

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

**DİABETES MELLİTUS VE KRONİK PERİODONTİTİSİN
DİŞETİ DOKULARINDA ANTİMİKROBİYAL PEPTİD
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dt. Doğukan Yılmaz

**Periodontoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2014**

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

**DİABETES MELLİTUS VE KRONİK PERİODONTİTİSİN
DİŞETİ DOKULARINDA ANTİMİKROBİYAL PEPTİD
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dt. Doğukan Yılmaz

**Periodontoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güliz N. Güncü**

**ANKARA
2014**

ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı :PERİODONTOLOJİ
 Program :PERİODONTOLOJİ
 Tez Başlığı :DİABETES MELLİTUS VE KRONİK PERİODONTİTİSİN DİŞETİ
 DOKULARINDA ANTİMİKROBİYAL PEPTİD EKSPRESYONU
 ÜZERİNE ETKİLERİ
 Öğrenci Adı-Soyadı :DOĞUKAN YILMAZ
 Savunma Sınavı Tarihi :29.12.2014

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: PROF. DR. DİLEK İLHAN
 HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

(imza) 

Tez danışmanı: DOÇ. DR. GÜLİZ N. GÜNCÜ
 HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

(imza) 

Üye: PROF. DR. BERRİN ÜNSAL
 GAZİ ÜNİVERSİTESİ

(imza) 

Üye: PROF. DR. FERİHA ÇAĞLAYAN
 HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

(imza) 

Üye: DOÇ. DR. ULVİ KAHRAMAN GÜRSOY
 TURKU ÜNİVERSİTESİ

(imza) 

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(imza) 
 Prof. Dr. Ersin FADİLLİOĞLU
 Müdür

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmamda çok büyük katkıları ve emeği olan, değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her zaman desteğini hissettiğim sevgili hocam Sayın Doç. Dr. Güliz N. Güncü'ye;

Tezimin yurtdışı ayağında bana her türlü desteği sağlayan, paylaştığı bilgi ve tecrübesi dışında konukseverliği ile de evimde hissetmemi sağlayan, ufkumun genişleten hocam Sayın Doç. Dr. Ulvi Kahraman Gürsoy'a;

Tez Çalışmamın belirli aşamalarında fedakar ve samimi yardımlarından dolayı G.Ü Oral Patoloji A.B.D'ndan Sayın Yrd. Doç. Dr. Emre Barış'a;

Doktora eğitimim süresince bana hoşgörü ile rehberlik eden, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Feriha Çağlayan'a, klinik ve teorik eğitimimde büyük emeği olan Sayın Prof. Dr. Tolga F. Tözüm'e;

Doktora eğitimime katkıları ve samimi dostluklarıyla, beraber çalışmaktan çok zevk aldığım arkadaşlarım Dr. Dt. Vuslat Çiçek Arı, Dr. Dt. Ceyda Dursun, Dr. Dt. Orkun Topçu, Dr. Dt. Tuğba Ataman, Dt. Burak Şahbazoğlu, Dr. Dt. Tolga Genç, Dr. Dt. Demet Şahin ve Dr. Dt. Derya Kutsal'a;

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve emeklerini esirgemeyen tüm Periodontoloji A.B.D öğretim üyelerine;

İş ortamındaki arkadaşlıkları ve destekleri için, Dt. Sahand Taheri, Dt. Bünyamin Çalışan, Dt. Onurcem Duruel, Dt. Yeşim Özdemir, Dt. Nil Yakar, Dt. Samir Goyuşov, Dt. Hatice Alpay, Dt. Buket Acar, Dt. Ezgi Doğan ve Dt. Havva Zakin'e

Koşulsuz yanımda olan sonsuz sabır, sevgi ve destekleriyle beni ayakta tutan sevgili aileme; Doktora eğitimim sırasında hayatıma giren, bana ne kadar şanslı olduğumu hissettiren, her türlü anımda sevgisi ve desteği ile yanımda olan sevgili Neslihan Kaya'ya

Teşekkürlerimi sunarım...

ÖZET

Yılmaz, D., Diabetes mellitus ve kronik periodontitisin dişeti dokularında antimikrobiyal peptid ekspresyonu üzerine etkileri. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2014. Sürekli olarak bakteriler ile yakın temasta olan oral kavitede antimikrobiyal peptidler doğal immün cevapta önemli bir rol oynamaktadırlar. Diabetes Mellitus (DM) periodontal hastalıklara sebep olabilen oldukça yaygın bir metabolik hastalıktır. Günümüzde DM hastalarında defensin ve katherisidin salınımı ile ilgili sınırlı miktarda bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızın amacı DM'li hastalarda defensin salınım ve fonksiyonlarındaki farklılıkları tanımlamaktır. Gingival doku örnekleri, periodontal tedavi gereksinimi olan DM teşhisi konulmuş 14 bireyden (T2DM+GP), sistemik olarak sağlıklı ancak periodontitis teşhisi konulmuş 11 bireyden (GP) ve sistemik ve periodontal olarak sağlıklı 13 bireyden (Kontrol) alınmıştır. Doku örnekleri % 4 paraformaldehit içinde fikse edildikten sonra parafin bloklara gömülmüştür. Beta-defensin 2, 3 (hBD-2, -3) katherisidin (LL-37) ve sitokeratin-19 (CK-19) için immunhistokimyasal boyamalar yapılmıştır. Örnekler ışık mikroskobu altında $\times 40$ büyütmede incelenmiştir. Pozitif boyanan hücreler sayılarak toplam hücre sayısına oranlanmıştır. Kontrol grubunda hBD-2 superfisial tabakalarda bulunurken hCAP18/LL-37 ve hBD-3 bazal tabakada tespit edilmiştir. T2DM+GP ve GP gruplarında mevcut antimikrobiyal peptidler tüm tabakalarda gözlenmiştir. hBD-2 hücrelerin çekirdek ve sitoplazmasında gözlenirken, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 hücrelerin sadece sitoplazmalarında izlenmiştir. hBD-2 ($p=0.005$), hBD-3 ($p=0.007$) ve hCAP18/LL-37 ($p=0.002$) salınımları T2DM+GP'de anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. DM ve periodontitise sahip bireylerdeki hBD-2, -3 ve hCAP18/LL-37'nin aşırı salınımı DM'de gözlenen bozulmuş bağışık yanıtın sebeplerinden biri olabilir. Antimikrobiyal peptidlerin DM'deki bağışıklık yanıtı ve yara iyileşmesi üzerine olan etkileri ileri çalışmalarla incelenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Defensin, Diabetes Mellitus, Periodontitis

Destekleyen Kurumlar: H.Ü.B.A.B, Tez Destekleme 014 T12 102 001

ABSTRACT

Yilmaz, D., The Effect of Diabetes Mellitus and Chronic Periodontitis on the Expression of Antimicrobial Peptides in Gingival Tissues. Hacettepe University Health Sciences Institute PhD Thesis in Periodontology, Ankara, 2014.

Antimicrobial peptides of the epithelium play a significant role in the innate immune response in the oral cavity, which is constantly exposed to microbes. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a highly prevalent metabolic disease which is related to periodontal disease. To date, little is known about expressions of antimicrobial peptides in gingival epithelia of diabetics. Our aim was to examine the expression and localization of human beta-defensins (hBD)-2 and -3 and cathelicidin (hCAP18/LL-37) in diabetic subjects suffering from generalized periodontitis (GP). Gingival tissue sections were collected from three subject groups: 14 T2DM subjects with GP (T2DM+GP), 11 systemically healthy GP patients (GP), and 13 systemically and periodontally healthy subjects (control). Surgical incisions targeted the sulcular epithelium and/or the bottom of the selected periodontal pocket. Tissue specimens were fixed in paraformaldehyde and embedded in paraffin blocks. Immunohistochemistry stainings were performed for cytokeratin19, hBD-2, hBD-3 and hCAP18/LL-37. Stainings were examined under light microscope with 40x magnification. Results were statistically evaluated by the t-test. In controls, hBD-2 was localized at the superficial layers of the gingival epithelium, hBD-3 and hCAP18/LL-37 were at the basal layers, whereas in subjects with periodontitis both defensins were visible at all epithelial layers. hBD-2 was detected in the nucleus and cytoplasm, while hBD-3 and hCAP18/LL-37 were detected only in the cytoplasm of the cells. Expressions of hBD-2 ($p=0.005$), hBD-3 ($p=0.007$), and hCAP18/LL-37 ($p=0.002$) were elevated in subjects with T2DM+GP in comparison to controls. No statistically significant difference was found in the expression of hBD-2, -3, and hCAP18/LL-37 between the GP group and the control or T2DM+GP groups. Gingival antimicrobial peptides are overexpressed in T2DM. This outcome can be part of impaired immune response in diabetics, and underlying factors and mechanisms need to be elucidated.

Keywords: Defensin, Diabetes Mellitus, Periodontitis

Supported by: H.Ü.B.A.B, Thesis Grant

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Periodonsiyum	6
2.1.1. Gingival Epitel	6
2.2. Periodontitis	9
2.2.1 Kronik Periodontitis	10
2.2.2. Periodontal Hastalık Gelişiminde Biyokimyasal Mekanizmalar	10
2.2.3 Gingival Epitelde İnflamasyona Bağlı Olarak Görülen Değişiklikler	12
2.3 Antimikrobiyal Peptidler	13
2.3.1 Yapısal Özellikler	14
2.3.2 Defensin Regülasyonu Sentez ve Salınımı	15
2.3.3 Kathelisidinlerin Yapısal Özellikleri	16
2.4 Antimikrobiyal Peptidlerin Fonksiyonları	16
2.4.1 Antimikrobiyal Aktiviteleri	16
2.4.2 Kemotaksis ve Konak Savunma Yanıtındaki Roller	18
2.4.3 Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkileri	19
2.5 Oral Dokularda Antimikrobiyal Peptidler	20
2.5.1 Antimikrobiyal Peptidlerin Oral Dokulardaki Lokalizasyonları	20
2.5.2 Periodontal Sağlık ve Hastalıkta Defensin ve Kathelisidinler	21
2.6 Diabetes Mellitus	22
2.6.1. Tip 2 Diabetes Mellitus	24
2.6.2. Diabetes Mellitus'ta Kullanılan Tanı Yöntemleri	24

2.6.3. Diabetes Mellitus Hastalarında Gelişen Komplikasyonlar	26
2.7. Periodontal Hastalıklar ile Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki	26
2.8 Antimikrobiyal Peptidler ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki	28
3. BİREYLER VE YÖNTEMLER	30
3.1. Klinik Çalışmalar	30
3.1.1. Çalışma Gruplarının Seçimi	30
3.1.2. Hastaların Periodontal Durumlarının Değerlendirilmesi	31
3.2 Dişeti Dokusu Örneklerinin Elde Edilmesi	33
3.2.1. Dişeti Dokusunun Histopatolojik Değerlendirmesi	34
3.2.2 Dokuların İmmünohistokimyasal Boyaması	34
3.2.3 İmmünohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi	35
3.3. İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR	37
4.1. Çalışma Gruplarının Tanımı	37
4.2. Klinik Bulgular	37
4.3 Konvansiyonel Histoloji ve İmmüno lokalizasyon Bulguları	40
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	65
EKLER	
Ek 1. Etik Kurul Onayı	

SİMGELER ve KISALTMALAR

AAP	Amerikan Periodontoloji Akademisi
AGE	İleri Glikolizasyon Son Ürünü
CK	Sitokeratin
DKZİ	Dişeti Kanama Zamanı İndeksi
DM	Diabetes Mellitus
Gİ	Gingival İndeks
GP	Kronik Periodontitis
hBD	β -defensinler
HgA	Hemoglobin A
HgA1c	Glikolize Hemoglobin Testi
HNP	α – defensinler
HRP	Streptavidin-Horseradish Peroksidaz
ICAM	İntersellüler Adezyon Molekülü-1
IL	İnterlökin
K	Kontrol
KAD	Klinik Ataçman Düzeyi
LPS	Lipopolisakkarit
NF- κ B	Nükleer Faktör κ B
NK	Doğal Öldürücü Hücreler
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
p38MAPK	p38 Mitojen Aktive Edici Fosfat Kinaz
Pİ	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
RAGE	AGE Reseptör
rTLR	Rat Toll-Like Reseptör
SD	Periodontal Cep Derinliği
STAT-1	Sinyal Transdüksiyon ve Transkripsiyon Aktivatörü-1
T1DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TG	Trigliserid
TNF- α	Tümör Nekroze Edici Faktör- α

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.1	Gingival Epitel	7
2.1.2	Oral Gingival Epitel Katmanları	8
2.7.1	Hipergliseminin Oral Hastalık Gelişimi Üzerine Etkisi (157)	28
4.3.1	T2DM+GP Grubuna ait CK-19 Boyaması (*40 Büyütme)	40
4.3.2	GP Grubuna ait CK-19 Boyaması (*40 Büyütme)	41
4.3.3	Kontrol Grubuna ait CK-19 Boyaması (*40 Büyütme)	41
4.3.4	T2DM+GP Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)	42
4.3.5	GP Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)	42
4.3.6	Kontrol Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)	43
4.3.7	T2DM+GP Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)	43
4.3.8	GP Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)	44
4.3.9	Kontrol Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)	44
4.3.10	T2DM+GP Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)	45
4.3.11	GP Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)	45
4.3.12	Kontrol Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)	46
4.3.13	hBD-2 Örneklerindeki Hücre ve Sitoplazma Boyanmaları	46
4.3.14	hBD-3 Örneklerindeki Sitoplazma Boyanmaları	47
4.3.15	hCAP18/ LL-37 Örneklerindeki Sitoplazma Boyanmaları	47
4.3.16.	hBD-2 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği (*40 Büyütme)	48
4.3.17.	hBD-3 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği (*40 Büyütme)	48
4.3.18	hCAP18/LL-37 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği	49
4.3.19	hBD-2 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği	50
4.3.20	hBD-3 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği	51
4.3.21	hCAP18/ LL-37 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği	52

TABLOLAR

Tablo		Sayfa
2.6.1	Diabetes Mellitus'un etyolojik sınıflandırılması	23
4.2.1	Çalışmaya Dahil Edilen Bireylere Ait Klinik Parametre Değerleri ve Tanımlayıcı İstatistiksel Veriler	39
4.2.2	T2DM+GP Grubuna Ait Bireylerin Klinik DM Bulguları	40

1. GİRİŞ

İnsanlarda dişeti epiteli, periodonsiyumun sert ve yumuşak dokularını koruyan çok katlı yassı epitelden oluşur. Çok katlı yassı epitel ağız içinde devamlılık göstermekle birlikte fonksiyonel ve morfolojik açıdan oral gingival, oral sulkuler ve birleşim epiteli olmak üzere üç farklı yapıda görülür.(1) Dişeti epiteli öncelikle özel hücre-hücre bağlantıları ve keratinize yapısıyla oral kavitedeki fiziksel, kimyasal ve bakteriyel ataklara karşı güçlü fakat pasif bir bariyer görevi görür. Periodontal hastalık patogenezinin yönelik daha ileri çalışmalar epitelin bu fiziksel bariyer görevinin yanı sıra hücresel ve kimyasal bariyerlere de sahip olduğunu göstermiştir.(2) Bütün bunlara ek olarak epitel hücreleri oksijen bağımsız bir grup olan antimikrobiyal peptidleri de üretebilirler. Memelilerde en önemli antimikrobiyal peptid grubu defensinlerdir.(2,3) Defensinler küçük, katyonik antimikrobiyal peptidler olup genetik köken olarak kromozom 8p23'den köken alırlar ve amfipatik yapıya moleküllerdir. Katyonik yapılarından dolayı hidrofobik ve hidrofilik kümelenmeler yapabilirler.(4) İnsanlarda α ve β olmak üzere 2 farklı defensin grubu tanımlanmıştır.(5)

α – defensinler (HNP) polimorfonükleer lökositler ve intestinal hücreler tarafından üretilirken, β -defensinler (hBD 1-4) epitel hücreleri tarafından üretilirler.(6,7) LL-37 ise memeli antimikrobiyal proteinlerinin önemli bir kısmını oluşturan kathelisin grubuna ait olan bir başka savunma proteindir.(8) Bu katyonik peptid 18-kDa ağırlığında kathelisin adı verilen öncü bir proteinden oluşur ve de bu proteinin proteolitik olarak çözülmesi ile aktif formuna kavuşur.(7) Kathelisinler insanlarda sadece LL-37 formatında bulunurlar. LL-37 nötrofillerin sekonder granüllerinde bulunur, aynı zamanda insan gingival epitel hücrelerinden de üretilir.(2,9)

Ağız içi boşluk, devamlı olarak mikrobiyal ajanlarla temas halinde olan ve bu mikrobiyal ajanların yaşamını kolaylaştırıcı özelliklere sahip bir bölgedir. Antimikrobiyal peptidlerin önemli bir grubunu oluşturan defensin ve kathelisinler insanlarda ilk olarak antimikrobiyal özelliklerine göre tanımlanmışlardır.(10) hBD 1-3 ve LL-37'nin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere, funguslara ve çeşitli zarflı virüslere karşı antimikrobiyal özellikleri tanımlanmıştır.(7) Tüm bu antimikrobiyal aktivitelerinin dışında bir dizi hücresel fonksiyon da defensinler tarafından düzenlenir. LL-37 ve hBD 1-3'ün dendritik hücreler, nötrofiller ve mast hücreleri üzerinde kemotaktik etkileri olduğu gösterilmiştir.(11-13) Bu etkileri ile başlangıç immün

yanıtın önemli moleküllerinden olma özelliğini kazanırlar. Ek olarak pro-inflamatuar sitokinler ve kemokinlerin çapraz regülasyonunda da yer alabilirler. Örneğin, hBD 2-4'ün interlökin (IL) -6, IL-10 ve makrofaj inflamatuvar protein-3 α salınımını pozitif yönde artırdığı gösterilmiştir.(14) Nekrotik nötrofillerden salınan HNP'lerin ise makrofajlardan üretilen çeşitli sitokinlerin salınımını engellediği ve sonuç olarak da anti-inflamatuar etkisi olduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak, defensinlerin kazanılmış bağışık yanıtta da rolleri vardır. İmmatur dendritik hücrelerin aktivasyonundan sonra HNP ve hBD 2-3'ün T ve B hücreleri üzerinde kemotaktik özellikler göstererek, ilgili hücreleri epitel dokusunun içine çektiği, başlangıç ve kazanılmış bağışıklık sistemleri arasında bir geçiş özelliği taşıdığı gösterilmiştir.(7)

İmmün yanıtta olan etkilerinin yanı sıra defensin ve katepsinler, yara iyileşmesi ve hücrel proliferasyon gibi pek çok süreçte de aktif olarak yer alırlar. hBD-2 ve -3'ün keratinositlerin migrasyon ve proliferasyonlarını arttırdığı gösterilmiştir.(14) Baroni ve ark. (15) tarafından yapılan in-vitro çalışmada ise hBD-2'nin endotelial hücrelerin proliferasyon, migrasyon ve vaskularizasyonunu arttırarak yara iyileşmesinin anjiyogenezis ve re-epitelizasyon fazlarında aktif olarak görev aldığı belirtilmiştir.(15)

İnsan dişeti dokusunda hBD 1,2,3 yapısal ve fonksiyonel olarak büyük benzerlikler gösterse de her birinin lokalizasyon ve salınım özellikleri farklıdır. Bu durum defensinlerin koordineli fakat farklı görevler üstlendiklerinin bir göstergesidir.(2) hBD salınımı insan dişeti epitel hücrelerinde hücrel farklılaşma ile yakın ilişkilidir ve sadece katlı epitel tabakalarında gözlenir. Yapılan bir çalışmada, hücre farklılaşma göstergesi olarak da bilinen involucrinin hBD-1 ve 2 ile benzer lokalizasyon özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir.(3) İnsan dişeti dokusunda hBD-1 ve hBD-2'nin mRNA'ları spinoz tabakada izole edilirken bu antimikrobiyal peptidler protein seviyesinde değerlendirildiklerinde granüler tabakada izole edilmişlerdir.(3) Diğer yandan hBD-3 proteinleri ise epitelin bazal tabakasında izole edilmiştir.(16)

LL-37 ise hem nötrofil hem de epitel kaynaklı diğer bir antimikrobiyal peptiddir.(10) HNP ve nötrofil kaynaklı LL-37'nin periodonsiyuma, birleşim epitelinden dişeti epiteline göç eden nötrofiller aracılığı ile geldiği gösterilmiştir.

Sonuç olarak farklılaşma özelliği olmayan birleşim epiteli HNP ve LL-37 proteinleri tarafından korunur.(9)

İnfeksiyon ve inflamasyon defensin ve katherisidin sekresyonunu etkiler. Periodontitis dişetinde başlayan iltihabın derin destek dokulara ulaşması ile periodontal ligamentte ve alveol kemiğinde yıkım oluşturan infeksiyöz bir hastalıktır.(2,17) Günümüze kadar periodontitislerin birçok sınıflaması yapılmıştır. Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin 1999'da yayınladığı periodontal hastalıklar sınıflandırmasında kronik periodontitis alt sınıfı bulunmaktadır.(18,19) Kronik periodontitis en sık karşılaşılan periodontitis şeklidir. Dişin destek dokularının iltihabı, ilerleyen ataçman ve kemik kaybı ile karakterize infeksiyöz bir hastalıktır. Her yaşta gözlenebilir de en sık erişkinlerde rastlanır. Hastalığın prevalans ve şiddeti yaş ile artar. Kronik periodontitiste bakteriyel plak primer etyolojik ajan olsa da konak savunma sistemi de patogeneze önemli bir role sahiptir.(20) Literatürde defensin ve katherisidin seviyelerinin periodontal hastalıkla ilişkisini göstermek amacıyla gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.(21-24) Yapılan çalışmalarda hBD-1'in insan dişeti dokusunda devamlı olarak salındığı, hBD-2 ve hBD-3'ün salınımlarının ise inflamatuvar dokularda arttığı gösterilmiştir.(2,7) Gürsoy ve ark. (21) tek ve çok katlı hücre kültürlerinde yaptıkları in-vitro çalışmada infeksiyon ve inflamasyonun hBD-2 ve hBD-3 seviyelerini arttırdığını gözlemlemiştirler.(21) Ancak, literatürde bu konudaki çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir. Dommisch ve ark.(25) yaptıkları çalışmada periodontal olarak sağlıklı bireyler ile gingivitisli ve kronik periodontitisli bireyler arasında defensin seviyeleri açısından bir fark gösterememişlerdir. Bu yüzden hBD-2, hBD-3 ve LL-37'nin inflame dişeti dokularındaki salınımı halen belirsizliğini korumaktadır.

Diabetes Mellitus (DM) insülin yapımının yetersizliği ve/veya insülin kullanımına karşı direnç oluşmasına yol açan bir dizi etyolojik faktör nedeniyle karbonhidrat metabolizmasında meydana gelen değişikliklerle karakterize heterojen bir hastalıktır.(26) Amerikan Diabet Birliği; diabeti etyolojik olarak tip 1 DM (T1DM), tip 2 DM (T2DM), diğer özel tipler, ve gestasyonel DM olarak sınıflandırmıştır.(27)

T2DM diabetin en sık görülen tipidir. Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber T1DM'de olduğu gibi β hücrelerinin otoimmün yıkımı bu tipte gözlenmemektedir. T2DM'da genetik olan veya sonradan kazanılan insülin direncinin

ortaya çıkmasıyla insüline olan gereksinim artar, β hücreleri bu gereksinimi karşılayamaz duruma gelir ve insülin yetmezliği ortaya çıkar. İnsülin direncinin çevresel, genetik ya da metabolik nedenlerle oluştuğu düşünülmektedir.

DM'nin "klasik" komplikasyonları retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar ve yara iyileşmesindeki değişikliklerdir.(28,29) Bunlara ek olarak, Loe (30), periodontal belirti ve bulguları "diabetin altıncı komplikasyonu" olarak tanımlamaktadır.

