

Periodontal Diagnostik Biyobelirteç Olarak Diş Eti Oluğu Sıvısındaki Konak Kaynaklı Enzimler-Bölüm 2

Host Derived Enzymes in Gingival Crevicular Fluid as a Periodontal Diagnostic Biomarker-Part 2: Review

Özge GÖKTÜRK,^a
Hümeyra AYDEMİR TURKAL,^a
Fatma UÇAN YARKAÇ,^a
Feyza TÜLÜ^a

^aPeriodontoloji AD,
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi, Tokat

Geliş Tarihi/Received: 20.10.2015
Kabul Tarihi/Accepted: 26.05.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:
Özge GÖKTÜRK
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji AD, Tokat,
TÜRKİYE/ TURKEY
ozge.gokturk@gop.edu.tr

ÖZET Bu çalışma, diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) periodontal hastalık tanısının konulmasına yardımcı olan konak kaynaklı enzimlere ve onların inhibitörlerine odaklanılan çalışmanın ikinci kısmıdır. Bu çalışma "Pubmed" veri tabanında periodontal hastalık, diş eti oluğu sıvısı ve enzimler anahtar kelimele-riyle araştırılan, 1985-2015 yılları arasında yayınlanmış makaleler incelenerek hazırlanmıştır. Periodontit birleşim epitelinin apikale göçü nedeni ile oluşan periodontal cep formasyonu ile birlikte, dişin etrafındaki kemik ve bağ dokunun kayıpla karakterize bir hastalıktır. Periodontiti başlatan her ne kadar bakteri olsa da kompleks mikroflora ve bakteri atağına karşı konak yanıtı da periodontiti etkiler ve spesifik hastalık belirteçlerinin tanımlanmasını zorlaştırır. Periodontal hastalıkların tanısında kullanılan sondalamada kanama, sondalama derinliği, klinik ataşman seviyesi ve radyografik kemik seviyesi gibi klinik parametreler, mevcut hastalık aktivitesinden ziyade, geçirilmiş periodontal hastalık tanısına yardımcı olurlar. Bu nedenle periodontal hastalığın tanısında ve periodontal tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde diş eti oluğu sıvısında bulunan konak hücresi kaynaklı inflamatuvar doku yanıtı ve bakteriyel ürünlerden yararlanılır. Bu yüzden bu çalışmada, immünglobulin parçalayıcı proteazları, glukozidazi, dipeptidil peptidazi, spesifik olmayan nötral proteinazları, metalloproteinazları, metalloproteinaz doku inhibitörünü, miyeloperoksidazi, laktat dehidrogenazi, arilsülfatazi, β-N-asetil hekzoaminidazi içeren konak kaynaklı enzimlere ve onların inhibitörlerine odaklanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Periodontal hastalıklar; diş eti oluğu sıvısı; enzimler

ABSTRACT This article is the second part of a review of studies on the host-derived enzymes and their inhibitors which helps the diagnosis of periodontal disease in gingival crevicular fluid (GCF). This review is prepared the articles, which researched with periodontal disease, gingival crevicular fluid and enzymes from PUBMED database, published between 1985-2015. Periodontitis is characterized by loss combination of bone and connective tissue around the tooth with periodontal pocket formation occurring disease due to apical migration of epithelium. Although periodontitis is started by many bacteria, complex microflora and the host response against bacterial attack affects periodontitis and makes it difficult to identify specific disease marker. Clinical parameters including such as bleeding on probing, probing depth, clinical attachment level and radiographic bone levels which used in the diagnosis of periodontal disease, because it helps in the diagnosis of previously periodontal disease rather than the current disease activity. Therefore, bacterial products and host-derived inflammatory tissue response in the GCF are used to evaluate the diagnosis of periodontal disease and the effectiveness of periodontal treatment. So that in this review focuses on some of the host-derived enzymes and their inhibitors enzymes including immunoglobulin degrading proteases, glucosidase, dipeptidyl peptidase, nonspecific neutral proteinases, metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases, myeloperoxidase, lactate dehydrogenase, arylsulfatase, β-N-acetyl hexosaminidase.

Key Words: Periodontal diseases; gingival crevicular fluid; enzymes

Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2016;22(3):217-24

doi: 10.5336/dentalsci.2015-48378

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Periodontal hastalık, diş ve destek dokulara yıkımla karakterize enfeksiyöz bir durumdur. Dişleri çevreleyen ve destekleyen dokuların jiniyal sulkusta biriken mikrobiyal plaktaki mikroorganizmalara

karşı oluşturdukları lokalize inflamatuvar reaksiyonlarla başlar.^{1,2} Periodontal hastalıkların tanısına yardımcı olan diş eti oluğu sıvısı (DOS)'nın kompozisyonu, periodontal doku hücrelerine ve diş yüzeyine tutunan bakteriyel biyofilm arasındaki etkileşim sonucu, serum ve doku yıkım ürünlerinden, inflamatuvar mediyatörler ve dental plak bakterilerine karşı üretilen materyallerden oluşur. DOS'daki spesifik bileşenlerin analizi, bir kişinin periodontal sağlık durumunu ve periodontal dokularda devam eden olayları yansıtan, lokal hücre metabolizmasının değerlendirilmesinde kantitatif biyokimyasal bir indikatördür. Periodontitten etkilenen hastaların DOS'undaki bu biyokimyasal belirteçlerin kompozisyonundaki niteliksel değişimler diagnostik ve terapötik bir öneme sahip olabilir.³⁻⁵

