

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**SİGARA İÇEN VE İÇMEYEN KRONİK PERİODONTİTİSLİ
BİREYLERDE DİŞETİ DOKUSU MMP-2 VE MMP-9 SEVİYELERİ**

Doktora Tezi

Dt. Rahşan Atasoy Şentürk

Ankara/2013

TC
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**SİGARA İÇEN VE İÇMEYEN KRONİK PERİODONTİTİSLİ
BİREYLERDE DİŞETİ DOKUSU MMP-2 VE MMP-9 SEVİYELERİ**

D-KA11/07 no'lu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Doktora Tezi

Dt. Rahşan Atasoy Şentürk

Danışman

Prof. Dr. Şule Bulut

Ankara/2013

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Periodontoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Dt. Rahşan ATASOY ŞENTÜRK tarafından yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/07/2013

Tez Konusu: “Sigara İçen ve İçmeyen Kronik Periodontitisli Bireylerde Dişeti Dokusu MMP-2 ve MMP-9 Seviyeleri”

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Şule BULUT

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Şule BULUT

Prof. Dr. Dilek İLHAN

Prof. Dr. Emine Elif ALAADDİNOĞLU

Doç. Dr. Ayşe GÜLŞAHI

Yrd. Doç. Dr. Bahar Füsün ODUNCUOĞLU

ONAY: Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun 11/07/2013 tarih, 102 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Rengin ERDAL
Müdür

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösteren, doktora tezimin gerçekleşmesini sağlayan, tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Şule Bulut'a,

Çok değerli klinik ve akademik tecrübelerinden faydalanma olanağı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Bayazıt Bağcı'ya,

Eğitimim sırasında , her ihtiyacım olduğunda klinik ve akademik tecrübeleri ile bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Emine E. Alaaddinoğlu'na,

Hiçbir zaman sabrı ve hoşgörüsünü yitirmeden, içtenlikle bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam Yard. Doç. Dr. Bahar Füsün Oduncuoğlu'na,

Tez yazım aşamasında bana gösterdiği anlayıştan dolayı başta değerli hocam Prof. Dr. Dilek İlhan olmak üzere, Hacettepe Üniversitesi'ndeki tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma,

Doktora eğitimimin güzel ve zorlu günlerini paylaştığım sevgili arkadaşlarım Deniz Göçhan, Derya Kutsal ve Demet Şahin'e,

Bütün eğitim hayatım boyunca özveri ile beni destekleyen ve her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Bu süreçte bana hep destek olup sabreden sevgili eşime ve ailesine,

Varlığıyla herşeyi bir kat daha anlamlandıran ve bana güç veren CANIM OĞLUM İRFAN'A teşekkürler...

ÖZET

Sigaranın periodontitis için bir risk faktörü olduğu bilinse de, periodontal yıkım mekanizmasını nasıl etkilediği tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada sigaranın ve kronik periodontitisin, dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine olan etkisini; MMP-2 ve MMP-9'un periodontal hastalıktaki rolünü ve sigaranın jelatinazlarla olan ilişkisini belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışmaya yaşları 16-62 arasında değişen, 35'i kadın, 45'i erkek olmak üzere toplam 80 birey dahil edildi. Çalışma grupları sigara içen kronik periodontitis grubu (n=20), sigara içmeyen kronik periodontitis grubu (n=20), sigara içen kontrol grubu (n=20) ve sigara içmeyen kontrol grubu (n=20) olarak belirlendi. Tüm bireylerde periodontal parametreler (cep derinliği, dişeti çekilmesi, plak indeksi ve gingival indeks) kaydedildi ve aynı seans dişeti doku örnekleri alındı. Periodontitisli hastalarda dişeti dokusu örnekleri en derin periodontal cebin olduğu bölgeden, kontrol grubu bireylerin örnekleri ise kron boyu uzatma ve ortodontik diş çekimi işlemleri sırasında elde edildi. Dişeti örneklerinde enflamatuar hücre, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerleri hematoksilen-eozin boyaması ile; MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri ise immünohistokimyasal boyama ile değerlendirildi. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda periodontitisli hastaların dişetindeki MMP-2 ve MMP-9 seviyesi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sigaranın periodontitisli bireylerde MMP-2 ve MMP-9 seviyesini düşürdüğü; fakat kontrol grubunda MMP-2 seviyesi üzerine etkisi olmadığı, MMP-9 seviyesini ise arttırdığı görülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca periodontitisli bireylerde MMP-2 ve MMP-9 seviyesi ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda MMP-2 ve MMP-9 değerleri periodontitis hastalarında yüksek çıksa da sigaranın MMP-2 ve MMP-9 üzerine etkisine dair olan sonuçlar çelişkilidir. Sigaranın jelatinazlara olan etkisini belirleyebilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: sigara, periodontitis, jelatinaz, dişeti dokusu.

ABSTRACT

Although it is known that smoking is a risk factor for periodontitis, it is not yet clear how it affects periodontal destruction mechanism. The aim of this study was to determine the effects of smoking and chronic periodontitis on gingival MMP-2 and MMP-9 levels, to determine the role of MMP-2 and MMP-9 on periodontal disease and to determine the relationship between smoking and gelatinases.

35 women, 45 men aged between 16-62 were included in this study (total 80 patients). Patients were divided into four groups: smokers with chronic periodontitis (n=20), non-smokers with chronic periodontitis (n=20), smokers without periodontal disease (control n=20), non-smokers without periodontal disease (control n=20). Periodontal parameters (pocket depth, gingival recession, plak index, gingival index) were recorded in each individual and gingival tissue samples were obtained in the same appointment. Gingival tissue samples were obtained from the deepest periodontal pocket in the periodontitis patients. Samples of the control groups were obtained during crown-lengthening or orthodontic tooth extraction procedures. Inflammatory cell, neovascularization and fibroblastic proliferation levels were evaluated in the tissue samples with hematoxylin and eosin staining, MMP-2 and MMP-9 levels were evaluated with immunohistochemical staining. After statistical analyses, MMP-2 and MMP-9 levels were found to be higher in patients with periodontitis compared to control groups ($p < 0,05$). It was also found that smoking decreased the MMP-2 and MMP-9 levels in patients with chronic periodontitis but had no effect on MMP-2 levels in the control group and increased the MMP-9 levels in the control groups ($p < 0,05$). Also it was found that there were positive correlation between MMP-2 and MMP-9 levels and inflammation, neovascularization and fibroblastic proliferation.

In this study MMP-2 and MMP-9 levels were found to be higher in chronic periodontitis patients but the results on the effects of smoking on MMP-2 and MMP-9 levels were conflicting. Further studies are needed to find out the effects of smoking on gelatinases.

Key words: smoking, periodontitis, gelatinase, gingival tissue.

İÇİNDEKİLER

<u>DİZİN</u>	<u>SAYFA NUMARASI</u>
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	ix
ŞEKİLLER.....	xi
TABLolar.....	xii
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Periodontitis.....	3
2.1.1. Klinik Özellikler	3
2.1.2. Periodontitis Etyolojisi ve Patogenezi.....	4
2.2. Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri.....	6
2.2.1. Risk Faktörleri.....	7
2.2.2. Risk Belirleyicileri.....	7
2.2.3. Risk Göstergeleri.....	7
2.2.4. Risk İşaretleri.....	7
2.3. Sigara ve Periodontal Hastalıklar.....	8
2.3.1. Sigara ve Mikrobiyoloji.....	9
2.3.2. Sigara ve Konak Cevabı	10
2.4. Bağ Dokusu ve Ekstraselüler Matriks.....	11
2.4.1. EM'nin Yıkım Mekanizmaları.....	13
2.5. Matriks Metalloproteinazlar.....	16
2.5.1. MMP Aktivasyonunun Düzenlenmesi.....	22
2.5.2. Jelatinazlar.....	24
2.5.3. Periodontal Hastalıklarda MMP'lerin Rolü.....	24
3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Çalışma Grupları.....	27

3.2. Periodontal Ölçümler	27
3.3. Dişeti Doku Örneklerinin Elde Edilmesi.....	28
3.4. Laboratuvar Çalışmaları.....	28
3.4.1. Hematoksilen Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	28
3.4.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri ve Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	29
3.5. İstatiksel Değerlendirmeler.....	30
4 BULGULAR.....	31
4.1. Demografik Veriler.....	31
4.2. Gruplar Arası Farklılıklar.....	32
4.2.1. Klinik Parametrelerin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	32
4.2.2. Histopatolojik Bulguların Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	34
4.2.3 İmmünohistokimyasal Bulguların Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	39
4.3. Grup içi Farklılıklar	
4.3.1. Sigara İçen Periodontitis Hastalarındaki Grup içi Karşılaştırmalar.....	45
4.3.2. Sigara İçmeyen Periodontitis Hastalarındaki Grup içi Karşılaştırmalar.....	48
4.3.3. Sigara İçen Kontrol Hastalarındaki Grup içi Karşılaştırmalar.....	50
4.3.4. Sigara İçmeyen Kontrol Hastalarındaki Grup içi Karşılaştırmalar.....	53
4.4. Değerlendirilen Parametreler Arasındaki Korelasyonlar.....	55
4.4.1. Periodontal Parametrelerin Histopatolojik Bulgularla Korelasyonu.....	55
4.4.2 İmmünohistokimyasal Bulguların Histopatolojik Bulgularla Korelasyonu.....	57
5 TARTIŞMA.....	60
6 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
7 KAYNAKLAR.....	69

KISALTMALAR VE SİMGELER

µg	Mikrogram
A.a.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AIDS	Kazanılmış immün yetmezlik sendromu
CD	Cep derinliği
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
E.c.	Eikenella corrodens
EDTA	Etilen diamin tetra asetat
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EM	Ekstraselüler matriks
F.c.	Fusobacterium nucleatum
FGF	Fibroblastik büyüme faktörü
GAG	Glikozaminoglikan
Gİ	Gingival indeks
HE	Hematoksilen-eozin
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
IFN	İnterferon
K	Kontrol
KAS	Klinik ataçman seviyesi
KP	Kronik periodontitis
LDF	Laser doppler flowmeter
LPS	Lipopolisakkarit
ml	mililitre
MMP	Matriks metalloproteinaz
MT	Membran tipi
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
P.g.	Porphyromonas gingivalis
PG	Proteoglikan
PGE-2	Prostaglandin E-2
P.i.	Prevotella intermedia
Pİ	Plak indeksi

PMNL	Polimorfonükleer lokosit
S	Sigara içen
T.f.	Tannerella forsythia
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
TIMP	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF	Tümör nekrotizan faktör

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Periodontitis patogenezi.....	6
Şekil 2.2. MMP'lerin molekül yapısı.....	21
Şekil 4.1. Çalışma gruplarına göre yaş dağılımı.....	32
Şekil 4.2. Gruplara göre gingival indeks ortalamaları.....	33
Şekil 4.3. S+KP grubu dişeti örneğine ait histopatolojik görüntü.....	35
Şekil 4.4. KP grubu dişeti örneğine ait histopatolojik görüntü.....	35
Şekil 4.5. S+K grubu dişeti örneğine ait histopatolojik görüntü.....	36
Şekil 4.6. K grubu dişeti örneğine ait histopatolojik görüntü	36
Şekil 4.7. Histopatolojik bulguların gruplar arası karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.8. S+KP grubu dişeti örneğine ait MMP-2 boyanması.....	39
Şekil 4.9. S+KP grubu dişeti örneğine ait MMP-9 boyanması.....	40
Şekil 4.10. KP grubu dişeti örneğine ait MMP-2 boyanması.....	40
Şekil 4.11. KP grubu dişeti örneğine ait MMP-9 boyanması.....	41
Şekil 4.12. S+K grubu dişeti örneğine ait MMP-2 boyanması.....	41
Şekil 4.13. S+K grubu dişeti örneğine ait MMP-9 boyanması	42
Şekil 4.14. K grubu dişeti örneğine ait MMP-2 boyanması.....	42
Şekil 4.15. K grubu dişeti örneğine ait MMP-9 boyanması.....	43
Şekil 4.16. MMP-2 ve MMP-9 pozitifliğinin gruplara göre dağılımı.....	44

TABLolar

Tablo 2.1. MMP'lerin regülasyonu.....	14
Tablo 2.2. MMP'ler ve substratları.....	17-19
Tablo 4.1. Gruplara göre cinsiyet dağılımı.....	31
Tablo 4.2. Gruplara ait yaş ortalamaları.....	32
Tablo 4.3. Periodontal parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması.....	33
Tablo 4.4. Histopatolojik bulguların gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Tablo 4.5. İmmünohistokimyasal bulguların gruplar arası karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.6. S+KP grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grup içi karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.7. S+KP grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik grup içi karşılaştırılması.....	47
Tablo 4.8. KP grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grup içi karşılaştırılması.....	48
Tablo 4.9. KP grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik grup içi karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.10. S+K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grup içi karşılaştırılması.....	51
Tablo 4.11. S+K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik grup içi karşılaştırılması.....	52
Tablo 4.12. K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grup içi karşılaştırılması.....	53
Tablo 4.13. K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik grup içi karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.14. Gruplarda periodontal parametrelerin histopatolojik bulgularla korelasyonu.....	56
Tablo 4.15. Gruplarda immünohistokimyasal bulguların histopatolojik bulgularla korelasyonu.....	58

1 GİRİŞ

Periodontitis; peridontal dokuların inflamasyonu ve kronik enfeksiyonu sonucunda oluşan, periodontal dokuların yıkımına, periodontal ataçman kaybına ve alveol kemik rezorpsiyonuna sebep olan enfeksiyöz bir hastalıktır (1).

Periodontal hastalıkta görülen kronik dişeti iltihabı; bağdokusu ve ekstraselüler matriks (EM) bileşenlerinin yıkımı ile karakterizedir. Bağ dokusu; hücreler, fibriller ve matriks bileşenlerinden oluşmaktadır. Fibriller temel olarak tip I ve tip III kollajen fibrillerinden oluşmaktadır. Daha az olarak ise kollajen tip IV,V,VI ve VII bulunmaktadır. Kollajen fibriller kollajen olmayan elastin, oksitalan ve elauninden oluşan fibrillerle de ilişkidedir. EM' de ayrıca fibronektin, laminin, vitronektin, tenaskin, entaktin gibi glikoproteinler de bulunmaktadır. Mineralize olmayan bağ dokusu bileşenleri, temel olarak ekstraselüler matriks metalloproteinaz (MMP) bağımlı bir yol ile yıkıma uğramaktadır (2).

MMP'ler, periodonsiyumda bulunan, periodontal dokulara infiltre olan nötrofil ve makrofajlardan ve aynı zamanda bağ dokusu hücrelerinden, epitel, fibroblast, osteoblast ve osteoklastlar tarafından sentezlenen ve salgılanan, çinko ve kalsiyum bağı endopeptidazların bir ailesidir. MMP'ler nötral pH'da ekstraselüler matriks bileşenlerini yıkıma uğratabilirler. Embriyonik gelişim ve doku remodelingi gibi fizyolojik olaylar ve periodontitis, artrit ve kanser gibi patolojik durumlar MMP aktivitesi ile kontrol edilmektedir (3).

MMP'ler altı alt gruba ayrılmıştır (4):

1. Kollajenazlar
2. Jelatinazlar
3. Stromelisinler
4. Matrilisinler
5. Membran tip MMP'ler (MT-MMP)
6. Diğerleri

Jelatinazların tip A (MMP-2) ve tip B (MMP-9) olmak üzere iki alt grubu mevcuttur. Jelatinaz A (MMP-2); keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler, osteoblastlar, monositler gibi pek çok hücre tarafından sentezlenir (5). Jelatinaz B (MMP-9) ise ilk olarak 1974 yılında Sapota ve Dancemicz tarafından polimorfonükleer lökositlerden (PMNL) salgılanan bir jelatinolitik enzim olarak tanımlanmıştır (6). Jelatinazlar denatüre kollajenleri (jelatin), laminini, elastini, fibronektini ve tip I, IV, V, VII, X kollajeni parçalayabilmektedir (7-10).

Yapılan çalışmalarda MMP-2 ve MMP-9, periodontitis hastalarının enflamatuvar alanlarında, doku ve DOS'ta artmış seviyelerde tespit edilmiştir (7,11-15).

Çok sayıda epidemiyolojik çalışmada, sigaranın periodontal hastalıklar için risk faktörü oluşturduğu belirtilmiştir (16-19). Sigara bakterilere karşı immün cevabı azaltarak nötrofillerin kemotaksis, fagositoz ve oksidatif mekanizmasında bozulmaya sebep olur (20). Ayrıca sigara içmek sitokinlerin ve inflamatuvar medyatörlerin üretimine de katkıda bulunabilir (21). Sigara içenlerin cep sıvılarında tümör nekrotizan faktör- α (TNF), prostoglandin E-2(PGE-2), nötrofil elastaz ve MMP-8 seviyelerinde artış tespit edilmiştir (22). Sigaranın MMP'ler ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) arasındaki dengeyi bozduğu da bildirilmiştir(23).

Yapılan literatür taramasında sigaranın jelatinazlar üzerindeki etkisini doku örneklerinde araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda; sigara içmenin ve kronik periodontitisin, dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine olan etkisini; ayrıca MMP-2 ve MMP-9'un periodontal hastalıktaki rolünü ve sigaranın jelatinazlarla olan ilişkisini tespit etmek amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontitis

Periodontitis, diş çevresine kolonize olan patojen mikroorganizma türleri ve bunlara karşı gelişen konak cevabı tarafından oluşturulan, periodontal doku yıkımı ile karakterize kronik bir enfeksiyondur (24, 25). Bir yanda mikroorganizmaların virulansı ve miktarı, diğer yanda ise konağın cevabı (immünite, genetik ve risk faktörlerinin varlığı) periodontal yıkımın ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde etkilidir (26).

Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin 1999 yılında yaptığı sınıflamaya göre periodontitis; kronik periodontitis (KP), agresif periodontitis ve sistemik hastalığa bağlı olarak gelişen periodontitis olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır (27). Periodontitisin en sık görülen şekli, eskiden erişkin periodontitisi olarak bilinen kronik periodontitistir. Genel olarak yavaş ilerleyen bir hastalık olarak kabul edilir. Fakat diabet, sigara kullanımı, stres gibi konak yanıtını değiştirebilecek sistemik ve çevresel faktörler varlığında daha hızlı bir şekilde ilerler. KP genellikle yetişkinlerde görülmekle birlikte, yaştan bağımsız olarak mikrobiyal dental plağın kronik birikimine cevap olarak çocuklarda ve gençlerde de görülebilir ve bu yüzden hastalığın adı erişkin periodontitisten, kronik periodontitise çevrilmiştir (28). Hastalık, dünya üzerindeki yetişkin popülasyonun %10-15'ini etkilemekte ve diş kayıplarının başlıca sebebi olarak nitelendirilmektedir (29).

2.1.1 Klinik Özellikler

Tedavi edilmemiş KP'li hastalardaki karakteristik klinik görüntü genellikle diştaşlarının eşlik ettiği supragingival ve subgingival plak birikimidir (30). KP'nin başlıca klinik özellikleri; dişeti rengi ve kıvamındaki değişiklikler, dişeti inflamasyonu, sondalamada kanama, patolojik cep varlığı ve klinik ataçman kaybıdır. Ayrıca bazı vakalarda dişeti büyümesi veya dişeti çekilmesi, kök ve furkasyon bölgelerinin açığa çıkması, artmış diş mobilitesi ve dişlerin migrasyonu da görülebilmektedir (31). Radyografik olarak ise alveolar kemik kaybı önemli bir bulgudur(30).

KP, ağızda etkilenen bölgelerde, eşit hızla ilerlemeyebilir. Bazı bölgeler uzun süre stabil kalırken, başka bölgelerde hastalık hızla ilerleyebilir. Hastalığın seyrinin

hızlandığı bu bölgeler genellikle interproksimal bölgeler, kron kenarları, furkasyon bölgeleri gibi plak birikiminin kolaylaştığı ve kontrolünün zayıfladığı alanlardır.

Kronik periodontitis lokalize ve generalize olmak üzere 2'ye ayrılır:

Lokalize Kronik Periodontitis: Ataçman ve kemik kaybından etkilenen bölge sayısı tüm ağzın % 30'unun altındadır.

Generalize Kronik Periodontitis: Ataçman ve kemik kaybından etkilenen bölge sayısı tüm ağzın % 30'u veya üzerindedir.

KP'de yıkımın şiddeti zamanla ilişkilidir. Hastalık süresi uzadıkça yıkım miktarı artmaktadır. Artan yaşla birlikte ataçman ve kemik kaybı artar. KP hastalık şiddeti bakımından üçe ayrılabilir:

Hafif Şiddette Periodontitis: Klinik ataçman kaybı 1-2 mm arasında sınırlı kalmıştır.

Orta Şiddette Periodontitis: Klinik ataçman kaybı 3-4 mm arasındadır.

İleri Şiddette Periodontitis: Klinik ataçman kaybı 5 mm ve üzerindedir (28).

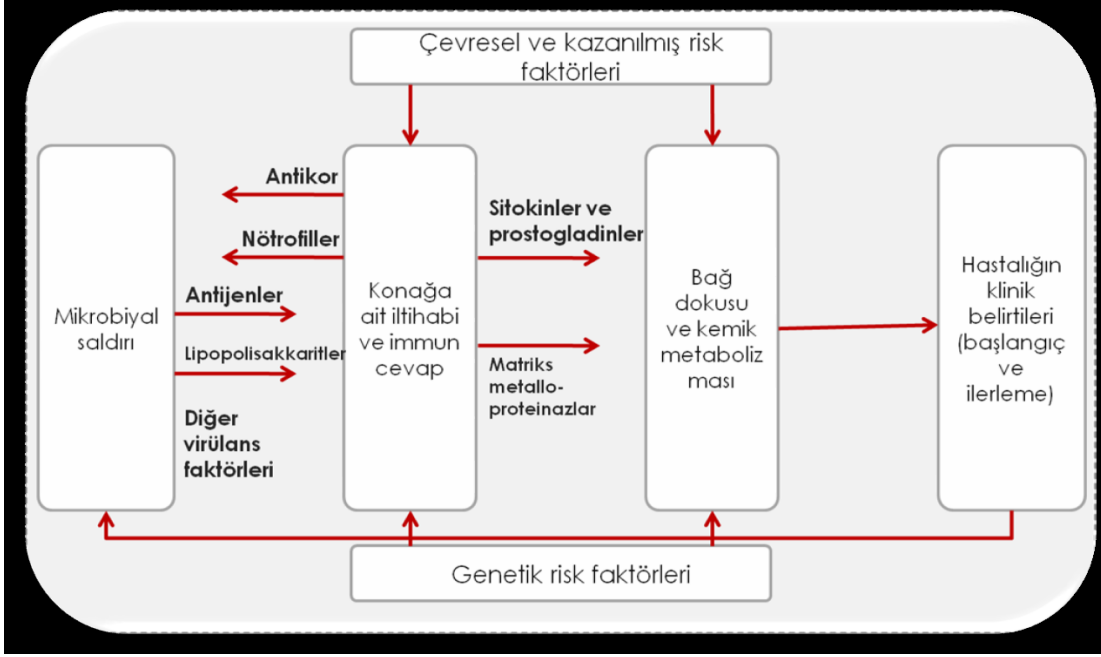
2.1.2 Periodontitis Etiyolojisi ve Patogenezi

Periodontal hastalık oluşumunda esas etken bakteriyel dental plaktır. Dental plak; diş yüzeyine tutunan karmaşık yapıları içinde pek çok mikroorganizmanın bulunduğu mikrobiyal biyofilmdir. Dental plakta bulunan en önemli periodontopatojenler *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a), *Tannerella forsythia* (T. f.), spiroketler, *Prevotella intermedia* (P.i.), *Camphylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Treponema denticola*, *Streptococcus intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum* (F.n.) ve *Eikenella corrodens* (E.c.)'dir (32,33). Bu mikroorganizmalar salgıladıkları proteolitik enzimlerle direkt yolla periodontal yıkım yaparken; toksin ve lipopolisakkarit (LPS) gibi patojen ürünlerin yardımıyla yıkıcı enzim salgılayan konak hücre gruplarını uyararak veya lenfosit ve makrofajlardan sitokin salgılanması ve immün cevabın tetiklenmesi ile doku yıkım mekanizmalarını aktive ederek, indirekt yolla da periodontal yıkıma sebep olabilirler (34,35).

İmmünolojik mekanizmaların periodontal hastalığın patogenezi üzerinde etkili olduğu kabul edilmiş bir gerçektir (36). Yapılan çeşitli çalışmalarda gingivitis ve periodontitis hastalarında dişeti, dişeti oluğu sıvısı ve tükürükte; proinflamatuvar, antiinflamatuvar ve antifibrojenik sitokinlerin miktarında artış olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, bu moleküllerin bağışıklık fonksiyonunu düzenlediğine ve EM bileşenlerinin ve MMP'lerin üretimini düzenleyerek doku hasarını etkilediğine inanılmaktadır. Bu etki direkt olarak ya da diğer sitokin ve büyüme faktörlerinin üretimini indüklemeye yolu ile meydana gelebilir. (37).

