 2005; 7(2): 119–133.
- Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Roberts F, Robinovitch M, O'Neal R, Valore EV, Ganz T, Anderson GM, Weinberg A. Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *J Periodontal Res*. 2001; 36(5): 285–294.
- Dale BA, Krisanaprakornkit S. Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *J Oral Pathol Med*. 2001; 30(6): 321-327.
- Dale BA. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontol 2000*. 2002; 30: 70-78.
- Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 12-32.
- De Smet K, Contreras R. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnol Lett*. 2005; 27(18): 1337-1347.
- Deligezer U, Akışık EE, Dalay N, Gen Polimorfizm Analizinde LightCycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması: Myeloid Lösemili Çocuk ve Yetişkin Hastalarda MTHFR C677T Gen Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi. *Türk Onkoloji Dergisi*. 2004; 19(4); 134-139.
- Diamond G, Russell JP, Bevins CL. Inducible expression of an antibiotic peptide gene in lipopolysaccharide-challenged tracheal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93(10): 5156-5160.

- Diehl SR, Wang Y, Brooks CN, Burmeister JA, Califano JV, Wang S, Schenkein HA. Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Periodontol.* 1999; 70(4): 418-430.
- Ding N, Yang X, Zhang L, Cai G, Xia Q, Fan D, Li X, Hu Y, Liu L, Xin L, Wang L, Xu S, Xu J, Zou Y, Ding C, Pan F. Association of β -defensin gene copy number variations with ankylosing spondylitis in Chinese population: A case-control study. *Mod Rheumatol.* 2015;1-5.
- Doğan B, Torumtay G, Özat Y. Periodontal hastalıklarda genetik polimorfizmin rolü. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2012; 1(3): 154-163.
- Dommisch H, Açıl Y, Dunsche A, Winter J, Jepsen S. Differential gene expression of human beta-defensins (hBD- 1, -2, -3) in inflammatory gingival disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2005: 20(3): 186–190.
- Dommisch H, Staufenbiel I, Schulze K, Stiesch M, Winkel A, Fimmers R, Dommisch J, Jepsen S, Miosge N, Adam K, Eberhard J. Expression of antimicrobial peptides and interleukin-8 during early stages of inflammation: An experimental gingivitis study. *J Periodont Res.* 2015- doi: 10.1111/jre.12271.
- Duits LA, Ravensbergen B, Rademaker M, Hiemstra PS, Nibbering PH. Expression of beta-defensin 1 and 2 mRNA by human monocytes, macrophages and dendritic cells. *Immunology.* 2002; 106(4): 517–525.
- Dunsche A, Açıl Y, Dommisch H, Siebert R, Schroder JM, Jepsen S. The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110(2): 121-124.
- Ebrahim MA. Expression of human beta defensins (HBDs) 1, 2 and 3 in gingival crevicular fluid of patients affected by localized aggressive periodontitis. *Saudi Dent J.* 2013; 25(2): 75-82.
- Erensayın C. Genetik. 2. Baskı. Ankara, Nobel Yayın Dağıtım. 2000; 119-134.
- Ergüven DK. Periodontal hastalıkların patogeneğinde geentiğın etkisi. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.* 2002; 19(1): 53-59.
- Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan NZ, Bozoğlan A, Tekin Y. Gingival crevicular fluid levels of human beta-defensin-2 and cathelicidin in smoker and non-smoker patients: a cross-sectional study. *J Periodontal Res.* 2014; 49(3): 282-289.
- Farber CR, Raney NE, Rilington VD, Venta PJ, Ernst CW. Comparative mapping of genes flanking the human chromosome 12 evolutionary breakpoint in the pig. *Cytogenet Genome Res.* 2003; 102(1-4): 139-144.

- Fellermann K, Stange DE, Schaeffeler E, Schmalzl H, Wehkamp J, Bevins CL, Reinisch W, Teml A, Schwab M, Lichter P, Radlwimmer B, Stange EF. A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. *Am J Hum Genet.* 2006; 79(3): 439-348.
- Fellermann K, Stange EF. Defensins- innate immunity at the epithelial frontier. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001; 13(7): 771-776.
- Fiorellini JP, Kim DM, Uzel NG. Anatomy of the periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology.* 11st Ed., St. Louis, Elsevier Saunders. 2012; 12-27.
- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 32-38.
- Froy O. Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptor-dependent and independent signalling pathways. *Cell Microbiol.* 2005; 7(10): 1387-1397.
- Frye M, Bargon J, Lembcke B, Wagner TO, Gropp R. Differential expression of human alpha- and beta-defensins mRNA in gastrointestinal epithelia. *Eur J Clin Invest.* 2000; 30(8): 695-701.
- Ganz T, Lehrer RI. Defensins. *Pharmacol Ther.* 1995 May;66(2):191-205.
- Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(9): 710-720.
- Gao Q, Womack JE. A genetic map of bovine chromosome 7 with an interspecific hybrid backcross panel. *Mamm Genome* 1997; 8(4): 258-61.
- Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63: 338-355.
- Gomes Pde S, Fernandes MH. Defensins in the oral cavity: distribution and biological role. *J Oral Pathol Med.* 2010; 39(1): 1-9.
- Green JC, Vermillion JR. The Simplified Oral Hygiene Index. *J Am Dent Assoc.* 1964;68:7-13.
- Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131(11): 1580-1592.
- Groth M, Szafranski K, Taudien S, Huse K, Mueller O, Rosenstiel P, Nygren AO, Schreiber S, Birkenmeier G, Platzer M. High-resolution mapping of the 8p23.1 beta-defensin cluster reveals strictly concordant copy number variation of all genes. *Hum Mutat.* 2008; 29(10): 1247-1254.