Bu çalışmanın ikinci kısmında, periodontal bir tanıtıcı belirteç olarak DOS'daki konak kaynaklı enzimler ve onların inhibitörlerinden immünglobulin (Ig) parçalayıcı proteazlara, glukozidaza, dipeptidil peptidaz (DPP)'a, spesifik olmayan nötral proteazlara, metalloproteinazlara, metalloproteinaz doku inhibitörüne, miyeloperoksidaz (MPO)'a, laktat dehidrojenaz (LDH)'a, arilsülfataza, beta-N-asetil hekzoaminidaz (β -NAH)'a değinilecektir (Tablo 1).

İMMÜNGLOBULİN PARÇALAYICI PROTEAZLAR

Bakterilerin konak savunmasını etkisiz hâle getirmek için kullandıkları diğer bir virülans faktörü de bakteri tarafından üretilen Ig parçalayıcı proteazlardır. Bu enzimler bazal membranda Ig'leri parçalayarak lokal konak doku yanıtına engel olur. Bakteri kolonizasyonunu kolaylaştırarak periodontal hastalıklara sebep olduğu için de önemlidir.⁶ Ig parçalayıcı enzimler enfeksiyöz hastalıklarla ilişkili patojenik türlerde görülmüştür. Periodontopatojenik organizmalara karşı DOS IgG antikoları, periodontal hastalıklı bireylerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek seviyelerde gözlenmiştir.⁷

GLUKOZİDAZ

Alfa-glukozidaz büyük karbonhidrat moleküllerini parçalayarak glukozu açığa çıkaran bir enzimdir.

TABLO 1: Bölüm 2'deki konak kaynaklı enzim ve inhibitörlerin DOS'ta tanıtıcı bir biyobelirteç olarak kullanıldığı çalışmalar.

İmmünglobulin parçalayıcı enzimler	Gregory ve ark. ⁷
Glukozidaz	Beighton ve ark. ⁸
Dipeptidil peptidazlar	Eley ve ark., ¹² Gazi ve ark. ¹⁴
Spesifik olmayan nötral proteazlar	Bader ve ark. ¹⁵
Kollajenazlar	
Matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1)	Cifcibasi ve ark. ²²
Matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3)	Mouzakiti ve ark. ²⁸
Matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8)	Cifcibasi ve ark., ²² Sorsa ve ark. ²⁶ , Leppilähti ve ark. ²⁷
Matriks metalloproteinaz-13 (MMP-13)	Mouzakiti ve ark. ²⁸
Jelatinazlar	
Matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2)	Uitto ve ark. ¹⁷
Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9)	Cifcibasi ve ark. ²² , Ertugrul ve ark. ³¹
Matriks metalloproteinaz-1 doku inhibitörü (TIMP-1)	Cifcibasi ve ark., ²² Mouzakiti ve ark. ²⁸
Miyeloperoksidaz	Yamalik ve ark., ³⁷ Kaner ve ark., ³⁸ Buchmann ve ark., ³⁹ Hernández ve ark., ⁴⁰ Marcaccini ve ark., ⁴¹
Laktat dehidrojenaz	Perinetti ve ark. ⁴² Tsalikis ve ark., ⁴⁴ Lamster ve ark. ⁴⁵
Arilsülfataz	Lamster ve ark. ^{45,46}
β -N-asetil hekzoaminidaz	Buchmann ve ark. ^{39,47,48}

Spesifik glukozidaz aktivitesi hem periodontitli hem de jinjivitli kişilerde DOS'dan alınan örneklerde belirlenmiştir ve periodontitli kişilerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Glukozidaz faaliyetlerinin ölçülmesi periodontal tedavinin etkililiğini görmek adına bir fikir verebilir. Enzim aktivitesinin belirlenmesinin, periodontal alanların klinik durumlarını belirleme spesifitesinin %91,9, sensitivitesinin ise %61,3 oranında olduğu belirtilmiştir.⁸

DİPEPTİDİL PEPTİDAZ

Dipeptidil peptidazlar (DPP) peptit hormonları yoluyla sinyallerin düzenlenmesindeki rolleri ile önemli bir proteaz ailesidir. DPP inhibitörleri ise özellikle diyabet, onkoloji ve hematolojide terapötik bir potansiyele sahiptir.⁹ DPP'ler, kollajeni

yıkma kapasitesine sahip olmasına rağmen, büyük olasılıkla ana işlevleri diğer enzimler, sitokinler ile diğer immün mediyatörlerin proformlarının aktivasyonunda yer almaktır.¹⁰