Patojen mikroorganizmalar florada baskın hale geldiğinde kompleman sistemi devreye girer. Kompleman sistemi, periodontopatojenleri kontrol etmede başarılı olamazsa periodontal enfeksiyon bölgesine PMNL migrasyonu başlar. PMNL'ler, etken bakteri ve bakteri ürünlerini fagositoz, enzim ve serbest radikal salınımı yoluyla ortadan kaldırılabilseler hastalık gingivitisle sınırlı kalır. Fakat bu mekanizmalar yeterli olmazsa, bakteri ve bakteri ürünleri konak dokulara penetre olur, doku yıkımı görülür ve bu yıkımın ilerlemesi ile hastalık periodontitise dönüşür (38).

Mikroorganizmaların antijenleri, LPS'ler ve diğer virulans faktörleri, konak yanıtını uyarak, iltihabi sürecin başlamasına neden olurlar. Konak bu duruma karşı antikorlar ve PMNL ile yanıt verir. Hastalığın ilerlemesiyle ortama konak hücrelerinden sitokin, büyüme faktörleri, prostanoit ve MMP'ler salınır. İltihaba bağlı değişiklikler sonucunda kan damarları genişler ve geçirgenlikleri artar; lökositler için farklı tipte adezyon molekülleri salınır. Bu kan damarlarından göç eden nötrofiller savunmada yer alan öncü hücrelerdir (39-41). Nötrofiller, etken mikroorganizma ve ürünlerini fagositoz ve hücre içi öldürme mekanizmaları yoluyla ortadan kaldırıp anaerobik bir çevrede nötralize ederler. Başarısız olduklarında bağ dokusuna infiltre olan monositler bölgeye gelir ve doku makrofajlarına dönüşür, antijeni ya tümüyle sindirirler veya kısmen sindirilmiş antijeni lenfositlere sunarlar. Bu noktada periodontal hastalık meydana gelir. Aynı dönemde kollajenaz, antikor, PGE-2, kompleman faktörleri ve sitokin gibi maddelerin salgılanması bir veya daha fazla doku yıkım mekanizmalarının aktive olmasına neden olarak ataçman ve alveol kemiği kaybını hızlandırır. Bu karmaşık basamaklar periodontal hastalık patogenezinde birbirleriyle ilişkili ve devamlı olarak gerçekleşmektedir (42-45) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Periodontitis patogenezi (43)

Her ne kadar hastalık spesifik oral patojenlerin sert dokulara kolonizasyonu ve yumuşak dokulara invazyonu ile başlasa da hastalığın ilerleyişindeki asıl faktör konak inflamatuvar cevabıdır (46).

2.2 Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri

Risk bir bireyin bir zaman süreci içerisinde belirli bir hastalığa yakalanma olasılığıdır. 'Risk faktörleri'; var olduklarında bir bireyin hastalığa yakalanma olasılığını artıran çevresel, davranışsal veya biyolojik faktörlerdir. Risk faktörleri, ilgili hastalığın var olduğu bireylerde gerçekleştirilen uzun süreli çalışmalar yardımı ile belirlenir. Herhangi bir faktörün risk faktörü olarak tanımlanabilmesi için hastalığın başlangıcından önce bireyin buna maruz kalması gerekmektedir. Sadece kişiye ait değiştirilemeyen risk faktörlerine ise 'risk belirleyicileri' denir. Kesitsel (cross-sectional) çalışmalarla belirlenmiş olan ancak uzun dönem (longitudinal) çalışmalarla doğrulukları kanıtlanmamış olası risk faktörlerine ise 'risk göstergeleri' adı verilmektedir. Kesitsel veya uzun dönem takip çalışmaları ile belirlenmiş, kendi başına hastalığa yol açmayan fakat riski arttıran faktörlere ise risk "risk işaretleri" denir (47). Bunlar aşağıda özetlenmiştir:

2.2.1 Risk Faktörleri:

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

2.2.2 Risk Belirleyicileri:

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

2.2.3. Risk Göstergeleri:

1) İnsan immünyetmezlik virüsü “Human immuno deficiency virus” (HIV) ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu “Acquired immuno deficiency syndrome” (AIDS)

- 2) Osteoporoz
- 3) Diş hekimine gitmeme

2.2.4. Risk İşaretleri:

- 1) Periodontal hastalık hikayesi
- 2) Sondlamada kanama

2.3. Sigara ve Periodontal Hastalıklar

Sigara 4000'in üzerinde madde içeren çok karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu içeriğin çoğu periodontitiste konak cevabını değiştirebilir niteliktedir (48). Nikotin bütün tütün ürünleri içinde en yaygın bilinenidir (49).

Sigara kullanımı periodontitisin başlaması ve ilerlemesinde önemli bir risk faktörü olarak bilinmektedir (50). Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar sigara tüketimi ile periodontal hastalık arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (17,51-53). Sigara içenlerde gingivitis ve periodontitisin daha şiddetli olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (54). Sigara içenlerdeki periodontal cep derinliği, ataçman kaybı ve periodontal kemik kaybı sigara içmeyenlere oranla daha fazladır (55,56). Bu bulguların yanı sıra sigara içenlerin ağız hijyenlerine daha az dikkat ettikleri, plak birikimlerinin daha fazla olduğu ve bu nedenden dolayı periodontal hastalığa daha yatkın oldukları kanısı yaygındır (57).

Risk faktörü olarak bilinen sigara kullanımı, lokal ve sistemik konak savunma sistemlerini olumsuz yönde etkilemektedir (16,52). Sigarada bulunan nikotinin kan damarları üzerine vazokonstriktif etkisi, lokal olarak dişetinde kan akımında yavaşlamaya sebep olur. Dişetine geçen hücre sayısında, oksijen miktarında ve diğer kan içeriklerinde azalmaya neden olarak doku yıkım ürünlerini uzaklaştırma yeteneğini düşürür (58). Diğer taraftan sigara kullanımı sistemik olarak, periferel kandaki nötrofil fonksiyonunu engeller ve antikor üretimini azaltır (50). Nikotinin vazokonstriktif etkisine bağlı olarak dişetinde kan akımı azalır. Dişetine yeterli oksijen ve kan hücrelerinin ulaşmasına engel olur (59). Lokal oksijen basıncının azalması, anaerobik bakterilerin kolonizasyonunu ve büyümelerini sağlar. Buna bağlı olarak derin periodontal ceplerde oksijenin azalması ile anaerobik periodontal patojenlerin büyümesi için en uygun çevrenin oluştuğu rapor edilmiştir (55).

Periodontal dokularda nikotinin vazokonstriktör etkisinden dolayı kan akımının azaldığı ve bunun sonucu olarak dişeti iltahabı, kızarıklık ve kanamanın azalmasıyla periodontal problemlerin erken belirtilerinin baskılandığı belirtilmiştir (60). Artan iltihapla birlikte görülen sondlamada kanamanın, dişeti oluğu sıvı akışında ve dişeti kan damarı miktarında artışın sigara içen bireylerde içmeyenlere göre daha az olduğu gözlenmiştir (61). Sigara kullanımının periodontal klinik parametreler üzerine

etkisini araştıran cross-sectional çalışmalarda, sigara içmeyen bireylerin gingival indeks skorlarının daha yüksek olduğu görülmektedir (62-64). Bu bulgular sigaranın sebep olduğu gingival kapillerin kronik vazokonstrüksiyonu ve periodontal dokuların kronik hipoksisi, sigara içenlerde periodontal vakaların neden daha Şiddetli görüldüğünü kısmen açıklamaktadır (65).

Yapılan klinik çalışmalar periodontal tedavinin sonuçları üzerine sigaranın zararlı etkilerini göstermiştir. Sigara kullanımının, cerrahi olmayan periodontal tedavi üzerine etkisini inceleyen çalışmaların büyük bir çoğunluğu, sigara içenlerde içmeyenlere göre, sondalama cep derinliğinde azalmanın ve ataşman kazancının daha az olduğunu göstermiştir (66-68). Sigara içenlerde cerrahi tedavi sonucunda elde edilen klinik ataşman kazancı ve cep derinliğindeki azalma daha azdır (61). İmplant başarı oranlarında ise sigaranın etkisini gösteren veriler çelişkilidir (69,70).

İçilen sigara miktarı ve periodontal hastalıklar üzerine yapılan çalışmalarda, içilen miktar ile periodontitisin prevalansı ve Şiddeti arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Bu ilişki, orta Şiddetli ve Şiddetli periodontal hastalığın prevalansı ile günlük içilen sigara sayısı ve sigara içilen yıl arasındadır (16,71-73). 10 yıllık zaman dilimi incelendiğinde, kemik kaybının sigara içen bireylerde içmeyenlere göre 2 kat daha fazla olduğu ve mükemmel bir plak kontrolüne rağmen kemik kaybının çok hızlı ilerleyebildiği rapor edilmiştir (51). Ataşman kaybının Őiddetinin günde 1 adet sigara içerek %0.5, 10 adet sigara içerek %5 ve 20 adet sigara içerek %10 arttığı belirtilmiştir (73). Günde 9 adetten daha az sigara içen bireylerde periodontitis gelişme riskinin içmeyenlere göre 2.79 kez daha fazla olduğu, günde 31 adetten fazla sigara içen bireylerde ise bu oranın 6'ya çıktığı rapor edilmiştir (61).

Sigara içenlerle hiç içmeyenler kıyaslandığında 19-30 yaş arası sigara içenlerde 3.9, 31-40 yaş arası 2.8 kez daha fazla periodontitis riski gözlenmiştir (16). Sigaranın periodontal sağlık üzerine etkilerinin 40-69 yaş arası bireylerde, 20-39 yaş arası bireylere göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (74).

2.3.1. Sigara ve Mikrobiyoloji

Literatürde sigara kullanımının mikrobiyal plak miktarına olan etkisini araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar farklıdır. Sigara içmeyenlere kıyasla içenlerin daha

fazla dental plağa sahip olduğu, plak bakterilerinin daha farklı veya virulan olduğunu belirten çalışmaların (75-77) yanı sıra; tam aksini belirten, yani plak birikim miktarı ve plak mikrobiyal içeriği açısından sigara içenlerle içmeyenler arasında bir fark olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur (78-85).

Sigara ve tütün ürünleri, periodontopatojen koloniler ile birlikte subgingival ekolojii direkt olarak etkilemektedir (65). Bu patojenlerden (A.a., P.g., P.i., E.c., F.n. gibi) herhangi birinin varlığında sigara içmenin, periodontitis için güçlü bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (86). Sigara içen bireylerin subgingival mikrofloralarını inceleyen başka çalışmalarda da T.f. ve P.g'nin baskın olduğu gösterilmiştir. Her iki mikroorganizma da sigara içenlerde içmeyenlere oranla mekanik tedaviyi takiben daha dirençli kalmaktadır (55,87,88). Zambon ve ark (76) ise, hiç sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında sigara içenlerde A.a., P.g. ve T.f'nin pozitif olduğu bireylerin oranının belirgin şekilde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Buna karşın çeşitli çalışmalar ise sigara içen ve içmeyen bireylerdeki bakteriyel türlerin farklılığını göstermek açısından başarısız olmuşlardır (48). Preber ve ark (89) cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası sigara içen ve içmeyen gruplar arasında periodontal mikrofloranın eliminasyonunda herhangi bir farklılık tespit edememişlerdir.

2.3.2. Sigara ve Konak Cevabı

Sigara kullanımının normal PMNL kemotaktik ve fagositik yeteneğini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (58). Periodontitis ve sigara kullanımı birlikte olduğunda beyaz kan hücreleri ve özellikle nötrofillerin sayısında artış görülür (90,91). Noble ve Penny sigara içen bireylerin periferal kan lökositlerinde kemotaktik defekt olduğunu ve aynı zamanda hiç içmeyenlerle kıyaslandığında toplam lökosit sayılarının daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (92). Ayrıca, sigara içen periodontitisli bireylerin dişeti oluğu sıvısında yüksek oranda PMNL apoptozisi belirlemişler ve nikotinin bu hücreler üzerinde apoptotik etkisi olduğunu bulmuşlardır (93).

İmmünglobulin (Ig) G2 periopatojenlere verilen immün cevapta anahtar rol oynayan immünglobulin izotipidir. Sigara kullanan ve şiddetli periodontal hastalığa sahip bireylerde serum IgG2 düzeyinde önemli derecede bir azalma olduğu rapor edilmiştir (55,65,86,94). Ayrıca sigara içenlerde P. intermedia ve F. nucleatuma karşı serum IgG antikor seviyelerinin ve sekretuar IgA'nın içmeyenlere göre belirgin

seviyede azaldığı bulunmuştur (95). Yapılan bir çalışmada düşük tütün konsantrasyonlarının hücre sayısı ya da hücrelerin hayatı üzerine etkisinin olmadığı; ancak PGE2 ve IL-1 seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğu saptanmıştır (49).

Nikotinin fibroblastlardan; fibronektin ve kollajen üretimini baskılayabildiği ve fibroblastik kollejenaz aktivitesini arttırabildiği belirtilmiştir (96). Sigara MMP'lerin ve TIMP'lerin lokalizasyonunu değiştirebilir ve aralarındaki dengeyi bozabilir; böylece EM'nin yıkımına katkıda bulunabilir (23). Sigara ve P.g. kombinasyonunun; MMP ve TIMP arasındaki dengeyi bozarak gingival fibroblastların yönettiği kollajen yıkımını arttırdığı gösterilmiştir (97). Zhou ve ark (98) 250 µg/ml nikotinin, MT-MMP'leri aktive ederek kollajen yıkımını arttırdığını göstermişlerdir. Sigaranın elastaz aktivitesini ve dolayısıyla MMP aktivitesini arttırdığı; bunun da sigara içenlerde periodontitis için artmış risk oluşturduğu bildirilmiştir (22,99). Dahası MMP genlerinin transkripsiyonunda rol oynayan TNF-α'nın da sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha yüksek seviyede olduğu rapor edilmiştir (100,101).

2.4. Bağ Dokusu ve Ekstraselüler Matriks

Periodontal hastalıklara bağlı gelişen kronik dişeti iltihabı esas olarak bağ dokusunun ve EM bileşenlerinin yıkımı ile karakterizedir (2). Bağ dokusu hem hücresel hem de lifler ve ara maddeyi içeren ekstraselüler kısımdan oluşmaktadır (102). Fibroblastlar, farklılaşmamış mezenşimal hücreler, malassez epitelyum artıkları, savunma hücreleri, mast hücreleri, sementoblastlar, osteoblastlar ve osteoklastlar bağ dokusunun hücreleridir.

EM dokuların normal gelişim ve fonksiyonları için gereklidir. Önceleri EM'nin hücreler arası mesafeleri dolduran homojen bir yapı ve hücrelerin büyümesi ya da birarada durması için bir kılıftan ibaret olduğu düşünülüyordu. Bugün EM'nin hücrelerin büyüme, protein sentezi, salgı ve göç gibi çeşitli fonksiyonlarının yönlendirilmesinde çok önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (103).

Lifler ve ara maddeden oluşan EM; gerilme ve basınç gibi dişe gelen kuvvetlere karşı iyon ve moleküllerin etkileşimlerini, hücre ve fibril yapı arasındaki konumun düzenlenmesini sağlamaktadır. Ara madde hücrelerin ve liflerin arasını dolduran, büyük oranda su içeren, amorf bir yapıdır. Proteoglikanlar (PG) (hyaluronik

asit, kondroidin sülfat gibi) ve glikoproteinlerden (fibronektin, laminin, vitronektin, trombospondin, tenaskin, entaktin gibi) oluşur (2,104). Fibronektin bağ dokusunda, bazal membranda ve kan damarlarında bulunur (105). Fibroblastların liflere ve diğer interselüler matriks bileşenlerine bağlanmasını sağlar. Böylece hücre adezyon ve migrasyonuna yardımcı olur (106). Reepitelizasyon, yara kontraksiyonu ve granülasyon dokusunun oluşumunda da etkilidir. Fibronektin pıhtı içindeki fibrin ile etkileşir ve fibrini kalınlaştırır. Ayrıca, opsonin görevi yaparak enflamasyon alanından fibrinin temizlenmesinde de rol oynar. Çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri (transforme edici büyüme faktörü (TGF- β), TNF- α) için depo görevi görür. Fibronektinin spesifik irtegrinlerle etkileşimi sonucunda hücre içine sinyal iletimi gerçekleşir (107). Laminin ise bazal membrana yapışıktır. Bazal membran ile hücre yüzey reseptörleri arasındaki etkileşimler sonucunda hücre şekli, göç, farklılaşma ve apoptozis gibi fonksiyonların yönlendirilmesinde görevlidir. Ayrıca bazal membran büyüme faktörlerini bağlayarak hücrelere ulaştırır (108). Bazal membranlar tip IV kollajen, laminin, nidojen ve diğer proteinlerden oluşur. Bunlardan laminin bazal membrandaki başlıca proteindir. Laminin EM bileşenleriyle etkileşimlerin yanı sıra çeşitli hücrelerin yapışma, çoğalma ve göç faaliyetlerini de düzenler (109). Laminin hücrelerin hareketliliğini artırabilir ya da azaltabilir. Bazal epitelyum hücrelerinin bazal laminadan ayrılması, hızlı büyüme ve MMP salınımı için sinyal oluşturabilir. Diğer bir glikoprotein olan vitronektin ise hücre-matriks haberleşmesinde önemli rol oynar. Hücre adezyonunu artırır, hücre yayılımını ve göçünü yönlendirir. Yara iyileşmesinde görev alır. Konak immün fonksiyonlarını etkileyebilir. Belirli bazı hücreler, özellikle PMNL'ler vitronektin üzerinde göç eder. Tenaskin ise hücre ataçmanını artırabilir ya da engelleyebilir. Kondroitin sülfat, tenaskin ile yüksek etkileşim özelliğine sahiptir. Kollajen, fibronektin veya lamininlere önemli bir bağlanma özelliği yoktur. Epitel-mezenşimal doku birleşim bölgelerinde bulunur. Erişkin dokularında azdır; fakat yara iyileşmesinde, özellikle granülasyon dokusunun oluşum safhasında artar (103).

Bağ dokusu fibrilleri esas olarak kollajenöz yapıdadır ve bağ dokusunda 18 farklı tipte kollajen bulunmaktadır. EM temel olarak tip I ve tip III kollajen fibrillerinden oluşmaktadır. Daha az olarak ise IV, V, VI ve VII tip kollajen bulunmaktadır. Fibril kollajenleri tip I,III ve V kollajendir (2). Tip I ve III'ün esas görevi dokunun mekanik direncini sağlamaktır. Tip I kalın kollajen fibrillerde, tip III ise daha ince fibrillerde

bulunur . Tip V ise diffüz filamentöz dağılım gösterir ve tip I ile III'ün oluşturduğu kollajen fibrilleri kaplar (110,111). Ayrıca bazal membranda bulunur; hücre yapışmasını ve göçünü artırır. Tip III ve V kollajenler enflamasyon ve rejenerasyon ile ilişkilidir. Tip IV kollajen sadece bazal membranda, özellikle lamina densada bulunur ve periodontopatojenlerin proteolitik enzimlerine karşı oldukça hassastır. Tip VI diffüz mikrofibriler formdadır ve bazal membralarda da bulunur. Bağ doku hücrelerini fibriler kollajene bağlar (112). Elastik lifler ise kollajen lifler arasında dağılan oksitalan, elaunin ve elastin liflerden oluşur (113).

2.4.1 EM'nin Yıkım Mekanizmaları

Periodontal hastalıkta görülen dişeti iltihabı bağ dokusu ve EM bileşenlerinin yıkımı ile karakterizedir. Ataçman kaybı direkt olarak sharpey fibrillerinin ve alveolar kemiğin yıkımı ile ilgili olduğu için, kollajen fibrillerinin yıkımındaki hücresel ve enzimatik olaylar periodontal hastalıkların ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır. Mineralize olmayan bağ dokusu bileşenleri, temel olarak ekstraselüler MMP bağımlı bir yol ile yıkıma uğramaktadır (114).

Bağ dokusunun remodelasyonu kollajenöz ekstrasellüler enzimler, aktivatörler, inhibitörler, sitokin ve büyüme faktörleri gibi düzenleyici moleküllerin üretimini içeren karmaşık hücre-hücre ve hücre matris etkileşimleri ile düzenlenmektedir. Periodontal dokuların yapısal olarak ana elemanlarından biri protein olduğu için, periodontal doku yıkımında proteinazlar anahtar enzimlerdir. Proteinazlar ve onların endojen inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması, çeşitli patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olur. Doku matris makromoleküllerinin yıkımında etkili proteinazlar; metallo, serin, sistein, aspartik proteinazlar olmak üzere dört temel sınıfta toplanmaktadır. Periodontal hastalıklarda MMP'ler ve bir grup serin proteinaz en fazla etkinliğe sahip proteolitik enzimler olarak bilinmektedir (115).

Periodontal gelişim, enflamasyon ve yara iyileşmesi esnasında pek çok büyüme faktörü, hormonlar, sitokinler ve lenfokinler tarafından kollajen sentezi düzenlenmektedir. Kollajenler bağ dokusunun önemli yapı taşlarından olup her bir bağ dokusu farklı oran ve miktarlarda kollajen tiplerini içermekte ve böylece bağ dokusunun bütünlüğü ve idamesi sağlanmaktadır. Kollajenlerin mekanik dayanıklılık ve diğer matris bileşenlerine bağlanma gibi görevlerinin yanında hücre ataçmanı,

hücre proliferasyonu, hemostaz ve kemotaktik olaylarda da önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Kollajen sentezi ve remodelasyonu, EM organizasyonunda önemi olan, aynı zamanda periodontal rejenerasyon ve mineralizasyon için de gerekli olan bir süreçtir.

Periodontal hastalıklarda, kollajen yıkımı bağ dokusu yıkımının önemli bir basamağını oluşturmakta ve gingivitisin en erken evresinden itibaren kollajen içeriğinde değişim izlenmektedir. Kollajenin tümüyle yıkımı hücrelerden latent formda salınan MMP'ler ile gerçekleşmektedir. MMP'lerin latent formları Tablo 2.1 de izlenen sitokinlerle regüle edilmektedir (114).

Tablo 2.1 MMP'lerin regülasyonu (114)

Regülasyon tipi	faktörler
indüksiyon	IL- α , IL-1 β , TNF- α , PGE2, TGF- β , EGF*, PDGF*, b-FGF*
inhibisyon	IFN- γ *, IL-4, TGF- β , glukokortikoidler, retinoik asit

* epidermal büyüme faktörü (EGF)

* trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)

* fibroblastik büyüme faktörü (FGF)

* interferon (IFN)

EM yıkımı esas olarak endopeptidaz ve eksopeptidazlarla gerçekleştirilir. EM yıkımının iki önemli basamağı olduğu düşünülmektedir.

1. ekstraselüler değişiklikler (glikoproteinlerin modifikasyonu, kollajen ve elastinin parçalanması)
2. fiziksel yıkım (yaralanma, enflamasyon, enfeksiyon, serbest oksijen radikallerinin üretimi) (116).

MMP'ler EM'de yer alan farklı kollajen tipleri, laminin, fibronektin ve proteoglikanların çekirdek proteinlerinin yıkılmasına sebep olmakta, dolayısı ile EM'in remodelasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Dokuların sağlığının korunmasında

proteaz ve proteaz inhibitörleri arasındaki denge çok önemlidir. Yıkım süreci, MMP ve serin bağımlı proteazlar nötral pH'da optimum fonksiyon gösterdikleri için bu pH'da gerçekleşmekte, daha sonra sinerjistik etki gösteren lizozomal enzimler de yıkıma katılmaktadır. Doku yıkımı esnasında MMP ile TIMP arasındaki denge bozulmaktadır.

MMP'lerin özellikleri:

1. optimum aktivasyonlarını nötral pH'da gösterirler.
2. reaksiyon için çinko ve kalsiyuma ihtiyaç duyarlar.
3. latent formda sentezlenirler, daha sonra aktive edilirler.
4. aktivatörleri; plazmin, tripsin, triptaz ve katepsin-B'dir.
5. etilen diamin tetra asetat (EDTA), MMP aktivasyonunu bloke eder.
6. spesifik inhibitörü olan TIMP ile aktiviteleri düzenlenir.
7. EM'de birden fazla bileşeni yıkıma uğratabilirler.

PG'ler protein kora bağlı glikozaminoglikan (GAG) zincirleri ve birkaç oligosakkarit zincirden oluşmaktadır. Periodontal hastalık sırasında matriksin kollajen dışındaki bileşenleri de hyaluronidaz, beta-glukronidaz, proteaz, sülfatazlar gibi enzimlerle yıkıma uğramaktadır. PG ve GAG'ların yıkımı, doku bütünlüğünün bozulması ve yıkımın kolay ilerlemesine yol açması ve kollajenin stabilitesinin azalmasına neden olacağından önemlidir.

PG'ların yıkımı:

1. proteaz (özellikle nötral MMP'ler)
2. glikozidaz (ekzoglikozidazlar ve endoglikozidazlar)
3. sülfataz enzimleri tarafından gerçekleştirilir.

Glikoproteinler polipeptit iskeletine kovalent olarak bağlı oligosakkarit zincirler içeren proteinlerdir. PG'lerden farklı olarak protein kısmı dominanttır. Hücreler matrikse direk kollajen ile değil, glikoproteinler ile bağlıdır.

Glikoproteinlerin yıkımı:

1. proteazlar
2. glikozidazlar tarafından gerçekleştirilir (114).