- Groth M, Wiegand C, Szafranski K, Huse K, Kramer M, Rosenstiel P, Schreiber S, Norgauer J, Platzer M. Both copy number and sequence variations affect expression of human DEFB4. *Genes Immun*. 2010; 11(6):458-466.
- Gursoy UK, Könönen E. Understanding the roles of gingival beta-defensins. *Journal of Oral Microbiology*. 2012; 4: 15127 - doi: 10.3402/jom.v4i0.15127.
- Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder JM. A peptide antibiotic from human skin. *Nature*. 1997; 387(6636): 861.
- Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human b-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem*. 2001; 23; 276(8): 5707-5713.
- Harrington DJ. Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease. *Infect Immun*. 1996; 64(6): 1885–1891.
- Hart TC, Atkinson J. Mendelian forms of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2007; 45: 95–112.
- Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 202–215.
- Hart TC, Marazita M, McKanna, KM, Schenkein HA, Diehl SR. Reevaluation of the chromosome 4q candidate region for early onset periodontitis. *Hum Genet*. 1993; 91(5): 416-422.
- Hart TC, Marazita ML, Schenkein HA, Diehl SR. Re-interpretation of the evidence for X-linked dominant inheritance of juvenile periodontitis. *J Periodontol*. 1992; 63(3): 169-173.
- Hart TC. Genetic considerations of risk in human periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* 1994: 3–11.
- Hart TC. Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1996: 67(3): 355–366.
- Hassell TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1995; 6(4): 319– 342.
- Hinrichs JE, Novak MJ. Classification of disease and conditions affecting the periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. *Carranza's Clinical Periodontology*. 11st Ed., St. Louis, Elsevier Saunders. 2012; 41-44.
- Hodge P, Michalowicz B. Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. *Periodontol 2000*. 2001; 26: 113-134.

- Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(5): 430-436.
- Hollá LI, Fassmann A, Vasků A, Znojil V, Vanek J, Vácha J. Interactions of lymphotoxin alpha (TNF-beta), angiotensin-converting enzyme (ACE), and endothelin-1 (ET-1) gene polymorphisms in adult periodontitis. *J Periodontol.* 2001; 72(1): 85-89.
- Hollox EJ, Armour JA, Barber JC. Extensive normal copy number variation of a beta-defensin antimicrobial-gene cluster. *Am J Hum Genet.* 2003; 73(3): 591-600.
- Hollox EJ, Huffmeier U, Zeeuwen PL, Palla R, Lascorz J, Rodijk-Olthuis D, Van de Kerkhof PC, Traupe H, De Jongh G, Den Heijer M, Reis A, Armour JA, Schalkwijk J. Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number. *Nat Genet.* 2008; 40(1): 23-25.
- Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients, *J Periodontol Res.* 1989; 24(6): 362-367.
- Hosokawa I, Hosokawa Y, Komatsuzawa H, Goncalves RB, Karimbux N, Napimoga MH, Seki M, Ouhara K, Sugai M, Taubman MA, Kawai T. Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clin Exp Immunol.* 2006; 146(2): 218-225.
- Ingelman-Sundberg M. Genetic variability in susceptibility and response to toxicants. *Toxicol Lett.* 2001;120(1-3):259-268.
- Ismail AI, Burt BA, Eklund SA. Epidemiologic patterns of smoking and periodontal disease in the United States. *J Am Dent Assoc.* 1983; 106(5): 617-621.
- Jansen PA, Rodijk-Olthuis D, Hollox EJ, Kamsteeg M, Tjabringa GS, de Jongh GJ, van Vlijmen-Willems IM, Bergboer JG, van Rossum MM, de Jong EM, den Heijer M, Evers AW, Bergers M, Armour JA, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Beta-defensin-2 protein is a serum biomarker for disease activity in psoriasis and reaches biologically relevant concentrations in lesional skin. *PLoS One.* 2009; 4(3): e4725.
- Jaradat SW, Hoder-Przyrembel C, Cubillos S, Krieg N, Lehmann K, Piehler S, Sigusch BW, Norgauer J. Beta-defensin-2 genomic copy number variation and chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2013; 92(11): 1035-1040.
- Jasinska A, Michlewski G, de Mezer M, Sobczak K, Kozłowski P, Napierala M, Krzyosiak WJ. Structures of trinucleotide repeats in human transcripts and their functional implications. *Nucleic Acids Research,* 2003; 31(19): 5463-5468.

