

## PERIODONTAL HASTALIK ETYOLOJISINDE HERPESVİRÜSLERİNİN ROLÜ \*

### THE ROLE OF HERPESVIRUSES IN ETIOLOGY OF PERIODONTAL DISEASES

*idil TEOMAN* †

*Gönen ÖZCAN* †

*Sibel Elif GÜLTEKİN* ‡

*Tanıl KOCAGÖZ* §

#### ÖZET

Periodontal hastalığın mikrobiyolojik etiolojisine ilişkin olarak günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu bakteriler üzerinde odaklanmıştır. Son yıllarda bazı araştırmacılar herpesvirüsleri'ni yıkıcı periodontal hastalığın etioloji ve patogenezinde rol oynama ihtimali olan faktörler olarak kabul etmişlerdir. Dental plak içinde saptanan herpesvirüslerinden Sitomegalovirüs'ün (CMV), periodontal hastalıkla en fazla ilişkili olan virüs olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, CMV'nin periodontal hastalığın farklı tiplerinde, dental plak ve dişeti dokusundaki varlığı değerlendirildi. Bu amaçla 30 erişkin periodontitisli ve kontrol olarak 32 gingivitisli hastadan dental plak ve dişeti biyopsileri toplandı. CMV varlığının saptanabilmesi amacıyla dental plak örnekleri PCR yöntemiyle; dişeti örnekleri ise immünohistokimya ve PCR yöntemleriyle incelendi. Periodontitisli hastaların 8'inin (%26,7); gingivitisli hastaların 6'sının (%18,75) dental plaklarında CMV saptandı. Gingival biyopsi örneklerine uygulanan yöntemlerin her ikisinin sonucunda da CMV varlığı saptanamadı. Bu bulgular, gingival biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal analiz öncesi formaldehit içinde bekletilmesi ve parafine gömülmesi, PCR öncesinde ise deparafinizasyona tabi tutulmasının dokularda virüs saptanamamasında etkili olduğunu düşündürmektedir. Sonuçlarımız, dental plak içeriğindeki CMV'nin periodontal hastalığın etiopatogenezinden sorumlu ajanlarla birlikte değerlendirilebileceği görüşünü desteklemektedir. Ancak dişeti dokusunda CMV varlığının gösterilebilmesi için sonuçlara etki ettiği düşünülen faktörlerin elendiği ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Erişkin periodontitis, cytomegalovirüs, PCR, immünohistokimya

#### SUMMARY

Most of the studies related to the microbiologic etiology of periodontal disease have been focused on bacteria. In recent years some researchers have accepted herpesviruses as another common factor that might involve the etiology and pathogenesis of destructive periodontal disease. Among the herpesviruses, cytomegalovirüs (CMV) has been found to have closer relationship with periodontal disease. In this study, the presence of CMV in dental plaque and gingival tissues of patients with different forms of periodontal disease was studied. Dental plaque and gingival tissue specimens were collected from 30 adult periodontitis and 32 gingivitis patients. To detect CMV, PCR method was employed to dental plaques and immunohistochemistry and PCR methods were performed for gingival tissue specimens. CMV was detected in 8 (%26,7) of periodontitis and 6 (%18,75) of gingivitis sites. No CMV was detected in gingival tissue samples with both methods. This was probably due to fixing tissues in formalin and embedding in paraffin for immunohistochemistry and performing deparaffinisation for PCR. Our results suggests that, CMV in dental plaque could be considered as a factor that might have a role in etiopathogenesis of periodontal diseases. But further studies in which the above factors are eliminated should be done, to show the presence of CMV in tissues.