Son çalışmalar göstermiştir ki periodontal ligament hücrelerinden proteinaz ve proteinaz inhibitörlerinin salınımı; EM'deki fibronektinler aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Kapila ve ark (117) fibronektin moleküllerinin bulunduğu bölgelerde kollejenaz, stromelizin ve plazminojen aktivatörlerinin arttığını belirtmişlerdir.

Periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayan enzimlerin kaynağı hem konak hücreleri hem de bakterilerdir. Bakteriler dokuya girerek etki ettikleri gibi, bakterilerin ürünleri (LPS) de yıkımın başlatılmasını indüklemekte yeterlidir. Bakteriyel ürünler, antijenler ile enflamatuar hücreler arasındaki etkileşim patolojik olayları başlatmaktadır. Bakteri enzimleri ve ürünleri (LPS) doğrudan savunma hücrelerine zarar verebildiği gibi, aynı zamanda bağ dokusu, antikorları ve komplemanı yıkıma uğratabilme ve patogeneizde önemli olan sitokinlerin (IL-1, TNF) indüklenmesine neden olmaktadır. Bakteriler ile konağın savunma sistemi arasında, periodontal sağlığın sürdürülmesi yönünde hassas bir denge bulunmaktadır (114).

2.5. Matriks Metalloproteinazlar

MMP'ler; EM makromoleküllerinin parçalanmasında önemli rol oynayan yaklaşık 28 enzimden oluşan geniş bir proteolitik enzim ailesidir (118). Bunlar çinko bağlı endopeptidazlardır (119). Birçok fizyolojik ve patolojik olaylara katıldıkları saptanmıştır. Bu enzimler EM'nin turnoverında, doku yenilenmesi, angiogenez, morfogenez ve gelişimde oldukça önemli bir rol oynarlar. MMP'ler; embriyonik gelişim, ovulasyon, kemik remodelingi ve yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik olayda yer alırlar. MMP'lerin aktivitelerinde meydana gelen kontrolsüz artışların, EM yıkımı yoluyla akut ve kronik hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. MMP'lerin aktivitesindeki bu artışın kardiyak hastalık, ateroskleroz, periodontal hastalık, tümör hücre metastazı ve artritler gibi birçok hastalığın patogenezinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (120-121).

Molekül ağırlıkları 19-92 kDa arasında değişen MMP'ler hakkında ilk bilgi Jeremo Gross ve Charles Lapiere tarafından 1962 yılında yayınlanmıştır. (122).

MMP'ler yapısal özellikleri, biyokimyasal özellikleri ve substrat spesifitelerine göre sınıflandırılmaktadır. Genelde altı alt gruba bölünmüşlerdir:

1-kollejenazlar

2-jelatinazlar

3-stromelisinler

4-matrilisinler

5-MT-MMP'ler

6-diğerleri (Tablo 2.2)

Tablo 2.2 MMP'ler ve substratları (4)

	Proteaz	MMP numarası	Matriks substratı
Kollajenazlar	kollajenaz-1	MMP1	kollajen tip I,II,III,VII,X jelatin entaktin agrekan tenaskin
	kollajenaz-2	MMP8	kollajen tip I,II,III,VII,X jelatin entaktin agrekan tenaskin
	kollajenaz-3	MMP13	kollajen tip I,II,III,VII,X jelatin entaktin agrekan tenaskin
	kollajenaz-4	MMP18	kollajen tip I,II,III jelatin

	Proteaz	MMP numarası	Matriks substratı
Jelatinazlar	jelatinaz A	MMP2	kollajen tip I,IV,V,VII,X,XI jelatin elastin fibronektin laminin-5 agrekan vitronektin
	jelatinaz B	MMP9	kollajen tip I,IV,V,VII,X,XI jelatin elastin fibronektin laminin agrekan vitronektin
Stromelisinler	stromelisin-1	MMP3	kollajen tip II,III,IV,V,IX,X,XI agrekan laminin fibronektin jelatin entaktin tenaskin vitronektin elastin
	stromelisin-2	MMP10	
	stromelisin-3	MMP11	agrekan laminin fibronektin
Matrilisinler	matrilisin-1	MMP7	kollajen tip IV,V,IX,X,XI agrekan laminin fibronektin jelatin entaktin tenaskin vitronektin
	matrilisin-2	MMP26	kollajen tip IV jelatin fibronektin fibrinojen

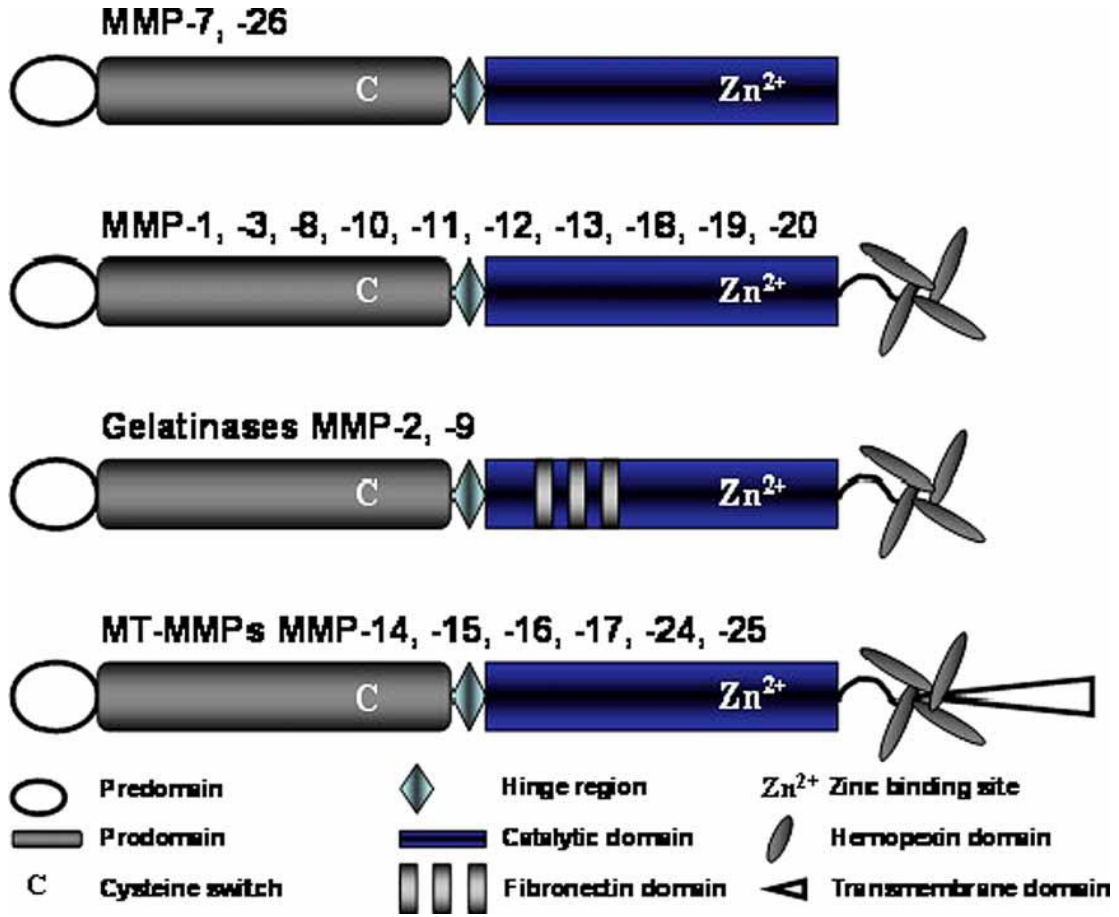
	Proteaz	MMP numarası	Matriks substratı
MT-MMP'ler	MT1-MMP	MMP14	kollajen tip I,II,III jelatin fibronektin vitronektin
	MT2-MMP	MMP15	proteoglikan
	MT3-MMP	MMP16	kollajen tip III fibronektin
	MT4-MMP	MMP17	jelatin fibrinojen
	MT5-MMP	MMP24	fibronektin proteoglikan jelatin
	MT6-MMP	MMP25	jelatin kollajen tip IV fibronektin laminin proteoglikan
Diğer MMP'ler	metalloelastaz	MMP12	elastin fibronektin fibrinojen laminin proteoglikan jelatin vitronektin
	stromelisin-4	MMP19	jelatin fibronektin tenaskin kollajen tip IV laminin entaktin fibrinojen agrekan
	enamelisin	MMP20	agrekan amelogenin
	XMMP	MMP21	substratları belli değil
		MMP22	
		MMP27	
	epilisin	MMP28	
CA-MMP	MMP23A,B	jelatin	

Bu proteinazların yapısal ve fonksiyonel birçok benzerlikleri vardır. Bu enzim ailesinin ortak özellikleri:

- 1) Katalitik bölgenin aktif alanında çinko içermeleri,
- 2) Proenzim halinde sentezlenip inaktif formda salgılanmaları,
- 3) Latent proenzimin ekstraselüler alanda aktif hale dönüşmesi,
- 4) EM'nin, enzimin katalik bölgesi tarafından tanınması ve ayrıştırılması,

5) Enzim aktivitesinin ekstraselüler alandaki hem serum hem de doku kökenli metalloproteinaz inhibitörleri tarafından sonlandırılması (123).

Her bir gruptaki MMP'lerin aminoasit dizilimlerinde büyük oranda benzerlik bulunmaktadır. Bütün MMP'ler bir predomain bölge (sinyal peptidi), bir sistein switch içeren prodomain bölge, eklem bölgesi (hinge region) ve çinko bağlayan alanı içeren bir katalitik bölgeden oluşmaktadır. Matrilisinler dışındaki bütün MMP'ler hemopeksin benzeri bölge içerirler. MT-MMP'lerde enzimleri hücre yüzeyine bağlayan transmembran yapılar bulunmaktadır. Jelatinaz sınıfına dahil olan MMP-2 ve MMP-9'da ek olarak jelatine kuvvetli afinite gösteren fibronektin yapı yer almaktadır (Şekil 2.2) (121-119).



Şekil 2.2 MMP'lerin molekül yapısı

MMP'ler birçok farklı hücrede sentezlenirler. MMP-1; makrofaj, monosit, fibroblast, keratinosit, kondrosit, hepatosit ve bir çok tümör hücrelerinden sentezlenir. MMP-8; kondrositler, sinovial fibroblastlar ve endotelial hücrelerden sentezlenir. MMP-3 ve MMP-10; fibroblastik hücreler, normal ve trasforme squamous epitelyal hücrelerden sentezlenir. MMP-9; keratinosit, monosit, alveolar makrofajlar, PMNL ve maling hücrelerin çoğundan sentezlenir (120,121,124).

MMP'ler ekstraselüler matriksin yıkımı ve yeniden şekillenmesini ilgilendiren birçok fizyolojik ve patolojik olaydan sorumlu enzimlerin başında gelmektedir. MMP'lerin proteolitik aktiviteleri spesifik inhibitörler tarafından düzenlenir. MMP'lerin serumda bulunan inhibitörü alfa-2 makroglobulin iken, doku MMP inhibitörü ise TIMP adını taşır. MMP'lerin çoğunun salınımı ve aktivitesi, bozulmamış normal dokularda saptanabilir seviyenin altındadır. Çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri ve proenflamatuar sitokinler, MMP'lerin aktivasyonunu artırır. Bu enzimler, bazal membran komponentlerini ayırarak ve hücre yüzeyindeki adeziv molekülleri ve

kemoatraktanları etkileyerek hücre hareketini ve göçünü yönlendiren kemotaktik sinyal oluştururlar. MMP'ler sitokin, kemokin ve hücre yüzey reseptörleri gibi biyolojik aktif moleküllerin biyolojik aktivitelerini direkt olarak ya da bu moleküllerin inhibitörlerini inaktive ederek dolaylı yoldan etkiler. Bu nedenle, MMP'ler konak cevabını yönlendiren enzimlerdir (118).

2.5.1. MMP Aktivasyonunun Düzenlenmesi

MMP'lerin aktivasyonunun düzenlenmesi 4 aşamada gerçekleşir:

- 1)MMP genlerinin transkripsiyonel regülasyonu
- 2)prekürsör aktivasyonu
- 3)substrat spesifitesindeki farklılıklar
- 4)MMP inhibitörleri

MMP'lerin çoğunun transkripsiyonel regülasyonu endojen büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. MMP genlerinin büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından stimülasyonu ya da baskılanması; ribonükleik asit (RNA) ve protein düzeylerinde 50 katlık bir değişime neden olmaktadır (125).

MMP'lerin proteolitik aktivasyonu; prekürsörlerin aktivasyonu ve TIMP'ler, alfa-makroglobulinler gibi endojen inhibitörlerin inhibisyon etkisiyle kontrol altındadır (126). Prodomain yapıdaki sistein ile aktif alandaki çinko arasındaki etkileşim MMP öncülerini latent formda tutar (127,128). MMP'ler genelde inaktif zimojenler olarak salınırlar ve enzim aktivasyonu için prodomain yapının katalitik yapıdan ayrılması gerekir (129). Sistein-çinko bağının bozulması aktivasyon için ön koşuldur ve birkaç farklı yolla gerçekleşir:

1) sistein kalıntılarının metal iyonları, tiol reaktifleri ve oksidanlar tarafından modifikasyonu ya da etkileşimi ile;

2) belirli katropik ajanlar ve deterjanların polipeptid yapıyı etkilemesiyle;

3)proteolitik enzimlerce (furin-12-10, tripsin, plazmin, nötrofil elastaz, katepsin-B ve plazma kalikrein) prodomain yapının kesilmesi ile bu aktivasyon sağlanır (128,130).

MMP aktivitesinin belirli düzeydeki regülasyonu substrat seviyesinde kodlanır. MMP'ler substrat özgünlükleri açısından özellikle de kollajen tipleri göz önüne alındığında farklılıklar gösterebilir (131). Kollajenazlar kollajen tip I, II, III, V ve XI gibi fibriler ve kollajen tip IX, XII gibi nonfibriller kollajenleri yıkıma uğratabilmektedir. Jelatin ise doku proteinazlarının büyük bir çoğunluğuna (jelatinazlar ve stromelisinler gibi) duyarlıdır. Stromelisinler EM bileşenlerinin bir çoğuna etki edebilmektedir. Hem stromelisinler hem de jelatinazlar bazal membranın majör bileşenlerini (tip IV kollajen, laminin ve fibronektin) yıkabilmektedirler(123).

EM'deki MMP aktivitesinin kontrolünde, MMP inhibitörlerinin de oldukça önemli etkisi vardır. MMP inhibitörleri 2 major sınıfa ayrılır; serum kaynaklı inhibitörler ve doku kaynaklı inhibitörler (132,133). Her ne kadar serum veya doku kaynaklı olarak sınıflandırılırsalar da serum kaynaklı inhibitörlerin çeşitli dokularda mevcut olduğu, doku kaynaklı inhibitörlerin de serumda mevcut oldukları bilinmektedir (123). Serum kaynaklı inhibitörler alfa-makroglobulinlerden oluşur ve proteinazların (MMP'ler dahil) büyük bir çoğunluğunun potent inhibitörleridir. TIMP'ler ise lokal olarak üretilirler ve MMP'lerin spesifik inhibitörleridir. Bu inhibitörler hormonlar tarafından kontrol edilirler (133,134).

TIMP'ler normal bağ dokusu metabolizmasının regülasyonu için gereklidirler. Net proteinaz aktivitesi düzeyi aktif MMP ve TIMP'lerin konsantrasyonlarına bağlıdır (135). TIMP'ler fibroblastlar, keratinositler, makrofajlar ve endotelial hücreler gibi çeşitli hücrelerden salınırlar ve vücut sıvılarına, dokulara dağılırlar (125). MMP'lerin çinko içeren katalitik bölgelerine bağlanırlar (136). Tüm TIMP'lerin MMP inhibisyonu etkisi, TIMP'in N-terminali ile MMP'nin katalitik bölgesindeki aktif alanı ve substrat bağlama bölgesi arasındaki etkileşime bağlıdır. Bugüne kadar tanımlanmış 4 farklı tip TIMP mevcuttur. TIMP-1'in MMP-9'a, TIMP-2'nin MMP-2'ye, TIMP-3'un MMP-9 ve MT1-MMP'ye afinitesi daha yüksek iken TIMP-4'un tüm MMP tiplerine etki ettiği ve spesifik bir afinite göstermediği bilinmektedir (123,133,134). TIMP-1; MMP-19 ve MT-MMP'lere karşı etkili değildir. TIMP-1, -2 ve -4 ekstraselüler proteinler olarak salınırlar; buna karşın TIMP-3 ekstraselüler matrikse bağlıdır (120). TIMP'ler hücre dışı matriks depolanması ve yıkımı arasındaki dengenin sürdürülmesinde anahtar rol oynarlar (137). TIMP'lerin primer görevi MMP inhibisyonu olsa da; MMP'lerin taşınması ve stabilizasyonu, MT-MMP bağlanması aracılığıyla hücre

yüzeyine fokalizasyon, anjiyogenesis inhibisyonu, büyüme faktörü benzeri aktivasyon ve kemik rezorpsiyon aktivitesi gibi farklı fonksiyonları da vardır (120,138,139). Ayrıca TIMP'lerin MMP inhibisyonuna karşın, bazı çalışmalar açıkça göstermiştir ki TIMP-2 aynı zamanda Pro-MMP-2'yi aktive etmektedir(140).

2.5.2 Jelatinazlar

72 kDa jelatinaz A (MMP-2) ve 92 kDa jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere benzer substrat spesifitesine sahip 2 tür jelatinaz vardır (141). Jelatinazlar denatüre kollajenleri (jelatin), laminini, elastini, fibronektini ve tip I, IV, V, VII, X kollajeni parçalayabilmektedir (4,7,142-144). MMP-2, daha çok fibronektin ve laminini yıkarken, MMP-9 ise daha çok tip IV ve tip V kollajene özgüdür (145).

72 kDa MMP-2 fibroblastlar, keratinositler, endotelial hücreler, monositler-makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositlerden salınırlar (146-151). MMP-2'ler PMNL'lerden salınmazlar (152). MMP-2 anjiyogenik endotelial hücrelerin ve melanoma hücrelerinin hücre yüzeyine lokalize olabilir (153). Yapılan çalışmalar MT1-MMP gibi membran bağlı proteinazlarla MMP-2'nin anjiyogenesis ve tümör hücre invazyonunda önemli rol oynadığını vurgulamaktadır (126).

92 kDa MMP-9 keratinositler, osteoklastlar, eosinofiller, nötrofiller ve makrofajlar gibi çeşitli hücrelerden salınabilirler (120,154). MMP-9 üretimi ve aktivasyonu; periodontitis, periimplantitis, perikronitis ve malign tümörlerde olduğu gibi pek çok inflamatuvar ve malign hastalıkta görülebilir (141, 155-159). MMP-9 salınımı ve aktivasyonu, TNF-alfa, IL-1, IFN-gama, IL-2 gibi inflamatuvar sitokinlerce artarken; IL-10 ve IL-4 aktivasyonu ile azalabilir (141,158,159).

Her iki projelatinaz TIMP'lerle kompleks bir yapı oluşturabilir. Pro-MMP-2 TIMP-2'ye, pro-MMP-9 ise TIMP-1'e bağlanır (120,141). 1994'te Sato ve ark. (160) MT1-MMP'yi şifrelediler ve pro-MMP-2'nin aktivatörü olduğunu gösterdiler.

2.5.3 Periodontal Hastalıklarda MMP'lerin Rolü

Bakteri plağının sebep olduğu periodontal hastalık; kemik yıkımı ve periodontal ataçman kaybı ile karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır. Aktif periodontitis

süresince gingival dokulardaki yıkımın kısmen MMP'lere bağlı olduğu gösterilmiştir (125).

Kollejenazların üretimi enzim inhibitör ve aktivatörlerinin fizyolojik salınımında olduğu gibi sitokinler tarafından düzenlenir. Prokollejenaz endojenöz olarak üretilir; periodontal dokuların EM'sinde depolanır ve TIMP tarafından inhibe edilene kadar kollajen matriks yıkımında aktif rol oynayabilirler. Kollajen proteinlerinin büyük bir miktarı (yaklaşık %70'i) periosttaki plazmin tarafından aktive olan prokollejenazlarla parçalanır (161).

Kemik yıkımı periodontal hastalığın özelliği olmasına rağmen bu yıkımda MMP'nin fonksiyon ve rolü çok iyi tanımlanmamıştır. Ancak temel araştırmalarda MMP'nin kemik remodelingine etkisi görülmektedir. Katepsin-K ve çeşitli MMP'lerin sebep olduğu osteoklast salınımı kemik rezorpsiyonuna katkıda bulunur (162,163). MMP inhibisyonu hücre migrasyonunu engellediği için; osteoklastların rezorpsiyon alanlarına erişimi açısından kritik öneme sahiptirler. Özellikle de MMP-9 ve MMP-14 bu süreçte anahtar rol oynayan proteinazlardır (162,164). MMP'ler aynı zamanda kemik matriksinden salınan sitokinler ve büyüme faktörlerinin aktive ettiği kemik rezorpsiyonuna da katkıda bulunabilirler (162).

Periodonsiyumda MMP'lerin ve doku inhibitörlerinin üretiminin düzenlenmesi karışık bir durumdur ve sitokinler, hormonlar, büyüme faktörleri, prostoglandinler ve bakteriyel faktörlerle (lipopolisakkaritler gibi) ilgilidir (165). Genelde IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler MMP'leri aktive ederken, TIMP'lerin üretimini baskılar. Buna karşın IL-10 gibi diğer sitokinler MMP'leri baskımlarken TIMP'leri aktive ederler. Ayrıca TGF- β , MMP'lerin baskılanmasında ve TIMP'lerin aktivasyonunda önemli rol oynar (165) ve jelatinazların her ikisini de aktive eder (147). Hücre bağlantılı IL-1 α MMP'lerin diğer hücrelerden salınmasında önemli bir stimülatördür. Bütün bunlar gösteriyor ki dişeti dokusundaki sitokinler arası denge; doku yıkımının olup olmayacağına belirlenmesinde ve doku bütünlüğünün sürdürülmesinde major rol oynamaktadır ve bu süreçte IL-1 β anahtar rol oynamaktadır (165).

Makela ve arkadaşları (7) MMP-2 ve MMP-9'un periodontitisteki doku yıkımına katılabileceklerini belirtmişlerdir. Çeşitli hücreler tarafından üretilen jelatinazlar olarak oral kavitede bulunurlar ve periodontal hastalıklarda sayıları artarken, geleneksel

periodontal tedavi ile sayıları azalır. Ayrıca periodontal bağ dokusunun patolojik yıkımında aktif nötrofil kollejenazların direk rol oynadığına dair güçlü in vivo kanıtlar bulunmaktadır. Dahası ilerlemiş periodontal yıkımın olduğu alanlarda zamanla aktif kollejenazlarda önemli bir artış olduğu gözlenmiş. Bugün bilinen jelatinazlar (MMP-2, MMP-9) ve bütün kollejenazlar periodontitise yol açmaktadır (166-172).

Bizim çalışmamızda; sigara içmenin ve kronik periodontitisin, dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine olan etkisini; ayrıca MMP-2 ve MMP-9'un periodontal hastalıktaki rolünü ve sigaranın jelatinazlarla olan ilişkisini tespit etmek amaçlanmıştır.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda yürütülen çalışmaya yaşları 16-62 arasında değişen, 35'i kadın, 45'i erkek olmak üzere toplam 80 birey dahil edildi. Çalışma protokolü, 25/05/2011 tarihli D-KA11/07 no'lu Başkent Üniversitesi Araştırma Kurulu tarafından değerlendirilerek onaylandı. Çalışmaya dahil edilen bireylere çalışma öncesinde hastalıklarının durumu, çalışmanın önemi ve yapılacak uygulama hakkında bilgi verilerek aydınlatılmış onam formu okutuldu ve imzalatıldı.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışma modeli gereğince bireyler dört gruba ayrıldı ve her gruba 20 kişi dahil edildi. Gruplar aşağıdaki gibi sınıflandırıldı:

GRUP I: Sigara içen kronik periodontitisli bireyler (S+KP)

GRUP II: Sigara içmeyen kronik periodontitisli bireyler (KP)

GRUP III (kontrol): Sigara içen periodontal açıdan sağlıklı bireyler (S+K)

GRUP IV (kontrol): Sigara içmeyen periodontal açıdan sağlıklı bireyler (K)

Çalışmaya katılan tüm bireylerin herhangi bir sistemik hastalıklarının bulunmamasına, son 6 ay içerisinde sistemik antibiyotik veya antienflamatuar ilaçlar gibi iltihabı yanıtı etkileyebilecek ilaçları kullanmamış olmalarına, KP'li hastaların son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olmalarına, kontrol grubundaki bireylerin periodontal açıdan sağlıklı olmalarına dikkat edildi. KP hastaları için ağızda 3. molarlar hariç en az 14 diş olması ve en az 5 bölgede cep derinliğinin ≥ 5 mm olması şartları arandı. Sigara içenler için ise en az 5 senedir günde 10 taneden fazla sigara içiyor olması şartı arandı.

3.2. Periodontal Ölçümler

Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerde periodontal ölçümler mevcut dişlerin 6 yüzeyinde (meziobukal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual, distolingual) yapıldı. Cep derinlikleri (CD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) Williams periodontal sondası (Hu-Friedy, ABD) ile ölçüldü. Dişeti sağlığı Loe ve Silness'in gingival indeksi

(Gİ) (173), dişlerdeki plak miktarı ise Silness ve Loe'nün plak indeksi (Pİ) (174) ile değerlendirildi.

