



***LACTOBACILLUS RHAMNOSUS*'UN *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*
İLE *STREPTOCOCCUS MUTANS*'IN GİNGİVAL FİBROBLAST
HÜCRELERİNE ADEZYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

İrem ÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZİRAN 2014

İrem ÇELİK tarafından hazırlanan “*LACTOBACILLUS RHAMNOSUS*’UN *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* İLE *STREPTOCOCCUS MUTANS*’IN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNE ADEZYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Gülçin AKCA

Tıbbi Mikrobiyoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan : Prof.Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK

Tıbbi Mikrobiyoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye : Prof.Dr. Nedim SULTAN

Tıbbi Mikrobiyoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç.Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İrem ÇELİK

10.06.2014

LACTOBACILLUS RHAMNOSUS'UN *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* İLE
STREPTOCOCCUS MUTANS'IN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNE
ADEZYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

İrem ÇELİK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2014

ÖZET

Son yıllarda insan ağız boşluğuna yerleşen yaklaşık 700 bakteri türü ya da filotipi olduğu saptanmıştır. Bu türlerin bazıları kommensal olup, ağız sağlığı için olumlu bir etki yaparken, bazılarının patojen olabildiği düşünülmektedir. Dişeti hastalıkları ve diş çürüklerinin oluşumunda ağız bakterileri önemli rol oynamaktadırlar. Ağız patojenleri birbiri ile etkileşerek hastalık oluşumunda iş birliği yapabilmekte ve böylece patojeniteyi artırabilmektedirler. Diğer enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi dental enfeksiyonların da başlamasında en önemli adımlardan birisi bakterilerin ağız epiteline adezyonudur. Bu çalışmada, probiyotik özelliği olan *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595 standart suşunun, ağız patojenlerinden konak hücrelere internalizasyonu ile bilinen ve doku yıkımını kolaylaştıran geniş donanımlı virülans faktörlerine sahip *Porphyromonas gingivalis* ile dental plak ve diş çürükleri ile ilişkilendirilen viridans streptokoklardan *Streptococcus mutans*'ın adezyonunu etkileyip etkilemediğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, periodontitis patogeneğinde en çok etkilenen bağ dokusu hücrelerinden insan gingival fibroblast hücrelerinin hücre kültürleri yapılarak ağız ekolojisinde sık rastlanan mikroorganizmaların bu hücrelere olan adezyon kapasitelerinin in vitro olarak incelenmesi planlanmış ve araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, in vitro insan gingival fibroblast hücre kültürleri üzerinde bakterilerin birbirleriyle ve konak hücre ile etkileşimleri zaman faktörü dikkate alınarak değerlendirilmiştir. İnsan gingival fibroblastları hücre kültürü ortamında çoğaltıldıktan sonra seçilen bakterilerle enfekte edilmişlerdir. Daha sonra Gram boyama yöntemiyle boyanmış ve ışık mikroskopunda hücrelere tutunan bakteri sayıları belirlenerek adezyon kapasiteleri belirlenmiş ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, *Lactobacillus rhamnosus*'un periodontopatojenler arasında büyük önem taşıyan *Porphyromonas gingivalis*'in gingival fibroblast hücrelerine adezyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra *Lactobacillus rhamnosus*'un diş çürüklerinin major faktörlerinden biri olan *Streptococcus mutans*'ın adezyonunu ise istatistiksel olarak anlamlı ölçüde inhibe etmediği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre probiyotik özellikli *Lactobacillus rhamnosus*'un kronik periodontitis oluşumunun inhibisyonunda etkili olduğunu; fakat karyojenite oluşumunun inhibisyonuna anlamlı bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu : 1039.5

Anahtar Kelimeler : *Lactobacillus rhamnosus*, oral bakteriler, adezyon, gingival fibroblast

Sayfa Adedi : 90

Danışman : Yrd.Doç.Dr. Gülçin AKCA

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* AGAINST
PORPHYROMONAS GINGIVALIS AND *STREPTOCOCCUS MUTANS* ADHESION TO
GINGIVAL FIBROBLAST CELLS

(M. Sc. Thesis)

İrem ÇELİK

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

June 2014

ABSTRACT

There are approximately 700 bacterial species or phylotypes colonizing the human oral cavity that have been detected in the past few years. Some of these species are considered commensal and are believed to have a positive effect on oral health, while others are considered pathogenic. Oral bacteria plays an important role for the formation of gingival diseases and tooth decay. Oral pathogens may cooperate for the formation of diseases by interacting with each other and thus increase the pathogenicity. Like other infectious diseases, the adhesion of bacteria to the oral epithelium is one of the most important step for the beginning of dental infections. The aim of this study is to observe the effectiveness of standard *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595 strain, as a probiotic bacteria, for the adhesion of *Streptococcus mutans* which is a member of viridans streptococci associated with dental plaque and the formation of caries, and for the adhesion of *Porphyromonas gingivalis*, as an oral pathogen, which is known as having well-equipped virulence factors that facilitates the tissue destruction and internalization to the host cells. For this study in vitro controlled trials were examined on human gingival fibroblast cell cultures depending on the time intervals, bacteria-bacteria and bacteria-host interactions. As one of the most important cell types at pathogenesis of periodontitis, fibroblasts were used in this study in order to observe the adhesion of the microorganisms. In addition, the interactions between commensal and pathogen strains among the oral flora and their adhesion capacity to the cells were examined in this study. The adhesion capacities of bacteria in the human gingival fibroblast cell culture medium were evaluated by Gram staining microscopically within the stated time intervals for the determined bacteria. The results of the study revealed that, *Lactobacillus rhamnosus* inhibited the adhesion capacity of *Porphyromonas gingivalis*, which has a great importance among periodontopathogens. Besides it was found that *Lactobacillus rhamnosus* showed no statistically significant inhibition effect for the adhesion capacity of *Streptococcus mutans*, which is one of the major factor for dental caries. According to the results of the study, probiotic *Lactobacillus rhamnosus* was found efficative for the inhibition of chronic periodontitis formation but it has no inhibitive effect for the cariogenicity formation in tooth decay.

Science Code : 1039.5

Key Words : *Lactobacillus rhamnosus*, oral bacteria, adhesion, gingival fibroblast

Page Number : 90

Supervisor : Assist.Prof.Dr. Gülçin AKCA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden beri beni her konuda destekleyen, çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyen, kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, zorlandığım anlarda beni hep motive eden ve benim için bir danışmandan çok daha fazlasını ifade eden değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Gülçin Akca'ya,

Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimim süresince yardıma ihtiyaç duyduğum her konuda değerli bilgileri ve deneyimleriyle bana hep katkıda bulunan kıymetli hocam Prof.Dr. Nedim Sultan'a,

Lisans eğitimim süresince Mikrobiyoloji alanında bütün bildiklerimi öğrendiğim, bana bu dalı öğreten ve bu kadar sevdiren, bana her zaman yol gösteren ve inanıp güvenen çok değerli hocam Prof.Dr.Nevin Keskin'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine,

Tezimin hücre kültürü aşamasında ki özverili çalışmaları ve yoğun çabalarıyla bana büyük katkıda bulunan, desteğini benden hiç esirgemeyen değerli hocam Egemen Foto'ya,

Tezimin istatistiksel analiz aşamasında ki desteklerinden dolayı Onur Toka ile Merve Çelik'e ve mikroskop görüntülerimdeki yardımlarından dolayı Öğr.Gör.Dr. Emre Barış'a,

Lisans eğitimimden bu yana hiç ayrılmadığım, dostluğu ve sevgisini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zorluğu bana kolay kılan, hayatımın en önemli parçalarından biri olan sevgili dostum Didem Ayhan'a,

Çalışmalarım boyunca hep yanımda olan, desteği ve inancıyla beni motive eden, her ihtiyacım olduğunda yardımına koşan sevgili arkadaşım Büşra Özsoylar'a ,

Tüm hayatım boyunca benden maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen, sonsuz sabır ve emekle beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olmalarından gurur ve onur duyduğum, varlıklarıyla bana güç veren aileme,

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik periodontitis ve etyolojisi.....	3
2.2. Gingivitis.....	6
2.3. Periodontal hastalık patogenezi.....	7
2.4. Periodontal enfeksiyonlarda mikroorganizmaların rolü.....	10
2.5. Periodontal patojenlerin virülans faktörleri.....	12
2.6. Bakterilerin özellikleri.....	13
2.6.1. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	13
2.6.2. <i>Streptococcus mutans</i>	18
2.6.3. Antibiyotik tedavisine alternatif görülen yöntemler.....	20
2.6.4. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	22
2.7. Gingival fibroblast hücreleri.....	23
2.8. Bakteri – konak ilişkileri (gingival hücreler ve epitel hücreleri).....	24

2.9. Bakteri – bakteri ilişkileri.....	25
2.9.1. Ağız bakterilerinde kommensal ilişki.....	26
2.9.2. Ağız bakterilerinde kommensal ilişki	26
2.10. Enfeksiyon patogenezinde bakteriyel adezyon ve önemi.....	27
2.11. Koagregasyon ve önemi.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	34
3.1. Bakterilerin üretilmesi	34
3.1.1. <i>Streptococcus mutans</i> ’ ın hazırlanması.....	34
3.1.2. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ’un hazırlanması.....	35
3.1.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i> ’in hazırlanması.....	35
3.2. Hücre hattının hazırlanması	35
3.3. Bakteri inokulumlarının hazırlanması	39
3.4. Hücrelere bakterileri adezyonu aşaması.....	39
3.5. Bakterilerin boyanması ve sayılması aşaması.....	40
3.6. İstatistiksel analiz.....	40
4. BULGULAR.....	43
4.1. Bakterileri Hücrelere Adezyonuna İlişkin Yapılan Ön Çalışma	
Bulguları	43
4.2. Zamana Göre Bakterilerin Hücrelere Adezyonuna İlişkin Bulgular.....	44
4.3. Bakterilerin Hücrelere Adezyon Kapasitelerine İlişkin İstatistiksel	
Analizler.....	46
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR.....	63

ÖZGEÇMİŞ.....	71
---------------	----

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Periodontal yapılar	4
Şekil 2.2. Gingival hastalıkların sınıflandırılması.....	6
Şekil 2.3. Bakteri komplekslerinin oluşumu.....	8
Şekil 2.4. Koagregasyon köprüleri ile indirekt bakteri tutunması.....	33
Şekil 4.1. Zamana göre bakterilerin tek başlarına insan gingival fibroblast hücrelerine tutunma kapasiteleri.....	46
Şekil 4.2. Bakterilerin adezyon kapasitelerinin karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.3. <i>L.rhamnosus</i> suşu varlığında <i>S.mutans</i> suşunun insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi.....	49
Şekil 4.4. <i>S.mutans</i> bakterisinin <i>L.rhamnosus</i> varlığında adezyon kapasitesindeki değişimin gösterilmesi.....	50
Şekil 4.5. <i>L.rhamnosus</i> suşu varlığında <i>P.gingivalis</i> suşunun insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi.....	51
Şekil 4.6. <i>P.gingivalis</i> bakterisinin <i>L.rhamnosus</i> varlığında adezyon kapasitesindeki değişimin gösterilmesi.....	52
Şekil 4.7. <i>L.rhamnosus</i> suşu varlığında <i>P.gingivalis</i> ve <i>S.mutans</i> suşlarının insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi.....	54

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Ağızda sıklıkla görülen bazı bakteri cinsleri.....	12
Çizelge 4.1. <i>L.rhamnosus</i> , <i>P.gingivalis</i> ve <i>S.mutans</i> suşlarının insan gingival fibroblast hücrelerine belirlenen inkübasyon süreleri sonunda tek başlarına tutunan ortalama bakteri sayılarının istatistiksel değerlendirilmesi.....	45
Çizelge 4.2. <i>L.rhamnosus</i> 'un <i>P.gingivalis</i> ve <i>S.mutans</i> 'ın insan gingival fibroblast hücrelerine farklı inkübasyon sürelerinde tutunma kapasitelerine etkisi....	48
Çizelge 4.3. Farklı zaman aralıklarında <i>L.rhamnosus</i> 'un, <i>S.mutans</i> 'ın fibroblastlara tutunması üzerine etkisi.....	49
Çizelge 4.4. Farklı zamanlarda <i>L.rhamnosus</i> ve <i>P.gingivalis</i> 'in birlikte değişimi.....	51
Çizelge 4.5. <i>L.rhamnosus</i> , <i>S.mutans</i> ve <i>P.gingivalis</i> 'in aynı hücre kültürü ortamındayken hücrelere adezyonları.....	53

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>P. gingivalis</i> kolonilerinin besiyeri üzerindeki görünümü.....	14
Resim 2.2. Anaerob bir FAA bakteri olan <i>P.gingivalis</i> 'in Fastidious Anaerob Broth (FAB) besiyerinde dipte görülen üremesi.....	14
Resim 2.3. Anaerob inkübatör.....	15
Resim 2. 4. <i>S.mutans</i> kolonilerinin TYCSB agar besiyeri üzerindeki görünümü.....	19
Resim 2.5. CO ₂ Inkübatörü.....	20
Resim 2.6. <i>L.rhamnosus</i> kolonilerinin MRS agar besiyeri üzerindeki görünümü.....	23
Resim 4.1. Sağlıklı insan gingival fibroblast hücreleri.....	43
Resim 4.2. Sağlıklı olmayan insan gingival fibroblast hücresi.....	43
Resim 4.3. <i>L.rhamnosus</i> 'un insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	44
Resim 4.4. <i>P.gingivalis</i> 'in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	44
Resim 4.5. <i>S.mutans</i> 'ın insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	45
Resim 4.6. <i>S.mutans</i> 'ın <i>L.rhamnosus</i> varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	48
Resim 4.7. <i>S.mutans</i> 'ın <i>L.rhamnosus</i> varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	50
Resim 4.8. <i>P.gingivalis</i> ve <i>S.mutans</i> 'ın <i>L.rhamnosus</i> varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
μl	Mikrolitre
cm^2	Santimetre kare
μM	Mikromolar
kDa	Kilodalton
μg	Mikrogram
ml	Mililitre
U	Birim
mg	Miligram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
n	Sayı

Kısaltmalar**Açıklama**

KP	Kronik Periodontitis
PBS	Tuzlu Fosfat Tamponu (phosphate buffer saline)
LPS	Lipopolisakkarit
PRP	Prolinden Zengin Protein (Proline Rich Proteins)
CFU	Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Unit)
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-11	İnterlökin-11
MMP	Matriks Metallo Proteinaz
TNF	Tümör Nekroze Edici Faktör
Kgp	Lizin-spesifik gingipain
Rgp	Arjinin-spesifik gingipain
GBA	Galaktozil Bağlayıcı Adezin
ABP	Arjinin Bağlayıcı Adezin
SBA	Siyalik asit Bağlayıcı Adezin
GBP	Glukan Bağlayıcı Protein
QS	Quorum Sensing
FAA	Fastidious Anaerob Agar
FAB	Fastidious Anaerob Broth
TZP	Trombositten Zengin Plazma
MRS	de Man, Rogosa and Sharpe Agar

TYCSB	Tryptic Soy Yeast Extract Bacitrasin Vancomisin
FimA	Fimbrillin A
Vit K1	Vitamin K1
FBS	Fetal Sığır Serumu (Fetal Bovine Serum)
DMSO	Dimetil sülfoksit
DMEM	Dulbecco's Minimal Essential Medium
HGF	İnsan Gingival Fibroblastı (Human Gingival Fibroblast)
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
SD	Standart Sapma (Standard Deviation)
IQR	Çeyrekdeğer Arası Genişlikler
CO₂	Karbondioksit

1. GİRİŞ

Periodonsiyum; dişeti, alveol kemiği, periodontal ligament ve sementten oluşan ve diş destekleyen yapı bütünüdür [1]. Periodontal hastalık, bakteriyel birikime (mikrobiyal dental plağa) karşı, kemik ve bağ dokularında enflamatuvar cevap oluşumuyla karakterize, kronik, enfeksiyöz bir hastalıktır. Periodontal hastalık terimi gingivitis ve periodontitisi kapsar [2].

Gingivitis, dental plak bakterilerine ve onların ürünlerine karşı diş çevresi yumuşak dokularında enflamasyonla karakterize bir hastalıktır. Periodontitis ise, dişetinde gelişen enfeksiyonun, dişeti bağ dokusu, periodontal ligament ve alveoler kemiğe ilerlemesi ile dişin destek dokularının yıkımına ve diş kaybına neden olan bir hastalıktır [3,4]. Yapılan araştırmalarda her dört kişiden üçünde periodontal hastalık varlığı tespit edilmiş, yine dört kişiden ikisinde periodontitis geliştiği gözlenmiştir [1,3,5,6]. Periodontitisin tüm dünyada yaygın olarak kalp hastalıklarından sonra 2. sıklıkta görülen kronik bir hastalık olduğu bildirilmiştir [7].

Periodontitisin başlangıç ve ilerlemesinde esas olan dişler üzerindeki bakteri biyofilmidir. Bu biyofilm tabakasında baskın olarak *Streptococcus anginosus* ve *Actinomyces naeslundii* gibi Gram pozitif fakültatif anaerob bakteriler bulunur. Ancak bu biyofilm düzenli olarak kaldırılmazsa ekolojik değişikliklere bağlı olarak *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi Gram negatif bakteri türlerinin sayısı artar. Bu bakteriler “periodontal patojen” olarak kabul edilmiştir; konak inflamatuvar yanıt yollarını aktive ederler ve konak bakteri temizlik mekanizmalarını bozarlar [8].

Bu patojen bakterilerin yanısıra normal ağız florasında kommensal olarak bulunan kalıcı flora üyeleri de bulunmaktadır. Doğum öncesi steril olan ağız ortamında doğumdan ortalama 6-8 saat sonra ağız florası oluşmaya başlar. Ağız florasını etkileyen faktörler arasında yenidoğan, çocukluk ve erişkin dönemleri gibi farklı evrelerin yanısıra ağız hijyeni ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörler yer alır [9]. Ağız boşluğundaki tüm yüzeyler, özellikle oral streptokokların da içinde bulunduğu erken kolonize olan türlerin tutunduğu pelikül tabakası (ince film tabaka) ile kaplanır. Bu aşama diş çürükleri ve periodontal hastalıklara sebep olan oral biyofilm tabakasının ilk aşamasıdır [10]. Bu tabakadaki bakteriyel kolonizasyonun büyük bir kısmını *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) ve diğer viridans streptokoklar oluşturmaktadır. *S.mutans* glikoz, galaktoz gibi basit

şekerlerden dekstran ve levan gibi polisakkarit yapıda makromoleküller üreterek ağız içindeki yüzeylere tutunur.

