

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) VE ENDODONTİK MİKROBİYOLOJİ

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) AND ENDODONTIC MICROBIOLOGY

Dt. Özgür İlke Atasoy ULUSOY*

Prof. Dr. Güliz GÖRGÜL**

ÖZET

Bu makale polimeraz zincir reaksiyonunun (Polymerase Chain Reaction-PCR) endodontide kullanımını, endodontik mikroorganizmaların varlığının ve prevalanslarının belirlenmesinde sağladığı avantajları gözden geçirmektedir. Kültür yöntemiyle üretilmeyen mikroorganizmaların 16S rRNA bölgelerinin PCR kullanılarak çoğaltılması moleküler mikrobiyolojide çığır açmıştır. PCR kültür yöntemlerine göre daha hassas, özgül, hızlıdır ve daha kesin sonuçlar sağlar. Bu metodların yerinde kullanımı, endodontik hastalıkların nedenlerinin belirlenmesine, anlaşılmasına ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: PCR, virulans, mikroorganizma, kök kanalı

ABSTRACT

This article reviews the use of polymerase chain reaction (PCR) in endodontics and the advantages in detecting the presence and prevalence of endodontic microorganisms. Amplification of 16S rRNA gene regions of the uncultivable and fastidious microorganisms by PCR has blazed a trail in molecular microbiology. PCR is more specific, accurate, rapid and sensitive than culture methods. The well-directed use of these methods will provide additional valuable information regarding the identification and understanding of the causative factors associated with endodontic diseases, and may contribute to the development of improved treatment strategies.

Key Words: PCR, virulence, microorganism, root canal

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU VE ENDODONTİK MİKROBİYOLOJİ

Endodontik tedavinin amacı, kök kanal sistemini mikroorganizmalardan temizlemek ve tekrar enfekte olmasını önlemektir. Bu amaçla biyomekanik preparasyon, irrigasyon ve sızdırmaz bir biçimde kök kanal dolgusu yapılarak tedavi tamamlanmalıdır. Ancak kök kanallarında bulunabilen dirençli ve inatçı mikroorganizmaların varlığı, prognozu olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Kök kanallarında bulunan mikroorganizmalar ağırlı alevlenmeler, periapikal yıkım ve inatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir¹⁻⁶. Bu mikroorganizmaların identifikasyonu tedavinin başarısı bakımından önemlidir. Kültür çalışmaları ile mikroorganizmaların büyük çoğunluğu laboratuvar koşullarında üretilmektedir. İnsan vücudu, oral kavite ve kök kanalındaki

mikrobiyanın da kültüre edilemeyen bir çok türü olduğu söylenebilir. Son yıllarda mikrobiyal patojenler ve spesifik hastalıklar arasındaki ilişki konusunda moleküler biyolojik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır⁷. Mikrobiyolojik kültür ve biyokimyasal metodlar zaman alıcıdır ve zaman zaman çelişkili sonuçlar verebilmektedir⁸.

1985 yılında Kary Mullis tarafından ilk kez bilim dünyasına sunulan PCR (Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) modern bilme önemli katkılar sağlamıştır⁹. Biyolojik ve tıbbi araştırmaların gelişimine PCR'in etkisi oldukça fazladır. Yöntem, gen ve genom çalışmalarında önemli bir artışa neden olmuştur. PCR kullanarak herhangi bir organizmadan herhangi bir gen izole etmek mümkündür⁷.

* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

** Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi

PCR yöntemi moleküler teknolojideki en önemli gelişmelerden biridir. Yöntem, belli bir uzunluktaki DNA fragmanının invitro replikasyonuna ve 25-35 siklusta DNA polimeraz enziminin hedef DNA'yı in vitro çoğaltması esasına dayanır⁹. PCR reaksiyonu araştırılacak örnekteki DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon), daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyon), sonra zincirin uzamasını (polimerizasyon) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır⁹. Tüm bu basamaklara amplifikasyon işlemi denir. Bu işlemden sonra amplifikasyon ürününün saptanması, kopyaları çıkarılan primerler arasında kalan belli baz çifti büyüklüğündeki bölgenin jel üzerinde veya amplifikasyon yapılan bölgeye uygun tamamlayıcı prob ile hibridizasyon sonrası belirlenmesi ile gerçekleşmektedir.