**Key Words:** Adult periodontitis, cytomegalovirüs, PCR, immunohistochemistry

\* Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

† Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji ABD, Ankara

‡ Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Patoloji ABD, Ankara

§ Diomed A.Ş., AG Bölümü, İstanbul

## GİRİŞ:

Deney hayvanları ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, gingivitis ve yıkıcı periodontal hastalıkların etiolojisinde, dental plağın ne kadar önemli bir rolü olduğunu göstermektedir.<sup>5,7</sup> Dental plakta 325'ten fazla bakteri türünün bulunabileceği tahmin edilmektedir. Plak içinde ayrıca mayalar, protozoalar ve virüsler gibi bakteri olmayan mikroorganizmalar da bulunur.<sup>8,22,27</sup>

Viral enfeksiyonların tıpta geniş yer alması; HIV ile ilişkili gingivitis ve periodontitislerin dişhekimiğindeki yeri günümüzde virüslerin patojenik potansiyelini ortaya koymuştur.<sup>22</sup> Periodontal hastalık ile ilgili geçmişte yapılan mikrobiyolojik çalışmaların çoğu bakteriler üzerine odaklanmıştır. Ancak, insan virüslerinin yıkıcı periodontal hastalığın etiyojisi ve patojenizinde rol oynadığına dair oldukça sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.<sup>7,22</sup> Oral patolojide en önemli yere sahip virüs grubu Herpes virüsleridir. Tanımlanan 8 Herpesvirüsü içinde (*Herpes simplex virüs tip 1 ve 2*, *Varicella-zoster virüs*, *Epstein-Barr virüs*, *Sitomegalovirüs*, *Human herpesvirus 6 ve 7*, *Kaposi's sarcoma herpesvirus*), oral hastalıklarla en fazla ilişkili bulunan virüsler *Herpes simplex virüs tip 1 ve 2*, *Varicella-zoster virüs*, *Epstein-Barr virüs* ve *Sitomegalovirüs*'tür. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, özellikle **Sitomegalovirüs (CMV)**'ün, periodontal hastalık patogeneğinde rol oynadığı ortaya konmuştur.<sup>5,7,22</sup> Bununla birlikte, CMV periodontitisli hastaların derin ceplerinden en fazla izole edilen virüs türüdür.<sup>5,6,7,8,22</sup> Konu üzerinde yapılmış çok az sayıda çalışma nedeniyle CMV'nin periodontal hastalık patogeneğindeki rolü henüz kesinlik kazanmamıştır.

Sitomegalovirüs, Herpesvirüs ailesinin en önemli üyesidir.<sup>3,13,14,16</sup> Erişkin toplumun %70-90'ı CMV ile enfekte durumdadır.<sup>13,16</sup> Primer enfeksiyon genellikle çocukluk yada gençlik döneminde görülen asemptomatik bir tablodur. Enfeksiyon daha sonra latent faza geçer.<sup>13,20,25,26,29</sup> CMV seropozitif bireylerde ki latent durumun korunması konağın immün direncine bağlıdır. Reaktivasyon primer enfeksiyondan sonra ki herhangi bir zamanda oluşabilir. immün baskılı bireyler özellikle de AIDS ve transplantasyon hastaları için fırsatçı bir patojendir. CMV, etkilerini enflamatuar hücreler üzerinde göstererek immün sistem üzerinde etkili olur. CMV, periodontal dokularda makrofaj ve T-lenfositleri enfekte eder veya fonksiyonlarını etkiler. Monosit ve makrofajlardan IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  salınma-

sında etkili olur. Antijene özgü sitotoksik T-lenfosit fonksiyonlarını baskılar; CD4+ (yardımcı T-lenfosit) hücrelerinde azalma; CD8+ (baskılayıcı T-lenfosit) hücrelerinde artmaya neden olur ve bu da hücre sel immünitede yetersizlikle sonuçlanır. Fibroblast, endotel hücreleri, nötrofil, makrofaj, lenfosit ve kemik hücreleri üzerinde sitopatik etkiye sahiptir. Bunların yanı sıra Herpesvirüs enfeksiyonu, periodontopatik bakterilerin subgingival tutunma ve kolonizasyonunu artırıcı yönde de etki gösterir.<sup>7,10,18,21,25,29</sup>

