

İki farklı silikon esaslı yumuşak astar maddesinin zamana bağlı olarak yüzeylerinden izole edilen *C. albicans* hücrelerinde *ALSI* adezyon geninin ekspresyonundaki değişimin incelenmesi

The evaluation of the changes in *ALSI* adhesion gene levels in *Candida albicans* cells isolated from two different silicone based soft lining materials in different time periods

¹Kaan Yerliyurt, ²Dilek Nalbant, ³Ayşe Kalkancı, ³Semra Kuştimur

¹Özel Dentatürk Ağız ve Diş Sağlığı Hastanesi

²Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yazışma Adresi

Dr. Kaan Yerliyurt

Adres: İhsaniye Mah.
Lefkoşe Sok. No:21/4
Nilüfer/Bursa

İş Tel: 0224270 0 900

Tel: 0555724 04 95

e-mail:

kaanyerliyurt@hotmail.com

Özet

Amaç: In vitro hızlandırılmış eskitme işlemi uygulanmış ve uygulanmamış iki farklı silikon esaslı yumuşak astar maddesinin *C. albicans* hücreleri ile 12 ve 24 saat süreyle inkübasyonunun ardından, bu yumuşak astar maddelerinin yüzeylerinden izole edilen hücrelerdeki *ALSI* geni mRNA ekspresyonunun kantitatif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada; oda sıcaklığında vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi olarak Dentusil ve ısıyla vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi olarak Molloplast-B kullanılmıştır. Her bir maddeden 40'ar adet olmak üzere toplam 80 adet örnek hazırlanmıştır. Her bir maddeden hazırlanan örneklerin 20 tanesine Atlas UV2000 Hızlandırılmış Hava Koşullandırma Test Cihazında hızlandırılmış eskitme işlemi uygulanmıştır. Ardından her bir yumuşak astar maddesinden hazırlanan eskitme işlemi uygulanan ve uygulanmayan 10'ar tane olmak üzere toplam 20 örnek 12 saat, diğer 20 tane örnek ise 24 saat süreyle *C. albicans* hücreleriyle inkübe edilmişlerdir. Örneklerin yüzeyinde oluşan biyofilm kütlesi kazanmış ve mRNA'ları izole edilmiştir. Bu mRNA'lar cDNA'ya çevrilmiş ve Real-time PZR'de kantitatif analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Eskitme işlemi ve inkübasyon süresi gruplarının hepsinde Dentusil maddesinde elde edilen örneklerde, Molloplast-B maddesinden elde edilen örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda az mRNA ekspresyonu olmuştur (p<0.05).

Sonuç: Yaptığımız çalışmada genel ortalamalara bakıldığında ve eskitilmiş örneklerin ortalama *ALSI* gen ekspresyon miktarlarına bakıldığında, en çok ekspresyon miktarı Molloplast-B maddesinde görülmüştür. Bu durum Molloplast-B maddesinde materyalin eskimesiyle birlikte adezyonda ciddi artışlar olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Candida albicans*, adezyon, *ALSI* geni, gen ekspresyonu, yumuşak astar maddeleri

Abstract

Objective: The aim of this study was to investigate the quantitative expression of *ALSI* gene mRNA isolated from the surface of two different silicone based soft lining materials, after the incubation with *C. albicans* cells for 12 and 24 hours of this soft lining materials subjected to a process of in vitro accelerated aging and of the ones not subjected.

Material and Method: In this study, Dentusil (room temperature vulcanized silicone based soft lining material) and Molloplast-B (heat-vulcanized silicone based soft lining material) were used. 40 specimens from each material were prepared so as to obtain totally 80 specimens. 20 specimens of each soft lining materials' were subjected to accelerated aging process by using Atlas UV2000 Accelerated Air Conditioning Test Device and the other 20 were not subjected to aging process. 10 of the 20 specimens which were subjected to accelerated aging were incubated with *C. albicans* for 12 hours and the other 10 specimens were incubated with *C. albicans*

Giriş

İdeal şartlarda çiğneme kuvvetleri çene kemiklerine, periodontal atışmanlarla kemiğe sıkıca tutunmuş sağlıklı dişler aracılığıyla iletilir. Çeşitli nedenlerle tamamen dişsiz kalmış hastalarda çiğneme kuvvetleri yapay dişler aracılığıyla iletilir ve oral mukoperiost bu kuvvetlere maruz kalır (1,2). Oluşan aşırı stres kemik rezorpsiyonuna ve mukozanın travmatik ülserasyonun neden olur (2,3). Bu gibi durumlarda yumuşak astar maddeleri şok emme ve stresi üniform hale getirme özellikleri ile tam protezlerde kemik ve mukoza dokusundaki bazı olumsuz faktörleri telafi etmek ve destek dokulara gelen basıncı azaltmak amacı ile kullanılır (1,2,4).