- Jin L. An update on innate defense molecules of human gingiva. *Periodontol* 2000. 2011; 56(1): 125–142.
- Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, White TC, Dale BA. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human b-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with *Candida* carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(1): 90-96.
- Jurevic RJ, Chrisman P, Mancl L, Livingston R, Dale BA. Single-nucleotide polymorphisms and haplotype analysis in beta-defensin genes in different ethnic populations. *Genet Test*. 2002;6(4):261-269.
- Kayahan Ş., İnsan genetiği, İstanbul, Yenilik Basımevi. 1965; 1.
- Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003; 14(6): 430- 449.
- Kinane DF, Lindhe J, Trombelli L. Chronic periodontitis. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 5th Ed., Oxford, Blackwell Munksgarrd. 2008; 420-426.
- Kinane DF, Lindhe J. Chronic Periodontitis. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th Ed Oxford. Blackwell Munksgaard Publishing. 2003; 209-215.
- Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2006; 40: 107-119.
- Kinane DF, Radvar M. The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *J Periodontol*. 1997; 68(5): 467-472.
- Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005; 39: 91-117.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2001; 25: 8-20.
- Kinane, DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003; 14(6): 430- 449.
- Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. *Concepts of genetics*. 8th Ed. Prentice Hall, 2006. Çeviri: Sümer S, Öner R, Ögüş A, Açık L. *Genetik kavramlar*. Ankara, Palme Yayıncılık. 2009; 1-17.
- Klug WS, Cummings MR. *Concepts of genetics*. 6th Ed. Upper Saddle River, Prentice Hall Inc., 2000;5-7.

- Kobayashi T, Ito S, Kuroda T, Yamamoto K, Sugita N, Narita I, Sumida T, Gejyo F, Yoshie H. The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78(12): 2311-2318.
- Kohlgraf KG, Pingel LC, Dietrich DE, Brogden KA. Defensins as anti-inflammatory compounds and mucosal adjuvants. *Future Microbiol.* 2010; 5(1): 99–113.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, Di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(1): 72-77.
- Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 33-53.
- Kornman KS. Patients are not equally susceptible to periodontitis: does this change dental practice and the dental curriculum. *J Dent Educ.* 2001; 65(8): 777-784.
- Kornman KS. The Pathogenesis of periodontal diseases. In: Wilson TG, Kornman KS. *Fundamental of periodontics.* 2th Ed. Quintessence Publishing Co. Ltd. USA. 1996: 3-7.
- Krisanaprakornkit S, Weinberg A, Perez CN, Dale BA. Expression of the peptide antibiotic human beta-defensin 1 in cultured gingival epithelial cells and gingival tissue. *Infect Immun.* 1998; 66(9): 4222-4228.
- Krisanaprakornkit S1, Kimball JR, Weinberg A, Darveau RP, Bainbridge BW, Dale BA. Inducible expression of human beta-defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum* in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. *Infect Immun.* 2000; 68(5): 2907-2915.
- Kumar A, Chandra RV, Reddy AA, Reddy BH, Reddy C, Naveen A. Evaluation of clinical, antiinflammatory and antiinfective properties of amniotic membrane used for guided tissue regeneration: A randomized controlled trial. *Dent Res J (Isfahan).* 2015 ;12(2): 127-135.
- Kusano K, Abiko Y, Nishimura M, Arakawa T, Takeshima M, Fujimoto A, Takuma T, Kaku T. Single-nucleotide Polymorphism(SNP)in β-Defensin 2 in a Japanese Population and an Effect of -1029 SNP on Promoter Activity. *Oral Science International.* 2005; 2(2): 80-84.
- Kuula H, Salo T, Pirilä E, Hagström J, Luomanen M, Gutierrez-Fernandez A, Romanos GE, Sorsa T. Human beta-defensin-1 and -2 and matrix metalloproteinase-25 and -26 expression in chronic and aggressive periodontitis and in periimplantitis. *Arch Oral Biol.* 2008; 53(2): 175-186.