Biyofilm içindeki bir bakterinin patojen olabilmesi için gerekli olan ilk aşama dokulara yapışabilme özelliğine sahip olmasıdır. Bakteriyel dental plağın büyük oranda toplandığı bölgelerde periodontal dokuların etkilenme riski de artmaktadır. Hastalığın oluşmasında konakta ve florada oluşabilen değişikliklerden bazıları hastanın sigara içmesi ya da oral hijyenini yeterince sağlayamaması gibi faktörlerin yanısıra, floradaki mikroorganizmaların sayısının da artarak patojenite kazanması şeklindedir.

Periodontitis bakterilere ve bakteri ürünlerine karşı gelişen bir hastalık olmasının yanısıra hastalığın patogenezi konağın verdiği immun cevap ile düzenlenir. Genetik ve çevresel faktörler ile kazanılmış bağışıklık, patojene karşı oluşan immun cevabı etkileyerek periodontitise yatkınlığı artırabilirler [4].

Enfeksiyonların oluşmasında ilk şartın dokulara bakteriyel adezyon olması nedeniyle son yıllarda bu adezyonu önlemeye yönelik çalışmalar önem kazanmaya başlamıştır. Adezyonun önlenmesinde probiyotik bakterilerin etkisinin incelendiği araştırmaların sayısı her geçen gün artarak devam etmektedir. Bu tez çalışmasında probiyotik özelliği olan *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) ATCC 9595 suşu kullanılarak bazı patojen bakterilerin insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu üzerine engelleyici etkisi olup olmadığı incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Periodontitis ve Etiyolojisi

Periodontal hastalıklar için günümüzde kullanılan sınıflandırma Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin düzenlediği "International Workshop for the Classification of Periodontal Diseases" çalıştayında oluşturulan sınıflamaya göre;

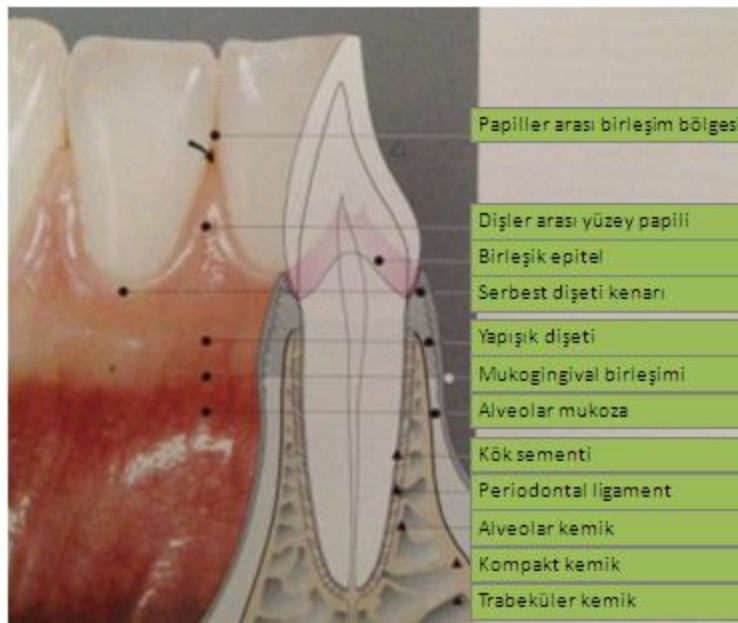
- I. Dişeti Hastalıkları
- II. Kronik Periodontitis
- III. Agresif Periodontitis
- IV. Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olarak Periodontitis
- V. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
- VI. Periodonsiyumun Abseleri
- VII. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
- VIII. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar

olarak sınıflandırılmıştır [11].

Kronik periodontitis (KP), gingivitisle başlayan, tedavi edilmediği takdirde ataçman kaybı ve alveol kemik yıkımı ile kendini gösteren enfeksiyöz ve kronik inflamatuvar bir hastalıktır. KP klinik olarak incelendiğinde; dişetinde renk değişikliği, pürüklülüğün kaybolması, keskin olmayan yuvarlak dişeti kenarı ile beraber kendiliğinden başlayan veya kolayca oluşabilen dişeti kanaması görülür. Çeşitli derinliklerde periodontal cep oluşumu ve genellikle yatay kemik kayıpları gözlenir. İleri kemik kaybının olduğu vakalarda sıklıkla sallanan dişlere rastlanır. KP vakalarında ağrı nadiren görülen bir belirtidir. Hastalığın ağrısız ve kronik bir seyir izlemesi, hastaların tedavi ihtiyacı duymalarına engel teşkil etmektedir. Açığa çıkmış kök yüzeylerinde çürük gözlenebilir. Ayrıca, hasta sıcağa ve soğuğa karşı hassas olabilir. Dişetinde ödem ve kaşıntı hissi olabilir [11,12]. KP, etkilenen diş sayısına bağlı olarak lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır. Etkilenmiş dişlerin sayısı tüm dişlere oranla <30% ise lokalize; >30% ise generalize kronik periodontitis olarak adlandırılır [11,12]. Hastalık genellikle generalize seyirlidir.

Lokelize ve generalize tipi klinik ataçman kaybının miktarına göre üç alt gruba ayrılır. Klinik ataçman kaybı 1-3 mm arasında ise hafif şiddetli, 3-5 mm arasında ise orta şiddetli, 5 mm veya daha fazla ise şiddetli olarak isimlendirilir. KP'nin hafif şiddetli tipi büyük azılar bölgesinde I.derece furkasyon girişi ile karakterizedir [11,12]. Subgingival ve supragingival bölgelerde plak birikimi ve diştaşı mevcuttur. Sondlamada kanama ve radyografik olarak az miktarda kemik kaybı gözlenir. Orta şiddetli tipinde, azdan orta dereceye kadar değişen hareketli dişlere rastlanılır. Radyografik olarak kemik kaybı genellikle yatay yöndedir ve ataçman kaybı %40 civarındadır. Furkasyon (Kökler arası bölge) bölgesindeki açılma artmış ve radyografide radyolüsent bir görüntü vardır. Sondlamada kanama mevcuttur. Şiddetli tipinde ise ataşman kaybı 5 mm ve üzerindedir. Belirgin furkasyon defekti ve ilerlemiş diş hareketine sıklıkla rastlanılır. Radyografik incelemede kemik kayıpları %40'ın üzerindedir ve yatay yönde kemik kayıplarına ilaveten dikey yönde kemik kayıpları da gözlenebilir [11,12].

Periodontitisin oluşumunda birçok lokal ve çevresel faktörün rol oynamasına karşın, esas etiyolojik faktör mikrobiyal dental plak ve ürünleridir [5,12,13].



Şekil 2.1. Periodontal yapılar [14]

Lokal çevresel faktörlere; diş anatomisi, ağız solunumu, okluzal travma, yumuşak doku ilişkileri, gıda sıkışması, restoratif ve periodontal etkenler örnek verilebilir. Sistemik

faktörlere ise diyabet, yaşlanma, genetik faktörler, stres, beslenme, hormonal durum, fagositik hücrelerdeki etkiler, Down Sendromu, Papillon LeFevre sendromu örnek verilebilir [15].

Periodontitiste supragingival ve subgingival alanlardaki mikrobiyal dental plağın kompozisyonu farklılık gösterir. Lezyon ilerledikçe gram negatif anaerob mikroorganizmalarda artış olur. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*), *Prevotella intermedia* (*P.intermedia*), *Fusobacterium nucleatum* (*F.nucleatum*), *Campylobacter rectus* (*C.rectus*), *Eikenella corrodens* (*E.corrodens*) ve spiroketler periodontitis ile doğrudan ilişkili bulunmuş ve bu yüzden ana periodontopatojenler olarak tanımlanmışlardır [5].

P.gingivalis ve *A.actinomycetemcomitans* gibi mikroorganizmaların sayısındaki artışın, periodontal hastalığa yatkınlığı arttırabildiği üzerinde durulmaktadır [16,17]. Özellikle *P.gingivalis*, periodontal sağlığı bozulmuş dişlerin subgingival florasından yoğun olarak elde edilmiştir. Sağlıklı bölgelerden elde edilen *P.gingivalis* oranı ise düşük olarak belirlenmiştir [18-20].

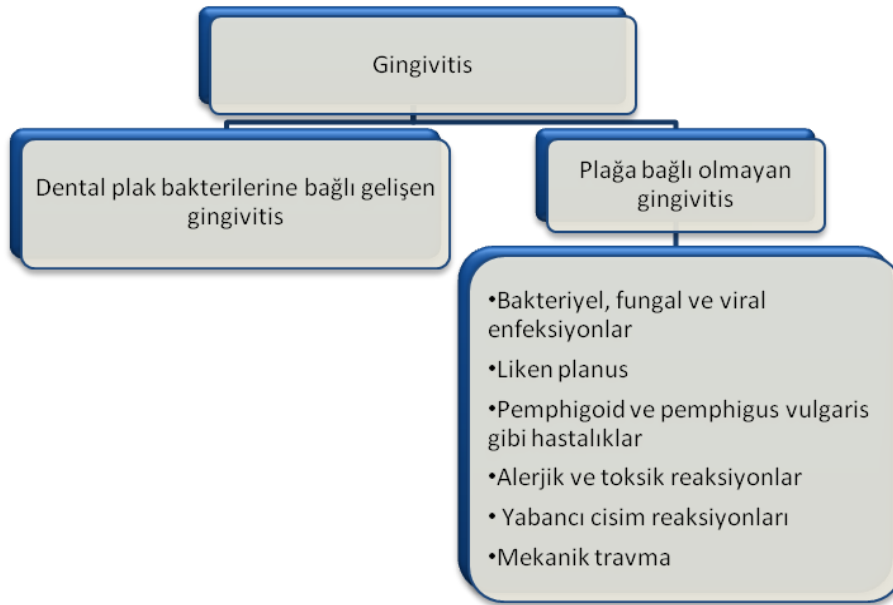
Kronik Periodontitis'in etyolojisinde ana etken olan mikrobiyal dental plak oluşumunu yanı sıra, restorasyonlar, dişin anatomik yapısı, çürük ve kök rezorbsiyonları gibi plak birikimini kolaylaştıran veya etkisini artıran lokal faktörlerin de ikinci dercede önemli olduğu vurgulanmıştır [12,21]. Diyabet [22,23], osteoporoz [24] ve hamilelik gibi hormonal değişiklikler [25], genetik faktörler [26] ve AIDS [27] gibi hastalıklarda periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde etkili olan sistemik faktörlerdir. Bununla beraber sigara kullanımı [28], beslenme alışkanlığı [29], stres [30], ileri yaş [31] gibi etkenlerin periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde risk faktörü olarak rol oynadığı bilinmektedir.

2.2. Gingivitis

Gingivitis, dental plak bakterilerine ve onların ürünlerine karşı diş çevresi yumuşak dokularında enflamasyonla karakterize bir hastalıktır. Puberte, menstrüel siklus ve hamilelikte görülen hormonal değişiklikler ve bazı ilaçların kullanımı gingivitis gelişimini etkileyen faktörlerdendir [32-34].

Gingival hastalıklar çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı kompleks hastalıklardır. Ancak tüm gingival hastalıklar benzer klinik özelliklere sahiptirler. Bu özellikler; enflamasyonun klinik özellikleri, hastalık işaret ve semptomlarının gingivada sınırlı kalması, etiyolojik faktörün ortadan kalkmasıyla beraber hastalığın geri dönebilmesi, hastalığın başlaması veya şiddetlenmesi için bakteri plağının varlığı olarak sıralanabilir [35].

Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar ise bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlara, liken planus, pemphigoid ve pemphigus vulgaris gibi hastalıklara, alerjik ve toksik reaksiyonlara, yabancı cisim reaksiyonlarına ve mekanik travmaya bağlı olarak gelişir [36].

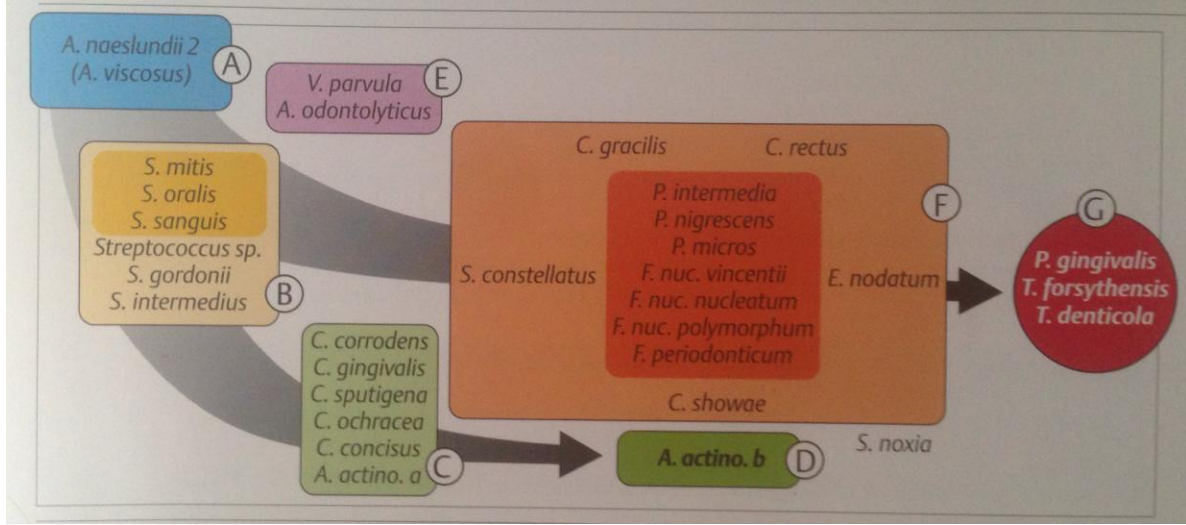


Şekil 2.2. Gingival hastalıkların sınıflandırılması

2.3. Periodontal Hastalık Patogenezi

Enflamasyon, periodontal hastalıkların temel klinik bulgusudur ve etiyolojik faktör olan bakteriyel plak, konak dokuda enflamatuvar cevabı başlatır. Sağlıklı konak dokuda, az miktarda fakat farklı bakteri türlerini içeren plak, konağın savunma mekanizmaları tarafından kontrol edilir ve doku yıkımı görülmez. Plakta bulunan spesifik bakteriler ise çoğunlukla periodontal doku yıkımıyla ilişkilidir. Ayrıca spesifik patojenin farklı türleri, diğer türlerine göre daha virülen olup, daha fazla doku yıkımına da neden olabilir [37].

Subgingival mikrobiyal kompozisyonun yapısını belirleyen ana faktör konak cevabıdır. Sağlıklı periodontal doku ile periodontitis arasında mikrobiyal açıdan en belirgin farklılık, kırmızı kompleks bakteriler diye gruplanmış bazı türlerinin prevelansı ve miktarlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Periodontitisli bireylerde bu kırmızı kompleks bakterileri olan *Tannerella forsythia* (*T.forsythia*), *P.gingivalis* ve *Treponoma denticola* (*T.denticola*) miktarının arttığı gösterilmiştir. Ek olarak, *A.actinomycetemcomitans*, *C.rectus*, *Eubacterium nodatum* (*E.nodatum*), *F.nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* (*P.micros*), *P.intermedia*, *Prevotella nigrescens* ve *Streptococcus intermedius* gibi bakterilerin de periodontal hastalık patogeneze katıldığı tespit edilmiştir [38,39]. Yine de periodontitisin basit bir Gram negatif anaerobik enfeksiyon olmadığı, Gram pozitif bakterilerin ve hatta bakteri olmayan mikroorganizmaların da (Archaea türü gibi) hastalık etiyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir [40]. Bakterilerin yanı sıra human cytomegalovirus (CMV) [41], Epstein-Barr virus gibi virüslerin de periodontitis etiyolojisi içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir [42].



Şekil 2.3. Bakteri komplekslerinin oluşumu (Konak cevabına bağlı olarak besin maddelerinin de kullanarak interbakteriyel bir yarış oluşmakta ve bu topluluk arasında birlik (konsorsiyum) oluşmaktadır. Bu aşamadan sonra bakteriler artık tek başlarına hareket etmezler. Tek bir organizma gibi davranırlar. A-G olan yolakta kırmızı kompleks grubu bakterilere kadar bir çok ara evre geçirirler. A-D olan yolakta da *A.actinomycetemcomitans*'a ulaşma yönünde hareket ederler. Moleküler çalışmalar bu bakteriler arasındaki ilişkileri açığa çıkarmaktadır. G: Kırmızı kompleks bakterileri) [14].

Kronik periodontitis gelişiminin histolojik ve immünohistolojik özelliklerinin tanımlanması sadece hastalık patogenezinin anlaşılmasında değil, aynı zamanda hastalığın tedavi alternatiflerinin belirlenmesinde de önemli rol oynar [43]. Gingivitisin ve devamında periodontitisin gelişimi histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 aşamada incelenmiştir [44]. Bu aşamalar, her zaman kesin sınırlarla birbirlerinden ayıramamasına rağmen, periodontitis gelişiminin değerlendirilmesinde ve kronik ve agresif periodontitisin histopatolojik bulgularının karşılaştırılmasında önemlidir [43].

Kronik periodontitis hastalarında periodontal cebin apikal ve lateral alanlarında bakteriyel invazyonun olduğu da tespit edilmiştir. Tanımlanan mikroorganizmaların çoğunun Gram negatif filament, basil ve kok türü olduğu gösterilmiştir. Bakteriler artmış interselüler alanlardan dokulara girerler ve aynı zamanda derin epiteliyal hücreler arasında ve bazal laminada da bulunurlar. Bazı bakterilerin bazal laminayı geçerek subepiteliyal bağ dokusuna da invaze olabildikleri gösterilmiştir [45]. Ancak bakteriyel invazyonun konak doku için önemli bir problem mi olduğu, yoksa konağın mikrobiyal antijenlere erkenden

maruz kalmasının immün sistemleri uyarak, etkili bir yanıt oluşmasını mı sağladığı tam olarak açıklanamamıştır [40].

Mikroorganizmalar çeşitli çözünebilir enzimler üretirler ve böylece ekstraselüler konak proteinlerini ve diğer molekülleri sindirerek kendi yaşamlarını sağlayacak besinleri elde ederler. Bakteriler tarafından üretilen proteinazlar kollajen, elastin, fibronektin, fibrin gibi epitelial ve bağ dokusu komponentlerini yıkabilirler. Böylece periodontal doku yıkımı konak kaynaklı enzimlerin yanı sıra mikrobiyal enzimler aracılığıyla da meydana gelir.

Bakteri ürünleri direkt olarak konak dokuda yıkıma neden olabileceği gibi enflamatuvar ve hücresel/hümmoral immün sistemleri uyarak sekonder olarak da doku yıkımına neden olabilirler. Gram negatif bakterilere ait LPS'nin hem enflamatuvar hem de immün sistemleri aktive edebildiği, bununla beraber kan koagülasyon sistemi ve kompleman sistemi üzerine etki ederek hemostazisi bozduğu ve proenflamatuvar sitokin üretimine neden olduğu gösterilmiştir. Ek olarak amonyak, indol, hidrojen sülfid gibi bakteri son ürünleri de konak doku yıkımına katılırlar [40].