DPP II, genellikle asidik bir pH'da, sondan bir önceki pozisyonda prolin ya da alanin bulunan oligopeptitlerden, N-terminal dipeptitleri uzaklaştırarak, veziküler sistemde lokalize, hücre içi bir proteazdır.⁹ Periodontitli hastalarda, diş etindeki DPP II'nin aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. İmmünolojik hastalıklardaki DPP II aktivite artışı bilindiğinden, kronik periodontitin patogenezinde DPP II'nin de rolü olduğu öne sürülmüştür.¹¹

DOS'daki DPP II-IV seviyesi, konak kaynaklı olabildiği gibi bakteriden kaynaklı da olabilmektedir.¹⁰ Ataşman kaybı olmayan alanlara göre, hızlı ve daha yavaş ataşman kaybının olduğu alanlarda DPP II-IV'ün toplam aktivitesinin ve konsantrasyonunun daha yüksek olduğu gözlenmiştir. DPP II-IV düzeylerinin ileri ataşman kaybı hakkında belirleyiciler olabileceği belirtilmiştir.¹²

İnflamasyon sırasında, lökositlerden periodontal dokulara proteolitik enzimler salınır ve epitelium ile bağ dokunun yapısal hücrelerini aktive eder. Periodontal dokunun en büyük bileşenlerinden olan Tip 1 kollajen, baskın olarak glisin (Gly)-prolin (Pro)-X'den oluşmaktadır. DPP IV serin proteinazdır ve polipeptit zincirin N-terminal kısmını X-prolin veya X-alanin dipeptid'e ayırarak kollajen yıkımına katkıda bulunur. DOS'daki makrofajlar ve T-lenfositlerden DPP IV'ün izole edilmesi, bu biyolojik sıvıdaki enzim aktivitesinin kısmen kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Periodontal sağlıklı kontrollere kıyasla kronik periodontitli hastalarda, DPP IV aktivitesi daha yüksek seviyelerde bulunmuştur.¹³ Periodontal hastalık şiddetini gösteren klinik indeksler ile DOS'daki DPP IV aktivitesi doğru orantılıdır.¹⁴

Elastaz benzeri enzimler, tripsin benzeri proteinazlar, aminopeptidazlar ve dipeptidil peptidazlar gibi kollajeni yıkabilen bu proteolitik enzimler, mikroorganizmalar tarafından da üretilebilirler ve bu enzimler periodonsiyum yıkımında önemli rol oynayabilirler. DPP IV aktivitesi yaygın olarak

ökaryotlarda bulunsa da bakterilerde bu enzim sadece *P. gingival* ve *Chryseobacterium* (eski adıyla *Flavobacterium*) meningosepticum'da bulunmaktadır. Ayrıca, *P. gingival* DPP IV periodontal dokulardaki bağ dokunun yıkımında rol oynayan konak kaynaklı matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve matriks metalloproteinaz (MMP-1) aktivitesini de artırmaktadır.¹³

SPESİFİK OLMAYAN NÖTRAL PROTEİNAZLAR

Proteazlar, en aktif oldukları pH derecelerine göre [asidik, nötr ve bazik (alkali) proteazlar] de sınıflandırılır ve spesifik olmayan nötral proteinazlar pH 7 civarında maksimum aktivite gösterirler. Bu proteazlar, bağ dokusundaki kollajen, elastin ve proteoglikanı içeren matriks makro moleküllerini yıkabilen bir enzim ailesidir. Bu aileye MMP'ler, katepsin benzeri enzimler ve bir serin proteinaz olan nötrofil elastaz da dâhildir.¹⁵ Nötral proteazların DOS'da bulunması, periodontal hastalıkların önemli bir özelliği olan kollajen yıkımını işaret etmektedir.¹⁶

MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

MMP'ler proteinazların en önemli ailesini oluştururlar. MMP'ler, çinkoya bağımlı, fizyolojik pH ve sıcaklıkta aktif olan, nötral bir endopeptidaz enzim ailesidir. Bazal membran ve hücre dışı matriksin tüm elemanlarını yıkabilme özelliğine sahiptirler. Bu grup 23 enzimden oluşur ve kollajenazlar, jela-tinazlar, stromelisinler, membran tipi MMP ve diğer MMP'ler şeklinde sınıflandırılırlar. Fizyolojik ve patolojik doku yıkımında önemli bir rol oynarlar.¹⁷

İnflamatuar hücre fonksiyonu, diş sürmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez ve kemik yapımı gibi fizyolojik süreçlere dâhil olurlar.¹⁸ Bazı MMP'ler, hücre yanıtını ayarlamak için metabolik düzenleyici olarak da hareket ederler. Periodontal hastalıklar sırasında yıkım alanlarında oldukları gibi periodontal dokuların normal "turn-over"ına da katılırlar. Bağ doku matriksinin yıkımını başlatıp tamamlayabilecek çeşitli MMP'leri normal ve iltihaplı periodontal dokudaki çoğu hücre sentezler.