Periodontal hastalıkta periodontopatojenlerin varlığının ve miktarının tespit edilmesi ve periodontal tedavi sonrasında mikroorganizma popülasyonunun kontrolü için mikrobiyolojik testlere ihtiyaç vardır. Fakat subgingival türlerin çoğunun üretilip korunması zor, kültürlerle değerlendirilmesi de oldukça güç ve zaman alıcıdır.<sup>4,12</sup> Son yıllarda yapılan araştırmalarda polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak (PCR) periodontopatojenlerin saptanması yoluna da gidilmiştir. Bu yöntem özellikle subgingival plak örneklerindeki periodontal patojenleri tespit etmekte oldukça hassastır. Kültürle tespit edilecek seviyenin altında, fakat periodontal hastalık gelişmesi için risk oluşturan periodontopatojenleri tespit edebilmektedir.<sup>1,5,6,7,8,9,22</sup> PCR bir çeşit 'in vitro klonlama' yöntemidir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu, DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyon); ve zincirin uzamasını (polimerizasyon) takiben bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. Bu teknikle bir DNA hedefini 10<sup>6</sup>-10<sup>12</sup> arasında çoğaltmak mümkündür.<sup>2,15,23,24</sup>

Parra ve Slots<sup>22</sup>, PCR yöntemini kullanarak yaptıkları bir çalışmada periodontitisli hastaların %30'unda CMV tespit etmişlerdir. Çalışmada CMV pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve CMV ile yıkıcı periodontal hastalık arasında yüksek düzeyde pozitif ilişki kurulmuştur.

Şahin ve arkadaşları<sup>28</sup>, 30 periodontitisli hasta ve 21 sağlıklı birey üzerinde yaptıkları çalışmalarında, dental plakta PCR yöntemi ile herpesvirüslerini taramışlar ve periodontitisli bireylerde % 43.3; sağlıklı bireylerde % 14 oranında CMV tespit etmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı CMV'ün dental plaktaki ve gingival dokulardaki varlığını saptayarak; periodontal hastalığın patogeneğindeki rolünü ortaya koymaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

G.Ü. Diş Hekimliği Periodontoloji A.B.D.'na periodontal tedavi için başvuran, sistemik olarak sağlıklı, son 3 ay içinde hiçbir antibakteriyel yada antiviral ilaç kullanmamış olan, son 3 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olan erişkin periodontitisli ve gingivitisli 62 hasta çalışmaya dahil edildi. Erişkin periodontitisli hastalarda en az iki bölgede 6-8 mm periodontal cep, gingivitisli hastalarda ise 3-4 mm gingival cep derinliği mevcuttu. Çalışma kriterlerine uyan hastaların öncelikle periodontal durumlarını belirlemek üzere Plak indeksi (Löe ve Sillness), Gingival indeksi (Sillness ve Löe); Williams periodontal sondu kullanılarak cep derinliği ve ataşman kaybı ölçümleri yapıldı. Daha sonra supragingival bölgede varolan tüm plak ve diştaşı uzaklaştırılan hastaların subgingival bölgelerinden steril paper pointler ile plak örnekleri toplanarak her biri 0.3 ml TE solüsyonu (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5) içine yerleştirildi. Bunu takiben periodontitisli hastaların tek bir segmentteki en derin 1 yada 2 cep bölgesinden; gingivitisli hastaların ise 3-4 mm'lik 1 yada 2 cep bölgesinden, ENAP tekniğinde uygulanan içsel eğimli insizyon yöntemiyle lokal anestezi altında dişeti biyopsileri alındı. Alınan biyopsiler formol içinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Plak örneklerine PCR; gingival doku örneklerine önce immünohistokimya ve bunu takiben PCR yöntemleri uygulandı.

### PCR (plak):

#### DNA ekstraksiyonu:

Örneklerin içinde bulunduğu TE solüsyonundan 0.2 ml alındı. Üzerine 0.3 ml TE solüsyonu konularak önce çalkalandı, sonra 5 dakika santrifüj edildi ve üzeri atıldı. Bu işlem 2 kez tekrarlandıktan sonra tüplere 0.3 ml TE eklendi ve 20 dakika kaynatıldı. Tekrar santrifüjlenen DNA ekstraktların içinden 0.2 ml alınarak PCR uygulanana kadar -20°C'de bekletildi.