Tedavi edilmemiş şiddetli periodontitiste ülsere cep epitelial alanının yaklaşık 8-20 cm² olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bakteri ve ürünleri ile artmış enflamatuvar mediyatörlerin sistemik dolaşıma ulaşma potansiyeli oldukça yüksektir. Bu nedenle dental prosedürler ve çiğneme, diş fırçalama gibi günlük aktiviteler bakteriyemiye ve endotoksemiye neden olabilirler [46]. Şiddetli periodontitisi olan bireylerde enflamasyona ait belirleyicilerin ve mediyatörlerin serum düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca periodontitisin endotelial disfonksiyonla ilişkili olduğu, şiddetli periodontitisi olan bireylerde serum interselüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), E-selektin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir [47,48]. Bununla beraber periodontitis varlığında serum von Willebrand faktörü ve plazminojen aktivator inhibitör-1 düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [49]. Tüm bu bulgular periodontal enflamasyonun oral kavite ile sınırlı kalmadığını, genel sağlık üzerine de etkili olduğunu göstermektedir [46,49]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda periodontitisin kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, hamilelik komplikasyonları ve respiratuvar hastalıklar gibi pek çok sistemik hastalık için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir [50,39,51,52].

2.4. Periodontal Enfeksiyonlarda Mikroorganizmaların Rolü

Ağız boşluğu, hem yumuşak hem katı yüzeyleri birlikte barındırması, yüzeyleri yıkayan tükürük ve diş eti oluk sıvısının varlığı ve dış ortama açık olması özellikleriyle eşsiz bir yapıdır. Ekolojik olarak çok farklı mikroçevrelerden oluşur; bu nedenle çok çeşitli mikrofloralar içerir [53]. Yanak epiteli, dil sırtı, supragingival ve subgingival çevreler birbirinden belirgin olarak farklı dört ana ekosistemdir. Supragingival çevre (diş etinin üstünde kalan diş yüzeyleri) tükürük ve yiyecek içeceklerle yıkanır ve çiğneme gibi mekanik etkilere maruz kalırken subgingival çevre (diş etinin altında kalan diş eti olukları ya da periodontal cepler) diş eti oluk sıvısı ile yıkanır. Ağızda bulunan mikroorganizmaların çoğu, biyofilm olarak adlandırılan bir yüzeye yapışık mikroorganizma topluluklarına aittir [54].

Ağız boşluğunda mikroorganizmaların yerleşmesi ve üremesini etkileyen faktörler, fizikokimyasal (yüzey, sıcaklık, pH gibi), konak (ağız bakımı, sigara içme, genetik durum gibi) ve bakteriyel (enzimler, fimbria gibi) faktörlerdir [55]. Bir biyofilmdeki bakteri türlerinin kendi aralarında ve bulundukları fiziksel ve kimyasal ortamlarla aralarındaki etkileşimler [Quorum sensing (QS)] son derece dinamik olaylardır ve günümüzde oldukça ilgi çekmekte ve araştırılmaktadır.

Kültürden bağımsız moleküler yöntemlerle tüm ağız boşluğunda bulunan yaklaşık 1010 bakterinin >700 filotip üyesi olduğu saptanmıştır; bunların 400 kadarı subgingival örneklerden tanımlanmıştır [53,56]. Geri kalan 300'ü dil, ağız mukoza membranları, çürük lezyonları ve endodontik infeksiyonlar gibi diğer ağız bölgelerinden tanımlanmışlardır. Henüz kültür edilmemiş filotiplerin bazılarının metanojenik arkaealar olduğu saptanmıştır. Herhangi bir kişinin bu 700 türün yaklaşık 100-200'üne sahip olduğu düşünülmektedir. Çok temiz olmayan bir ağızda bir dişteki bakteri sayısı 1×10^8 – 1×10^9 arasındadır [57].

Ağız mikroflorasının normal olarak sürekli bulunan yüksek sayılardaki mikroorganizmalar topluluğu (kalıcı flora), büyük ölçüde kommensal bakterilerden ve az sayıdaki mayalardan oluşur. Bunlar içinde sayıca az olan ek mikroflora olarak tanımlanan türler de bulunur. Bu türler, çevre kendilerine uygun olarak değiştiğinde endojen mikrofloraya dahil olabilirler. Kommensal türler, çevredeki değişiklikler ya da kişinin yetersiz ağız hijyenine bağlı olarak patojen hale gelebilirler. Ağız mikroflorası ile konak arasındaki amfibiyo ilişkisi olarak adlandırılan bu ilişki konak için zararlı (hastalıklı) ya da yararlı (sağlıklı) olabilir [58].

Ağız mikroflorasının topluluk dengesini kolonizasyon direnci sağlar. Dengenin bozulması sonucu ekolojik değişim olur. Ağız ve diş hastalıklarının büyük çoğunluğu ağız biyofilmlerindeki ekolojik değişimden kaynaklanır. Mikrofloranın sağlıklı durumdan hastalıklı duruma geçmesine yol açan değişiklikler farklı bakterilerin varlığı ve Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere oranının değişmesi, özel türlerin artması, bakterilerin virulans faktörlerini değiştirmesi, genetik duyarlılık nedeniyle konağın immun yanıtındaki değişiklikler, çevresel faktörler, yaş ya da hormonal durum olarak sıralanabilir. Bakterilerin biyofilmlere neden girdiği ve çıktığı; kommensal halden patojen hale geçmelerini neyin tetiklediği soruları ise halen tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bunun asıl nedeni, bu patojenlerin tam olarak tanımının in vitro koşullarda laboratuvarı konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanmasında ki güçlükler nedeniyle olmaktadır. Bu nedenle moleküler yöntemler ön plana çıkmıştır. Son yıllarda metagenomik yaklaşımla (bir laboratuvarı üretilen tek bir bakteri suş genomunun incelenmesi yerine doğal çevrelerinden alınan bir bütün olarak mikrop topluluklarının genomlarının incelenmesiyle) ekosistemlerin karmaşık mikrofloralarının kompozisyonları, evrimsel ve metabolik özellikleri yönünden sorgulanmaktadır [59]. Normal vücut mikrofloralarının insanın sağlık ve hastalık durumundaki rolünü aydınlatmak amacıyla Amerika Birleşik Devletleri'nde National Institutes of Health tarafından desteklenen “Human Microbiome Project” (İnsan Mikrobiyom Projesi) çalışması başlatılmıştır [60]. Bu kapsamda ilk ele alınan ağız mikroflorasıdır. “Human Oral Microbiome Database” (İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı) projesinde ağız boşluğunda kültür edilebilen ve edilemeyen bakteri profili mikroarray teknolojisi ile saptanmaktadır [61]. Böylece sağlık ve hastalıkla ilgili türler karşılaştırılabilir, tedavinin ağız ekolojisi üzerine etkisi izlenebilir ve mikrobiyal kayma çalışmaları yapılabilir ve ayrıca ağız mikroflorasının sistemik sağlıkla ilişkisi daha iyi anlaşılabilir [61].

Ağız mikroflorası, mikrop topluluklarının kapsamlı sekanslamasına yüksek işlem hacmi ve maliyet etkin olarak olanak veren bir gelecek nesil sekanslama tekniği (next-generation sequencing) olan masif paralel pirosekanslama (massively paralel pyrosequencing) ile de incelenmiştir. Ağız mikrop çeşitliliği bu teknikle >19,000 filotip olarak daha önce tanımlanandan çok daha büyük çeşitlilikte saptanmıştır [62].

Çizelge 2.1. Ağızda sıklıkla görülen bazı bakteri cinsleri [63]

Gram pozitif		Gram negatif		
Koklar	Basiller ve filamentözler	Koklar	Basiller ve filamentözler	Sarmal bakteriler
<i>Enterococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Stomatococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Arachnia</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Rothia</i>	<i>Branhamella</i> <i>Neisseria</i> <i>Veillonella</i>	<i>Aggregatibacter(Actinobacillus)</i> <i>Campylobacter</i> <i>Capnocytophaga</i> <i>Centipeda</i> <i>Eikenella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Haemophilus</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Mitsuokella</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Selenomonas</i> <i>Simonsiella</i> <i>Wolinella</i>	<i>Treponema</i>

2.5. Periodontal Patojenlerin Virülans Faktörleri

Bir mikroorganizmanın periodontitis oluşturması için aşağıdaki şartları yerine getirmesi gereklidir:

- I. Periodontal dokulara tutunabilmelidir.
- II. Salya ve gingival cep sıvısı akımıyla mekanik olarak cepten kolayca uzaklaştırılamamalıdır.
- III. Beslenme ve üremesi için gerekli olan maddeleri periodontal dokudan karşılayabilmelidir.
- IV. Yerleştiği periodontal dokuda önceden mevcut bakteriler ile geçimli olmalı, onların antagonizmasına ve konağın savunmasına direnebilmelidir. Örneğin, *Actinomyces* ve streptokoklar, *A.actinomycetemcomitans*'ın üremesini inhibe ederler. *P.gingivalis*'in proteazları immunoglobulinleri ve kompleman proteinlerini tahrip eder. *Capnocytophaga* türleri polimorfonükleer lökositlerin kemotaksisini inhibe eder. *A.actinomycetemcomitans* kompleman tarafından parçalanmaya karşı dirençlidir.
- V. Periodontal yıkımı direkt ve indirekt yolla indüklemelidir. Enzimler, toksinler ve metabolitler gibi konağa zararlı olan mikrobiyal ürünler sentezleyebilmeli ve bunları dokuya verebilmelidir (*P.gingivalis*'in kollajenazları, veya *P.gingivalis*, *T.denticola*, *Tannerella forsythia* (eski *Bacteroides forsythius*), diğer bazı *Bacteroides-Prevotella* ve *Capnocytophaga* suşlarının, tripsin benzeri enzimleri gibi). Birçok periodontal patojen bakteri tarafından üretilen asit fosfatazlar,

özellikle dokuya invaze olan mikroorganizmalar tarafından salgılanıp kemik yıkımında rol oynarlar.

P.gingivalis, *P.intermedia*, *A.actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sputigena* tarafından sentezlenen fibroblastları inhibe eden toksinler kollajeni de etkileyerek kollajen kaybına neden olurlar. *A.actinomycetemcomitans*, endotoksinden ve lökotoksinden farklı olarak kemik rezorbsiyonunu indükleyen bir toksin salgılar. Ayrıca çeşitli patojenler de protein sentezinde inhibitör rolü olan volatil (uçucu) sülfidler salgılar. İndirek yolla ise, *P.gingivalis* ve diğer bazı Gram negatif bakterilerin endotoksinleri makrofaj ve fibroblastlardan prostoglandin E2, ve interlökin-1 β salgılatır, makrofajlardan tümör nekroze edici faktörü (TNF) salgılatarak kemik rezorbsiyonu ve çeşitli iltihabi mediyatörleri açığa çıkarırlar [64].

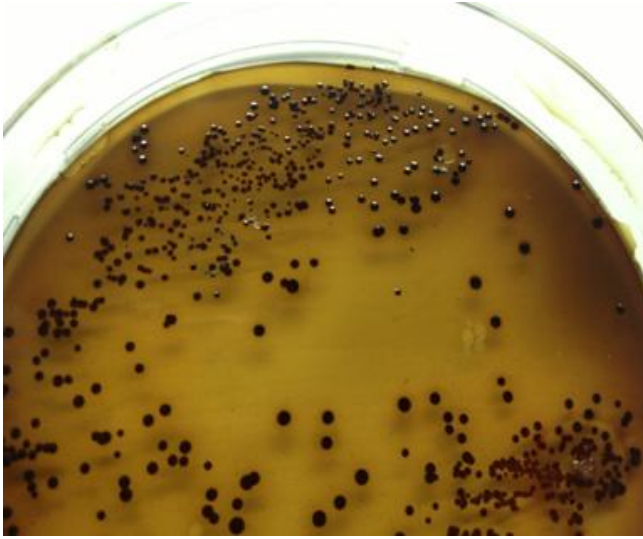
2.6. Bakterilerin özellikleri

2.6.1. *Porphyromonas gingivalis*

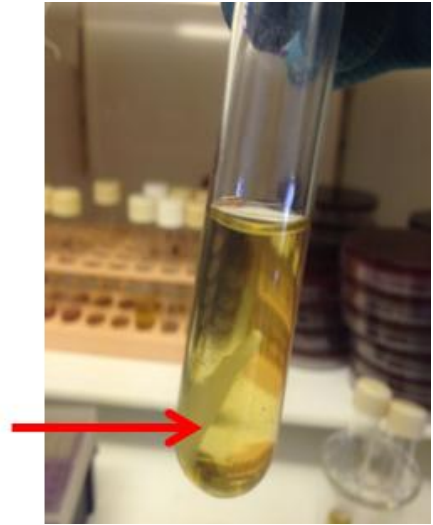
P.gingivalis kronik yetişkin periodontitisi ve peri-implantitisi ile ilişkilendirilen, subgingival plakta bulunan gram negatif, anaerobik, hareketsiz çomak şeklinde bir bakteridir. *P.gingivalis* doku kolonizasyonu ve yıkımına katkıda bulunan geniş donanımlı virülans faktörleriyle kuşatılmıştır. *P.gingivalis*'in kapsülü önemli bir virülans faktörüdür ve kapsüllü *P.gingivalis* suşlarının kapsülsüz suşlara göre daha virülan olduğu bir fare deneyi çalışmasında gösterilmiştir. Kapsülsüz suşlar kapsüllülere göre epitel hücrelerine daha iyi tutunur ve kapsül insan gingival fibroblast hücreleri için immünsupresif olabilmektedir [65].

Gram negatif anaerob bir bakteri olan *P. gingivalis*, kemik ve doku yıkımına ve nihayetinde diş kaybına yol açar. İnflamatuvar polimikrobiyal bir durum olan periodontitiste anahtar patojenlerden biri olarak düşünülmüştür. Artan bulgular sistemik hastalıklar ile periodontitisi ilişkilendirmiş ve örneğin iyileşmeyen ülserler de olduğu gibi aterosklerotik plakta da bulunmuştur. *P.gingivalis*, fimbriya, lipopolisakkaritler ve gingipainler gibi üreme ve hayatta kalmayı artıran birtakım patojenik özelliklere sahiptir. Gingipainler, fimbriya gibi, bakteri invazyonu ve kolonizasyonu için önemlidir. Kompleman proteinleri ve kallikrein sistem, koagülasyon faktörleri ve sitokinler gibi bir dizi farklı proteinlere karşı tepkiseldir (reaktif). Örneğin, eldeki veriler gingipainlerin

konak inflamatuvar yanıtının düzenlenmesinde rolü olduğunu göstermiştir. *P.gingivalis* doğal bağışıklık yanıtını uyarır ve inflamatuvar mediatörlerin sentezini indükler ama aynı zamanda konak yanıtını da baskılayabilir. Başka bir deyişle, reseptör yıkımı ve sitokin ile sinyal yolaklarını bozmak ve konak hücrelerin invazyonu ile konak bağışıklık sisteminden kaçmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir [66].



Resim 2.1. *P. gingivalis* kolonilerinin besiyeri üzerindeki görünümü



Resim 2.2. Anaerob bir bakteri olan *P.gingivalis*'in Fastidious Anaerob Broth (FAB) besiyerinde dipte görülen üremesi



Resim 2.3. Anaerob inkübatör

Porphyromonas gingivalis'in konak hücreye invazyonu

Konak hücrelere invazyon, konağın bağışıklığı ile patojenlerin etkileşiminde rol oynayan yollardan biridir. *P.gingivalis*'in çeşitli konak hücrelere invazyonu ve epitelyum hücrelerde çoğalması daha önceki in vitro çalışmalarda gösterilmiştir [65]. Kapsül, *P.gingivalis* tarafından konak hücrelere invazyon sürecini engelleyebilir, amiloglikozidaz ile *P.gingivalis* kapsülünün kısmi olarak bozulduğunda endotel hücrelerine *P.gingivalis*' in invazyon oranının arttığı gösterilmiştir [65,67]. Peri-implantitis ve periodontitis tedavisinde sistemik metranidazol, yaygın olarak tek başına ya da ek olarak amoksisilin ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır [65]. Tedaviye rağmen periodontitis tekrarlayabilmektedir. Tekrarlayan periodontitisin sebebinin, *P.gingivalis*'in ortadan tamamen kaldırılamaması ve periodontal patojenlerin sistemik antibiyotiklerin kullanımından sonra bile bazı hastalarda tekrar bulunabilmesi olarak açıklamıştır. Sistemik antibiyotik kullanımı sonrası hastalardan toplanan epitel hücrelerinde *P.gingivalis*'in hücre içindeki varlığı bildirilmiştir ve internalize olmuş *P.gingivalis*'i yok etmek için geleneksel antibiyotiklerin yetersiz kalıyor olabileceği belirtilmiştir [65]. Bu sebepten dolayı son yıllarda antibiyotik tedavisine alternatif görülen tedavi yöntemleri önem kazanmıştır.

P.gingivalis'in antijen yapısı

P.gingivalis, diğer birçok patojen bakterilerde olduğu gibi bir kapsül polisakkaritine sahiptir. Fakat *P. gingivalis*'in kapsül polisakkariti diğer Gram negatif bakterilerden biraz farklıdır. Kapsülün yapısındaki şeker çekirdeğinde 2-keto-3-deoksioktulosonik asit ve

heptoz (7-karbonlu monosakkarit) bulunmaz, onun yerine yağ asitlerine bağlı olarak β -hidroksimiristik asit bulunur, lipopolisakkarit yapısında olup lipit A tabiatındadır ve kuvvetli bir antijendir. Bakterinin dış duvarının jel elektroforezi ve kromatografik incelemeleri yapıldığında farklı sayıda protein antijen türevi tespit edilmiştir.