PCR yönteminde temel bileşenler ise ; hedef DNA, hedef DNA'nın dizilerini tamamlayan tek zincirli oligonükleotidler (primerler), 4-deoksiribonükleotid trifosfat (dNTPler) ve ısıya dayanıklı DNA polimerazdır. En çok kullanılan DNA polimeraz *Thermus aquaticus* adı verilen termofilik bakteriden izole edilir ki buna Taq DNA polimeraz adı verilir⁷. Bakteri tanımlanması için genellikle basit bir PCR turu kullanılmakla birlikte bazı durumlarda nested PCR, multiplex PCR, RT-PCR gibi farklı PCR yöntemleri de kullanılabilir^{7,10}.

Diş hekimliğinde moleküler genetik metodlar, genellikle klinik örneklerdeki mikroorganizmaları tanımlama ve birbirine yakın türleri ayırmada kullanılmaktadır. Endodontik çalışmalarda DNA ekstraksiyonu için örnekler, genellikle sorunlu dişlerin kök kanallarından ve periapikal lezyonlarından elde edilir. Dişler önce pomza ile temizlenir, rubberdam izolasyonu yapılır. Operasyon sahasının dekontaminasyonu, sodyum hipoklorit veya oksijenli su ile sağlanır. Giriş kavitesi tamamlanınca pulpa kavitesi de dahil olmak üzere tüm operasyon sahası %2.5'lik sodyum hipoklorit ile yıkanır. 15 numaralı K tipi eğre ile preparasyon yapılır ve ardışık iki paper point kanal içine yerleştirilerek örnek alınır. Paper pointler daha sonra kriyotüplere (cryotube) yerleştirilir. Abse örnekleri, oral mukozanın %2'lik klorheksidin ile yapılan dezenfeksiyonunun ardından steril bir şırınga kullanılarak püyük aspire edilmesi yoluyla alınır¹¹. Daha sonra alınan örnek PCR laboratuvarına gönderilir Moleküler yöntemlerde örnek hazırlanırken kontaminasyonu önlemek önemlidir^{7,11}. Yine de eksuda varlığı PCR yöntemini kültür

yöntemindeki kadar etkilemez. Böyle durumlarda PCR kontaminasyona rağmen daha kesin sonuçlar verir⁷.

Kök kanallarında bulunan en az sayıdaki bakteri hücreleri bile periapikal lezyon oluşturabilme potansiyeline sahiptir. PCR yöntemi ile örnek başına 1-10 bakteri hücresi bile saptanabilmektedir; bu da kök kanallarından örnek alınmanın güç olduğu ve az sayıda bakterinin identifiye edilebildiği durumlarda büyük yarar sağlamaktadır.

a) PCR Yöntemi ile Yeni Mikroorganizmaların Keşfedilmesi

Diş hekimliği ve endodontide PCR'ın yaygın kullanım alanlarından biri kültür yöntemleriyle tespit edilemeyen yeni bakteri türlerinin varlığının araştırılmasıdır. Ayrıca daha önce kök kanallarındaki varlığı kesinleştirilmiş çeşitli mikroorganizmalar PCR sayesinde tanımlanmış ve prevalansları belirlenmiştir.

Siqueira ve arkadaşları¹¹ kültür yöntemleriyle belirlenmesi çok zor olan *Bacteroides forsythus* varlığını endodontik enfeksiyona sahip 50 dişten 26'sında PCR ile saptamışlardır.