#### Amplifikasyon:

CMV'nin tanınması için kullandığımız non-nested primer\* seti 5' 3' CCT AGT GTG GAT GAC CTA CGG GCC A ve CAG ACA CAG TGT CCT CCC GCT CCT C ile nested primer<sup>II</sup> seti 5' 3' CAG ACA CAG TGT CCT CCC GCT CCT C ve CCA GAG TCC CCT GTA CCC GC'dir. DNA amplifikasyonu için kullanılan PCR programı şu şekildeydi:

94°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonu,

94°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 1 dakika annealing, 72°C'de 1 dakika ekstensiyon ve 72°C'de 3 dakika son ekstensiyon yapılarak 35 siklus yapıldı. Nested PCR için de aynı işlemler tekrarlandı. Böylelikle CMV'nin 136 bp parçası amplifiye edildi. PCR ürünleri %2'lik agaroz jel içinde yürütüldü ve UV transillüminatörde gözlemlendi.

### immünohistokimya (dişeti):

Dişeti biyopsileri rutin takibe alındıktan sonra her biri ayrı ayrı parafin bloklara gömüldü. Seçilen bloklardan 4 mikronluk kesitler polilizinli camlara alındı. Kesitler 56°C'lik etüvde 12 saat süre ile bırakıldı. Kesitlerde 30 dakika bekletildikten sonra, 15 dakika süre ile % 96'lık etil alkolden geçirilerek deparafinize ve dehidrate edildi. %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 5-10 dakika endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Kesitler PBS solüsyonu ile püskürtme yöntemi ile yıkandı. Distile suda üç kez yıkandı ve kurulandı. Kesitler sitrat solüsyonu ile mikrodalga fırında 15 dakika, oda ısısında 30 dakika, protein bloklayıcı serumunda 20 dakika bekletildi. Primer antikör<sup>§</sup> kesitleri kapatacak şekilde uygulanarak 2 saat süre ile oda sıcaklığında inkübe edildi. Kesitler PBS ile yıkandı, kurulandı. Yirmi dakika biyotine bağlanmış bağlayıcı (sekonder) antikör<sup>#</sup> ile işlemden geçirildi. Kesitler PBS ile yıkandı ve kurulandı. Streptavidin-biyotin kompleks<sup>\*\*</sup> uygulanarak 30 dakika bekletildi. Tüm kesitler PBS ile yıkandı. Görüntüleme için Aminoethyl Carbazole (AEC) kromojeni<sup>††</sup> kullanılarak 10 dakika süre ile bekletildikten sonra distile suda yıkandı. Zemin boyaması için 5-10 dakika Meyer's hemotoksilen ile boyandı. Kesitler önce çeşme suyunda sonra distile suda yıkandı ve aquos kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Kontrol olarak CMV boyamasında CMV ile enfekte akciğer dokuları kullanıldı. Değerlendirme, ışık mikroskopunda X400 büyütmede bağ dokuda parlak kırmızı renkte nükleer boyanma gösteren CMV inklüzyonu içeren pozitif hücre varlığı ile yapıldı.

### PCR (dişeti):

#### Deparafinizasyon:

Parafine gömülmüş olan dokuların parafinden arındırılması için yapıldı. Parafinden çıkarılarak

<sup>††</sup> MWG, Biotech, AG

<sup>§</sup> CMV Antibody, Signet

<sup>#</sup> Multilink, Signet

<sup>\*\*</sup> Label, Signet

<sup>††</sup> AEC Kromojeni, Signet

ependorf tüplerine konan dişeti örneklerinin üzerine 1cc ksilol eklenerek yarım saat çalkalayıcıda bekletildi ve 5 dakika santrifüj edildi ve üzeri döküldü. Aynı işlem 15 dakika çalkalayıcıda bekletmek suretiyle tekrarlandı. Üzerine 0.5 ml etil alkol eklendi, çalkalandı, 5 dakika santrifüjlendi ve üzeri döküldü. Aynı işlem tekrarlandı. Tüp içinde kalan pelet 15 saniye santrifüjlendi. Tüplerin dibinde kalan alkol pipetle alındı ve tüpler ağız açık olarak 10 dakika kurutuldu.

#### DNA ekstraksiyonu:

Tüplerin içindeki deparafinize edilmiş dişeti örneklerinin üzerine 250ml proteinaz-K ve "digestion buffer" karışımı konarak 1 gece 37°C'de bekletildi. Ertesi gün 20 dakikalık kaynatma ve 5 dakika santrifüjleme sonrası tüplerin üstünde kalan DNA ekstraktları alınarak PCR gününe kadar -20°C'de bekletildi.