Bunlardan birincisi 69 kDa ağırlığında bir proteindir, membrana bağlıdır, yapısında eser miktarda karbonhidrat ve daha az miktarda kloroformda çözünebilen lipitler bulunur. Dış duvardaki bu fraksiyon bakterinin agregasyonunu ve böylece immün hücrelerden korunmasını temin eder. Dış duvardan elde edilen ikinci fraksiyon ise büyük oranda lipopolisakkarit yapısında olup çok az miktarda protein (41.5 kDa) içerir. Bu fraksiyon porin üzerinde bulunur, bakterinin hemagglütinasyon özelliğinden sorumludur. Bir diğer antijeni ise 22 kDa ağırlığında bir fimbrillindir. Bu fimbrillin proteini saflaştırılıp deney hayvanlarına verildiğinde hemagglütinasyon yapmaktadır, kuvvetli bir immunojenidir. Fimbrillinin (Fim A), aminoasit sekanslarına göre 5 farklı tipi (I-V) vardır. Antijenik özelliği en güçlü olan A grubu fimbrillindir (FimA). Dişeti epitelindeki fibroblastları ve epitel hücrelerine tutunmayı ve internalizasyonu sağlarlar. FimA-II fimbrillinleri, periodontitis patogenezinin birebir sorumludur. Çünkü bu grup fimbrillinler tükürükte bulunan ve konak savunmasını sağlayan PRP (proline-rich protein) den etkilenmezler. Fimbrillinlerin hepsi dişeti epitel hücrelerinden IL-8 salgılanmasını indükler. Yukarıdaki antijenlerin dışında, tiol proteazlar salgılayarak serumun öldürücü etkisinden korunabilmektedir. Ayrıca daha birçok hiyaluronidaz, kondroitinaz, DNA-az, RNA-az, kollajenaz, mukopeptidaz ve sitotoksik enzim salgılar [68].

P.gingivalis (ATCC 33277) suşunun bakteri gövdesinden ekstrakte edilebilen 21 tane farklı proteaz tespit edilmiştir. 17A3 suşunda 16, W83 suşunda ise 20 farklı proteaz bulunur. Bunlardan 15 tanesinin yapıları birbirine çok yakındır ve genus seviyesinde ortaktır. Hayvan kökenli suşlarda ise ortalama 12 farklı proteaz tespit edilmiştir. İnsan kökenli suşlarda bulunup hayvan kökenli suşlarda bulunmayan proteazlar serin proteaz yapısındadır [68].

Bir proteaz hangi protein veya aminoasiti daha kolay parçalıyorsa o protein veya aminoasitin ismiyle ifade edilir. Örneğin *P.gingivalis* proteazlarından en antijenik olanları sistein proteazlardır ve bunlara gingipain adı verilir. Bu proteazlar ekstraselüler enzimlerdir. Patogeneze katılan çok önemli 2 tane gingipain bulunur.

1. *Lizin* spesifik sistein proteinaz (gingipain K, Kgp): Bu madde sistein dışında lizin de parçalayabilir. Konak eritrositlerinden açığa çıkan hemoglobin, hemopeksin, haptoglobin ve transferrini parçalamaktan sorumludur. Fakat haptoglobin molekülünün yapısında bulunan β zincirleri üzerine etkisizdir.
2. *Arjinin* spesifik sistein proteinaz (gingipain R, Rgp): bu madde sistein dışında arjinini de parçalayabilir. Hemagglütinasyon etkisi azdır. Serum içerisindeki hemopeksin ve transferrini parçalar. Ortamda doksisisiklin ($>3 \mu\text{M}$) bulunduğunda bu etkisi kaybolur.

P.gingivalis 382 suşunun sitoplazmasında varlığı gösterilen arjinin karboksipeptidaz enzimi gingipain R ile birlikte bulunduğunda daha fazla antijeniktir. Bu maddenin moleküler yapısı memeli hücrelerinde bulunan çinko-karboksi-peptidaz enzimine benzer ve ortamdaki metal iyonlarını kuvvetle kendisine bağlayarak inaktive olur. Bu sebeple bu antijenin etkisi kısa sürelidir [68].

Porphyromonas gingivalis'in patojenitesi

Her bakteri gibi *P.gingivalis*'in de konakta hastalık yapabilmesi için ilk önce konak dokuya tutunabilmesi gerekir. Konakta dişeti epitel hücrelerine, fimbriyaları aracılığı ile tutunur ve hücrenin içerisine girer. Epitel hücrelerinin yüzeylerinde bulunan 50 ve 40 kDa'luk 2 protein bu fimbriyalar için reseptör görevi görür. Bunlardan 50 kDa'luk protein aynı zamanda epitel hücresinin keratin bağlayan reseptörüdür. Dolayısıyla bu tutunma tripsin ile inaktive edilebilir. Tükürük kaplanmış hidroksiapatit yüzeylere, konak sert dokularına, epitele, PRP ve statherine de fimbriyalarıyla tutunabilir. Konağa tutunması bazen ekstraselüler vezikülleri aracılığı ile de olabilir. Bu tutunma serum ile ve dişeti oluşu sıvısı ile inhibe edilebilir. *P. gingivalis* genellikle Gram pozitif bir bakteri aracılığı ile dişlerin yüzeylerine tutunmayı tercih eder. Bu özellik *P.gingivalis*'in ekolojik kimliğinin bir kısmını oluşturur. Tutunmasına aracılık eden bakteri genellikle *Streptococcus salivarius*'tur veya adezinleri ile tutunabilen *Actinomyces viscosus* gibi bir başka Gram pozitif bakteridir.

Bu bakterinin üretilmesinde deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, ortamda hemin bulunmasının patojenitesini oldukça artırdığını, virülansının inokulum miktarına bağlı olduğunu, ortama Vit K ilavesiyle virülansının arttığı ve hayvanlar üzerinde ölümcül olabildiği gösterilmiştir. Hemin varken bakterinin ortama saldığı bütirik asit dişeti

dokusunda IL-6, IL-8, IL-11 salınmasını artırır ve T lenfositleri için toksiktir. T lenfositlerinin apoptosisini artırır, dişeti fibroblastlarını doza bağlı olarak suprese eder.

Ağız boşluğunun doğal sıvı ve sekresyonlarında ne hemin ne de vit K1 bulunur. Bu bakterinin patojenite kazanabilmesi için 2 türlü hemin kaynağı vardır: Birincisi *Campylobacter*, *Veillonella* ve *Wolinella* üyelerinin katabolik atıklarıdır (kommensal ilişki). Florada bulunabilecek *Wolinella recta* hemin sentezi yaparak *P.gingivalis*' in hemin kaynağı görevini üstlenir. *P.gingivalis*'in ikinci hemin kaynağı ise konağın kendisidir. Konağın eritrositlerini parçalayarak hemin elde eder. Bunu yapabilmek için ekstraselüler veziküllerinin içerisindeki litik enzimlerini kullanır [68].

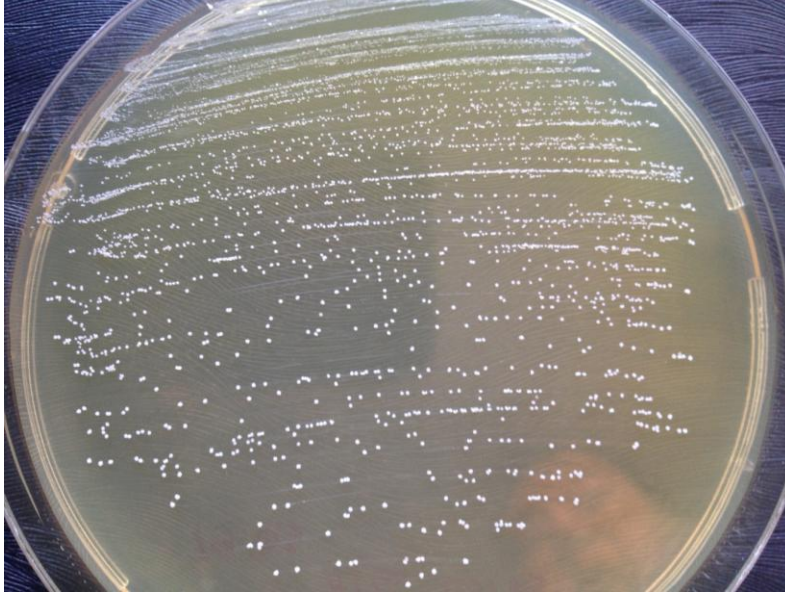
2.6.2. *Streptococcus mutans*

Ağız boşluğu, ağız yüzeylerine kolonize olan çok türlü bir komüniteden oluşan çeşitli mikrobiyal ekosistemleri içeren, ve sert ve yumuşak dokuyu kapsayan çok karmaşık bir biyolojik sistem sunar. Viridans streptokoklar insan ağız boşluğunda en baskın kolonize olan türlerdir, diş yüzeyine kolonize olmayı tercih ederler ve insan subgingival ve proksimal plaklarının belirgin bir bileşenidirler [69].

S.mutans gibi oral streptokoklar, diş çürüğü oluşumu ve dental plak ile yaygın olarak ilişkilendirilen patojenlerdir. Bu bakterilerin hastalık başlatmak için dişeti, tükürük, dil, diş minesi gibi ağız boşluğu bileşenlerine tutunması gerekir [70]. *S.mutans*, biyofilm oluşturmak için diş yüzeyine tutunması, mayalanabilir karbonhidratları asitlere dönüştürmesi ve düşük pH'lı bir ortamda karbonhidrat metabolizmasını devam ettirmesinden dolayı diş demineralizasyonuna neden olabilen, diş çürüklerinden sorumlu esas etkenlerden biridir. Diş plak biyofilminde *S.mutans*'ın bulunması, çürük oluşumuna sebep olan biyofilmin indikatörü olarak değerlendirilir. Diş çürüklerinin önlenmesi, plak biyofilminin kontrolünü amaçlar. Bununla birlikte biyofilmdeki bakteriler planktonik bakterilere kıyasla antimikrobiyal maddelere daha düşük hassasiyet gösterirler. Aslında biyofilimde büyüyen bakteriler antimikrobiyal maddelerin etkilerine 10-1000 defa daha dirençli hale gelebilirler. Bu durum, biyofilm ile ilişkilendirilen bakteriyel enfeksiyon hastalıklarının tedavisinin ve önlenmesinin zorluğunu da artırmaktadır [71].

Son yıllarda viridans streptokoklar içinde yer alan bir karyojenik suş olan *S.mutans*'ın antibiyotiklere duyarlılık/dirençlilik durumu da değişkenlik göstermektedir.

Viridans streptokok grubu bakteriler arasında planktonik suşlara karşı da sık kullanılan penisilin ampisilin grubu antibiyotiklere çoklu ilaç direnci bildirilmiştir [72]. Bundan dolayı ağız mikrobiyolojisinde karyojenik suşların azaltılmasına yönelik çeşitli alternatif tedavi yaklaşımları gündeme gelmiştir.



Resim 2. 4. *S.mutans* kolonilerinin TYCSB agar besiyeri üzerindeki görünümü



Resim 2.5. CO₂ İnkübatörü

2.6.3. Antibiyotik tedavisine alternatif görülen tedavi yöntemleri

Bazı ağız bakterilerine antibiyotiklerin yetersiz kalmasından dolayı alternatif tedavi yöntemi geliştirilmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bazıları;

I. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Trombositten zengin plazma doku yenilenmesini desteklemek için tedavi edici araç olarak önerilmiştir. Bununla birlikte bu formülasyonlara maruz kalan hücrelerin biyolojik yanıtları çok iyi anlaşılamamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmaların TZP'nin gingival yara iyileşmesi ve ağız mukozasını düzenleyebileceğini göstermesi çok ilginçtir. Fibroblastların yerleştiği kollajen jeller yara iyileşmesi boyunca doku granülasyonu modellemesi çalışmak için örnek alınmıştır. Fibroblastların yerleştiği kollajen jellerin kullanılmasıyla TZP'nin MMP inhibitör GM6001 tarafından verimli olarak azaltılmış bir mekanizma sayesinde doku konsantrasyonunu uyarma yeteneği olduğu gözlemlenmiştir (73).

II. Çay Ekstratları

Bitki ekstratları (özütleri) ve fitokimyasallar flajella gibi yapıların varlığını, yüzey yükünü ve hidrofobikliği içeren hücre yüzeyi özelliklerini değiştirerek canlı ve cansız yüzeylere bakterilerin tutunmasını engelleyebilir. Çay böyle bir potansiyel tutunma inhibitörüdür. Yeşil çay ve oolong çayı (güzel kokulu siyah çay) gibi fermente edilmemiş çaylar ve kısmen fermente edilmiş çaylar güçlü bakterisidal aktiviteye sahiptirler ve gastrointestinal kanalın bazı elemanlarına bakteri tutunmasını engelleyebilirler. Siyah çay ve pu-erh çayı gibi tamamen fermente edilmiş çaylar daha az etkili bir bakterisidal aktiviteye sahiptirler ama dental plak'a bakteri tutunmasını engelleyebilirler.

Ağız boşluğu bileşenlerine fitokimyasallar ile bakteri tutunmasını ve inhibisyonunu araştıran önceki çalışmalar diş minesi gibi sert yüzeylere tutunma üzerine odaklanmıştır. Ağız içindeki yumuşak dokulara bakteri tutunması da hastalık başlatabilir ve bu konuda invitro olarak gingival fibroblast hücrelerine patojenik ağız bakterilerinin tutunması üzerine çay ekstratları ve çay bileşenlerinin etkisini araştıran raporlar bildirilmiştir. Bu raporlara göre gingival fibroblast hücre hattı varlığında en fazla tutunan bakterinin *Streptococcus mitis* ATCC 49456 olduğu bildirilmiştir. Bunun haricinde sırasıyla *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ve *Streptococcus salivarius* ATCC 13419 suşlarının da bu hücrelere tutunabildiği gözlemlenmiştir. Tutunma kapasiteleri hücre varlığında hücre yokluğundaki boş kuyucuklara tutunma kapasitelerinden daha yüksek bulunmuştur [70].

III. Probiyotikler

Probiyotiklerin yararlı etkileri ilk kez 1900 lerin başında insanlarda mayalanmış sütün yararlı etkilerini gösterdiği çalışmasında "Metchnikoff" tarafından bulunmuştur. Ekşi sütteki laktik asit bakterileri (LAB) gibi canlı organizmaların tüketiminin bağırsaktaki mikrobiyal kominitelerin dengesini düzenlediği de bildirilmiştir. Probiyotik bakteriler bağırsak peristaltizmi, antimikrobiyal peptitler, proteolitik enzimler, safra asiti ve pH'a dirençli olmak ve ağız boşluğunda yaşamak zorundadırlar. Patojen ve patojen olmayan besinlerle ilişkili bakteriler canlı aşılar olarak değerlendirilmektedir [74].

Antibiyotik veya Laktobiyotik olarak Probiyotikler

Probiyotik mikroorganizmalar zararsızdır ve insan ve/veya hayvan sistemlerinde probiyotik suşların güvenilirliği şöyle değerlendirilmiştir:

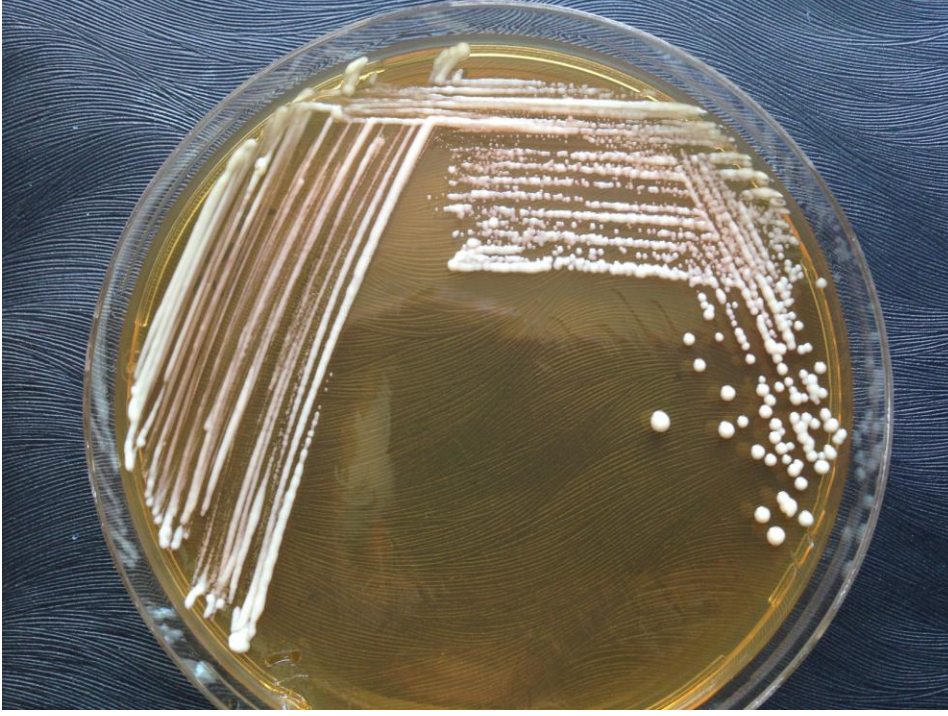
1. Hücrelerin asetoin, hidrojen peroksidad, diasetil, formik asit, enterosin, salivarin, sakarin gibi sekonder metabolitler ve α -galaktosidaz, α -glukosidaz, nitroredüktaz, β -glukosidaz gibi enzimleri üretme yeteneği
2. Epitelyuma tutunmak için yardımcı olan α -enolaz gibi adezyon özellikleri
3. Suşun hayatta kalmasını etkileyen faktörler
4. Konak hücreyle etkileşimler, özellikle patojenik mikroorganizmaların önlenmesi açısından [74]

Laktik asit bakterileri (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Bifidobacterium* ve *Weissella*) çeşitli gram pozitif bakterilerdir. Bunlardan *Lactobacillus* genusu en yaygın kullanılan probiyotikdir.

2.6.4. *Lactobacillus rhamnosus*

Antimikrobiyal direnç artışının bu kadar arttığı bir çağda, enfeksiyon önlenmesinde probiyotiklerin kullanımı yeni bir bakış açısı getirmiştir. Probiyotikler “yeterli miktarda uygulandığında konağa sağlık faydası sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmıştır. En çok çalışılan probiyotiklerden biri, antikor üretimini uyararak ya da kan lökositlerinin fagositik aktivitesini geliştirerek bağışık yanıtı etkileyen *Lactobacillus rhamnosus*’tur [75].

Lactobacillus rhamnosus suşu, türe özgü istenilen bütün özellikleri gösteren mükemmel bir güvenlik profiline sahip çok iyi araştırılmış bir *Lactobacillus* suşudur. Bu yüzden antibiyotik-ilişkili diyarenin önlenmesi için ideal bir aday olarak görünmektedir [76].



Resim 2.6. *L.rhamnosus* kolonilerinin MRS agar besiyeri üzerindeki görünümü

2.7. Gingival Fibroblast Hücreleri

Fibroblastlar bağ dokusu hücreleri arasında en sık görülen (toplam hücre popülasyonunun %65i) hücre tipidir. Fibroblast hücresi bağ dokusunda bulunan çeşitli iğimsi yapıda bir çok hücrenin bir araya gelmesiyle oluşur. Fakat aynı zamanda bağ dokusu matriksinin sentezinde de bir araçtır. Oval bir nukleusa sahip, 1 veya birden fazla çekirdekçik içeren yıldız şeklinde veya iğimsi yapıda hücrelerdir [77].

Periodontitisin erken safhasında, bakteriler ve bakteriyel ürünler mikrobiyal invazyon yaparak insan gingival fibroblastları (HGF) ile yüksek olasılıkla karşılaşır ve bu hücrelerin periodontal inflamasyonda önemli bir rol oynadıkları rapor edilmiştir [66].