Tüm periodontal ölçümler tek bir kişi tarafından gerçekleştirildi ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınarak bireylerin Pİ, Gİ, CD ve KAS ortalamaları elde edildi.

3.3 Dişeti Doku Örneklerinin Elde Edilmesi

KP'li hastalarda dişeti dokusu örnekleri hastanın ölçümlerinin yapıldığı seansta lokal anestezi altında, en derin periodontal cebin olduğu bölgeden cep epiteli ve bağ dokusunu içerecek şekilde, yaklaşık olarak 2x3mm²lik boyutlarda elde edildi. Kontrol grubu bireylerin doku örnekleri ise kron boyu uzatma ve ortodontik diş çekimi işlemleri sırasında elde edildi. Elde edilen doku örnekleri deney gününe kadar %10'luk formal içeren kapların içinde saklandı.

3.4 Laboratuvar Çalışmaları

3.4.1. Hematoksilen Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Bütün biopsiler formalinde tespit edildi ve parafin bloklara gömüldü. Her bir parafin bloktan 3-4µm kalınlığında kesitler elde edildi ve hematoksilen eozin boyaması yapıldı. Biopsilerden elde edilen bütün kesitler fibroblast proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve inflamasyon derecelerinin belirlenebilmesi için ışık mikroskobu altında histolojik olarak incelendi. Fibroblast proliferasyonu, inflamasyon ve neovaskülarizasyon dereceleri 0.25mm²lik alana sahip ölçme gridi kullanılarak x200 orijinal büyütmeye sayıldı.

İnflamatuar hücre ve fibroblast yoğunluğu 1-3+ derecelendirme skoru kullanılarak değerlendirildi.

Derece 1: inflamatuvar hücre infiltrasyonu yok

Derece 2: 0.25 mm² alanın %30'undan daha azını kaplayan inflamatuvar hücre infiltrasyonu

Derece 3: 0.25 mm² alanın %30'unu ya da daha fazlasını kaplayan inflamatuvar hücre infiltrasyonu

Neovaskülarizasyon yoğunluğu da 1-3+ derecelendirme skoru kullanılarak değerlendirildi. Her vaka için grid kullanılarak sayım yapıldı. 0.25 mm² alanı temsil eden x200 orijinal büyütme ile bütün damarlar sayılarak mikrodamar yoğunluğu belirlendi. Damar sayısının derecelendirilmesinde istatistiksel olarak hesaplanan ortalama mikrodamar noktası 10 mikrodamar olarak kabul edildi ve 1-3+ derecelendirme skoru kullanıldı.

V1: her alanda ≤10 mikrodamar varlığı

V2: her alanda 10-30 arasında mikrodamar varlığı

V3: her alanda ≥30 mikrodamar varlığı

3.4.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri ve Kesitlerin Değerlendirilmesi

Parafin bloklardan Poly-L-Lysine ile kaplı lamlara 3µ kalınlığında kesitler alındı. İmmünohistokimya uygulanacak kesitler 37C° etüvde bir gece boyunca deparafinize edildi. Hidrate edilen kesitlerin distile suda taze hazırlanan %3 hidrojen peroksit çözeltisi ile 15 dk endojen peroksidaz aktivitesi baskılandı. 0.01 mol/L; pH 6 sitrat çözeltisi ile antijen retrieval işlemi mikrodalga fırında 15 dakika süre ile (700 watt) uygulandı. 20 dk oda ısısında soğumaya bırakılan preparatlar distile su ile yıkılarak phosphate buffer saline (PBS) çözeltisine alındı. Oda ısısında 5 dk protein blokajı uygulandı. MMP-2 antikoru ile 2 saat antikor inkübasyonu yapıldı. 10 dk PBS ile yıkandıktan sonra 20 dk streptavidin peroxidase ile inkübe edildi. 10 dk PBS ile yıkandıktan sonra diaminobenzidinde (DAB, kromojen) 10 dk bekletildi ve hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Aynı işlem MMP-9 antikoruyla da primer antikor inkübasyon süresi 2 saat olmak üzere tekrar edildi.

İmmünohistokimyasal boyama çalışmasında pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. MMP-2 ve MMP-9 değerlendirimi reaksiyon varlığı veya yokluğuna göre yapıldı.

MMP-2 (-): boyanma yok

MMP-2 (+): boyanma var

MMP-9 (-): boyanma yok

MMP-9 (+): boyanma var

3.5. İstatiksel Değerlendirmeler

Gruplar arasında yaş değerlerinin homojen olup olmadığını belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi uygulanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu nedenle yaş kofaktör olarak alınarak klinik parametrelerin (Pi, CD, Gİ, KAS) hastalık durumu (Periodontitis/kontrol) ve sigara kullanma (içen/içmeyen) durumuna göre değişip değişmediği iki yönlü kovaryans analizi (two-way independent ANCOVA) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Patalojik bulguların (inflamasyon, neovaskülerizasyon, fibroblast proliferasyonu,) hastalık durumu (periodontitis/kontrol) ve sigara kullanma (içen/içmeyen) durumuna göre değişip değişmediğini belirlemek amacıyla Kruskal – Wallis varyans analizi kullanılmıştır. Grup/gruplar arasındaki farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla Post-hoc test uygulanmıştır.

Gruplarda MMP-2 ve MMP-9 oranlarının dağılımı ve cinsiyet oranlarının dağılımı ise Pearson's Chi-square testi ile incelenmiştir.

Tüm gruplarda MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların CD, Gİ, Pİ ve KAS ölçümlerinin farklı olup olmadığı T testi ile karşılaştırılmıştır. Tüm gruplarda MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların inflamasyon, neovaskülerizasyon ve fibroblastik proliferasyon ölçümlerinin farklı olup olmadığı Mann Whitney-U testi ile karşılaştırılmıştır.

CD, Gİ, Pİ ve KAS'ın laboratuvar ölçümleriyle ilişkisi Spearman korelasyon katsayısı ile verilmiştir.

$p < 0.05$ istatistiksel anlamlı düzey olarak belirlenmiş olup analizlerde SPSS for Windows 15.0 paket programı kullanılmıştır.

4 BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmaya 16-62 yaş aralığında 35 kadın ve 45 erkek olmak üzere toplam 80 birey dahil edildi. Çalışmada yer alan bireylerin cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Gruplarda cinsiyet oranlarının dağılımı Pearson's Chi-Square testi ile incelendi ve çalışma gruplarının cinsiyet dağılımlarının farklı olmadığı tespit edildi.

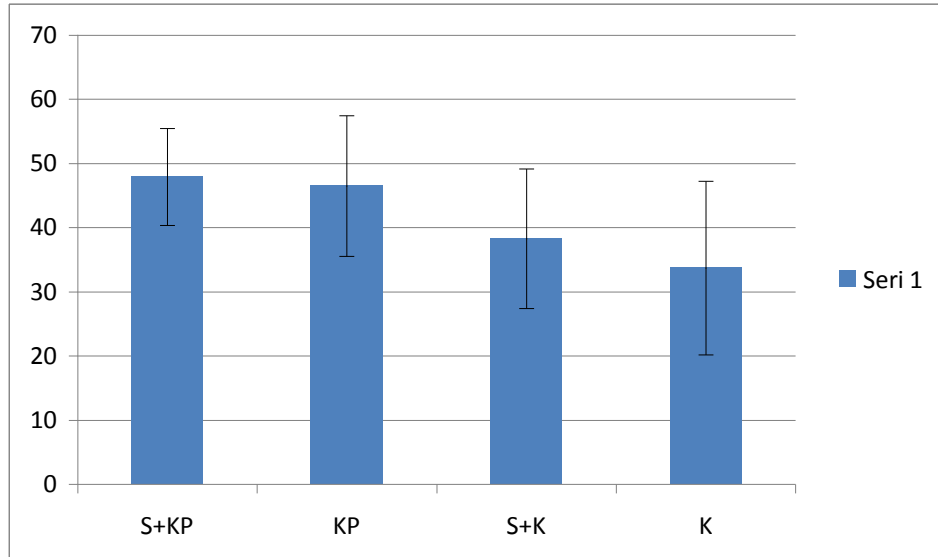
Tablo 4.1 Gruplara göre cinsiyet dağılımı

	S+KP		KP		S+K		K	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Kadın	8	40	7	35	8	40	12	60
Erkek	12	60	13	65	12	60	8	40

Gruplara ait yaş ortalamaları Tablo 4.2' de gösterilmiştir. Sigara içen ve içmeyen kontrol ve periodontitis hastalarından oluşan dört grupta yaş değerleri Tek Yönlü Varyans Analizi ile karşılaştırılmış ve en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığı Post-hoc test sonucu ile belirlenmiştir. Buna göre kontrol ve periodontitis gruplarında sigara içenlerle içmeyenlerin yaş ortalamaları farklı değildir ($p > 0.05$). Kontrol ve periodontitis gruplarında ayrı ayrı sigara içenlerin ve içmeyenlerin yaş ortalamaları karşılaştırıldığında fark bulunmuştur ($p < 0.05$). KP ile K grupları ($p = 0,002$) ve S+KP ile S+K ($p = 0,036$) ve K grupları ($p = 0,001$) arasında yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı (KP>K; S+KP>S+K, K).

Tablo 4.2 Gruplara ait yaş ortalamaları (ort±s.s.)

	N	Yaş	Min.	Max.
S+KP	20	47,90 ± 7,56	30,00	62,00
KP	20	46,50 ± 10,95	26,00	62,00
S+K	20	38,30 ± 10,89	23,00	60,00
K	20	33,70 ± 13,52	16,00	61,00



Şekil 4.1 Çalışma gruplarına göre yaş dağılımı (ort±s.s.)

4.2 Gruplar Arası Farklılıklar

4.2.1 Klinik Parametrelerin Gruplar Arası Karşılaştırılması

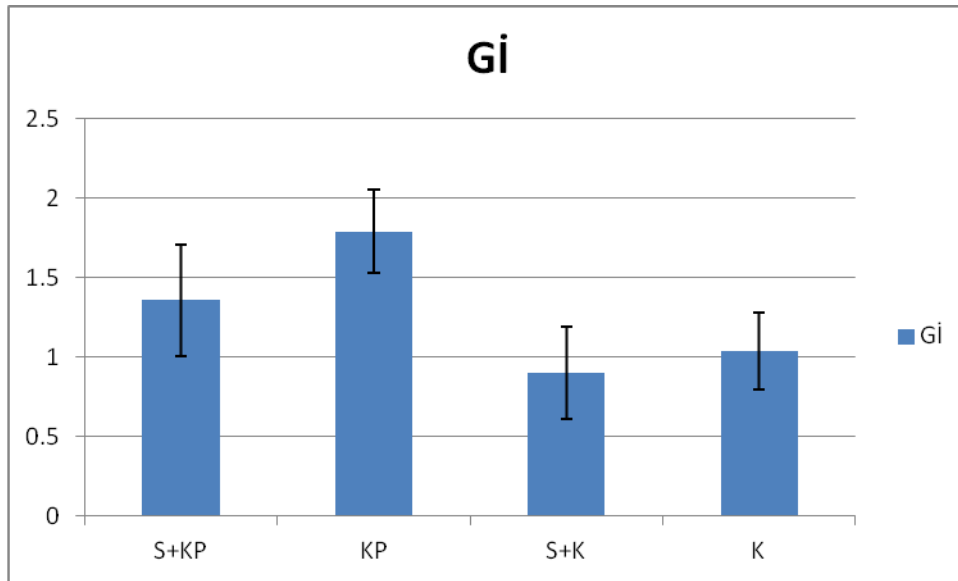
Gruplar arasında yaş değerlerinin homojen olup olmadığını belirlemek amacıyla Tek Yönlü Varyans analizi uygulanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu nedenle yaş kofaktör olarak alınarak klinik parametrelerin (Pi, CD,

Gİ, KAS) hastalık durumu (periodontitis/kontrol) ve sigara kullanma (içen/içmeyen) durumuna göre değişip değişmediği İki Yönlü Kovaryans Analizi (Two-Way Independent ANCOVA) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Gruplara ait periodontal parametre değerleri tablo 4.3'de belirtilmiştir.

Tablo 4.3 Periodontal parametrelerin gruplarlar arası karşılaştırılması (ort±ss)

	S+KP	KP	p	S+K	K	p
Pİ	1,26±0,38	1,34±0,41	0.934	0,94±0,20	0,86±0,19	0.836
Gİ	1,36±0,35	1,79±0,26	0.001*	0,90±0,29	1,04±0,24	0.397
CD	4,23±0,91	4,75±0,90	0.068	2,26±0,27	2,17±0,21	0.429
KAS	4,77±1,24	5,51±1,47	0.086	2,31±0,30	2,21±0,23	0.987



Şekil 4.2 Gruplara göre Gİ ortalamaları (ort±ss)

Pİ, CD, KAS'ın gruplar arası karşılaştırılmasına göre; hastalık ve sigara içme durumu ile bunların etkileşimi yaş değişkeni kofaktör olarak alınarak İki Yönlü ANCOVA yöntemi ile analizi edilmiş ve hastalık ile sigara içme durumu arasındaki etkileşim (hastalık x sigara etkileşim terimi) istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

Buna göre sigara içmenin Pİ, CD, KAS üzerine etkisi, periodontitis ve kontrol grubunda benzerdir (sırasıyla $p=0.326$, $p=0.056$, $p=0.079$).

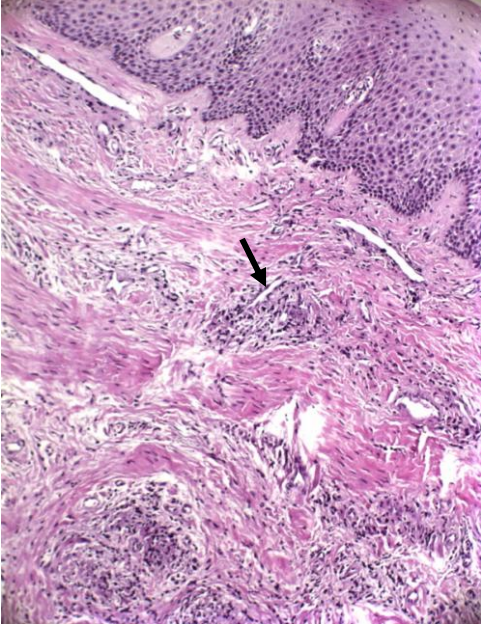
Hastalık durumuna ilişkin ana etki; yaş kofaktörü düzeltildikten sonra istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur (Pİ, CD, KAS için $p<0.001$). Periodontitis olanlarda Pİ, CD, KAS ortalamaları (sırasıyla $1,29\pm0,39$; $4,50\pm0,93$; $5,14\pm1,39$), kontrol grubundan (sırasıyla $0,90\pm0,19$; $2,22\pm0,24$; $2,26\pm0,26$) daha yüksektir.

Sigara kullanma durumuna ilişkin ana etki istatistiksel olarak anlamlı değildir (Pİ, CD, KAS için $p>0.05$). Sigara içenlerle sigara içmeyenlerin Pİ, CD, KAS değerlerinin ortalamaları benzerdir.

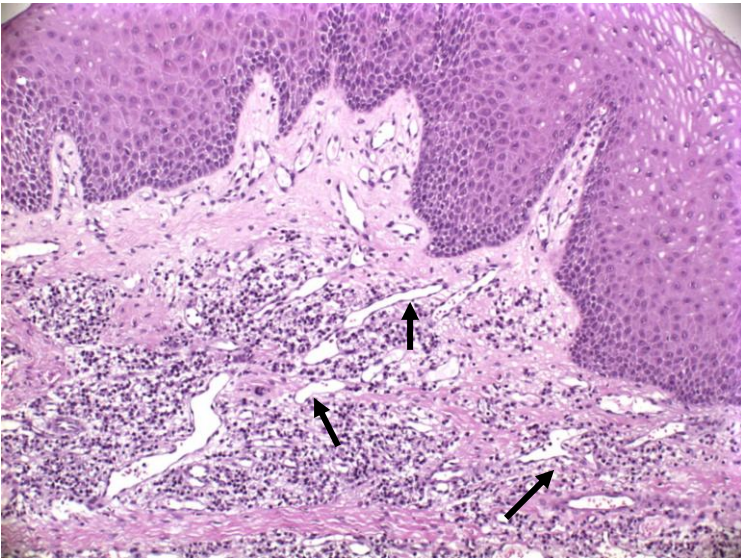
Gİ'nin gruplar arası karşılaştırılmasına göre; hastalık ve sigara içme durumu ile bunların etkileşimi yaş değişkeni kofaktör olarak alınarak İki Yönlü ANCOVA yöntemi ile analizi edilmiş ve hastalık ile sigara etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.049$). Bu sonuca göre sigara, periodontitis olanlarda ve olmayanlarda Gİ üzerinde farklı etki göstermektedir. Kontrol grubunda sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre Gİ değerlerinde bir düşüş olmazken, periodontitis hastalarında sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre Gİ değerlerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.001$) (Tablo 4.3).

4.2.2 Histopatolojik Bulguların Gruplar Arası Karşılaştırılması

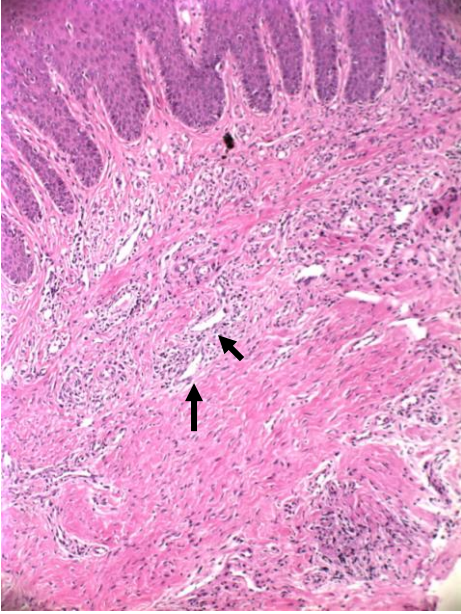
Dişeti örneklerine ait histopatolojik görüntüler şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6'da gösterilmiştir.



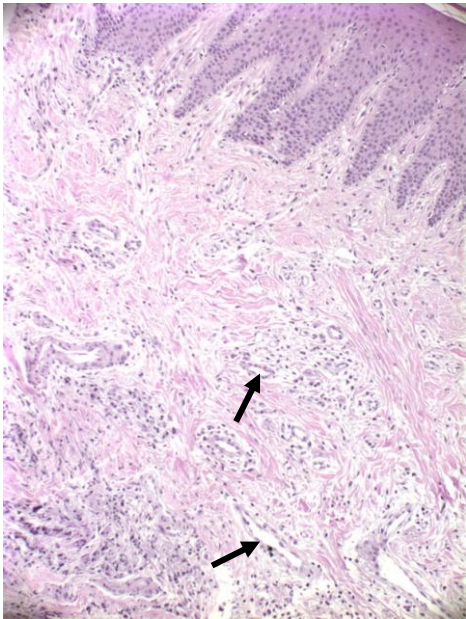
Şekil 4.3 Yüzeyel epitel altında fokal odaklar halinde özellikle vasküler yapıların etrafını saran az sayıda lenfosit infiltrasyonu izlenmektedir. İnflamasyon damarlar çevresinde sınırlı görünümde olup vasküler proliferasyon minimal düzeydedir (H&E x 200) (S+KP grubu).



Şekil 4.4 Yüzeyel epitel altında diffüz şekilde özellikle vasküler yapıların etrafını saran çok sayıda lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir. İnflamasyonun çevrelediği alanlarda mikrovasküler proliferasyon da belirgin şekilde saptanmıştır (H&E x 200) (KP grubu).



Şekil 4.5 Yüzeyel epitel altında fokal odaklar halinde özellikle vasküler yapıların etrafını saran az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir. İnflamasyonun minimal derecede olmasına rağmen bu alanlardaki mikrovasküler proliferasyonun orta derecede olduğu dikkati çekmektedir (H&E x 200) (S+K grubu).

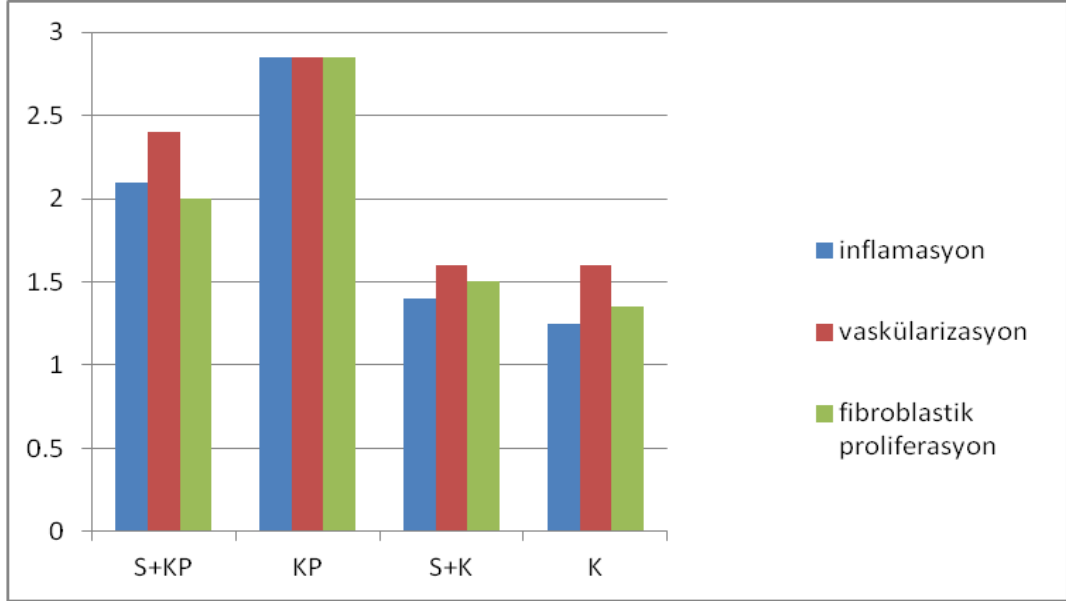


Şekil 4.6 Yüzeyel epitel altında fokal odaklar halinde özellikle vasküler yapıların etrafını saran az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir. İnflamasyonun minimal derecede olmasına rağmen bu alanlardaki mikrovasküler proliferasyonun belirgin derecede olduğu izlenmektedir (H&E x 100) (K grubu).

İnflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerine ait istatistikler tablo 4.4'te belirtilmiştir.

Tablo 4.4 Histopatolojik bulguların gruplar arası karşılaştırılması

		inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
S+KP	Ort ± ss	2,10±0,85	2,40±0,60	2,00±0,72
	Ortanca (min-max)	2(1-3)	2(1-3)	2(1-3)
KP	Ort ± ss	2,85±0,37	2,85±0,37	2,85±0,37
	Ortanca (min-max)	3(2-3)	3(2-3)	3(2-3)
	p	p<0.01	p<0.05	p<0.01
S+K	Ort ± ss	1,40±0,68	1,60±0,60	1,50±0,69
	Ortanca (min-max)	1(1-3)	1(1-3)	1(1-3)
K	Ort ± ss	1,25±0,44	1,60±0,69	1,35±0,67
	Ortanca (min-max)	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)
	p	p>0.05	p>0.05	p>0.05



Şekil 4.7 Histopatolojik bulguların gruplar arası karşılaştırılması

Sigara içen ve içmeyen kontrol ve periodontitis hastalarından oluşan dört grupta inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerleri Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılmış ve en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığı Post hoc test sonucu ile belirlenmiştir.

Periodontitis hastalarında inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon ortancaları sigara içenlerde (2) içmeyenlere göre (3) daha düşüktür (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.01$).

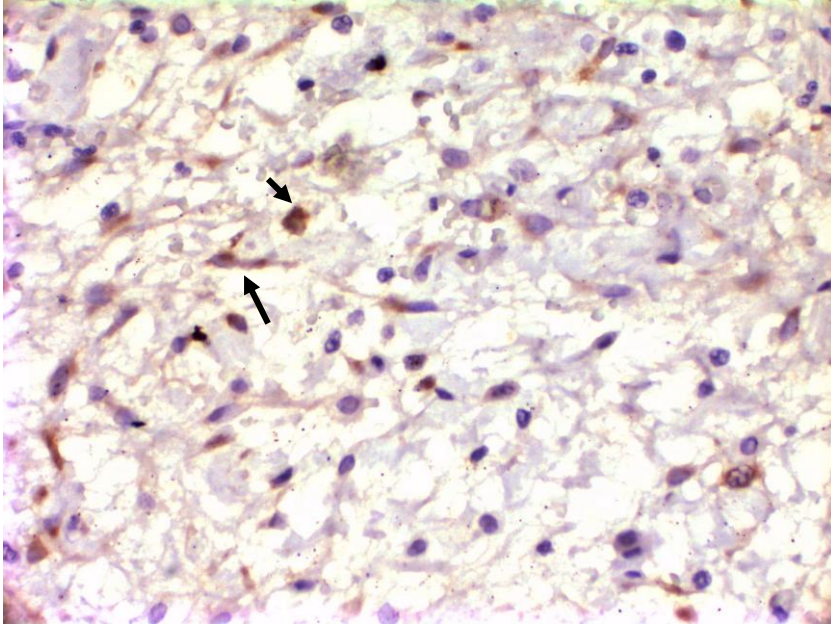
Kontrol grubunda sigara içen ve içmeyenlerin İnflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerleri arasında fark yoktur ($p > 0.05$). Bu sonuca göre kontrol gruplarında sigara içmenin İnflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon üzerine etkisi görülmemiştir.