#### Amplifikasyon:

Plaklar için uygulanan amplifikasyon yönteminin aynısı uygulandı.

### BULGULAR

Bireylerin dental plak örneklerinde PCR yöntemiyle CMV varlığı saptandı. Erişkin periodontitis grubunda 30 kişinin 8'inde (%26,7) CMV pozitifken, gingivitis grubunda 32 kişinin 6'sında (%18,75) CMV pozitif bulundu. İki grup arasında virüs pozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0,456$ ) (Tablo I). Periodontitisli grupta CMV 40 yaş ve üzeri bireylerde daha fazla tespit edildi. Aynı şekilde gingivitisli grupta da 40 yaş ve üzeri CMV pozitifliği oranı gençlere oranla daha fazlaydı ancak sonuçlar arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı (Tablo II). Gingival biyopsi örneklerine uygulanan yöntemlerin her ikisinin sonucunda da CMV varlığı saptanamadı.

**Tablo I.** Erişkin periodontitis ve gingivitis gruplarının dental plakta saptanan CMV (+)'liği açısından karşılaştırılması

	Erişkin Periodontitis (n=30)	Gingivitis (n=32)	p-değerleri
CMV (+)	8 (%26,7) <sup>π</sup>	6 (%18,75)	0,456

Pearson ki-kare Testi ( $p>0,005$ )

<sup>π</sup>CMV (+) bireylerin yüzdesi

**Tablo II.** Erişkin periodontitis ve gingivitis gruplarında dental plaklarından CMV izole edilen bireylerin yaş ve CMV (+)'liği açısından karşılaştırılması

	≥ 40 yaş	< 40 yaş	p-değeri
Periodontitis	%31,6	%18,2	0,424
Gingivitis	%33,3	%10,0	0,102

Pearson ki-kare Testi ( $p>0,005$ )

### SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma, gingivitis ve periodontitis hastalarının dental plak ve gingival biyopsi örneklerinde CMV varlığının araştırılması amacıyla yapıldı.

Literatürde, periodontal hastalıkta virüs oranını saptamaya yönelik çalışmalar, sıklıkla erişkin periodontitisli ve gingivitisli hastalar üzerinde yapılmıştır. Çalışma grubuna sağlıklı bireylerin dahil edildiği araştırmalardan, Şahin'in<sup>28</sup>, Türk popülasyonunda herpesvirüslerinin periodontal açıdan önemini araştırdığı çalışmasında, periodontitisli bireylerde %43.3 oranında CMV saptanırken, sağlıklı bireylerde %14.3 oranında saptanmıştır. Benzer floraya sahip bireylerin bazılarında periodontal yıkım gözlenirken bazılarında yıkımın az olması ya da hiç olmaması periodontal yıkıma zemin hazırlayan başka faktörlerin var olduğunu düşündürmektedir.<sup>7</sup> Yaygın bir kanıya göre bu faktörlerden biri de doku immünitesi üzerinde olumsuz rol oynayan herpesvirüsleridir.<sup>1,5,6,7,8</sup> Periodontitisli gingivitisli göre neden daha fazla yıkım gözlendiğini saptamak amacıyla çalışmamıza periodontitis ve gingivitisli bireyler dahil edilmiştir.

Araştırmamızda periodontitisli bireylerin dental plaklarında gingivitisli bireylere oranla daha fazla oranda CMV tespit edilmiştir. Para ve Slots<sup>22</sup>, ve Şahin<sup>28</sup>, dental plakta PCR yöntemi ile herpesvirüslerinin varlığını araştırmışlar ve periodontitisli bireylerde daha yüksek oranda CMV varlığı saptamışlardır. Geçmişte yapılan pek çok çalışmada da, CMV, periodontitisli, gingivitisli olduğundan daha fazla ilişkili bulunmuştur.<sup>5,6,8,10,11,22,29</sup> Bunun haricinde periodontitisli hastaların derin ceplerinde sığ ceplerine oranla daha fazla CMV DNA'sı saptanmıştır.<sup>6,8</sup> Ancak derin ve sığ cepler arasında virüs varlığı açısından gözlenen farkın, sığ ceplerden az miktarda örnek toplanabildiği için olabileceği düşüncesi yanlıştır.<sup>8</sup> Çünkü PCR metodunun yüksek oranda duyarlı olması çok az miktarda örnek mevcutken de virüs saptanmasına olanak tanır.<sup>8,22</sup> Bunun yanında PCR'in iki kere uygulanması ile yapılan "Nested PCR" metodunun, viral teşhis için oldukça duyarlı bir metod olduğu bilinmektedir.<sup>8</sup>