Fibroblastlar periodontitis patogenezinde önemli hücre yapılarıdır ve dişeti bağ dokusunda en çok bulunan stromal hücre tipidir. *P.gingivalis*'in çok katlı epitel hücrelerine penetrasyonu ve bağ dokusunun alt tabakalarına ulaştığı in vitro gözlemler ile de tutarlı olarak bir çalışmada gösterilmiştir [65].

Fibroblastlar, doku hemostazı ve bütünlüğünü koruyan bir bağ dokusu kaynağıdır ve hücre dışı matriks birikimi içeren aşırı yaralanma ve fibrotik inflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi yaralanma sonrası doku jenerasyonunda da önemli bir rol oynar [78]. Aynı

şekilde, fibroblastların bağışıklık özellikleri de yeni çalışılmaktadır. Birçok özellikleri henüz saptanamamış olmasına rağmen bu hücreler doğal bağışıklıkta aktif bir role sahiptirler. İnsan gingival fibroblastları, mikrobiyal invazyonu algılayarak doğal bağışıklık sisteminin önemli bir parçası olarak rol oynar ve özellikle kemokinler gibi inflamatuvar mediatörler üreterek ve salgılayarak buna karşılık verirler. Bunun yanı sıra, protein seviyesindeki fibroblast türevli inflamatuvar mediatörleri hedefleyerek gingipainlerin katalitik aktiviteleri vasıtasıyla fibroblastların bağışık yanıtının doğrudan düzenleyici fonksiyona sahiptirler [73,78].

2.8. Bakteri - konak hücre ilişkileri

P.gingivalis'in ağız epitel hücrelerine adezyonuna ve invazyonuna çoğunlukla gingipain enzimleri ve major fimbriya A'sı aracılık eder. Epitel hücrelerine invazyon büyük olasılıkla gingival hücrelerde olduğu gibi konağın bağışıklık sisteminden kaçmak için bakteriler tarafından uygulanan bir mekanizmadır ve periodontitis patogenezinin önemli bir parçası olan doku hasarına yol açar [66]. Fimbriyalı bir *P.gingivalis* suşunun inkübasyondan en fazla 90 dakika sonra gingival epitel hücresine invazyonu daha önceki bir çalışmada rapor edilmiştir [79]. Başka bir çalışmada ise, *P.gingivalis*' in inkübasyondan 6 saat sonra dermal fibroblastlara invazyonu ve enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir [66].

Antibiyotikle tedavi edilmiş periodontitis ve peri-implantitis hastaları üzerinde yapılan klinik çalışmalar, antibiyotiklerin *P.gingivalis*'i tamamen yok etmesindeki yetersizliği ortaya çıkarmıştır. Bu gözlem periodontitiste tekrarlayan enfeksiyonların oluşumu için potansiyel bir rezervuar gibi davranabilen periodontal patojenlerin konak hücrelerine internalize olması ile açıklanmıştır. Enfeksiyonun yeniden ortaya çıkması, *P.gingivalis*'in tamamen yok edilememesine bağlanmıştır.

Konak hücrelere invazyon, antibiyotik baskına karşı bakterilere koruma sağlayan olası mekanizmalardan biridir. Gingival fibroblastlar bu bakımdan önemli konak hücreleri olarak karşımıza çıkmaktadır çünkü periodontal patojenlerin gingival fibroblastlara invaze olduğu ve içinde yaşadığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir [65,66].

2.9. Bakteri – Bakteri İlişkileri

Bakteriler hem biyosfer ile hem de içerisinde bulundukları florada yer alan diğer bakteri(ler) ile sürekli bir etkileşim içerisinde. Bu etkileşim bazen iki taraflı çıkar ilişkisi, bazen yarışma şeklinde olabilir. Aynı ortamı paylaşmak zorunda olan bakteri sayısı ikiden fazla olduğunda bu ilişkileri önceden kestirmek daha da imkansız olur. Böyle bir durumda, bakteri hücreleri genotiplerinin gereği olan ve kendilerinden beklenen biyokimyasal davranışlarını ihlal ederek, fenotipik adaptasyonel motifler geliştirebilirler. Önceden kullanmadığı bir besin kaynağını kullanmaya başlayabilir, farklı bir hücresel morfoloji geliştirebilir, transforme olabilir veya diğeri tarafından inhibe edilerek floradan tamamen silinebilirler [80].

Aynı ortamdaki bakteriler birbirlerini iki türlü (doğrudan ve/veya dolaylı yoldan) etkileyebilirler. Bakterilerden birisinin metabolik atıkları diğeri için ya beslenme kaynağı olabilir veya ona inhibitör etki gösteriyor olabilir. Eğer aynı floradaki iki bakterinin beslenme kaynakları aynı ise yarışma (kompetisyon) yoluyla birbirlerinin beslenme kaynaklarını tüketirler ve iki taraflı inhibe olabilirler. Bunlar doğrudan etkileşimlerdir. Dolaylı etkileşimde ise ortamdaki bakteri hücrelerinden birisi, yaşam faaliyetlerini desteklediği üçüncü bir bakteri aracılığı ile diğeri için zarar veya fayda verebilir. Örneğin besiyeri içerisinde *Selenomonas sputigena* (*S.sputigena*) ile *P.intermedia* arasında belirli bir doğrudan etkileşim tespit edilmez. Halbuki bu iki bakteri aynı flora içerisinde diğer bakteriler ile birlikte bulunduklarında; *P.intermedia*, *Wolinella recta* (*W.recta*)'yı floraya davet eder ve metabolizmasını destekler. *W.recta* ise *S.sputigena*'yı destekler. Dolayısıyla, birinci bakterinin ikinci bakteriye dolaylı yoldan faydası olur.

Bakteriler kendi aralarında konak savunmasına karşı da işbirliği içerisinde olabilirler. Örneğin *P.gingivalis* ortama saldıran ekstraselüler veziküller yardımıyla sadece kendisinin değil floradaki başka bakterilerin (Ör;*Capnocytophaga ochracea* ve *Prevotella loescheii*) fagozitozunu da engeller [80].

Bakteri-bakteri ilişkisi, etkileşen türlere bağlıdır, çok yönlüdür, çok sayıda dinamik bir dengeler zinciri şeklindedir, belirli zaman dilimlerinde ortaya çıkıp sonradan kaybolabilir, ilişkinin yönü değişebilir ve sabit kuralları yoktur. Buna rağmen bazı bakteri-bakteri ilişkileri çok iyi tanımlanmıştır ve özel isimler alırlar:

2.9.1. Ağız Bakterilerinde Kommensal İlişki

- A) Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteriden birincisi ikincisinin metabolik ve ekolojik ihtiyaçlarını karşılayırken, ikincisi birincisinin ihtiyaçlarına aldırılmazlık içerisinde olabilir. Buna simbiyozim denir. Bir bakteri ile simbiyoz ilişki içerisinde bulunan diğer bakterilere, o bakterinin simbiyontu denir.
- B) Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteriden her birisi karşılıklı olarak diğerinin metabolik ihtiyaçlarını karşılayabilir. Buna mutualizm denir.
- C) Bazı kaynaklara göre kayıtsızlık kommensalizm başlığı altında yer alır [80].

2.9.2. Ağız Bakterilerinde Antibiyoz İlişki

Aynı flora içerisinde bulunan iki bakterinin, birbirlerinin yaşam faaliyetlerini inhibe etmesine antibiyoz denir ve bu olay 4 farklı yol ile olabilir:

A) Bakteriyosinler: Bakteriler üredikleri flora içerisinde diğer bakterilerin üremesini engelleyen (genellikle) protein yapısında olan enzimler salarlar. Kök kanalı içerisinde *Porphyromonas endodontalis*'in bakteriyosinleri ile *P.intermedia*'yı öldürmesi bu etkileşim için örnektir. Bakteriyosinler, hem o bakteri türünün flora üzerine dominant hale gelmesini sağlar hem de konak üzerine yıkıcı etki yaratır. Örneğin “piyosiyenin” *Pseudomonas aeruginosa*'nın floraya saldıdığı yeşil renkli bir bakteriyosindir. Benzer şekilde “pestisin” *Yersinia pestis* tarafından, “brucellin” *Brucella* üyeleri tarafından, “klebsin” *Klebsiella* üyeleri tarafından, “protisin” *Proteus* üyeleri tarafından ortama salınan bakteriyosinlerdir. Floradaki diğer bakterileri inhibe eder. Zaten bu maddelerden bazıları saflaştırılarak doğal antibiyotik olarak kullanılmaktadır.

B) Metabolik Yarışma: Ortamda bulunan şekerler, sakkarolitik bakteriler tarafından parçalanır ve enerji yapımında kullanılır. Floraya ilk gelen bakteri ortamdaki şekerleri hızla tüketerek diğerine yetecek miktarda şeker bırakmayabilir. Bu durumda ikinci gelen bakteri ya sayıca az olacak veya o floraya hiç yerleşemeyecektir.

C) Ekolojik yarışma: Aynı konak reseptörüne tutunabilen iki bakteriden floraya önce geleni, konak reseptörlerini işgal ederek ikinci bakterinin konak reseptörlerine tutunmasını engelleyebilir.

D) Katabolik Engelleme: Florada bulunan bir bakteri (örneğin stafilokoklar) hidrojen peroksit yapabiliyor olabilir ve diğer bir bakteri (örneğin zorunlu anaeroplara) bu katabolik atığa duyarlı olabilir. Bu durumda zorunlu anaeroplara stafilokokların kolonize olduğu floraya yerleşemeyeceklerdir [80].

2.10. Enfeksiyon patogeneğinde bakteriyel adezyon ve önemi

Adezyon, bir mikroorganizmanın konak dokuya tutunmasını, aderans ise adezyon yeteneğini ifade eder. Bir bakterinin konakta hastalığa sebep olabilmesi için herşeyden önce konak dokuya adezyonu şarttır. Konak dokuya tutunamayan bakteriler virulansı fazla olsa bile herhangi bir hastalığa sebep olmazlar, floradan tesadüfen izole edilebilseler de konağa tutunamadıkları için o florada hastalık yapıcı olamazlar. Bakterilerin ağızda tutunabilecekleri yüzeyler 1) keratinize epitel, 2) keratinize olmamış epitel, 3) hidroksil apatit yüzeyler (diş sert dokuları ve seramik restorasyonlar) ve 4) varsa protezlerin metal ve akrilik yüzeyleridir [82].

Bakteriler konak dokuya tutunabilmek için genellikle fimbriya (sinonimi=pili) ve kapsüllerini kullanırlar. Bir çok oral patojenin ağız dokularına tutunması fimbriyaları ile olur. Ortamda mannoz varken fimbriyalar inaktive oluyorsa Tip-1, inaktive olmuyorsa Tip-2 fimbria adını alır. Birçok oral patojenin (örneğin *Actinomyces* ve *Porphryomonas gingivalis*) genellikle Tip-1 fimbriyaları vardır. *Proteus*'lar, *Escherichia* ve *Neisseria gonorrhoeae* fimbriyalarıyla üriner sistemin çok katlı kübik epiteline, enterik çomaklar ise barsak villuslarına ve kolon mukozasına kolayca tutunurlar. Konak doku yüzeyinde fimbriyalarda bulunan fimbrillin isimli proteinin komplementer yapısında reseptörler bulunur. A grubu streptokoklar ve *Corynebacterium*'lar tonsiller mukozaya tutunurken fimbriyalarının uygun olduğu konak reseptörlerine de tutunurlar.

Fimbriyalar moleküler yapısını tamamlayan reseptörlere adezyonu sağlayabildiği gibi, hiçbir reseptör bulunmayan yüzeylere de tutunabilir. Örneğin mine ve protez yüzeyinde bir reseptör bulunmadığı halde, *Actinomyces*'ler kemik dokuya ve hidroksiapatit yüzeylere; C ve D grubu streptokokların çoğu dişin sert dokularına fimbriyaları ile tutunabilirler [82]. Pnömonokok, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* ve *Legionella pneumophila* geniş kapsülleri ile solunum yolunun tek katlı silyalı epiteline tropizm gösterir. Kapsül aracılığı ile adezyon için özgül reseptör gerekmez. Uygun pH, ısı, ortamdaki uygun iyon dengesi kapsül aracılığı ile tutunma için gereklidir ve

yeterlidir. Bakteri hücrelerinin üreterek ekstraselüler ortama salgıladığı slaym maddesi ve adezinleri de adezyon için bir araçtır.

Bakteriyel aderans son derece seçicidir. Örneğin, dil sırtındaki streptokokların %50'sini oluşturan *Streptococcus salivarius* diş sert dokularına tutunamamaktadır. Diş sert dokularına çok iddialı tutunan *S.mutans* ise dil yüzeyine tutunamaz veya pek az tutunabilir. Bu bakterinin dil yüzeyine tutunabilmesi için önceden diş sert dokularına kolonize olması gerekir. Eğer bir ağızda diş bulunmuyorsa genellikle dil yüzeyinde ve salyada *S.mutans* bulunmaz. Yeni doğanların ağızlarında ve dişsiz yaşlıların ağızlarında *S.mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* ve *P.gingivalis* bulunmaz. *Veillonella parvum* sadece ve daha bol olarak dil papillalarının arasından, *Leptothriscia* ise yanak mukozasından izole edilir. Benzer şekilde, *Streptococcus mitior* (*mitis*), vibrionlar, fusobakteri ve spiroketler de ağızın spesifik bölgelerinde yerleşirler. Bunlar o bakterinin kendi ekolojisine uygun olan bölgelerdir. Yani herhangi bir bakteri herhangi bir florada tesadüfen bulunmamaktadır. Adezyondaki konak seçiciliği, bir bakterinin yalnızca virülansını değil aynı zamanda hangi dokuda hastalık yapabileceğini de belirler. Örneğin, *Brucella*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* ve diğer enterik basiller ağız dokularına tutunamazlar ve bu bakteriler genellikle ağızda hastalık yapmazlar. Halbuki *P.gingivalis*'in dişeti epitelinin 50 kDa luk keratin bağlayan reseptörüne tutunması sadece dakikalar alır, hatta kolayca internalize olurlar. Bu özelliği bu bakteriyi önemli bir oral patojen yapar. Bununla beraber, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus albus* ağızın içerisine inoküle edilse bile tutunamadığı ve kısa zamanda uzaklaştığı gösterilmiştir [82].

Bir bakterinin flajelinin bulunması yani hareketli olması o bakterinin doku içerisine invazyonunu ve yayılmasını artırır. *Vibrio cholerae*'nin kliniğinin (kolera) ağır olmasına rağmen, bu bakterinin hareketsiz (flajelsiz) mutantları barsak endoteline tutunamaz ve avirülandır. Örneğin, hasarlanmış periodontal membrandan apikal bölgeye ilk ulaşan ve pulpitisi ilk başlatan bakterilerin hareketli spiroketler olması da beklenen bir sonuçtur.

Ağızda bakteriyel adezyona karşı koyan faktörler de vardır. Ağız mukozasının deskuamasyonu bakteriyel adezyonu zorlaştırabilir. Epitelin yüzey tabakalarından hergün yüzlerce hücre ağıza dökülür. Onların yerine bazal tabakalardan yeni hücreler gelir. Yüzeyden dökülen hücreler daha önce kendilerine tutunmuş olan bakterileri yerinden koparır. Bu bakterilerin bir kısmı salya içerisinde yüzer şekildedir (10^8 cfu) veya yeniden epitele dönerler. Genel olarak, her dişeti epitel hücresine 10-15 bakteri hücresi tutunabilir, dil yüzeyinde bu sayı 100'dür.

Kas hareketleri de bakteriyel adezyonu zorlaştırır. Bazı bakteriler mekanik sürtünmelere duyarlıdır. Örneğin laktobasiller dil ve yanağın sürtünmelerinden korunabilen aproksimal yüzeylere ve fissür tabanına tutunurlar [82].

Oral patojenlerin ağız dokularına tutunmaları şu şekillerde olabilir:

A. Özgül Tutunma:

Ağız mukozası epitel hücrelerinin yüzeyinde glikoprotein ve glikolipit reseptörler bulunur. Bunlar müsinöz salgılardaki karbonhidratların glikoziltransferaz enzimi tarafından parçalanmasıyla oluşurlar ve epitelin yüzeyine yerleşirler. Bu reseptörler aslında epitelin immün haberleşme veya konağın kendi hücrelerinin tutunabilmesi için vardır. Fakat aynı zamanda, bakteri hücrelerinin yüzeyinde bu reseptörlere tutunabilecek moleküler yapıya sahip komplementer yapılar bulunur. Bakteriler bu yüzey moleküllerini kullanarak epitele kolay, kuvvetli, hızlı, özgül ve ısrarlı şekilde tutunabilirler. Böyle tutunmalar bakteri ve konak yüzeyleri arasında moleküler seviyede kenetlenme şeklinde olur. *Leptotrichia buccalis*'in yanak mukozasına tutunması bu şekildedir. A grubu streptokokların yüzeylerindeki M proteini (antijeni) onların farinks ve tonsiller mukozaya bu şekilde tutunabilmelerini sağlar. Yüzeyinde M proteini bulunmayan A grubu streptokok türleri tonsiller dokuya aderans yapamazlar. A grubu streptokoklar dişetine ve diş sert dokularına da tutunamazlar veya zayıf tutunabilirler [82].

B. Özgül Olmayan Tutunma:

Bakteri hücrelerinin yüzeyinde, diş veya ağız mukozası yüzeyindeki herhangi bir reseptöre tutunabilecek özgül bir molekül yapısı yoksa adezyonda 2 faz ayrırılır:

1) Birinci faz (adsorpsiyon fazı): Mikroorganizmaların oral yüzeylere ilk adezyonu ağırlıklı olarak elektrostatik kuvvetler (zayıf elektrik yükleri), van der Waals kuvvetleri ve yüzey gerilim kuvvetleri ile gerçekleşmektedir [81,82]. Daha sonraki aşamada, mikroorganizmaların dental yüzeylere geri dönüşümsüz bağlanması koadezyon ve koagregasyon gibi daha özgün iletişim şekilleri gerektirmektedir [81].

Hidrojen iyon konsantrasyonu (pH), ısı, yüzey gerilimi ve atomlarını ortaklaşa kullanabileceği yüzey moleküllerinin sayısı da tutunmaya yardımcıdır. Örneğin *Streptococcus mitior* (syn; *mitis*) ancak asit ortamda (pH<6) dişe tutunabilir. Bu tutunma geri dönüşümlüdür, salyanın yıkayıcı etkisi ve dil yanak dokularının hareketleriyle bu bakteriler konak doku yüzeyinden ayrılabilir.