Periodontal hastalıklarla DM arasındaki ilişkinin araştırıldığı pek çok çalışma mevcuttur.(31-33) Bu çalışmalarda periodontitis varlığının DM hastalarının değerlendirilmesinde potansiyel bir komplikasyon olarak kabul edilmesi gerektiği öne sürülmüş ve de DM hastalarında periodontal hastalığın prevalansının, şiddetinin ve ilerlemesinin arttığı kabul edilmiştir.(34) DM hastalarında periodontal hastalık gelişmesine yol açabilecek faktörlerden biri de glikasyonun son ürünlerinin [*Advanced Glycation Endproduct* (AGE)] oluşumu olarak belirtilmektedir.(35) Hiperglisemik ortamda proteinler ve lipitler enzimatik olmayan glikolizasyon işlemine girerek *reversibl Schiff* bazlarının ve *amadori* ürünlerinin oluşmasına neden olurlar. Bir dizi kompleks moleküler düzenleme geri dönüşümsüz AGE oluşumuna yol açar. AGE kronik hiperglisemi ile birikir, matriks-matriks ve hücre-matriks etkileşimini değiştirerek bir dizi ekstrasellüler matriks komponentinin fonksiyonunu etkiler.(36,37) AGE'nin DM'li hastaların periodonsiyumunda izlenen doku değişiklikleri ile de ilgili olduğu düşünülmektedir. Kronik periodontitis hastalarından alınan dişeti doku örneklerinde DM grubunda AGE seviyesinin yükseldiği izlenmiştir.(38,39) Günümüzde DM'nin defensin ve katherisidin salınımını nasıl etkilediği ile ilgili net bilgiler bulunmamaktadır. İn-vitro hücre kültürü kullanılarak yapılan çalışmalarda, yüksek glikoz ortamında hBD-2 ve hBD-3 salınımının optimal miktarda olmadığı gösterilmiştir.(40,41) Bu bulgularla çelişir şekilde insan embriyolojik böbrek ve mezenşimal hücrelerini kullanarak gerçekleştirilen başka in-vitro çalışmalarda glikoz miktarının defensin seviyesini arttırdığı tespit edilmiştir.(42,43)

Bu bilgilerin ışığında, Tip2 DM ve kronik periodontitise sahip hastalarda periodontal infeksiyonda önemli role sahip hBD-2, hBD-3 ve LL-37 antimikrobiyal peptidlerinin dokudaki salınımlarının değişebileceği hipotezine dayanarak; DM gibi nötrofil fonksiyonlarında bozukluk yaratan sistemik bir hastalıkta defensin ve

kathelisidin salınım ve fonksiyonlarındaki farklılıkları tanımlamak amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilecek bilgilerin periodontal hastalıkların patogeneğinde defensin ve kathelisidinlerin rolünün ve öneminin anlaşılmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Periodonsiyum

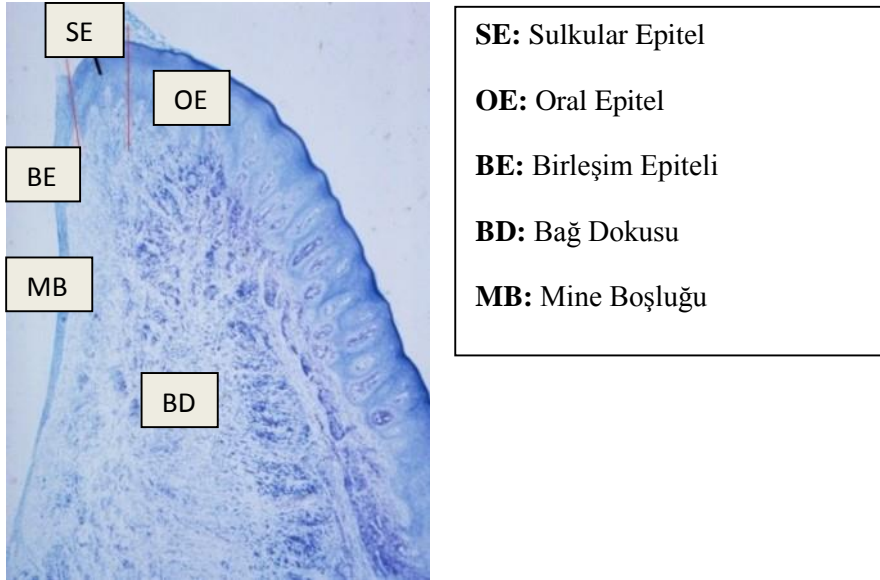
Periodonsiyum dişeti, alveolar kemik, periodontal ligament ve sement olmak üzere dört bileşenden oluşur.(44) Tüm bu bileşenler lokalizasyon, biyokimyasal içerik ve hücresel özellikler açısından farklılıklar gösterse de tek bir ünite şeklinde fonksiyon gösterirler. Dolayısı ile periodonsiyumu oluşturan birimlerin birinde meydana gelen patolojik bir bozulma, diğerlerini de etkiler.(1) Sağlıklı periodonsiyum, dişlere ağız içinde uygun fonksiyonda kalmaları için yeterli desteği sağlar. Dişeti sağlıklı koşullarda mine-sement birleşim sınırına kadar olan diş kökü bölgesinin ve alveol kemiğinin üzerini örter. Anatomik olarak serbest marjinal dişeti, interdental dişeti ve yapışık dişeti olmak üzere üçe ayrılır. Histolojik olarak ise, epitel ve bağ dokusu tabakası olarak ikiye ayrılır. Epitel tabakası daha çok hücrelerden oluşurken, bağ dokusu tabakası fibröz ve fibröz olmayan proteinlerin, büyüme faktörlerinin, minerallerin, lipid ve suyun daha baskın olduğu daha az hücresel özellikte bir yapıdan oluşur. Dişetini oluşturan bu iki yapı beraberce, gingivitis ve periodontitis gelişimine verilen ilk cevaptan sorumludur. (45)

2.1.1 Gingival Epitel

Periodonsiyumun en dış kısmını oluşturan ve bağ dokusunun üzerini örten gingival epitel, yapı ve kompozisyon olarak üç farklı bileşenden oluşur:

- 1) Oral Epitel
- 2) Sulkular Epitel
- 3) Birleşim Epiteli

Oral epitel mukogingival birleşimden, dişeti papiline kadar uzanır ve kendi içinde yapışık dişeti ve serbest marjinal dişeti olmak üzere ikiye ayrılır.(44) Sulkular epitel, dişeti sulkusunu oluşturan kısımdır ve serbest marjinal dişeti ile birleşim epitelinin en kronal kısmı arasında yer alır. Birleşim epiteli ise, gingival sulkusun tabanından, alveolar kemik kretinin yaklaşık olarak 2 mm kronalindeki bir nokta arasında bulunur.(1) Komşu olduğu dişe yakın adaptasyon göstererek ataçman fonksiyonu gösterir. Gingival epiteli oluşturan bu 3 alt grup, yapısal ve fenotipik olarak farklılıklar gösterir.(46) (Şekil 2.1.1)



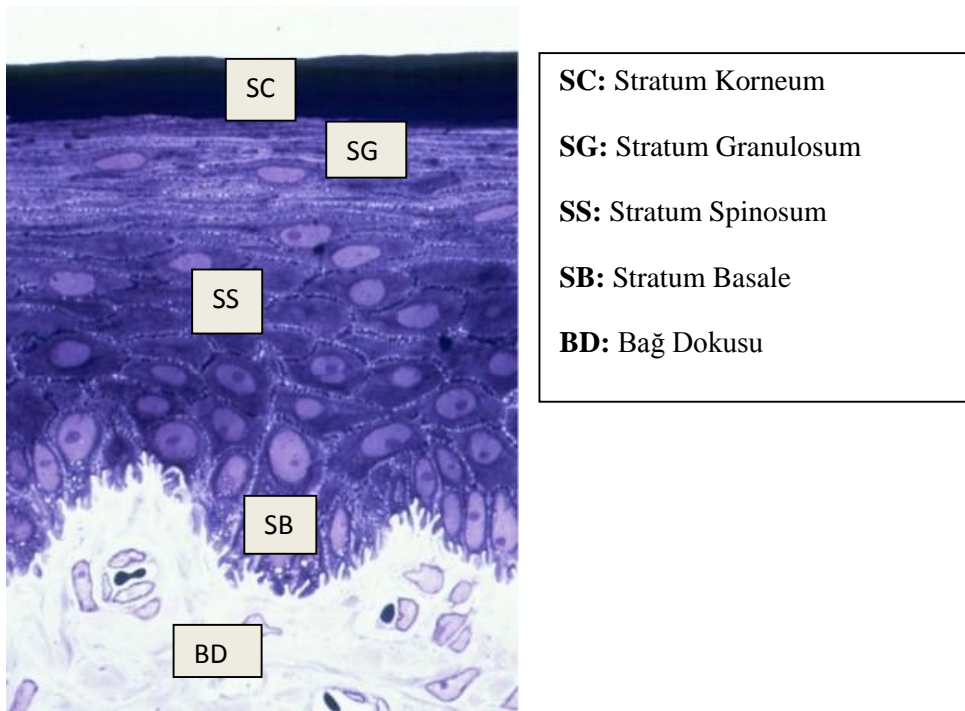
Şekil 2.1.1 Gingival Epitel

Oral Gingival Epitel: Oral gingival epitel, çok katlı yassı keratinize bir epitelidir ve dört tabakadan oluşur. Bu tabakalar; stratum bazale (bazal tabaka), stratum spinozum (iğsi hücre tabakası), stratum granulosum (granüler tabaka) ve stratum korneum (boynuzsu tabaka)'dur. Oral epitel yaklaşık olarak 0.2-0.3 mm kalınlığındadır (44) ve altında bulunan bağ dokusu tabakası ile sınırını 'rete sırtları' adı verilen girinti ve çıkıntılı yapı ile oluşturur (Şekil 2.1.2).

Stratum bazale'yi oluşturan hücreler kısmen küçüktür ve epiteli bağ dokusundan ayıran bazal membran ile yakın kontakt halindedirler. Bu tabakayı oluşturan hücreler genelde bazal tabakada bulunan Langerhans, melanosit ve merkel hücrelerinden farklıdır ve keratinosit olarak adlandırılırlar. Bu hücrelerin çoğalma yetenekleri oldukça gelişmiştir ve devamlı proliferasyon olurlar. Stratum spinozum'u oluşturan hücreler ise farklılaşmaya başlamıştır ve polihedral şekilde bulunurlar. Epitelin bu tabakası en kalın tabakadır ve hücreler özel hücre-hücre bağlantılarını oluşturmaya başlarlar. Bu tabakanın üst kısımlarında hücreler düzleşmeye başlar ve sitoplazmalarında keratohyalin granülleri taşırlar. Stratum korneum'un en üst tabakalarında ise hücreler artık sitoplazma ve çekirdeklerini kaybetmiş, oldukça düz bir şekil almışlar ve sıkı bir hizaya girmişlerdir.

Oral gingival epitel tabakasında ektodermal kökenli hücreler dışında Langerhans hücreleri, melanositler, Merkel hücreleri gibi başka tip hücreler de

bulunabilir. İmmün sistemde önemli görevleri olan Langerhans hücreleri genelde stratum spinosum tabakasında yer alırlar ve immün sistemde önemli görevleri olan bu özelleşmiş hücreler, dış kaynaklı antijenleri işler ve onları T hücrelerine sunarak bu hücreleri aktive ederler. Bu hücrelerde ayrıca inflamasyon sırasında niteliksel ve niceliksel değişiklikler de gözlenir.(47) Diğer bir hücre grubu olan Melanositler, nöral krest hücrelerinden köken alırlar ve oral gingival epitelin en çok stratum bazale tabakasında gözlenirler.(48) Bu hücreler gingivaya kahverengi pigmentasyonu veren melanin üretirler. Melanositlerin ve melaninlerin gingivadaki rolü halen belirsizdir. Merkel hücreleri ise oral gingival epitelin rete sırtlarının ucunda kümelenmiş olarak bulunurlar.(49) Bu hücrelerin kökeni tartışmalıdır, epiteliden veya hücrelerinden köken aldıkları düşünülmektedir.(50, 51) Bu hücreler intraepiteliyal sinir sonlanımları ile yakın ilişki içerisindedirler ve Merkel hücresi - nörite kompleksleri oluştururlar.(52) Bu komplekslerin mekanik duyu alımında görevli oldukları düşünülmektedir.(1)



Şekil 2.1.2 Oral Gingival Epitel Katmanları

Oral Sulkular Epitel: Bu yapı, gingival sulkusun epitelial uzantısıdır. Sağlıklı koşullarda sığ bir oluk yaklaşık 0.5 mm derinliğindedir. Diş yüzeyi ve gingival marjin arasında bulunur ve diş çevresini sirkumferensiyal olarak çevreler.(53) Gingival sulkusun tabanı, birleşim epiteli hücrelerinin eksfoliye olduğu yerdir. Oral sulkular

epitelin hücresele yapı ve kompozisyonu oral gingival epitel ile benzerlikler gösterir. Çok katlıdır ve genellikle parakeratinizedir. Sağlıklı durumlarda epitel altındaki bağ dokusu tabakası ile girintili, çıkıntılı rete peg yapısı ile ayrılır, inflamasyon gelişimi ile bu girintili çıkıntılı yapıda bozulmalar ve uzamalar gözlenir. Birleşim epitelinin aksine, oral sulkular epitel daha az geçirendir ve inflamasyon sırasında bu yapıya göre daha az polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu gözlenir.(54)

Birleşim Epiteli: Bu yapı ile dişeti diş yapılarına atake olur. Yapısal ve köken olarak oral gingival epitel ve oral sulkular epitelden farklılık gösterirler. Bu özelleşmiş epitelin kalınlığı yaklaşık 15-30 hücre tabakasından oluşur.(55) Hücreler diş yüzeyine paralel bir düzlem oluşturacak şekilde sıralanma eğilimindedir. Epitel hücrelerinin sadece iki morfortipi birleşim epitelinde belirgindir. Bunlar stratum bazale'de bulunan ve hızlı proliferasyon olma özelliği olan hücreler ve suprabazal tabakada bulunan ve mitotik kapasitesi olmayan hücrelerdir. Birleşim epitelinde hücreler arası boşluklar oral gingival ve sulkular epitele göre daha fazladır.(56) Birleşim epiteli boyunca bir miktar hareket eden PMNL gözlenebilir. Bu hareketli lökositler sağlıklı koşullarda da bulunmaktadır fakat dental plak birikimi ve sonrasında gelişen inflamasyon durumunda sayıları dramatik bir şekilde artar. Lenfositler özellikle de T lenfositleri birleşim epitelinde de bulunurlar.(57) Birleşim epiteli altındaki bağ dokusu ile belirgin rete pegler ile ayrılmaz. Bu yapı daha çok epitelin koronal bölgesinde sadece orta dereceli dalgalanmalar şeklinde izole edilebilir.(1)

2.2. Periodontitis

Dişetindeki iltihabın, ataçman kaybına neden olmaksızın dişeti ile sınırlı kalması gingivitise yol açarken, bağ dokusu ataçmanı ve alveoler kemik kaybıyla karakterize olan, kronik seyreden ve infeksiyöz özellik gösteren periodontal yıkım periodontitise neden olmaktadır.(54,58) Günümüze kadar periodontitislerin; ortaya çıktıkları yaş, mikrobiyal flora, immünolojik özellikler, klinik ve radyografik görünüm, hastalığın seyri gibi birçok kriter göz önüne alınarak çeşitli sınıflamalar yapılmıştır. Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin (AAP) (World Workshop) 1989 yılında yaptığı sınıflamada periodontitis; erişkin periodontitis, erken başlayan periodontitis, sistemik hastalıklarla görülen periodontitis, refraktori ve rekürrent

periodontitis olarak gruplandırılmıştır.(59) Hastalık katagorilerinin ayrımının tam olmaması, net ve uygun olmayan kriterlerin bulunması, hastalığın başlama yaşının ve ilerlemesinin sınıflandırmada oldukça önemli yer tutması ve dişeti hastalıklarının bu sınıflandırmada yer almaması nedeni ile 1997 yılında AAP tarafından yeni bir sınıflandırma yapılmıştır.(20) Bu sınıflandırmada periodontal hastalıklar:

1. Dişeti Hastalıkları
2. Kronik Periodontitis
3. Agresif Periodontitis
4. Sistemik Hastalıklarla Görülen Periodontitis
5. Nekrotize Periodontal Hastalıklar
6. Periodonsiyumun Abseleri
7. Endodontik Lezyonlarla Birlikte Görülen Periodontitis
8. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformiteler olarak sınıflandırılmıştır.

2.2.1 Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, dişetinde başlayan iltihabın diş destekleyen dokulara yayılımıyla birlikte, bağ dokusu ataçmanı kaybı ve epitelyal ataçmanın kök yüzeyi boyunca proliferasyonunu takiben periodontal cep oluşumu ve alveoler kemik yıkımı ile karakterize infeksiyöz bir hastalıktır. Görülme sıklığı ve şiddeti yaş artışı ile paralel olarak artar. Kronik periodontitiste bakteriyel plak primer etyolojik ajan olsa da konak savunma sistemi de patogeneizde önemli bir yere sahiptir. Etkilenen alanların genişliğine göre; lokalize veya generalize, klinik ataçman kaybının miktarına göre de hafif, orta veya ileri düzeyde olmak üzere gruplara ayrılır.(60)

2.2.2. Periodontal Hastalık Gelişiminde Biyokimyasal Mekanizmalar

Dişeti bağ dokusu, hücreler ve bunları çevreleyen ekstrasellüler matriksten oluşur. Ekstrasellüler matriks içindeki en önemli bileşenler: yapısal proteinler (kollajen ve elastin), adeziv proteinler (fibronektin ve laminin), integrinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardır.(44,61)

Periodontal hastalıklar küçük ve iyi tanımlanmış bir alanda oluştuklarından lokal reaksiyonlar eksizyonel biyopsi ve histolojik değerlendirmeler ile kolaylıkla izlenebilir. Normal ve iltihabi periodontal dokular histolojik olarak incelendiğinde periodontal yıkımın dört farklı fazı tanımlanmıştır. Başlangıç, erken ve yerleşmiş lezyonlar gingivitis tanımlarken, ilerlemiş lezyon periodontitis gelişimini gösterir.(62) Gingivitis stabil bir lezyon modeli oluşturur, matriks yapımı ve yıkımı arasında sabit bir denge mevcuttur. Bu denge bozulduğunda ise periodontitis gelişir ve yumuşak ve sert dokuların geri dönüşü olmayan yıkımı izlenir.(63) Patolojik cep oluşumu, alveol kemiği ve periodontal ligamentte yıkım, dişetinde fibrozis ve ülserasyon ve dişte mobilite ile karakterize, histolojik olarak plazma hücresi ve B lenfositlerin baskın olduğu bu safha ilerlemiş lezyon olarak tanımlanır.(64)

Kronik iltihabi periodontal hastalığın oluşması ve ilerlemesi periodontopatojenlerin subgingival alanda bulunmasına bağlıdır. Ancak mikrobiyal kolonizasyonun yanısıra konağa ait savunma mekanizmaları da hastalık patogenezinde önemli rol oynamaktadır.(65,66) Periodontal dokularda 300'den fazla farklı mikroorganizma izole edilmesine karşın virülans faktörleri sentezleyebilen az sayıda patojen mikroorganizma periodontal hastalık gelişimi için etyolojik ajan olarak kabul edilmektedir.(59) Spesifik plak hipotezi de belirli bakterilerin belirli hastalıkların patogenezinde rol oynadığını ve plağın kalitesinin kantitesinden önemli olduğunu belirtmektedir.(67) Bakteroides türleri, porphyromonas türleri, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi mikroorganizmaların periodontal hastalık patogenezinde daha önemli role sahip oldukları bilinmektedir. Subgingival plak bakterilerinin diş yüzeyine kolonizasyonunun ve kök boyunca proliferasyonunun ardından endotoksinler, ekzotoksinler, enzimler ve toksik metabolik ürünler salgılayarak direkt doku yıkımına neden olurlar.(68) Bununla beraber periodontal hastalıkta gerçekleşen doku yıkımının büyük bir kısmı, periodontal infeksiyon nedeniyle konak savunma sistemindeki koruyucu ve yıkıcı mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması sonucu, indirekt yoldan meydana gelmektedir.(60, 68) Konak savunma mekanizması hümorale ve hücresele olarak iki kısımda değerlendirilir. Hümorale savunma kompleman sistemi, antikorlar ve çeşitli serum faktörlerinden oluşur. Hücresele savunma sistemi ise fagositik hücrelerin göçü, mikroorganizmaya ataçmanı ve hücre içine alması, fagozom-lizozom füzyonu,

oksidatif öldürme işlemi, oksidatif olmayan öldürme işlemi, spesifik bağışıklık yanıtının aktivasyonu, fagositlerin sitokinlere yanıt vermesi ve mikrobiyal ve hücrel debrisin uzaklaştırılması işlemlerinden oluşmaktadır. Konak savunma mekanizmasının myeloid kısmını, nötrofiller, monositler ve diğer granüositler, lenfoid kısmını T-hücreleri, B-hücreleri ve büyük granüllü hücreler oluşturur.(54, 69)

Dişetinde iltihap sırasında, nötrofillerin aktivasyonu ve bölgeye göçü sonucu akut iltihabi cevap meydana gelir. Diğer yandan, plak bakterilerinin nötrofil fonksiyonlarını inhibe etmesi sonucu makrofaj ve fibroblastların uyarılması ile kronik iltihabi cevap oluşur. Makrofaj ve fibroblastların uyarılması ile açığa çıkan matriks metalloproteinazlar, reaktif oksijen türleri, IL-1, IL-6 ve tümör nekroze edici faktör- α (TNF- α) gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinler bağ dokusu kollajeninin yıkımına neden olarak periodontal cep oluşumuna, ataçman kaybına ve alveoler kemik yıkımına yol açarlar.(54,70) Periodontal bağ dokusunun iltihabi enzimatik yıkım ile tanımlansa da hem endojen hem de bakteriyel enzimler matriks yıkımına yol açabildiğinden bu enzimlerin ana kaynağını tam olarak belirlemek mümkün olamamıştır.(68) PMNL, makrofaj ve fibroblastlardan kaynaklanan endojen kollajenazların kollajen yıkımından, bakteriyel ve endojen enzimlerin ise proteoglikan yıkımından sorumlu oldukları düşünülmektedir.(71) Aktive olan PMNL'lerden salınan son derece reaktif oksijen kaynaklı serbest radikallerin de doku yıkımına katıldıkları bilinmektedir.(54,70)

2.2.3 Gingival Epitelde İnflamasyona Bağlı Olarak Görülen Değişiklikler

Gingival epitelin inflamatuvar periodontal hastalıkların patogenezinde aktif bir rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle birleşim epiteli inflamasyonun erken fazı ile ilişkilidir.(72) Epitelin geçirgenliğinin, dental plak birikimine karşı oluşturulan hızlı sinyal yanıtlarının iletiminde ve dokuda meydana gelen moleküler, hücrel değişikliklerde önemli bir rolü vardır. Herhangi bir inflamatuvar yanıt oluşmasa bile epitel hücreleri oldukça aktiftir.(1) IL-1 ve IL-8 gibi nötrofil cevabında önemli sitokinler salgılayabilirler. Özellikle birleşim epiteli hücrelerinde intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM) ve E-selektin gibi nötrofillerin migrasyonunu ve adezyonunu arttıran adezyon moleküllerinin salınımı gözlenir.(73) Bunun dışında E-selektin molekülünün langerhans veya lenfosit hücrelerinin keratinositlere tutunmalarında da

rolü bulunmaktadır.(74) ICAM-1 molekülünün ise sağlıklı durumlarda bile dentoepitelial komplekste bulunan nötrofillerin kemotaksis ve adezyonunda etkisi olduğu bilinmektedir. IL-1 ve IL-8 gibi sitokinlerin ve ICAM-1 ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin devamlı salınımları birleşim epitelindeki hücreler aralıkları genişletir ve inflamatuvar eksudanın gingival sulkusa ilerlemesine sebep olur.(75) Ancak bu aralanma patolojik olarak tanımlanmamaktadır çünkü bağ dokusundaki intersellüler matriks ve ataçmanlar yapılarını korumaya devam ederler. Hücreler arasındaki bu aralanma mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ancak inflamatuvar eksudanın yarattığı basınca bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir.(1) Epitel-bağ dokusu arayüzündeki doku yıkımı bu iki yapı arasında salınım gösteren integrin moleküllerindeki değişikliğe bağlı olarak gözlenebilir. İntegrin $\alpha 2\beta 1$ ve $\alpha 3\beta 1$ molekülünün cep epitelinde artışı gözlenmiştir ve bu moleküller keratinosit migrasyonu ve proliferasyonu ile ilişkilidir. $\alpha 6\beta 4$ zayıf salınımının ise epitelin dış yüzeyinden deataçmanı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.(76,77)

Birleşim epitelinin geçirgenliği gingivitis gelişiminde önemli bir mekanizmadır. İnflamatuvar cevaba bağlı olarak birleşim epitelinden nötrofil girişi artmaktadır, etken (dental plak) ortamda kalmaya devam ettiğinde bu yanıt kronik hale gelmekte ve birleşim epiteli hızlı yenilenme özelliğini kaybederek dokuda hasar gelişimine neden olmaktadır.(78) Plak yanıtına bağlı olarak nötrofil migrasyonu ve bağ dokusundaki makrofaj ve lenfositlerin erken aktivasyonları başlar ve birleşim epiteli apikale doğru hareket ederek erken cep formasyonunu oluşturur.(1,78) Epitelin bazal tabakasındaki hücreler kollajenaz enzimleri üreterek kollajen yapıyı çözerler ve migrasyon bu şekilde başlar. Bazal hücrelerin bu yanıtında TNF- α 'nın, *transforming* büyüme faktörünün ve keratinosit büyüme faktörünün etkisi vardır.(79) Epitel ve bağ dokusu hücrelerini bağlayan sinir liflerinin de erken kimyasal uyarılarla bağ dokusunu aktive ettiği ve vasküler yanıtla beraber hücreler aktivasyonu sağladığı düşünülmektedir.(80)

2.3 Antimikrobiyal Peptidler

Antimikrobiyal peptidler 100 aminoasitten küçük olan ve salgılandığı dokuda esas olarak konak savunmasında görev alan polipeptidlerdir.(6) İnsanlarda ve diğer memelilerde bulunan en önemli iki antimikrobiyal peptid defensinler ve

kathelisidinlerdir. Defensinler, memeli epitel hücrelerinden ve fagositozlardan yüksek konsantrasyonlarda salınırlar (31 kDa).(81) Kathelisidinler ise yapısal ve gelişimsel olarak farklı bir antimikrobiyal peptid grubudur fakat defensinler ile benzerlikler gösterir.(82) Diğer antimikrobiyal peptid grubunu oluşturan histatinler, dermisidinler ve anyonik peptidler ise daha çok hayvansal tür ve dokularda sınırlıdır.(83)

2.3.1 Yapısal Özellikler

Defensinler gelişimsel olarak omurgalı antimikrobiyal peptidleri ile ilişkilidir ve karakteristik olarak β katmandan zengin katlı ve 6 disülfid bağlı sisteinden oluşan iskeletsel bir yapıya sahiptirler.(84) 1960'lı yıllarda tavşan ve gine domuzlarının lökosit örneklerinde yapılan çalışmalarda arjininden zengin katyonik peptidler olarak tanımlanmış ve geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikleriyle dikkat çekmişlerdir.(85) Teknik gelişmeler ve detaylı kimyasal karakterizasyon ile insan lökositlerinde de yapısal olarak benzer peptidler izole edilmiştir ve konak savunmasındaki rollerinden dolayı 'defensin' olarak isimlendirilmişlerdir.(5) Lökositlerde izole edilmelerinden sonra çeşitli epitel hücrelerinde de salınım gösterdikleri tespit edilmiştir.(86,87) Defensinler α -defensinler (HNP) ve β -defensinler (hBD) olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar.(2, 88) Bu iki grup birbirinden peptid segmentlerinin uzunluğu açısından farklılık gösterir ve ortak disülfid bağları vardır. HNP ve hBD'ler N-terminal merkez ve üçlü sıkıştırılmış β -düzlem bağlantısı içerirler.(89,90) Son yıllarda yapısal olarak farklılık gösteren ve θ -defensin olarak isimlendirilen bir alt grup tanımlanmıştır. Yapısal olarak HNP'lerin öncü molekülü olarak düşünülen, bu peptid insanlarda inaktif formda bulunmaktadır.(6)

Defensinler mikrobiyal enfeksiyona karşı konak savunmasında görevli hücre ve dokularda bol miktarda bulunurlar. En yüksek defensin konsantrasyonu lökosit granüllerinde tespit edilmiştir ($>10 \text{ mg ml}^{-1}$).(91) İnce bağırsakta bulunan Paneth hücreleri yüksek defensin konsantrasyonunun izole edildiği bir başka yapıdır. Özellikle HNP-5,-6 salınımının görüldüğü kripta adı da verilen bölgelerde 10 mg^1 gibi yüksek konsantrasyonlara ulaşılabilir.(92) Çeşitli bariyer ve sekresyonla görevli trake, dil, bağırsak, dişeti gibi epitel hücrelerinde de defensin sekresyonu gözlenmiştir.(7,86,93) Bazı durumlarda devamlı görülen bu sekresyon bazen de enfeksiyona bir yanıt

şeklinde. Bu epitel hücrelerinden salınan defensin miktarı $10-100\mu\text{g ml}^{-1}$ aralığındadır.(94)

2.3.2 Defensin Regülasyonu Sentez ve Salınımı

İnsanlarda HNP ve hBD'leri kodlayan ve kromozom 8p23'de kümelenen en az sekiz tane gen tanımlanmıştır. Polimorfik doğaları ve spesifik defensin genlerini kodlayan kromozomlardaki farklılıklardan dolayı defensinlerin gen haritalanması tamamlanamamıştır.(95,96) HNP'ler kemik iliğinde bulunan ve nötrofillerin prekürsörleri olan promiyelositler tarafından sentezlenirler. Kan dolaşımında bulunan erişkin nötrofiller yüksek miktarda HNP içermesine rağmen HNP sentezi gerçekleştiremezler.(6) hBD'ler altı sistein granülü ve üç adet disülfid bağı ile sabitlenmiştir. Anyonik ve katyonik olmak üzere duplikasyon gösterirler, bu duplikasyonun hBD'lere değişik fonksiyonlar katarak onları özelleştirdiği düşünülmektedir. hBD'lerin amfipatik özellikleri de bu yapıdan kaynaklanmaktadır.(4) Öncü hBD molekülünün yapısı daha basittir. Yaklaşık olarak 18-32 kDA ağırlığındadırlar ve 29-35 aminoasitten oluşurlar.(84) Defensin sentez ve salınımları mikroorganizmalar tarafından üretilen sinyaller, sitokinler ve bazı durumlarda doku kaynaklı nöroendokrinale bağlı oluşur. Nötrofil öncü hücreleri olan promyelositler tarafından üretilen HNP'ler nötrofillerin azurofilik granüllerinde depo edilirler.(7,97) Fagositoz sırasında defensinden zengin primer granül fagositotik vakuoller ile birleşir.(98) Nötrofil sekonder granülleri ise defensin açısından fakirdir ancak burada insan vücudunda bulunan tek kathepsidin olan LL-37'nin öncül molekülü olan hCAP18 bol miktarda bulunmaktadır.(82)

hBD-1 salınımı esas olarak üriner kanalda gösterilmiştir ancak deri ve diğer epitel hücrelerinden de izole edilmiştir ve salınımının devamlı olduğu düşünülmektedir.(99) hBD-2 sentezi ise mikroorganizmaların dendritik hücreleri ve makrofajları uyarak oluşturdukları orta dereceli IL-1 sentezine bağımlıdır. Yapılan ko-kültür çalışmasında A549 akciğer epitel hücreleri ve monosit benzeri hücreler lipopolisakkaritlere maruz bırakılmıştır ve hBD-2 salınımının nükleer faktör κB (NF- κB) ve IL-1 bağımlı olduğu gösterilmiştir.(100) hBD-3 ve hBD-4'ün salınımlarının da benzer şekilde inflamasyonla artış gösterdiği esas olarak epitel hücrelerinden

salındıkları fakat farklı NF- κ B merkezleri tarafından da uyarıldıkları gösterilmiştir.(101,102)

