

## PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA DİŞETİ DOKUSUNUN TOTAL PROTEOGLİKAN İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ

Dr. Nermin YAMALIK\*

Doç. Dr. Feriha ÇAĞLAYAN\*\*

Prof. Dr. Ferhan TEZCAN\*\*\*

Dt. Nur KILIÇ\*\*\*\*

Kmy. Fatma AKIN\*\*\*\*\*

### ÖZET

Erişkin Periodontitis ve Hızlı İlerleyen Periodontitis tanısı konmuş hastalardan periodontal cerrahi sırasında elde edilen dişeti dokusu örneklerinde total proteoglikan (PG) miktarlarının belirlenmesi amacıyla bu çalışma yürütüldü. İltihabi özellik gösteren dişeti dokusu örnekleri yanısıra ortodontik amaçlı veya gömülü diş çekimi sırasında elde edilen sağlıklı dişeti örnekleri de kontrol grubunu oluşturdu. Her iki hastalık gurubunda dişetinde belirlenen ortalama total PG miktarları, kontrol gurubuna göre bir miktar düşük olmasına rağmen, guruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $P>0.05$ ). Ayrıca hasta gurupları arasında da total PG içeriği açısından fark olmadığı saptandı. Bu bulgular ışığında, spesifik periodontal hastalıklarda dokudaki total PG içeriğinin benzer olabileceği ancak glikozaminoglikan profili ve moleküler ağırlık dağılımlarında ayırıcı farklar bulunabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler : Periodontitis, Bağ Dokusu, Proteoglikan.

---

(\*) H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji A.B.D., Araş. Görevlisi.

(\*\*) H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji A.B.D., Öğretim Üyesi.

(\*\*\*) H.Ü. Tıp Fakültesi, Biyokimya A.B.D., Öğretim Üyesi.

(\*\*\*\*) H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji A.B.D., Doktora Öğr.si.

(\*\*\*\*\*) H.Ü. Tıp Fakültesi, Biyokimya A.B.D., Metabolizma Laboratuvarı, Kimyager.

## SUMMARY

### THE DETERMINATION OF TOTAL PROTEOGLYCAN CONTENT IN GINGIVA FROM PATIENTS WITH PERIODONTITIS

The present study was conducted in order to determine the amount of total proteoglycan (PG) content of inflamed gingiva from patients with adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. Also gingival samples without prominent signs of inflammation were obtained during tooth extraction procedures. Although the mean PG content of gingiva from the two patient groups was less than the healthy gingiva samples, the difference was not significant ( $P>0.05$ ). Furthermore, no difference regarding the tissue PG mean content between the two patient groups could be noticed. Therefore, it was suggested that the tissue PG content in specific periodontal diseases may be similar, however, glycosaminoglycan profile and molecular size distribution may present significant variances.

Key Words : Periodontitis, Connective Tissue, Proteoglycan.

## GİRİŞ

Dişetin fibröz olmayan ekstraselüler komponentlerinin biyokimyasal olarak incelenmesi ve anatomik lokalizasyonlarının belirlenmesi ile periodontal dokuların sağlığı arasındaki ilişki oldukça önemlidir (1). Bu komponentler için farklı terimler önerilmişse de bugün yaygın olarak bu komponentler glikozaminoglikan (GAG)'lar olarak isimlendirilirler. Ancak mukopolisakkarit terimi de halen kullanılmaktadır. Bu komponentler dokuda serbest olarak bulunmaktan çok, proteine bağlı olarak bulunurlar ve proteoglikan (PG)'lar olarak tanımlanırlar (1, 15, 17).

PG'lar bağ dokusu ara maddesinin ekstraselüler matriksini oluştururlar ve dokunun kuru ağırlığının yaklaşık % 30'u PG'lardır. Yüksek molekül ağırlığına sahiptirler ve basit glikoproteinlerin tersine PG'lar % 95 veya daha fazla oranda karbonhidrat içerirler. PG'lar birçok dokuda yaygın olarak bulunurlarsa da kırıldak, deri, tendon, kemik ve kornea gibi dokular PG'lar açısından

dan özellikle zengindirler (17). PG'larda GAG'lar dışında küçük oligosakkarit zincirleri de yer alır (1).

Hyaluronik asit (HA), kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat, ve keratan sülfat dokuda farklı formlardaki GAG'ları oluşturur. GAG'lar PG'ların major karbonhidrat komponentleri olup, HA dışındaki tümü sülfat gurupları içerir (1, 17). PG'lar in vivo olarak bağımsız üniteler halinde bulunmaktan çok, değişik ekstraselüler ve hücre yüzeyi komponentleriyle etkileşirler. Karbonhidrat-karbonhidrat, PG-hücre yüzeyi ve PG-kollagen etkileşimleri yoluyla biyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirirler (1).