2) İkinci faz: Bakteriler tarafından ekstraselüler polimerik materyaller sentez edilir ve konak doku yüzeyinde biriktirilir. Bunlar mürinöz glikoproteinlerdir. Bu safha adezyon safhasıdır,

Başka bir özgül olmayan tutunma şekli bakteri ve konak yüzeyindeki moleküler karmaşa içerisinde tesadüfen birbirlerinin komplementer yapısına sahip moleküllerin bulunması ile olur.

C. Doğrudan Tutunma:

Bakteri hücresi ile konak doku arasında herhangi bir materyalin girmediği ve bakteri-konak temasının pililer ile mümkün olduğu tutunmalardır. *Actinomyces*'lerin Tip-1 fimbriyaları ile dişin mine dokusuna tutunması bu tutunmaya örnek teşkil eder. Böyle tutunmalar seçicidir, kalıcıdır ve özgüdür [82].

D. Dolaylı Tutunma:

Dolaylı tutunmalarda bakteri hücresi konak dokuya tutunabilmek için bir aracı kullanır, çünkü konak reseptörleri ve bakteri yüzeyindeki moleküllerin yapısı birbirinin komplementeri değildir, ikisi arasında adaptör rol üstlenen bir kimyasal madde veya bir başka bakteri hücresi bulunduğu adezyon gerçekleşir. Bu adaptör yapılar şunlar olabilir:

1.Adezin: Levan, dekstran, glukoz, mannoz gibi nötral heksozlar ve fruktoz, ramnoz gibi metil pentozlar, veya resin benzeri yapılar bakteri hücresinin konak doku yüzeyine yapışmak için kullandığı ekstraselüler materyallerdir. Bunların hepsine birden genel olarak adezin adı verilir. Her bakterinin adezini farklı yapıdadır. Oral patojenlerin ürettiği adezin molekülünün bir ucu daima mine ve dentin dokusuna tutunabilen özelliktedir. Diğer ucu ise bakterinin kendi gövdesine tutunabilecek yapıdadır. Adezinler bakteri hücresi tarafından bilhassa adezyonu sağlamak için üretilebileceği gibi, bakteri hücresinin bakteriyosinleri veya başka bazı ekzoenzimleri adezin görevi görebilir veya floradaki bir bakterinin ürettiği bir enzim bir başka bakteri için adezin görevi yapabilir. Bakteri kapsülünün ana maddesini oluşturan glikokaliks, aslında bir adezindir.

Bazı oral bakteriler (*Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Leptotrichia buccalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*) yüzeylerinde GBA (Galaktozil-Bağlayıcı-Adezin) bulundurlar. Bunlar eritrositlere, epitele ve salya mürinlerine zayıfca bağlanabilirler. Ayrıca, ABA (Arjinin-Bağlayıcı-Adezin), SBA (Siyalik asit-Bağlayıcı-Adezin) diğer adezinlerdir [82].

2.Kriptitop: Salyanın yapısında bir çok protein bulunur ama sadece 2 tanesi fosfoproteindir: Bunlar PRPs (Prolince Zengin Proteinler) ve statherin'dir. Bu iki

fosfoprotein daha çok parotis salgısından gelir ve tükürükteki toplam proteinlerin % 30-40'ını oluşturur. PRP'ler aminoasit sekansı farklı olan toplam 150 aminoasitten oluşmuş, 1'den 6'ya kadar numaralandırılan 6 farklı proteindir. PRP1 ve PRP3 yapısal olarak birbirine ve kollajene çok benzer. PRP4, 5 ve 6'nın yapısında ise ağır ve glikozillenmemiş aminoasitler bulunur. Bu fosfoproteinlerin hepsine (PRPler ve statherin) birden histatin adı verilir. Histatin, doğal bir savunma bariyeridir, tükürükten gelip diş yüzeyini örten koruyucu bir örtü gibidir ve diş yüzeyine kuvvetle yapışmaya meyillidir. Histatin tabakasının 3 tane görevi olduğu bilinmektedir: 1) Diş yüzeyinde biyofilm yaparak bir savunma bariyeri oluşturur. Böylece bakterilerin yüzeye adezyonunu engeller ve özgül olmayan bir savunma yaparlar. Bakteriler, olgun histatin biyofilmine tutunamazlar. 2) Gram negatif bakteri dış duvarında bulunan Lipit A tabakasını bloke ederek antibakteriyel etki gösterirler. 3) Mast hücrelerinin ve diğer immün hücrelerin uyarı eşiğini düşürür. Böylece konak immün sistemini daha kolay alarm durumuna geçecek şekilde muhafaza eder.

Diş yüzeyindeki bu koruyucu örtü (histatin biyofilmi) bakterilerin hedefidir. Oral patojenler tarafından üretilen proteaz ve nöraminidaz'lar histatin'i parçalayabilirler. Histatini oluşturan aminoasitler birbirlerinden ayrılır ve konak doku yüzeyine dik gelecek şekilde serbest uçlar yaparlar. Bu uçlara kriptitop (kriptik, gizli kalmış ve topo, yer) adı verilir [82].

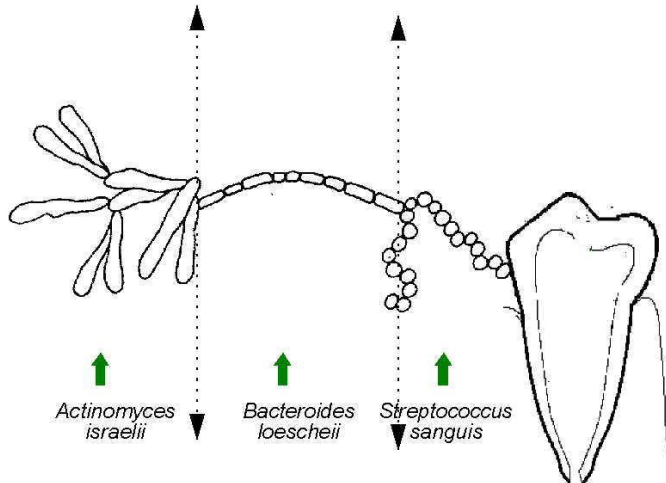
İşte bu kriptitoplar oral patojenlerin tutunma noktalarıdır. *Actinomyces israelii*, *A. odontolyticus* ve *A. viscosus* sadece Tip-1 fimbriyaları ile dişe tutunabilirken, kriptitoplar açığa çıktıktan sonra Tip-2 fimbriyaları ile de kriptitoplara ve dolayısıyla dişlere tutunabilirler. Kötü hijyeni olan ağızlarda nöraminidaz aktivitesi fazladır. Billhassa *Actinomyces* başta olmak üzere pek çok oral patojenin nöraminidaz enzimleri vardır ve tutunmak için kendilerine kriptitop hazırlayabilirler. *S.mutans* (serotip c), *Streptococcus sanguis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella loeschii*, *P.gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus* kriptitoplara kolayca tutunabilir. Fakat *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sobrinus* ve *P. intermedia*, *Streptococcus pyogenes*, *S. mitis*'in bir suşu ve *S. sanguis*'in bazı suşları ortamda kriptitop bulunsa bile buna bağlanamaz. *S.mutans* deneysel ortamda fibronektin'e bağlanamadığı halde ağız ortamında bağlanabilir. Mutans grubundan olan *Streptococcus rattus* ve *Streptococcus cricetus* böyle kollajen kaynaklı kriptitoplara tutunmaya meyillidir.

3.Glukan: Glukan aslında özel bir adezin molekülüdür. Bakteriler tarafından sukrozdan sentezlenir ve ortama salınır. Diğer adezinlerden farkı, yüzeylerinde GBP

(glukan-bağlayıcı-protein) taşıyan streptokokların adezyonunu sağlamasıdır. *S.mutans* hem glukan sentez eder hem de hücresinin yüzeyinde GBP bulunur. Sentezlediği glukan diş dokularına yapıştıktan sonra, bakteri gövdesi GBP'leri ile kendi sentezlediği glukana tutunur. Karyojenik olan bu bakterinin adezyonu glukana, dolayısıyla sukroza bağımlıdır. Ayrıca çevresine glikoziltransferaz enzimi salar. Bu enzim glukan ile hücre gövdesi arasında moleküler bir köprü görevi üstlenir. Benzer şekilde, *Streptococcus sobrinus* da hidroksiapatit yüzeylere doğrudan tutunamaz, ama glukan'a tutunabilir. Yüzeyinde GBP taşıyan başka oral patojenler de vardır [82].

2.11. Koagregasyon ve önemi

Bazen bakteri, dil, yanak ve ağız mukozasının diğer yüzeylerine ve diş sert dokularına başka bir bakteri aracılığı ile tutunabilir. Örneğin *S.mutans* glukan aracılıklı olarak diş sert dokusuna tutunup kendisi *P.gingivalis*'e bağlanabilir. Bu durumda patojen olan bakteri, bu zincirin ucundaki bakteridir, aracı olan bakteri onun simbiyontudur. *P.gingivalis*'in tutunmasına aracılık eden bakteri bazen *Streptococcus salivarius*'tur veya adezinleri ile tutunabilen *Actinomyces viscosus* gibi bir başka Gram pozitif bakteridir. *P.gingivalis*'in ekstraselüler vezikülleri adaptör rolü oynayarak *Capnocytophaga* türlerinin dişe yapışmasını temin edebilirler. *Treponema medium*, 37 kDa'luk yüzey proteinleri ile *P.gingivalis*'e tutunabilir [82].



Şekil 2.4. Koagregasyon köprüleri ile indirekt bakteri tutunması [82].

Bazen bu zincir 3 halkadan oluşabilir. Örneğin *Streptococcus sanguis* diş yüzeyine tutunur ve araya *Bacteroides loescheii*'yi alacak şekilde *Actinomyces israelii*'yi bağlar. Böyle bakteri-bakteri tutunmalarında özgül bir tane reseptör tanımlamak zordur. Muhtemelen bakterilerin yüzey elektrik yüklerinin bakteri-bakteri tutunması üzerine rolü vardır. *Prevotella buccae*, *Prevotella melaninogenica* ve *Porphyromonas oralis* genellikle Gram pozitif bir bakteriye bağlanamaz. Halbuki *Prevotella buccalis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii* ve *Porphyromonas oris* bir Gram pozitif bakteriye (mesela *Actinomyces* veya *Streptococcus sanguis*'e) bağlanmaya isteklidir.

Prevotella loescheii ve *Actinomyces viscosus*, dişe sıkıca tutunabilen *Streptococcus sanguis*'e bağlanabilmek için adeta yarışır. Bazen ikisi birden *Streptococcus sanguis*'e yapışarak koagregasyon zincirinde dallanmalar yaparlar. Bu dallanmış bakteri zincirleri plak gelişmesine öncülük eder. Zincirin en ucunda serbest kalan bakteri genellikle en patojen olan bakteridir [82].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bakterilerin Üretilmesi

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarının kültür koleksiyonundan temin edilen *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 9595) ve *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) standart bakterileri kullanılmıştır.

3.1.1. *Streptococcus mutans*' in üretilmesi:

S.mutans ATCC 25175, Trypticase Soy Yeast Extract Bacitracin-Vancomycin Agar (TYCSB) ve Tryptic Soy Broth (Merck, Almanya) besiyerlerine ekilerek 37⁰C de 48-72 saat %5 CO₂ içeren inkübatörde (Heal Force, Çin) üretilmiştir.

A. TYCSB Agar Besiyerinin Hazırlanması:

1 litre için;

- Tryptic Soy (TYC) Agar litreye
- 15 g Bacto Casein
- 5 g Yeast Extract
- 0,2 g L-cystein
- 0,1 g Na₂SO₃
- 1 g NaCl
- 2 g Na₂HPO₄ 12aq
- 2 g NaHCO₃
- 20 g Na acetate 3aq
- 50 g şükroz
- 15 g agar

15 dakika süreyle 115°C'de otoklavlanmıştır ve 55°C'ye kadar soğutulduktan sonra 0,1 unit/ml basitrasin ve 0,2 unit/ml vankomisin eklenmiştir.

3.1.2. *Lactobacillus rhamnosus*'un hazırlanması

L.rhamnosus ATCC 9595, MRS (De-man ROGOSA and Sharpe) agar ve MRS broth (Merck, Almanya) besiyerlerine ekilmiştir. 37⁰C de 48-72 saat %5 CO₂ inkübatörde tutularak üretilmiştir.

3.1.3. *Porphyromonas gingivalis*'in hazırlanması

P.gingivalis ATCC 33277, FAA (Fastidious Anaerob Agar) ve FAB (Lab M, İngiltere) besiyerlerinde üretilmiştir. Tam otomatik anaerob kabinde (Electrotek, İngiltere) %80N₂, %10H₂O, %10CO₂ atmosfer ortamında 37°C'de 5-7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

3.2. Hücre hattının hazırlanması

Kullanılan Cihazlar&Sarf Malzemeler:

Biyogüvenlik kabini Class 2 (Esco)

Işık mikroskobu (Leica DM750)

İnvert mikroskop (Olympus)

Kamera (Leica)

Soğutmalı santrifüj (Hanil Scientific)

Hassas Terazı (Radwag)

CO₂ inkübatörü (Sanyo)

Sıvı azot tankları (International cryogenics)

Otomatik Pipetler (Eppendorf&Gilson)

Hemositometre (Thoma lamı)

Lameller (20x20 mm, 20x32 mm & 16 mm (yuvarlak))

Pipetör (Eppendorf)

Steril Pastör pipetler

Steril flasklar (T25 ve T75)

Steril kriyotüpler

Steril falkon tüpleri (15 ml ve 50 ml)

Steril pipet uçları (DNAz ve RNAz içermeyen)

Uygun hacim ve ebatlarda cam malzemeler

Kullanılan Kimyasallar

DMEM (Hyclone)

Penisilin-streptomisin (Lonza)

L-glutamin (Lonza)

Hepes Buffer (Lonza)

PBS (Phosphate Buffered Saline) (Sigma)

FBS (Fetal Bovine Serum) (Lonza)

DMSO (dimetilsülfoksit) (Sigma)

Tripan mavisi (Sigma)

Hücre Dizisi ve Çoğaltılması

Kültür Mediumu:

% 10 FBS,

%1 penisilin-streptomisin (100U/mg),

%1 L-glutamin,

Bu çalışmada kullanılan HGF-1 (Human Gingival Fibroblast-1) hücreleri Selçuk Üniversitesi'nden Dr. Pembegül Uyar'dan temin edilmiştir. HGF-1 hücreleri %10 FBS, %1 penisilin-streptomisin, %1 L-glutamin içeren DMEM ile hazırlanan medium kullanılarak T25 ve T75'lik hücre flasklarında çoğaltılmıştır.

48-72 saat CO₂ inkübatöründe bekletilen flask içindeki HGF-1 hücrelerinin yoğunluğu ve hücre morfolojileri invert mikroskop ile kontrol edilmiştir. Hücrelerin yoğun görüldüğü flasklardan pasaj alınarak hücreler çoğaltılmıştır ve sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere hücreler dondurularak -196°C'daki sıvı azot içerisinde saklanmıştır.

Çalışmada HGF-1 hücre serisinin 6. ile 8. pasajları arasındaki hücreler kullanılmıştır.

Hücrelerin dondurularak saklanması:

İşlem hücrelerin en az zararla dondurulabilmesi için kademeli olarak ve kriyoprotektif madde (DMSO) kullanılarak yapılmıştır.

- Hücre kültürü sonunda kültür flaskları PBS ile 2 kez yıkandıktan sonra çoğalmış yapışkan tipteki HGF-1 hücreleri % 0.25'lik tripsin-EDTA çözeltisi kullanılarak steril 15 ml' lik santrifüj tüplerine toplanmıştır.
- 1000 rpm'de 5 dakika çöktürme işleminden sonra üst sıvı uzaklaştırılmıştır.
- Pelette kalan hücreler %10 DMSO + % 90 FBS içinde hücre konsantrasyonu 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde süspanse edilmiştir. Böylece vizkositesi düşük, çok çabuk donan ve hemen kristalize olan suyun kristallenmeden katı hale geçmesi (vitrikasyon) sağlanmış ve hücrelerin dehidrasyonu önlenmiştir. Kriyoprotektif maddelerden biri olan DMSO'nun kullanılması ile hiperozmotik çevre oluşturulup hücrelerin su kaybetmesi sağlanmış ama aynı zamanda hücre içi su ile yer değiştirip buz kristallerinin oluşumu önlenerek hücre membranı hem stabilize edilmiş hem de hücre zarı ve hücre içi organelleri oluşabilecek buz kristallerinin zararlı etkilerinden korunmuştur.
- Hücre süspansiyonu 2 ml' lik kriyojenik tüplere, kullanıma uygun hücre konsantrasyonlarında buz üzerinde aktarılmıştır.
- Hücreler kısa süreli saklamak için (1-2 ay) hızlı bir şekilde -80°C' lik derin dondurucuya kaldırılmıştır.
- Hücreler uzun süreli saklamalar için -70°C' de 5-6 saat süresince bekletildikten sonra sıvı azot tankına (-196 °C) alınmıştır.

Hücrelerin dondurulmuş stoktan besiyerine alınması:

- Sıvı azot tankında saklanan hücreler tanktan çıkarılıp, önceden 37°C' ye ayarlanmış su banyosuna hızlı bir şekilde alınmış ve hemen çözünmeleri sağlanmıştır.
- Hücrelerin çözünmeleri için 5 dakika su banyosunda bekletilmiştir.
- Seri bir şekilde çözünen hücreler 5 ml' lik besiyeri ortamına alınmıştır. 1000 rpm' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Böylece dondurma işlemi sırasında kullanılan %10'luk DMSO' nun toksik etkisi önlenmiştir. Pellet 1 ml komplet kültür ortamı içinde yeniden süspanse edilerek hücre canlılığı ve sayımı mikroskopik olarak gerçekleştirilmiştir. Uygulanacak test sistemine göre % 90-95 canlılıkta olduğu belirlenen hücrelerin konsantrasyonları ayarlanmıştır.

Hücre Canlılığı

HGF-1 hücreleri için hücrelerin pasajlanması, hücrelerin dondurularak saklanması, dondurulmuş hücrelerin çoğaltılması aşamalarının herbirinde hücre canlılığı “tripan mavisi atılım testi” ile belirlenmiştir. Bu işlem thoma lamı üzerine 10µl hücre süspansiyonu ve 10µl %0,4'lük tripan mavisi koyularak ışık mikroskopunda boya alan ve almayan hücrelerin ayrı ayrı sayılması ile gerçekleştirilmiştir. Boya almayan tipteki canlı hücre sayısı total hücre sayısına oranlanarak % canlılık belirlenmiştir. Her bir çalışma için % 95-99 canlılık oranı belirlenen hücreler kullanılmıştır.

Hücre Kültürü

Bu aşamadan sonra hücre kültür ortamı içerisinde çözündürülen hücrelerin 24 kuyucuklu hücre üreme plaklarına 10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde 500µl son hacimde ekimi gerçekleştirilmiş ve plaklar 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Hücre yoğunluğunun optimizasyonu için 1×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 hücre/kuyucuk değişkenleri test edilmiş ve 1×10^4 hücre/kuyucuk yoğunluğun test için uygun olduğu görülmüştür.