Periodontal hastalıkların teşhisi sıklıkla cep derinliği, ataşman seviyesi ölçümleri ve gingival enflamasyonun klinik belirtilerine dayanmaktadır. Klinik araştırmalarda bu parametreler tüm dişlerin çoğul yüzeylerinden toplanıp ortalamaları alınarak belirlen-

mektedir. Mikrobiyolojik veriler ise olası tüm subgingival bölgelerden alınan çok az miktardaki materyalin incelenmesi sonucu elde edilir. Farklı herpesvirüs türleri periodonsiyumun farklı bölgelerini işgal edebilir. Bu nedenle örnek alma şekli ve bölgesi virüs teşhisinde önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir.<sup>17</sup>

Çalışmamızda, hem periodontitis hem gingivitis gruplarında 40 yaş ve üzeri bireylerde CMV pozitifliği daha fazla bulunmuştur. Para ve Slots<sup>22</sup>, 45 yaşın üstündeki bireylerde gençlere oranla daha fazla CMV saptamıştır. Yaşlı periodontitis hastalarında daha fazla CMV saptanması lokal virüs reaktivasyonu nedeniyle olabilir. Araştırmacılar, bunun nedeninin yaşa bağlı immünsupresyon olduğunu ileri sürmüşlerdir.<sup>29</sup> Çalışmadaki periodontitis hastalarının yaşları gingivitislilerden fazladır. Parra ve Slots<sup>22</sup>, sitomegalovirüs görülme sıklığının yaşla artmış olabileceğini, ancak yıkıcı periodontal hastalık şiddetiyle ilişkisinin daha olası olduğunu bildirmişlerdir.

CMV enfeksiyonunun histopatolojik analizi, sitomegalik hücrelerin tanımlanmasına dayalı sensitivitesi az olan bir yöntemdir. Sitomegalik hücreler ancak çok fazla virüs içeren dokularda gözlenebilmektedirler. Histolojik olarak CMV incelemesinin düşük sensitivitesi nedeniyle geçmişte yapılan pek çok histolojik araştırmada CMV ile periodontal hastalık ilişkilendirilememiştir.<sup>8</sup> Immünohistokimya, antijen-antikor bağlanması yoluyla inceleme yapılmasına olanak sağlayan bir metoddur. Bu araştırmada immünohistokimya metodunun kullanılma amacı, virüsün enflamatuar hücrenin içinde gösterilebilmesini sağlamaktır. Immünohistokimya metodu sonucu CMV varlığı gözleyişimizin nedeni, bu yöntemin sensitivitesinin azlığı yanında gingival biyopsi toplamada ki kısıtlılığımıza bağlı olabilir. Histolojik inceleme öncesi dokularımızı içinde beklettiğimiz formolün nükleik asitler için ideal bir fiksatif olmaması, formol içindeki dokunun, DNA'sının bir kısmını kaybetmesi ve bekleme süresi uzadıkça dokunun DNA içeriğinde dramatik bir azalma gerçekleşmesi nedeniyle<sup>9</sup>, doku içinde virüs varlığını gösterebilmek amacıyla uyguladığımız, histolojik yöntemlere kıyasla daha sensitif ve spesifik olan PCR yöntemi sonucunda da pozitif bulgu elde edemedik.