Tian Xia ve arkadaşları¹² tekrarlayan tedavi gerektiren vakalarla ilişkilendirilen *Actinomyces* türlerini abse ve selülitlerden aldıkları örnekler yoluyla incelemişlerdir. Vakaların %32.1'inde *A. viscosus*, %23.7'inde *A. israelii*, %8.5'inde *A. naeslundii* saptanmıştır.

Siqueira ve arkadaşları¹³ kök kanallarında *Treponema socranski* varlığını PCR yöntemi ile araştırmışlar, primer enfeksiyona sahip dişlerin %35'inde bu mikroorganizmanın bulunduğunu bildirmişlerdir.

Siqueira ve arkadaşları¹⁴, *Dialister pneumosintes* adı verilen mikroorganizmanın enfekte kök kanallarındaki yüksek prevalansına işaret etmişlerdir. PCR ile yaptıkları çalışma sonunda bu bakterinin potansiyel endodontik patojen olabileceğini düşünmüşlerdir.

Siqueira ve arkadaşları¹⁵ abse oluşumundan sorumlu olduğu düşünülen *Pseudoramibacter alactolyticus* 21 örnekte PCR metodu ile incelemiş ve vakaların %75'inde saptamışlardır.

Xia ve arkadaşları¹⁶, DNA bazlı PCR kullanarak *Prevotella tanner* kök kanallarında yüksek prevalansta bulunduğu ilk dikkati çeken araştırmacılar.

Siyah pigmentli gram(-) anaerobik rodlar, ağrı ve periapikal abselerle ilişkili endodontik enfeksiyonların dominant karakterleridir. Bu mikroorganizmalar; *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* gibi türleri içermektedir¹⁷⁻²⁰. Bunlar, yıkıcı periodontal

hastalıkların da major patojenleridir^{5,21,22}. Ancak bu mikroorganizmaların rutin kültür yöntemleriyle üretilmesi çok zor hatta kimi zaman mümkün olmamaktadır. PCR ile bu mikroorganizmaların kök kanallarında bilinenen daha fazla prevalansta buldukları gösterilmiştir^{17,23,24}. PCR'ın, kültür yönteminden farklı olarak mikroorganizmaları ölü olarak da saptayabiliyor olması bu yüksek prevalansın nedeni olabilir⁷.

Başarısız endodontik tedavi görmüş ve periapikal lezyona sahip dişlerde ağırlıklı olarak bulunan mikroorganizma türü değişmektedir. Bogen ve arkadaşları¹⁷, kapalı periapikal lezyonlu dişlerdeki siyah pigmentli mikroorganizmaları incelemişler, *P.endodontalis*, *P.intermedia* ve *P.nigrescens* hiç bir örnekte bulunmadığı, yalnızca bir örnekte *P.gingivalis* bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Siqueira ve arkadaşları¹⁸, 22 adet tekrarlayan tedavi gerektiren vakada, %77 oranında *Enterococcus faecalis* rastlamışlardır. Bunu *Pseudoramibacter alactolyticus* ve *Propionibacterium propionicum* izlemektedir. Primer endodontik enfeksiyonlarda mantar türlerine çok seyrek rastlanırken, başarısız endodontik tedavili dişlerde *C.albicansa* %18 oranında rastlanılmaktadır¹⁸. Tekrarlayan tedavi vakalarında daha önce varlığı kesinleştirilmemiş olan *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Propionibacterium propionicum*, *Dialister pneumosintes* ve *Fusobacterium alocis* de örneklerin yarısında saptanmıştır¹⁸.

b) Virulans Faktörleri

PCR'in endodontik mikrobiyolojide kullanılması ile endodontik enfeksiyonlarla ilişkili mikroorganizmaların virulans genlerinin önemi daha iyi anlaşılmıştır. Bu virulans faktörleri, endodontik mikroorganizmaların pulpal ve periapikal patojenitesini artırırken, vücudun diğer bölgelerinde de hasara neden olabilmektedir. Bate ve arkadaşları²⁵, enfekte kök kanallarında bulunan stafilokok ve streptokokların FnBp ve FgBp adı verilen virulans genlerini PCR ile saptamışlardır. Bu genlere sahip olan bu bakterilerin enfektif endokardite neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Odell ve arkadaşları⁸, *P.gingivalis* ve *P.endodontalis* kollajenaz geni açısından incelemek için PCR kullanmışlar ve *P.gingivalis* türlerinin büyük çoğunluğunun yıkıcı periapikal lezyon gelişimine katkıda bulunan kollajenaz genine sahip olduğunu saptamışlardır.