2.3.3 Kathelisidinlerin Yapısal Özellikleri

İnsanlarda bulunan tek kathelisidin molekülü LL-37'dir. LL-37, 37 aminoasitten oluşan hücre dışı C-terminal bağı ile sonlanan, yaklaşık olarak 18-kDa ağırlığında olan bir katyonik peptiddir.(8,103) Nötrofillerin sekonder granüllerinde devamlı salınımları gözlene de makrofajlar, doğal öldürücü (NK) hücreler, deri, solunum ve sindirim sistemi epitel hücrelerinde de izole edilebilirler. Nötrofillerin sekonder granüllerinde ve keratinositlerde öncü molekülü olan hCAP18 protein formunda bulunur. Bu protein yapı nötrofillerde proteaz 3 ve keratinositlerde serin proteaz enzimleriyle çözünerek aktif LL-37 formuna dönüşür.(104) Regülasyon ve salınımları esas olarak inflamatuvar süreçle ve ek olarak vitamin D yolağı ve endoplazmik retikulumdaki proteinlerin işlenmesi ile ilişkilidir.(105,106)

2.4 Antimikrobiyal Peptidlerin Fonksiyonları

2.4.1 Antimikrobiyal Aktiviteleri

hBD'ler ilk olarak antimikrobiyal özelliklerine göre tanımlanmıştır. Yapılan *in-vitro* çalışmalarda hBD'lerin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere, öncelikli olarak zarflı virüslere ve mantarlara karşı $\mu\text{g ml}^{-1}$ düzeyinde minimum inhibisyon konsantrasyonlarında geniş spektrumlu etkileri tanımlanmıştır.(7,107) Bunlar dışında *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* gibi periodontal patojenler ve *Streptococcus mutans* ve *Candida albicans* gibi diğer türlere karşı da antibakteriyel özellikleri tespit edilmiştir.(2, 10) Diğer dokularda gözlenen orta şiddetteki defansin antibakteriyel yanıtı oral patojenlerde değişkenlik göstermektedir.(6) Geniş spektrumlu etki ve bazı periodontal patojenler tarafından gösterilen direnç, hBD'lerin oral kavitede görülen mikrobiyal kolonizasyona karşı oluşan ilk savunma yanıtında rol oynadığını düşündürmektedir.(10) hBD'lerin kendi aralarında antibakteriyel etkileri karşılaştırıldığında hBD-3'ün düşük konsantrasyonlarda Gram (+) ve Gram (-) bakterilere, mantarlara ve virüslere diğer hBD'lere göre en yüksek potent antimikrobiyal etkiyi gösterdiği, hBD-1'in ise bu grup

içinde en düşük antimikrobiyal cevaba sahip olduğu bilinmektedir.(108) hBD'lerin hedef organizmalara karşı gerekli olan minimum inhibitör konsantrasyonları, dışıta oluşu sıvısında bulunan miktarlarından daha düşüktür, bu bulgu hBD'lerin antimikrobiyal etki dışında diğer fonksiyonları olduğu gerçeğini de güçlendirmektedir.(2,7)

hBD'ler antimikrobiyal aktivitelerini mikroorganizmaların hücre zarlarının geçirgenliğini bozarak gerçekleştirirler. Hücre zarlarının üzerinde por formasyonu oluşturarak madde alışverişini bozarlar. Bu etki, negatif yüklü bakteriyel membranlar ve kendilerinin katyonik yükleri arasında gelişen elektrostatik etkileşim sonucu oluşur.(81,109) hBD'lerin antimikrobiyal etkileri, biyolojik faktörlere bağımlıdır. Bu faktörlerden birisi tuz konsantrasyonudur. Yüksek tuz konsantrasyonlarında hBD-1, -2 ve -4 antimikrobiyal yanıtı bozulurken hBD-3 yanıtında bir değişim gözlenmemiştir. Bu yüzden hBD'lerin in-vivo koşullarda gerekli antimikrobiyal konsantrasyonları net değildir.(88,102)

hBD'lerin antimikrobiyal özellikleri dışında gram-negatif bakterilerin önemli virülans faktörlerinden olan lipopolisakaritleri (LPS) nötralize etme özellikleri de mevcuttur.(110) Periodontal patojenler açısından bu konuyla ilgili limitli bilgi mevcuttur ancak yapılan deneysel bir çalışmada, *Tannerella forsythia*'ya ait LPS'lerin hBD-1, -2 ve -3 tarafından nötralize edildiği ve LPS'lerin monositlere bağlanmasını engelledikleri gösterilmiştir.(111) Ancak özellikle bazı periodontal patojenlerin hBD'lerin antimikrobiyal özelliklerine karşı kapsül yapısı oluşturarak, zarf moleküllerini modifiye ederek, biyofilm formasyonu oluşturarak, defensin moleküllerini çözerek ve defensin salınım yollarını inhibe ederek direnç geliştirebildikleri bilinmektedir.(112-114)

LL-37 güçlü antimikrobiyal etki gösteren bir peptiddir. Etki açısından hBD'ler ile benzer geniş spektrumlu bir etki gösterir. α helikal yapısı ve pozitif elektrostatik yükü sayesinde, membran penetrasyonu, transmembran por formasyonu ve bakteriyel lizis oluşturabilirler.(115,116) Memeli hücre membranında bulunan kolesterol molekülü, LL-37'nin por formasyonuna karşı koruma özelliği gösterebilir ancak bu özellik yüksek konsantrasyonlardaki LL-37'ye etkili değildir.(8,116) Yapılan çalışmalarda, LL-37'nin LPS ve lipotektik asit gibi bakteriyel ürünlerin üretimini engellediği ve bu sayede konak metabolizmasını sepsisten koruduğu gösterilmiştir. Bu

etkisini LPS'nin inflamatuvar sitokin salınımını engelleyerek gerçekleştirmektedir.(117,118)

2.4.2 Kemotaksis ve Konak Savunma Yanıtındaki Roller

hBD'ler yapısal olarak sitokinler ile benzerlikler gösterir. Patojen uyarını karşısında salınımları artış gösterir ve kemotaktik aktiviteleri artar. İlginç bir şekilde antimikrobiyal aktivite için gerekli konsantrasyonlarının 2-3 log altındaki miktarlarda çeşitli immün hücrelere karşı potent kemotaktik etkileri tespit edilmiştir. hBD-1, -2 ve -3 immature dendritik hücrelere ve hafıza T hücrelerine karşı kemotaktik özelliğe sahiptir. hBD-2 ve -3 nötrofil ve mast hücrelerinin kemotaksisinde görev alır ve aynı zamanda mast hücresi degranülasyonunu indüklerler. hBD-3 aynı zamanda monosit hücreleri üzerinde kemotaktik özellik gösterir. İlginç bir şekilde hBD'lerin bu özellikleri disülfid yapılarından bağımsız olarak gelişir ve *in-vivo* koşullarda inflamatuvar duruma bağımlıdır. Bu kemotaktik yanıt hBD'lerin glikoz aminoglikanlara bağlanması ile de artış gösterir.

Kendi kemotaktik özelliklerinin dışında hBD'ler bazı kemokinlerin salınımını da indüklerler. Keratinositlerin hBD-3 ile monosit kemotaktik protein-1, makrofaj inflamatuvar protein -3 α ve interferon γ indüklü protein 10 salınımında artış gösterdiği tespit edilmiştir. Mast hücrelerinin hBD'lere maruz kaldıklarında IL-31 ve diğer sitokin ve büyüme faktör salınımlarında artış gözlenmiştir. İn-vitro olarak yapılan bir çalışmada dendritik hücrelerin IL-1 β ile uyarıldıklarında gingival epitel hücrelerinden hBD salınımını arttırdıkları bulunmuştur.(119) Bu bulgu başlangıç immün yanıtta hBD'lerin önemli bir ara basamak olduğunu destekler niteliktedir.

hBD'ler adaptif immün yanıtta da rol alan aktif moleküllerdir. Özellikle hBD-1 ve -2 kemokin reseptör -6 alıcılarına bağlanarak dendritik hücrelerin olgunlaşmasını sağlarlar. hBD-2 dendritik hücrelerin antijen sunucu özelliklerini uyarır. Monosit, makrofaj ve mast hücrelerinin dışında hBD-3'ün de T lenfosit ve yetişkin olmayan dendritik hücreler üzerinde kemoatraktan özelliği bulunmaktadır. Dendritik hücrelerin başlangıç immüniteden kazanılmış immüniteye geçişte önemli görevleri bulunmaktadır. hBD'lerin dendritik hücreler üzerindeki bu aktiviteleri başlangıçtan kazanılmış immüniteye geçişte önemli ara basamak molekülleri oldukları fikrini güçlendirmektedir.

LL-37 ise başlangıç ve kazanılmış bağışıklık yanıtta görev alabilen bir peptiddir.(7) Bakteriyel ürünler ile etkileşime girdiklerinde sitokin salınımını inhibe etseler de, oral gingival epitel hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada LL-37'nin IL-1 ile sinerjistik etki gösterdiği, IL-6 ve IL-10 salınımını arttırdığı, monosit kemotaktik protein-1 ve -3 salınımını indüklediği gösterilmiştir.(120) Ayrıca, LL-37'nin kemotaksiste görevli önemli bir sitokin olan IL-8 salınımını arttırdığı bilinmektedir.(121) Bunun dışında LL-37 formil peptid reseptör-1 ve G protein sinyal yolağını indükleyerek nötrofil, monosit, mast hücreleri ve T hücrelerinin kemotaksisinde görev alabilir.(9,117)

2.4.3 Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkileri

hBD ve LL-37 peptidleri sadece antibakteriyel ve immün düzenleyici olarak görev almazlar. Periodonsiyumda yara iyileşmesinde de rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. Oral dokuların yara iyileşmesinde direkt olarak etkileri gösterilmese de diğer dokuların yara iyileşme mekanizmalarında önemli oldukları bilinmektedir.(2,7,107)

Yara iyileşmesi; inflamasyon, re-epitelizasyon, granülasyon ve doku formasyonu - modelasyonu olmak üzere dört fazdan oluşmaktadır. LL-37 ve hBD'lerin epitel hücrelerinin migrasyonu ve farklılaşmaları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.(122) Bunun dışında LL-37 ve hBD-3'ün STAT reseptörlerini uyararak, keratinosit migrasyon ve proliferasyonlarında görev aldığı bilinir. hBD-3, aynı zamanda epitelial büyüme faktörü salınımını da arttırabilmektedir.(14) Tüm bu özellikler, hBD ve LL-37'lerin yara iyileşmesinin re-epitelizasyon fazında aktif görev aldığına göstergesidir.(123) Yapılan bir çalışmada hBD-2 molekülünün endotelial hücrelerin proliferasyon, migrasyon ve tüp formasyonunu arttırdığı, bu özellikleri ile de yara iyileşmesinin vaskülarizasyon fazına dahil olabileceğini düşündürmektedir.(15) Ancak bugüne kadar periodonsiyumda bu antimikrobiyal peptidlerin yara iyileşmesi ve tamir mekanizmasındaki rollerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.(7)

2.5 Oral Dokularda Antimikrobiyal Peptidler

Oral kavite insan vücudunda sert dokuların sadece epitel tabakası ile örtüldüğü ve korunduğu tek bölgedir. Direkt olarak dış çevreye açılan, iç ve dış uyaranlara karşı koruyucu görevi olan oral mukoza ve oral epitelin uzun yıllar boyunca sadece pasif bir bariyer olduğu düşünülmüştür. Ancak bu görüş insan vücudundaki diğer epitel hücreleri gibi oral epitel hücrelerinin de antimikrobiyal özellikleri olan, başlangıç ve kazanılmış bağışıklık yanıtında görevleri bulunan sağlık dengesinin idamesinde önemli görevleri bulunan α -defensin, β -defensin ve LL-37 gibi antimikrobiyal peptid salınımı yaptığının gösterilmesi ile değişmiştir.(9,84)

2.5.1 Antimikrobiyal Peptidlerin Oral Dokulardaki Lokalizasyonları

Defensinlerin oral dokularda salınım yaptığı bilinmektedir. hBD'ler oral, sulkular epitelde izole edilmişlerdir. hBD-1, -2 ve -3 yapısal ve fonksiyonel olarak benzerlikler gösterse de, ağız içi dokularda salınım ve fonksiyonları farklılık gösterir.(3) hBD-1 ve hBD-2 mRNA'ları incelendiğinde oral epitelin spinoz tabakasında, proteinleri incelendiğinde ise granüler ve keratinosit tabakalarında yoğun miktarlarda tespit edilmişlerdir. Bu peptidlerin, epitelin yoğun farklılaşma görülen üst tabakalarında bulunmaları ve birleşim epitelinden izole edilememeleri, bu peptidlerin hücre farklılaşmasında görevli olduklarını düşündürür.(5,6)

hBD-1 ve -2'nin periodontal hastalıkların primer etyolojik faktörü olan plağa yakın lokalizasyonları, bu peptidlerin öncelikli olarak başlangıç savunmada rol aldıkları ve de güçlü antibakteriyel özelliklere sahip oldukları fikrini desteklemektedir. hBD-3 incelendiğinde ise, bu molekülün özellikle gingival epitelin bazal tabakalarında hem mRNA, hem de protein düzeyinde, yoğun olarak bulunduğu gözlenmiştir. hBD-3'ün bu özelliği, epitel ve bağ dokusu elemanları arasında bir köprü görevi gördüğü, başlangıç immün yanıtın kazanılmış immün yanıtı geçişte önemli bir ara basamak olduğunu düşündürmektedir.(2)

Kathelisinler oral dokuların immün yanıtının düzenlenmesinde önemli olan bir peptid grubudur. İnsanlarda sadece LL-37 formu bulunmaktadır ve bu molekül esas olarak nötrofillerin sekonder granüllerinden salınım göstermektedir.(6) Ancak LL-37'nin özellikle inflamatuvar uyarana bağlı olarak oral epitel hücrelerinden salınımı da gösterilmiştir. Hem mRNA, hem protein düzeyinde oral kavitenin, gingiva, dil, bukkal

mukoza, tükürük ve tükürük bezleri gibi pek çok alanından izole edilmiştir.(7,8) Gingival epiteldeki LL-37'nin sağlıklı durumda da bu ortamda bulunabilen ve inflamatuvar yanıtla artış gösteren PMNL'den kaynaklandığı düşünülse de özellikle bazal epitel hücrelerinden salındığı gösterilmiştir.(84)

2.5.2 Periodontal Sağlık ve Hastalıkta Defensin ve Kathelisinler

Antimikrobiyal peptidler, oral gingival epitelde mikrobiyal yanıtla karşı başlangıç immün yanıtın başlatılması ve kazanılmış immüniteye geçişte önemli bir ara basamak olarak düşünülmektedir.(124) Bu rollerinin periodontal sağlık ve hastalıktaki etkilerini incelemek amacıyla salınım profilleri ve lokalizasyonları ile ilgili çalışmalar yapılmış ancak bu çalışmalarda farklı cevaplar tespit edilmiştir.(16,24,25,113,125-128) Lu ve ark.(16,128) yaptıkları *in-vitro* çalışmalarda hBD 1-3 salınımını iltihaplı ve sağlıklı durumlarda karşılaştırmış ve hBD -1 ve -2'nin sağlıklı durumlarda spinoz ve granüler tabakalarda salınım gösterdiği ancak iltihaplı durumlarda bu lokalizasyonun epitelin tüm tabakalarını kapsadığı; hBD-3'ün ise sağlıklı koşullarda özellikle bazal tabakada yoğunlaştığı fakat iltihaplı durumlarda epitelin üst tabakalarına doğru artış gösterdiği bildirilmiştir. Sağlıklı durumlarda görülen bu defensin salınımının, dokunun iç düzenini sağladığı ve kommensal bakterilere karşı bir yanıt niteliği taşıyarak fırsatçı enfeksiyonların önüne geçtiği düşünülmektedir.(2,7) Bu düşünceyi, normal koşullarda hBD-2 salınımı gözlenmeyen oral gingival epitel hücrelerinin, kommensal bir bakteri olan *Fusobacterium nucleatum* ile stimule edildiklerinde artan hBD-2 salınımı gösterdikleri çalışma desteklemektedir.(21)

Genel olarak yapılan çalışmalar derlendiğinde, enfeksiyon ve inflamasyonun hBD-2 ve hBD-3 salınımını etkilediği görülmektedir. hBD-1 ise bu durumdan etkilenmeden devamlı salınım göstermektedir.(2,21) Özellikle çok katlı hücre modellerinde hBD-2 ve hBD-3 salınımlarının bakteriyel inkübasyon zamanıyla korele olduğu tespit edilmiştir. Ancak yapılan *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda hBD-2 ve hBD-3'ün enfeksiyona bağlı salınım karakterlerinde farklılıklar görülmektedir.(2) Periodontitisli ve sağlıklı gingival biyopsiler üzerinde yapılan bir çalışmada, hBD-1, -3 mRNA seviyeleri iltihaplı dokularda daha düşük düzeyde bulunmuştur. Protein seviyeleri karşılaştırıldığında ise iltihaplı dokularda daha yüksek oranda tespit edilmiştir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.(126)

LL-37 esas olarak nötrofillerin sekonder granüllerinden salınım gösterir ve de HNP'ler ile birlikte birleşim epitelinin korunmasında görev alır.(7,8) Gürsoy ve ark.'nın(21) yaptığı ve insan deri keratinosit hücrelerinin kullanıldığı in-vitro çalışmada LL-37'nin epitel hücrelerinden de salındığı gösterilmiştir. Nötrofil fonksiyonlarında bozukluk yaratan ve düşük LL-37 salınımına sebep olan hastalıklar, genellikle periodontal bulguları ile de karakterizedir.(9) *Morbus Kostmann* sendromu olarak da bilinen HNP 1-3 ve LL-37 miktarında azalma ile karakterize, genetik bir hastalıkta özellikle genç bireylerde hızlı periodontal yıkımla karakterize klinik tablo hakimdir.(129) Başka bir genetik kökenli hastalık olan *Papillon-Lefevre* sendromunda ise, LL-37'nin öncü formunu katalizleyerek aktif formuna dönüşmesinde görev alan katepsin C isimli lizozomal proteazın üretimdeki bozukluk nedeniyle LL-37 salınım ve fonksiyonlarındaki azalmalarla beraber şiddetli periodontal yıkım gözlemlenebilir.(130)

İnsan gingival biyopsileri üzerinde yapılan çalışmalarda, iltihaplı dokularda artan LL-37 yanıtı tespit edilmiştir.(24,131) Bu sonuçlara göre, LL-37'nin inflamatuvar göstergeler ile korele olarak artış gösterdiği izlenmektedir. Ancak bu artan LL-37 miktarının fonksiyonel olarak aktif veya pasif formda olduğunu belirleyen bir çalışma yoktur.

2.6 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM), insülin yapımının yetersizliğine ve/veya insülin kullanımına karşı direnç oluşmasına yol açan bir dizi etyolojik faktör nedeniyle karbonhidrat metabolizmasında meydana gelen değişikliklerle karakterize heterojen bir hastalıktır. İnsülin, pankreasın langerhans adacıklarında bulunan, β hücrelerinden sentezlenen bir polipeptiddir. Suda çözünebilir bir molekül olduğundan kan ve ekstrasellüler sıvılarda dolaşır, belirli dokularda hücrelerin plazma membranları üzerindeki reseptörlere bağlanarak sinyal iletimine başlar. Milisaniyeler içinde gerçekleşen reaksiyonlar hücresel anabolik cevaplara yol açar. İnsülin protein, trigliserid (TG) ve glikojen formlarında makrobesin depolanmasını yöneten temel hormondur. Proteogenez, lipogenez ve glikojenez arttırırken proteolizis, lipolizis, glikoneojenez ve glikojenolizisi baskılar. Açlık esnasında β hücrelerinden günde 10 ünite insülin salınırken, beslenmenin normal olduğu bir günde yaklaşık 40 ünite

insülin salınır. İnsülin sekresyonu DM hastalarında bozulmuştur. DM'ye yol açan tüm faktörler sonuç olarak bu hastalığın işareti olan hiperglisemiye neden olmaktadır.(26,132) DM sınıflandırması Ulusal Diabet Bilgi Grup'u (*National Diabetes Data Group*) tarafından 1979 yılında tedavi yöntemlerine göre Tip 1 DM (insüline bağımlı), Tip 2 DM (insüline bağımlı olmayan) ve sekonder DM olarak yapılmıştır.(133) Amerikan Diabet Birliği ise 1997 yılında hastaların tedavilerinin herhangi bir safhasında insülin kullanımı olabileceğinden insülin kullanımının grupları belirlemede geçerli olmaması gerektiğini öne sürerek DM'nin etyolojik sınıflandırmasını Tip 1 DM, Tip 2 DM, diğer özel tipler ve gestasyonel DM olarak yapmıştır (Tablo 2.6.1).(134) DM toplumda en sık görülen endokrin sistemi hastalığıdır.(135) 2030 yılında ise dünyada 439 milyon DM hastası olacağı tahmin edilmektedir ve bu rakam dünya nüfusunun yaklaşık olarak %7.7'sini oluşturmaktadır.(136)

Tablo 2.6.1 Diabetes Mellitus'un etyolojik sınıflandırılması (134)

I. Tip 1 DM (β hücrelerinin yıkımı, insülin yetmezliği)
a. İmmun sistem kaynaklı
b. İdiopatik
II. Tip 2 DM
III. Diğer özel tipler
a. β hücre fonksiyonundaki genetik defektler
b. İnsülin fonksiyonundaki genetik defektler
c. Pankreas hastalıkları
d. Endokrinopatiler
e. İlaç- kimyasal maddeden kaynaklanan
f. İnfeksiyonlar
g. İmmün nedenli DM'nin az rastlanılan tipler
h. DM ile ilişkilendirilebilen sendromlar
IV. Gestasyonel DM

2.6.1. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM diabetin en sık görülen formudur ve genellikle 40 yaş ve üzeri hastalarda izlenir.(137) Tip 1 DM'de gözlenen klinik semptomların aniden ortaya çıkması Tip 2 DM'de gözlenmemektedir. Dolayısıyla bazı Tip 2 DM hastaları hastalıklarının farkında olmaksızın yıllarca yaşayabilirler. Bazı hastalar ise poliüri, polidipsi, sıklıkla kilo kaybı, zayıflık, yorgunluk, nadiren de polifaji semptomlarını gösterirler.(26) Tip 2 DM'nin patofizyolojisi Tip 1 DM'den farklıdır. Etyolojisi tam olarak bilinmese de Tip 1 DM'de olduğu gibi β hücrelerinin otoimmün yıkımı gözlenmemektedir. Bununla beraber Tip 2 DM'de α hücrelerinin sayıca artışı izlenir ve vücutta glukagon miktarı yükselir. Ayrıca özellikle kaslarda insüline karşı direnç gözlenir, pankreastan insülin salgılanması azalır ve karaciğer glukoz üretimi artar. Bu düzensizliklerin sonucu Tip 1 DM'de olduğu gibi hiperglisemidir.(138) Tip 2 DM'de izlenen insüline karşı direncin esas olarak genetik, metabolik ve çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıktığı ve en sık rastlanılan nedeninin obezite ve iç organlarla ilgili obezite (*visceral obesity*) olduğu kabul edilmektedir.(139) Tip 2 DM hastalarının büyük çoğunluğu obezdir ve bu hastalarda hiperinsülinemi ile başlayan ve insüline karşı direnç ile sonuçlanan bir süreç izlenmektedir. İnsüline karşı direnç oluşan bireylerde eğer β hücreleri artan insülin ihtiyacını karşılamakta yetersiz kalırsa Tip 2 DM ortaya çıkmaktadır.(140) Ailesel geçiş özellikleri ve konkordansın neredeyse %100 olduğu ikiz deneyleri Tip 2 DM'nin güçlü genetik determinantlara sahip olduğunu göstermektedir.(141)

2.6.2. Diabetes Mellitus'ta Kullanılan Tanı Yöntemleri

DM tanısında kullanılan en önemli yöntem hastanın kan glukoz düzeyinin izlenmesidir. Bu amaçla kullanılan klasik yöntemler açlık kan glukoz seviyesi tespiti, glukoz yüklemesini takiben venöz plazma glukoz konsantrasyon testi, oral glukoz tolerans testi (OGTT) ve glikolize hemoglobin testidir.(142) 2001 yılında Amerikan Diabet Birliği en geçerli laboratuvar teşhis parametrelerini belirlemiştir.(143) Bu bildiriye göre;

1- DM semptomlarının yanısıra rastgele ölçülen glukoz konsantrasyonunun \geq 200 mg/dl olması durumunda DM teşhisi konulabilir. Rastgele ölçüm son yemekten sonra geçen zaman dikkate alınmaksızın ölçüm yapılmasıdır.

2- Açlık kan glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dl olması durumunda DM teşhisi konulabilir. Açlık, bireyin en az 8 saattir hiç kalori almaması olarak tanımlanır.

3- OGTT'de ise bireyin en az 10 saat kalori almamasından sonra açlık kan şekeri ölçümü yapılır, suda çözülmüş 75 gram anhidroz glukoz alımından sonra 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda plazma glukoz seviyesi ölçülür. DM teşhisinin konulması için 120. dakikada plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl olması gereklidir.