MMP'lerin ana endojen inhibitörleri, MMP doku inhibitörleridir.¹⁷

MMP'ler, normal doku "turn-over"ı, büyüme veya organogenez boyunca hücre dışı matriks proteinlerinin yıkımından sorumludur. Normalde dokularda MMP'lerin ekspresyonu ve aktivitesi çok düşük olmakla birlikte, iltihabi hastalıklar, tümör büyümesi ve metastaz gibi çeşitli patolojik koşullarda aktivitesi önemli ölçüde artar ve istenmeyen doku tahribine yol açabilir. MMP'lerin yıkıcı periodontal hastalıklarda da belirgin bir rolü vardır. Hastalık alanlarında MMP'lerin varlığının ve aktivitelerinin artmasıyla ilgili istenmeyen doku yıkımına bilinen en iyi örnek, kollajenazların, özellikle MMP-8'in periodontit ve periimplantitteki rolüdür.¹⁹

Periodontal dokuların hücre dışı matriksi esas kollajenlerden oluşur; Tip III, IV, V ve VI ile birlikte en önemli bileşen Tip I kollajendir. Elastin, fibronektin, laminin, tenaskin, trombospondin, entaktin ve proteoglikanlar gibi kollajen olmayan proteinler de mevcuttur. Bu matriks bileşenlerinin çoğu MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 ve MMP-11 tarafından yıkıma uğrayabilir. Bu MMP'ler fibroblastlar tarafından salgılanır. MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9 ve MMP-13 de dâhil olmak üzere, MMP ailesinin çeşitli üyelerinin, periodontal doku yıkımında aktif şekilde rol aldığı kanıtlanmıştır.^{20,21}

MMP'ler, yapısal ve fonksiyonel özellikler bakımından alt gruplara ayrılırlar. En çok araştırma yapılan MMP'ler; MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, MMP-12 ve MMP-13'tür. MMP'lerin birkaç tipi, periodontal inflamasyonun şiddetinin artışı ile ilişkilidir. Periodontal hastalıkların ilerleyişinin düzenlenmesinde, bu moleküllerin payı olabilir.²² MMP'ler aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar (Tablo 2).²³

Matriks metalloproteinaz-1 (kollajenaz 1); fibroblastlardan salgılanır. Tip I ve Tip III kollajeni yıkıma uğratan majör proteolitik enzimdir.²⁴ Sağlıkta MMP-1, periodontal yıkımda bir başlatıcı olarak görev alabilir ve MMP-1'in aşırı ekspresyonu periodontit gibi patolojik koşullarda hızlandırılmış matriks bozulmasına neden olabilir. Ayrıca MMP-

1 gen polimorfizmi ile jeneralize agresif periodontit arasında bir ilişki olduğu da gösterilmiştir.²²

Matriks metalloproteinaz-8 (Kollajenaz-2); polimorfonükleer nötrofil (PMN)'lerden salgılanır.²² Nötrofilik kollajenaz olarak da bilinir. Bu enzim, özellikle tip I kollajen olmak üzere; Tip II ve Tip III, serin proteaz inhibitör (SERPİN)'ler ve alfa-2 makroglobulini yıkıma uğratar. Kollajenazların substrat özgünlüğü değişkendir. Periodontitli hastalarda ve hem periodontit hem de diyabeti olan hastalarda MMP-8 varlığı belirlenmiştir.²⁵

MMP-1 ve MMP-8 periodontal patogeneze anahtar oyuncu olarak kabul edilirler. DOS'daki yüksek MMP-8 seviyesi ile hastalığın şiddeti arasındaki açık ilişki ve tedavi sonrasında MMP-8 seviyesindeki düşüş çeşitli araştırmalar ile gösterilmiştir.^{26,27}

Matriks metalloproteinaz-13 (Kollajenaz 3); organik kemik matriksinin yıkımı ile kemik rezorpsiyonunun başlangıcında rol alır.²⁸ MMP-13 artritli hastalarda eklem kıkırdığında ve farklı karsinomlarda yüksek seviyelerde bulunur.²⁵ Diş eti fibroblastlarından MMP-13 salınımı, diş eti yaralarının iyileşmesi sırasında kollajenöz hücre dışı matriksin hızla yeniden yapılanmasında önemli bir rol oynayarak, yaranın en az skar ile iyileşmesini sağlar.²⁹

Matriks metalloproteinaz-2 (jelatinaz A) ve matriks metalloproteinaz-9 (jelatinaz B)'un; periodontit ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Kronik periodontitli hastaların DOS ve dişetlerinde MMP-2 ve MMP-9'un artmış seviyeleri bulunmuştur. Periodontal tedaviden sonra bu proteinlerin aşırı ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir.³⁰ MMP-2, fibroblastlardan ve epitel hücrelerinden salgılanır.¹⁷ MMP-9, denatüre kollajenler (jelatin), Tip IV, V ve XI kollajen, proteoglikan ve elastinlere etki eder. Aynı zamanda periodontal hastalık ve sağlık arasındaki dengede önemli bir rol oynayabilir. Periodontal dokuda, osteoklastlar ve PMN'lerden salınır.³¹ MMP-2, -9 ve -13 erişkin kronik periodontitlilere ve sağlıklı kontrollere oranla agresif periodontitli çocukların hastalıklı alanlarında önemli ölçüde yüksek bulunmuştur.²²