Periodontitis ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise hem sigara içenlerde hem de sigara içmeyenlerde inflamasyonun, neovaskülarizasyonun ve fibroblastik proliferasyonun periodontitislilerde daha yüksek olduğu saptanmış (inflamasyon ve neovaskülarizasyon değerleri açısından iki karşılaştırma için de $p < 0.01$; fibroblastik

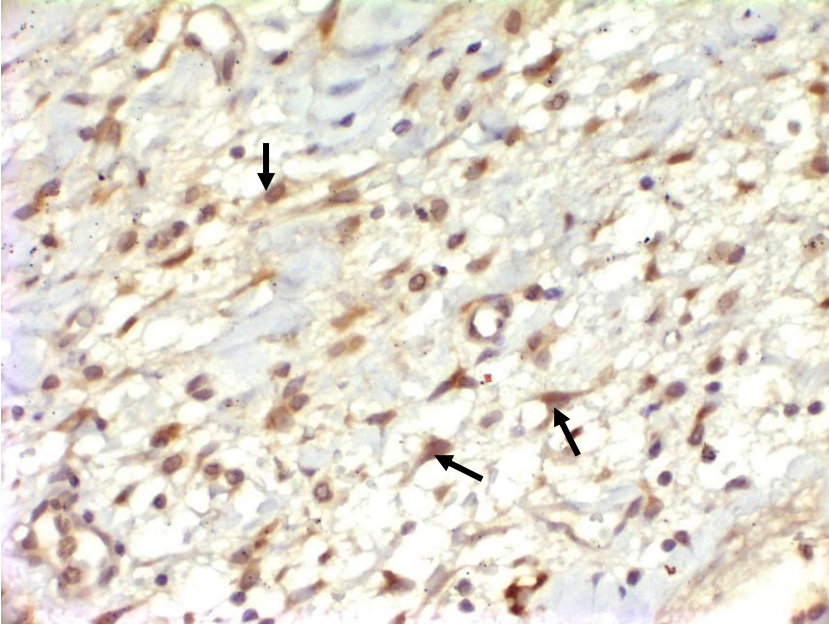
proliferasyon değerleri açısından periodontitis ve kontrol grubu için sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$).

4.2.3 İmmünohistokimyasal Bulguların Gruplar Arası Karşılaştırılması

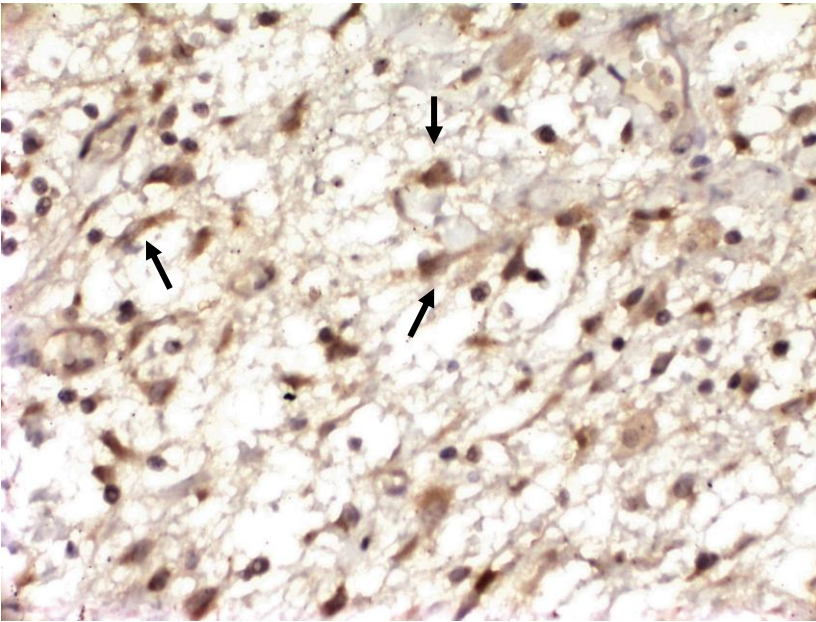
Dişeti örneklerine ait immünohistokimyasal görüntüler şekil 4.8, şekil 4.9, şekil 4.10, şekil 4.11, şekil 4.12, şekil 4.13, şekil 4.14 ve şekil 4.15'de gösterilmiştir.



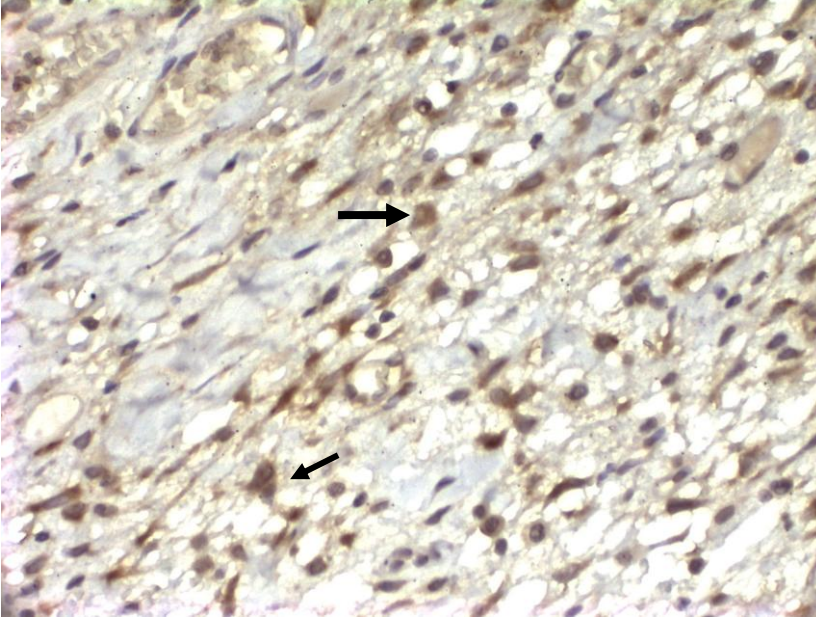
Şekil 4.8 Az sayıda izlenen fibroblastlarda MMP-2 ile sitoplazmik pozitif boyanma izlenmektedir. Arada fibroblastlar ile karışık şekilde oldukça az sayıda negatif boyanma gösteren inflamatuvar hücreler dikkati çekmektedir (MMP-2 immünohistokimyası X 400) (S+KP grubu).



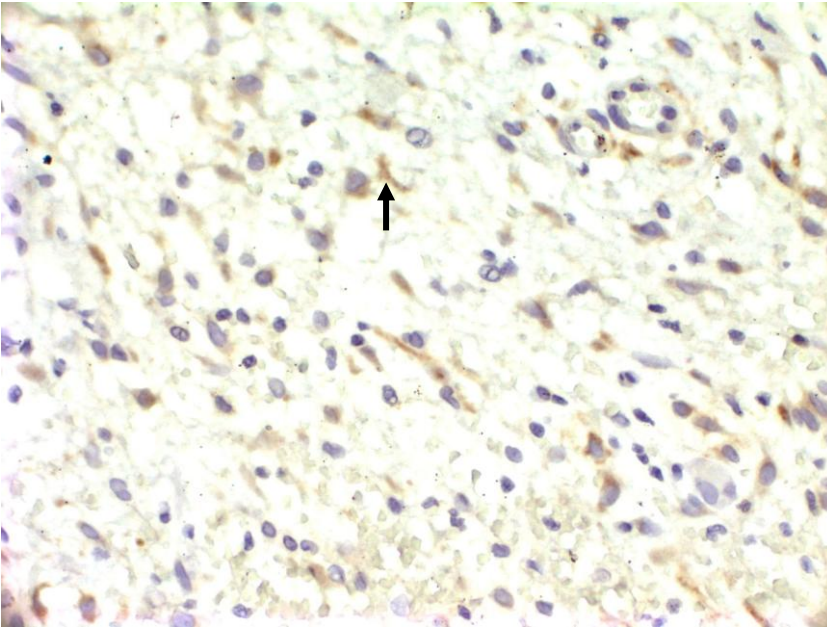
Şekil 4.9 Orta derecede proliferasyon gösteren fibroblastlarda MMP-9 ile pozitif boyanma izlenmektedir. Arada fibroblastlar ile karışık şekilde oldukça az sayıda negatif boyanma gösteren inflamatuvar hücreler dikkati çekmektedir (MMP-9 immünohistokimyası X 400) (S+KP grubu).



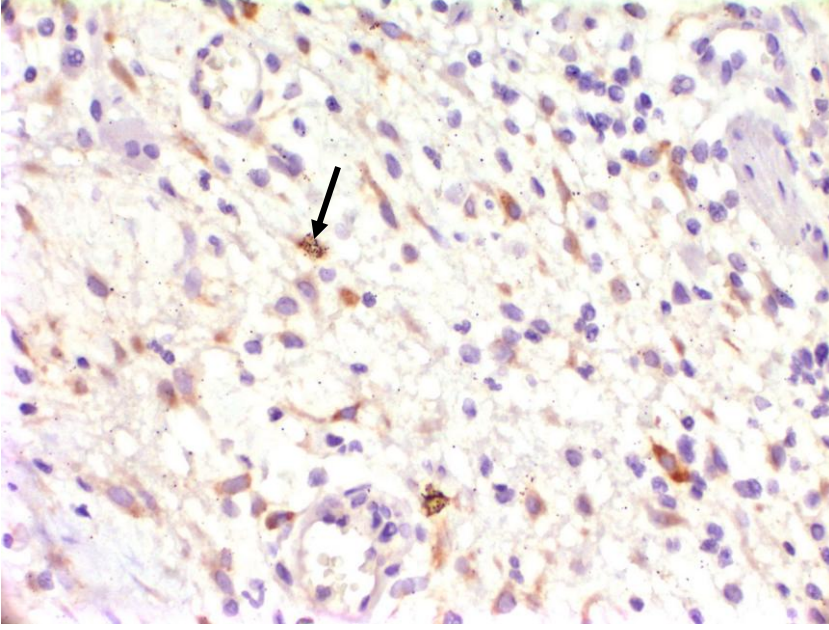
Şekil 4.10 Fibroblastların bir çoğunda MMP-2 ile sitoplazmik pozitif boyanma izlenmektedir. Arada fibroblastlar ile karışık şekilde negatif boyanma gösteren inflamatuvar hücreler dikkati çekmektedir (MMP-2 immünohistokimyası X 400) (KP grubu).



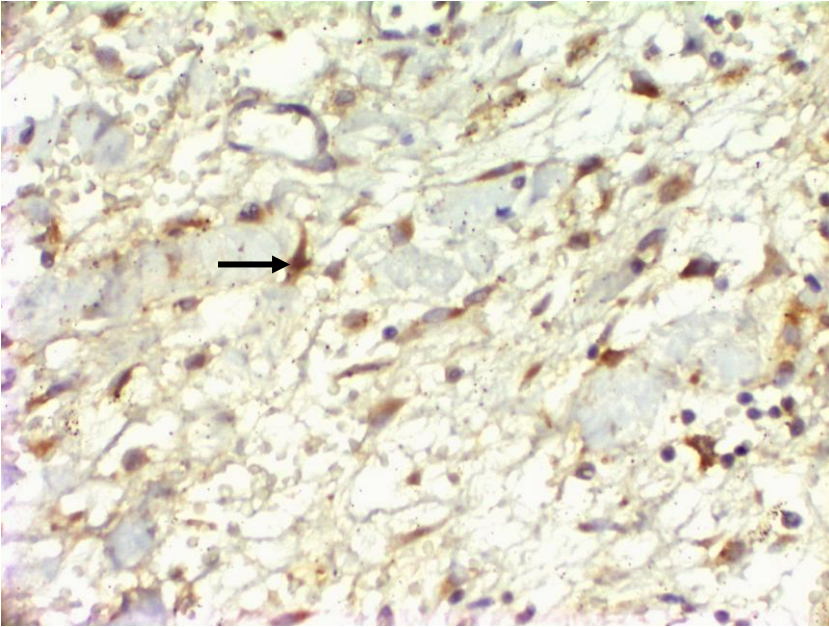
Şekil 4.11 Çok sayıda izlenen fibroblastların bir çoğunda kuvvetli şekilde MMP-9 boyanması izlenmektedir (MMP-9 immünohistokimyası X 400) (KP grubu).



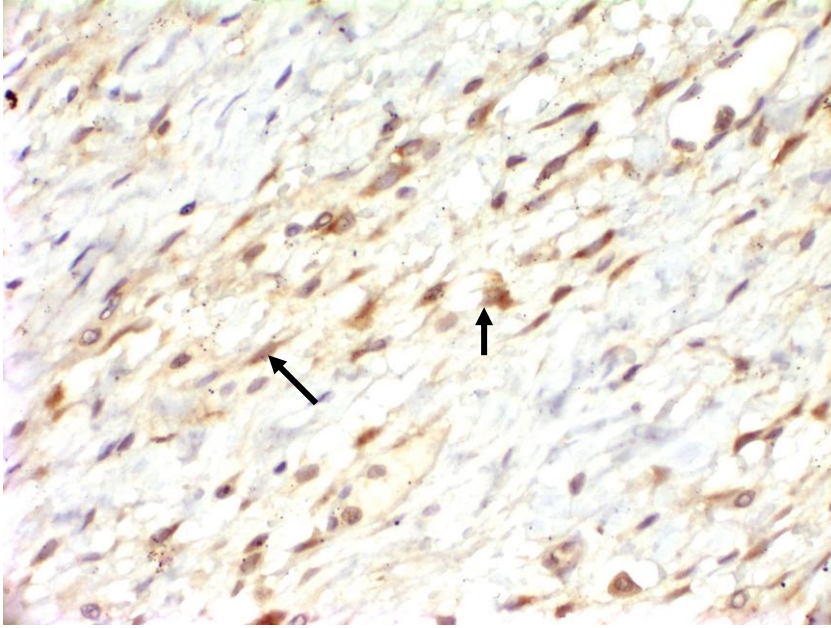
Şekil 4.12 Fibroblastların sadece bir kısmında zayıf şekilde MMP-2 ile boyanma izlenmiştir. Az sayıda arada izlenen mononükleer inflamatuvar hücrelerde ise boyanma yoktur (MMP-2 immünohistokimyası X 400) (S+K grubu).



Şekil 4.13 Fibroblastların sadece bir kısmında zayıf şekilde MMP-9 ile boyanma izlenmiştir. Arada izlenen az sayıdaki mononükleer inflamatuvar hücrelerde ise boyanma yoktur (MMP-9 immünohistokimyası X 400) (S+K grubu).



Şekil 4.14 Çok sayıda yer yer geniş lümenlere sahip damarlar mevcut olup, bu damarları çevreleyen fibroblastların MMP-2 ile boyanma gösterdiği izlenmiştir (MMP-2 immünohistokimyası X 400) (K grubu).



Şekil 4.15 Belirgin mikrovasküler proliferasyon alanında damarları çevreleyen fibroblastlarda MMP-9 boyanması görülmektedir. (MMP-9 immünohistokimyası X 400) (K grubu).

MMP-2 ve MMP-9'un doku örneklerindeki boyanma değerlerinin gruplara göre dağılımı tablo 4.5'te belirtilmiştir.

Tablo 4.5 İmmünohistokimyasal bulguların gruplar arası karşılaştırılması

	S+KP		KP		p	S+K		K		p
	n	%	n	%		n	%	n	%	
MMP2 (+)	12	60	18	90	<0.05	5	25	3	15	>0.05
MMP2 (-)	8	40	2	10		15	75	17	85	
MMP9 (+)	15	75	20	100	<0.05	10	50	3	15	<0.05
MMP9 (-)	5	25	0	0		10	50	17	85	



Şekil 4.16 MMP-2 ve MMP-9 pozitifliğinin gruplara göre dağılımı

Sigara içen ve içmeyen kontrol ve periodontitis hastalarından oluşan dört grupta MMP-2 pozitif ve negatif oranları Ki-kare testi karşılaştırılmış ve en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$).

Periodontitis hastalarında sigara içenlerle içmeyenlerin MMP-2 oranları farklıdır ($p < 0,05$). Sigara içenlerde MMP-2 pozitifliği daha düşük oranda görülmektedir. Kontrol grubunda ise sigara içenlerle içmeyenlerin MMP-2 oranları arasında fark yoktur ($p < 0,05$).

Periodontitis ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise MMP-2 pozitifliğinin periodontitislilerde daha yüksek oranda görüldüğü saptanmış ($p < 0.05$).

Sigara içen ve içmeyen kontrol ve periodontitis hastalarından oluşan dört grupta MMP-9 pozitif ve negatif oranları Ki-kare testi karşılaştırılmış ve en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu bulunmuştur. ($p < 0.001$).

Periodontitis hastalarında sigara içenlerle içmeyenlerin MMP-9 oranları farklıdır ($p < 0,05$). Periodontitis hastalarında sigara içenlerde MMP-9 pozitifliği daha düşük oranda görülmektedir. Kontrol grubunda da sigara içenlerle içmeyenlerin MMP-9 oranları farklıdır ($p < 0,05$). Kontrol grubunda sigara içenlerde MMP-9 pozitifliği daha yüksek oranda görülmektedir.

Periodontitis ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise MMP-9 pozitifliğinin periodontitislilerde daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır ($p<0.05$).

4.3 Grup içi Farklılıklar

4.3.1 Sigara İçen Periodontitis Hastalarındaki Grup içi Karşılaştırmalar

S+KP grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve periodontal parametreler tablo 4.6'da belirtilmiştir. Grup içi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların Pİ, Gİ, CD ve KAS değerlerinin farklı olup olmadığı T testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.6 S+KP grubunda, MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grup içi karşılaştırılması

	S+KP					
	MMP2 (-)	MMP2 (+)	p	MMP9 (-)	MMP9 (+)	p
Pİ	1,01±0,34	1,42±0,31	0.012*	1,02±0,40	1,34±0,35	1.000
Gİ	1,06±0,32	1,56±0,21	0.001*	0,92±0,31	1,51±0,22	0.000*
CD	3,55±0,44	4,69±0,86	0.003*	3,60±0,50	4,45±0,93	0.071
KAS	3,81±0,52	5,41±1,18	0.002*	3,78±0,61	5,10±1,24	0.036*

S+KP grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Pİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların Pİ ortalamaları ise farklı değildir ($p>0,05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması , MMP9 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların CD ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların CD ortalamaları ise farklı değildir ($p>0,05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların KAS ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların KAS ortalaması, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

S+KP grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve histopatolojik bulgular tablo 4.7'de belirtilmiştir. Grupiçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerinin farklı olup olmadığı Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.7 S+KP grubunda MMP2 ve MMP9 değerlerinin histopatolojik bulgularla grupiçi karşılaştırılması

			inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
S+KP	MMP2(-)	Ort ± ss	1,62±0,74	2,0±0,53	1,5±0,53
		Ortanca min-max	1,5(1-3)	2(1-3)	1,5(1-2)
	MMP2(+)	Ort ± ss	2,42±0,79	2,67±0,49	2,33±0,65
		Ortanca min-max	3 (1-3)	3 (2-3)	2 (1-3)
	p		0.057	0.031*	0.020*
	MMP9(-)	Ort ± ss	1,20±0,45	1,80±0,45	1,20±0,45
		Ortanca min-max	1 (1-2)	2 (1-2)	1 (1-2)
	MMP9(+)	Ort ± ss	2,40±0,74	2,60±0,51	2,27±0,59
		Ortanca min-max	3 (1-3)	3 (2-3)	2 (1-3)
	P		0.008*	0.025*	0.005*

S+KP grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların inflamasyon ortancaları farklı değildir ($p>0,05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların inflamasyon ortancası ise MMP9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskülarizasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı zamanda MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskülarizasyon ortancası da MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik proliferasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı zamanda MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik proliferasyon ortancası da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

4.3.2 Sigara İçmeyen Periodontitis Hastalarındaki Grupİçi Karşılaştırmalar

KP grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve periodontal parametreler tablo 4.8'de belirtilmiştir. Grupİçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların Pİ, Gİ, CD ve KAS değerlerinin farklı olup olmadığı T testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.8 KP grubunda, MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grupİçi karşılaştırılması

	KP					
	MMP2 (-)	MMP2 (+)	p	MMP9 (-)	MMP9 (+)	p
Pİ	0,80±0,28	1,39±0,38	0.048*		1,33±0,41	
Gİ	1,45±0,35	1,83±0,23	0.047*		1,79±0,26	
CD	3,90±0,71	4,85±0,88	0.162		4,75±0,90	
KAS	4,20±1,13	5,66±1,45	0.189		5,51±1,47	

KP grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Pİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sigara içmeyen periodontitis hastalarında MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların CD ve KAS ortalamaları farklı değildir ($p>0,05$).

KP grubunda MMP-9 negatifliği bulunmadığından MMP-9 değerleri açısından karşılaştırma yapılamamıştır.

KP grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve histopatolojik bulgular tablo 4.9'da belirtilmiştir. Grupiçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerinin farklı olup olmadığı Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.9 KP grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik bulgularla grupiçi karşılaştırılması

KP			inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
	MMP2(-)	Ort ± ss	2,00±0,00	2,00±0,00	2,00±0,00
		Ortanca min-max	2 (2-2)	2 (2-2)	2 (2-2)
	MMP2(+)	Ort ± ss	2,94±0,24	2,94±0,24	2,94±0,24
		Ortanca min-max	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)
	p		0.021*	0.021*	0.021*
	MMP9(-)	Ort ± ss			
		Ortanca min-max			
	MMP9(+)	Ort ± ss	2,85±0,37	2,85±0,37	2,85±0,37
		Ortanca min-max	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)
P					

KP grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon ortancaları, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancalarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

Sigara içmeyen periodontitis hastalarında MMP-9 negatifliği bulunmadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

4.3.3 Sigara İçen Kontrol Hastalarındaki Grupiçi Karşılaştırmalar

S+K grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve periodontal parametreler tablo 4.10'da belirtilmiştir. Grupiçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların Pİ, Gİ, CD ve KAS değerlerinin farklı olup olmadığı T testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.10 S+K grubunda, MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grupiçi karşılaştırılması

	S+K					
	MMP2 (-)	MMP2 (+)	p	MMP9 (-)	MMP9 (+)	p
Pİ	0,90±0,18	1,08±0,19	0.078	0,86±0,19	1,03±0,17	0.053
Gİ	0,82±0,26	1,14±0,28	0.029*	0,70±0,09	1,10±0,29	0.002*
CD	2,26±0,30	2,28±1,79	0.892	2,24±0,33	2,29±0,21	0.695
KAS	2,32±0,33	2,30±0,20	0.901	2,27±0,37	2,36±0,21	0.514

S+K grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

Sigara içen kontrol hastalarında MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların Pİ, CD ve KAS ortalamaları farklı değildir ($p>0,05$).

S+K grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve histopatolojik bulgular tablo 4.11'de belirtilmiştir. Grupiçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerinin farklı olup olmadığı Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.11 S+K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik bulgularla grupiçi karşılaştırılması

			inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
S+K	MMP2(-)	Ort ± ss	1,33±0,62	1,40±0,51	1,20±0,41
		Ortanca min-max	1 (1-3)	1 (1-3)	1 (1-3)
	MMP2(+)	Ort ± ss	1,60±0,89	2,20±0,45	2,40±0,58
		Ortanca min-max	1 (1-3)	2 (2-3)	2 (1-3)
	p		0.612	0.025*	0.002*
	MMP9(-)	Ort ± ss	1,10±0,32	1,20±0,42	1,00±0,00
		Ortanca min-max	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-1)
	MMP9(+)	Ort ± ss	1,70±0,82	2,00±0,47	2,00±0,67
		Ortanca min-max	1,5 (1-3)	2 (1-3)	2 (1-3)
	P		0.123	0.005*	0.002*

S+K grubunda; MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların inflamasyon ortancaları farklı değildir ($p>0,05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskülarizasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskülarizasyon ortancası da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik proliferasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik

proliferasyon ortancası da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

4.3.4 Sigara İçmeyen Kontrol Hastalarındaki Grupİi Karşılaştırmalar

K grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve periodontal parametreler tablo 4.12'da belirtilmiştir. Grupİi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların Pİ, Gİ, CD ve KAS değerlerinin farklı olup olmadığı T testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.12 K grubunda, MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin periodontal parametrelerle grupİi karşılaştırılması

	K					
	MMP2 (-)	MMP2 (+)	p	MMP9 (-)	MMP9 (+)	p
Pİ	0,82±0,16	1,10±0,17	0.012*	0,82±0,16	1,10±0,17	0.012*
Gİ	0,99±0,21	1,33±0,23	0.022*	0,99±0,21	1,33±0,23	0.022*
CD	2,16±0,22	2,27±0,06	0.427	2,16±0,22	2,27±0,06	0.427
KAS	2,20±0,25	2,27±0,06	0.658	2,20±0,25	2,27±0,06	0.658

K grubunda; MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Pİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların plak ortalaması da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların Gİ ortalaması da, MMP9 değerlendirmesi negatif olanların ortalamasına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Sigara içmeyen kontrol hastalarında MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların CD ve KAS ortalamaları farklı değildir ($p>0,05$).