Yumuşak astar maddeleri mevcut özelliklerini protez altında uzun süre koruyamamaktadırlar. Yapılarındaki

for 24 hours. And 10 of the 20 specimens which were not subjected to accelerated aging were incubated with *C. albicans* for 12 hours and the other 10 specimens were incubated with *C. albicans* for 24 hours. The biofilm layer occurred on the surfaces of the specimens were excavated and mRNAs were isolated. The mRNAs were converted into cDNA and quantitative analyses were performed with real-time PCR.

Results: The samples obtained from Dentusil material in all group of accelerated aging and incubation time, according to the samples obtained under material of Molloplast-B mRNA expression was statistically significant less amount ($p < 0.05$).

Conclusion: Looking at the overall averages of our study and aged samples' amount of average *ALSI* gene expression, the amount of expression is seen in Molloplast-B substance. This situation is thought that Molloplast-B material with aging of the material can be serious increases in adhesion.

Keywords: *Candida albicans*, adhesion, *ALSI* gene, gene expression, denture liners

plastikleştiricilerin sızmasıyla yumuşaklıklarını kaybederler ve zamanla oluşan pürüzlü yüzeyleri plak birikimine ortam hazırlarlar. Bu mikrobiyal plak mantarlar için bir rezervuar görevi görmektedir. En yaygın görülen mantar tipi ise *Candida albicans*'tır (5-9).

Oral kandidoz, *Candida* türlerinin en çokta *C. albicans*'ın oral kavitede çoğalmasına bağlı olarak gelişen yaygın fırsatçı enfeksiyondur (10-13). *Candida* ilişkili protez stomatiti yaygın gözlenen bir oral kandidoz tipidir (14-17). Yapılan bir çalışmada hareketli total protez kullananların %60'ında, hareketli bölümlü protez kullananların %36.7'sinde ve sabit protez kullananların %16.7'sinde protezle ilişkili stomatit geliştiği belirtilmiştir (18). *C. albicans*'ın konakçı hücrelere veya akrilik ve yumuşak astar maddelerine adezyonu başarılı bir kolonizasyonun, patogenezin ve enfeksiyonun gelişimi için

gerekli olan ilk basamaktır (9,19). Adezyon, *Candida* türlerinin virülans faktörlerinden biridir. Gen aileleri de *Candida* virülansında önemli bir bölümü oluşturmaktadır. Bunlardan bir tanesi de yapısındaki agglutinin – like sequence (*ALS*) gen ailesidir (14). *ALS* genleri ilk defa *C. albicans*'ta tanımlanmıştır (15). *C. albicans*'taki agglutinin – like sequence (*ALS*) gen ailesinin konakçı yüzeylerine adezyonda görev alan büyük hücre yüzey glikoproteinlerini kodladıkları bilinmektedir (15,16). Nobile ve arkadaşları (20) yaptıkları çalışmada *ALS1* ve *ALS3* genlerinin biyofilm formasyonunda birlikte daha fazla etkili olduklarını belirtmişlerdir. Kamaï ve arkadaşları (21) deneysel orofaringeal kandidoz oluşturdukları farelerde; *ALS1* geninin enfeksiyonun erken safhalarında *C. albicans*'ın adezyonunda önemli rol oynadığını belirtmişlerdir.

C. albicans'ın yumuşak astar maddelerine adezyonuyla ilgili olarak yapılmış birçok araştırma mevcut olmasına rağmen (6,7,9,19,22-27), bu maddelerin yüzeylerine yapışan *C. albicans* hücrelerinde adezyon gen ekspresyonlarındaki değişikliklerin kantitatif olarak incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu araştırmanın amacı; belirli sürelerde in vitro olarak hızlandırılmış eskitme işlemi

uygulanmamış ve uygulanmış iki farklı silikon esaslı yumuşak astar maddesine yapışan *C. albicans* hücrelerinde adezyon geni olan *ALS1* geni mRNA ekspresyonundaki değişikliğin kantitatif olarak incelenmesidir.