- Laine ML, Farré MA, González G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, Crusius JB, Vandenbroucke JP, van Winkelhoff AJ, Peña AS. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res.* 2001; 80(8): 1695-1699.
- Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent.* 2010; 2010: 324719. - doi: 10.1155/2010/324719.
- Lehmann J, Retz M, Harder J, Krams M, Kellner U, Hartmann J, Hohgräwe K, Raffenberg U, Gerber M, Loch T, Weichert-Jacobsen K, Stöckle M. Expression of human beta-defensins 1 and 2 in kidneys with chronic bacterial infection. *BMC Infect Dis.* 2002; 2: 20.
- Li Y, Xu L, Hasturk H, Kantarci A, DePalma SR, Van Dyke TE. Localized aggressive periodontitis is linked to human chromosome 1q25. *Hum Genet.* 2004; 114(3): 291-297.
- Lindhe J, Karring T, Aroujo M. The anatomy of periodontal tissues. In: Lindhe J, Lang PN, Karring T. *Clinical periodontology and implant dentistry.* 5th Ed., Oxford, Blackwell Munksgarrd. 2008; 3-50.
- Liu L, Wang L, Jia HP, Zhao C, Heng HH, Schutte BC, McCray PB Jr, Ganz T. Structure and mapping of the human b-defensin HBD-2 gene and its expression at sites of inflammation. *Gene.* 1998; 222(2): 237-244.
- Liu L, Zhao C, Heng HH, Ganz T. The human beta-defensin-1 and alpha-defensins are encoded by adjacent genes: two peptide families with differing disulfide topology share a common ancestry. *Genomics.* 1997; 43(3): 316-320.
- Long JC, Nance WE, Waring P, Burmeister JA, Ranney RR. Early onset periodontitis: a comparison and evaluation of two proposed modes of inheritance. *Genetic Epidemiol.* 1987; 4(1): 13-24.
- Loos BG, John RP, Laine ML. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *J Clin Periodontol.* 2005; 32 (6): 159-179.
- López NJ, Smith PC, Gutierrez J. Periodontal therapy may reduce the risk of preterm birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2002; 73(8): 911-924.
- Lu Q, Darveau RP, Samaranayake LP, Wang CY, Jin L. Differential modulation of human b-defensins expression in human gingival epithelia by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide with tetra- and penta-acylated lipid A structures. *Innate Immunity.* 2009; 15(6): 325-335.
- Lu Q, Jin LJ, Darveau RP, Samaranayake LP. Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2004; 39(4): 221-227.

- Lu Q, Samaranayake LP, Darveau RP, Jin L. Expression of human beta-defensin-3 in gingival epithelia. *J Periodontal Res.* 2005; 40(6): 474–481.
- Maisetta G, Brancatisano FL, Esin S, Campa M, Batoni G. Gingipains produced by *Porphyromonas gingivalis* ATCC 49417 degrade human-b-defensin 3 and affect peptide's antibacterial activity in vitro. *Peptides.* 2011; 32(5): 1073-1077.
- Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TF, McCarroll SA, Visscher PM. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature.* 2009; 461(7265): 747-753.
- Manolio TA, Collins FS. Genes, environment, health, and disease: facing up to complexity. *Hum Hered.* 2007; 63(2): 63-66.
- Marazita ML, Burmeister JA, Gunsolley JC, Koertge TE, Lake K, Schenkein HA. Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis. *J Periodontol.* 1994; 65(6): 623–630.
- Mathews M, Jia HP, Guthmiller JM, Losh G, Graham S, Johnson GK, Tack BF, McCray PB Jr. Production of beta-defensin antimicrobial peptides by oral mucosa and salivary glands. *Infect Immun.* 1999; 67(6): 2740–2745.
- McDevitt MJ, Wang HY, Knobelmann C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, Duff GW, Kornman KS. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol.* 2000; 71(2): 156-163.
- McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. *J Periodontol.* 1996; 67(7): 666-674.
- Meisel P, Schwahn C, Gesch D, Bernhardt O, John U, Kocher T. Dose-effect relation of smoking and the inter-leukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. *J Periodontol.* 2004; 75(2): 236–242.
- Meisel P, Siegemund A, Grimm R, Herrmann FH, John U, Schwahn C, Kocher T. The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study. *J Dent Res.* 2003; 82(3): 189–193.
- Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, Bouchard TJ Jr, Pihlstrom BL. Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol.* 1991a ;62(5): 293-299.

- Michalowicz BS, Aeppli DP, Kuba RK, Bereuter JE, Conry J, Segal NL, Bouchard TJ Jr, Pihlstrom BL. A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height. *J Dent Res.* 1991b; 70(11): 1431-1435.
- Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, Califano JV, Burmeister JA, Schenkein HA. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71(11):1699-1707.
- Michalowicz BS. Genetic and heritable risk factors in periodontal disease. *J Periodontol.* 1994; 65(5): 479-488.
- Mızrak T, Kaya FA. Sigara Kullanımının Periodontal Dokular Üzerine Olan Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi.* 2005; 32(2): 102-107.
- Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994; 5: 66-77.
- Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (- 889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res.* 2007; 42(1): 23-30.
- Nares S. The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontology 2000.* 2003; 32: 36-49.
- Nielsen R. Population genetic analysis of ascertained SNP data, *Hum Genomics,* 2004; 1(3): 218-224.
- Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, Ng W, Sayama K, Hashimoto K, Nagaoka I, Okumura K, Ogawa H. Antimicrobial peptides human b-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation, and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *Journal of Investigative Dermatology* 2007; 127: 594-604.
- Novak MJ, Novak KF. Chronic periodontitis. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology.* 10th Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 2006: 494-499.
- Novak MJ, Novak KF. Chronic periodontitis. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology.* 11th Ed. St. Louis: Elsevier Inc. 2012; 160-169.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. İnsan moleküler genetiği için araçlar. (Çeviren: Yılmaz E) In: Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. 6th Ed. Ankara, Güneş Kitabevi. 2005: 33-50.