Açlık kan glukoz düzeyinin ≥ 110 ve < 126 mg/dl olması zarar görmüş açlık kan düzeyi, OGTT esnasında 120. dakikada kan glukoz düzeyinin ≥ 140 ve < 200 mg/dl olması ise zarar görmüş glukoz toleransı olarak tanımlanır. Bu terimler hastanın normal glukoz toleransı ile DM arasında bir metabolik safhada olduğunu gösterir.(143) Bu tablo hastada retinopati ve nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonların gözlenmemesi ile DM'den ayrılır. Ancak makrovasküler komplikasyon gelişme olasılığı normal insanlardan daha fazladır. Açlık ve rastgele plazma glukoz testleri ve OGTT kan örneği alındığı andaki gliseminin değerini gösterir.(144)

2.6.2.1 Glikolize Hemoglobin Testi (HbA1c)

Bu parametre daha geniş zamandaki glisemik durumun değerlendirilmesine yardımcı olabilmektedir.(145) Kırmızı kan hücrelerinin hemolize edilmesi ile hemoglobin A (HbA)'nın minör komponentleri tanımlanmıştır. HbA1 bu minör komponentlerden biri olup, normal insanlardaki hemoglobinin %6'sını oluşturur. HbA1c ise bu minör komponentlerin üçte ikisini oluşturup hiperglisemi varlığında miktarı artmaktadır. HbA1c oluşturmak için glukoz HbA molekülüne bağlanıp bir Schiff bazı olan aldimine, daha sonra da amadori reaksiyonları ile ketoamine dönüşür. Glikolizasyon sürekli devam eder, dolayısıyla HbA1c, kırmızı kan hücrelerinin yarı ömrü olan 30-90 günün kan glukoz seviyesi hakkında bilgi verir.(145,146) Ayrıca diğer klasik test yöntemlerinde hastanın kurallara uyumluluğu son derece önemli olup test sonuçlarını etkileyebiliyorken HbA1c ölçümünde bu problem ortadan kalkmaktadır. DM hastalarının HbA1c seviyeleri %7'nin altında tutulmaya çalışılmalıdır.(142)

Plazma glukoz seviyesi değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir metod ise idrar glukoz düzeyinin belirlenmesidir. Bu yöntem uzun yıllar kullanılsa da yeterli derecede duyarlı olmaması nedeniyle artık tercih edilmemektedir.(138)

2.6.3. Diabetes Mellitus Hastalarında Gelişen Komplikasyonlar

DM hastalarında ortaya çıkan komplikasyonlar akut ve kronik olarak sınıflandırılır. Akut metabolik komplikasyonlar diabetik ketoasidoz, hiperosmolar nonketotik koma, laktik asidoz ve hipoglisemidir. Diabetik ketoasidoz hiperglisemi ve ketonemi ile karakterize, genellikle Tip 1 DM hastalarında ortaya çıkan tehlikeli bir komplikasyondur. Hiperosmolar nonketotik koma ise Tip 2 DM hastalarında izlenir.(26) İnsülinin keşfi ve gelişen tedavi yöntemleriyle DM hastalarının yaşam sürelerinin artması, kronik komplikasyonların giderek daha da önemli bir sorun olmasına yol açmıştır. DM hastalarında gözlenen mikrovasküler hastalıklar nefropati ve nöropatidir. Renal hastalıklar DM hastalarında görülen ölümlerin en önemli sebeplerinden biridir. Makrovasküler hastalıklar ise koroner, serebral ve periferik vasküler hastalıklardır. Makrovasküler hastalıklar DM hastalarında normal bireylere göre iki kat daha sıklıkla gözlenir. Koroner arterdeki komplikasyonlara sıklıkla rastlanılırken beyinin vertebrobasiler sistemini tutan hastalıklarda artış izlenmiştir. Periferik damarlardaki kan akımının yetersizliğinden dolayı kas iskemilerine ve ekstremitte kaybına rastlanabilir. Nöropati ise motor, duyu, kafa ve otonomik sinirleri tutar.(26,28,140)

DM’de gözlenen nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar, retinopati ve yara iyileşmesinde gecikme gibi klasik komplikasyonlara ek olarak periodontal hastalıkların diabetin altıncı klasik komplikasyonu olduğu öne sürülmektedir.(30)

2.7. Periodontal Hastalıklar ile Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki

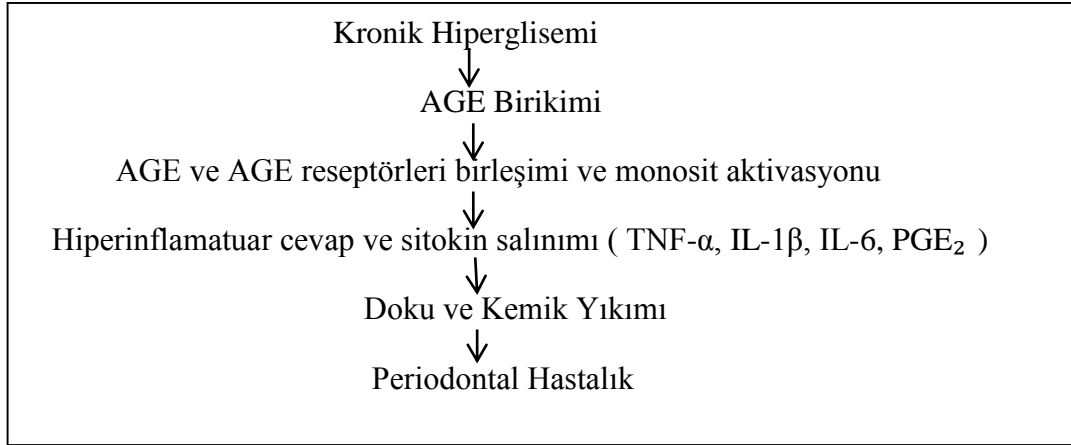
Literatürde periodontal hastalık ve DM arasındaki ilişkiyi kanıtlayan birçok çalışma mevcuttur.(147,148) Uluslararası epidemiyolojik ve klinik çalışmalara dayanarak periodontal hastalık prevalansı ve şiddetinin Tip-1 ve Tip-2 DM’a sahip olan hastalarda daha yüksek olduğu literatür tarafından kabul edilmiş bir gerçektir.(26,149) Tam ters yöndeki ilişki de yani periodontal durumun kötüleşmesinin glisemik kontrolü kötü yönde etkilediği de yapılan araştırmalar sonucunda rapor edilmiştir.(149,150)

Mevcut çalışmalarda, DM’nin gingivitis ve periodontitis için risk faktörü olduğunu gösteren güçlü kanıtlar vardır ve bu ilişkide en önemli belirleyici faktör glisemik kontrol seviyesidir.(35) DM’si olan çocuklarda zayıf glisemik kontrol, dişeti

iltihabını arttırabilirken, glisemik kontroldeki gelişme, dişeti iltihap şiddetinin azalması ile ilişkili bulunmuştur.(151,152) Cutler ve ark'nın (153) yaptığı bir çalışmada, Tip 2 DM'li erişkinlerde sağlıklı kontrollere göre dişeti iltihabının daha şiddetli olduğu rapor edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan büyük bir epidemiyolojik çalışmada ise zayıf kontrollü DM'a sahip bireylerin, DM'si olmayan sağlıklı bireylere oranla 2.9 kat daha fazla periodontitise sahip olma riski bulunduğu, kontrollü DM olan hastalarda ise periodontitise sahip olma riskinde önemli bir artış olmadığı gösterilmiştir.(154) DM ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi kanıtlayabilecek pek çok olası mekanizma mevcuttur. Bu mekanizmalar arasında:(27,35)

- bakteriyel etkileşimler,
- kollajen metabolizmasındaki farklılıklar,
- yara iyileşmesindeki gecikme,
- lipit metabolizmasında izlenen değişiklikler,
- vasküler değişiklikler,
- PMNL fonksiyonlarındaki bozukluklar ve
- AGE sayılabilir.

İltihabi medyatörlerin üretiminin artması ile karakterize iltihabi yanıtın belirginleşmesi bu mekanizmaların ortak teması olarak belirtilmiştir.(155) Soskolne ve ark.(156) DM - periodontitis ilişkisi ile ilgili olarak DM sonucu oluşan hiperglisemi ve hiperlipidemi ile ortaya çıkan metabolik değişikliklerin bakteri kaynaklı periodontitisi indüklediğini ya da genlerin kombinasyonu sonucu ve bir dizi çevresel faktörlerin etkisi ile hastada hem DM hem de periodontitis oluşabileceğini savunan iki hipotez öne sürmüştür.(157) DM ile periodontitis ilişkisinde her iki varsayımın da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Hipergliseminin oral hastalık gelişimi üzerine etkisi Şekil 2.7.1'de özetlenmiştir.



Şekil 2.7.1 Hipergliseminin Oral Hastalık Gelişimi Üzerine Etkisi (157)

2.8 Antimikrobiyal Peptidler ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki

Bugüne kadar DM'nin defensin ve katepsinin salınım ve fonksiyonu üzerindeki etkisi ile ilgili limitli bilgi mevcuttur. Lan ve ark.(40,41) yaptıkları in-vitro hücre kültürü çalışmalarında, hiperglisemik ortamın hBD-2 ve hBD-3 üzerindeki etkilerini incelemiş ve bu iki molekülün hiperglisemik ortamdaki salınımlarının suboptimal düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Bu durumun keratinosit hücrelerindeki STAT-1 sinyal regülasyonundaki azalmaya bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir.(40,41) Bu bulgulara zıt bir şekilde, insan embriyolojik böbrek ve insan mezenşimal hücreleri kullanılarak yapılan diğer in-vitro çalışmalarda ise hiperglisemik kültüre sahip ortamda artan defensin salınımı tespit edilmiştir.(42,43) Diabetik ratların kullanıldığı bir başka çalışmada ise rBD-1, rBD-2, rat toll-like reseptör-2 (rTLR2) ve rTLR4 seviyeleri böbrek, akciğer, karaciğer ve beyin dokularında karşılaştırılmış ve akciğer dokusunda diabet ile artış gösteren rBD-2 salınımı gözlenmiştir. Diğer dokularda ise diabetik ve kontrol denekleri arasında fark bulunmamıştır.(158) Hiperglisemi ile artan AGE miktarının, pro-inflamatuar gen üretiminde ve aynı zamanda antimikrobiyal peptidlerin de üretiminde görevli NF-κB sinyal yolağını tetikleyerek, defensin miktarında artışa sebep olabileceği düşünülmektedir.(158) Başka bir çalışmada ise antimikrobiyal peptid salınımlarında rolü olan başka bir sinyal yolağı olan p38 mitojen aktive edici fosfat kinaz (p38 MAPK)'ın hiperglisemik ortamda artan AGE miktarına bağlı olarak geçici artışı gözlenmiştir.(159)

Diabetik gingival dokulardaki defensin ve katherisidin salınım ve lokalizasyonlarının tanımlanması, multifonksiyonel görevleri olan ve başlangıç immüniteden kazanılmış immüniteye geçişte önemli bir ara basamak olan bu moleküllerin periodontal patogenezdaki rollerinin netleştirilmesinde ve diabet - periodontal hastalık arasında gözlenen çift taraflı ilişkinin daha iyi anlaşılmasında yardımcı olabilir.

3. BİREYLER VE YÖNTEMLER

Bu çalışma üç ana grup üzerinde gerçekleştirildi. Bu gruplar:

Grup I : Tip 2 DM teşhisi olan kronik periodontitis hastaları,

Grup II : Sistemik olarak sağlıklı kronik periodontitis hastaları ve

Grup III : Hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireylerdir.

Çalışma öncesi Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu'ndan LUT 12 : 129/22 dosya numarası ile gerekli olan proje onayı alındı.

3.1. Klinik Çalışmalar

3.1.1. Çalışma Gruplarının Seçimi

Çalışma gruplarını, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran sistemik açıdan sağlıklı kronik periodontitis hastaları, periodontal tedavi gereksinimi olan sistemik açıdan takip ve tedavileri devam eden Tip 2 DM teşhisi konulmuş hastalar ve hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireyler oluşturdu. Son altı ay içerisinde herhangi bir antiinflamatuvar ilaç veya antibiyotik kullanan, yine son altı ay içerisinde herhangi bir tip periodontal tedavi geçiren, hamile olan veya emzirme döneminde bulunan bireylerle, Tip 2 DM grubunda DM dışında başka bir sistemik hastalığı olan veya hipertansiyon dışında kardiyovasküler, renal ve / veya hepatik sistemlerinin birinde komplikasyon gelişmiş olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya katılan tüm bireyler projenin amacı ve yöntemleri hakkında bilgilendirildi ve onayları alındı.

Kronik Periodontitisli Tip 2 DM Hastaları Grubu (T2DM+GP)

Çalışmaya klinik ve radyografik muayeneler sonucunda kronik periodontitis teşhisi konulan, Tip 2 DM teşhisi konulmuş olan yaş ortalaması 52.5 ± 9.0 (39-66 yaşları arasında) olan 6 kadın, 8 erkek toplam 14 hasta dahil edildi. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontal sorunları nedeniyle sevk edilen hastalardan yaş, cinsiyet, DM süresi, açlık kan şekeri düzeyleri ve HbA1c profillerini içeren detaylı bir anamnez alındı ve klinik muayeneleri gerçekleştirildi. Hemoglobin A1c değeri $\geq 6.5\%$ ve hızlı plazma glukoz değeri ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olan hastalar Tip 2 DM'li olarak kabul edildi.(160)

Bu gruba katılan tüm hastalarda periodontitis teşhisi, hastaların ≥ 4 dişlerinin dahil olduğu, ≥ 1 alan tutulumunun gözleendiği, sondlama derinliklerinin ≥ 3 mm ve klinik ataçman seviyeleri ≥ 3 mm olan, sondlamada kanamanın gözleendiği ve ortopantomogram radyograflarda kemik kaybı bulgusunun olduğu hastalara, bu koşullara dikkat edilerek konuldu.(20) Örnekleme bölgesinde herhangi bir restorasyon olmaması klinik kriterler olarak göz önüne alındı.

Sistemik Açıdan Sağlıklı Kronik Periodontitis Grubu (GP)

Bu gruba yaş ortalaması 51.8 ± 5.8 (45-64 yaşları arasında) olan 5 kadın 6 erkek toplam 11 hastada dahil edildi. Bu gruba katılan tüm hastalarda periodontitis teşhisi, hastaların ≥ 4 dişlerinin dahil olduğu, ≥ 1 alan tutulumunun gözleendiği, sondlama derinliklerinin ≥ 3 mm ve klinik ataçman seviyeleri ≥ 3 mm olan, sondlamada kanamanın gözleendiği ve ortopantomogram radyograflarda kemik kaybı bulgusunun olduğu hastalara, bu koşullara dikkat edilerek konuldu.(20) Örnekleme bölgesinde herhangi bir restorasyon olmaması klinik kriterler olarak göz önüne alındı. Hastaların seçiminde ailelerinde DM hikayesi olmamasına dikkat edildi. Hemogloblin A1c değeri $\geq 6.5\%$ ve hızlı plazma glukoz değeri ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olan bireyler çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol Grubu (K)

Bu gruba sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı, yaş ortalaması 26.5 ± 10.9 (18-57 yaşları arasında) olan 7 kadın, 6 erkek toplam 13 birey katıldı. Bireylerin periodontal olarak hiçbir inflamasyon bulgusuna sahip olmamalarına ve sondlama derinliklerinin ≤ 3 mm olmasına dikkat edildi. Bu gruptaki bireyler protetik amaçlı kron yükseltme operasyonu ihtiyacı olan veya ortodontik nedenle çekim endikasyonu konulan dişlere sahip olan hastalardan seçildi. Ayrıca ailelerinde DM hikayesi olan ve/veya hemogloblin A1c değeri $\geq 6.5\%$ ve hızlı plazma glukoz değeri ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olan bireyler çalışma dışı bırakıldı.

3.1.2. Hastaların Periodontal Durumlarının Değerlendirilmesi

Periodontal Cep Derinliği (SD): Çalışmaya katılan tüm bireylerin SD ölçümleri Williams periodontal sondu kullanılarak her dişte meziobukkal, bukkal,

distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual olmak üzere altı ayrı noktadan milimetrik olarak yapıldı. Ölçüm sırasında sondun herhangi bir basınç uygulamaksızın kendi ağırlığı ile dişlerin uzun eksenine paralel olarak cep içinde konumlanmasına dikkat edildi. Her diş için alınan altı değer aritmetik ortalaması o diş için SD değeri olarak alındı. Ölçüm yapılan dişlerin SD'leri toplamı, ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek o hasta için ortalama SD değeri hesaplandı.

Klinik Ataçman Düzeyi (KAD): Bireylerde, klinik ataçman düzeyi (KAD) değerleri periodontal sond kullanılarak sulkus tabanı ile mine-sement sınırına kadar olan mesafe ölçülerek saptandı. Ölçümler meziobukkal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual olarak altı noktadan yapıldı. Her diş için ölçülen altı değer aritmetik ortalaması, o diş için KAD olarak alındı. Tüm dişlerin KAD değerleri toplamı, toplam diş sayısına bölünerek, her birey için ortalama KAD değeri hesaplandı.

Dişeti İltihabı: Çalışmaya katılan bireylerde dişeti durumunun klinik olarak değerlendirilmesinde Gingival İndeks (Gİ) kullanıldı.(161) Bu indekse göre:

- 0- Sağlıklı dişeti
- 1- Hafif iltihap, hafif renk değişikliği ve hafif ödem varlığı ve sondlamada kanama yok.
- 2- Orta derecede iltihap, kırmızılık, ödem ve sondlamada kanama
- 3- Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem, ülserasyon ve spontan kanama eğilimini göstermekteydi.

Her hasta için plak indeksi değerleri aşağıda belirtilen formül ile belirlendi.

$$G\dot{I} = \frac{\text{Tüm dişlerdeki G\dot{I} toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı toplamı}}$$

Bakteri Placı: Plak varlığı ve miktarı Loe'nin Plak İndeksi (Pİ) ile belirlendi.(161) Bu indekste:

- 0- Dişeti bölgesinde plak yok.
- 1- Serbest dişeti kenarı ve komşu dil yüzeyinde film halinde sadece sond yardımı ile fark edilebilen plak varlığı.
- 2- Dişeti cebi içerisinde ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde gözle görülür yumuşak eklenti varlığı.
- 3- Dişeti cebi ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde yoğun yumuşak eklenti varlığını göstermekteydi.

Her hasta için plak indeksi değerleri aşağıda belirtilen formül ile belirlendi.

$$PI = \frac{\text{Tüm dişlerdeki PI değerleri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı toplamı}}$$

Dişeti Kanaması:

Sondlamada meydana gelen dişeti kanamasının değerlendirilmesinde Nowicki ve diğerlerinin(162) tanımlamış olduğu Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ) kullanıldı. Bu indekste dişetin sond ile uyarılmasından sonra oluşan kanama kaydedildi. Eğer ilk uygulamadan sonra 15 sn. içerisinde kanama oluşmamış ise, işlem tekrarlanarak bir 15 sn. daha beklenildi. Tüm ağız ve örnekleme bölgesi ortalama değerleri ayrı ayrı hesaplandı. Bu indekste,

- 0- ilk ve ikinci stimülasyondan sonra kanama olmadığını,
- 1- İlk stimülasyondan sonra kanama olmadığını, ikinci stimülasyondan 6–15 sn. sonra kanama izlendiğini,
- 2- İlk stimülasyondan 11–15 sn. sonra ve ikinci stimülasyondan sonraki ilk 5 sn. içerisinde kanama izlendiğini,
- 3- İlk stimülasyondan sonra ilk 10 sn. içerisinde kanama izlendiğini,
- 4- Kendiliğinden kanama varlığını gösteriyordu.

3.2 Dişeti Dokusu Örneklerinin Elde Edilmesi

Dişeti doku örnekleri çalışmaya katılan tüm bireylerden alınan anamnez, aydınlatılmış onam ve periodontal indeks kayıtları ardından elde edildi. T2DM+GP ve GP'li hastalarda lokal anestezi altında uygulanan tam kalınlık flap operasyonu

sırasında sulkuler, internal bevel ve interproksimal insizyonlar ile ayrılan iltihabi dokular örnek olarak alındı. Kontrol grubunu oluşturan bireylerde ise anamnez, aydınlatılmış onam ve periodontal indeks kayıtlarından sonra, protetik amaçlı kron yükseltme operasyonları veya ortodontik nedenle çekim endikasyonu konulan dişlerden, lokal anestezi altında, sulkuler, internal bevel ve interproksimal insizyonlar ile ayrılan dişeti doku örnekleri elde edildi. Dokudaki antimikrobiyal peptid seviyelerinde değişiklik oluşmasını engellemek için dişeti doku örnekleri alınmadan önce herhangi bir periodontal tedavi uygulanmadı. Çalışmaya katılan tüm bireylerin gerekli periodontal tedavileri doku örnekleri alındıktan sonra tamamlandı.

3.2.1. Dişeti Dokusunun Histopatolojik Değerlendirmesi

Doku Takibi: Alınan dişeti dokuları tespit amacı ile makroskopi işlemi sırasında tamponlu formole konuldu. Kullanılan tamponlu formol NaCl (18 g), %37'lik saf Formol (200 ml) ve distile su (1800 ml) kullanılarak hazırlandı. Dokular yaklaşık 24 saat tamponlu formolde bekletildi ve tespit edildi. 24 saat sonunda doku takip işlemi başlatıldı. Doku takip işlemleri aşağıda belirtilen sıra ile yapıldı;

1- %80'lik Alkol	30 dk
2- %90'lık Alkol	30 dk
3- %90'lık Alkol	30 dk
4- %96'lık Alkol	30 dk
5- %96'lık Alkol	30 dk
6- Absolüte Ethanol	30dk
7- Absolüte Ethanol	30dk
8- Ksilen	30dk
9- Ksilen	30 dk
10- Ksilen-Parafin	30 dk
11- Parafin	30 dk
12- Parafin	30 dk

Altı saat süren takip işleminden sonra dokular parafin bloklara gömüldü.

3.2.2 Dokuların İmmünohistokimyasal Boyaması

Parafin bloklara gömülen dişeti doku örneklerinden, 5-µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal işlemler öncesinde doku kodlamaları yapıldı. Örnekler deparafinize edildi ve hBD-2 (Katalog numarası, AF2758 R&D Systems,

Minneapolis, ABD), hBD-3 (Katalog numarası, LS-B86 Life Span BioSciences Inc. Seattle, ABD), hCAP18/LL-37 (Katalog numarası, HM2070 Hycult Biotech, Uden, Hollanda), Sitokeratin (CK) -19 (Katalog numarası, MO888 Dako, Glostrup, Danimarka) için belirtilen boya ajanları kullanılarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. hBD-3, hCAP18/LL-37 ve CK-19 için otomatik immünboyama cihazı ile rutin prosedürler kullanılarak boyama işlemi tamamlandı (TechMate, Dako). Mikrodalga fırın aracılığı ile 5 dakika ara ile iki seferde 1mmol/L sitrat tampon (pH 6.0) solüsyon içerisinde antijen atımı gerçekleştirildi ve sonrasında endojen peroksidaz aktivitesi 3%'lük H₂O₂ ile bloke edildi. Primer antikorlar biyoışlenmiş sekonder antikorlar ile tespit edildi ve streptavidin-horseradish peroksidaz (HRP) ile birleştirilerek, HRP tamponunda bulunan 3,3'- diaminobenzidine tetrahydrochloride ile görünür hale getirildi. hBD-2 boyaması için düzenlenmiş parafin kesitleri deparafinize edildi. Rehidratasyondan sonra 3% hidrojen peroksit içeren deiyonize suda 10 dakika boyunca endojenöz peroksidaz aktivitesinin durdurulması için yıkama işlemi yapıldı. Kesitler daha sonra fosfat tamponlu salin solüsyonunda 3×5 dakika yıkılarak üzerlerindeki solüsyon dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı. Kesitler 4°C'de keçi kaynaklı poliklonal IgG antikor (1:500 konsantrasyonda) ile gece boyunca inkübe edildi. Ertesi gün kesitler PBS solüsyonunda yıkandı ve dikkatlice kurutuldu. Bu işlemten sonra sekonder antikor histofine ile oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edildi (Universal Immunoperoxidase Polymer Anti-Goat 17ml, Nichirei Biosciences Inc., Tokyo, Japonya). Kesitler PBS solüsyonu ile tekrar yıkayıp dikkatlice kurutulduktan sonra kromojen /substrat rejanı ile ve Mayer's hematoksilen ile boyandı (AEC + Substrate Chromogen Sensitivity, Dako). Son yıkamadan sonra, örnekler jel ile kaplanarak sabitleştirildi. Negatif kontrol örneklerinin immünohistokimyasal boyamasında primer antikor boya ajanları kullanılmadan tüm işlem basamakları aynı şekilde gerçekleştirildi.

3.2.3 İmmünohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyamaları gerçekleştirilen örnekler, bilgisayar destekli mikroskop bağlantılı (Leica DMLB, Leica) ve kırmızı-yeşil-mavi renk hassasiyetli video kamera eklentili imaj analiz sistemi ile incelendi (Leica DC 300V 2,0 Leica, Wetzlar, Almanya, 2088×1550 piksel). Yüksek çözünürlükte elde edilen kesit

görüntüleri $\times 40$ büyütmede incelendi. Kesitlerin morfolojik özelliklerinden ve birleşim epitelinin önemli göstergelerinden olan CK19 boyamalarından yararlanılarak, kesitlerin oral epitel ve sulkuler epitel tanımlamaları yapıldı. Bu tanımlamalara uygun olacak şekilde dokudan uygun alan seçildi. hBD2 immünohistokimyasal boyamasının yoğunluğu yarı-kuantitatif olarak üç ayrı grupta tanımlandı:

(-) Boyama görülmeyen hücreler grubu : Bu grubu sitoplazma ve çekirdeklerinde boyama gözlenmeyen hücreler oluşturdu.

(+) Zayıf veya orta boyanan hücreler grubu : Bu grubu sitoplazma veya çekirdekte boyama gösteren hücreler oluşturdu.

(++) Güçlü boyanan hücreler grubu : Bu grubu sitoplazma ve çekirdekte boyama gösteren hücreler oluşturdu.

hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamalarının yoğunlukları yarı-kuantitatif olarak iki ayrı grupta değerlendirildi:

(-) Boyama görülmeyen hücreler grubu : Bu grubu sitoplazma ve çekirdeklerinde boyama gözlenmeyen hücreler oluşturdu.

(+) Pozitif boyanan hücreler grubu : Bu grubu sitoplazma veya çekirdekte boyama gösteren hücreler oluşturdu.

Her doku kesiti için seçilen alanlarda belirtilen gruplara göre manuel olarak hücre sayımları yapıldı. Yapılan bu hücre sayımları üç kere tekrar edildi. Boyama yoğunluklarını değerlendirmek için pozitif boyanan hücre sayısı toplam hücre sayısına bölünerek, yüzde cinsinden sayısal değerler elde edildi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Gruplar arasındaki, hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyama derecelerinin farkı ve klinik periodontal, biyokimyasal parametreler, istatistiksel olarak ikili (paired) t-testi kullanılarak hesaplandı. Bu analizler SPSS 12.5 adlı bilgisayar programından faydalanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Gruplarının Tanımı

Araştırmamızda çalışma gruplarını Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran sistemik açıdan sağlıklı kronik periodontitis hastaları, periodontal tedavi gereksinimi olan sistemik açıdan takip ve tedavileri devam eden Tip 2 DM teşhisi konulmuş hastalar ve hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireyler oluşturdu. Son altı ay içerisinde herhangi bir antiinflamatuvar ilaç veya antibiyotik kullanan, yine son altı ay içerisinde herhangi bir tip periodontal tedavi geçiren, hamile olan veya emzirme döneminde bulunan bireylerle, Tip 2 DM grubunda DM dışında başka bir sistemik hastalığı olan veya hipertansiyon dışında kardiyovasküler, renal ve / veya hepatik sistemlerinin birinde komplikasyon gelişmiş olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grupları, klinik periodontal parametreler ve immünohistokimyasal boyamalar yönünden karşılaştırıldı ve anlamlı korelasyonlar incelendi.

4.2. Klinik Bulgular

T2DM+GP, GP ve K gruplarına ait klinik parametre değerleri üç grup arasında karşılaştırılmış, tüm gruplara ait klinik parametre değerleri ve tanımlayıcı istatistiksel veriler Tablo 4.2.1'de verilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen toplam 38 katılımcıdan yedisi sigara kullanmaktadır. Bunlardan biri T2DM+GP, ikisi GP ve dördü de kontrol grubunda bulunmaktadır.