Norris ve arkadaşları²⁶, periodontal hasarlı kedilerde yaptıkları bir çalışmada *Porphyromonas*

gingivalis iki rekombinant proteinaz geni arasındaki ilişkiyi PCR kullanarak incelemişlerdir.

Dupre ve arkadaşları²⁷, Creti ve arkadaşları²⁸ *Enterococcus faecalis* antibiyotiklere direnç mekanizması, epitel hücrelerine tutunma, biyofilm oluşturma potansiyeli ile çeşitli virulans genleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir.

Chi Yuan Hang ve arkadaşları²⁹ *F.nucleatum*, *P.endodontalis* LPS geninin periapikal lezyonlardaki kemik rezorpsiyonundaki rolünü incelemişlerdir.

c) Enzim Ekspresyonu ve Periradiküler Yıkım

Spesifik bazı bakteri türleri ve ürünleri, inflamasyon basamaklarında mediatör olarak görev yapan bazı enzimlerin ekspresyonunu belirgin şekilde arttırmaktadır. Bu olay organizmada doku yıkımına yol açmaktadır.

Yu-Chao Chang ve arkadaşları³⁰, özellikle siyah pigmentli bakteri ürünlerinin COX-2 adı verilen mediatör enzim ekspresyonunu arttırdığını PCR yöntemi ile saptamışlardır. COX-2 bir başka enflamasyon mediatörü olan prostoglandin E-2 sentezini düzenlemektedir. Yaptıkları çalışmanın sonunda *P.endodontalis*, *P.gingivalis* ve *P.intermedia*'ya göre daha potansiyel bir COX-2 indüktörü olduğunu bildirmişlerdir.

Yang ve arkadaşları³¹⁻³², siyah pigmentli bakteroidlerin yan ürünlerinin interlökin-6 ve interlökin-8 geninin ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Böylece periradiküler yıkım hızlanmaktadır.

Yang ve arkadaşları²⁰, siyah pigmentli bakteri yan ürünlerinin VEGF geninin ekspresyonunun artmasına ve bu şekilde pulpal ve periapikal hasara neden olabileceklerine dikkati çekmişlerdir.

Kök kanallarında bulunan siyah pigmentli mikroorganizmaların yan ürünlerinin konak dokudaki matrix metalloproteinazların (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8) salgılanmasını arttırarak da yıkıma yol açtıkları gösterilmiştir³³⁻³⁵.

d) Virüsler

PCR ile yalnızca kök kanal sistemindeki bakteri türleri değil, virüsler de araştırılabilmektedir. Heling ve arkadaşları³⁶, enfekte kök kanalları ve periapikal lezyonlarda *Herpes Simplex Virüsünü* PCR ile incelemişler, bu virüsün potansiyel bir endodontik patojen olamayacağını bildirmişlerdir.

Bu virüsün AIDS'li insanların periapikal dokularında bulunmadığı düşünülse de Glick ve arka-

daşları³⁷ PCR ile yaptıkları çalışmada, bu bölgedeki fibroblastların bu virüsü barındırdığı ve HIV için rezervuar olabileceğini bildirmişlerdir. Elkins ve arkadaşları³⁸ seropozitif hastaların perirapikal lezyonlarından aldıkları örneklerde HIV virüsünün varlığını saptamışlardır.