Bağ dokusunun major komponentlerinden olan PG'lar dokunun bütünlüğünün korunmasında, basınca karşı direnç göstermesinde ve dokunun elastikliğinin sağlanmasında rol oynarlar. Ayrıca hücre morfogenezine de katılırlar (1, 17) Oral ve periodontal dokuların PG ve GAG içeriği birçok çalışmada incelenmiştir (3, 4, 13, 14, 18). Mukoza, periodontal ligament, dişeti epiteli ve bağ dokusunda PG'ların varlığı gösterilmiştir (1, 3, 4, 13, 14, 18). Dişeti epiteli ve bağ dokusunun moleküler ağırlık yanısıra GAG kompozisyonu açısından da birbirlerinden farklı PG'lardan oluştuğu rapor edilmiştir (3). İltihaplı dişeti dokusunun PG ve GAG içeriğine ilişkin çalışmaların sonuçları ise uyumlu değildir. İltihaplı bölgelerde nötral mukopolisakkaritler daha az reaktif iken, GAG'lar iltihabi odak çevresinde daha yoğun olarak bulunmuştur (12). Total GAG miktarının iltihaplı dişetinde azaldığını gösteren çalışmalar yanısıra, sağlıklı ve iltihaplı dişeti dokuları arasında GAG içeriği açısından farklılık olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. PG'ların iltihaplı dokuda yıkılmalarına bağlı olarak miktarlarının azaldığı da ileri sürülmektedir (5, 10, 16). Phenytoine bağlı dişeti büyümelerinde PG'ların artış gösterdiği, bu tür dişeti büyümelerinin bağ dokusu kompozisyonundaki değişimler ile ilişkili olabileceği de önerilmiştir (9). Periodontal hastalıklı bölgelerden elde edilen dişeti cep sıvısı örneklerindeki GAG'ların ise aktif periodontal yıkım varlığının bir göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür (11). Yine de periodontal dokuların PG içeriği ile periodontal hastalık gelişimi arasındaki ilişkiye ait çalışmaların yetersiz olduğu ve bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (1).

Bu çalışmanın amacı, farklı periodontal yıkım paternlerine sahip periodontitisli hastalarda dişeti dokusu örneklerinde total PG miktarlarının belirlenmesi ve sağlıklı dişeti dokusu örneklerindeki PG içeriği ile karşılaştırmalı olarak incelenmesidir.

## MATERYAL VE METOD

Bu amaçla H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, klinik ve radyografik incelemeler sonucunda erişkin periodontitis (EP) tanısı konmuş 10 hasta ile hızlı ilerleyen periodontitis (HİP) tanısı konmuş 10 hasta seçildi. Sistemik hastalık ve/veya antibiyotik ve/veya anti-enflamatuar ilaç kullanım öyküsüne sahip hastalar çalışma kapsamına alınmadı. Sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı, ortodontik amaçlı diş çekimi veya gömülü diş çekimi işlemleri gerçekleştirilecek 10 birey de kontrol gurubunu oluşturdu. Cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında benzerlik olmasına özen gösterildi. Tüm gruplar 5 kadın ve 5 erkek olmak üzere toplam 10 bireyden oluşuyordu. EP gurubunda yaş ortalaması 45.6 iken, HİP gurubunda 31.6, kontrol gurubunda ise 24.7 idi.

Dişeti doku örnekleri, kontrol gurubunda diş çekimi işlemleri sırasında elde edilirken, hastalık gruplarında periodontal cerrahi girişimler sırasında elde edildi. Doku örnekleri etanol içeren cam tüplere konularak + 4°C'de saklandı. Doku örneklerindeki total PG miktarları Embery ve arkadaşlarının tanımladıkları yöntem ile belirlendi (10).