SD: Örneklem bölgesi değerlerine bakıldığında ortalama SD değerleri T2DM+GP grubunda 4.77 ± 0.62 , GP grubunda 4.92 ± 0.63 , K grubunda ise 1.87 ± 0.35 mm olarak ölçüldü. T2DM+GP ve GP grubu SD değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p=0.63$) her iki grubun değerleri K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.2.1)

KAD: Örneklem bölgesinde ortalama KAD değerleri T2DM+GP grubunda 5.8 ± 1.12 , GP grubunda 6.19 ± 1.00 , K grubunda ise 1.87 ± 0.35 mm olarak belirlendi. T2DM+GP ve GP grubu KAD değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken

($p=0.49$) her iki grubun değerleri K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.2.1)

Gİ: Ortalama Gİ değerleri T2DM+GP grubunda 0.91 ± 0.21 , GP grubunda 1.00 ± 0.25 , K grubunda ise 0.43 ± 0.14 olarak saptandı. T2DM+GP ve GP grubu Gİ değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p=0.48$) her iki grubun değerlerinin K grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$) (Tablo 4.2.1)

Pİ: Örnekleme bölgesi değerlerine bakıldığında ortalama Pİ değerleri T2DM+GP grubunda 0.83 ± 0.21 , GP grubunda 0.96 ± 0.28 , K grubunda ise 0.43 ± 0.20 olarak gözlendi. T2DM+GP ve GP grubu Pİ değerleri arasında anlamlı bir fark saptanamazken ($p=0.29$) her iki grubun değerleri K grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.2.1)

DKZİ: Örnekleme bölgesine ait ortalama DKZİ değerleri T2DM+GP grubunda 2.60 ± 0.44 , GP grubunda 2.75 ± 0.36 , K grubunda ise 0.65 ± 0.58 olarak belirlendi. T2DM+GP ve GP grubu DKZİ değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamazken ($p=0.38$) her iki grubun değerleri K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. ($p<0.001$)(Tablo 4.2.1)

Toplam Diş Sayısı: Katılımcı ağızlarındaki ortalama diş sayısı değerleri T2DM+GP grubunda 21.25 ± 4.69 , GP grubunda 21.71 ± 3.14 , K grubunda ise 27.16 ± 1.28 olarak belirlendi. Toplam diş sayısı yönünden T2DM+GP ve GP grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p=0.84$) her iki grubun değerleri K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. ($p=0.001$) (Tablo 4.2.1)

Tablo 4.2.1 Çalışmaya Dahil Edilen Bireylere Ait Klinik Parametre Değerleri ve Tanımlayıcı İstatistiksel Veriler

	T2DM+GP (n=14)	GP (n=11)	KONTROL (n=13)	p değeri		
				T2DM+GP-GP	T2DM+GP-Kontrol	GP-Kontrol
Yaş (yıl, ort ± st.sap)	52.5 ± 9.0	51.8 ± 5.8	26.5 ± 10.9	0.85	p<0.001	p<0.001
Cinsiyet (erkek cinsiyeti, %)	50%	57%	46%	0.77	0.77	0.78
SD (mm, ort±st.sap)	4.77 ± 0.62	4.92 ± 0.63	1.87 ± 0.35	0.63	p<0.001	p<0.001
KAD (mm, ort ± st.sap)	5.81 ± 1.12	6.19 ± 1.00	1.87 ± 0.35	0.49	p<0.001	p<0.001
Gİ (ort ± st.sap)	0.91 ± 0.21	1.00 ± 0.25	0.43 ± 0.14	0.48	p<0.001	p<0.001
Pİ (ort ± st.sap)	0.83 ± 0.21	0.96 ± 0.28	0.43 ± 0.20	0.29	p<0.001	p<0.001
DKZİ (ort ± st.sap)	2.60 ± 0.44	2.75 ± 0.36	0.65 ± 0.58	0.38	p<0.001	p<0.001
TOPLAM DİŞ (n, ort ± st.sap)	21.25 ± 4.69	21.71 ± 3.14	27.16 ± 1.28	0.84	p<0.001	0.003

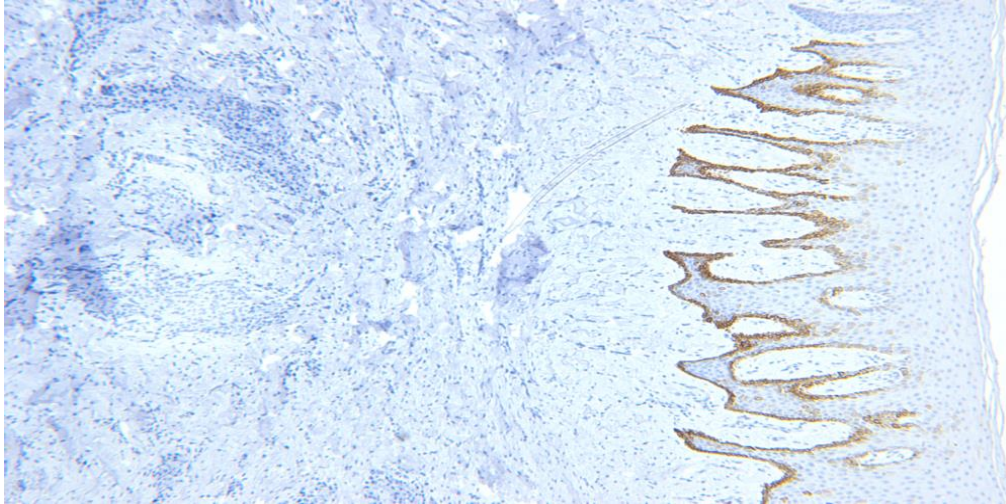
T2DM+GP grubunda ortalama diabet süresi 8.08 ± 6.09 yıldır. Bu gruptaki katılımcıların ortalama kan glukoz değerleri 165 mL/dl iken ortalama HbA1c değerleri 7.91%'dir. (en düşük: 6.25%- en yüksek 8.6%) (Tablo 4.2.2) T2DM+GP grubunu oluşturan 14 katılımcıdan, iki tanesi DM tedavisi için intramuskuler insülin enjeksiyonu kullanılırken diğer katılımcılar, oral hipoglisemik ilaç tedavisi altındadır.

Tablo 4.2.2 T2DM+GP Grubuna Ait Bireylerin Klinik DM Bulguları

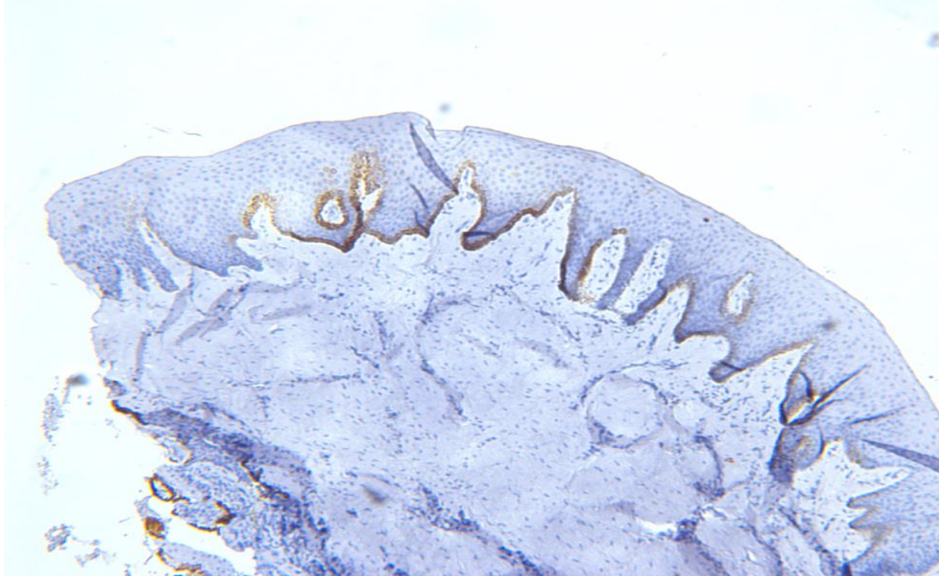
Diabet Süresi Yıl	Kan Glukoz Değeri mL / dl	HbA1c %
(Ort \pm st.sap)	(Ort \pm st.sap)	(Ort \pm st.sap)
8.08 ± 6.09	165 ± 35.20	7.91 ± 1.62

4.3 Konvansiyonel Histoloji ve İmmünohistokimyasal Bulguları

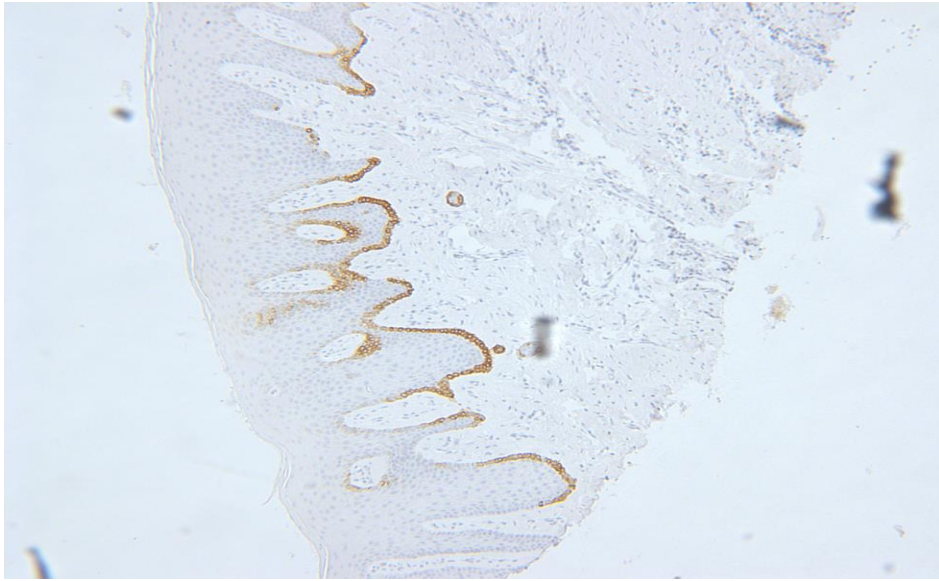
Çalışmaya dahil olan katılımcılardan elde edilen gingival biyopsilerde CK19, hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları yapıldı. CK-19 immünohistokimyasal boyamalarında T2DM+GP, GP ve kontrol gruplarında birleşim epiteli lokalizasyonunda pozitif boyama elde edildi. (Resim 4.3.1, Resim 4.3.2, Resim 4.3.3)



Resim 4.3.1 T2DM+GP Grubuna ait CK-19 Boyaması ($\times 40$ Büyütme)

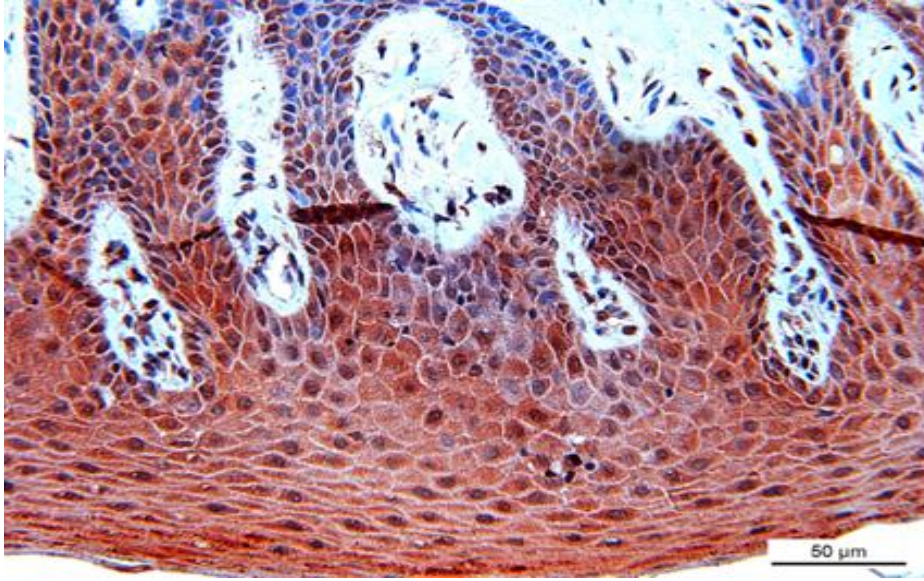


Resim 4.3.2 GP Grubuna ait CK-19 Boyaması ($\times 40$ Büyütme)

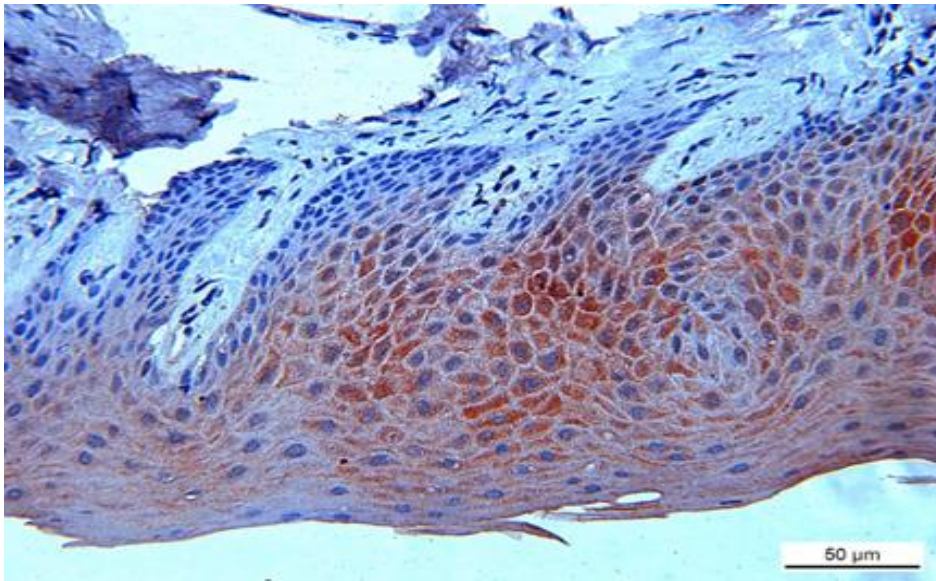


Resim 4.3.3 Kontrol Grubuna ait CK-19 Boyaması ($\times 40$ Büyütme)

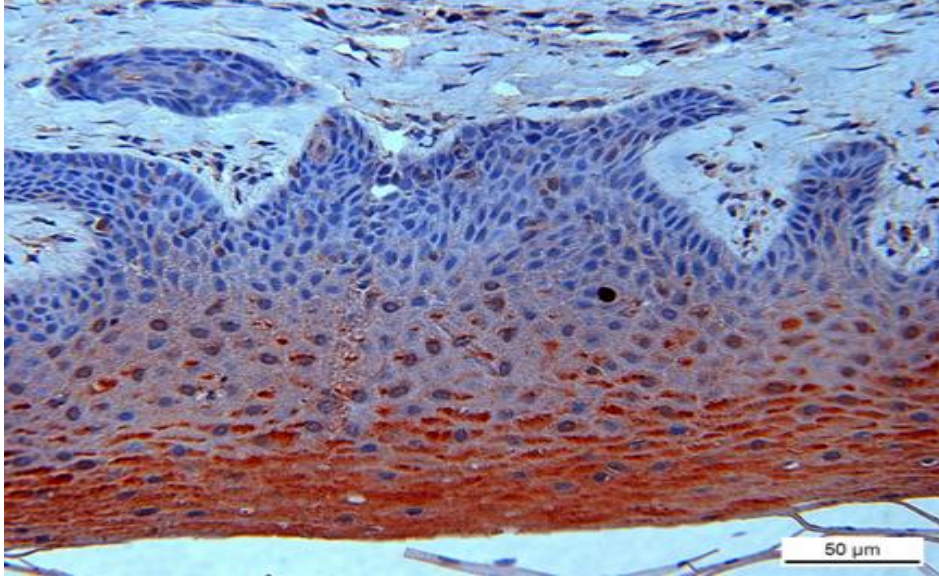
T2DM+GP ve GP gruplarında hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 için yapılan boyamalar tüm epitel katmanlarında yoğun bir şekilde gözlemlendi. (Resim 4.3.4, Resim 4.3.5, Resim 4.3.7, Resim 4.3.8, Resim 4.3.10, Resim 4.3.11.) Kontrol grubunda ise, hBD-2 immünohistokimyasal boyaması epitelin süperfisial tabakasında daha yoğun lokalize olurken, aynı grubun hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları epitelin bazal tabakasında daha yoğun bir şekilde izlendi. (Resim 4.3.6, Resim 4.3.9, Resim 4.3.12.)



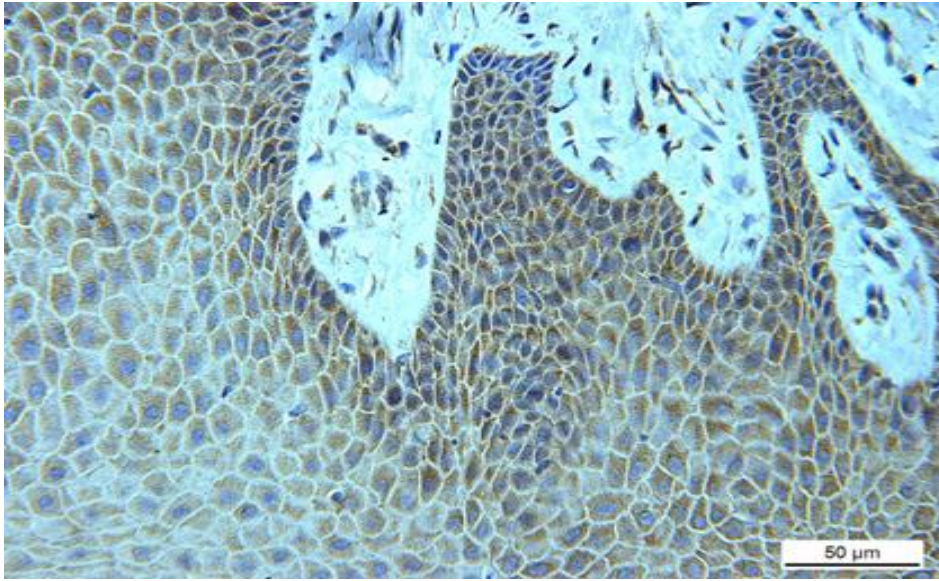
Resim 4.3.4 T2DM+GP Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)



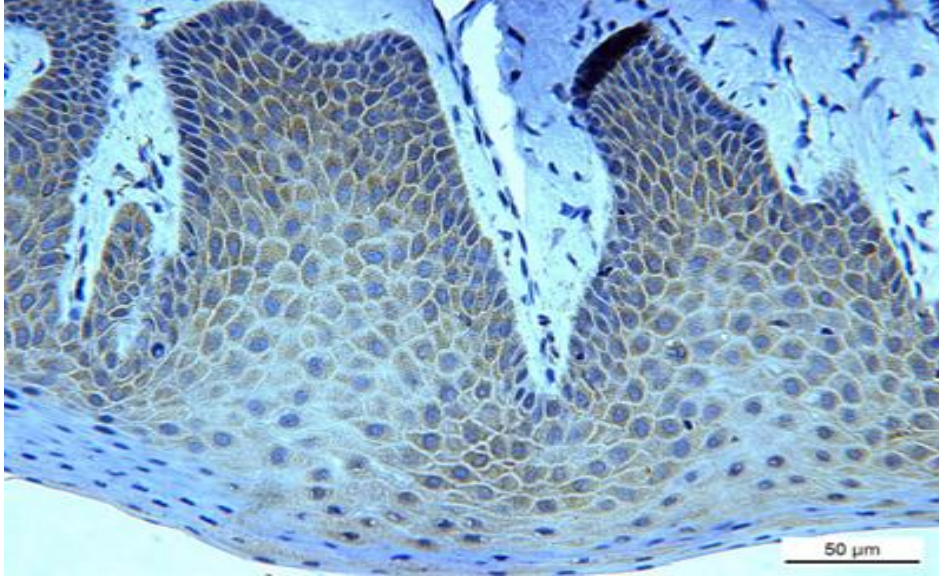
Resim 4.3.5 GP Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)



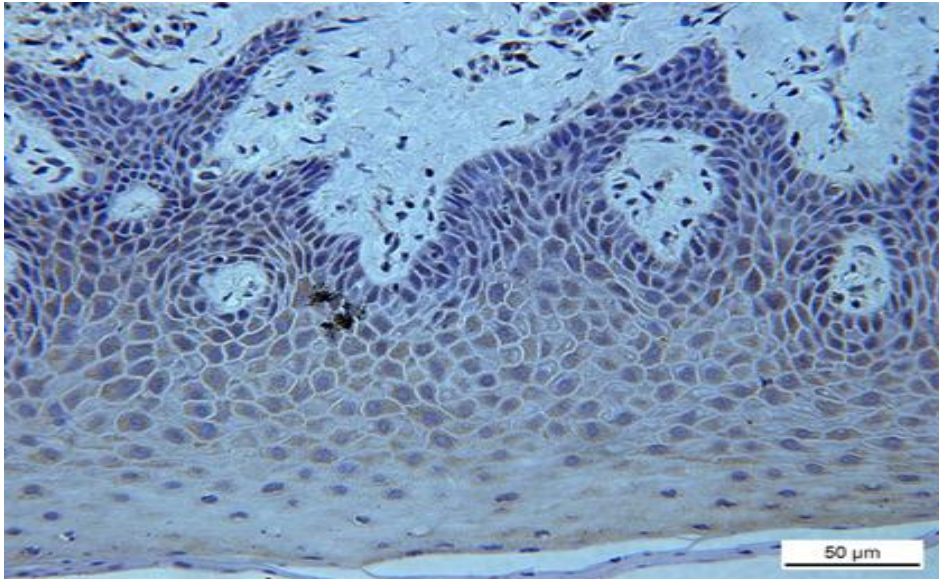
Resim 4.3.6 Kontrol Grubuna ait hBD-2 Boyaması (*40 Büyütme)



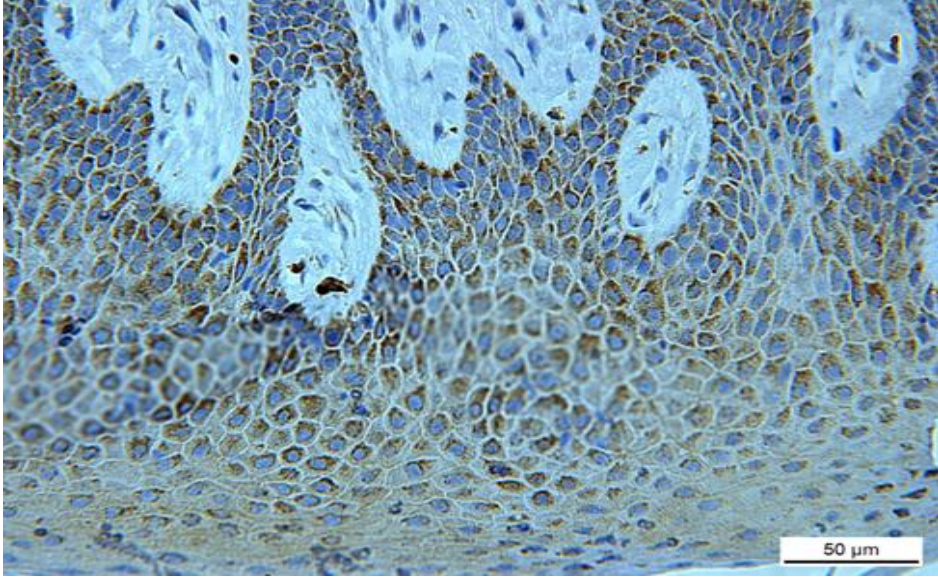
Resim 4.3.7 T2DM+GP Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)



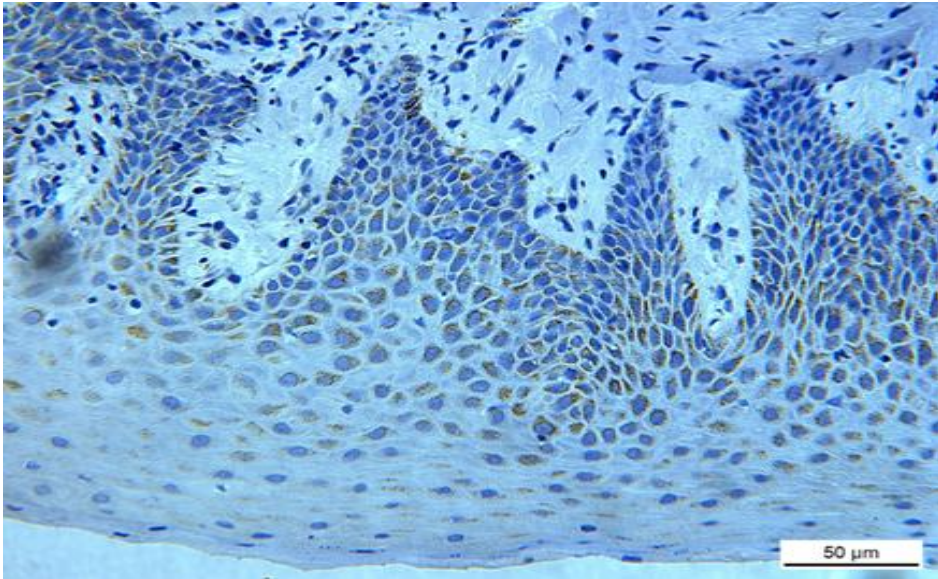
Resim 4.3.8 GP Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)



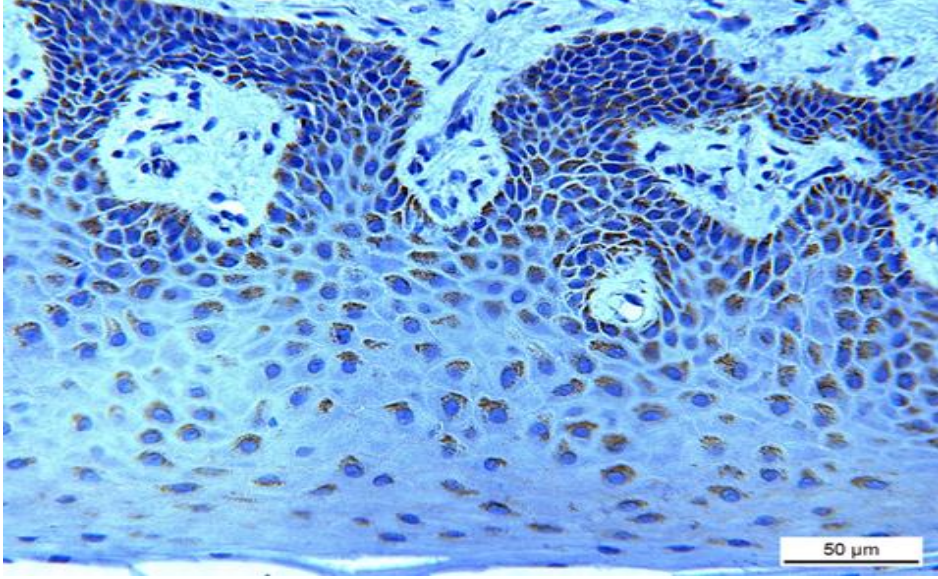
Resim 4.3.9 Kontrol Grubuna ait hBD-3 Boyaması (*40 Büyütme)



Resim 4.3.10 T2DM+GP Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)