Matriks metalloproteinaz-3 (stromelisin 1); proteoglikanları, Tip IV ve Tip V kollajeni, fibro-

TABLO 2: Matriks metalloproteinaz enzimlerinin substrat özgülüğüne göre sınıflandırılması.²³

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen tip 1, 2, 3
	Kollajenaz 4	MMP-18	Kollajen tip 1
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi, MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP(Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır

PG: Proteoglikan; FN: Fibronektin; VN: Vitronektin, MMP: Matriks metalloproteinaz.

nektini, denatüre Tip I kollajen ve laminini parçalayabilmektedir. Ayrıca pro-matriks metalloprotein (proMMP-1)'i aktive eder.²⁸

Matriks metalloproteinaz-7 (matrilisin); bilinen MMP'lerin en küçüğüdür. Üretilen ve hasara yanıt üzerine salınan diğer MMP'lerin aksine MMP-7, hasarlı olmayan ekzokrin ve mukoza epitelinde üretilir. Periodontal hastalıklarda MMP-7'nin DOS'a erken savunma amaçlı salındığı düşünülmektedir.²⁵

Matriks metalloproteinaz- (matrilisin 2); MMP ailesinin en küçük üyelerinden biridir.²⁶ Makrofaj ve PMN'ler gibi proinflamatuvar hücrelerden salgılanır. Fibronektin, vitronektin, jelatin ve Tip IV kollajen gibi hücre dışı matriks bileşenlerini ve fib-

rinojeni parçalayabilir. MMP-25 PMN'lerden salgılanır. Hücre yüzeyinde bulunur ve membran Tip MMP'ler alt grubuna dahildir. Fibronektin, jelatin ve Tip IV kollajeni parçalayabilir. MMP-25 ve MMP-26'nın jinvial ve implant çevresi enflamasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁸

Hücre dışı matriks metalloproteinaz indükleyici (EMMPRIN) ya da CD 147, 45-55 kDa'lık bir yüksek ölçüde glikolize olmuş plazma membranına bağlı glikoproteindir. İki Ig süper aile alanı içerir; bir transmembran alanı ile bir sitoplazmik alan. EMMPRIN tümör hücrelerinin yüzeyinde tanımlanmıştır. Endotel hücreleri ve fibroblastlar tarafından MMP'lerin üretimini ve salıverilmesini tetikleyerek tümörün ilerlemesi ve invazyonunu

uyarabilir. EMMPRIN, hücre göçü ve hücre-hücre etkileşimlerinde rol oynayabilir. Metalloproteinaz doku inhibitör [tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP)]'leri üzerine etki etmeksizin, MMP-1, MMP-2, ve MMP-3 üretimini uyarabilir. EMMPRIN, kollajenolitik dengeyi, MMP kaskadının üretimi ve aktivasyonu lehine bozabilir.³²

METALLOPROTEİNAZ DOKU İNHİBİTÖRÜ

MMP'lerin hücre dışı proteolizinin kontrolü, organizmanın hayatta kalması için kritik önemdedir.³³ Çünkü MMP'ler potansiyel doku yok edicidirler ve aktiviteleri sıkı bir şekilde, farklı seviyelerde kontrol edilmelidir.¹⁷ Bu işlem çeşitli inhibitörlerin etkileşimi ile gerçekleştirilir. Hücre dışı matriks yıkımını sınırlayan ve MMP aktivitesini engelleyen ana inhibitör, TIMP'dir. TIMP ailesinin dört üyesi ile MMP'lerin enzim aktivitesinin spesifik inhibisyonu sağlanabilir. Ayrıca, α -2 makroglobulin de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alır. α -2 makroglobulin bir plazma proteindir ve MMP'lerin dolaşım sıvılarındaki güçlü inhibitördür.³³ MMP aktivitesi ve TIMP arasındaki denge sağlıklı dokuların bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar.³⁴ Bu işlem sağlıklı ve normal doku yapısı muhafaza edilebildiği sürece devam eden fizyolojik bir olaydır. Doku yıkımı, MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengesizlik ile ilişkilidir.²² Dengenin bozulması hastalığın ilerlemesi ile bağlantılıdır.³⁴

İnsanlarda TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere tanımlanmış dört TIMP türü bulunmaktadır.³³

TIMP-1, 30 kDa'lık bir glikoproteindir ve MMP'lerin ana inhibitörüdür. Çoğu hücre tarafından sentezlenebilir. TIMP-1, MMP aktivitesini ve fonksiyonunu düzenler. MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9 ve MMP-13'ü inhibe edebilir. MMP'lerin aktif formları ile yüksek afinite gösterir. MMP inhibisyonundan başka biyolojik fonksiyonlara da sahiptir. Antiapoptotik aktivitesi ve eritroid güçlendirici aktivitesi vardır.²⁸ Sağlık ve inflamasyon durumlarında MMP-1'in aktivitesinin düzenlenmesi TIMP-1 ile kontrol edilir. MMP-1/TIMP-1 oranının yara iyileşmesinin göstergesi olduğu öne-

rılmıştır. Ayrıca, bu oranın cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası azaldığı gösterilmiştir.²²