- Offenbacher S, Barros SP, Paquette DW, Winston JL, Biesbrock AR, Thomason RG, Gibb RD, Fulmer AW, Tiesman JP, Juhlin KD, Wang SL, Reichling TD, Chen KS, Ho B. Gingival transcriptome patterns during induction and resolution of experimental gingivitis in humans. *J Periodontol.* 2009; 80(12): 1963-1982.
- Offenbacher S, Haesman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 1993; 64(5): 431-444.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996; 1(1): 821-878.
- Oppenheim JJ, Biragyn A, Kwak LW, Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62(2): 17-21.
- Otto M. Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006; 306: 251-258.
- Ottolini B, Hornsby MJ, Abujaber R, MacArthur JA, Badge RM, Schwarzacher T, Albertson DG, Bevins CL, Solnick JV, Hollox EJ. Evidence of convergent evolution in humans and macaques supports an adaptive role for copy number variation of the β -defensin-2 gene. *Genome Biol Evol.* 2014;27;6(11):3025-38. doi: 10.1093/gbe/evu236.
- Ozşensoy Y, Kurar E. Genetik bağlantı analizi ve uygulama alanları. *Erciyes üniversitesi veteriner fakültesi dergisi.* 2013; 10(1): 53-62.
- Ozturk A, Famili P, Vieira AR. The antimicrobial peptide DEFB1 is associated with caries. *J Dent Res.* 2010; 89(6): 631-636.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997; 14: 9-12.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J periodot Res.* 1991;26:230-242.
- Papapanou P, Lindhe J. Epidemiology of periodontal disease. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 4th Ed. Munksgaard, Copenhagen. 2003: 50-80.
- Passarge E. Renkli genetik atlası. Çevirenler: Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri. 2000.
- Pazgier M, Li X, Lu W, Lubkowski J. Human defensins: Synthesis and structural properties. *Curr Pharm Des.* 2007; 13(30): 3096-3118.

- Pereira AL, Holzhausen M, Franco GC, Cortelli SC, Cortelli JR. Human β -defensin 2 and protease activated receptor-2 expression in patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2012; 57(12): 1609-1614.
- Philpott MP. Defensins and acne. *Mol Immunol.* 2003; 40(7): 457-462.
- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet.* 2005; 366(9499): 1809–1820.
- Potempa J, Banbula A, Travis J. Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses. *Periodontology 2000.* 2000; 24: 153–192.
- Potter RH. Genetic studies of juvenile periodontitis. *J Dent Res.* 1990; 69(1): 94-95.
- Preber H, Bergström J. The effect of non-surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol.* 1986; 13(4): 319-323.
- Preber H1, Bergström J. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy. *J Clin Periodontol.* 1990; 17(5): 324-328.
- Preshaw P. Etiology of periodontal disease. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology.* 11st Ed., St.Louis, Elsevier Saunders. 2012: 193, 193-303
- Raj PA, Dentino AR. Current status of defensins and their role in innate and adaptive immunity. *FEMS Microbiol Lett.* 2002; (20681): 9-18.
- Reich, DE, Lander ES. On the allelic spectrum of human disease. *Trends in Genet.* 2001; 17(9): 502–510.
- Rivas-Santiago B, Serrano CJ, Enciso-Moreno JA. Susceptibility to infectious diseases based on antimicrobial peptide production. *Infect Immun.* 2009; 77(11): 4690-4695.
- Rossa C, Kirkwood K. Molecular biology of the host-microbe interaction in periodontal diseases. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's clinical periodontology.* 11th Ed. St. Louis: Elsevier Inc. 2012: 285-293.
- Sadee, W. Pharmacogenomics. *Western J. Med.* 1999; 171(5-6): 328-332.
- Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 173–201.
- Sánchez AR, Kupp LI, Sheridan PJ, Sánchez DR. Maternal chronic infection as a risk factor in preterm low birth weight infants: the link with periodontal infection. *J Int Acad Periodontol.* 2004; 6(3): 89-94.

- Saxén L, Nevanlinna HR. Autosomal recessive inheritance of juvenile periodontitis: test of a hypothesis. *Clin Genet*. 1984; 25(4): 332-335.
- Saxén L. Heredity of juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1980; 7(4): 276-288.
- Şaylı BK. *Genetik İlkeler*. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. 1981
- Schaefer AS, Richter GM, Nothnagel M, Laine ML, Rühling A, Schäfer C, Cordes N, Noack B, Folwaczny M, Glas J, Dörfer C, Dommisch H, Groessner-Schreiber B, Jepsen S, Schreiber S. A 3' UTR transition within DEFB1 is associated with chronic and aggressive periodontitis. *Genes Immun*. 2010; 11(1): 45-54.
- Schenkein HA. Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view?. *Periodontol 2000*. 2002; 30: 79-80.
- Schenkels LC, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1995; 6(2): 161-175.
- Schulz S1, Machulla HK, Altermann W, Klapproth J, Zimmermann U, Gläser C, Kluttig A, Stein J, Schaller HG, Reichert S. Genetic markers of tumour necrosis factor alpha in aggressive and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(6): 493-500.
- Shapira L, Wilensky A, Kinane DF. Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 (6); 72–86.
- Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1979; 6(5): 351- 382.
- Slots J. The Predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res*. 1977; 85(2): 114-121.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002; 28: 12-55.
- Sofaer JA. Genetic approaches in the study of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1990; 17: 401–408.
- Soylu ÖB, Öztürk Y. Defensinler ve *H. pylori* Enfeksiyonundaki Roller. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2008; 21: 215-221.
- Squier CA. The permeability of oral mucosa. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1991; 2(1):13-32.
- Stabholz A, Mann J, Agmon S, Soskolne WA. The description of a unique population with a very high prevalence of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1998; 25(11); 872-878.

- Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010; 53: 138-53.
- Stolzenberg ED, Anderson GM, Ackermann MR, Whitlock RH, Zasloff M. Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94(16): 8686-8690.
- Sturtevant AH. The linear association of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *Jour Exp Zool* 1913; 14: 43–59.
- Sugita N, Kobayashi T, Ando Y, Yoshihara A, Yamamoto K, van de Winkel JG, Miyazaki H, Yoshie H. Increased frequency of FcγRIIIb-NA1 allele in periodontitis-resistant subjects in an elderly Japanese population. *J Dent Res*. 2001; 80(3): 914-918.
- Taggart CC, Greene CM, Smith SG, Levine RL, McCray PB Jr, O'Neill S, McElvaney NG. Inactivation of human β-defensins 2 and 3 by elastolytic cathepsins. *J Immunol*. 2003; 171(2): 931-937.
- Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*. 2006; 40: 94-106.
- Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphisms and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2004; 35: 158-182.
- Tervonen T, Raunio T, Knuutila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(5): 377-383.
- Teughels W, Quirynen M, Jakubovics N. Periodontal Microbiology. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 11th ed. St. Louis: Elsevier Inc. 2012: 264-266.
- Tezok F. Genetikte Temel Prensipler ve İnsan' Genetiğindeki Değerlendirilmeleri. Bursa, Bursa Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No. A-I. 1977: 182-190.
- Tiszlavicz Z, Szabolcs A, Takács T, Farkas G, Kovács-Nagy R, Szántai E, Sasvári-Székely M, Mándi Y. Polymorphisms of beta defensins are associated with the risk of severe acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2010; 10(4): 483-490.
- Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 39-53.
- Tonetti MS. Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1): 88-101.

- Tonetti MS1, Pini-Prato G, Cortellini P. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(3): 229-234.
- Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2):24-32.
- Ustun K, Alptekin, NO, Hakki SS, Hakki EE. Investigation of matrix metalloproteinase-1 -1607 1G/2G polymorphism in a Turkish population with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology.* 2008;35(12):1013-1019.
- Vardar-Sengul S, Demirci T, Sen BH, Erkizan V, Kurulgan E, Baylas H. Human beta defensin-1 and -2 expression in the gingiva of patients with specific periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2007; 42(5): 429-437.
- Vijayalakshmi R, Geetha A, Ramakrishnan T, Emmadi P. Genetic polymorphisms in periodontal diseases: an overview. *Indian J Dent Res.* 2010; 21(4): 568-574.
- Wimley WC, Selsted ME, White SH. Interactions between human defensins and lipid bilayers: evidence for formation of multimeric pores. *Protein Sci.* 1994; 3(9): 1362 -1373.
- Wolf DL1, Neiderud AM, Hinckley K, Dahlén G, van de Winkel JG, Papapanou PN. Fcγ receptor polymorphisms and periodontal status: a prospective follow-up study. *J Clin Periodontol.* 2006;33(10):691-8. Epub 2006 Aug 3.
- Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH. *Parodontologie* 3th Ed. Çeviri: Çağlayan G, Hatipoglu H. *Dişhekimliği'nin Renkli Atlasları Periodontoloji.* Palme Yayınları, Ankara. 2007: 95-118.
- Yamamoto K, Kobayashi T, Grossi S, Ho AW, Genco RJ, Yoshie H, De Nardin E. Association of Fcγ receptor IIa genotype with chronic periodontitis in Caucasians. *J Periodontol.* 2004;75(4):517-22.
- Yamazaki K, Yoshie H, Seymour GJ. T cell regulation of the immune response to infection in periodontal diseases. *Histol Histopathol.* 2003; 18(3): 889–896.
- Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, Anderson M, Schröder JM, Wang JM, Howard OM, Oppenheim JJ. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 1999; 286(5439): 525-528.
- Yang D, Liu ZH, Tewary P, Chen Q, Rosa G, Oppenheim JJ. Defensin participation in innate and adaptive immunity. *Curr Pharmaceutic Des.* 2007; 13(30): 3131-3139.

Yong X, Chen Y, Tao R, Zeng Q, Liu Z, Jiang L, Ye L, Lin X. Periodontopathogens and human β -defensin-2 expression in gingival crevicular fluid from patients with periodontal disease in Guangxi, China. *J Periodontal Res*. 2015; 50(3): 403-410.

Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*. 2002; 415(6870): 389-395.

Zhang J, Sun X, Xiao L, Xie C, Xuan D, Luo G. Gene polymorphisms and periodontitis. *Periodontol 2000*. 2011; 56(1): 102-124.



Ek 1- Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/ 1024,

28.04.2014

Sayın : Yrd.Doç.Dr.Ayla ÖZTÜRK

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz **Beta defansin fonksiyonel gen polimorfiziminin kronik periodontitis ve Agresif periodontitisle ilişkisi** başlıklı OMÜ KAЕК 2014/588 Karar nolu Biyokimya çalışması+ Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz.Amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergesine göre 27.03.2014 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra *başlanmasına* oy birliği ile karar verilmiştir.
Bilgilerinize arz/rica ederim.


Prof.Dr.Abdülkerim BEDİR
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Başkanı

Ek 2- Hasta Onay Formu Örneği

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU *

ARAŞTIRMANIN ADI (Beta defensin fonksiyonel gen polimorfiziminin kronik periodontitisle ilişkisi):

Gönüllünün Baş Harfleri << >>

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğimize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer bir başka çalışmada da yer alıyorsanız bu çalışmada yer alamazsınız.

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDAMIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Katılmaya karar verirseniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığınız tedavinin standardını etkilemeyecektir. Eğer isterseniz, bu klinik çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Ayrıca destekleyici firma çalışmayı sonlandırmaya karar verirse bu durumda da çalışmadan çıkartılacaksınız.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR?

Amaç: İnsan genomundaki genlerdeki farklılıkların dişeti hastalıkları ile ilişkisinin incelenmesi

Konu: Genlerdeki bireysel farklılıklar hastalıklara yatkınlıktan ve hastalıklara dirençten sorumludur. İnsan genomunu oluşturan bazı genler ve bu genlerin diziliminde görülen değişiklikler, bireylerde dişeti hastalıkları gibi kronik hastalıkların görülme sıklığında hastalığın başlaması, ilerlemesi ve şiddeti üzerinde etkisi olabilir. Çalışmalar periodontal hastalık riskinin her birey için eşit olmadığını göstermektedir. Periodontal hastalıklar gibi kompleks hastalıklar genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Biz bu çalışma ile insanın taşıdığı genetik özelliklerin dişeti iltihaplanmasına ve nihai olarak diş kaybına sebep olan dişeti hastalıklardan kronik periodontitis ile ilişkisini incelenmeyi planlamaktayız. Çalışmamızda bireyler arasındaki genetik farklılıkların periodontal hastalığa yatkınlıktaki rolünün

değerlendirilecektir. Ayrıca bu genetik yapının dişeti oluğu sıvısındaki protein seviyelerine etkisi değerlendirilip hastalık ile ilişkisinin ortaya konulacaktır.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Bu çalışmada periodontal muayenede rutin olarak uygulanan klinik muayeneleri yapılarak, dişlerinizden ölçümler alınacak ve diş verileriniz değerlendirilecektir. Çalışmamız için 2 ml periferik kan örneği alınarak DNA ekstraksiyonu yapılacaktır. Kan alma işleminin riskleri çok az olup, iğnenin girdiği yerde hafif ağrı ya da çok az morarma olabilir. Oluşabilecek herhangi bir problemde gerekli müdahaleler yapılacaktır. Buna ilaveten, Dişeti oluğu sıvısı diş ve dişeti arasındaki boşluktan bu gördüğünüz sıvı emici özelliği olan özel kâğıt yardımı ile alınacaktır. Bu işlem ağrısız anestezi gerektirmeyen bir işlemdir.

BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Çalışma doktorunuzun talimatlarına uymaya, randevu ve vizitelere katılmaya ve yukarıda anlatılan çalışmayla ilgili tüm işlemlere uymaya istekli olmalısınız. Çalışma doktorunuzu ziyarete belirlenen günlerde gelmelisiniz ve bir sonraki ziyaretiniz de, ziyaretten ayrılmadan önce planlanmalıdır. Yine çalışmadan önce veya çalışma sırasında aldığınız başka herhangi bir tıbbi tedaviyi de çalışma doktoruna söylemeniz önemlidir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Çalışmamız için 2 ml periferik kan örneği alınacaktır. Kan alma işleminin riskleri çok az olup, iğnenin girdiği yerde hafif ağrı ya da çok az morarma olabilir. Oluşabilecek herhangi bir problemde gerekli müdahaleler yapılacaktır. Buna ilaveten, Dişeti oluğu sıvısı diş ve dişeti arasındaki boşluktan bu gördüğünüz sıvı emici özelliği olan özel kâğıt yardımı ile alınacaktır. Bu işlem ağrısız anestezi gerektirmeyen bir işlemdir.

GEBELİK VE DOĞUM KONTROLÜ

Eğer doğurganlık döneminde ve emziriyorsanız bu çalışmaya katılamazsınız. Lütfen hekiminize bildiriniz.

ÇALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR? (Varsa açıklayınız)

Bu çalışma size bir katkı sağlamayacaktır. Ancak bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sizin gibi ileri periodontal hastalığı olan hastalarının tedavilerine yardımcı olmak, yaşam kalitelerini arttırmak için ve yol gösterici olabilmek amacıyla yapılmaktadır.

GÖNÜLLÜ KATILIM

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğim veya katıldıktan sonra istediğim zaman, bu tedavi kurumunda göreceğim bakım ve tedaviler etkilenmeksizin ve hiçbir sorumluluk almadan ayrılabilirim. Çalışmadan her hangi bir zamanda ayrılırsam,

ayırılma nedenlerimi, ayrılışımın sonuçlarını ve izleyen dönemde alacağım tedavileri doktorumla tartışacağım.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Çalışma doktoru ziyaretleri ve çalışmayla ilgili olan tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyici tarafından karşılanacak ve size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir. Ayrıca çalışmaya bağlı makul miktardaki yol gideriniz makbuzları gösterildiği takdirde karşılanacaktır.

Herhangi bir yan etki veya fiziksel zarar gelişirse hemen çalışma doktorunuzu gereken tıbbi tedavinin uygulanabilmesi için bilgilendiriniz.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu formu imzalayarak doktorunuzun ve onun kadrosunun çalışma için sizin kişisel bilgilerinizi ("Çalışma Verileri") toplamalarına ve kullanmalarına onay vermiş olacaksınız. Bu durum doğum tarihiniz, cinsiyetiniz, etnik kökeniniz ayrıca Çalışma verilerinizin kullanımı ile ilgili verdiğiniz onayın herhangi bir belirlenmiş birim tarihi yoktur, ancak doktorunuzu haberdar ederek bu onayınızdan herhangi bir zamanda vazgeçebilirsiniz.

Çalışma destekleyicisi firma ile paylaşılan çalışma verileri size özel bir numara olan bir kod ("Kod") numarası kullanımıyla korunacaktır. Sizin çalışma verilerinize ulaşmak için gerekli olan kod anahtarı çalışma doktorunuzun denetimindedir. Çalışma destekleyicisi firma düzenleyici otorite veya diğer denetim kurumları tarafından atanmış kişiler doktorunuz tarafından tutulan çalışma verilerinizi inceleyebilirler.

Doktorunuz çalışma verilerinizi çalışma için kullanacaktır. Çalışma destekleyicisi firma; çalışmanın yürütülmesi, teşhis ve tıbbi yardım gereçlerinin geliştirilmesi için çalışma verilerinizi kullanabilir. Doktorunuzun çalıştığı kurum ve çalışma destekleyicisi firmanın her ikisi de yürürlükte olan veri koruma kanunları ile uyumlu olarak çalışma verilerinizin yönetiminden sorumludurlar.

Çalışma destekleyicisi firma çalışma verilerinizi, sadece yukarıda belirtilen amaçlarda kullanacak olan kendi grubundaki diğer şirketler, hizmet alınan kurumlar, anlaşmalı firmalar ve diğer araştırma kuruluşları ile paylaşabilir. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda açıklanmayacaktır.

Doktorunuz ya da çalışma destekleyicisi firmadan, toplanan çalışma verileriniz hakkında bilgi isteme hakkında sahipsizsiniz. Aynı zamanda bu verilerdeki herhangi bir hatanın düzeltilmesini isteme hakkında da sahipsizsiniz. Eğer bu konuda bir isteğiniz olursa lütfen gerekirse sizin çalışma destekleyicisi firma ile temasa geçmenize yardımcı olabilecek doktorunuzla görüşünüz.

Eğer onayınızda vazgeçerseniz, doktorunuz çalışma verilerinizi artık kullanamayacak ya da diğer kişilerle paylaşamayacaktır. Çalışma destekleyici firma onayınızdan vazgeçmeden önceki çalışma verilerinizi kullanmaya devam edebilir.

Bu formu imzalayarak, çalışma verilerinizin bu formda tanımlandığı şekilde kullanımına onay vermekteyim.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE 24 SAAT ULAŞILABİLECEK KİŞİLER:

Ad, Soyadı ve telefon numaraları

Yrd. Doç Dr. Ayla Öztürk

ÇALIŞMADAN AYRILMAMI GEREKTİRECEK DURUMLAR:x

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler bana derhal iletilecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sevda KURT

Doğum Yeri: Pazar/RİZE

Doğum Tarihi: 02.12.1987

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

11 Mart İlkokulu-Şehit Cavit Köroğlu İlköğretim Okulu, 2001 (İlköğretim)

Yabancı Dil Ağırlıklı Fındıklı Lisesi, 2005 (Lise)

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2010(Lisans)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı,
2016 (Doktora)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Rize Pazar Devlet Hastanesi, 2010 (Diş Hekimi)

Rize Kaçkar Devlet Hastanesi, 2011 (Diş Hekimi)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı,
2011-2016 (Araş.Gör.)

İletişim Bilgileri:

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim
Dalı, Atakum, Samsun, Türkiye

E-posta: dt.sevdakurt@hotmail.com