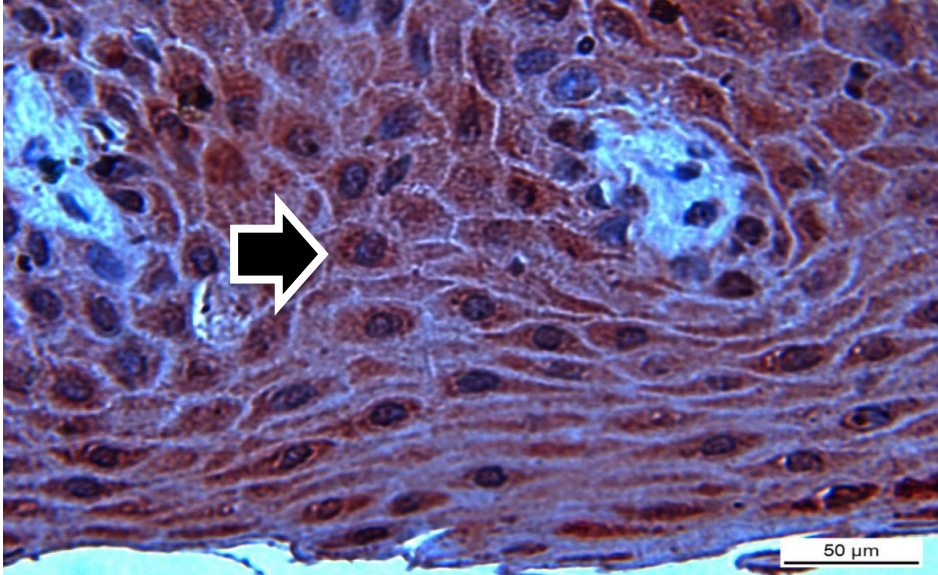


Resim 4.3.11 GP Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)

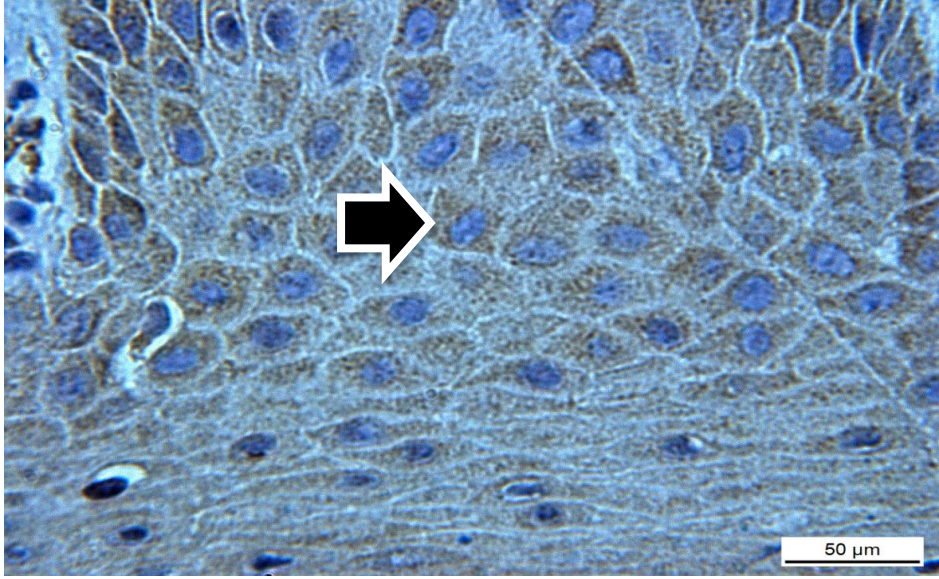


Resim 4.3.12 Kontrol Grubuna ait hCAP18/ LL-37 Boyaması (*40 Büyütme)

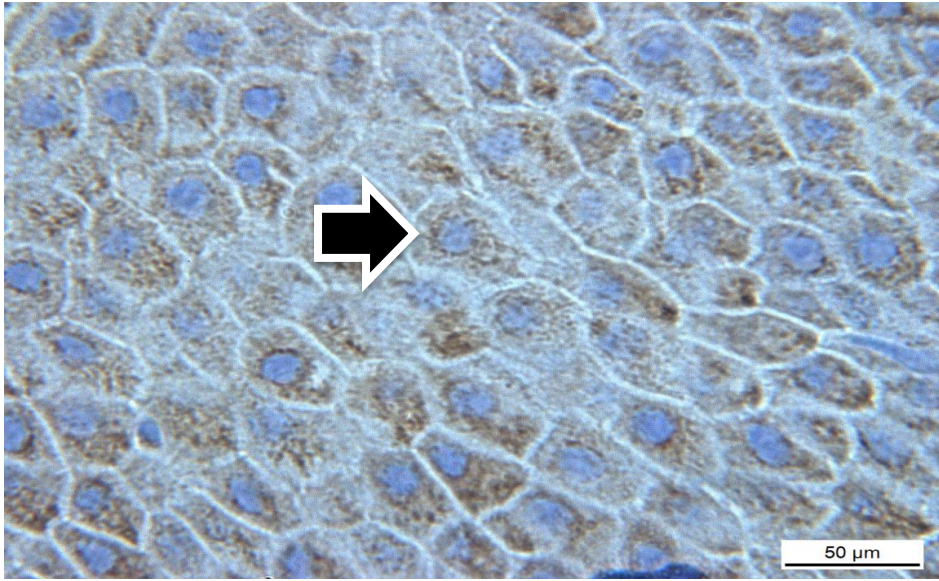
hBD-2 boyamaları, hücrelerin çekirdek ve sitoplazmalarında gözlenirken, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları hücrelerin sitoplazma seviyesinde tespit edildi. (Resim 4.3.13, Resim 4.3.14, Resim 4.3.15)



Resim 4.3.13 hBD-2 Örneklerindeki Hücre ve Sitoplazma Boyanmaları

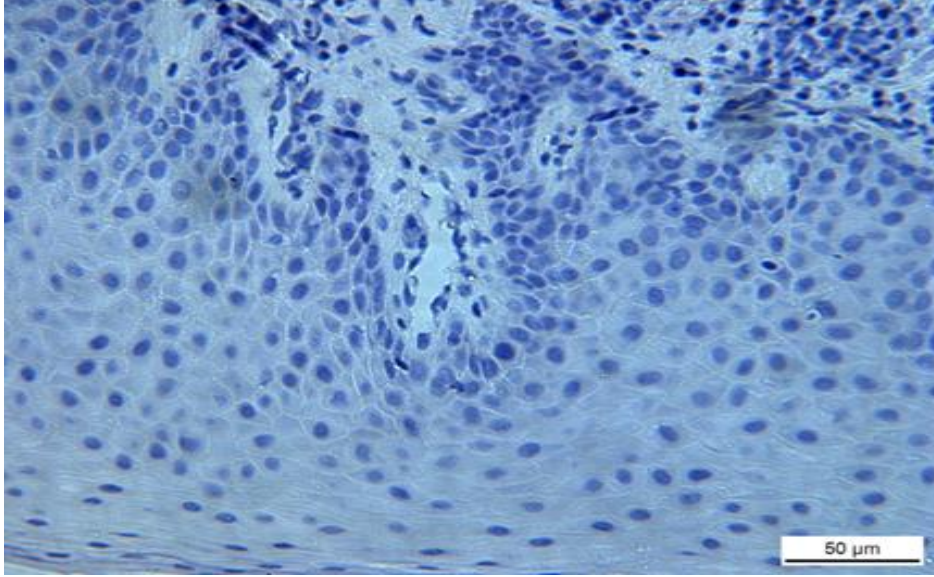


Resim 4.3.14 hBD-3 Örneklerindeki Sitoplazma Boyanmaları

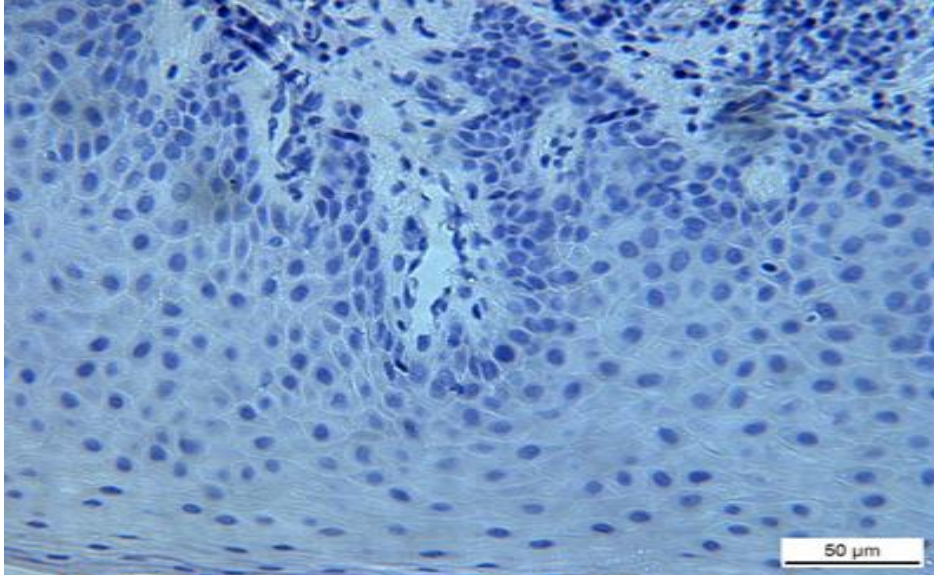


Resim 4.3.15 hCAP18/ LL-37 Örneklerindeki Sitoplazma Boyanmaları

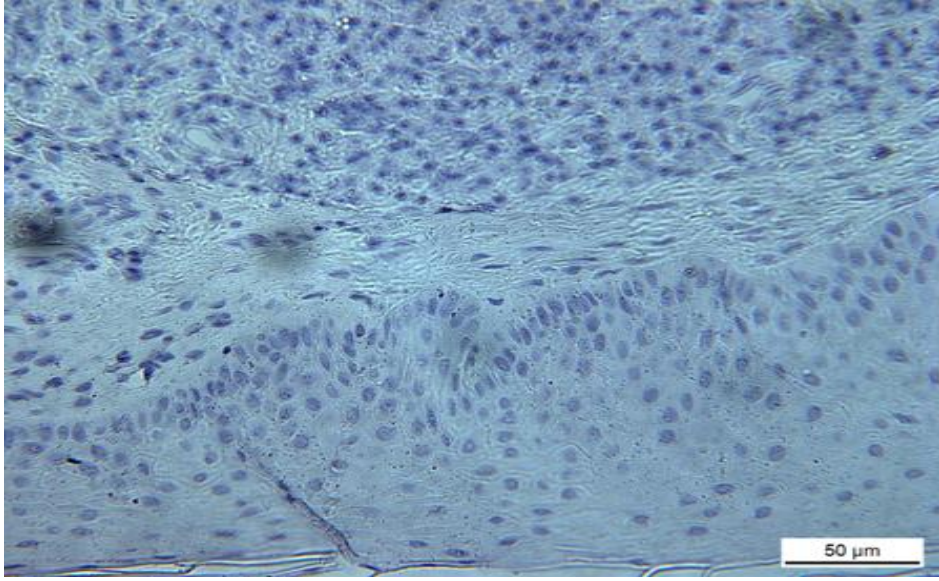
Tüm doku örnekleri için, primer antikolar kullanılmadan gerçekleştirilen negatif kontrol boyamalarında herhangi bir boyanma gözlenmedi. (Resim 4.3.16, Resim 4.3.17, Resim 4.3.18)



Resim 4.3.16. hBD-2 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği (*40 Büyütme)

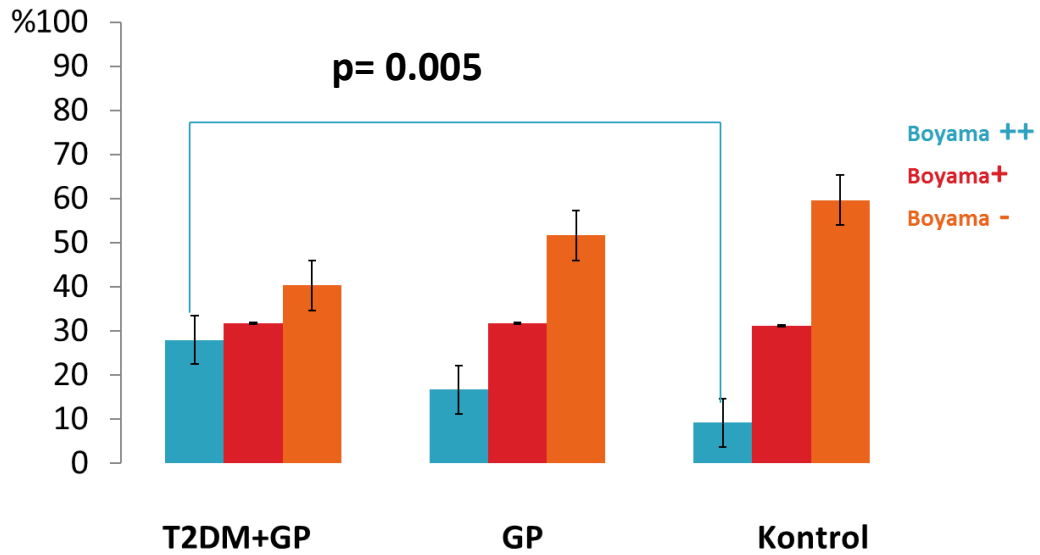


Resim 4.3.17. hBD-3 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği (*40 Büyütme)



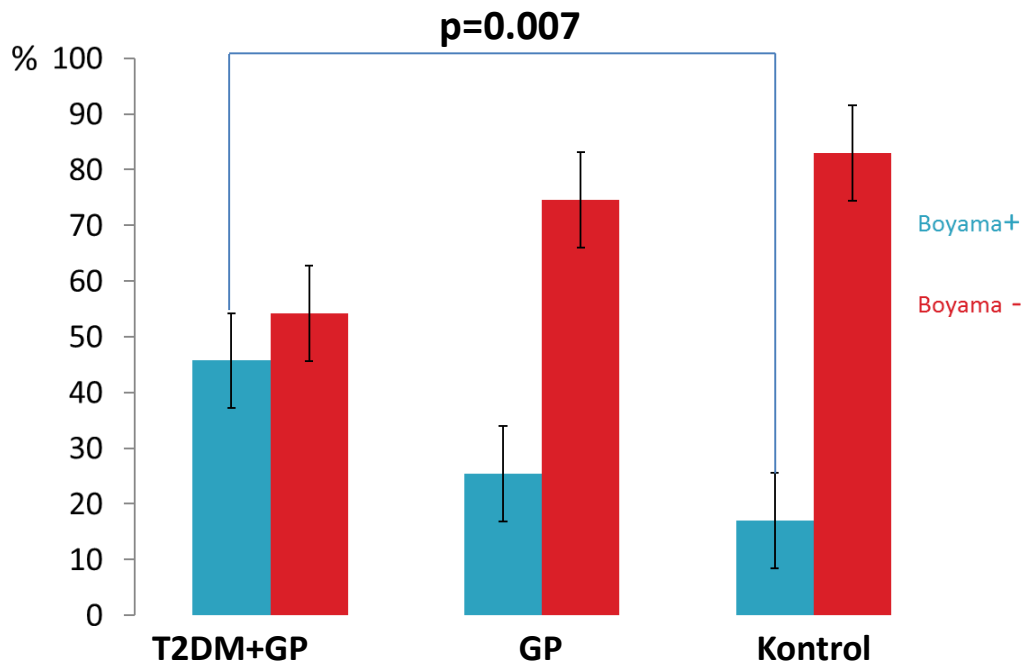
Resim 4.3.18 hCAP18/LL-37 Boyamasına Ait Negatif Kontrol Örneği ($\times 40$ Büyütme)

Pozitif boyanan hücre sayılarının, örneklerde sayılan tüm hücelere oranı yüzde olarak karşılaştırıldığında, hBD-2 boyamasında T2DM+GP grubunda, güçlü pozitif boyanan hücreler olarak tanımlanan, sitoplazma ve hücre çekirdeklerinde boyama tespit edilen hücrelerin yüzdesi, GP ve K gruplarındaki güçlü pozitif boyanan hücre yüzdelere göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.005$). (Şekil 4.3.19) Sadece sitoplazmalarında boyanma görülen ve orta şiddette boyanan hücreler olarak tanımlanan hücrelerin toplam hücre sayısına yüzde olarak oranı hesaplandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Negatif boyanan hücre yüzde oranları karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha yüksek bir yüzde elde edilmesine rağmen diğer gruplarla aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. (Şekil 4.3.19)



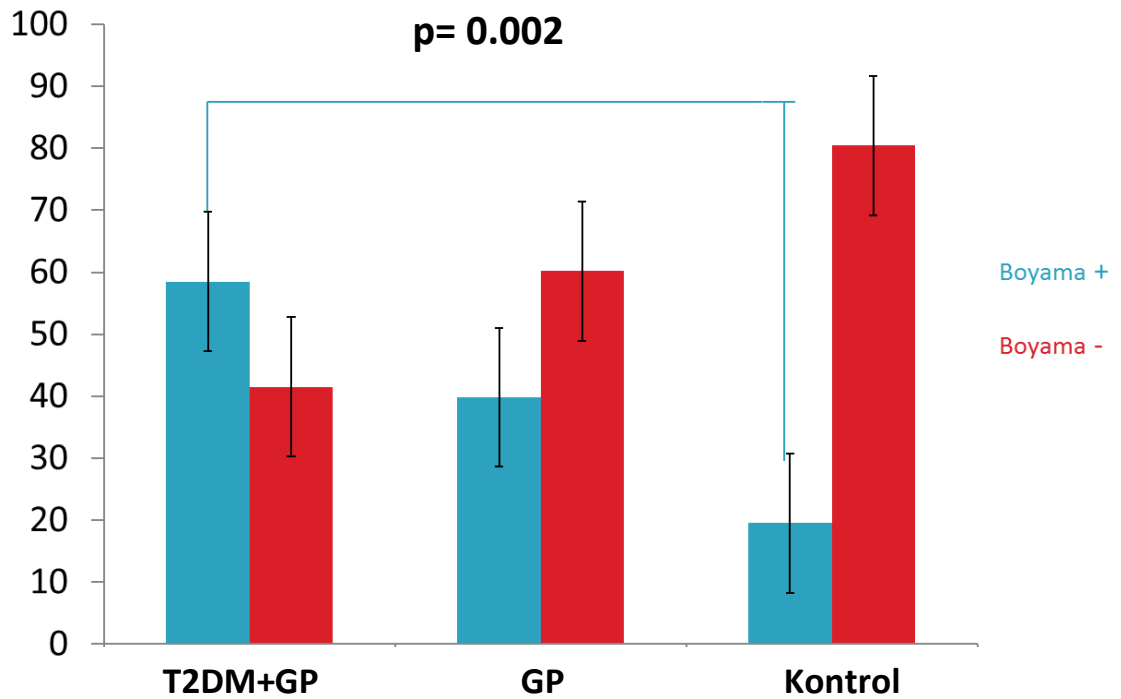
Şekil 4.3.19 hBD-2 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği

hBD-3 boyamalarında, pozitif boyanan hücre sayılarının, örneklerde sayılan tüm hücelere oranı yüzde olarak karşılaştırıldığında, sitoplazmalarında boyanma görülen ve pozitif boyanan hücreler olarak tanımlanan hücrelerin toplam hücre sayılarına göre yüzdeleri T2DM+GP grubunda, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu. ($p=0.007$) (Şekil 4.3.20) Negatif boyanan hücre sayılarının toplam hücre sayısına olan yüzdeleri hesaplandığında ise kontrol grubunda daha yüksek bir değer elde edilmesine rağmen diğer gruplarla aradaki bu fark anlamlı bulunmadı. (Şekil 4.3.20)



Şekil 4.3.20 hBD-3 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği

hCAP18/LL-37 boyamalarında, pozitif boyanan hücre sayılarının, örneklerde sayılan tüm hücelere oranı yüzde olarak karşılaştırıldığında sitoplazmalarında boyanma görülen ve pozitif boyanan hücreler olarak tanımlanan hücrelerin, toplam hücre sayılarına göre olan yüzdeleri T2DM+GP grubunda, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu. ($p=0.002$) (Şekil 4.3.21) Negatif boyanan hücre sayılarının, toplam hücre sayısına olan yüzdeleri hesaplandığında ise kontrol grubunda daha yüksek bir değer elde edilmesine rağmen diğer gruplarla aradaki bu fark anlamlı bulunmadı. (Şekil 4.3.21)



Şekil 4.3.21 hCAP18/ LL-37 Örneklerindeki, Pozitif Boyanan Hücrelerin Toplam Hücre Sayılarına Göre Olan Yüzde Oranları Grafiği

5. TARTIŞMA

hBD ve katherlisidinler küçük moleköl ağırlıklarına rağmen başta antimikrobiyal özellikleri olmak üzere, başlangıç immün yanıtın oluşmasında, kazanılmış immün yanıtı geçişte etkili olan kemokin ve sitokinlerin salınımında, yara iyileşmesi ve rejenerasyonda görevli hücrelerin çoğalmasında görev alan multifonksiyonel peptidlerdir.(7,107) Çalışmamız bilindiği kadarıyla DM'si olan ve olmayan periodontitis hastalarının, gingival dokularında defensin ve katherlisidin salınım ve lokalizasyonunun incelendiği ilk çalışmadır. Diabetes Mellitus hastalığı olan kronik periodontitisli bireylerde hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37'nin aşırı salınımı ilk kez gösterilmiştir. Ancak kronik periodontitis ve kontrol grupları arasında hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 salınımında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Mevcut çalışma ile multifaktöriyel etiyojolojiye sahip olan ve risk faktörleri arasında DM bulunan periodontitis hastalığının patogeneğinde, başlangıç immün yanıtın önemli elemanlarından olan antimikrobiyal peptidlerin etkisi açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışma periodontitis patogenezinin ve DM ile periodontitis ilişkisinin açıklanmasına yardımcı olabilecek bir basamaktır.

Çalışmamızda diabet grubunun tanımlanmasında HbA1c testi kullanılmıştır. Literatürde kırmızı kan hücrelerinin hemolize edilmesi ile HgA'nın minör komponentleri tanımlanmıştır. HgA1 bu minör komponentlerden biri olup, normal insanlardaki hemoglobinin %6'sını oluşturur. HgA1c ise bu minör komponentlerin üçte ikisini oluşturup hiperglisemi varlığında miktarı artmaktadır.(163,164) Periodontal hastalıkların ve tedavisinin değerlendirilmesinde HgA1c güvenilir bir metod olarak tanımlanmıştır çünkü HbA1c kırmızı kan hücrelerinin yarı ömrü olan 30-90 günün kan glukoz seviyesi hakkında bilgi verir.(145,146,163) Ayrıca diğer klasik test yöntemlerinde hastanın kurallara uyumluluğu son derece önemli olup test sonuçlarını etkileyebiliyorken HbA1c ölçümünde bu problem ortadan kalkmaktadır.(164) HbA1c % ≤8 altında olan hastalar kontrollü diabet hastaları olarak tanımlanmış ve periodontal tedavi protokolü açısından sistemik sağlıklı hastalarla aynı sınıfa dahil edilmişlerdir.(165) Çalışmamızdaki T2DM+GP grubundaki hastaların ortalama HbA1c değerleri 7.91%'dir ve sadece üç hastanın değeri %8'den fazladır. (8.3%, 8.4% and 8.6%) Bu üç hastadan elde edilen dokular değerlendirildiğinde ise

T2DM+GP grubundaki diğer dokular ile aralarında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Çalışmamızdaki dokuların tanımlanmasında, gingival epitelin morfolojik özelliklerinin yanı sıra CK-19 boyamasının lokalizasyonundan da yararlanıldı. Sitokeratinler, epitel hücrelerinin kökenlerini ve buldukları farklılaşma evresini yansıtan, epitel hücreleri tarafından sentezlenen büyük yapısal proteinlerdir.(166-168) Gingival epitelin bazal tabakasında CK-5, -14 ve -19 salınımı gösterilmiştir.(53) Gingival epitelin üst tabakalarında CK1/10 salınımı daha fazla gözlenirken, CK 6/16 ise epitelin hiperproliferasyon göstergeleri olarak kabul edilebilir.(169,170) Birleşim epiteli de sitokeratin salınımı gözlenebilen ve farklı yapısı ile gingival epitelden ayrılan özelleşmiş bir epiteldir. Birleşim epitelinde, CK8/18 salınım sıklığı ve yoğunluğu çeşitlilik gösterebilirken, CK-19 birleşim epiteli için güvenilir bir gösterge olarak öne çıkmaktadır.(53,171,172) Bu yüzden çalışmamızda özellikle kronik periodontitisli bireylerin oluşturduğu T2DM+GP ve GP gruplarında herhangi bir periodontal tedavi yapılmadan önce elde edilen dokular, ödematöz ve frajil olduğu için morfolojik olarak birleşim epitelinin izolasyonu zorlaştı ve yetersiz kaldı. Bu sebeple nispeten güvenilir bir gösterge olan CK-19 boyamalarıyla morfolojik alan seçimi desteklendi.

Çalışmamızda periodontal ve sistemik olarak sağlıklı bireylerden elde edilen dişeti örneklerinde hBD-2 epitelin üst tabakalarında (spinoz ve granüler), hBD-3 ve hCAP18/LL-37 ise ağırlıklı olarak epitelin bazal tabakalarında izole edilmiştir. Kronik periodontitisli hastaların oluşturduğu T2DM+GP ve GP gruplarında ise bireylerin sistemik durumlarından bağımsız bir şekilde, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları epitelin bazal tabakasından spinoz ve granüler tabakalarına doğru bir artış ve yayılım göstermiştir. Tam tersine bireylerin sistemik durumlarından bağımsız bir şekilde bahsedilen gruplardaki dişeti örneklerindeki hBD-2 boyamaları, epitelin spinoz ve granüler tabakalarından, bazal tabakaya doğru bir yayılım ve artış göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen antimikrobiyal peptidlerin, gingival epiteldeki lokalizasyonu ile ilgili bu bulgular literatürle uyumludur.(3,7,21,125) Dale ve ark.(3) yaptıkları bir çalışmada, sağlıklı gingival dokulardaki hBD-1 ve hBD-2'yi mRNA seviyesinde değerlendirdiklerinde spinoz tabakada, peptid seviyesinde değerlendirdiklerinde ise granüler tabakada izole etmişlerdir. Lu ve ark.(16) ise

sağlıklı dokulardan elde edilen 49 gingival biyopsi üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada, bazal tabakada epitelin üst tabakası olarak nitelenen spinoz tabakadakine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek miktarda hBD-3 peptid seviyesinin bulunduğunu tespit etmişlerdir.(16) hCAP18/LL-37 lokalizasyonu ile ilgili literatürdeki çalışmalarda ise bu antimikrobiyal peptidin, hBD-2 ve hBD-3 'den farklı olarak; epitelin herhangi bir tabakasında yoğunluk oluşturmadan kısmen homojen bir dağılım gösterdiği ancak daha zayıf boyandığı ifade edilmiştir.(3, 131) Çalışmamızdaki hCAP18/LL-37 boya lokalizasyonları bu bulguyu destekler nitelikte epitelin tüm tabakalarında gözlenmektedir ancak boyama şiddeti olarak hBD-2 ve hBD-3'den daha zayıf boyanmamıştır. Bu farklılık, hCAP18/LL-37'nin hem nötrofiller hem de gingival epitel hücreleri tarafından salınabilmesi ile açıklanabilir.(7) PMNL kaynaklı hCAP18/LL-37 daha çok birleşim epiteli ve çevresinde lokalize olmuştur.(8) Çalışmaların immünohistokimyasal basamaklarındaki teknik farklılıklar nedeniyle farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir.

hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün lokalizasyon ve stimülasyon yönelimleri literatürdeki in-vitro ve in-vivo çalışmalarda oldukça tutarlıdır.(21,173,174) Gürsoy ve ark.(21) üç boyutlu organotipik epitel modeli üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hBD-1 ve hBD-2 modelin üst tabakalarında gözlenirken, hBD-3 bazal tabakada lokalize olmuştur. Aynı modelin *F. nucleatum* biyofilmi ile beş saatlik inkübasyonundan sonra, hBD-2 ve hBD-3 salınımları, modelin üst tabakaları ve bazal tabakasında artış gösterirken, 24 saatlik inkübasyondan sonra hBD-2 salınımı modelin bazal tabakasına doğru, hBD-3 salınımı ise epitelin bazal tabakasından, üst tabakalarına doğru artış göstermiştir. Bu bulgular, literatürdeki diğer in-vivo çalışmalar (175,176) ve mevcut çalışmamızda elde ettiğimiz, antimikrobiyal peptidlerin gingivadaki lokalizasyon bulguları ile uyumludur.