TIMP'lerin değişik MMP türlerine göre de özgülük gösterdiği kanıtlanmış olmasa da MMP-2 tercihen TIMP-2 ile MMP-9 ise TIMP-1 ile inhibe edilir.³⁵ TIMP seviyelerinin periodontit gruplarında, kontrol gruplarına göre azaldığı bulunmuştur. Azalan TIMP seviyesinin periodontal ataşman kaybı ile de ilişkili olabileceği belirtilmiştir.³⁶

MİYELOPEROKSİDAZ

MPO, PMN'lerin azurofilik granüllerinin önemli bileşenlerinden biridir. Antibakteriyel bir enzim olarak nitelendirilir.³⁷ MPO, klor iyonu gibi bir halid varlığında, fagolizozomlardaki hidrojen peroksid (H_2O_2) hipokloröz aside (HOCl) dönüştürür. HOCl, güçlü bir oksidan ve en etkili antimikrobiyal ajanlardan biridir.^{37,38} Antimikrobiyal etki potansiyeline sahip, MPO-hidrojen peroksit-klorit sistemi, PMN aracılı doğal immün yanıtın bir parçasıdır.³⁹ PMN infiltrasyonunun bir göstergesi olan DOS'daki MPO, periodontal hastalığın şiddetiyle ilişkilidir. Kronik periodontite kıyasla jeneralize agresif periodontitte, PMN'lerin aktivitesinin yüksekliği, DOS'daki MPO'nun artmış seviyesi ile bağlantılıdır.³⁸ DOS'daki MPO seviyeleri periodontitin şiddetiyle ilişkilidir. İlerleyici kronik periodontitli hastalarda MPO'nun DOS'da yüksek seviyelerde olduğu ve tedavi sonrasında azaldığı rapor edilmiştir.⁴⁰

MPO'nun gelecek vadede bir periodontal inflamasyon belirteci olduğu ve periodontal hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Periodontal hastalıklı alanlarda MPO aktivitesinin artışı ve periodontal tedaviden sonra gözlenen düşüş, MPO'nun yıkıcı periodontal hastalıklardaki rolünü kanıtlamaktadır.⁴¹ MPO kataliz reaksiyonunun ürünü HOCl, α 1-proteaz inhibitörünü inaktive ederek, çoğu proteaz için en uygun koşulları sağlamış olur. Etkin olmayan proteazların aktivasyonu ve anti-proteazların inhibisyonu ile proteaz/anti-proteaz dengesi değişir ve bu dengenin bozulması bağ dokusu yıkımının önemli bir adımı olarak kabul edilir. Bu açıdan da proteazlar ve MPO işlevsel olarak ilişkili görünmektedir.³⁷

LAKTAT DEHİDROGENAZ

LDH, normalde hücrenin sitoplazması ile sınırlı olan bir enzimdir.⁴² İnsan vücudunun neredeyse her hücresinin sitoplazmasında saptanabilir. Sadece hücrenin ölümünü takiben hücre dışına bırakılır. Bu nedenle, hücre dışı varlığı her zaman hücre nekrozu ve doku parçalanması ile ilgilidir.⁴³ Çalışmalar, DOS'daki LDH aktivitesinin diş eti iltihabı ve periodontit sonucundaki doku yıkımı ile ilişkili olduğunu göstermiştir.⁴² Hücre ölümünü takiben LDH'nin periodontal dokulardan DOS'a geçmesi beklenir. Bu enzimin DOS seviyesi, periodontal dokudaki hücre ölümüne ve dolayısıyla hastalık aktivitesine kanıtlar sunmaktadır. Bu nedenle, hastalığın aktivitesinin potansiyel bir belirteci olarak incelenmiştir.⁴⁴ LDH anaerobik glikolitik yolun sitoplazmik bir enzimidir.⁴⁵ İnflame diş etinin anaerobik glikoliz karakteristiğindeki artışı yansıtır. Ancak DOS'daki LDH seviyesi ve periodontal hastalığın şiddeti arasında önemli bir korelasyon bulunmamıştır.⁴

ARİLSÜLFATAZ

Lizozomal bir enzim olan arilsülfataz, periodontal dokulardaki inflamasyonun derecesi için bir gösterge olarak kabul edilebilir. Mast hücreleri ve fibroblastlarda bulunur ve bu enzimin DOS'daki mutlak miktarı sulkustaki mevcut DOS'un hacmi ile ilişkilidir.⁴⁵ Arilsülfataz bağ dokusu ana madde yıkımına katılan lizozomal bir enzimdir. Sülfat esterlerinin hidrolizi ile proteoglikanların yıkı-

mına katılır. Özellikle kondroitin-4-sülfata etkilidir.⁴⁶

BETA-N-ASETİL-HEKZOAMİNİDAZ

Lizozomal bir asit hidrolaz olan β -N-asetilhekzoaminidaz (beta-NAH), diş etindeki inflamatuvar olaylar esnasında, nötrofillerin fagositozunu takiben DOS içine salınır.³⁹ Agresif periodontitte enfeksiyonlu alanlardaki DOS'daki β -NAH seviyelerinin yükseldiği ve tedavi sonrasında düştüğü gösterilmiştir. Tedavi edilmemiş agresif periodontitli hastalardaki artmış β -NAH seviyelerinin, periodontal destek kaybına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.⁴⁷ DOS'daki β -NAH ölçümleri periodontal tedavinin etkililiğini göstermede rol oynamaktadır.⁴⁸