Gereç ve Yöntemler

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada, Tablo 1'de gösterilen 2 farklı marka silikon esaslı yumuşak astar maddesi kullanılmıştır. Dentusil ve Molloplast-B yumuşak astar maddelerinin her birinden 40'ar adet olmak üzere toplam 80 adet örnek hazırlanmıştır. Bu amaçla 1.5 mm kalınlığında, 10 mm çapında silindir boşlukları olan alüminyum kalıp hazırlanmıştır. Kalıp boşluklarında mum örnekler hazırlanmış, hepsi muflaya yerleştirilmiş ve muflada negatif boşluklar elde edilmiştir. Üretici firmaların talimatlarına göre hazırlanan her bir yumuşak astar maddesi muflalara yerleştirilmiştir. Dentusil maddesine ait örnekler oda sıcaklığında 1 saat bekletilerek polimerize olmaları sağlanmıştır. Molloplast-B maddesine ait örneklerin polimerizasyonu için mufla soğuk suya konulmuştur, ardından suyun sıcaklığı 100°C oluncaya kadar ısıtılmıştır ve bu sıcaklıkta 2 saat bekletilerek polimerizasyon tamamlanmıştır.

Tablo 1: Araştırmada kullanılan silikon esaslı yumuşak astar maddeleri ve özellikleri

MATERYAL	TİPİ	İÇERİĞİ	ÜRETİCİ FİRMA ve ÜRETİM YERİ
Dentusil	Oda sıcaklığında vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi	Vinyl Polisiloksan, silika	Bosworth, EU
Molloplast-B	Isı ile vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi	Poli dimetil siloksan Acryloxyalkyl silan	Detax Karl Huber GmbH Ettligen, Germany

In Vitro Hızlandırılmış Eskitme İşlemi

Her bir yumuşak astar maddesinden 40'ar adet hazırlanan örneklerin 20'ser adedi Atlas UV2000 Hızlandırılmış Hava Koşullandırma Test Cihazında (Siemens, Almanya) in vitro hızlandırılmış eskitme işlemine tabi tutulmuştur. Yumuşak astar maddeleri için tavsiye edilen kullanım süreleri dikkate alınarak, her bir yumuşak astar maddesi için uygulanacak olan

eskitme işleminin süresi hesaplanmıştır (Tablo 2). In vitro hızlandırılmış eskitme işlemi için, cihazın döngüleri 60 °C'de 8 saat süreyle UV ışınması ve 50 °C'de 4 saat süreyle yoğunlaşma olacak şekilde programlanmıştır.

Tablo 2: Araştırmada kullanılan yumuşak astar maddelerine uygulanan eskitme süreleri ve eskitilen örneklerin sayıları

Yumuşak Astar Maddesi	Kullanım Süresi	Eskitme Süresi	Eskitilen Örnek Sayısı
Dentusil	6 ay	150 saat	20
Molloplast - B	2 yıl	600 saat	20

Örneklerin *Candida albicans* Suşu İle Karşılaştırılması

Çalışmada *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşu kullanılmıştır. 0,01 mol/L PBS (fosfatla tamponlanmış salin) solüsyonu

hazırlanmıştır. SDA (Saboraud Dekstroz Agar) plaklarındaki *Candida albicans* suşundan cam tüplerin içindeki solüsyona öze ile ekim yapılmıştır.

Her bir yumuşak astar maddesinin 20 adet eskitilmemiş ve 20

adet eskitilmiş örnekleri cam tüplerin her birinin içine 1'er adet olacak şekilde konmuştur. Tüpler her bir grupta 10 adet eskitilmemiş ve 10 adet eskitilmiş örnek olacak şekilde 2 gruba ayrılmıştır. 1. gruptaki tüpler 37 °C'lik etüvün içine konulmuş olan yatay çalkalayıcıya yerleştirilip 200 x rpm'de 12 saat boyunca, 2. gruptaki örnekler ise 24 saat boyunca çalkalanmıştır.

Çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra tüplerdeki maya süspansiyonlarının dibe çöken tortulu kısımları ve içinde bulunan örnekler 1.5 ml'lik eppendorf tüplere aktarılmıştır.

Örneklerin yüzeyine yapışan *Candida albicans* kolonisinden total RNA eldesi

RNA elde edilmesi için Heliosis RNA Ekstraksiyon Modülü (Metis Biyoteknoloji, Türkiye) kullanılmıştır. Üretici firma önerilerine uygun olarak, 100 µl örnek ile çalışılmıştır.

Elde edilen total RNA miktarları RNA ölçüm cihazında (NanoDrop, ABD) ölçülerek RNA varlığı kontrol edilmiştir.

Ters transkripsiyon (RT – PZR) ile cDNA eldesi

Total RNA'dan komplementer DNA (cDNA) elde edilmesi için Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-PCR (AMV) (Roche, Germany) kullanılmıştır.