Çalışmamızda elde edilen bir diğer ilgi çekici bulgu ise, hBD-2 boyamalarının epitel hücrelerinin sitoplazma ve çekirdeğinde izole edilirken, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamalarının epitel hücrelerinin sadece sitoplazmalarında gözlenmesiydi. Wenghoefer ve ark'nın (177) 21 tükrük bezi tümör örneği üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hBD-1'i hücre çekirdeğinde, hBD-2 ve hBD-3'ü ise, daha çok hücre sitoplazmasında izole etmişlerdir. Elde edilen bu bulgular sonucunda hBD-1, -2 ve -3 proteinlerinin çekirdekdeki lokalizasyonlarının, kendi üretimlerini baskılayabileceği

düşünülmüştür. Promotor otheregölasyon olarak da bilinen bu mekanizmanın etkisi Myb-ilişkili protein B ve siklin bağımlı kinaz-9 gibi proteinler üzerinde de gösterilmiştir.(178) hBD-2 proteininin epitel hücre çekirdeğindeki lokalizasyonun bir başka nedeni de gen transkripsiyonu ile ilgili olabilir, ancak bu hipotezler çalışmamızın şu aşamasında kurgusal nitelikte olup, ileri deneysel çalışmalarla araştırılmalıdır.

Çalışmamızda hBD-2 salınımı T2DM+GP grubundaki bireylerde diğer çalışma gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu. GP grubundaki bireylerdeki hBD-2 salınımı ise kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Literatürdeki mevcut çalışmalarda hBD-2 salınımı ve periodontal durum arasındaki ilişki ile ilgili ortak bir görüş birliği bulunmamaktadır.(24,125,179,180) Kuula ve ark.'nın (179) kronik periodontitisli ve generalize agresif periodontitisli gingival dokular üzerinde yaptıkları immünhistokimyasal çalışmada, inflame dokularda daha yüksek miktarda hBD-2 izole edilmiştir. Elde edilen bu bulgu, periodontitis sonucu vücutta meydana gelen bakteriyel atağa karşı etkili ve geniş spektrumlu antibakteriyel etkisi olan hBD-2 protein üretiminin ve salınımının konak tarafından indüklendiği şeklinde açıklanabilir. Bunun dışında inflamatuvar süreçle beraber ortama salınan pro-inflamatuvar sitokinlerin hBD-2 salınımını arttırdığı da bilinmektedir.(3,107) Periodontal hastalıklar inflamatuvar hastalıklar arasında yer aldığından defensin üretiminin ve salınımının artması beklenebilir. Ancak Vardar-Şengül ve ark.'nın (180) yaptıkları çalışmada sağlıklı, gingivitisli, kronik periodontitisli ve agresif periodontitisli hastaların dokularındaki hBD-2'nin mRNA seviyeleri incelenmiş ve periodontitisli bireylerden izole edilen hBD-2 mRNA seviyeleri sağlıklı gruba göre daha düşük miktarda tespit edilmiştir. Bu tespit bizim elde ettiğimiz sonuçlara ters düşmektedir. Bu farklılık, çalışma metodlarının değişik olması ile açıklanabilir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, antimikrobiyal peptid salınımı gösteren gingival epitel hücre sayısının, doku kesitindeki toplam gingival epitel hücre sayısına oranını vermektedir. Bulgularımız, antimikrobiyal peptid konsantrasyonunu veya aktif peptid seviyesini belirtmemektedir. Çalışmamızda periodontal durum ile antimikrobiyal peptid seviyesi arasındaki ilişkiyi açıklamada mRNA seviyesinden faydalanılmamıştır. Dommisch ve ark.(25)'nin. sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli toplam 30 gingival doku üzerinde

yaptıkları çalışmada, hBD-2 seviyesi gen ekspresyonu düzeyinde incelenmiş ve gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Dale ve ark.(173) yaptıkları bir diğer çalışmada ise kültür ortamındaki gingival epitel hücrelerinin bakteriyel uyaran sonucunda hBD-2 peptid salınım seviyesinde artış gösterdikleri rapor edilmiştir. Diğer yandan Bissel ve ark.(125) sağlıklı gingival doku örneklerinde hBD-2 mRNA seviyesini inflame dokulara oranla daha yüksek bulmuşlardır. Bu bulgu elde ettiğimiz verilerle uyumlu değildir. Ancak Hosokawa ve ark.(24) yaptıkları çalışmada farklı derece inflamasyona sahip gingival dokulardaki hBD-2 mRNA seviyesinin, tutarlı sonuçlar vermediğini ve protein seviyesinin daha güvenilir bir gösterge olduğunu savunmuşlardır.

Çalışmamızda T2DM+GP grubunda hBD-2 miktarı diğer gruplara oranla daha yüksek bulundu. Literatür incelendiğinde diabetes ile antimikrobiyal peptid salınımı arasındaki ilişkiyi açıklayan az sayıda çalışma olduğu görülmektedir.(41,42,181) Yapılan in-vitro bir çalışmada yüksek glikoz ortamının keratinositlerin hBD-2 salınımı üzerindeki etkisi hem protein seviyesi hem de mRNA üzerinden değerlendirilmiştir.(41) Elde edilen sonuçlarda yüksek glikoz ortamında daha az miktarda hBD-2 salınımı gözlenmiştir. Bu etkinin hiperglisemik ortamın hBD-2 salınımı ile ilişkili mekanizmalardan biri olan sinyal transdüksiyon ve transkripsiyon aktivatörü-1 (STAT-1) sinyal yolağında görülen azalma sonucu gözlemlendiği savunulmuştur.(41) Ancak fare ve insan böbrek hücreleri üzerinde yapılan diğer çalışmalarda rBD-1 ve hBD-1'in mRNA seviyesinin hiperglisemik ortamda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir.(42,181) Ek olarak Froy ve ark.'nın (182) yine fareler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, rBD-1, rBD-2 ve antimikrobiyal peptid üretiminde görevli mekanizmalardan olan *Toll like -2* ve *-4* reseptör seviyeleri böbrek, akciğer, karaciğer ve beyin dokularında incelenmiştir. Akciğer dokusunda, diabetli örneklerde rBD-2 seviyesi belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçları yorumlamak istersek, hiperglisemik ortamda daha yüksek oranda hBD-2 elde edilmesindeki olası mekanizmalardan birisi de hiperglisemi sonucu ortaya çıkan son ürünlerden olan AGE'nin kendilerine ait reseptörlere bağlanmaları ile pro-inflamatuar genleri aktive etmeleri ve nükleer faktör kappa-B (NF-κB) gibi antimikrobiyal peptid salınımında etkili olan başka bir sinyal mekanizmasını harekete geçirmeleri olabilir.(158,182) Bu durumda hBD-2 salınımı, inflamasyon oluşumu ile

paralel bir şekilde artış göstermektedir. Bu mekanizmaların aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda T2DM+GP grubundaki bireylerde hBD-3 salınımı diğer çalışma gruplarımıza göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu. GP grubundaki bireylerdeki hBD-3 salınımı kontrol grubuna göre daha yüksek gözlenmesine rağmen aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. hBD-3 salınımı ile periodontal inflamasyon arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda da ortak bir görüş bulunmamaktadır.(21,23,125) Brancatisano ve ark.'nın (23) yaptıkları çalışmada, periodontal olarak sağlıklı 31 birey ve kronik periodontitisli 37 bireyden alınan dişeti oluğu sıvısı örneklerindeki hBD-3 seviyesini ELISA tekniği ile incelemişlerdir. Dişeti oluğu sıvısındaki hBD-3 seviyesi kronik periodontitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az miktarda bulunmuştur. hBD-3'ün kronik periodontitisli bireylerde daha az oranda bulunmasının olası bir nedeni konak savunmasında da görev yapan ve dişeti oluğu sıvısında da izole edilebilen proteolitik enzimlerin hBD-3'ü çözmesi veya inaktive etmesidir.(19) Bu çalışmada elde edilen bulgunun, mevcut çalışmamızdan farklı olmasının sebebi çalışmamızın gingival dokulardaki peptid düzeyini değerlendirmesi olabilir. Sağlıklı, gingivitisli ve kronik periodontitisli dokular üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, hBD-3 mRNA seviyesi düzeyinde karşılaştırılmış, sağlıklı ve gingivitisli gruplar arasında bir fark gözlenmezken, periodontitisli grupta artan hBD-3 yanıtı izlenmiştir.(25) Bu bilgi, hBD-3'ün oral gingival inflamasyonun erken safhasında değil, daha ileri dönemlerinde gecikmiş bir salınım artışı gösterdiğini düşündürülebilir. Ancak literatürde hBD-3 mRNA seviyesinin sağlıklı dokularda daha yüksek olduğunu savunan çalışmalar da mevcuttur.(16,125) Periodontal inflamasyonda azalan hBD-3 yanıtının açıklanmasında birkaç hipotez öne sürülebilir. Bunlar arasında, hBD salınımindaki genetik polimorfizm veya genomik kopyalarındaki farklılıklar, salınan peptidlerin konak veya periodontopatojen kaynaklı enzimler tarafından çözünmesi veya inaktive forma geçirilmesi ve başlangıç immüniteden kazanılmış immüniteye geçişteki periyotta çalışma metodoloji ve teknikleri nedeniyle hBD'lerin izole edilememeleri sayılabilir.(2,7) Literatür incelendiğinde sağlıklı örneklerde, kronik periodontitisli örneklere göre daha yüksek oranda hBD-2 ve hBD-3 bulan çalışmaların mRNA seviyesinde gerçekleştirildiği ve

mRNA protein seviyesinin birbiriyle korele yanıtlar vermediği unutulmamalıdır. Bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.(25,125)

Çalışmamızdaki örneklerde, sağlıklı bireylerde hBD-3 epitelin bazal tabakasında daha belirgin bir şekilde yer alırken, hBD-2 üst tabakalarda izole edildi. hBD-2 ve hBD-3 arasındaki lokalizasyon ve aktivasyondaki bu karakteristik farklılık Semple ve ark.'nın (5) yaptığı çalışma ile açıklanabilir. Bu çalışmada hBD-3'ün in-vitro ve in-vivo olarak proinflatuar sitokin sekresyonunu azalttığı, bu şekilde epitelin daha üst tabakalarında bulunan hBD-2'nin başlangıç savunma sisteminde, bazal tabakada yer alan hBD-3'ün de daha geç aşamalarda bağışıklık sistemini aktive ettiği düşünülebilir.

İnsanlarda, hBD-3 ile diabet arasındaki ilişkiyi inceleyen bir klinik çalışma literatürde bulunmamaktadır. Lan ve ark. (40) yaptıkları çalışmanın in-vitro modelinde hiperglisemik ortamda insan keratinosit hücrelerinden salınan hBD-3 miktarının mRNA ve protein cinsinden değerlerini ve aynı çalışmanın in-vivo modelinde ise ratlarda oluşturulan perilezyonel deri yaralanmalarındaki hBD-3 yanıtını incelenmişlerdir. Çalışmanın her iki basamağında da artan hiperglisemik ortamın hBD-3 salınımını negatif etkilediği görülmüştür. Bu yanıtın oluşmasındaki potansiyel mekanizma olarak ise, hiperglisemik ortamda artış gösteren AGE ürünlerinin, antimikrobiyal peptidlerin üretim aşamasında rolü olduğu bilinen sinyal mekanizmalarından, P38 mitojen aktive protein kinaz (p38 MAPK) yolağını inhibe etmesi öne sürülmüştür.(40) Literatürde bu bulguya karşıt görüş oluşturacak nitelikte başka çalışmalar da mevcuttur.(43,159) Örneğin Barnea ve ark.'nın (43) insan embriyolojik böbrek ve adenokarsinom hücreleri üzerinde yaptıkları in-vitro çalışmada ortamda bulunan glikoz ve insülinin transkripsiyonel aktiviteyi arttırarak, optimum hBD-1 salınımı için gerekli olduğu görüşü savunulmuştur. Monositik T hücreleri üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, ortamda artış gösteren AGE miktarının, proinflatuar sitokinler ve antimikrobiyal peptid salınımında etkili mekanizmalardan olan NF-κB sinyal yolağını aktive ettiği gösterilmiştir.(159) Çalışmamızda, diabetli ve kronik periodontitisli bireylerin oluşturduğu, T2DM+GP grubundaki hBD-3 salınımının diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olmasının nedeni potansiyel olarak bu sinyal mekanizmalarına bağlı olabilir. Diabet tedavisi için

kullanılan insülin ve diğer ilaçların antimikrobiyal peptidler ve ilgili sinyal yolları üzerine etkilerini de içeren ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

LL-37 insanlarda bulunan katherisidin grubuna ait olan tek antimikrobiyal peptiddir.(8,183) Esas kaynak olarak nötrofillerden salınım gösterirken, gingival epitel hücrelerinden de salınabilir.(21) Fonksiyona girmediği dönemde hCAP18/LL-37 formunda bulunur ve post-translasyonel aktivasyonla işlevsel hale geçer.(8,183) Çalışmamızda hCAP18/LL-37 sonuçlarına bakıldığında diğer antimikrobiyal peptidler ile uyumlu bir şekilde T2DM+GP grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek değerler tespit edildi. Elde ettiğimiz bu sonuç literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumludur.(21,24,131) Hosokawa ve ark.'nın (24) yaptıkları çalışmada gingival doku örnekleri incelenmiş ve LL-37 seviyesi hem immünohistokimyasal hem de ELISA metodu ile değerlendirilmiştir. Sonuçta inflame dişeti örneklerinde LL-37 seviyesinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu ve patolojik cep derinliği ile LL-37 miktarı arasında pozitif korelasyon bulunduğu saptanmıştır. Generalize agresif periodontitis, kronik periodontitis ve sağlıklı dişeti örneklerinde hCAP18/LL-37 mRNA seviyesini değerlendiren bir başka çalışmada ise, kronik periodontitisli grupta hCAP18/LL-37 miktarı en yüksek oranda bulunmuştur.(131) McCrudden ve ark. (184) ise LL-37 miktarını dişeti oluğu sıvısı örneklerinde incelemişlerdir. LL-37'nin dişeti oluğu sıvısında izole edilebildiği fakat *P.gingivalis* (+) alanlarda hızla çözüldüğü görülmüştür. LL-37'nin inflame dokularda yüksek oranda bulunmasının potansiyel bir nedeni olarak ilgili peptidin inflamatuvar göstergelerle pozitif korelasyonu gösterilebilir.(7, 8) Periodontal hastalıkların multifaktöriyel doğası ve inflamatuvar karakteri göz önüne alındığında LL-37 miktarında artış beklenmektedir.(21, 24, 184)

Literatürde, LL-37 diabet ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma mevcuttur.(185,186) Diabetik ayak ülseri dokularını inceleyen bir çalışmada, diabetli dokularda defensinlerle beraber LL-37 miktarında da artış gözlenmiştir.(185) Bu bulgu, çalışmamızda elde edilenle uyumludur. Bu durumun potansiyel açıklaması olarak infeksiyon, inflamasyon, epiteliyal farklılaşma görülen alanlarda ve kronik yaralarda artan defensin ve katherisidin salınımı kabul edilebilir.(8) Yin J. ve Yu FS.'nin (186) yaptıkları bir çalışmada normal glisemik ve hiperglisemik ortamlarda, korneal epitel hücreleri LL-37 ile uyarılmıştır ve ortamın glikoz konsantrasyonundan bağımsız bir şekilde LL-37'nin fonksiyon görebildiği rapor edilmiştir.

Çalışmamızda, diabet ve kronik periodontitisli bireylerin oluşturduğu grupta, incelediğimiz hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 moleküllerinin hepsi, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu durumun periodontitiste artan inflamatuvar yanıt ve diabetli ortamda artan AGE moleküllerinin çeşitli sinyal yollarını etkilemesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir.(187) Ancak diabet ve periodontal hastalıklar arasındaki çift taraflı ilişki ve diabete bağlı yara iyileşmesinde bozukluk ve gecikme gibi komplikasyonlar akla getirildiğinde, artan bu moleküllerin fonksiyonel açıdan görevlerini yerine getiremedikleri düşünülebilir. Aktif peptid seviyesini ölçen daha fazla örnek sayısının olduğu, periodontal açıdan sağlıklı diabetli bireylerin de dahil edildiği ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda sistemik açıdan Tip 2 DM ve periodontal açıdan kronik periodontitis teşhisi konulan; sistemik açıdan sağlıklı ancak periodontal açıdan kronik periodontitis teşhisi konulan ve de sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı olan bireylerden elde edilen toplam 38 dişeti örneği üzerinde immünohistokimyasal metodlar ile başlıca antimikrobiyal peptidlerden olan hBD-2, hBD-3 ve LL-37 salınım ve lokalizasyonları değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre;

1. Demografik ve periodontal parametreler göz önüne alındığında, bireyler kadın ve erkek olarak gruplara ayrılıp, inceleme yapıldığında bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.
2. T2DM+GP ve GP grubundaki ortalama yaş miktarı K grubuna oranla anlamlı derecede yüksek bulundu. ($p=0.001$) T2DM+GP ve GP grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi.
3. Ağız içindeki toplam diş sayısı açısından; T2DM+GP ve GP gruplarındaki ağız içindeki toplam diş sayısı, K grubuna oranla anlamlı derecede daha az bulundu. ($p=0.001$) Ancak T2DM+GP ve GP grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi.
4. T2DM+GP grubunda ortalama diabetes süresi 8.08 ± 3.02 yıl, ortalama açlık kan şekeri değeri 165 mL/dl ve ortalama HbA1C değeri 7.91% (6.25%-8.6%) olarak tespit edildi.
5. Periodontal parametreler incelendiğinde T2DM+GP ve GP grupları arasında Pİ, Gİ, SD, KAD, DKZİ değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$)
6. K grubu ile T2DM+GP ve GP grupları, periodontal parametreler açısından karşılaştırıldığında, Pİ, Gİ, SD, KAD, DKZİ değerleri açısından anlamlı fark tespit edildi. ($p<0.01$)

7. hBD-2, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları tüm grup ve örneklerde pozitif boyanma olarak gözlemlendi.
8. hBD-2 boyamaları bütün gruplarda hücrelerin çekirdek ve sitoplazmasında veya sadece sitoplazmada gözlenirken, hBD-3 ve hCAP18/LL-37 boyamaları bütün gruplarda hücrelerin sadece sitoplazmalarında izole edildi.
9. hBD-2 boyanmaları K grubunda epitelin daha çok üst katmanlarında, T2DM+GP ve GP gruplarında ise epitelin tüm katmanlarında izole edildi.
10. hBD-3 boyanmaları K grubunda epitelin daha çok bazal tabakasında yoğunlaşırken, T2DM+GP ve GP gruplarında ise epitelin tüm tabakalarında izole edildi.
11. hCAP18/LL-37 boyanmaları T2DM+GP, GP ve K gruplarında epitelin tüm tabakalarında ve eşit dağılımlı olarak izole edildi.
12. hBD-2 boyamalarında güçlü pozitif olarak tanımlanan hücrelerin yüzde olarak oranları T2DM+GP grubunda K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. GP grubunda bu oran K grubundan daha yüksek T2DM+GP grubuna göre daha düşük bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
13. hBD-3 boyamalarında pozitif boyanan olarak tanımlanan hücrelerin yüzde olarak oranları T2DM+GP grubunda K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. GP grubunda bu oran K grubundan yüksek, T2DM+GP grubuna göre düşük bulunmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmadı.
14. hCAP18/LL-37 boyamalarında pozitif boyanan olarak tanımlanan hücrelerin yüzde olarak oranları T2DM+GP grubunda K grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer boyamalarla benzer şekilde GP grubunda bu oran K grubuna göre daha yüksek, T2DM+GP grubuna göre daha düşük bulunmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmadı.

15. Diabetli bireylerde antimikrobiyal peptid salınımı yapan hücre sayısı anlamlı olarak daha yüksek bulunmasına karşın diabette görülen artan periodontal hastalık şiddeti ve geç yara iyileşmesi, bu peptidlerin fonksiyonel olmayan formda olmalarına bağlı olabilir.
16. Konu ile ilgili planlanacak diğer çalışmalarda bu antimikrobiyal peptidlerin aktivasyonları ve hangi sinyal mekanizmasına bağlı salınım gösterdikleri açıklığa kavuşturulmaya çalışılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Bartold, P.M., Walsh, L.J., Narayanan, A.S. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology 2000*, 24, 28-55.
2. Gürsoy, U.K., Könönen, E. (2012). Understanding the roles of gingival beta-defensins. *Journal of Oral Microbiology*, 2012; 4.
3. Dale, B.A., Krisanaprakornkit, S. (2001). Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *Journal Oral Pathology and Medicine*, 30, 321-327.
4. Pazgier, M., Li, X., Lu, W., Lubkowski, J. (2007). Human defensins: synthesis and structural properties. *Current Pharmaceutical Design*, 13, 3096-3118.
5. Semple, F., Dorin, J.R. (2012). Beta-Defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *Journal of Innate Immunity*, 4, 337-348.
6. Ganz, T. (2003). Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature reviews. Immunology*, 3, 710-720.
7. Greer, A., Zenobia, C., Darveau, R.P. (2013). Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. *Periodontology 2000*, 63, 67-79.
8. Kahlenberg, J.M., Kaplan, M.J. (2013). Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease. *The Journal of Immunology*, 191, 4895-4901.
9. Dale, B.A., Fredericks, L.P. (2005). Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Current Issues In Molecular Biology*, 7, 119-133.
10. Gorr, S.U., Abdolhosseini, M. (2011). Antimicrobial peptides and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 11, 126-141.
11. Yang, D., Chertov, O., Bykovskaia, S.N. (1999). Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*, 286, 525-528.
12. Niyonsaba, F., Iwabuchi, K., Matsuda, H., Ogawa, H., Nagaoka, I. (2002). Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells

through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *International Immunology*, 14, 421-426.

13. Niyonsaba, F., Ogawa, H., Nagaoka, I. (2004). Human beta-defensin-2 functions as a chemotactic agent for tumour necrosis factor-alpha-treated human neutrophils. *Immunology*, 111, 273-281.
14. Niyonsaba, F., Ushio, H., Nakano, N. (2007). Antimicrobial peptides human beta-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *The Journal of Investigative Dermatology*. 127, 594-604.
15. Baroni, A., Donnarumma, G., Paoletti, I. (2009). Antimicrobial human beta-defensin-2 stimulates migration, proliferation and tube formation of human umbilical vein endothelial cells. *Peptides*. 30, 267-272.
16. Lu, Q., Samaranayake, L.P., Darveau, R.P., Jin, L. (2005). Expression of human beta-defensin-3 in gingival epithelia. *Journal of Periodontal Research*, 40, 474-481.
17. Kinane, D.F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 25, 8-20.
18. Weinmann, S.B., Geron, P.R. (2011). A chronological classification of periodontal disease: a review. *Journal International Academy Periodontology*, 13, 31-39.
19. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. (2000). *Northwest Dentistry*. 79, 31-35.
20. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. (1999). *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*. 4, 1-6.
21. Gürsoy, U.K., Pöllänen, M., Könönen, E., Uitto, V.J. (2012). A novel organotypic dento-epithelial culture model: effect of *Fusobacterium nucleatum* biofilm on B-defensin-2, -3, and LL-37 expression. *Journal of Periodontology*, 83, 242-247.

22. Krisanaprakornkit, S., Kimball, J.R., Weinberg, A., Darveau, R.P., Bainbridge, B.W., Dale, B.A. (2000). Inducible expression of human beta-defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum* in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. *Infection and Immunity*, 68, 2907-2915.
23. Brancatisano, F.L., Maisetta, G., Barsotti, F. (2011). Reduced human beta defensin 3 in individuals with periodontal disease. *Journal of Dental Research*, 90, 241-245.
24. Hosokawa, I., Hosokawa, Y., Komatsuzawa, H. (2006). Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clinical and Experimental Immunology*, 146, 218-225.
25. Dommisch, H., Acil, Y., Dunsche, A., Winter, J., Jepsen, S. (2005). Differential gene expression of human beta-defensins (hBD-1, -2, -3) in inflammatory gingival diseases. *Oral Microbiology and Immunology*, 20, 186-190.
26. Taylor, J.J., Preshaw, P.M., Lalla, E. (2013). A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *Journal of Periodontology*, 84, 113-134.
27. Mealey, B.L., Oates, T.W., (2006). American Academy of P. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 77, 1289-1303.
28. Lebovitz, H.E. (1999). Type 2 diabetes: an overview. *Clinical Chemistry*, 45,1339-1345.
29. Mealey, B.L., Rethman, M.P. (2003). Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dentistry Today*, 22, 107-113.
30. Loe, H. (1993). Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 16, 329-334.
31. Garcia, R. (2009).Periodontal treatment could improve glycaemic control in diabetic patients. *Evidence-Based Dentistry*, 10, 20-21.

32. Rodrigues, D.C., Taba, M.J., Novaes, A.B., Souza, S.L., Grisi, M.F. (2003). Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Periodontology*, 74, 1361-1367.
33. Preshaw, P.M., Foster, N., Taylor, J.J. (2007). Cross-susceptibility between periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: an immunobiological perspective. *Periodontology 2000*, 45, 138-157.
34. Borgnakke, W.S., Ylostalo, P.V., Taylor, G.W., Genco, R.J. (2013). Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *Journal of Clinical Periodontology*, 14, 135-152.
35. Preshaw, P.M., Alba, A.L., Herrera, D. (2012). Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 55, 21-31.
36. Cortizo, A.M., Lettieri, M.G., Barrio, D.A., Mercer, N., Etcheverry, S.B., McCarthy, A.D. (2003). Advanced glycation end-products (AGEs) induce concerted changes in the osteoblastic expression of their receptor RAGE and in the activation of extracellular signal-regulated kinases (ERK). *Molecular Cell Biochemistry*, 250, 1-10.
37. Santacroce, L., Carlaio, R.G., Bottalico, L. (2010). Does it make sense that diabetes is reciprocally associated with periodontal disease? *Endocrine, Metabolic and Immune Disorders- Drug Targets*, 10, 57-70.
38. Lalla, E., Lamster, I.B., Schmidt, A.M. (1998). Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE: implications for the pathogenesis of accelerated periodontal disease in diabetes. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 3, 13-19.
39. Schmidt, A.M., Hori, O., Cao, R., (1996). RAGE: a novel cellular receptor for advanced glycation end products. *Diabetes*, 45, 77-80.
40. Lan, CC., Wu, C.S., Huang, S.M., (2011). High-Glucose Environment Inhibits p38MAPK Signaling and Reduces Human beta-Defensin-3 Expression [corrected] in Keratinocytes. *Molecular Medicine*, 17, 771-779.