K grubuna ait MMP-2, MMP-9 değerleri ve histopatolojik bulgular tablo 4.13'de belirtilmiştir. Grupiçi MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif ve negatif olanların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerinin farklı olup olmadığı Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.13 K grubunda MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin histopatolojik bulgularla grupiçi karşılaştırılması

			inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
K	MMP2(-)	Ort \pm ss	1,18 \pm 0,39	1,41 \pm 0,51	1,12 \pm 0,33
		Ortanca min-max	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)
	MMP2(+)	Ort \pm ss	1,67 \pm 0,58	2,67 \pm 0,58	2,67 \pm 0,58
		Ortanca min-max	2 (1-2)	3 (2-3)	3 (2-3)
	p		0.216	0.012*	0.004*
	MMP9(-)	Ort \pm ss	1,18 \pm 0,39	1,41 \pm 0,51	1,12 \pm 0,33
		Ortanca min-max	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)
	MMP9(+)	Ort \pm ss	1,67 \pm 0,58	2,67 \pm 0,58	2,67 \pm 0,58
		Ortanca min-max	1 (1-2)	3 (2-3)	3 (2-3)
	P		0.216	0.012*	0.004*

K grubunda; MMP-2 ve MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanlarla negatif olanların inflamasyon ortancaları farklı değildir ($p>0,05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskularizasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına gore anlamlı duzeyde yuksek bulunmuştur ($p<0.05$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların neovaskularizasyon ortancası da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına gore anlamlı duzeyde yuksek bulunmuştur ($p<0.05$).

MMP-2 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik proliferasyon ortancası, MMP-2 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına gore anlamlı duzeyde yuksek bulunmuştur ($p<0.01$). MMP-9 değerlendirmesi pozitif olanların fibroblastik proliferasyon ortancası da, MMP-9 değerlendirmesi negatif olanların ortancasına gore anlamlı duzeyde yuksek bulunmuştur ($p<0.01$).

4.4 Değerlendirilen Parametreler Arasındaki Korelasyonlar

4.4.1 Periodontal Parametrelerin Histopatolojik Bulgularla Korelasyonu

Gruplarda CD, GI, PI ve KAS'ın histopatolojik bulgularla ilişkisi Spearman korelasyon katsayısı ile verilmiştir (tablo 4.14).

Tablo 4.14 Gruplarda periodontal parametrelerin histopatolojik bulgularla korelasyonu

“			inflamasyon	neovaskülarizasyon	fibroblastik proliferasyon
S+KP	Pİ	r	0,546	0,465	0,388
		p	0,013*	0,039*	0,091
	Gİ	r	0,710	0,771	0,524
		p	0,000*	0,000*	0,018*
	CD	r	0,517	0,349	0,553
		p	0,020*	0,131	0,011*
KP	KAS	r	0,481	0,422	0,480
		p	0,032*	0,063	0,032*
	Pİ	r	0,406	0,406	0,406
		p	0,076	0,076	0,076
	Gİ	r	0,496	0,496	0,496
		p	0,026*	0,026*	0,026*
S+K	CD	r	0,305	0,305	0,305
		p	0,192	0,192	0,192
	KAS	r	0,377	0,377	0,377
		p	0,101	0,101	0,101
	Pİ	r	0,521	0,551	0,453
		p	0,018*	0,012*	0,045*
K	Gİ	r	0,571	0,673	0,680
		p	0,009*	0,001*	0,001*
	CD	r	0,294	0,048	0,227
		p	0,203	0,841	0,336
	KAS	r	0,389	0,132	0,250
		p	0,090	0,579	0,289
K	Pİ	r	0,071	0,392	0,196
		p	0,765	0,088	0,407
	Gİ	r	0,233	0,593	0,461
		p	0,322	0,006*	0,041*
	CD	r	0,010	0,394	0,474
		p	0,966	0,086	0,035*
K	KAS	r	0,030	0,288	0,329
		p	0,899	0,219	0,156

S+KP grubunda:

- Pİ ile inflamasyon ve neovaskülarizasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,05$).
- Gİ ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p<0,001$, $p<0.001$, $p<0.05$).
- CD ile inflamasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,05$).
- KAS ile inflamasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,05$).

KP grubunda:

- Gİ ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0.05$).

S+K grubunda:

- Pİ ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,05$).
- Gi ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,01$).

K grubunda:

- Gİ ile neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,05$).
- CD ile fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p<0,05$).

4.4.2 İmmünohistokimyasal Bulguların Histopatolojik Bulgularla Korelasyonu

Gruplarda MMP-2 ve MMP-9'un histopatolojik bulgularla ilişkisi Spearman korelasyon katsayısı ile verilmiştir (tablo 4.15).

Tablo 4.15 Gruplarda immünohistokimyasal bulguların histopatolojik bulgularla korelasyonu

			inflamasyon	neovaskülerizasyon	fibroblastik proliferasyon
S+KP	MMP2	r	0,467	0,560	0,577
		p	0,038*	0,010*	0,008*
	MMP9	r	0,626	0,594	0,653
		p	0,003*	0,006*	0,002*
KP	MMP2	r	0,793	0,793	0,793
		p	0,000*	0,000*	0,000*
	MMP9	r			
		p			
S+K	MMP2	r	0,174	0,594	0,775
		p	0,463	0,006*	0,000*
	MMP9	r	0,452	0,686	0,745
		p	0,045*	0,001*	0,000*
K	MMP2	r	0,404	0,676	0,846
		p	0,077	0,001*	0,000*
	MMP9	r	0,404	0,676	0,846
		p	0,077	0,001*	0,000*

S+KP grubunda:

- MMP2 ile inflamasyon, neovaskülerizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$).
- MMP9 ile inflamasyon, neovaskülerizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p < 0.01$).

KP grubunda:

- MMP2 ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır ($p < 0.001$).
- KP grubunda MMP9 negatifliği olmadığı için MMP9 ile ilgili korelasyon bakılmadı.

S+K grubunda:

- MMP2 ile neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.001$).
- MMP9 ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.001$).

K grubunda:

- MMP2 ile neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.001$).
- MMP9 ile neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon vardır (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.001$).

5 TARTIŞMA

Periodontal hastalık, dental plakta yer alan mikroorganizmalara karşı konak cevabı tarafından oluşturulan kronik enflamatuvar bir hastalıktır (175). Klinik olarak periodontal cep oluşumu, klinik ataçman kaybı ve radyografik olarak da alveol kemiği kaybı ile karakterizedir (176,177). Konak savunma sistemi hücreleri, mikrobiyal dental plak ve ürünleri ile karşılaştığında doku yıkıcı ve koruyucu mekanizmalar aynı anda harekete geçer (178). Periodontal hastalığın oluşabilmesi için mikrobiyal dental plak varlığı gereklidir, ancak tek başına yeterli değildir. Hastalığın gelişmesi ve ilerlemesinde çevresel, genetik ve sistemik faktörlerin de etkileri bulunmaktadır (179).

Periodontal hastalıkta rol oynayan en önemli çevresel faktör sigaradır (180,181,182). Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar sigara tüketimi ile periodontal hastalık arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (17,51-53). Sigara içenlerde yaş, cinsiyet ve plak indeksinden bağımsız olarak periodontal hastalık gelişme riski sigara içmeyenlere göre 2.7 kez daha fazladır (183). Jansson ve Laustedt (184) sigara ve artmış marjinal kemik kaybı arasında korelasyon olduğunu; Bergström ve arkadaşları (51) ise kronik olarak sigara içenlerde periodontal sağlığın risk altında olduğunu belirtmişlerdir.

Periodontal hastalığın prevalansı ile günlük içilen sigara sayısı ve sigara içilen yıl arasındaki ilişki literatürde belirtilmiştir (52, 71, 73). Yapılan bir çalışmada, bir günde on adetten fazla sigara içen bireylerde sağlıklı alanlarda sondlamada kanama miktarının %50 oranında azaldığı rapor edilmiştir (185). Bizim çalışmamızda, yapılan çoğu çalışmadaki genel yaklaşımı destekleyecek şekilde sigara içenler grubuna en az 5 senedir günde en az 10 adet ve üzerinde sigara içen bireyler dahil edilmiştir.

Bir çok klinik çalışmada sigara içen ve içmeyen gruplar arasında klinik cevaplar bakımından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde, sigara kullanımının periodontal hastalık üzerine etkisini inceleyen araştırmaların çoğu sigara içenlerde Pİ (186-189), CD (190,191) ve KAS (63,187,192,193) değerlerinin içmeyenlere göre yüksek olduğunu bildirmektedir. Fakat sigaranın periodontal parametreler üzerinde etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin bazı çalışmalarda sigaranın Pİ skorlarına etki etmediği belirtilmiştir (19,52,63). Yine Demirkaya ve ark. yaptığı çalışmada sigara içenlerde dişeti iltahabının belirgin bir şekilde baskılandığı

ve her iki grup arasında plak skorları açısından bir fark olmadığı gösterilmiştir (186). Bilginer oral hijyene dikkat edilmediğinde sigaranın periodontal hastalık şiddetini artırabileceğini, fakat iyi bir oral hijyenle sigaranın olumsuz bir katkısının olmayacağını bildirmektedir (194). Demirer ve ark. sigara içen ve içmeyen hastaların gruplararası karşılaştırmasında, başlangıç Pİ, Gİ, CD ve KAS değerlerinin farklı olmadığını belirtmişlerdir (195). Çalışmamızda, periodontitisli bireylerin tüm ağız klinik indeks (Pİ, Gİ, CD, KAS) ortalamaları sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Gruplar sigara içme durumuna göre değerlendirildiğinde sigaranın hem periodontitisli bireylerde hem de kontrollerde Pİ, CD ve KAS değerleri üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur. Sigaranın periodontal klinik parametreler üzerine etkisini araştıran cross-sectional çalışmalar, sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında içenlerde Gİ skorlarının daha düşük olduğunu göstermektedir (63,64,196). Bergström ve Bostrom , benzer derecedeki periodontitisli hastalarda sigara kullanımının dişeti kanamasına etkisini incelemişlerdir; sigara içen hastaların dişeti kanama indeksi skorlarının içmeyenlere göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (197). Sigara içen 27 bireyin sigarayı bırakmalarının ardından 4-6 hafta boyunca takip edildiği bir çalışmada plak seviyesi değişmemesine rağmen, sondalamada kanama değerlerinin iki kat arttığı bildirilmiştir (198). Çalışmamızda sigara içmenin kontrol grubunda Gİ değerlerini etkilemediği belirlenirken, periodontitisli bireylerde sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre Gİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Sigara ve Gİ arasındaki ilişki, çalışmamızda literatürdeki genel yaklaşımı destekler biçimde bulunmuştur.

Sigara içenlerde dişeti iltihabının klinik belirtileri sigara içmeyenlere göre azalmıştır. İltihabi belirtilerin sigara içenlerde azalmasının sebebi sigaranın yarattığı vazokonstriksiyon veya dişeti vasküler ağındaki damar sayısının azalması olabilir. Yapılan birçok araştırmada, sigaranın gingival dokuların mikrodolaşımında vazokonstriksiyon etkisi yaptığı rapor edilmiştir (199,200). Ayrıca sigara içimi sonrası lokal ısının artması nedeniyle, oral mukoza ve oral gingival epitel kalınlığının arttığı; buna bağlı olarakta enflamasyon belirtilerinin azaldığı belirtilmiştir (201,202). Enflamasyonun gelişmesiyle, DOS miktarı (203), sondalamada kanama ve vasküler reaksiyondaki yoğunluk sigara içenlerde daha az bulunmuştur (78).

Literatürde sigara içenlerde, gingival kan akımındaki değişikliklere dair yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Sigaranın damarlar üzerindeki etkisini ilk gösteren kişi Pindborg'dur (1947). Pindborg, sigaranın kan damarları üzerinde vazokonstriktif etki yaptığını; kan akımının azaldığını ve bu durumun bölgeye giden eritrosit miktarının ve dolayısıyla oksijen seviyesinin yetersiz kalmasına neden olacağını, doku yıkım ürünlerinin bölgeden uzaklaştırılmasını engelleyeceğini belirtmiştir (204). "Laser Doppler Flowmeter" (LDF) ile yapılan bir hayvan deneyinde, nikotin enjeksiyonunun dişeti kan akımı ve iletkenliği üzerine etkisi değerlendirilmiş ve enjeksiyon sonrası, dişeti kan akımında, kan basıncında ve gingival vasküler iletkenlikte azalma meydana geldiği gözlenmiştir (205). Nikotinin etkisiyle damarlarda vazokonstriksiyon gerçekleşeceği, kan akımının azalmasına bağlı olarak periodontal problemlerin erken belirtilerinin baskılanabileceği belirtilmiştir (60). Sigara içen sağlıklı bireylerin dişetinde, oksijen miktarı ve subgingival ısı sigara içmeyenlere göre daha az bulunmuştur. Bu durumun, bölgedeki kan akımının azalmasıyla ilişkili olduğu söylenmiştir (206,207). Rezevandi ve ark. yaptığı çalışmada enflamasyonlu dokuda bulunan damar sayısının sigara içmeyenlerde içenlere göre daha fazla olduğu saptanmıştır (208). Bergström ve ark. da sigara içenlerin dişetindeki damarlarda stenoz görüldüğünü ve damarların sayıca azaldığını belirtmişlerdir (78,209). Sigaranın gingival kan akımı üzerinde etkisinin olmadığı ya da tam tersi bir etkisinin olabileceği de belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada, sigara kullananlar ve kullanmayanların gingival kan akımlarında farklılık tespit edilmemiştir (210). Sönmez ve ark. yaptığı bir araştırmada 38 sigara içen ve 36 sigara içmeyen bireyin damar yoğunlukları incelenmiş; gruplararası bir fark bulunamamıştır (211). LDF kullanarak yapılan bir araştırmada ise sağlıklı bireylerde, sigara içiminin hemen ardından gingival kan akımında geçici bir süreyle artış tespit etmişlerdir (212). Yine başka bir çalışmada periodontal olarak sağlıklı bireylerde sigara içmenin damarsal yoğunluk açısından bir farklılık oluşturmadığı belirtilmiştir (213). Bizim çalışmamızda da literatürdeki pek çok araştırmada belirtildiği gibi, periodontitisli bireylerde sigara içenlerin enflamasyon ve vaskülarizasyon değerleri sigara içmeyenlere göre daha düşük bulunmuştur. Fakat kontrol grubunda sigaranın enflamasyon ve vaskülarizasyon değerleri üzerinde bir etkisi tespit edilememiştir. Çalışmamızdaki bu bulgulara dayanarak sigaranın, hastalık varlığında vaskülarizasyonu etkileyerek

kanamayı azalttığını, Gİ skorlarını düşürdüğünü ve enflamasyonun klinik belirtilerini baskıladığını söyleyebiliriz.

Sigara içmenin periodontitis üzerindeki etki mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Sigaranın periodontal hastalıkların prevalansını ve şiddetini arttırması, sigaranın konak-bakteri arasındaki dengeyi değiştirerek yıkımı daha agresif hale getirmesine bağlanmaktadır. Sigara, doğal ve kazanılmış immün cevap mekanizmalarını pek çok yoldan bozabilmektedir. Bunların arasında, nötrofil fonksiyonlarını, antikor üretimini, fibroblast aktivitelerini, enflamatuvar mediatör üretimini ve vasküler faktörleri değiştirmesini sayabiliriz. Bakteriyel flora ve konak cevabı arasındaki dengenin bozulması, subgingival plaktaki patojenik bakterilerin miktarı ve virulansının, bakteriyel atağa karşı konak savunmasının veya her ikisinin birden değişmesiyle alakalıdır (214).

Nikotin ve diğer sigara bileşenlerinin periodontal ligament ve dişeti fibroblastları üzerine etkisi birçok in vitro çalışmada incelenmiştir. Çalışmalarda sigaranın içinde bulunan nikotinin, fibroblast ataçmanını ve integrin salınımını değiştirebileceği gösterilmiştir (215). İn vitro olarak nikotinin, gingival fibroblastların büyümesini, kollagen ve fibronektinin üretimini engellediği, kollagen yıkımını teşvik ettiği ve ayrıca nikotine maruz kalmış fibroblastlarda insan kök yüzeyine tutunma kadar fibroblast proliferasyonunun da azaldığı gösterilmiştir (216, 217). Fang ve Svobada, nikotinin yara iyileşmesinde fibroblast göçüne olan etkisini incelemişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nikotin uygulanan grupta yara bölgesine hücre göçünün %50 oranında azaldığını belirtmişlerdir (218). Yapılan başka bir çalışmada; kök yüzeyi düzleştirme işlemlerinden bir hafta sonra kök yüzeyine fibroblast ataçmanını incelemişler ve fibroblast ataçmanının sigara içenlerde içmeyenlere göre daha az olduğunu bildirmişlerdir (219). Sigaranın fibroblastlar üzerindeki etkisinin biraz da dozla alakalı olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bir araştırma da düşük doz nikotinin (100µg/ml) gingival fibroblastlar üzerinde bir etkisinin olmadığı, fakat daha yüksek dozun (200µg/ml) fibroblast proliferasyonu üzerine negatif etki yaptığı belirtilmiştir. Aynı zamanda 200µg/ml'nin üstündeki dozlarda sigaranın hücre proliferasyonunu %50'den daha fazla azaltacağı, 400µg/ml'nin üzerinde ise sitotoksititeyi %30 arttıracığı belirtilmiştir (23). Çalışmamızda literatür bilgisiyle uyumlu olarak sigaranın periodontal olarak sağlıklı bireylerde fibroblastik

proliferasyon üzerine bir etkisinin olmadığı; fakat periodontitisli bireylerde sigaranın fibroblastik proliferasyonu azalttığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda sigara içenler grubuna günde en az 10 sigara içen bireyler dahil edilmiştir, fakat bireylerin günlük içtiği sigara sayısı kaydedilmemiştir. Belki günlük alınan dozlar kaydedilmiş olsaydı sigara ve fibroblastik proliferasyon arasındaki ilişki daha anlamlı olabilirdi. Sigaranın sağlıklı bireylerde fibroblastik proliferasyon üzerine etkisinin olmaması, bizi sigaranın inflamasyon varlığında bu etkiyi gösterebileceği sonucuna ulaştırmaktadır.

Periodontal hastalıklara bağlı gelişen kronik dişeti iltihabı esas olarak bağ dokusunun ve ECM bileşenlerinin yıkımı ile karakterizedir (2). MMP'ler; EM makromoleküllerinin parçalanmasında önemli rol oynayan yaklaşık 28 enzimden oluşan geniş bir proteolitik enzim ailesidir. Çalışmalarda MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 gibi MMP'lerin periodontal doku yıkımına sebep olduğu gösterilmiştir (99,125,167). MMP-2 ve MMP-9 periodontal hastalıkta rol oynayan en önemli MMP'lerdendir (118). Jelatinazlar bazal membranın temel proteini olan tip IV kollajeni ve periodontal dokularda majör protein olan denatüre tip I kollajeni parçalayabilirler. MMP-2 esas olarak gingival fibroblastlar tarafından sentezlenirken, MMP-9 PMNL'ler tarafından sentezlenirler (220,221). Bu çalışmanın amacı MMP-2 ve MMP-9'un periodontitis ve sigara ile ilişkili olup olmadığını belirlemektir.

Jelatinazların doku yıkımındaki rolü tam anlaşılmasa da periodontal hastalıkla ilişkisini ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır. MMP-2 ve MMP-9; periodontitis hastalarında doku ve DOS örneklerinde artmış seviyelerde bulunmaktadır (15). Smith ve ark. yaptığı araştırmada, periodontitisli hastalardan ve sağlıklı bireylerden dişeti doku örnekleri alarak MMP-9 aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada periodontitisli hastalarda MMP-9 seviyesi sağlıklı bireylere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir (12). Dişeti örneklerinde MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinin incelenmesi üzerine yapılan başka bir çalışmada azalmış kollajen liflerin artmış MMP-2 ve MMP-9 seviyesi ile olan korelasyonu tespit edilmiş ve bu MMP'lerin periodontitiste EM'nin yıkımında rol oynadıklarını belirtmişlerdir (167). Rai ve ark. DOS' ta MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, periodontitisli hastaların DOS MMP-9 seviyesini gingivitisli ve sağlıklı gruba göre önemli derecede yüksek bulmuşlardır. Buna karşın periodontitisli hastalardaki DOS MMP-2 seviyesini ise gingivitisli ve sağlıklı bireylere göre daha

düşük tespit etmişlerdir. Ayrıca MMP ile CD ve sondlamada kanama arasında korelasyon olduğu belirtilmiştir (11). Makela ve ark. periodontitisli bireylerde jelatinazların seviyesini kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede bulmuşlar ve periodontal tedavinin jelatinazların seviyesini önemli derecede azalttığını rapor etmişlerdir (7). Yapılan başka bir araştırmada sağlıklı ve periodontitisli bireylerden DOS, periodontal ligament ve dişeti örnekleri alınmış; MMP-2 ve MMP-9'un DOS ve periodontal ligament seviyeleri periodontitisli bireylerde daha yüksek bulunurken dişeti örneklerinde sağlıklı ve hasta gruplar arasında sonuçlar benzer bulunmuştur (222). Korostoff ve ark. periodontitisli hastalardan alınan dişeti örneklerindeki MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini sağlıklı gruba göre yüksek seviyede tespit etmişlerdir (14). Başka bir araştırmada tükürük MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinin periodontal tedaviden sonra azaldığı belirlenirken; enzim seviyesi ile klinik parametreler arasında bir bağlantı bulunamamıştır (223). Maeso periodontitis, gingivitis ve kontrol grubu oluşturduğu çalışmada DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini değerlendirmiş, periodontitisli bireylerdeki MMP-9 seviyesini istatistiksel açıdan önemli olmamakla beraber daha yüksek bulunurken, MMP2 seviyesini daha düşük belirlemişlerdir (13). Bizim çalışmamızda beklendiği gibi, periodontitisli hastaların dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yine periodontitisli hastalarda, MMP-2 ve MMP-9 seviyesi ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca grup içi karşılaştırmalarda bütün gruplarda MMP-2 ve MMP-9 değerleri pozitif olanların Gİ, vaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerleri, MMP-2 ve MMP-9 değerleri negatif olanlardan anlamlı derecede daha yüksek belirlenmiştir.

Sigara kullanımının dolaşımdaki nötrofillerin sayısında artışa neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (224,225). Buna karşın sigara kullanımının dişeti oluşuna geçen nötrofil sayısını etkilemediği hatta azaltabileceği de belirtilmiştir (226). Sigara içmek elastaz aktivite seviyesinde ve MMP aktivitesi ile olan korelasyonda artışa sebep olarak periodontitis gelişimi açısından risk oluşturmaktadır (22,99). Donaldson ve ark. sigara kullanımının, nötrofillerdeki MMP ve elastaz gibi proteolitik enzimlerin üretimini arttırarak damar ve dokularda hasara yol açtığını rapor etmişlerdir (227,228). Dahası MMP'lerin gen transkripsiyonunda önemli rol oynayan

TNF- α da sigara içenlerde içmeyenlere göre daha yüksek seviyede çıkmıştır (100,101).

Literatürde sigaranın jelatinazlar üzerine olan etkisini inceleyen araştırma sayısı oldukça sınırlıdır. Neto ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlar üzerinde periodontitis oluşturulmuş; sigara ve MMP-2 arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Hayvanlar sağlıklı ve periodontitisli olarak 2 gruba ayrılıp dişeti örneklerinde MMP-2 seviyeleri incelenmiştir. Sigaranın sağlıklı grupta MMP-2 seviyesi üzerine etkisinin olmadığı, periodontitis grubunda ise MMP-2 seviyesini arttırdığını tespit etmişlerdir (229). Yiğit yaptığı çalışmada periodontitisli hastaların DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinin, sigara içen ve içmeyen gruplar arasında farklı olmadığını belirtmiştir (230). Yapılan başka bir klinik çalışmada sigara içen ve içmeyen bireylerden serum ve tükürük örnekleri toplanmıştır. Serum örneklerinde MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri sigara içen ve içmeyenlerde farklı bulunmazken, tükürük örneklerinde MMP-9'un total miktarı sigara içenlerde düşük bulunmuştur (231). Bir hücre çalışmasında ise nikotinin hücrelerden MMP-9 salınımını arttırdığı ancak MMP-2'yi etkilemediği tespit edilmiştir (232). Özçaka ve ark. yaptığı bir çalışmada sigaranın MMP-8, MMP-9, TIMP-1 ve myeloperoksidaz seviyeleri üzerindeki etkisi hem periodontitisli hem de sağlıklı gruplarda değerlendirilmiş; serum MMP-9 seviyesi sigara içen kronik periodontitislilerde önemli derecede yüksek bulunmuştur (233). Başka bir çalışmada sigaraya bağlı akciğer hasarında alveoler makrofajların ön planda olduğu ve MMP-9'un bu hücrelerden kontrol grubuna göre daha yoğun sentezlendiği görüldü (234).