Sabeti ve arkadaşları³⁹ periapikal lezyonlardan aldıkları örneklerde *Cytomegalovirus* ve *Epstein Barr Virüs*lerinin varlığını PCR kullanarak araştırmışlardır. Geniş çaplı periapikal lezyonların % 79.2'inde bu iki virüs de saptanırken, küçük çaplı lezyonların %10'unda virüslerden herhangi birine rastlanmıştır.

SONUÇ

PCR kullanılarak yapılan bu çalışmaların birçoğu kültür yöntemiyle de yapılabilmektedir. Ancak PCR'in tıp ve dişhekimliğine girmesi ile mikrobiyolojik çalışmaların sayısı önemli ölçüde artmıştır. PCR ile herhangi bir organizmadan herhangi bir gen izole etmek mümkündür. Kültür yöntemlerine göre daha hızlı, daha etkin ve daha kesin sonuçlar sağlayan bir yöntem olduğu söylenebilir. PCR sayesinde endodontik mikroorganizmaların ve davranışlarının daha iyi tanınması ile daha etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi sağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Sjögren U, Hanström L, Happonen RP, Sundqvist G. Extensive bone loss associated with periapical infection with *Bacteroides gingivalis*: a case report. *Int Endod J* 1990 Sep; 23(5): 254-262.
2. Oliveira JCM, Siqueira JF, Alves G, Hirata RJ, Andrade AFB. Detection of *Porphyromonas endodontalis* in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *J Endod* 2000; 26(12):729-732.
3. Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW. The relationship of *Bacteroides melanogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1980; 50: 457-461.
4. Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. *J Endod* 1989; 15: 13-19.
5. Yoshida M, Fukushima H, Yamamoto K, Ogawa T, Toda T, Sagawa H. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J Endod* 1987;13:24-28.
6. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, Hazlett K, Radolf JD. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol* 2002; 40(9): 3223- 3231.
7. Siqueira JF, Roças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 2003; 31(5): 333-339.
8. Odell LJ, Baumgartner JG, Xia T, David LL. Survey for collagenase gene *prtC* in *Porphyromonas gingivalis* and *Porphyromonas endodontalis* isolated from endodontic infections. *J Endod* 1999; 25(8): 555-558.
9. McPherson MJ, Moller SG. *The Basics*. New York: Cromwell Press ; 2000, 1-45.
10. Siqueira JF, Roças IN. Simultaneous detection of *Dialister pneumosintes* and *Filifactor alocis* in endodontic infections by 16Sr DNA-directed multiplex PCR. *J Endod* 2004; 30(12): 851-854.
11. Siqueira JF, Roças IN. *Bacteroides forsythus* in primary endodontic infections as detected by nested PCR. *J Endod* 2003; 29(6): 390-393.
12. Xia T, Baumgartner C. Occurrence of *Actinomyces* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2003; 29(9): 549-552.
13. Siqueira JF, Roças IN. *Treponema socranskii* in primary endodontic infections as detected by nested PCR. *J Endod* 2003; 29(4): 244-247.
14. Siqueira JF, Roças IN. *Dialister pneumosintes* can be a suspected endodontic pathogen. 2002; 94: 494-498.
15. Siqueira JK, Roças IN. *Pseudoramibacter alactolyticus* in primary endodontic infections. *J Endod* 2003; 29(11): 735-738.
16. Xia T, Baumgartner JC, David LL. Isolation and identification of *Prevotella tanneriae* from endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol*. 2000 Aug; 15(4): 273-275.
17. Bogen G, Slots J. Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int Endod J* 1999; 32: 204-210.
18. Siqueira JF, Roças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 85-94.
19. Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, et al. Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infection and Immunity* 1992 Nov; 60(11): 4491-4495.