41. Lan, C.C., Wu, C.S., Huang, S.M. (2012). High-glucose environment reduces human beta-defensin-2 expression in human keratinocytes: implications for poor diabetic wound healing. *The British Journal of Dermatology*, 166, 1221-1229.
42. Malik, A.N., Al-Kafaji, G. (2007). Glucose regulation of beta-defensin-1 mRNA in human renal cells. *Biochemistry Biophysical Research Communications*, 353, 318-323.
43. Barnea, M., Madar, Z., Froy, O. (2008). Glucose and insulin are needed for optimal defensin expression in human cell lines. *Biochemistry Biophysical Research Communications*, 367, 452-456.
44. Schröder, H.E., Listgarten, M.A. (1997). The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontology 2000*, 13, 91-120.
45. Schröder, H.E. (1987). Clinical features and pathology of various forms of periodontitis. *Journal of Periodontology*, 42, 417-421.
46. Mackenzie, I.C., Gao, Z. (1993). Patterns of cytokeratin expression in the epithelia of inflamed human gingiva and periodontal pockets. *Journal of Periodontal Research*, 28, 49-59.
47. Newcomb, G.M., Powell, R.N. (1986). The ultrastructure of human gingival Langerhans cells in health and disease. *Archives of Oral Biology*, 31, 727-734.
48. Barrett, A.W., Raja, A.M. (1997). The immunohistochemical identification of human oral mucosal melanocytes. *Archives of Oral Biology*, 42, 77-81.
49. Ramieri, G., Panzica, G.C., Viglietti-Panzica, C., Modica, R., Springall, D.R., Polak, J.M. (1992). Non-innervated Merkel cells and Merkel-neurite complexes in human oral mucosa revealed using antiserum to protein gene product 9.5. *Archives of Oral Biology*, 37, 263-269.
50. Ness, K.H., Morton, T.H., Dale, B.A. (1987). Identification of Merkel cells in oral epithelium using antikeratin and antineuroendocrine monoclonal antibodies. *Journal of Dental Research*, 66, 1154-1158.
51. Moll, R., Moll I., Franke, W.W. (1984). Identification of Merkel cells in human skin by specific cytokeratin antibodies: changes of cell density and distribution

- in fetal and adult plantar epidermis. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 28, 136-154.
52. Diamond, J., Holmes, M., Nurse, C.A. (1986). Are Merkel cell-neurite reciprocal synapses involved in the initiation of tactile responses in salamander skin? *Journal of Physiology*, 376, 101-120.
 53. Dabija-Wolter, G., Bakken, V., Cimpan, M.R., Johannessen, A.C., Costea, D.E. (2013). In vitro reconstruction of human junctional and sulcular epithelium. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 42, 396-404.
 54. Yucel-Lindberg, T., Bage, T. (2013). Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 15, e7.
 55. Schmidt, J.C., Sahrman, P., Weiger, R., Schmidlin, P.R., Walter, C. (2013). Biologic width dimensions--a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 493-504.
 56. Nanci, A., Bosshardt, D.D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 40, 11-28.
 57. Scott, D.A., Krauss, J. (2012). Neutrophils in periodontal inflammation. *Frontiers of Oral Biology*, 15, 56-83.
 58. Genco, R.J., Borgnakke, W.S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62, 59-94.
 59. Slots, J. (2013). Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontology 2000*, 62, 7-19.
 60. Ford, P.J., Gamonal, J., Seymour, G.J. (2010). Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 53, 111-123.
 61. Embery, G., Waddington, R.J., Hall, R.C., Last, K.S. (2000). Connective tissue elements as diagnostic aids in periodontology. *Periodontology 2000*, 24, 193-214.
 62. Benakanakere, M., Kinane, D.F. (2012). Innate cellular responses to the periodontal biofilm. *Frontiers of Oral Biology*, 15, 41-55.

63. Trombelli, L., Farina, R. (2013). A review of factors influencing the incidence and severity of plaque-induced gingivitis. *Minerva Stomatologica*, 62, 207-234.
64. Gillett, I.R., Johnson, N.W., Curtis, M.A. (1990). The role of histopathology in the diagnosis and prognosis of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 673-684.
65. Cobb, C.M., Killoy, W.J. (1990). Microbial colonization in human periodontal disease: an illustrated tutorial on selected ultrastructural and ecologic considerations. *Scanning Microscopy*, 4, 675-690.
66. Theilade, E. (1986). The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 905-911.
67. Löesche, W.J. (1992). The specific plaque hypothesis and the antimicrobial treatment of periodontal disease. *Dental Update*, 19, 68-74.
68. Ebersole, J.L., Dawson, D.R., Morford, L.A., Peyyala, R., Miller, C.S., Gonzalez, O.A. (2013). Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontology 2000*, 62, 163-202.
69. Berggreen, E., Wiig, H. (2014). Lymphatic function and responses in periodontal disease. *Experimental Cell Research*, 325, 130-137.
70. Chapple, I.L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 287-296.
71. Sorsa, T., Tjaderhane, L., Kontinen, Y.T. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of Medicine*, 38, 306-321.
72. Pöllänen, M.T., Salonen, J.I., Uitto, V.J. (2003). Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontology 2000*, 31, 12-31.
73. Tonetti, M.S., Imboden, M.A., Lang, N.P. (1998). Neutrophil migration into the gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. *Journal of Periodontology*, 69, 1139-1147.

74. Pietrzak, E.R., Savage, N.W., Aldred, M.J., Walsh, L.J. (1996). Expression of the E-selectin gene in human gingival epithelial tissue. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 25, 320-324.
75. Kasprzak, A., Surdacka, A., Tomczak, M., Konkol, M. (2013). Role of high endothelial postcapillary venules and selected adhesion molecules in periodontal diseases: a review. *Journal of Periodontal Research*, 48, 1-21.
76. Larjava, H., Koivisto, L., Heino, J., Hakkinen, L. (2014). Integrins in periodontal disease. *Experimental Cell Research*, 325, 104-110.
77. Larjava, H., Koivisto, L., Hakkinen, L., Heino, J. (2011). Epithelial integrins with special reference to oral epithelia. *Journal of Dental Research*, 90, 1367-1376.
78. Seymour, G.J., Gemmell, E., Reinhardt, R.A., Eastcott, J., Taubman, M.A. (1993). Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *Journal of Periodontal Research*, 28, 478-486.
79. Uitto, V.J., Airola, K., Vaalamo, M. (2005). Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) expression is induced in oral mucosal epithelium during chronic inflammation. *American Journal of Pathology*, 152, 1489-1499.
80. Watanabe, I.S. (2004). Ultrastructures of mechanoreceptors in the oral mucosa. *Anatomical Science International*, 79, 55-61.
81. Pazgier, M., Hoover, D.M., Yang, D., Lu, W., Lubkowski, J. (2006). Human beta-defensins. *Cellular and Molecular Life Science*, 63, 1294-1313.
82. Wang, G., Mishra, B., Epanand, R.F., Epanand, R.M. (2014). High-quality 3D structures shine light on antibacterial, anti-biofilm and antiviral activities of human cathelicidin LL-37 and its fragments. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1838, 2160-2172.
83. Lehrer, R.I. (2004). Primate defensins. *Nature reviews. Microbiology*, 2, 727-738.

84. Ganz, T. (2004). Antimicrobial polypeptides. *Journal of Leukocyte Biology*, 75, 34-38.
85. Zeya, H.I., Spitznagel, J.K. (1963). Antibacterial and Enzymic Basic Proteins from Leukocyte Lysosomes: Separation and Identification. *Science*, 142, 1085-1087.
86. Diamond, G., Zasloff, M., Eck, H., Brasseur, M., Maloy, W.L., Bevins, C.L. (1991). Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: peptide isolation and cloning of a cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 88, 3952-3956.
87. Lehrer, R.I., Selsted, M.E., Szklarek, D., Fleischmann, J. (1983). Antibacterial activity of microbicidal cationic proteins 1 and 2, natural peptide antibiotics of rabbit lung macrophages. *Infection and Immunity*, 42, 10-14.
88. Gomes Pde, S., Fernandes, M.H. (2010). Defensins in the oral cavity: distribution and biological role. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 39, 1-9.
89. Zhang, X.L., Selsted, M.E., Pardi, A. (1992). NMR studies of defensin antimicrobial peptides. 1. Resonance assignment and secondary structure determination of rabbit NP-2 and human HNP-1. *Biochemistry*, 31, 11348-11356.
90. Pardi, A., Zhang, X.L., Selsted, M.E., Skalicky, J.J., Yip, P.F. (1992) NMR studies of defensin antimicrobial peptides. 2. Three-dimensional structures of rabbit NP-2 and human HNP-1. *Biochemistry*, 31, 11357-11364.
91. Ganz, T. (1987). Extracellular release of antimicrobial defensins by human polymorphonuclear leukocytes. *Infection and Immunity*, 55, 568-571.
92. Ayabe, T., Satchell, D.P., Wilson, C.L., Parks, W.C., Selsted, M.E., Ouellette, A.J. (2000). Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nature Immunology*, 1,113-118.
93. Tarver, A.P., Clark, D.P., Diamond, G. (1998). Enteric beta-defensin: molecular cloning and characterization of a gene with inducible intestinal epithelial cell

- expression associated with *Cryptosporidium parvum* infection. *Infection and Immunity*, 66, 1045-1056.
94. Harder, J., Bartels, J., Christophers, E., Schroder, J.M. (1997) A peptide antibiotic from human skin. *Nature*, 387, 861.
 95. Sparkes, R.S., Kronenberg, M., Heinzmann, C. (1989). Assignment of defensin gene(s) to human chromosome 8p23. *Genomics*, 5, 240-244.
 96. Harder, J., Siebert, R., Zhang, Y. (1997). Mapping of the gene encoding human beta-defensin-2 (DEFB2) to chromosome region 8p22-p23.1. *Genomics*, 46, 472-475.
 97. Rice, W.G., Ganz, T., Kinkade, J.M., Selsted, M.E., Lehrer, R.I., Parmley, R.T. (1987). Defensin-rich dense granules of human neutrophils. *Blood*, 70, 757-765.
 98. Joiner, K.A., Ganz, T., Albert, J., Rotrosen, D. (1989). The opsonizing ligand on *Salmonella typhimurium* influences incorporation of specific, but not azurophil, granule constituents into neutrophil phagosomes. *The Journal of Cell Biology*, 109, 2771-2782.
 99. Liu, L., Roberts, A.A., Ganz, T. (2003). By IL-1 signaling, monocyte-derived cells dramatically enhance the epidermal antimicrobial response to lipopolysaccharide. *Journal of Immunology*, 170, 575-580.
 100. Tsutsumi-Ishii, Y., Nagaoka, I. (2003). Modulation of human beta-defensin-2 transcription in pulmonary epithelial cells by lipopolysaccharide-stimulated mononuclear phagocytes via proinflammatory cytokine production. *Journal of Immunology*, 170, 4226-4236.
 101. Sorensen, O.E., Cowland, J.B., Theilgaard-Monch, K., Liu, L., Ganz, T., Borregaard, N. (2003). Wound healing and expression of antimicrobial peptides/polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors. *Journal of Immunology*, 170, 5583-5589.
 102. Garcia, J.R., Krause, A., Schulz, S. (2001). Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *The FASEB Journal*, 15, 1819-1821.

103. Larrick, J.W., Hirata, M., Balint, R.F., Lee, J., Zhong, J., Wright, S.C. (1995) Human CAP18: a novel antimicrobial lipopolysaccharide-binding protein. *Infection and Immunity*, 63, 1291-1297.
104. Yamasaki, K., Schaubert, J., Coda, A. (2006). Kallikrein-mediated proteolysis regulates the antimicrobial effects of cathelicidins in skin. *The FASEB Journal*, 20, 2068-2080.
105. Schaubert, J., Gallo, R.L. (2008). The vitamin D pathway: a new target for control of the skin's immune response? *Experimental Dermatology*, 17, 633-639.
106. Park, K., Elias, P.M., Oda, Y. (2011). Regulation of cathelicidin antimicrobial peptide expression by an endoplasmic reticulum (ER) stress signaling, vitamin D receptor-independent pathway. *The Journal Biological Chemistry*, 286, 34121-34130.
107. Diamond, G., Ryan, L. (2011). Beta-defensins: what are they really doing in the oral cavity? *Oral Diseases*, 17, 628-635.
108. Abiko, Y., Saitoh, M., Nishimura, M., Yamazaki, M., Sawamura, D., Kaku, T. (2007). Role of beta-defensins in oral epithelial health and disease. *Medical Molecular Morphology*, 40, 179-184.
109. Hancock, R.E., Chapple, D.S. (1999). Peptide antibiotics. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 43, 1317-1323.
110. Motzkus, D., Schulz-Maronde, S., Heitland, A. (2006). The novel beta-defensin DEFB123 prevents lipopolysaccharide-mediated effects in vitro and in vivo. *The FASEB Journal*, 20, 1701-1702.
111. Lee, S.H., Jun, H.K., Lee, H.R., Chung, C.P., Choi, B.K. (2010). Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralising activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens. *International Journal Antimicrobial Agents*, 35, 138-145.
112. Campos, M.A., Vargas, M.A., Rigueiro, V., Llompart, C.M., Alberti, S., Bengoechea, J.A. (2004). Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and Immunity*, 72, 7107-7114.

113. Lu, Q., Darveau, R.P., Samaranayake, L.P., Wang, C.Y., Jin, L. (2009). Differential modulation of human beta-defensins expression in human gingival epithelia by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide with tetra- and penta-acylated lipid A structures. *Innate Immunity*, 15, 325-335.
114. Otto, M. (2006). Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 306, 251-258.
115. Turner, J., Cho, Y., Dinh, N.N., Waring, A.J., Lehrer, R.I. (1998). Activities of LL-37, a cathelin-associated antimicrobial peptide of human neutrophils. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, 2206-2214.
116. Vandamme, D., Landuyt, B., Luyten, W., Schoofs, L. (2012). A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cellular Immunology*, 280, 22-35.
117. Yeung, A.T., Gellatly, S.L., Hancock, R.E. (2011). Multifunctional cationic host defence peptides and their clinical applications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68, 2161-2176.
118. Nagaoka, I., Hirota, S., Niyonsaba, F. (2002). Augmentation of the lipopolysaccharide-neutralizing activities of human cathelicidin CAP18/LL-37-derived antimicrobial peptides by replacement with hydrophobic and cationic amino acid residues. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9, 972-982.
119. Yin, L., Chino, T., Horst, O.V. (2010). Differential and coordinated expression of defensins and cytokines by gingival epithelial cells and dendritic cells in response to oral bacteria. *BMC Immunology*, 11, 37.
120. Eskin, M.A., Benakanakere, M.R., Rose, B.G. Interleukin-1beta modulates proinflammatory cytokine production in human epithelial cells. *Infection and Immunity*, 76, 2080-2089.
121. Scott, M.G., Davidson, D.J., Gold, M.R., Bowdish, D., Hancock, R.E. (2002). The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *Journal of Immunology*, 169, 3883-3891.

122. Campbell, E.L., Serhan, C.N., Colgan, S.P. (2011). Antimicrobial aspects of inflammatory resolution in the mucosa: a role for proresolving mediators. *Journal of Immunology*, 187, 3475-3481.
123. Yang, D., Biragyn, A., Hoover, D.M., Lubkowski, J., Oppenheim, J.J. (2004). Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. *Annual Review of Immunology*, 22, 181-215.
124. Jin, L. (2011). An update on innate defense molecules of human gingiva. *Periodontology 2000*, 56, 125-142.
125. Bissell, J., Joly, S., Johnson, G.K. (2004). Expression of beta-defensins in gingival health and in periodontal disease. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 33, 278-285.
126. Dunsche, A., Acil, Y., Siebert, R., Harder, J., Schroder, J.M., Jepsen, S. (2001). Expression profile of human defensins and antimicrobial proteins in oral tissues. *Journal Oral Pathology and Medicine*, 30, 154-158.
127. Dunsche, A., Acil, Y., Dommisch, H., Siebert, R., Schroder, J.M., Jepsen, S. (2002). The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *European Journal of Oral Sciences*, 110, 121-124.
128. Lu, Q., Jin, L., Darveau, R.P., Samaranayake, L.P. (2004). Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 39, 221-227.
129. Putsep, K., Carlsson, G., Boman, H.G., Andersson, M. (2002). Deficiency of antibacterial peptides in patients with morbus Kostmann: an observation study. *The Lancet*, 360, 1144-1149.
130. Hart, T.C., Hart, P.S., Bowden, D.W. (1999). Mutations of the cathepsin C gene are responsible for Papillon-Lefevre syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 36, 881-887.
131. Turkoglu, O., Kandiloglu, G., Berdeli, A., Emingil, G., Atilla, G. (2011). Antimicrobial peptide hCAP-18/LL-37 protein and mRNA expressions in different periodontal diseases. *Oral Diseases*, 17, 60-67.

132. Teeuw, W.J., Gerdes, V.E., Loos, B.G. (2010). Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 33, 421-427.
133. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. National Diabetes Data Group. (1979). *Diabetes*, 28, 1039-1057.
134. Kerner, W., Bruckel, J. (2014). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 122, 384-386.
135. Taylor, G.W. (2001). Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 6, 99-112.
136. Frier, B.M. (2014). Hypoglycaemia in diabetes mellitus: epidemiology and clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 10, 711-722.
137. Gurav, A.N. (2012). Periodontitis and insulin resistance: casual or causal relationship? *Diabetes and Metabolism Journal*, 36, 404-411.
138. Mealey, B.L. (2000). Diabetes and periodontal disease: two sides of a coin. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 21, 943-946.
139. Mealey, B.L., Rose, L.F. (2008). Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 15, 135-141.
140. Mealey, B.L., Ocampo, G.L. (2007). Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontology 2000*, 44, 127-153.
141. Arora, P., Garcia-Bailo, B., Dastani, Z. (2011). Genetic polymorphisms of innate immunity-related inflammatory pathways and their association with factors related to type 2 diabetes. *BMC Medical Genetics*, 12, 95.
142. Waugh, N.R., Shyangdan, D., Taylor-Phillips, S., Suri, G., Hall, B. (2013). Screening for type 2 diabetes: a short report for the National Screening Committee. *Health Technology Assessment*, 17, 1-90.

143. Palumbo, P.J. (2001). Glycemic control, mealtime glucose excursions, and diabetic complications in type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clinic Proceedings*, 76, 609-618.
144. Gavin, J.R. (1998). 3rd. New classification and diagnostic criteria for diabetes mellitus. *Clinical Cornerstone*, 1, 1-12.
145. Kowall, B., Rathmann, W. (2013). HbA1c for diagnosis of type 2 diabetes. Is there an optimal cut point to assess high risk of diabetes complications, and how well does the 6.5% cutoff perform? *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity : Targets and Therapy*, 6, 477-491.
146. Florkowski, C. (2013). HbA1c as a Diagnostic Test for Diabetes Mellitus - Reviewing the Evidence. *The Clinical Biochemistry Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists*, 34, 75-83.
147. Graves, D.T., Liu, R., Oates, T.W. (2007). Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis: impact on periodontal pathosis. *Periodontology 2000*, 45, 128-137.
148. Sandberg, G.E., Sundberg, H.E., Fjellstrom, C.A., Wikblad, K.F. (2000). Type 2 diabetes and oral health: a comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 50, 27-34.
149. Taylor, G.W., Borgnakke, W.S. (2008). Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Diseases*, 14, 191-203.
150. Taylor, G.W., Burt, B.A., Becker, M.P. (1998). Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *Journal of Periodontology*, 69, 76-83.
151. Gusberti, F.A., Syed, S.A., Bacon, G., Grossman, N., Loesche, W.J. (1983). Puberty gingivitis in insulin-dependent diabetic children. I. Cross-sectional observations. *Journal of Periodontology*, 54, 714-720.
152. Karjalainen, K.M., Knuutila, M.L. (1996). The onset of diabetes and poor metabolic control increases gingival bleeding in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 1060-1067.

153. Cutler, C.W., Machen, R.L., Jotwani, R., Iacopino, A.M. (1999). Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia. *Journal of Periodontology*, 70, 1313-1321.
154. Tsai, C., Hayes, C., Taylor, G.W. (2002). Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 30, 182-192.
155. Lalla, E., Lamster, I.B., Drury, S., Fu, C., Schmidt, A.M. (2000). Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology 2000*, 23, 50-62.
156. Soskolne, W.A., Klinger, A. (2001). The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 6, 91-98.
157. Southerland, J.H., Taylor, G.W., Moss, K., Beck, J.D., Offenbacher, S. (2006). Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontology 2000*, 40, 130-143.
158. Chavakis, T., Bierhaus, A., Nawroth, P.P. (2004). RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. *Microbes and Infection*, 6, 1219-1225.
159. Yeh, C.H., Sturgis, L., Haidacher, J. (2001). Requirement for p38 and p44/p42 mitogen-activated protein kinases in RAGE-mediated nuclear factor-kappaB transcriptional activation and cytokine secretion. *Diabetes*, 50, 1495-1504.
160. Alberti, K.G., Zimmet, P.Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 15, 539-553.
161. Löe, H. (1967). The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology*, 38, 610-616.
162. Nowicki, D., Vogel, R.I., Melcer, S., Deasy, M.J. (1981). The gingival bleeding time index. *Journal of Periodontology*, 52, 260-262.

163. Suzuki, S., Koga, M. (2014). Glycemic control indicators in patients with neonatal diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 5, 198-208.
164. Weykamp, C. (2013). HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Annals of Laboratory Medicine*, 33, 393-400.
165. Chapple, I.L., Genco, R. (2013). working group 2 of the joint EFPAAPw. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Periodontology*, 84, 106-112.
166. Gosselin, F., Magloire, H., Joffre, A., Portier, M.M. (1990). Cytokeratins as molecular markers in the evaluation of the precise differentiation stage of human gingival epithelium reconstituted in vitro. *Archives of Oral Biology*, 35, 217-221.
167. Ouhayoun, J.P., Gosselin, F., Forest, N., Winter, S., Franke, W.W. (1985). Cytokeratin patterns of human oral epithelia: differences in cytokeratin synthesis in gingival epithelium and the adjacent alveolar mucosa. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 30, 123-129.
168. Hatakeyama, S., Yaegashi, T., Oikawa, Y. (2006). Expression pattern of adhesion molecules in junctional epithelium differs from that in other gingival epithelia. *Journal of Periodontal Research*, 41, 322-328.
169. Presland, R.B., Dale, B.A. (2000). Epithelial structural proteins of the skin and oral cavity: function in health and disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 11, 383-408.
170. Mackenzie, I.C., Rittman, G., Gao, Z., Leigh, I., Lane, E.B. (1991). Patterns of cytokeratin expression in human gingival epithelia. *Journal of Periodontal Research*, 26, 468-478.
171. Pritlove-Carson, S., Charlesworth, S., Morgan, P.R., Palmer, R.M. (1997). Cytokeratin phenotypes at the dento-gingival junction in relative health and inflammation, in smokers and nonsmokers. *Oral Diseases*, 3, 19-24.
172. Shimono, M., Ishikawa, T., Enokiya, Y. (2003). Biological characteristics of the junctional epithelium. *Journal of Electron Microscopy*, 52, 627-639.

173. Dale, B.A., Kimball, J.R., Krisanaprakornkit, S. (2001). Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *Journal of Periodontal Research*, 36, 285-294.
174. Supp, D.M., Karpinski, A.C., Boyce, S.T. (2004). Expression of human beta-defensins HBD-1, HBD-2, and HBD-3 in cultured keratinocytes and skin substitutes. *Burns*, 30, 643-648.
175. Diamond, D.L., Kimball, J.R., Krisanaprakornkit, S., Ganz, T., Dale, B.A. (2001). Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *Journal of Immunology Methods*, 256, 65-76.
176. Taguchi, Y., Imai, H. (2006). Expression of beta-defensin-2 in human gingival epithelial cells in response to challenge with *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Journal of Periodontal Research*, 41, 334-339.
177. Wenghoefer, M., Pantelis, A., Dommisch, H. (2008) Nuclear hBD-1 accumulation in malignant salivary gland tumours. *BMC Cancer*, 8, 290.
178. De Falco, G., Bagella, L., Claudio, P.P. (2000). Physical interaction between CDK9 and B-Myb results in suppression of B-Myb gene autoregulation. *Oncogene*, 19, 373-379.
179. Kuula, H., Salo, T., Pirila, E. (2008). Human beta-defensin-1 and -2 and matrix metalloproteinase-25 and -26 expression in chronic and aggressive periodontitis and in peri-implantitis. *Archives of Oral Biology*, 53, 175-186.
180. Vardar-Sengul, S., Demirci, T., Sen, B.H., Erkizan, V., Kurulgan, E., Baylas, H. (2007). Human beta defensin-1 and -2 expression in the gingiva of patients with specific periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research*, 42, 429-437.
181. Page, R.A., Malik, A.N. (2003). Elevated levels of beta defensin-1 mRNA in diabetic kidneys of GK rats. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 310, 513-521.
182. Froy, O., Hananel, A., Chapnik, N., Madar, Z. (2007). Differential effect of insulin treatment on decreased levels of beta-defensins and Toll-like receptors in diabetic rats. *Molecular Immunology*, 44, 796-802.

183. Nakamichi, Y., Horibe, K., Takahashi, N., Udagawa, N. (2014). Roles of cathelicidins in inflammation and bone loss. *Odontology*, 102, 137-146.
184. McCrudden, M.T., Orr, D.F., Yu, Y. (2013) LL-37 in periodontal health and disease and its susceptibility to degradation by proteinases present in gingival crevicular fluid. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 933-941.
185. Rivas-Santiago, B., Trujillo, V., Montoya, A. (2012). Expression of antimicrobial peptides in diabetic foot ulcer. *Journal of Dermatological Science*, 65, 19-26.
186. Yin, J., Yu, F.S. (2010). LL-37 via EGFR transactivation to promote high glucose-attenuated epithelial wound healing in organ-cultured corneas. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 51, 1891-1897.
187. Mansour, S.C., Pena, O.M., Hancock, R.E. (2014). Host defense peptides: front-line immunomodulators. *Trends in Immunology*, 35, 443-450.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580
E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Sayı: B.30.2.HAC.0.05.07.00/8

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 12 ARALIK 2012 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2012/12
Proje No : LUT 12/129 (Değerlendirme Tarihi 19.10.2012)
Karar No : LUT 12/129 - 22

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, öğretim üyelerinden Doç. Dr. Güliz N. Güncü'nün sorumlu araştırmacı olduğu Prof. Dr. Feriha Çağlayan ve Doç. Dr. Ulvi Kahraman Gürsoy ile birlikte çalışacakları Dt. Doğukan Yılmaz'ın tezi olan LUT 12/129 kayıt numaralı ve **"Gingival Defensinlerin Yara İyileşmesindeki ve Diabetes Mellitus'taki Rollerinin Değerlendirilmesi"** başlıklı proje önerisi Kurulumuzda değerlendirilmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan) | 9 Prof. Dr. Songül Vaizoğlu (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye) | 10. Prof. Dr. Melahat Görduysus (Üye) |
| 3. Prof. Dr. Hakan Ş. Orer (Üye) | 11. Doç. Dr. R. Köksal Özgül (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Sevda I. Müftüoğlu (Üye) | 12. Doç. Dr. Cansın Saçkesen (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye) | 13 Doç. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye) |
| 6. Prof. Dr. Kafiye Eroğlu (Üye) | 14. Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal (Üye) | 16. Av. Meltem Onurlu (Üye) |