Yöntem gereğince, örneklerdeki etanol dekante edilerek deney günü ayrıldı. 4 ml. etil eterde küçük parçalara ayrılarak ezildi ve homojenizasyon yapıldı. Eterli fazın uçurulmasını takiben doku örnekleri soğuk hava akımı altında kurutuldu. İkinci kurutma işlemi CaCl<sub>2</sub> dolu petri kabında yapıldı, ve örneklerin kuru ağırlıkları belirlendi. Kuru doku örnekleri 2M CaCl<sub>2</sub> içeren çözelti ile iki kez çalkalandı, bir gün bekletilmeyi takiben santrifüj edildi. Üst fazlar atıldıktan sonra birleştirildi. CaCl<sub>2</sub> içeren ekstraktlar diyaliz torbalarına konularak + 4°C'de bir gece distile suya karşı diyaliz edildi. Diyaliz tamamlandıktan sonra örneklere 0.4 ml. setilpridinyum klorür çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve + 4°C'de çökmeye bırakıldı. Setilpridinyum klorür + PG kompleksi 24 saat sonra 2500 devirde

30 dakika santrifüj edilerek süpernatant alındı. Çökeltiye absol alkolde hazırlanmış potasyum asetat çözeltisi ilave edilerek tekrar 3000 devirde santrifüj edildi. Elde edilen çökelti soğuk hava akımı altında kurutuldu ve distile su ile çözüldü. Süpernatanda heksuronik asit ölçümü yapıldı (6). Değerler 525 nm. dalgaboyunda spektrofotometrede okundu.

Total PG içeriğine ilişkin farklılıklar Kruskal-Wallis analiz yöntemi ile istatistiksel olarak değerlendirildi (8).

### SONUÇLAR

Doku örneklerinde mg kuru ağırlık başına belirlenen total PG miktarlarının gruplara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. EP gurubunda mg. doku ağırlığı başına saptanan total PG miktarı  $0.329 \pm 0.110$  mg. iken, HİP gurubunda bu değer  $0.314 \pm 0.112$  mg. olarak belirlendi. Sağlıklı dişeti örneklerinden oluşan kontrol gurubundaki total PG miktarı ise  $0.385 \pm 0.179$  idi. İstatistiksel değerlendirmeler doku örneklerindeki total PG içeriği açısından gruplar arasındaki farkların önemli olmadığını gösterdi  $p > 0.05$ . (Tablo 2).

DİŞETİNİN PROTEOGLİKAN İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ

**Tablo 1 : Guruplarda belirlenen total PG miktarları (mg).**

Doku örneklerinin kuru ağırlığı	Dokudaki total PG miktarı	mg. kuru ağırlık başına PG miktarı
<b>Kontrol Gurubu</b>		
12.9	2.177	0.168
8.8	6.107	0.694
5.07	1.825	0.360
29.3	10.460	0.357
7.5	2.175	0.290
11.1	4.007	0.361
5.78	1.618	0.280
9.68	2.807	0.290
8.6	6.536	0.760
10.6	3.074	0.290
<b>Hızlı İlerleyen Periodontitis Gurubu</b>		
52.1	12.868	0.247
54.2	13.333	0.246
49.9	4.241	0.085
70	21.910	0.313
81.9	29.074	0.355
119	42.840	0.360
63.5	35.560	0.560
53.3	18.015	0.338
55.1	17.962	0.326
16	4.976	0.311
<b>Erişkin Periodontitis Gurubu</b>		
24.4	6.344	0.260
69.8	20.970	0.300
70	30.800	0.440
72.1	13.626	0.189
99	30.294	0.306
92	27.876	0.303
54.5	16.677	0.306
81.2	25.578	0.315
19	4.978	0.262
83.3	50.813	0.610

**Tablo 2 : mg. kuru doku ağırlığı başına ortalama PG miktarları (mg.)**

	Ortalama PG miktarı	S.H.	K.W.	P
Erişkin Periodontitis Gurubu	0.329	0.110	0.493	>0.05
Hızlı İlerleyen Periodontitis	0.314	0.112		
Kontrol Gurubu	0.385	0.179		

### TARTIŞMA

Dişetinde iltihabın yarattığı önemli değişiklikler arasında dokunun görünüm ve kıvamında gözlenen değişimler sayılabilir. Bu değişimlerin oluşması, birçok faktörün yanısıra, kısmen de etkilenen dişeti dokusunun GAG içeriğindeki farklılaşma ile ilişkilidir (10, 12). GAG'lar dişetin fibröz olmayan makromoleküllerinden biridir ve dokuda proteine bağlı agregatlar şeklinde bulunur. PG'lar olarak isimlendirilen bu formların katabolizması dişetinde iltihap olguları sırasında gözlenen yıkım ile yakından ilişkilidir (1, 7, 10, 15, 17).