24 saat sonra 24 kuyucuklu hücre üretme kaplarındaki her bir kuyucuk yüzeyini invert mikroskop altında % 80–90 oranında kapladığı görünen logaritmik üreme tarzında olan HGF-1 hücreleri üzerindeki besiyeri aseptik koşullarda uzaklaştırılmıştır.

3.3. Bakteri inokulumlarının hazırlanması

P.gingivalis, *S.mutans* ve *L.rhamnosus* daha önce belirtilen spesifik besiyerlerinde üretilerek kolonilerin saflık kontrolü yapılmış ve kültürlerin saflığı Gram boyama yöntemi ile kontrol edilmiştir. Bakteri süspansiyonları, büyüme eğrisi prensibine göre bakteri hücrelerinin üssel büyümesi kullanımdan önce, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Hyclone, ABD) içerisinde inokulum 0,5 McFarland standardı bulanıklığına göre $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (colony forming unit) olacak şekilde hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonlarının yoğunluğu spektrofotometrik olarak optik yoğunluğu 0,6 hücre/ml olacak şekilde ELISA okuyucusu (450nm, BioTek, USA) ile de doğrulanmıştır. Daha sonra bakterilerin sayılmasını kolaylaştırmak için 1:10 ve 1:100 oranında seyreltilerek 10^8 , 10^7 ve 10^6 cfu/ml olarak hazırlanan bakteri süspansiyonları, bakteri yoğunluğunun optimizasyonu için hücre kültüründe test edilmiştir.

Hücre kültür plaklarının, içerisinde 10^4 insan gingival fibroblast hücresi bulunan her bir kuyucuğuna 100 µl bakteri süspansiyonu eklenmiştir ve daha sonra final hacim 500 µl olacak şekilde DMEM ilave edilmiştir. 60 dakika, 90 dakika, 4 saat, 6 saat, 7 saat, 8 saat, 12 saat ve 24 saatlik inkübasyon süreleri sonunda hücreler ve bakterilerin hücrelere adezyonu incelenmiştir.

3.4. Hücrelere bakteri adezyonu

Her bir deney 24'lü polistren hücre kültür plaklarına 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Her kuyucuğun içine birer cam lamel konulmuştur. Daha sonra %10 FBS ile zenginleştirilmiş DMEM içinde 10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde insan gingival fibroblast hücreleri hazırlanarak her kuyucuğa 500 µl konulmuştur. 24 saat sonra hücreler PBS ile 2 kez yıkanmıştır ve 0.5 ml serumsuz DMEM eklenmiştir. Yüzeyi kaplamış monolayer gingival fibroblastlar daha sonra 10^7 McFarland eşeline göre DMEM'de hazırlanmış canlı *P.gingivalis*, *S.mutans* ve *L.rhamnosus* bakterileri ile muamele edilmiştir. Her bir kuyucuğa 10^7 hücre/kuyucuk bakteri olacak şekilde 100 µl bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Kontrol gingival fibroblastlarına sadece %10 FBS içeren DMEM konulmuştur.

Ko-kültürler 90 dakika, 4 saat ve 6 saat 37°C' de %5 CO₂'li nemli ortamda ko-inkübasyona bırakılmıştır.

3.5. Bakterilerin boyanması ve sayılması

Bakterilerin hücrelere adezyonu için belirlenen inkübasyon sürelerinin sonunda cam lameller kuyucuklardan lamlara alınmış ve Kanada balzamu ile fiks edilmiştir. Gram boyama işlemi ile hazırlanan preparatlar protokole uygun olarak boyanmıştır. Her preparatta rastgele 40 hücre seçilerek, ışık mikroskobu (Olympus,Japonya) ile hücrelere tutunan bakteriler sayılmıştır.

3.6. İstatistiksel analiz

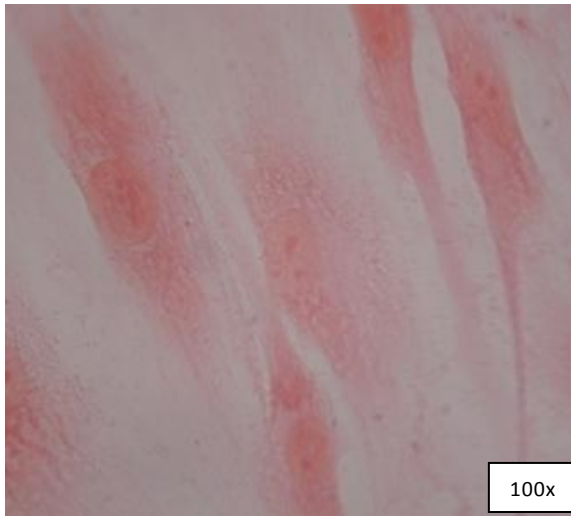
İstatistiksel analiz için *P.gingivalis*, *L.rhamnosus* ve *S.mutans* bakterilerinin konak hücrelere değişik zaman aralıklarında (90 dakika, 4 saat, 6 saat) tutunma düzeylerine ait bulgular hesaplanmıştır. Değişik zaman aralıklarına göre hücrelere tutunan bakterilerin ortalama, ortanca ve standart sapma değerleri ve zamanlar arası farklılıkları “Friedman” testi ile hesaplanmıştır. *L.rhamnosus*'un diğer bakterilerin tutunmasına inhibisyon etkisini istatistiksel açıdan değerlendirmek için “Wilcoxon U” testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

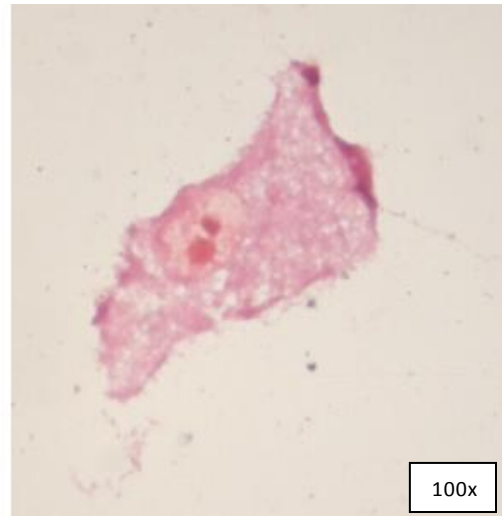
4.1. Bakterileri Hücelere Adezyonuna ilişkin Yapılan Ön Çalışma Bulguları

Seçilen bakteri konsantrasyonlarından 10^7 cfu/ml değerinin hücre adezyon çalışmasında en uygun konsantrasyon olduğu bulunmuştur.

Yapılan ön çalışmalar sonucunda bakterilerin seçilen saat dilimleri arasında 1. saat sonunda hücelere adezyonlarının henüz gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. 90 dakika, 4 saat ve 6 saatlik inkübasyonlarda hücrelerin sağlıklı bir görünümde olduğu ve adezyonun gerçekleştiği görülmüştür. Yedi saat ve sekiz saatlik inkübasyonda adezyon değerlerinde 6. saate göre bir değişiklik görülmemiştir. Gingival fibroblast hücrelerinin 12. saat sonunda iğimsi özelliklerinin azaldığı ve çoğu hücrenin yuvarlaklaşmaya ve parçalanmaya başladığı gözlemlenmiştir. Bakterilerin ise hızla koaggregasyon yaptığı ve kümeleştiği görülmüştür. Hücrelerin 24 saatlik inkübasyon sonunda parçalandığı, yuvarlaklaştığı ve hücre kültür plağı yüzeyinden kalktığı gözlemlenmiştir. Bakteri sayısı ise çok fazla artış göstermiştir. Az sayıda sağlam hücre görülmüştür ve hücrelerin iğimsi özelliklerinin tamamen kaybolduğu, hücre içi granüllerinin arttığı ve sitoplazmalarının dağılmaya başladığı görülmüştür (Şekil 4.1).



Resim 4.1. Sağlıklı insan gingival fibroblast hücreleri

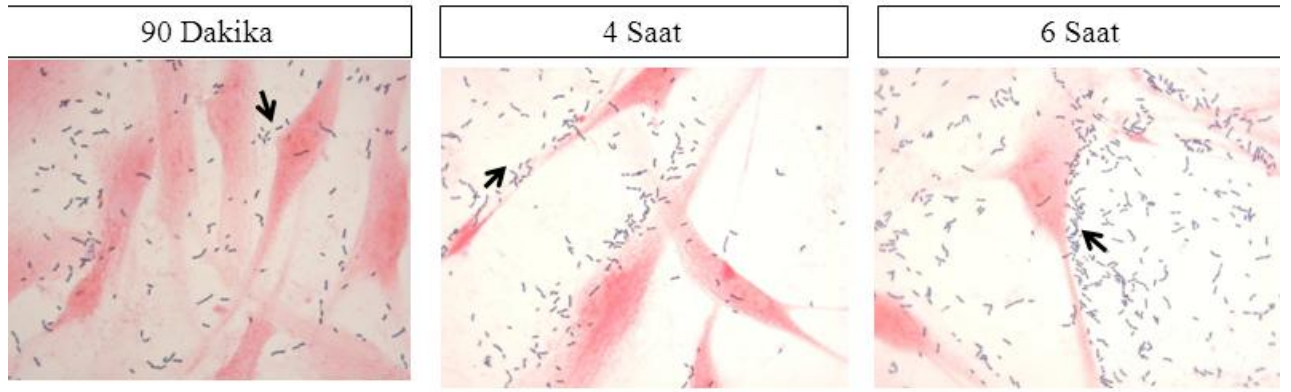


Resim 4.2. Sağlıklı olmayan insan gingival fibroblast hücresi

Bu bulgulara göre hem sağlıklı hücre yapısı hem de bakteri adezyonlarını daha doğru değerlendirebilmek için 90 dakika, 4 saat ve 6 saatlik inkübasyon sürelerinin deney için uygun olduğu belirlenmiştir.

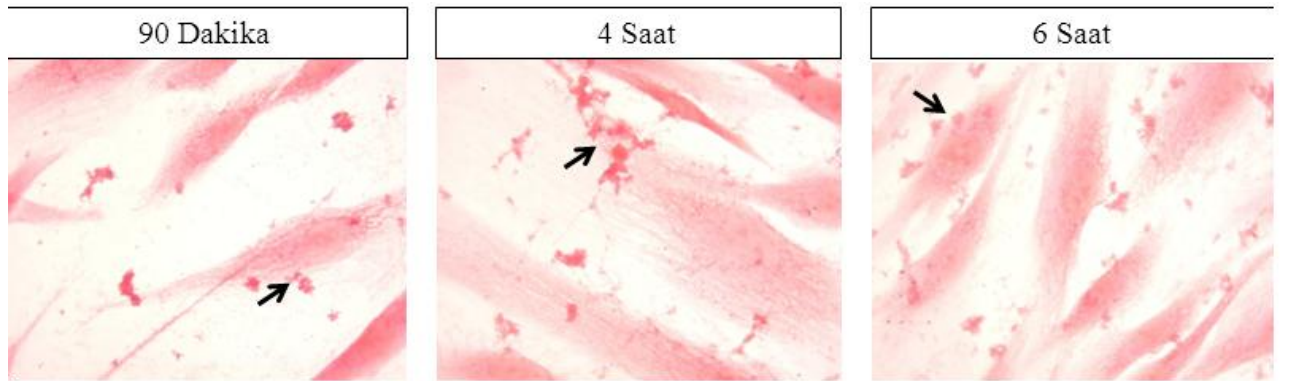
4.2. Zamana Göre Bakterilerin Hücrelere Adezyonuna İlişkin Bulgular

Çalışmada belirlenen sürelerdeki, *L.rhamnosus*, *P.gingivalis* ve *S.mutans* bakterilerinin insan gingival fibroblast hücrelerine tek başlarına tutunma yeteneklerinin değerlendirilmesi için ışık mikroskopunda Gram boyama yöntemi ile sayımlar sayılmıştır. *L.rhamnosus*'un gingival fibroblastlara adezyonu Resim 4.3'te gösterilmiştir.



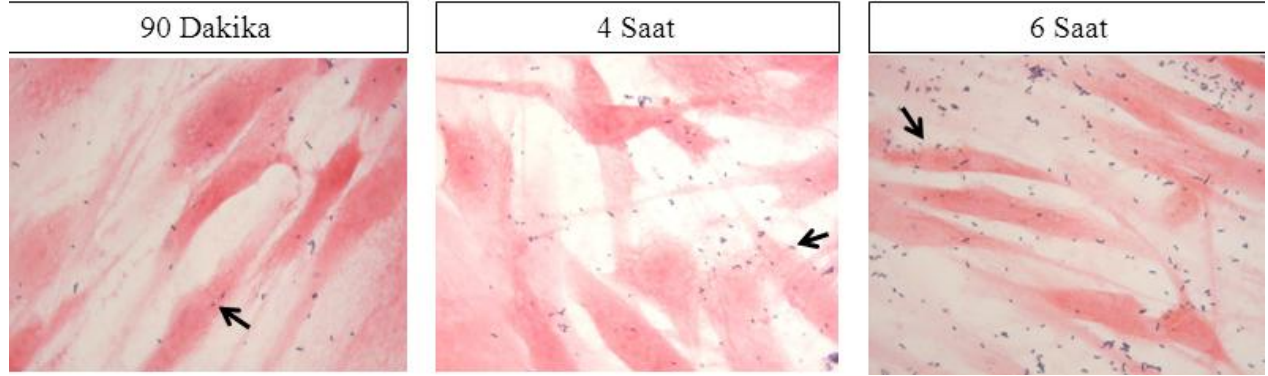
Resim 4.3. *L.rhamnosus*'un insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (Işık mikroskobu, 100x)

Gram boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlar içinden *P.gingivalis*'in gingival fibroblast hücrelerine adezyonu Resim 4.4'te gösterilmiştir.



Resim 4.4. *P.gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (Işık mikroskobu, 100x)

S.mutans’ın insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu Resim 4.5’te gösterilmiştir.



Resim 4.5. *S.mutans*’ın insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (Işık mikroskobu, 100x)

Yapılan sayımlara göre hücre yüzeyine tutunmuş bakteri sayılarının ortalaması Çizelge 4.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *L.rhamnosus*, *P.gingivalis* ve *S.mutans* suşlarının insan gingival fibroblast hücrelerine belirlenen inkübasyon süreleri sonunda tek başlarına tutunan ortalama bakteri sayılarının istatistiksel değerlendirilmesi

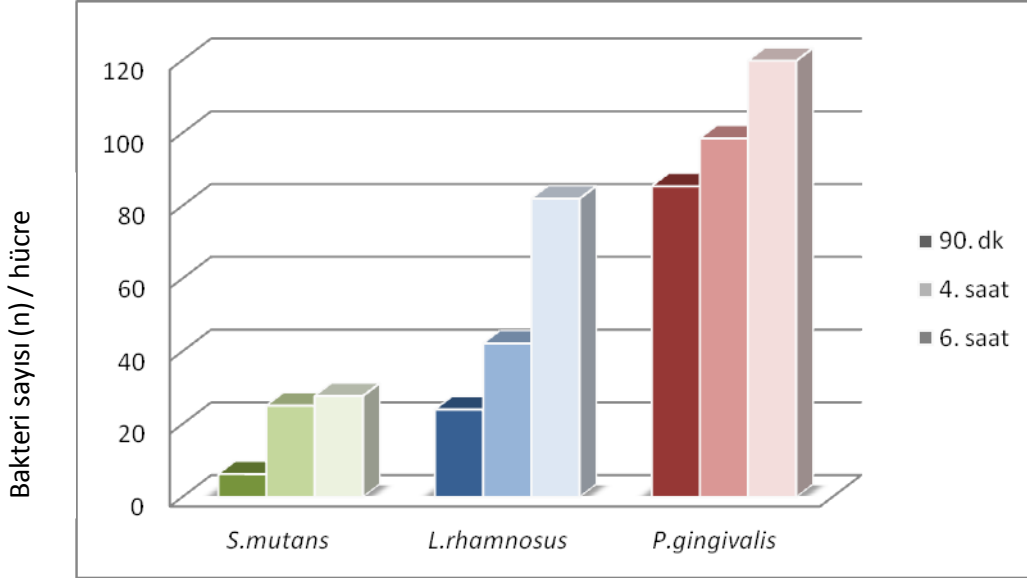
Bakteri	Tanımlayıcı İstatistikler	90 DAKİKA	4 SAAT	6 SAAT	P
A	Ortalama (St.Sapma)	6,3 (4,968)	25,13 (11,332)	27,75 (16,487)	0,000*
	Ortanca (IQR)**	5,5 (8)	24,5 (21)	22,5 (22)	
B	Ortalama (St.Sapma)	24,05 (18,003)	42,2 (17,667)	81,98 (52,903)	0,000*
	Ortanca (IQR)	21 (25)	39,5 (25)	77,5 (69)	
C	Ortalama (St.Sapma)	85,4 (53,384)	98,55 (53,149)	119,88 (61,795)	0,123
	Ortanca (IQR)	79 (95)	91,5 (80)	100 (88)	

A: *Streptococcus mutans*, B: *Lactobacillus rhamnosus*, C: *Porphyromonas gingivalis*

*: İstatistiksel olarak anlamlı değerler

** : IQR: çeyrek değer arası genişlikler

Bulgulara göre, tüm bakteriler için inkübasyon süresi arttıkça tutunan bakteri sayısında da bir artış olduğu saptanmıştır. Bakterilerin süreye bağlı tutunmalarındaki değişiklikler Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

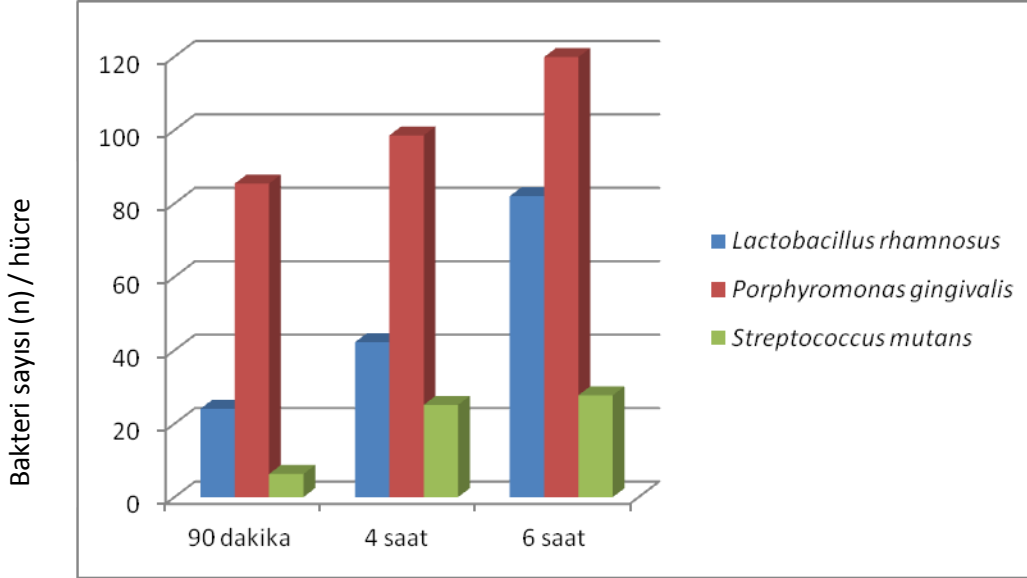


Şekil 4.1. Zamana göre bakterilerin tek başlarına insan gingival fibroblast hücrelerine tutunma kapasiteleri