SONUÇ

Periodontal hastalığın tanı ve tedavisinde DOS'un değerlendirilmesi önemlidir. DOS konak yanıtındaki Ig'leri, mikroorganizmaların toksinleri, hücreleri, lizozomal enzimleri ve periodontitten kaynaklanan immün ve inflamatuvar yanıtın belirteçleri olmak üzere çeşitli maddeleri içeren çoklu moleküler faktörleri taşır ve periodontal enfeksiyonda önemli koruyucu bir mekanizmadır. Periodontitin başlangıcını, patogenezi ve ilerleyişini gösteren mediyatörlerin anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. DOS biyobelirteçlerinin, mevcut literatüre dayanarak tedaviye yanıtta da hassas ve güvenilir sonuçların saptanmasına katkı sağladığı sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

1. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4(1):1-6.
2. American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *J Periodontol* 2000;71(5 Suppl):853-5.
3. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol* 2000 2004;34:109-19.
4. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *J Med Life* 2012;5(4):390-7.
5. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098: 216-29.
6. Jansen HJ, Grenier D, Van der Hoeven JS. Characterization of immunoglobulin G-degrading proteases of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10(3): 138-45.
7. Gregory RL, Kim DE, Kindel JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 1992;27(3):176-83.
8. Beighton D, Radford JR, Naylor MN. Glycosidase activities in gingival crevicular fluid in subjects with adult periodontitis or gingivitis. *Arch Oral Biol* 1992;37(5):343-8.
9. Maes MB, Scharpé S, De Meester I. Dipeptidyl peptidase II (DPPII), a review. *Clin Chim Acta* 2007;380(1-2):31-49.
10. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol* 2000 2005; 39:53-72.
11. Mizutani T, Mizutani H, Kaneda T, Hagihara M, Nagatsu T. Activity of dipeptidyl peptidase II and dipeptidyl peptidase IV in human gingiva with chronic marginal periodontitis. *Arch Oral Biol* 1990;35(11):891-4.