İltihabi özellikler varlığında dişeti dokusunun PG ve GAG içeriğine ilişkin yapılmış çalışmalar bu makromoleküller ve periodontal hastalık gelişimindeki rollerine ilişkin bilgilerimizi artırmış olmakla beraber, yeterli değildir (1, 2). Ayrıca bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar da birbirleriyle tümüyle uyumlu değildir. Embery ve arkadaşları (10), GAG içeriği açısından iltihaplı ve sağlıklı dişeti örnekleri arasında farklılık olmadığını ancak şiddetli dişeti iltihabının varlığında dokuda PG'ların belirgin biçimde yıkıma uğradığını ve buna bağlı olarak da sağlıklı dişetine oranla daha az PG içerdiğini

göstermişlerdir. Ciancio ve Mather (7), ise yaptıkları çalışmada asit mukopolisakkarit miktarının iltihap varlığında azaldığını rapor etmişlerdir. Öte yandan normal ve iltiyaplı dişeti örnekleri arasında bu makromoleküllerin miktarı ve tipleri arasında farklılık olmadığı da ileri sürülmüştür (5, 16). İltihaplı doku bölgelerinde nötral mukopolisakkaritlerin daha az reaktif oldukları, iltihabi odak çevresinde ise GAG'ların yoğun olarak bulunduğu belirtilmiştir (12).

Total PG miktarlarının incelendiği çalışmamızda, deney grupları arasında anlamlı farklılıklar olmadığı saptanmıştır. Konuya ilişkin çalışmaların sonuçlarına ilişkin farklılıklar dişeti iltihabı ve periodontal yıkım bulgularındaki farklılıklara bağlı olabilir. Ayrıca periodontal cerrahi öncesi lokal iritanların uzaklaştırılması, iltihabın şiddetini dolayısıyla da çalışmamızdaki hasta gruplarındaki PG'ların miktarlarını etkilemiş olabilir. Sağlıklı dişeti örnekleri klinik olarak iltihabi özellikler göstermezken, subklinik düzeyde iltihap bulgularına sahip olması da mümkündür. Bu nedenle dişeti iltihabının klinik ve histolojik olarak değerlendirilmesinin yararlı olabileceği önerilmektedir (7).

PG'lar ve GAG'lar dişeti bağ dokusunun major non-kollagenöz makromolekül guruplarından (9). PG'ların yıkımında rol oynayan proteolitik enzimler gingival ortamda da mevcuttur (15) ve bu enzimler kollagen yıkımı yanısıra PG'ların da yıkımına katılabilirler (10). Böylece periodontal hastalık varlığında boğ dokusu ara maddesini oluşturan makromoleküllerin de yıkıma uğradığı, bunu takiben ise eksojen ve endojen yıkım faktörlerinin dokuyu daha kolaylıkla etkileyebildikleri ve yıkımın oluşmasının çabuklaştığı düşünülmektedir (1, 7, 10). Ayrıca bu makromoleküllerin kollagen fibrillerinin yapısal bütünlüklerinin korunmasında da rol oynadıkları, dolayısıyla da yıkıma uğramalarının periodontal hastalık varlığında kollagen fibrillerinin kollagenolitik enzimler yardımıyla yıkımını da kolaylaştırabileceği önerilmektedir (3, 7).

Bizim çalışmamızda da bu görüşlerden yola çıkılarak dişeti dokusunda PG varlığı ve miktarları incelenmiştir. Sağlıklı dişeti dokusunda bir miktar yüksek bulunmakla beraber, guruplar arasında farklılıklar önemli bulunmamıştır. Farklı özelliklere sahip spesifik periodontal hastalıklar arasında da total PG içeriğine ilişkin önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Bu durum PG içeriğinin farklı periodontal hastalıkları ayırmaktan çok periodontal hastalığın aktif ve pasif evrelerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini



düşündürebilir. Zira Last ve arkadaşları (11) periodontal yıkımın sözkonusu olduğu alanlardan elde edilen gingival cep sıvısı örneklerinde GAG profilinin aktif yıkımın göstergesi olabileceğini önermişlerdir. Purvis ve arkadaşları (16) ise iltihabın şiddeti ile spesifik GAG'ların oranları arasında bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. Bu görüşler doğrultusunda farklı periodontal yıkım paternlerinde total PG içeriği yanısıra GAG içeriği, tipleri ve moleküler ağırlık dağılımlarının incelenmesi yararlı olabilir.