***ALSI* kodlayan cDNA'ların Real-Time PZR cihazında çoğaltılması**

ALSI için en az 10 ng cDNA kullanılmıştır. LightCycler cihazı (Roche, Almanya) ve LightCycler yazılımının 3.5

versiyonu kullanılmıştır. Real-time PZR amplifikasyon karışımı, kalıp cDNA, SYBR Green master karışım tamponu ve her bir primerden [Forward 5'- gaa tgc aat tgg taa agt a- 3' ve Reverse 5' -atg ctt caa caa ttt aca- 3' (Alpha DNA, Kanada)] 100 pmol içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Real -Time PZR'de *ALSI* gen ifadesinin kantitatif analizi

Klinik örneklerden önce bir cDNA havuzunun 6 farklı dilüsyonu üç farklı kopya olarak ölçülmüştür ve floresansın başladığı siklus sayısı (Cp) ile gen ifadesinin logaritmik artışı arasında lineer regresyonla , kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

Örneklerdeki *ALSI* genlerinin sayısal analizi için yapılan mutlak ölçüm (absolute quantification) sırasında, örnekteki hedef ile daha önce konsantrasyonu bilinen aynı hedefin standart eğrisi karşılaştırılmıştır. Standart eğriler, 10 kat seri dilüsyonlarla ($10^2 - 10^{10}$ kopya/mL), kopyalar ölçülerek (kuantifiye edilerek) oluşturulmuştur. *ALSI* gen ifadesi miktarı kopya / mL olarak ölçülmüştür.

İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 15 kullanılmıştır. mRNA miktarlarının sunulması amacıyla ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri kullanılarak tablolar hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara Üç Yönlü Varyans Analizi yapılmıştır. Yumuşak astar maddelerinin (Dentusil ve Molloplast-B) mRNA miktarları arasında farklılığı belirlemek için Student T testi

kullanılmıştır. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak $p<0.05$ ve $p<0.01$ değerleri kabul edilmiştir.

Bulgular

In vitro hızlandırılmış eskitme işlemi uygulanmış ve

Tablo 3: Elde edilen mRNA miktarlarının (kopya/mL) yumuşak astar maddelerine, eskitme işlemi (eskitilmemiş/eskitilmiş) ve inkübasyon sürelerine (12/24 saat) göre ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri

Yumuşak Astar Maddesi	Uygulanan İşlem	N	Ortalama	Std.Sapma	Minimum	Maksimum
Dentusil	Eskitilmemiş-12 saat	10	19.40	2.95	15.00	24.00
	Eskitilmemiş-24 saat	10	16.00	1.49	14.00	18.00
	Eskitilmiş-12 saat	10	14.00	1.49	12.00	16.00
	Eskitilmiş-24 saat	10	25.10	1.66	23.00	28.00
Molloplast-B	Eskitilmemiş-12 saat	10	22.10	2.23	19.00	26.00
	Eskitilmemiş-24 saat	10	29.30	4.19	20.00	34.00
	Eskitilmiş-12 saat	10	27.00	4.62	19.00	33.00
	Eskitilmiş-24 saat	10	37.30	2.87	34.00	42.00

Silikon esaslı yumuşak astar maddesi, in vitro hızlandırılmış eskitme işlemi ve inkübasyon süresi faktörleri ile üç faktörlü varyans analizi (2x2x2 düzeni) yapılmış ve sonuçlar Tablo 4'de verilmiştir. Yumuşak astar maddeleri, eskitme işlemi ve inkübasyon süresinin her

uygulanmamış iki farklı silikon esaslı yumuşak astar maddesinin *C. albicans* hücreleri ile 12 ve 24 saat süreyle inkübe edilmesi sonucunda elde edilen mRNA ekspresyon miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

birinin alt grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$). Ayrıca bu üç faktöre ait ikili etkileşimlerin hepside anlamlıdır ($p<0.01$). Her üç faktörün birlikte etkileşimi incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$) (Tablo 4).