Bizim çalışmamızda sigaranın, periodontitisli hastaların dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyesini düşürdüğü tespit edildi. Elde ettiğimiz bulgular bize sigaranın enflamasyon belirtilerini baskılamasının, vaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyonu azaltmasının bir sonucu olarak MMP-2 ve MMP-9 pozitifliğini düşürmüş olabileceğini düşündürmektedir. MMP-2 başlıca gingival fibroblastlardan salgılanmaktadır. Sigara fibroblastik proliferasyonu azaltmak yoluyla MMP-2 seviyesini de düşürmüş olabilir. Sağlıklı grupta ise sigaranın MMP-2 seviyesi üzerine etkisi gözlenmezken, MMP-9 seviyesini arttırdığını görmekteyiz. Literatürdeki sigara ve jelatinazlar arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmaların çelişkili sonuçları ve bizim araştırmamızdaki sonuçları değerlendirdiğimizde, aslında sigaranın jelatinazların

seviyesini azaltmak ya da arttırmaktan ziyade enzimler arasındaki dengeyi bozmak yoluyla etkisini gösterdiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak kronik periodontitisli hastalarda MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuştur. Ancak sigara kullanımınının sağlıklı ve periodontitisli gruplarda aynı etkiyi göstermediği gözlenmiştir. Çalışmamızda sigaranın, periodontitisli hastaların dişeti MMP-2 ve MMP-9 seviyesini düşürdüğü tespit edilirken, sağlıklı grupta sigaranın MMP-2 seviyesi üzerine etkisinin olmadığını, MMP-9 seviyesini ise arttırdığını görmekteyiz. Buna göre yaptığımız çalışmada MMP-2 ve MMP-9'un periodontitisin patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği ve sigaranın özellikle enfeksiyon varlığında konak savunma mekanizmasındaki dengeyi bozabileceği sonucuna ulaştık. Sigaranın periodontal hastalıklardaki rolünün anlaşılabilmesi için daha ileri araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

- * Kronik periodontitisli hastaların Pİ, Gİ, CD, KAS değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksektir.
- * Sigara, kontrol grubunda Pİ, Gİ, CD, KAS değerleri üzerine etki etmemektedir. Periodontitis grubunda ise Pİ, CD, KAS değerleri üzerine etki etmezken, Gİ değerlerini anlamlı derecede düşürmektedir.
- * Kronik periodontitisli hastaların inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksektir.
- * Sigara, kontrol grubunda inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon değerlerini etkilemezken, periodontitis grubunda bu değerleri anlamlı derecede düşürmektedir.
- * Kronik periodontitisli hastaların dişetindeki MMP-2 ve MMP-9 seviyesi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksektir.
- * Sigara, kontrol grubunda dişetinde MMP-2 seviyesini etkilemezken, periodontitis grubunda sigara içenlerin MMP-2 pozitifliği sigara içmeyenlere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.
- * Sigara, kontrol grubunda dişetinde MMP-9 pozitifliğini artırırken, periodontitis grubunda sigara içenlerin MMP-9 pozitifliği sigara içmeyenlere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.
- * Periodontitisli bireylerde MMP-2 ve MMP-9 seviyesi ile inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibroblastik proliferasyon arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

7 KAYNAKLAR

- 1) GOODSON, J.M., HAFFAJEE, A.D., SOCRANSKY, S.S. (1984). The relationship between attachment level loss and alveolar bone loss. *J. Clin. Periodontol.* **11**: 348-359.
- 2) BIRKEDAL HANSEN, H. (1994). Host mediated extracelüler matrix destruction by metalloproteinases. *Moleküler Pathogenesis of Periodontal Diseases*. Ed. Robert Genco. Chapter **17**:191-202.
- 3) CANNAS, M., BOSETTÌ, M., SABBATINI, M., RENO, F. (2004). Role of extracellular matrix remodeling in advanced biocompatibility. Marcel Dekker, USA Part I, Chapter 1: 1-30.
- 4) UITTO, V.J., OVERALL, C.M., MCCULLOCH, C. (2003) Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol. 2000.* **31**: 77-104.
- 5) OPDENAKKER, G., VAN DEN STEN., P.E., DUBOIS, B., NELISSEN, I., COILLIE E.V., MASURE, S., PROOST, P., DAMME, J.V. (2001). Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J.Leukoc. Biol.* **69**: 851.859.
- 6) WOESSNER, J.F. (1991). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.* **5**: (8)2145-54.
- 7) MAKELA, M., SALO, T., UITTO, V.J., LARJAVA, H. (1994). Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the Oral Cavity: Cellular Origin and Relationship to Periodontal Status. *J. Dent. Res.* **73**:1397-1406.
- 8) SELTZER, J.L., EISEN, A.Z., BAUER, E.A., MORRIS, N.P., GLANVILLE, R.W., BURGESSON, R.E. (1989). Cleavage of type VII collagen by interstitial collagenase and type IV collagenase (gelatinase) derived from human skin. *Biol. Chem.* **264**: 3822-3826.
- 9) GADHER, S.J., SCHMID, T.M., HECK, L.W., WOOLLEY, D.E. (1989). Cleavage of collagen type X by human synovial collagenase and neutrophil elastase. *Matrix.* **9**: 109-115.

- 10) WELGUS, H.G., FLISZAR, A., SELTZER, J.L., SCHMID, T.M., JEFFREY, J.J. (1990). Differential susceptibility of type X collagen to cleavage by two mammalian interstitial collagenases and 72kDa type IV collagenase. *Biol. Chem.* **265**: 13521-13527.
- 11) RAI, B., JAIN, R., ANAND, S.C. (2008). Levels of gingival crevicular metalloproteinases-8 and -9 in periodontitis. *Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.* **8(3)**: 337-339
- 12) SMITH, P.C., MUNOZ, V.C., COLLADOS, L., OYARZUN, A. (2004). *In situ* detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gingival epithelium in human periodontal disease. *Journal of Periodontal Research.* **39**: 87-92.
- 13) MAESO, G., BRAVO, M., BASCONES, A. (2007). Levels of metalloproteinase-2 and-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingiva. *Quintessence Int.* **38**: 247-252.
- 14) KOROSTOFF, J.M., WANG, J.F., SARMENT, D.P., STEWART, J.C., FELDMAN, R.S., BILLINGS, P.C. (2000). Analysis of in situ protease activity in chronic adult periodontitis patients: expression of activated MMP-2 and a 40 kDa serine protease. *J. Periodontol.* **71**: 353-360
- 15) CHEN, D., WANG, Q., MA, Z.W., CHEN, F.M., CHEN, Y., XIE, G.Y., WANG, Q.T., WU, Z.F. (2007). MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisms in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **34**: 384-9.
- 16) HABER, J., WATTERS, J., CROWLEY, M., MANDELL, R., JOSHIPURA, K., KENT, R.L.(1993). Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J. Periodontol.* **64**: 16–23.
- 17) BERGSTRÖM, J. & PREBER, H.(1994). Tobacco use as a risk factor. *J. Periodontol.* **65**: 545–550.
- 18) TONETTI, M.S.(1998). Cigarette smoking and periodontal diseases: Etiology and management of disease. *Ann. Periodontol.* **3**: 88-101

- 19) HAFFAJEE, A.D. & SOCRANSKY, S.S.(2001). Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J. Clin. Periodontol.* **28**: 283–295.
- 20) RYDER, M.I., FUJITAKI, R., JOHNSON, G., HYUN, W. (1998). Alterations of neutrophil oxidative burst by in vitro smoke exposure: Implications for oral and systemic diseases. *Ann. Periodontol.* **3**: 76-87.
- 21) GIANNOPOULOU, C., CAPPUYNS, I., MOMBELLI, A. (2003). Effect of smoking on gingival crevicular fluid cytokine profile during experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* **30**: 996-1002.
- 22) SODER, B. (1999). Neutrophil elastase activity, levels of prostoglandin E-2, and matrix metalloproteinase-8 in refractory periodontitis in smokers and nonsmokers. *Acta. Odont. Scand.* **57**: 77-82.
- 23) ZHANG, W., SONG, F., WINDSOR, L.J. (2009). Cigarette smoke condensate affects the collagen-degrading ability of human gingival fibroblasts. *J. Periodontol. Res.* **44**: 704-713.
- 24) KINANE, D.F., BERGLUNDH, T., LINDHE, J. (2003). Host-paradise interactions in periodontal disease. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP (eds), *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4 th ed. Blackwell Munksgaard Publishing. Oxford. P:150-178.
- 25) SCHIFFERLE, R.E. (2005). Nutrition and periodontal disease. *Dent. Clin. N. Am.* **49(3)**: 595-610.
- 26) WOLF, H.F., RATEİTSCHAK, E.M., RATEİTSCHAK, K.H. (2007). *Parodontologie* (3 th ed). Çeviri: Çağlayan G, Hatipoglu H. Kitap: Dishekimliği'nin Renkli Atlasları Periodontoloji. Palme Yayınları. Ankara. s: 95-118.
- 27) ARMİTAGE, G.C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann. Periodontol.* **4(1)**: 1-6.
- 28) NAGY, R.J., NOVAK, M.J. (2003). Chronic periodontitis. In: Neng, Takei HH, Carranza FA (eds). *Clinical Periodontology*. 9. Ed. WB Saunders. Philadelphia. p:398-402.

- 29) ALBANDAR, J.M., & RAMS, T.E. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontology 2000*. **29**: 7–10.
- 30) NOVAK, M.J. & NOVAK, K.F. (2006). Chronic periodontitis. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10 th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. pp 494-499.
- 31) KINANE, D.E., LINDHE, J. (2003). Chronic Periodontitis. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP (eds), Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 4 th ed. Blackwell Munksgaard Publishing. Oxford. pp: 209-215.
- 32) FLEMMING, T.F. (1999). Periodontitis. *Ann Periodontol*. **4**: 32-37.
- 33) HAAKE, S.K. (2002). Periodontal Microbiology. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. Clinical Periodontology, 9th Ed, New York, WB Saunders Company. pp: 96-112.
- 34) MORIKAWA, M., CHIBA, T., TOMII, N., SATO, S., TAKAHASHI, Y., KONISHI, K., NUMABE, Y., IWATA, K., IMAI, K. (2008). Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex polymerase chain reaction. *J. Periodont. Res*. **43**: 268–274.
- 35) OFFENBACHER, S., ODLE, B., VAN DYKE, T. (1985). The microbial morphotypes associated with periodontal health and adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol*. **12**: 736-749.
- 36) SEYMOUR, G.J., (1987). Possible mechanisms involved in immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J. Dent. Res*. **66**: 2.
- 37) BARTOLD, P.M. & NARAYANAN, A.S. (2006). Molecular and cell biology of periodontal tissues. *Periodontology 2000*. **Vol. 40**: 29–49.
- 38) OFFENBACHER, S. (1996). Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann. Periodontol*. **1**: 821-878.

- 39) HORTON, J.E., OPPENHEIM, J.J., MERGENHAGEN, S.E. (1974). A role for cell-mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodontol.* **45**: 351-360.
- 40) KORNMAN, K.S., PAGE, R.C., TONETTI, M.S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* **14**: 33-53.
- 41) MATHUR, A. MIHALOWICZ, B.S. (1997). Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* **8**: 76-89.
- 42) GENCO, R.J. (1992). Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J. Periodontol.* **63**: 338-355.
- 43) PAGE, R.C., KORNMAN, K.S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* **14**: 9-11.
- 44) MYASAKI, K.T. (1991). The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J. Periodontol.* **62**: 761-774.
- 45) KORNMAN, K.S., PAGE, R.C., TONETTI, M.S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol. 2000.* **14**: 33-53.
- 46) KIRKWOOD, K.L., TABA, M., ROSSA, C., PRESHAW, P.M., GIANNOBILE, W.V. (2006). Molecular biology of the host-microbe interaction in periodontal disease: Selected topics: Molecular signaling aspects of pathogen-mediated bone destruction in periodontal diseases. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10 th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. pp: 259-274.

- 47) NOVAK, K.F. & NOVAK, M.J. (2006). Risk Assessment. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10 th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. pp: 602-608.
- 48) LINDHE, J., LANG, N.P., KARRING, T. (2008). Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Vol.II. (Fifth Edit.). Blackwell Publishing Ltd. pp.: 317-322.
- 49) JOHNSON, G.K., POORE, T.K., PAYNE, J.B., ORGAN, C.C. (1996). Effect of smokeless tobacco extract on human gingival keratinocyte levels of prostoglandin E2 and interleukin-1. *J. Periodontol.* **67** : 116-124.
- 50) GENCO, R.J. (1996). Current view of risk factors for periodontal diseases. *J.Periodontol.* **67**: 1041-1049.
- 51) BERGSTRÖM, J., ELIASSON, S., DOCK, J. (2000). A 10-Year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *J. Periodontol.* **71**: 1338-1347.
- 52) HABER, J., KENT, R.L. (1992). Cigarette smoking in a periodontal practice. *J.Periodontol.* **63**: 100-106.
- 53) RIVERA, HÍDALGO F. (1986). Smoking and periodontal disease A review of the literature. *J. Periodontol.* **57**: 617-624.
- 54) CARRANZA, F.A., NEWMAN, M.G. (1996). The Role of iatrogenic and other local factors. Clin. Periodontology. 8th Edition. Philadelphia W.B. Saunders. pp:161-173.
- 55) ZAMBON, J.J., GROSSI, S.G., MACHTEI, E.E., HO, A.W., DUNFORD, R., GENCO, R.J. (1996). Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J. Periodontol.* **67**: 1050-1054.
- 56) DEMİRKAYA, C., DEMİREL, K., MERİÇ, H. Sigara içme alışkanlığı alveol kemik kaybı görülme sıklığını arttırmaktadır. Radyografik değerlendirme. Türk Periodontoloji Derneği 28. Bilimsel Kongresi Serbest Bildiri Özetleri. Sayfa: 103.

- 57) IŞİMER, Y., ÖZDEMİR, A., KANSU, A., AKÇA, E. (1997). Sigaranın periodontal dokular üzerindeki etkisinin incelenmesi. *A.Ü. DişHek. Fak. Dergisi*. **24**: 41-46.
- 58) PABST, M.J., PABST, K.M., COLLIER, J.A., COLEMAN, T.C., GODAT, M.S., WARING, M.B., BABU, J.P. (1995). Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J. Periodontol.* **66**: 1047-1055.
- 59) ÖZBEK, M., KARABIYIKOĞLU, T. (1996). Sigara ve çaya bağlı, tükürükteki kalsiyum, fosfat konsantrasyonları ile optik dansite ve PH değerleri arasındaki farklılıkların biyokimyasal olarak incelenmesi ve değerlendirilmesi. *Atatürk Ü. Diş Hek. Fak. Dergisi*. **6**: 18-22.
- 60) TURNBULL, B. (1995). Smoking and periodontal disease. A review. *J.N. Z. Soc. Periodontol.* **79**: 10-15.
- 61) NOVAK, K.F. & NOVAK, M.J. (2006). Smoking and Periodontal Disease. In: Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10 th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. pp: 251-258.
- 62) FELDMAN, R.S., BRAVACOS, J.S., ROSE, C.L. (1983). Associations between smoking, different tobacco products and periodontal disease indexes. *J. Periodontol.* **54**: 481-487.
- 63) AXELSSON, P., PAULANDER, J., LINDHE, J. (1998). Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year old individuals. *J. Clin.Periodontol.* **25**: 297-305.
- 64) BERGSTRÖM, J. (1989). Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **17**: 245-247.
- 65) GROSSI, S.G., SKREPCİNSKI, F.B., DECARO, T., ZAMBON, J.J., CUMMINS, D., GENCO, R.J. (1996). Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J. Periodontol.* **67**: 1094-1102.
- 66) PREBER, H., BERGSTRÖM, J. (1985). The effect of non-surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non-smokers. *J. Clin. Periodontol.* **13**: 319-323.

- 67) AH, M.K., JOHNSON, G.K., KALDAHL, W.B. (1994). The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.* **21**: 91-97.
- 68) KALDAHL, W.B., JOHNSON, G.K., PATIL, K.D., KALKWARF, K.L. (1996). Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J. Periodontol.* **67**: 675-681.
- 69) JONES, J.K., TRIPLETT, R.G. (1992). The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: A review of evidence and implications for patient care. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **50**: 237-239.
- 70) WEYANT, R.J. (1994). Characteristics associated with the loss of periimplant tissue health of endosseous dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Imp.* **9**: 95-102.
- 71) GROSSI, S.G., ZAMBON, J.J., HO, A.W. (1994). Assessment of risk for periodontal disease.1. Risk indicators for attachment loss. *J. Periodontol.* **65**: 260-267.
- 72) GROSSI, S.G., GENCO, R.J., MACHTEI, EE. (1995). Assessment of risk for periodontal disease.11. Risk indicators for alveolar bone loss. *J. Periodontol.* **66**: 23-29.
- 73) MARTÍNEZ-CANUT, P., LORCA, A., MAGAN, R. (1995). Smoking and periodontal disease severity. *J. Clin. Periodontol.* **22**: 743-749.
- 74) BERGSTRÖM, J., ELIASSON, S., DOCK, J. (2000). Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J. Clin. Periodontol.* **27**: 61-68.
- 75) LINDEN, G.J., MULLALLY, B.H. (1994). Cigarette smoking and periodontal destruction in young adults. *J. Periodontol.* **65**: 718-723.
- 76) ZAMBON, J.J., GROSSI, S.G., MACHTEI, E.E., HO, A.W., DUNFORD, R., GENCO, R.J. (1996). Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J. Periodontol.* **67**: 1050-1054.

- 77) ERDEMİR, E.O., DURAN, I., HALILOĞLU, S. (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **31**: 99–104.
- 78) BERGSTRÖM, J., PERSSON, L., PREBER, H. (1988). Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis. *Scand. J. Dent. Res.* **96**: 34-39.
- 79) BERGSTRÖM, J. (1990). Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand. J. Dent. Res.* **98**:497-503.
- 80) DANIELSON, B., MANJİ, F., NAGELKERKE, N., FEJERSKOV, O., BÆLUM, V. Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* **17**: 159-164.
- 81) BERGSTRÖM, J. (1981). Short-term investigation on the influence of cigarette smoking upon plaque accumulation. *Scand. J. Dent. Res.* **89**: 235-238.
- 82) BASTIAN, R.J., WAITE, I.M. (1978). Effects of tobacco smoking on plaque development and gingivitis. *J. Periodontol.* **49**: 480-482.
- 83) SWENSON, H.M. (1979). The effects of cigarette smoking on plaque formation. *J. Periodontol.* **50**:146-147.
- 84) COLEMAN, G., BEIGHTON, D., CHALK, A.J., WAKE, S. (1976). Cigarette smoking and the microbial flora of the mouth. *Aust. Dent. J.* **21**: 111-115.
- 85) KENNEY, E.B., SAXE, S.R., BOWLES, R.D. (1975). The effect of cigarette smoking on anaerobiosis in the oral cavity. *J. Periodontol.* **46**: 82-85.
- 86) KINANE, D.F., RADVAR, M. (1997). The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *J. Periodontol.* **68**: 467-472.
- 87) KAMMA, J.J., NAKOU, M., GMÜR, R., BAEHNI, P.C. (1997). Subgingival microflora associated with early onset periodontitis patients. Europerio 2, Abstract of

Clinical, Research and Poster Presentations selected for publication. *J. Clin. Periodontol.* **24**: 845-872.

88) MOSS, M.E., BECK, J.D., KAPLAN, B.H. (1996). Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis. *J. Periodontol.* **67**: 1060-1069.

89) PREBER, H., LINDER, L.E., BERGSTRÖM, J. (1995). Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. *J. Clin. Periodontol.* **22**: 946-952.

90) FREDRIKSSON, M., GUSTAFSSON, A., ASMAN, B., BERGSTRÖM, K. (1998). Hyperreactive peripheral neutrophils in adult periodontitis: generation of chemiluminescence and intracellular hydrogen peroxide after in vitro priming and FcγR stimulation. *J. Clin. Periodontol.* **25**: 394-398.

91) FREDRIKSSON, M., FIGUEREDO, C.M.S., GUSTAFSSON, A., BERGSTRÖM, K., ASMAN, B. (1999). Effect of periodontitis and smoking on blood leukocytes and acute-phase proteins. *J. Periodontol.* **70**: 1355-1360.

92) NOBLE, R.C., PENNY, B.B. (1975). Comparison of leukocyte count and function in smoking and nonsmoking young men. *Infect. Immun.* **12**: 550-555

93) MARÍGO, M.A., LAFORA, A., SANTACROCE, R., CURCÌ, E., MONTEMURRO, P., FUMARULO, R. (2001). Nicotine effects on polymorphonuclear cell apoptosis and lipopolysaccharide-induced monocyte functions. A possible role in periodontal disease? *J. Periodont. Res.* **36**: 32-39.

94) TANGADA, S.D., CALÍFANO, J.V., NAKASHIMA, K. (1997). The effect of smoking on serum IgG2 reactive with Aa. in early-onset periodontitis patients. *J. Periodontol.* **68**: 842-850.

95) RÍVERA-HÍDALGO F. (2003). Smoking and periodontal disease. *Periodontol.* **2000**. **32**: 50-58.

- 96) TIPTON, D.A., DABBOUS, M.K. (1995). Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J. Periodontol.* **66**: 1056-1064.
- 97) ZHANG, W., SONG, F., WINDSOR, L.J. (2010). Effects of tobacco and *P. gingivalis* on gingival fibroblasts. *J. Dent. Res.* **89**:527-531.
- 98) ZHOU, J., OLSON, B.L., WINDSOR, L.J. (2007). Nicotine increases the collagen-degrading ability of human gingival fibroblasts. *J. Periodontol. Res.* **42**:228-235.
- 99) SODER, B., JIN, L.J., WICKHOLM, S. (2002). Granulocyte elastase, MMP-8 and PGE2 in gingival crevicular fluid in matched clinical sites in smokers and non smokers with persistent periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **29**: 384-391.
- 100) BOSTROM, L., LINDER, L.E., BERGSTROM, J. (1998). Clinical expression of TNF- α in smoking associated periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **25**: 767-773.
- 101) BOSTROM, L., LINDER, L.E., BERGSTROM, J. (1999). Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **26**: 352-357.
- 102) BARTOLD, P.M., WALSH, L.J., NARAYANAN, A.S. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol. 2000* . **24**:28.
- 103) BUDUNELI, N. (2001). Dişetin ekstraselüler matriksi. *E.Ü. Dişhek. Fak. Derg.* **22**: 1-12.
- 104) ENGEL, M.B. (1953). Water-soluble mucoproteins of the gingiva. *J. Dent. Res.* **32**:779.
- 105) HYNES, R., YAMADA, K. (1982). Fibronectins: multifunctional modular glycoproteins. *J. Cell. Biol.* **95**: 369-377.
- 106) LÖE, H., KARRING, T. (1969). A quantitative analysis of the epithelium–connective tissue interface in relation to assessments of the mitotic index. *J. Dent. Res.* **48**:634.

- 107) JULIANO, R.L., HASKILL, S. (1993). Signal transduction from the extracellular matrix. *J. Cell. Biol.* **120**:557-585.
- 108) TİMPLER, R. (1996). Macromolecular organization of basement membranes. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **8**: 618-624.
- 109) BECK, K., HUNTER, I., ENGEL, J. (1990). Structure and function of laminin: anatomy of a multidomain glycoprotein. *FASEB J.* **4**: 148-160.
- 110) CHAVRIER, C., COUBLE, M.L., MAGLOIRE, H., GRİMAUD, H.J. (1984). Connective tissue organization of healthy human gingiva. ultrastructural localization of collagen types I, III, IV. *J. Periodont. Res.* **19**:221-229.
- 111) NARAYANAN, A.S., CLAGETT, J.A., PAGE, R.J. (1985). Effect of inflammation on the distribution of collagen type I, III, IV and V and type I trimer and fibronectin in human gingiva. *J. Dent. Res.* **64**:1111-1116.
- 112) ROMANOS, G.E., SCHRÖTER, K.C., HİNZ, N., WACHTEL, H.C., BERNİMOULİN, J.P. (1991). İmmünohistochemical localization of collagenous components in healthy periodontal tissues of the rat and marmoset (*Callithrix jacchus*). II. Distribution of collagen types IV, V and VI. *J. Periodont. Res.* **26**: 323-332.
- 113) CHAVIER, C. (1990). Elastic fibers of healthy human gingiva. *J. Periodontol.* **9**:29.
- 114) HAKKI, S.S. (2010). Periodontal hastalıkların patolojisi. Çağlayan G. Periodontoloji. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi. ANKARA 1.Baskı. s:83-123.
- 115) REYNOLDS, J.J. & MEİKLE, M.C. (1997). Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol. 2000.* **14**: 144-157.
- 116) YAMALIK, N. (1999). Periodontal doku yıkımında biyokimyasal mekanizmalar. Ataoğlu T., Gürsel M. Periodontoloji. Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş. Damla Ofset A.Ş. KONYA 3.Baskı. Bölüm **9**: 44-48.