PG'lar henüz biyolojik rolleri ve önemleri tam olarak anlaşılmamış bağ dokusu komponentleridir (1, 17). Doku bütünlüğünün korunması, termal stabilitenin sağlanması, basınca karşı direnç oluşturulması ve kollagen fibrillerinin korunması gibi fonksiyonları olduğu, ayrıca karbonhidratlar, kollagen ve hücre yüzeyi ile etkileşerek gelişimsel fonksiyonlara katıldıkları düşünülmektedir (1, 3). Böylece dişeti gibi sürekli mekanik ve kimyasal irritasyonlara açık dokularda bütünlüğün korunmasının hücrel aktivite için uygun bir ortamın yanısıra ekstraselüler matriks ile de ilişkisinin olduğu belirtilmektedir (3). Bu özellikleri ile PG'lar ile periodontal hastalık gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu söylemek mümkün görünmektedir (1). Ancak tüm bu özelliklerine karşın, bu makromoleküllerin periodontal hastalıkların gelişimindeki rolü ve doku yıkımı ile PG'lar arasındaki ilişkinin incelenmesine yönelik çalışmaların yetersiz olduğu ve bu konuda yürütülecek yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır (1, 2).

Bu amaç doğrultusunda gerçekleştirilen bu ön çalışmanın sonuçlarını takiben, spesifik periodontal hastalıklarda total PG ve GAG içeriği yanısıra dişeti dokusundaki GAG profilinin ve moleküler ağırlık dağılımının da incelenmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bartold, P.M. : Proteoglycans of the periodontium : Structure, role and function. *J. Periodont Res.*, 22 : 431-444, 1987.
2. Bartold, P.M.; Page, R.C. : Isolation, identification and quantitation of glycosaminoglycans synthesized by human gingival fibroblasts in vitro. *J. Periodont Res.*, 20 : 284-292, 1985.
3. Bartold, P.M.; Wiebkin, O.W.; Thonard, J.C. : Proteoglycans of human gingival epithelium and connective tissue, *Biochem J.*, 211 : 119-127, 1983.
4. Bartold, P.M.; Wiebkin, O.W.; Thonard, J.C. : Proteoglycans in human gingivae. 1. Distribution of molecular size, *Arch Oral Biol.*, 27 : 1-7, 1982.
5. Bartold, P.M.; Page, R.C. : The effect of chronic inflammation on gingival connective tissue proteoglycans and hyaluronic acid, *J. Oral Pathol.*, 15 : 367-370, 1986.
6. Bitter, T.; Muir, H.M. : A modified uronic acid carbazole reaction, *Anal Biochem.*, 4 : 330-334, 1962.
7. Ciancio, S.G.; Mather, M.L. : Acid mucopolycaccharides in gingivitis and periodontitis, *J. Periodont Res.*, 6 : 188-193, 1971.
8. Cohen, L.; Holliday, M. : *Statistics for social scientists*, London : Harper and Row, 267, 1983.
9. Dahlöf, G.; Moder, T.; Reinhold, F.P.; Wikström, B.; Hjerpe, A. : Proteoglycans and glycosaminoglycans in phenytoin-induced gingival overgrowth, *J. Periodont Res.*, 21 : 13-21, 1986.
10. Embery, G.; Oliver, W.M.; Stanbury, J.B. : The metabolism of proteoglycans and glycosaminoglycans in inflamed human gingiva, *J. Periodont Res.*, 14 : 512-519, 1979.
11. Last, K.S.; Stanbury, J.B.; Embery, G. : Glycosaminoglycans in human gingival crevicular fluid as indicators of active periodontal disease, *Arch Oral Biol.*, 30 : 275-281, 1985.
12. Melcher, A.H. : Some histological and histochemical observations of chronically inflamed gingiva, *J. Periodont Res.*, 2 : 127-146, 1967.
13. Pearson, C.H.; Gibson, G.J. : Proteoglycans of bovine periodontal ligament and skin : Occurance of different hybrid-sulphated galactosaminoglycans in distinct proteoglycans, *Biochem J.*, 201 : 27-37, 1982.
14. Pedlar, J. : Histological localization of myxoid tissue in normal human palatal mucosa and its glycosaminoglycans, *Arch Oral Biol.*, 32 : 195-199, 1987.

15. Purvis, J.A.; Embery, G. : The breakdown of gingival proteoglycans by a polymorphonuclear leukocyte protease, *J. Dent Res.*, 1185 (abst 182), 1981.
16. Purvis, J.A.; Embery, G.; Oliver, W.M. : Molecular size distribution of proteoglycans in human inflamed gingival tissue, *Arch Oral Biol.*, 29 : 513-519, 1984.
17. Smith, E.L.; Hill, R.L.; Lehman, I.R.; Lefkowitz, R.J.; Handler, P.; White, A. : Principles of biochemistry : Mammalian biochemistry, McGraw-Hill International Book Company, 7th ed., Tokyo : 228-239, 1983.
18. Wiebkin, O.W.; Bartold, P.M.; Thonard, J.C. : Proteoglycans from adult human gingival epithelium, *Biochem J.*, 183 : 467-470, 1979.