Tablo 4: Yumuşak astar maddeleri, eskitme işlemi ve inkübasyon süresi etkileşimine ilişkin varyans analizi sonuçları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Malzeme	1	2121.800	2121.800	249.460	0.000**
İşlem	1	344.450	344.450	40.497	0.000**
Süre	1	793.800	793.800	93.327	0.000**
Malzeme x İşlem	1	105.800	105.800	12.439	0.001**
Malzeme x Süre	1	120.050	120.050	14.410	0.000**
İşlem x süre	1	387.200	387.200	45.523	0.000**
Malzeme x işlem x süre	1	162.450	162.450	19.099	0.000**
Hata	72	612.400	8.506		
Toplam	80	49868.000			

** p < 0.01

Silikon esaslı yumuşak astar maddelerinin eskitme işlemi ve inkübasyon süresi alt gruplarına göre elde edilen mRNA ekspresyon miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri ile her iki maddenin bu değerler bakımından karşılaştırma sonuçları Tablo 5'de

verilmiştir. mRNA ekspresyon miktarları en az eskitilmiş ve 12 saat inkübe edilmiş Dentusil maddesinde (14.00±1.49 kopya/mL) bulunurken, en fazla eskitilmiş 24 saat inkübe edilmiş Molloplast-B (37.30±2.87 kopya/mL) maddesinde bulunmuştur.

Tablo 5: Silikon esaslı Yumuşak astar maddelerinin eskitme işlemi ve inkübasyon süresi gruplarına ilişkin karşılaştırma sonuçları

Eskitme işlemi ve inkübasyon süresi grupları	Dentusil	Molloplast-B	p
Eskitilmemiş - 12 saat	19.40 ± 2.95	22.10 ± 2.23	0.033*
Eskitilmemiş – 24 saat	16.00 ± 1.49	29.30 ± 4.19	0.000**
Eskitilmiş – 12 saat	14.00 ± 1.49	27.00 ± 4.62	0.000**
Eskitilmiş – 24 saat	25.10 ± 1.66	37.30 ± 2.87	0.000**

* p < 0.05

** p < 0.01

Eskitilmemiş ve 12 saat inkübe edilmiş silikon esaslı yumuşak astar maddesi örneklerinde mRNA ortalamaları sırasıyla, Dentusil maddesinde 19.40±2.95 kopya/mL ve Molloplast-B maddesinde 22.10±2.23 kopya/mL olarak bulunmuştur. Yapılan t-testi sonucunda ortalamalar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0.05) (Tablo 5).

Eskitilmemiş ve 24 saat inkübe edilmiş Dentusil maddesi örneklerinden izole edilen hücrelerde (16.00±1.49 kopya/mL), Molloplast-B maddesi örneklerine (29.30±4.19 kopya/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda daha az *ALSI* gen ekspresyonu bulunmuştur (p<0.01) (Tablo 5).

Eskitilmiş ve 12 saat inkübe edilmiş Dentusil maddesi örneklerinden izole edilen hücrelerde (14.00±1.49 kopya/mL), Molloplast-B maddesi örneklerine (27.00±4.62 kopya/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda daha az *ALSI* gen ekspresyonu bulunmuştur (p<0.01) (Tablo 5).

Eskitilmiş ve 24 saat inkübe edilmiş Dentusil maddesi örneklerinden izole

edilen hücrelerde (25.10±1.66 kopya/mL), Molloplast-B maddesi örneklerine (37.30±2.87 kopya/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda daha az *ALSI* gen ekspresyonu bulunmuştur (p<0.01) (Tablo 5).

Tartışma

Araştırmada yumuşak astar maddeleri üzerinde oral çevrede meydana gelen değişiklikleri taklit etmek amacıyla Atlas UV2000 Hızlandırılmış Hava Koşullandırma Test Cihazı kullanılmıştır. Hızlandırılmış eskitme işlemi, birçok araştırmacı tarafından diş hekimliğinde kullanılan materyallerin ve yumuşak astar maddelerinin çeşitli özelliklerini araştırmada kullanılmıştır (9,28-32). Weathering cihazının üreticisi 300 saatlik eskitmenin klinik kullanımın bir yılına eşit olduğunu bildirmektedir ve bir çok araştırmacı bu süreyi dikkate almışlardır (9,28,29). Araştırmada Atlas UV2000 Hızlandırılmış Hava Koşullandırma Test Cihazı'nda 300 saat süreyle uygulanan in vitro hızlandırılmış eskitme işleminin klinik kullanımın 1 yılına eşit olduğu

düşüncesi göz önüne alınarak süre tespiti yapılmıştır.

C.albicans'ın konak hücrede kolonizasyonu ve infeksiyonunda ilk basamak olan adezyon patogenezi önemli bir rol oynamaktadır. *C. albicans*'ın konak hücre yüzeyine adezyonu hücre yüzey glikoproteinlerini kodlayan *ALS* (agglutinin-like sequence) genlerinin ekspresyonu ile ilgilidir. *ALS1* geninin ürünü olan protein *Saccharomyces cerevisiae*'de eşleşme (mating) sırasında hücre-hücre tanınmasını sağlayan α agglutinin protein homologudur. *S. cerevisiae*'de α agglutinin ve yüzey glikoproteini α agglutinin arasındaki etkileşim habloid hücrelerde eşleşmeyi kolaylaştırmaktadır (33,34). Als1p ve Als5p (Ala1p) insan yanak epitellerine ve fibronektine tutunmakta rol alırlar. Als1p özellikle enfeksiyonun erken döneminde maya hücresinin ağız mukozasına tutunmasında önemli rol oynar (35).