20. Yang LC, Tsai CH, Huang FM, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression in human pulp fibroblasts stimulated with black-pigmented *Bacteroides*. *Int Endod J* 2004; 37: 588-592.
21. Beikler T, Ehmke B, Wittstock M, Schmidt H, Karch H, Flemmig TF. Serum antibody reactivity against recombinant prtC of *Porphyromonas gingivalis* following periodontal therapy. *J Periodont Res* 2003; 38: 276-281.
22. Kawada M, Yoshida A, Suzuki N, et al. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in relation to periodontal status assessed by real-time PCR. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 289-292.
23. Siqueira JF. Jr, Roças IN, Alves FR, Santos KR. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod.* 2004 Sep; 30(9): 638-643.
24. Yung IY, Choi B, Kum KY, et al. Identification of oral spirochetes at the species level and their association with other bacteria in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Sep; 92(3): 329-334.
25. Bate AL, Ma JKC, Pitt Ford TR. Detection of bacterial virulence genes associated with infective endocarditis in infected root canals. *Int Endod J* 2000; 33: 194-203.
26. Norris JM, Love DN. The association of two recombinant proteinases of a feline strain of *Porphyromonas gingivalis* with periodontal disease in cats. *Vet Microbiol* 2000; 71: 69-80.
27. Dupre I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* 2003; 52: 491-498.
28. Creti R, Imperi M, Bertuccini L, et al. Survey for virulence determinants among *Enterococcus faecalis* isolated from different sources. *J Med Microbiol* 2004; 53: 13-20.
29. Hong CY, Lin SK, Kok SH, et al. The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 162-169.
30. Chang YC, Huang FM, Yang SF, et al. Induction of cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human pulp cells stimulated with black-pigmented *bacteroides*. *J Endod* 2003; 29(4): 240-243.
31. Yang LC, Tsai CH, Huang FM, Liu CM, Lai CC, Chang YC. Induction of interleukin-6 gene expression by pro-inflammatory cytokines and black-pigmented *Bacteroides* in human pulp cell cultures. *Int Endod J* 2003; 36: 352-357.
32. Yang LC, Huang FM, Lin CS, Liu CM, Lai CC, Chang YC. Induction of interleukin-8 gene expression by black-pigmented *Bacteroides* in human pulp fibroblasts and osteoblasts. *Int Endod J* 2003; 36: 774-779.
33. Nakata K, Yamasaki M, Iwata T, Suzuki K, Nakane A, Nakamura H. Anaerobic bacterial extracts influence production of matrix metalloproteinases and their inhibitors by human dental pulp cells. *J Endod* 2000; 26(7): 410-413.
34. Chang YC, Lai CC, Yang SF, Chan Y, Hsieh YS. Stimulation of matrix metalloproteinases by black-pigmented *bacteroides* in human pulp and periodontal ligament cell cultures. *J Endod* 2002; 28(2): 90-93.
35. Pattamapun K, Tiranathanagul S, Kuwatanasuchat J, Pavasant P. Activation of MMP-2 by *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res* 2003; 38: 115-121.
36. Heling I, Morag-Hezroni M, Marva E, Hochman N, Zakay-Rones Z, Morag A. Is herpes simplex virus associated with pulp/periapical inflammation? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Mar; 91(3): 359-361.
37. Glick M, Trope M, Bagasra O, Pliskin ME. Human immunodeficiency virus infection of fibroblasts of dental pulp in seropositive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991 Jun; 71(6): 733-736.
38. Elkins DA, Torabinejad M, Schmidt RE, Rossi JJ, Kettering JD. Polymerase chain reaction detection of human immunodeficiency virus DNA in human periradicular lesions. *J Endod.* 1994 Aug; 20(8): 386-388.
39. Sabeti M, Slots J. Herpesviral-bacterial coinfection in periapical pathosis. *J Endod* 2004; 30(2): 69-72.

Özgür İlke Atasoy ULUSOY-

Gazi Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

8. Cadde 82. Sokak 06510 Emek/ ANKARA

Tel: 0 312 212 62 20 / 307-296

e-mail: ilkeatasoy@yahoo.com

Fax: 0.312.212 22 39