12. Eley BM, Cox SW. Correlation between gingival crevicular fluid dipeptidyl peptidase II and IV activity and periodontal attachment loss. A 2-year longitudinal study in chronic periodontitis patients. *Oral Dis* 1995;1(4): 201-13.
13. Aemaimanan P, Sattayasai N, Wara-aswapati N, Pitiphat W, Suwannarong W, Prajaneh S, et al. Alanine aminopeptidase and dipeptidyl peptidase IV in saliva of chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2009;80(11): 1809-14.
14. Gazi MI, Cox SW, Clark DT, Eley BM. Comparison of host tissue and bacterial dipeptidyl peptidases in human gingival crevicular fluid by analytical isoelectric focusing. *Arch Oral Biol* 1995;40(8):731-6.
15. Bader HI, Boyd RL. Long-term monitoring of adult periodontitis patients in supportive periodontal therapy: correlation of gingival crevicular fluid proteases with probing attachment loss. *J Clin Periodontol* 1999;26(2):99-105.
16. Hemmings KW, Griffiths GS, Bulman JS. Detection of neutral protease (Periocheck) and BANA hydrolase (Perioscan) compared with traditional clinical methods of diagnosis and monitoring of chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24(2):110-4.
17. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 2003;31:77-104.
18. Kuula H, Salo T, Piriilä E, Hagström J, Luomanen M, Gutierrez-Fernandez A, et al. Human beta-defensin-1 and -2 and matrix metalloproteinase-25 and -26 expression in chronic and aggressive periodontitis and in peri-implantitis. *Arch Oral Biol* 2008;53(2):175-86.
19. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004;10(6):311-8.
20. Cury PR, de Araújo VC, Canavez F, Furuse C, Leite KR, de Araújo NS. The effect of epidermal growth factor on matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase gene expression in cultured human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol* 2007; 52(6):585-90.
21. Dong W, Xiang J, Li C, Cao Z, Huang Z. Increased expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer is associated with matrix metalloproteinase-1 and -2 in gingival tissues from patients with periodontitis. *J Periodontol Res* 2009;44(1):125-32.
22. Ciftibasi E, Kantarci A, Badur S, Issever H, Cintan S. Impact of metronidazole and amoxicillin combination on matrix metalloproteinases-1 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases balance in generalized aggressive periodontitis. *Eur J Dent* 2015;9(1): 53-9.
23. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90(3): 251-62.
24. de Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito RB, Line SR. MMP-1 promoter polymorphism: association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population. *J Clin Periodontol* 2003;30(2):154-8.
25. Şürin P, Oprea B, Solomon SM, Popa SG, Mota M, Mateescu GO, et al. Matrix metalloproteinase -7, -8, -9 and -13 in gingival tissue of patients with type 1 diabetes and periodontitis. *Rom J Morphol Embryol* 2014;55(3 Suppl):1137-41.
26. Sorsa T, Hernández M, Leppilähti J, Munjal S, Netuschil L, Mäntylä P. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis* 2010;16(1):39-45.
27. Leppilähti JM, Sorsa T, Kallio MA, Tervahartiala T, Emingil G, Han B, et al. The utility of gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 response patterns in prediction of site-level clinical treatment outcome. *J Periodontol* 2015;86(6):777-87.
28. Mouzakiti E, Pepelassi E, Fanourakis G, Markopoulou C, Tseleni-Balafouta S, Vrotsos I. Expression of MMPs and TIMP-1 in smoker and nonsmoker chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment. *J Periodontol Res* 2012;47(4):532-42.
29. Ravanti L, Håkkinen L, Larjava H, Saarialho-Kere U, Foschi M, Han J, et al. Transforming growth factor-beta induces collagenase-3 expression by human gingival fibroblasts via p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1999;274(52): 37292-300.
30. Fu MM, Fu E, Kuo PJ, Tu HP, Chin YT, Chiang CY, et al. Gelatinases and extracellular matrix metalloproteinase inducer are associated with cyclosporin-A induced attenuation of periodontal degradation in rats. *J Periodontol* 2015;86(1):82-90.
31. Ertugrul AS, Dursun R, Dunder N, Avunduk MC, Hakkı SS. MMP-1, MMP-9, and TIMP-1 levels in oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Arch Oral Biol* 2013; 58(7):843-52.
32. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Tervahartiala T. The effect of adjunctive subantimicrobial dose doxycycline therapy on GCF EMMPRIN levels in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008;79(3): 469-76.
33. Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis* 2014;20(6):538-50.
34. Emingil G, Han B, Gürkan A, Berdeli A, Tervahartiala T, Salo T, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-8 and tissue inhibitor of MMP-1 (TIMP-1) gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis: gingival crevicular fluid MMP-8 and TIMP-1 levels and outcome of periodontal therapy. *J Periodontol* 2014; 85(8):1070-80.
35. Kim JB, Jung MH, Cho JY, Park JW, Suh JY, Lee JM. The influence of type 2 diabetes mellitus on the expression of inflammatory mediators and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in human chronic periodontitis. *J Periodontol Implant Sci* 2011;41(3):109-16.
36. Gursoy UK, Könönen E, Pradhan-Palikhe P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, et al. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 2010;37(6):487-93.
37. Yamalik N, Çağlayan F, Kiliç K, Kiliç A, Tümer C. The importance of data presentation regarding gingival crevicular fluid myeloperoxidase and elastase-like activity in periodontal disease and health status. *J Periodontol* 2000;71(3):460-7.
38. Kaner D, Bernimoulin JP, Kleber BM, Heizmann WR, Friedmann A. Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodont Res* 2006;41(2): 132-9.
39. Buchmann R, Hasilik A, Van Dyke TE, Lange DE. Amplified crevicular leukocyte activity in aggressive periodontal disease. *J Dent Res* 2002;81(10): 716-21.
40. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mäntylä P, Rivera O, Dezerega A, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J Periodontol* 2010; 81(11):1644-52.
41. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M Jr, Teofilo JM, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2010; 37(2):180-90.
42. Perinetti G, Serra E, Paolantonio M, Bruè C, Meo SD, Filippi MR, et al. Lactate dehydrogenase activity in human gingival crevicular fluid during orthodontic treatment: a controlled, short-term longitudinal study. *J Periodontol* 2005;76(3):411-7.
43. De La Peña VA, Diz Dios P, Tojo Sierra R. Relationship between lactate dehydrogenase activity in saliva and oral health status. *Arch Oral Biol* 2007;52(10):911-5.
44. Tsalikis LE, Kaklamanos EG, Kavadia-Tsatala S, Chasapopoulou E, Pidonia-Manika I. Association of gingival crevicular fluid and serum intracytoplasmic enzyme levels in periodontally healthy homozygous (major) beta-thalassemia patients. *J Clin Periodontol* 2004; 31(5):356-63.
45. Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaras CA, Gordon JM. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. Six month results. *J Periodontol* 1988;59(8):516-23.
46. Lamster IB, Vogel RI, Hartley LJ, DeGeorge CA, Gordon JM. Lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1985;56(3):139-47.
47. Buchmann R, Hasilik A, Van Dyke TE, Lange DE. Resolution of crevicular fluid leukocyte activity in patients treated for aggressive periodontal disease. *J Periodontol* 2002;73(9): 995-1002.
48. Buchmann R, Hasilik A, Nunn ME, Van Dyke TE, Lange DE. PMN responses in chronic periodontal disease: evaluation by gingival crevicular fluid enzymes and elastase-alpha-1-proteinase inhibitor complex. *J Clin Periodontol* 2002;29(6): 563-72.