Sonuç olarak periodontitisli hastalarda subgingival plakta CMV'nin %26.7 oranında saptanmış olması; bu mikroorganizmanın periodontal hastalık etiyolo-

patojenezinden sorumlu olma ihtimalini gündeme getirmektedir. Ancak bu konunun kesinlik kazanabilmesi için cep ve doku içindeki virüse ait enfeksiyon belirteçlerinin (marker) ortaya konduğu ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 11: 266-273, 1996.
2. Bej AK, Mahbubani MH, Atlas RM. Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction and other methods and their applications. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 26: 301-334, 1991.
3. Britt WJ. *Betaherpesviruses: CMV, HHV-6 and 7*: Mahy BJW, Collier L. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, Arnold, Great Britain, 9<sup>th</sup> edition, Volume 1, Chapter 19: 309-325, 1998.
4. Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol* 63: 418-425, 1992.
5. Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiol Immunol* 15: 15-18, 2000.
6. Contreras A, Slots J. Active cytomegalovirus infection in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 13: 225-230, 1998.
7. Contreras A, Slots J. Herpesviruses in human periodontal disease. *J Periodont Res* 35: 3-16, 2000.
8. Contreras A, Slots J. Mammalian viruses in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 11: 381-386, 1996.
9. Contreras A, Slots J. Typing of herpes simplex virus from human periodontium. *Oral Microbiol Immunol* 16: 63-64, 2001.
10. Contreras A, Umeda M, Chen C, Morrison JL, Slots J: Relationship between Herpesviruses and Adult Periodontitis and periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 70: 478-484, 1999.
11. Contreras A, Zadeh HH, Nowzari H, Slots J. Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 14:206-212, 1999.
12. Dodd CL, Winkler JR, Heinic GS, Daniels TE, Yee K, Greenspan D: Cytomegalovirus infection presenting as acute periodontal infection in a patient infected with the HIV. *J Clin Periodontol* 20: 282-285, 1993.
13. Drago F, Aragone MG, Lugani C, Rebora A. Cytomegalovirus infection in normal and immunocompromised humans. *Dermatology* 200: 189-195, 2000.
14. Emery VC. Investigation of CMV disease in immunocompromised patients. *J Clin Pathol* 54: 84-88, 2001.

15. Erlich HA, Gelfand DH, Sninsky JJ. Recent advances in Polymerase Chain Reaction. *Science* 252: 1643-1645, 1991.
16. Frifiths PD. Current management of Cytomegalovirus disease. *J Med Virol* S1: 106-111, 1993.
17. Gaytant MA, Steegers EAP, Semmekrot BA, Merkus H, Galama J. Congenital Cytomegalovirus infection: Review of the Epidemiology and Outcome. *Obstetrical and Gynecological Survey* 57: 245-256, 2002.
18. Green MS, Cohen D, Slepon R, Robin G, Wiener M. Ethnic and gender differences in the prevalence of anti-Cytomegalovirus antibodies among young adults in Israel. *International Journal of Epidemiology* 22: 720-723, 1993.
19. Ho M. Epidemiology of Cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis* 12 (Suppl): 701-710, 1990.
20. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of Cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases* 34: 1094-1097, 2002.
21. Michalowicz BS, Ronderos M, Camara-Silva R, Contreras A, Slots J. Human Herpesvirus and Porphyromonas gingivalis are associated with Juvenile Periodontitis. *J Periodontol* 71: 981-988, 2000.
22. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 5: 289-293, 1996.
23. Persing DK. In vitro nucleic acid amplification techniques: Persing DK, Smith TF, Tenover FC, White TJ. *Diagnostic Molecular Biology Principles and Applications*. American Society for Microbiology, Washington DC 51-87, 1993.
24. Persing DK. Polymerase Chain Reaction: Trenches to Benches. *Journal of Clinical Microbiology* 29: 1281-1285, 1991.
25. Rivera-Hidalgo F, Stanford TW. Oral mucosal lesions caused by infective microorganisms I Viruses and bacteria. *Periodontology* 2000 21: 106-124, 1999.
26. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol* 15: 277-280, 2000.
27. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* 2000 5: 7-25, 1994.
28. Şahin S. Viral ajanların periodonsiyuma etkilerinin klinik ve mikrobiyolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi, Periodontoloji ABD Ankara, 2000.
29. Ting M, Contreras A, Slots J. Herpesviruses in localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 35: 17-25, 2000.

**Yazışma Adresi**

Dt. İdil Teoman  
G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi  
Periodontoloji A.B.D.  
06510 Emek- ANKARA  
2126220-202