ALS genlerinin, *C. albicans* hücrelerinin konakçı yüzeylere ve medikal yüzeylere adezyonunda etkili olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (2,20,33,35-41). Nobile ve ark. yaptıkları çalışmada *ALS1* ve *ALS3* genlerinin biyofilm formasyonunda birlikte daha fazla etkili olduklarını belirtmişlerdir (20). In vivo kateter modelinde yalnızca *ALS1* geninin fonksiyonel olduğu aleller (*als1/als1 als3/als3 + pALS1*) veya *ALS3* geninin fonksiyonel olduğu aleller (*als1/als1 als3/als3 + pALS3*) içeren *C. albicans* hücreleri seyrek bir tabaka halinde aderans göstermişlerdir.

O'Connor ve ark. silikon elastomerlerinin üzerindeki biyofilmden izole ettikleri *C. albicans* hücrelerinde ve planktonik *C. albicans* hücrelerindeki *ALS1* gen ekspresyonunu kantitatif olarak incelemişler ve sonuçta biyofilm

hücrelerindeki gen ekspresyonunun planktonik hücrelerdeki ekspresyondan büyük oranda fazla olduğunu bildirmişlerdir (41).

Bu çalışmada eskitme işlemi uygulanmış ve uygulanmamış Dentusil ve Molloplast-B maddelerinden elde edilen örneklerin *C. albicans* hücreleri ile 12 ve 24 saat inkübe edilmesi sonucunda oluşan *ALS1* geni mRNA ekspresyonundaki değişim incelenmiştir.

Babaç 2007 yılında yaptığı doktora tez çalışmasında; çeşitli yumuşak astar maddeleri ve akrilik yüzeylerle karşılaşmış *C. albicans* hücrelerindeki *ALS1* gen ekspresyonundaki değişikliklerin ve Als1 proteininin hücrelerin bu yüzeylere adezyonundaki rolünü araştırmıştır (2). RT-PZR deneyinde suşlar materyallerle karşılaştırılmadan önce bütün suşlarda *ALS1* geni mRNA ekspresyonu negatif olarak bulunmuştur. Acron Duo ve Visco Gel ile karşılaşmış suşların bir kısmında, silikon esaslı yumuşak astar maddeleri (Ufi Gel P, Mollosil ve Molloplast B) ile karşılaşmış suşların ise tamamında *ALS1* geni mRNA ekspresyonu pozitif bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları *C. albicans*'ın protez materyalleri ile karşılaşmasından sonra *ALS1* geni ekspresyonunun arttığını destekler niteliktedir.

In vitro ve in vivo yapılan bazı çalışmalarda yüzey pürüzlülüğünün ve materyaldeki eskimenin *Candida* adezyonunu artırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (22,23,42,43).

Araştırmamızda Molloplast B yumuşak astar maddesinden elde edilen örneklerdeki ortalama *ALS1* gen ekspresyonu miktarı Dentusil maddesi örneklerinin değerlerinin ortalamasından çok bulunmuştur. Bu sonuçlar bazı araştırmalarla paralellik sağlamaktadır

(2,44-46). Molloplast-B, Ufi Gel P, Mollosil Plus ve Fixo Gel marka yumuşak kaide materyallerine *C. albicans*'ın yapışmasının incelendiği çalışmada; en fazla yapışmanın Molloplast-B maddesine, en az yapışmanın da Ufi Gel P maddesine olduğu belirtilmiştir (46).

Araştırmada; eskitme işlemi ve inkübasyon süresi gruplarının hepsinde Dentusil maddesinde elde edilen örneklerde, Molloplast-B maddesinden elde edilen örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda az mRNA ekspresyonu olmuştur ($p < 0.05$).

Waters ve ark. Trevalon marka akrilik rezin, Molloplast B yumuşak astar maddesi ve 2 farklı deneysel oda ısısında vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesinde *Candida albicans* adezyonunu değerlendirdikleri çalışmada en az adezyon skorlarını oda ısısında vulkanize olan silikonlarda bulmuşlardır (44). Bu sonuçlar; Dentusil maddesinin eskitilmemiş örneklerinden elde edilen ortalama mRNA ekspresyon değerlerinin, Molloplast-B maddesinden elde edilen değerlerden daha az olan araştırma bulgularımızı destekler niteliktedir.