- 117) KAPİLA, Y.L., KAPİLA, S., JOHNSON, P.W. (1996). Fibronectin and fibronectinfragments modulate the expression of proteinases and proteinase inhibitors in human periodontal ligament cells. *Matrix. Biol.* **15**: 251-261.
- 118) EMİNGİL, G. (2010). Periodontal hastalıkların patogenezi. Çağlayan G. Periodontoloji. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi. ANKARA 1.Baskı. s:124-169.
- 119) NAGASE, H., VİSSE, R., MURPHY, G. (2006). Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc. Res.* **69**: 562–573.
- 120) VİSSE, R. & NAGASE, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.* **92**:827-839.
- 121) VU, T.H. & WERB, Z. (2000). Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes And Development.* **14**: 2123.2133.
- 122) GROSS, J.,LAPIÈRE, C.M. (1962). Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proct. Natl. Acad. Sci.* **48**:1014-1022.
- 123) CURRY, T.E., OSTEEN, K.G. (2003). The matrix metalloproteinase system: Changes, regulation, and impact throught the ovarian and uterin reproductive cycle. *Endocrine Reviews.* **24**: 428-465.
- 124) KAMEDA, K., MATSUNAGA, T., ABE N., FUJİWARA T., HANADA H., FUKUI K., FUKUDA I., OSANAİ, T., OKUMURA, K. (2006). Increased pericardial fluid level of matrix metalloproteinase-9 activity in patients with acute myocardial infarction: possible role in the development of cardiac rupture. *Circ. J.* **70**:673-8.
- 125) BİRKEDAL HANSEN, H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J. Periodontol.* **64**:474-484.
- 126) NAGASE, H. & WOESSNER, F.J. Matrix metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry.* **274**: 21491-21494.

- 127) SPRINGMAN, E.B., ANGLETON, E.L., BIRKEDAL-HANSEN, H., VAN WART, H.E. (1990). Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: Evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a "cysteine switch" mechanism for activation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87**:364-368.
- 128) VAN WART, H.E., BIRKEDAL-HANSEN, H. (1990). The cysteine switch: A principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87**:5578-5582.
- 129) CARRILHO, M.R.O., TAY, F.R., PASHLEY, D.H., TJADERHANE, L., CARVALHO, R.M. (2005). Mechanical stability of resin-dentin bond components. *Dent. Mater.* **21**: 232-241.
- 130) SUZUKI, K., ENGHILD, J.J., MORODOMI, T., SALVESEN, G. (1990). The activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry.* **29**:10261-10270.
- 131) BIRKEDAL-HANSEN, H., WERB, Z., WELGUS, H.G., VAN WART, H.E., eds. (1992). *Matrix Metalloproteinases and Inhibitors*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- 132) GOMEZ, D.E., ALONZO, D.F., YOSHII, H., THORGEIRSSON, U.P. (1997). Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur. J. Cell. Biol.* **74**:111–122.
- 133) BREW, K., DINAKARPANDIAN, D., NAGASE, H. (2000). Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim. Biophys. Acta.* **1477**:267–283.
- 134) WATERHOUSE, P., DENHARDT, D.T., KHOKHAR. (1993). Temporal expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in mouse reproductive tissues during gestation. *Mol. Reprod. Dev.* **35**:219–226.
- 135) SATO, H., SEIKI, M. (1993). Regulatory mechanisms of 92 kDa type IV collagenase gene expression which is associated with invasiveness of tumour cells. *Oncogene.* **8**:395-405.

- 136) HÍDALGO, M. & ECKHARDT, S.G. (2001). Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* **7**;93:178-193.
- 137) MARTÍN, J., KNOWLDEN, J., DAVIES, M. , WILLIAMS, J. (1994). Identification and independent regulation of human mesangial cell metalloproteinases. *Kidney Int.* **46**:877-885.
- 138) SHIBUTANI, T., YAMASHITA, K., AOKI, T., IWAYAMA, Y., NISHIKAWA, T., HAYAKAWA, T. (1999). Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) stimulate osteoclastic bone resorption. *J. Bone Miner .Metab.* **17**:245–251.
- 139) SOBUE, T., HAKEDA, Y., KOBAYASHI, Y., HAYAKAWA, H., YAMASHITA, K., AOKI, T. (2001). Tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 directly stimulate the bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts. *J. Bone Miner. Res.* **16**: 2205–14.
- 140) ZHAO, H., BERNARDO, M.M., OSENKOWSKI, P., SOHAIL, A., PEI, D., NAGASE, H. (2004). Differential inhibition of membrane type 3 (MT3)-matrix metalloproteinase (MMP) and MT1-MMP by tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 and TIMP-3 regulates pro-MMP-2 activation. *J. Biol. Chem.* **279**: 8592-8601.
- 141) BJÖRKLUND, M., KOIVUNEN, E. (2005). Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochim. Biophys Acta.* **25**:37–69.
- 142) SELTZER, J.L., EISEN, A.Z., BAUER, E.A., MORRIS, N.P., GLANVILLE, R.W., BURGESSON, R.E. (1989). Cleavage of type VII collagen by interstitial collagenase and type IV collagenase (gelatinase) derived from human skin. *Biol. Chem.* **264**:3822-3826.
- 143) GADHER, S.J., SCHMID, T.M., HECK, L.W., WOOLLEY, D.E. (1989). Cleavage of collagen type X by human synovial collagenase and neutrophil elastase. *Matrix.* **9**:109-115.
- 144) WELGUS, H.G., FLISZAR, A., SELTZER, J.L., SCHMID, T.M., JEFFREY, J.J. (1990). Differential susceptibility of type X collagen to cleavage by two mammalian

interstitial collagenases and 72kDa type IV collagenase. *Biol. Chem.* **265**:13521-13527.

145) SANDERS, J.S., VAN GOOR, H., HANEMAAIJER, R., KALLENBERG, C.G.M., STEGEMAN, C.A. (2004). Renal expression of matrix metalloproteinases in human ANCA-associated glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**: 1412-1419

146) SELTZER, J.L., ADAMS, S.A., GRANT, G.A., EISEN, A.Z. (1981). Purification and properties of a gelatin-specific neutral protease from human skin. *Biol. Chem.* **256**:4662-4668.

147) SALO, T., LYONS, J.G., RAHEMTULLA, F., BIRKEDAL, H.H., LARJAVA, H. (1991). Transforming growth factor- β 1 up-regulates type IV collagenase expression in cultured human keratinocytes. *Biol. Chem.* **266**:11436-11441.

148) KALEBIĆ, T., GARBISA, S., GLASER, B., LIOTTA, L.A. (1983). Basement membrane collagen: Degradation by migrating endothelial cells. *Science.* **221**:281-283.

149) GARBISA, S., BALLIN, M., GORDINI, D.D. (1986). Transient expression of type IV collagenolytic metalloproteinase by human mononuclear phagocytes. *Biol. Chem.* **261**:2369-2375.

150) OVERALL, C.M., SODEK, J. (1987). Initial characterization of a neutral metalloproteinase, active on native 3/4-collagen fragments, synthesized by ROS 17/2.8 osteoblastic cells, periodontal fibroblasts, and identified in gingival crevicular fluid. *J. Dent. Res.* **66**:1271-1282.

151) LEFEBVRE, V., JORIS, C.P., VAES, G. (1991). Production of gelatin-degrading matrix metalloproteinases ("type IV collagenases") and inhibitors by articular chondrocytes during their dedifferentiation by serial subcultures and under stimulation by interleukin-1 and tumor necrosis factor α . *Biochim. Biophys Acta.* **1094**:8-18.

152) ZUCKER, S., LYSÍK, R.M., GURFINKEL, M.H. (1992). Immunoassays of type IV collagenase/gelatinase (MMP-2) in Human plasma. *Immunol. Meth.* **148**:189-198.

- 153) BROOKS, P. C., STROMBLAD, S., SANDERS, L. C., VON SCHALSCHA, T. L., AÏMES, R. T., STEVENSON, W.G.S., QUÏGLEY, J. P., CHERESH, D. A. (1996). Cellular activation of MMP-2 (Gelatinase A) by MT2-MMP occurs via a TIMP-2-independent pathway. *Cell*. **85**: 683–693.
- 154) WEÏSS, S.J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. *N. Eng. J. Med.* **320**:365–76.
- 155) WESTERLUND, U., INGMAN, T., LUKÏNMAA, P.L., SALO, T., KJELDTSEN, L., BORREGAARD, N. (1996). Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J. Dent. Res.* **75**:1553–63.
- 156) MA, J., KÏTTÏ, U., HANEMAAÏJER, R., TERONEN, O.P., SORSA, T.A., NATAH, S. (2003). Gelatinase B is associated with peri-implant bone loss. *Clin. Oral Implants. Res.* **14**:709–13.
- 157) MAKELA, M., SALO, T., UÏTTO, V.J., LARJAVA, H. (1994). Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. *J. Dent. Res.* **73**:1397–406.
- 158) BEKLEN, A., LAÏNE, M., VENTA, I., HYRKAS, T., KONTTÏNEN, Y.T. (2005). Role of TNF- α and its receptors in pericoronitis. *J. Dent. Res.* **84**:1178–82.
- 159) BEKLEN, A., TUTER, G., SORSA, T., HANEMAAÏJER, R., VÏRTANEN, I., TERVAHARTÏALA, T. (2006). Gingival tissue and crevicular fluid cooperation in adult periodontitis. *J. Dent. Res.* **85**:59–63.
- 160) SATO, H., TAKÏNO, T., OKADA, Y., CAO, J., SHÏNAGAWA, A., YAMAMOTO, E., SEÏKÏ, M. (1994). A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature*. **370**: 61–65.
- 161) ZEE, E.V.D., EVERTS, V., BEERSTEN, W. (1996). Cytokine-induced endogenous procollagenase stored in the extracellular matrix of soft connective tissue results in a burst of collagen breakdown following its activation. *J. Periodontal. Res.* **31**: 483-8.

- 162) DELAÏSSE, J.M., ANDERSEN, T.L., ENGSIG, M.T., HENRIKSEN, K., TROEN, T., BLAVIER, L. (2003). Matrix metalloproteinase (MMP) and cathepsin K contribute differentially to osteoblastic activities. *Microsc. Res. Tech.* **61**: 504-13.
- 163) PARIKKA, V., VAANANEN, A., RISTELI, J., SALO, T., SORSA T, VAANANEN, H.K. (2005). Human mesenchymal stem cell derived osteoblasts degrade organic bone matrix in vitro by matrix metalloproteinases. *Matrix Biol.* **24**: 438_47.
- 164) ENGSIG, M.T., CHEN, Q.J., VU, T.H., PEDERSEN, A.C., THERKIDSEN, B., LUND, L.R. (2000). Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J. Cell. Biol.* **151**: 879-89.
- 165) REYNOLDS, J.J., MEIKLE, M.C. (1997). Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol. 2000.* **14**: 144-157.
- 166) LEE, W., AITKEN, S., SODEK, J., MCCULLOCH, C.A.G. (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J. Periodontal. Res.* **30**: 23-33.
- 167) EJEIL, A., TCHEN, S.I., GHOMRASSENI, S., PELLAT, B., GODEAU, G., GOGLY, B. (2003). Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingival. *J. Periodontol.* **74**: 188-95.
- 168) ROMANELLI, R., MANCINI, S., LASCHINGER, C., OVERALL, C.M., SODEK, J., MCCULLOCH, C.A. (1999). Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect. Immun.* **67**: 2319-26.
- 169) NOMURA, T., ISHII, A., OISHI, Y., KOHMA, H., HARA, K. (1998). Tissue inhibitors of metalloproteinases level and collagenase activity in gingival crevicular fluid: the relevance to periodontal diseases. *Oral Dis.* **4**: 231-40.

- 170) KIIILÄ, M., COX, S.W., CHEN, H.W., WAHLGREN, J., MAISI, P., ELEY, B.M. (2002). Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J. Clin. Periodontol.* **29**: 224-32.
- 171) KINANE, D.F., DARBY, I.S., LUOTO, H., SORSA, T., TIKANOJA, S., MANTYLA, P. (2003). Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J. Periodontal. Res.* **38**: 400-4.
- 172) MANTYLA, P., STENMAN, M., KINANE, D.F., TIKAJONA, S., LUOTO, H., SALO, T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test strip for chair-side monitoring of periodontitis. *J. Periodontal Res.* **38**: 436-9.
- 173) LÖE, H., SILNESS, J. (1963). Periodontal disease in pregnancy (1). Prevalance and severity. *Acta. Odont. Scand.* **21**:523-551.
- 174) SILNESS, J., LÖE,H.(1996). Periodontal disease in pregnancy (3). Response to lokal treatment. *Acta. Odont. Scand.* **24**: 747-759.
- 175) NARES, S. (2003). The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontology 2000.* **32**: 36-49.
- 176) RYAN, M.E. (2005). Nonsurgical approaches for the treatment of periodontal diseases. *Dent. Clin. North. Am.* **49**: 611-636.
- 177) OFFENBACHER, S. (1996). Periodontal disease: Pathogenesis. *J. Per. Annals.* **11**: 821-878.
- 178) COSYN, J., SABZEVAR, M.M. (2005). A systematic review on the effects of subgingival chlorhexidine gel administration in the treatment of chronic periodontitis. *J. Periodontol.* **76**: 1805- 1813.
- 179) SALVI, G.E., LANG, N.P. (2005). Host response modulation in the management of periodontal diseases, *Journal of Clinical Periodontology.* **32** : 130-131.
- 180) KINANE, D.F, RADVAR, M. (1997). The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *Journal of Periodontology.* **68**: 467-472.

- 181) TONETTİ, M.S., MOMBELLİ, A. (1999). Early-onset periodontitis. *Annals of Periodontology*. **4**: 39-52.
- 182) MEİSEL, P., SCHWAHN, C., GESCH, D., BERNHARDT, O., JOHN, U., KOCHER, T. (2004). Doseeffect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. *Journal of Periodontology*. **75**: 236-242.
- 183) CALSİNA, G., RAMON, J.M., ECHEVERRİA, J.J. (2002). Effects of smoking on periodontal tissues. *J. Clin. Periodontol.* **29**:771-776.
- 184) JANSSON, L., LAVSTEDT, S. (2002). İnfluence of smoking on marginal bone loss and tooth loss- a prospective study over 20 years. *J. Clin. Periodontol.* **29**:750-756.
- 185) DİETRİCH, T., BERNİMOULİN, J.P., GLYNN, R.J. (2004). The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. *J. Periodontol.* **75**: 16-22.
- 186) DEMİRKAYA, C. (1997). Sigara içen ve içmeyen bireylerin radyografik alveol kemigi yüksekliğinin ve cerrahi olmayan periodontal tedaviye verdikleri yanıtın karşılaştırılması. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü.
- 187) METE, Z. (2000). Sigara içen ve içmeyen bireylerin cerrahi periodontal tedaviye verdikleri yanıtın karşılaştırılmalı incelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü.
- 188) PREBER, H., KANT, T., BERGSTROM, J. (1980). Cigarette soking, oral hygiene and periodontal health in Swedish army conscripts. *J. Clin. Periodontol.* **7**: 106-113.
- 189) SHEİHAM, A. (1971). Periodontal disease and oral cleanliness in tobacco smokers. *J. Periodontol.* **42**: 259-263.
- 190) GONZALEZ, Y.M., NARDİN, A.D., GROSSİ, S.G., MACHTEİ, E.E., GENCO, R.J., NARDİN, E.D. (1996). Serum cotinine levels, smoking, and periodontal attachment loss. *J. Dent. Res.* **75**: 796-802.

- 191) YAMAN, D. (2004). Sigara içme ve periodontal hastalık arasındaki ilişkinin serum kotinin seviyesine göre incelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü.
- 192) LOCKER, D., LEAKE, J.L. (1993). Risk indicators and risk markers for periodontal disease experience in older adults living independently in Ontario, Canada. *J. Dent. Res.* **72**: 9-17.
- 193) MACHTEJ, E.E., DUNFORD, R., HAUSMANN, E., GROSSI, S.G., POWELL, J., CUMMINS, D., ZAMBON, J.J., GENCO, R.J. (1997). Longitudinal study of prognostic factors in established periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.* **24**: 102-109.
- 194) BİLGİNER, H.M. (2000). Sigara içenlerde periodontal durum ve sigaranın cerrahi olmayan tedavi üzerine etkisinin klinik radyografik ve histopatolojik olarak uzun dönem değerlendirilmesi. Doktora tezi. Ankara üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü.
- 195) DEMİRER, S., MARAKOĞLU, İ., AKER, A., AYDIN, H. S.Ü. (2007). Sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde başlangıç periodontal tedavinin serum lipit ve lipoprotein düzeylerine etkisi. *Dişhek. Fak. Derg.* **16**:29-38
- 196) FELDMAN, R.S., BRAVACOS, J.S., ROSE, C.L. (1983). Associations between smoking, different tobacco products and periodontal disease indexes. *J. Periodontol.* **54**: 481-7.
- 197) BOSTROM, L., BERGSTROM, J., DAHLEN, G., LINDER, L. (2001). Smoking and subgingival microflora in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **28**: 212-219.
- 198) NAİR, P., SUTHERLAND, G., PALMER, R., WILSON, R., SCOTT, D. (2003). Gingival bleeding on probing increases after quitting smoking. *J. Clin. Periodontol.* **30**: 435-437.
- 199) CLARKE, N.G., SHEPHARD, B.C., HIRSCH, R.S. (1981). The effects of intra-arterial epinephrine and nicotine on gingival circulation. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.* **52**: 577– 582.
- 200) JOHNSON, G.K., FUNG, Y.K., SQUIER, C.A. (1989). Effects of systemic administration of nicotine on capillaries in rat oral mucosa. *J. Oral. Pathol. Med.* **18**: 230–232.

- 201) DANIELS, T.E., CHOU, L., GREENSPAN, J.S., GRADY, D.G., HAUCK, W.W., GREENE, J.C., ERNSTER, V.L. (1992). Reduction of Langerhans cells in smokeless tobacco-associated oral mucosal lesions. *J. Oral. Pathol. Med.* **21**: 100.
- 202) VÍLLAR, C.C. & MARTORELLÍ DE LÍMA, A.F. (2003). Smoking influences on the thickness of marginal gingival epithelium. *Pesqui. Odontol. Bras.* **17**: (1) 41–45.
- 203) BERGSTRÖM, J. & PREBER, H.(1986). The influence of cigarette smoking on the development of experimental gingivitis. *J. Periodontal. Res.* **21**: 668-676.
- 204) PÍNDORG, J.J.(1947). Tobacco and gingivitis I. Statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and the formation of calculus. *J. Dent. Res.* **26**: 261–265.
- 205) NAKAMURA, T., ONO, K., HONDA, E., YOKOTA, M., INENAGA, K.(2005). Central nicotinic stimulation reduces vascular conductance in the gingiva in anesthetized rats. *J. Periodont. Res.* **40**: (1) 67–72.
- 206) DÍNSDALE, C.R., RAWLÍNSON, A., WALSH, T.F. (1997). Subgingival temperature in smokers and non-smokers with periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **24**: 761-766.
- 207) HANÍOKA, T., TANAKA, M., OJÍMA, M., TAKAYA, K., MATSUMORÍ, Y., SHÍZUKUÍSHÍ, S. (2000). Oxygen sufficiency in the gingiva of smokers and non-smokers with periodontal disease. *J. Periodontol.* **71**: 1846-1851.
- 208) REZAVANDÍ, K., PALMER, R., ODELL, E., SCOTT, D., WÍLSON, R. (2002). Expression of ICAM-1 and Eselectin in gingival tissues of smokers and non-smokers with periodontitis. *J. Oral Pathol. and Med.* **31**: 59-64.
- 209) MÍRBOD, S.M., AHÍNG, S.I., PRUTHÍ, V.K. (2001). Immunohistochemical study of vestibular gingival blood vessel density and internal circumference in smokers and non-smokers. *J. Periodontol.* **72**: 1318–1323.
- 210) MEEKÍN, T.N., WÍLSON, R.F., SCOTT, D.A., IDE, M., PALMER, R.M.(2000). Laser Doppler flowmeter measurement of relative gingival and forehead skin blood

flow in light and heavy smokers during and after smoking. *J. Clin. Periodontol.* **27**: 236–242.

211) SÖNMEZ, S., CANDA, T., ÖZKARA, A.D. (2003). Quantitative evaluation of the vasculature and fibronectin localization in gingival connective tissue of smokers and non-smokers. *J. Periodontol.* **74**: 822-829.

212) BAAB, D.A. & ÖBERG, P.A.(1987). The effect of cigarette smoking on gingival blood flow in humans. *J. Clin. Periodontol.* **14**: 418 – 424.

213) PERSSON, L. & BERGSTROM, J.(1998). Smoking and vascular density of healthy marginal gingiva. *Eur. J. Oral. Sci.* **106**: 953-957.

214) NEWMAN, MG., TAKEI, H., CARRANZA, F.A., KLOKKEVOLD, P.R.(2006). Carranza's Clinical Periodontology. 10th Ed. St. Luis: Saunders; Chapters 14.

215) AUSTIN, G.W., CUENIN, M.F., HOKETT, S.D. (2001). Effect of nicotine on fibroblast beta 1 integrin expression and distribution in vitro. *J. Periodontol.* **72**:438-444.

216) GROSSI, S.G., SKREPCINSKI, F.B., DECARO, T., ZAMBON, J.J., CUMMINS, D., GENCO, R.J. (1996). Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J. Periodontol.* **67**: 1094-1102.

217) GIANNOPOULOU, C., GEINOZ, A., CIMASONI, G. (1997). Nicotine effects on periodontal ligament fibroblasts invitro. Europerio 2, Abstract of Clinical, Research and Poster Presentations selected for publication. *J. Clin. Periodontol.* **24**: 845-872.

218) FANG, Y., SVOBADA, K.K.H. (2005). Nicotine inhibits human gingival fibroblast migration via modulation of Rac signaling pathways. *J. Clin. Periodontol.* **32**: 1200-1207.

219) GAMAL, A.Y., BAYOMY, M.M. (2002). Effect of cigarette smoking on human PDL fibroblasts attachment to periodontally involved root surfaces in vitro. *J. Clin. Periodontol.* **29**: 763-770.

220) AİMES, R.T., QUİGLE, J.P. (1995). MMP2 is an interstitial collagenase. *J. Biol. Chem.* **270**:5872-5876.

- 221) KONTTINEN, Y.T., CEPONIS, A., TAKAGI, M. (1998). New collagenolytic enzymes/cascade identified at the pannus-hard tissue junction in rheumatoid arthritis: destruction from above. *Matrix Biol.* **17**:585-601.
- 222) BILDIT, M.M., BLOEMEN, M., JAGTMAN, A.M.K., VON DEN HOFF, J.W. (2008). Collagenolytic fragments and active gelatinase complexes in periodontitis. *J. Periodontol.* **79**: 1704-1711.
- 223) GONÇALVES P.R., DAMANTE C.A., LIMA M.L.F., IMBRONITO A.V., NUNES F.D., PUSTIĞLIONI F.E. (2009). Detection of MMP-2 and MMP-9 salivary levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal treatment. *Rev. Odonto. Cienc.* **24**: 264-269.
- 224) SORENSEN, L.T., NIELSEN, H.B., KHARAZMI, A., GOTTRUP, F. (2004). Effect of smoking and abstention on oxidative burst and reactivity of neutrophils and monocytes. *Surgery.* **136**: 1047-1053.
- 225) VAN EEDEN, S.F., HOGG, J.C. (2000). The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. *Eur. Respir. J.* **15**: 915-921.
- 226) PAULETTO, N.C., LIEDE, K., NIEMINEN, A., LARJAVA, H., UITTO, V.J. (2000). Effect of cigarette smoking on oral elastase activity in adult periodontitis patients. *J. Periodontol.* **71**: 58-42.
- 227) DUARTE, P.M., ROCHA, M., SAMPAIO MESTNIK, M.J, FERES, M., FIGUEIREDO, L.C., BASTOS, M.F., FAVERI, M. (2010). Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: A Pilot Study. *J. Periodontol.* **81**: 1056-1063.
- 228) WRIGHT, J.L., FARMER, S.G., CHURG, A. (2003). A neutrophil elastase inhibitor reduces cigarette smoke-induced remodeling of lung vessels. *Eur. Respir. J.* **22**: 77-81.
- 229) NETO, J.B.C., DE SOUZA, A.P., BARBIERI, D., MORENO, H., SALLUM, E.A., NOCITI, F.H. (2004). Matrix metalloproteinase-2 may be involved with increased

bone loss associated with experimental periodontitis and smoking: A study in rats. *J. Periodontol.* **75**: 995-1000.

230) YİĞİT, Ş.B. (2010). Sigara kullanımının kronik periodontitisli hastalarda dişeti oluşu sıvısı Mmp-2 Ve Mmp-9 düzeylerine etkisi. (Doktora tezi). Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

231) RAITIO, A., TUOMAS, H., KOKKONEN, N., SALO, T., SORSA, T., HANEMAAJER, R., OIKARINEN, A. (2005). Levels of matrix metalloproteinase-2, -9 and -8 in the skin, serum and saliva of smokers and non-smokers. *Arch. Dermatol. Res.* **297**: 242-8.

232) XU, M., SCOTT, J.E., LIU, K.Z., BISHOP, H.R., RENAUD, D.E., PALMER, R.M., GOUNNI, A.S., SCOTT, D.A. (2008). The influence of nicotine on granulocytic differentiation-inhibition of the oxidative burst and bacterial killing and increased matrix metalloproteinase-9 release. *BMC Cell. Biol.* **15**: 9-19.

233) ÖZÇAKA, Ö., BIÇAKCI, N., PUSSINEN, P., SORSA, T., KÖSE, T., BUDUNELİ, N. (2010). Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Diseases* . **17**: 68-76.

234) KARAYEL, F., PAKIS, I., TURAN, A.A., ÖZ, B., ÇELİK, S. (2009). Assessment of smoking related pathologic changes and MMP-9, TIMP-1 expressions of lung. *Tuberk. Toraks.* **57**: 129-35.