Tarı ve arkadaşları çalışmalarında, pelikül tabakası oluşturulmamış Visco Gel, Ufi Gel P ve Molloplast-B maddelerinin eskitme öncesi ve sonrası adezyon skorları ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendiğinde her maddede eskitme işlemi sonrasında *C. albicans* adezyon miktarının arttığını bildirmiştir (9). Özellikle Molloplast-B maddesindeki artışın çok fazla olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızda Molloplast-B maddesiyle ilgili olarak elde ettiğimiz sonuçları destekler niteliktedir. Yaptığımız çalışmada genel ortalamalara bakıldığında ve eskitilmiş örneklerin ortalama *ALS1* gen ekspresyon

miktarlarına bakıldığında, en çok ekspresyon miktarı Molloplast-B maddesinde görülmüştür. Bu durum Molloplast-B maddesinde materyalin eskimesiyle birlikte adezyonda ciddi artışlar olabileceğini düşündürmektedir. Ancak daha kesin bir sonuç elde edebilmek için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

* Bu araştırma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/2008 -17 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Mack PM. Denture soft lining materials: Clinical Indications. Aust Dent J. 1989;34:454-8.
2. Babaç YG. Çeşitli Yumuşak Astar Materyalleri ve Akrilik Yüzeyinden İzole Edilen *Candida Albicans* Suşlarında, *ALS* Gen Ailesinden *ALS1* Adezyon Geninin ve *ALS1* Proteinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
3. Sato Y, Abe Y, Okane H, Tsuga K. Finite element analysis of stress relaxation in soft denture liner. J Oral Rehabil. 2000;27:660-3.
4. Çalikkocaoğlu S. Tam protezler. 3. baskı. İstanbul: Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği; 1998.
5. Phillips RW. Skinner's science of dental materials. 11th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1996.
6. Vural C, Ozdemir G, Kurtulmus H, Kumbuloglu O, Ozcan M. Comparative effects of two different artificial body fluids on *Candida albicans* adhesion to soft lining materials. Dent Mater J. 2010;29:206-12.

7. Boscato N, Radavelli A, Faccio D, Loguercio AD. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. *Gerodontol*. 2009;26:210-3.
8. Kulak-Ozkan Y, Sertgoz A, Gedik H. Effect of thermocycling on tensile bond strength of six silicone-based, resilient denture liners. *J Prosthet Dent*. 2003;89:303-10.
9. Tari BF, Nalbant D, Dođruman Al F, Kustimur S. Surface roughness and adherence of *Candida albicans* on soft lining materials as influenced by accelerated aging. *J Contemp Dent Pract*. 2007;8:18-25.
10. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J*. 2002;78:455-9.
11. Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. *Periodontol* 2000. 2009;49:39-59.
12. Farah CS, Lynch N, McCullough MJ. Oral fungal infections: an update for the general practitioner. *Aust Dent J*. 2010;55:48-54.
13. Pereira- CenciT, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci*. 2008;16:86-94.
14. Marsh P, Martin MV. Oral microbiology. 4th ed. Bodmin: MPG Books Ltd; 1999;153-62.
15. Pires FR, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil*. 2002;29:1115-9.
16. DarwazehAMG, Al-Refai S, Al-Mojavel S. Isolation of *Candida* species from the oral cavity and fingertips of complete denture wearers. *J Prosthet Dent*. 2001;86:420-3.
17. Budtz-Jorgensen E. Ecology of *Candida*-associated denture stomatitis. *Microb Ecol Health Dis*. 2000;12:170-85.
18. Abaci O, Haliki-Uztan A, Ozturk B, Toksavul S, Ulusoy M, Boyacioglu H. Determining *Candida* spp. incidence in denture wearers. *Mycopathologia*. 2010;169:365-72.
19. Bulad K, Taylor RL, Verran J, McCord JF. Colonization and penetration of denture soft lining materials by *Candida albicans*. *Dent Mater*. 2004;20:167-75.
20. Nobile CJ, Schneider HA, Nett JE, Sheppard DC, Filler SG, Andes DR, Mitchell AP. Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. *Curr Biol*. 2008;18:1017-24.
21. Kamai Y, Kubota M, Kamai Y, Hosokawa T, Fukuoka T, Filler SG. Contribution of *Candida albicans* *ALS1* to the pathogenesis of experimental oropharyngeal candidiasis. *Infect Immun*. 2002;70:5256-8.
22. Bal BT, Yavuzyılmaz H, Yücel M. A pilot study to evaluate the adhesion of oral microorganisms to temporary soft lining materials. *J Oral Sci*. 2008;50:1-8.
23. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture- base materials with different surface finishes. *J Dentistry*. 1998;26:577-83.
24. Nikawa H, Jin C, Hamada T, Makihiro S, Kumagai H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part II. Effects on fungal colonization, *J. Oral Rehabil*. 2000;27:124-30.

25. Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, Rodrigues-Garcia RC, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. *Clin Oral Invest.* 2009;13:237-42.
26. Nevzatoğlu EU, Ozcan M, Kulak-Ozkan Y, Kadir T. Adherence of *Candida albicans* to denture base acrylics and silicone-based resilient liner materials with different surface finishes. *Clin Oral Invest.* 2007;11:231-6.
27. Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T. In vitro evaluation of *Candida albicans* adherence to soft denture–lining materials. *J Prosthet Dent.* 1992;68:804-8.
28. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Physical property comparison of 11 soft denture lining materials as a function of accelerated aging. *J Prosthet Dent.* 1993;69:114-9.
29. Ergün G, Nagaş IÇ. In vitro color stability of soft denture liners after accelerated aging. *Hacettepe Dişhek Fak Derg.* 2007;31:65-73.
30. Mancuso DN, Goiato MC, Dekon SF, Gennari-Filho H. Visual evaluation of color stability after accelerated aging of pigmented and nonpigmented silicones to be used in facial prostheses. *Indian J Dent Res.* 2009;20:77-80.
31. Anil N, Hekimoglu C, Büyükbas N, Ercan MT. Microleakage study of various soft denture liners by autoradiography: effect of accelerated aging. *J Prosthet Dent.* 2000;84:394-9.
32. Goiato MC, Santos DM, Haddad MF, Pesqueira AA. Effect of accelerated aging on the microhardness and color stability of flexible resins for dentures. *Braz Oral Res.* 2010;24:1149.
33. Hoyer LL. The *ALS* gene family of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.* 2001;9:176-80.
34. Dranginis AM, Rauceo JM, Coronado JE, Lipke PN. A biochemical guide to yeast adhesins: glycoproteins for social and antisocial occasions. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2007;71:282-94.
35. Yang YL. Virulence factors of *Candida* species. *J Microbiol Immunol Infect.* 2003;36:223-8.
36. Hoyer LL, Green CB, Oh SH, Zhao X. Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin – like sequence (*ALS*) gene family: a sticky pursuit. *Med Mycol.* 2008;46:1-15.
37. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.* 2001;9:327-35.
38. Sheppard DC, Yeaman MR, Welch WH, Phan QT, Fu Y, Ibrahim AS, et al. Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans*. *J Biol Chem* 2004;279:30480-9.
39. Green CB, Zhao X, Yeater KM, Hoyer LL. Construction and real-time RT-PCR validation of *Candida albicans* PALS-GFP reporter strains and their use in flow cytometry analysis of *ALS* gene expression in budding and filamenting cells. *Microbiol.* 2005;151:1051-60.
40. Nailis H, Vandenbroucke R, Tilleman K, Deforce D, Nelis H, Coenye T. Monitoring *ALS1* and *ALS3* gene expression during in vitro *Candida albicans* biofilm formation under continuous flow conditions. *Mycopathologia.* 2009;167:9-17.
41. O'Connor L, Lahiff S, Casey F, Glennon M, Cormican M, Maher M. Quantification of *ALS1* gene expression in *Candida albicans*

- biofilms by RT-PCR using hybridisation probes on the LightCycler. *Mol Cell Probes*. 2005;19:153-62.
42. Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Bürgers R. In vitro evaluation of artificial ageing on surface properties and early *Candida albicans* adhesion to prosthetic resins. *J Mater Sci: Mater Med* 2009;20:249-55.
43. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent*. 1997;77:535-9.
44. Waters MG, Williams DW, Jagger RG, Lewis MA. Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. *J Prosthet Dent*. 1997;77:306-12.
45. Hong G, Li Y, Maeda T, Mizumachi W, Sadamori S, Hamada T, Murata H. Influence of storage methods on the surface roughness of tissue conditioners. *Dent Mater J*. 2008;27:153-8.
46. Yanıkoğlu N, Aktaş E, Yeşil Duymuş Z, Denizoğlu S, Ayyıldız A. Yumuşak kaide materyallerine *Candida albicans*'ın yapışmasının incelenmesi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*. 2003;13:16-20.