4.3. Bakterilerin Hücelere Adezyon Kapasitelerinin Karşılaştırılması

İnsan gingival fibroblast hücrelerine tutunan *L.rhamnosus*, *P.gingivalis* ve *S.mutans* sayılarının ortalaması daha önce Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Bulgulara göre, bakterilerin adezyon kapasitelerinin birbirlerine göre farklı inkübasyon süreleri sonunda artış gösterdiği saptanmıştır. *P.gingivalis*’in test edilen her 3 zaman diliminde hücelere, diğer bakterilerden daha çok tutunabildiği saptanmıştır. Test edilen bakterilerin adezyon kapasitelerindeki farklılıklar Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Bakterilerin adezyon kapasitelerinin karşılaştırılması

L.rhamnosus suşunun, *P.gingivalis* ve *S.mutans* suşlarının insan gingival fibroblast hücreleri üzerine tutunma yeteneklerini etkileyip etkilemediğini incelemek amacıyla 90 dakika, 4 saat ve 6 saatlik inkübasyon sürelerinde hücre kültürü ortamına *L.rhamnosus-S.mutans* ve *L.rhamnosus-P.gingivalis* suşları bir arada konularak hücre yüzeyine tutunan bakteri sayıları rastgele seçilen 40 hücrede sayılmış ve bulunan değerler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *L.rhamnosus*'un *P.gingivalis* ve *S.mutans*'ın insan gingival fibroblast hücrelerine farklı inkübasyon sürelerinde tutunma kapasitelerine etkisi

Bakteri	Tanımlayıcı İstatistikler	90 DAKİKA	4 SAAT	6 SAAT	P
AB-A	Ortalama (St.Sapma)	5,43 (3,915)	10,18 (6,08)	10,58 (4,607)	0,000*
	Ortanca (IQR)	5 (7)	11 (10)	10 (7)	
AB-B	Ortalama (St.Sapma)	19,3 (11,2)	49,83 (63,584)	18,9 (8,875)	0,001*
	Ortanca (IQR)	16 (17)	28,5 (32)	18 (11)	
BC-B	Ortalama (St.Sapma)	15,8 (7,733)	18,13 (12,714)	12,7 (7,297)	0,141
	Ortanca (IQR)	16,5 (10)	15 (14)	12 (8)	
BC-C	Ortalama (St.Sapma)	48,98 (36,402)	85,55 (56,275)	8,53 (13,115)	0,000*
	Ortanca (IQR)	50 (53)	75 (68)	5 (9)	

A: *Streptococcus mutans*, B: *Lactobacillus rhamnosus*, C: *Porphyromonas gingivalis*

AB-A: *L.rhamnosus* ve *S.mutans* birlikteyken sayılan *S.mutans* sayısı

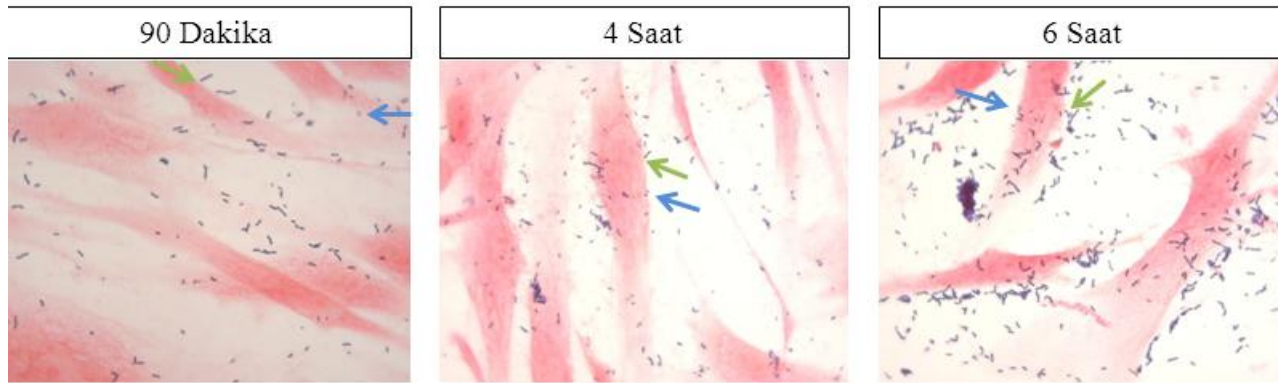
AB-B: *L.rhamnosus* ve *S.mutans* birlikteyken sayılan *L.rhamnosus* sayısı

BC-B: *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *L.rhamnosus* sayısı

BC-C: *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *P.gingivalis* sayısı

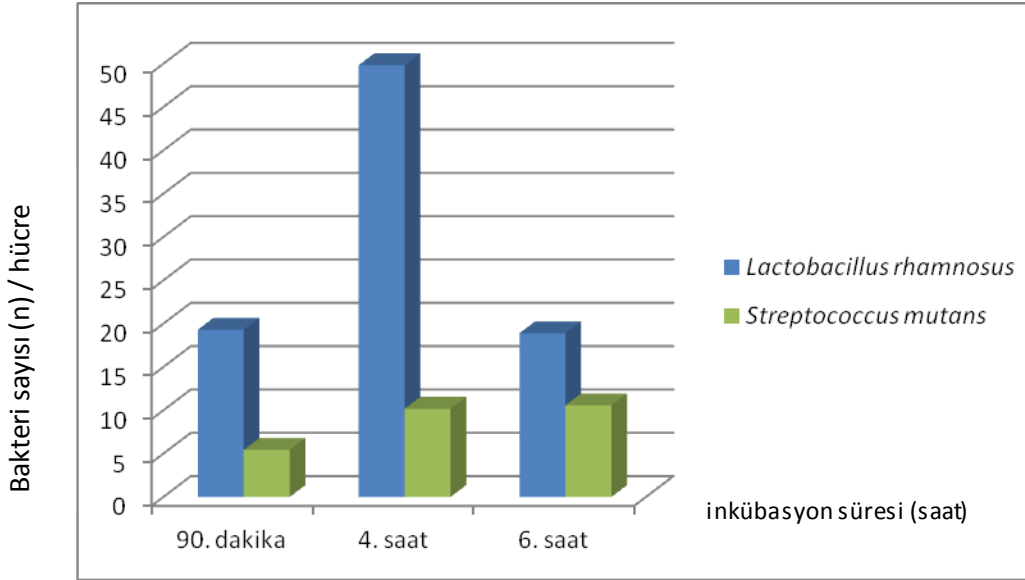
*: İstatistiksel olarak anlamlı değerler

L.rhamnosus suşunun *S.mutans* bakterisinin insan gingival fibroblast hücrelerine adezyon yeteneğine bir etkisi olup olmadığı ve adezyon yeteneğini inhibe edip etmediği incelenmiştir (Resim 4.6).



Resim 4.6. *S.mutans*'ın *L.rhamnosus* varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (yeşil ok: *L.rhamnosus*, mavi ok: *S.mutans*) (Işık mikroskobu, 100x)

L.rhamnosus ve *S.mutans* aynı hücre kültürü ortamına konulduklarında *L.rhamnosus*'un ortamda *S.mutans*'a göre daha baskın bulunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *L.rhamnosus* suşu varlığında *S.mutans* suşunun insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi

S.mutans bakterisinin *L.rhamnosus* bakterisi ile etkileşimi zamana göre incelendi ve sonuçlar çizelge 4.3'teki gibidir.

Çizelge 4.3. Farklı zaman aralıklarında *L.rhamnosus*'un, *S.mutans*'ın fibroblastlara tutunması üzerine etkisi

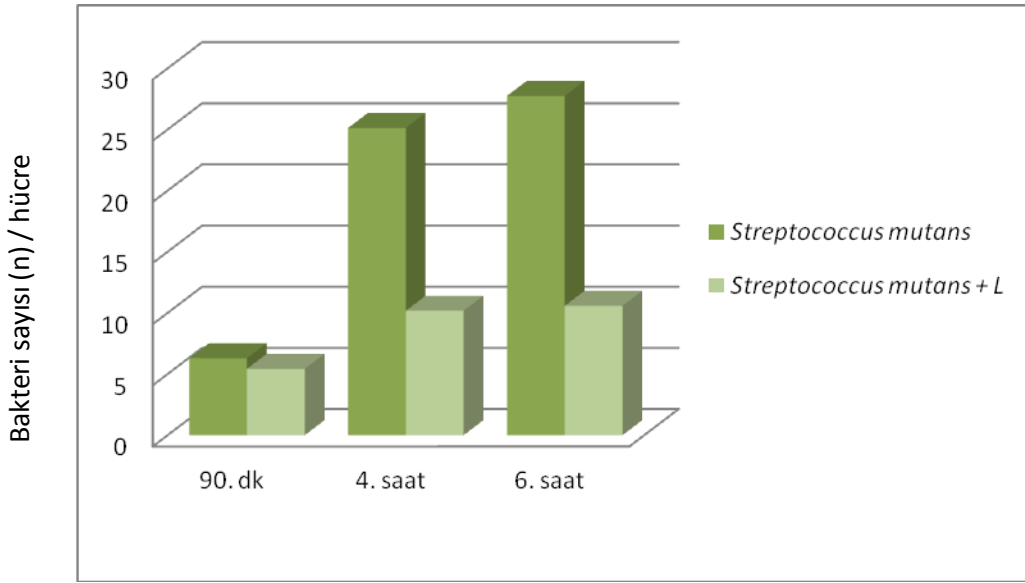
Tanımlayıcı İstatistikler		90 DAKİKA	P	4 SAAT	P	6 SAAT	P
A	Ortalama (St.Sapma)	6,3 (4,968)	0,575	25,13 (11,332)	0,000*	27,75 (16,487)	0,000*
	Ortanca (IQR)	5,5 (8)		24,5 (21)		22,5 (22)	
AB-A	Ortalama (St.Sapma)	5,43 (3,915)		10,18 (6,08)		10,58 (4,607)	
	Ortanca (IQR)	5 (7)		11 (10)		10 (7)	

A: *Streptococcus mutans*, B: *Lactobacillus rhamnosus*, AB-A: *L.rhamnosus* ve *S.mutans* birlikteyken sayılan *S.mutans* sayısı

*: İstatistiksel olarak anlamlı değer

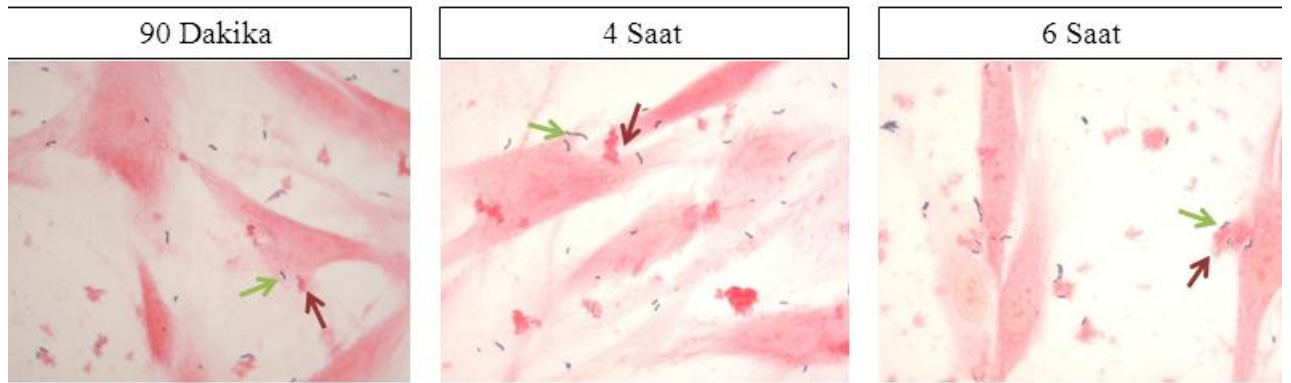
Doksan dakikada *S.mutans*'ın tek başına iken hücrede bulunma sayısı, *S.mutans*'ın *L.rhamnosus* ile birlikte bulunma sayısından farklı bulunmamıştır. Bu durumda *L.rhamnosus*'un *S.mutans* sayısını 90. dakikaya kadar etkili bir şekilde değiştirmedeği görülmüştür. 4. saat sonunda *S.mutans*'ın *L.rhamnosus* varlığında hücrelere tutunmasının istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde azaldığı belirlenmiştir. Bu durumda *L.rhamnosus* bakterisinin hücrede bulunması *S.mutans* bakteri sayısını 4. saatte etkilemiş ve *S.mutans*

bakteri sayısı istatistiksel olarak azalmıştır ($p=0,000 < \alpha=0,05$). Altıncı saat sonunda *S.mutans*'ın hücrelere tutunma sayısının azaldığı görülmüştür. *L.rhamnosus* varlığında *S.mutans*'ın hücrelere tutunma oranlarının istatistiksel anlamda azaldığı belirlenmiştir ($p=0,000 < \alpha=0,05$).



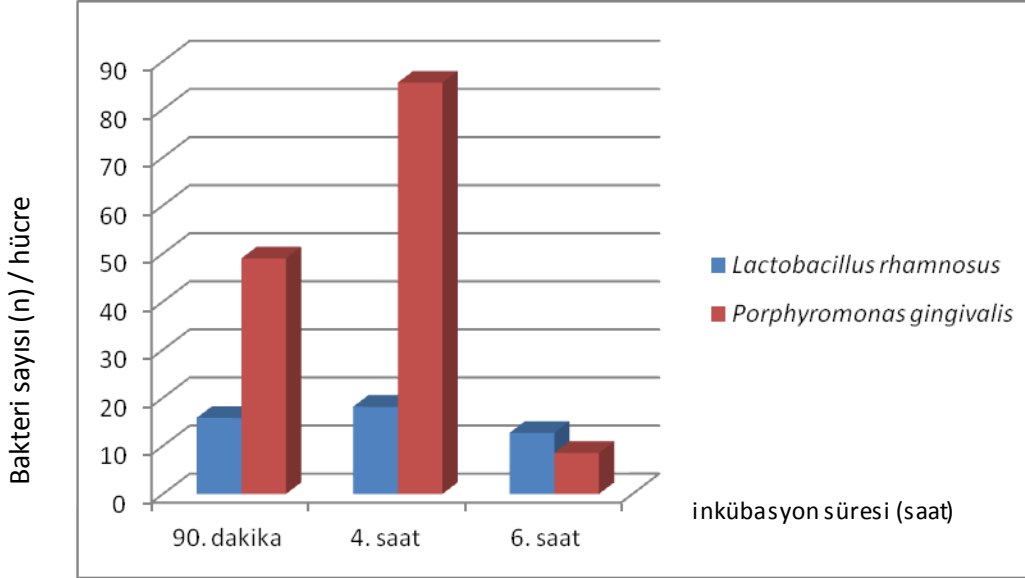
Şekil 4.4. *S.mutans* bakterisinin *L.rhamnosus* varlığında adezyon kapasitesindeki değişimin gösterilmesi

L.rhamnosus suşunun, *P.gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyon yeteneğine bir etkisi olup olmadığı ve adezyon yeteneğini inhibe edip etmediği incelenmiştir (Resim 4.7).



Resim 4.7. *P.gingivalis*'in *L.rhamnosus* varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (yeşil ok: *L.rhamnosus*, kırmızı ok: *P.gingivalis*) (Işık mikroskobu, 100x)

L.rhamnosus ve *P.gingivalis* aynı hücre kültürü ortamına konulduklarında *P.gingivalis*'in 90. dakika ve 4. saatte ortamda daha baskın bulunduğu fakat *L.rhamnosus*'un ise 6. saatte ortamda daha baskın bulunduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5. *L.rhamnosus* suşu varlığında *P.gingivalis* suşunun insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi

Çizelge 4.4. Farklı zamanlarda *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis*'in birlikte değişimi

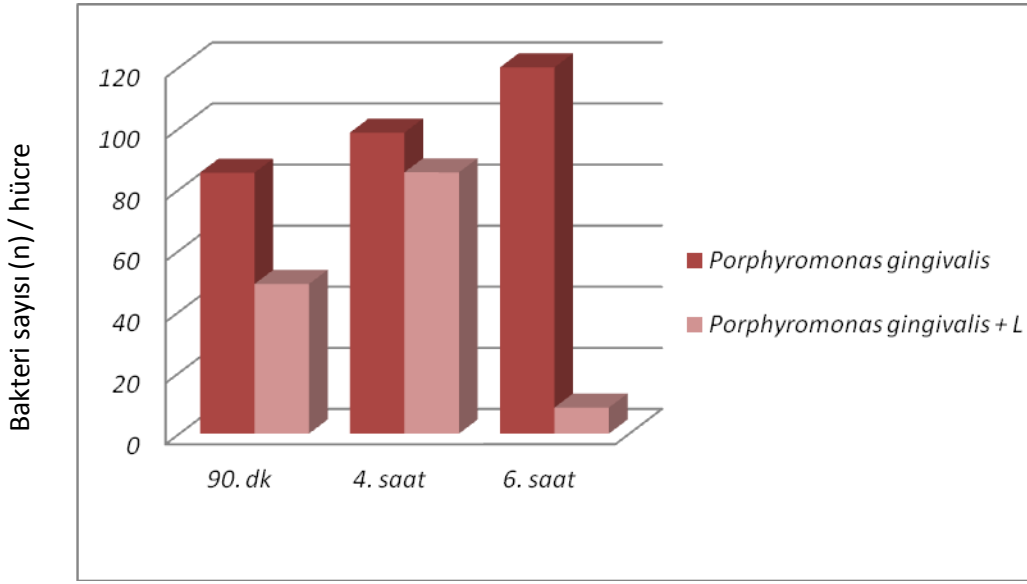
	Tanımlayıcı İstatistikler	90 DAKİKA	P	4 SAAT	P	6 SAAT	P
C	Ortalama (St.Sapma)	24,05 (18,003)	0,002*	42,2 (17,667)	0,210	81,98 (52,903)	0,000*
	Ortanca (IQR)	21 (25)		39,5 (25)		77,5 (69)	
BC-C	Ortalama (St.Sapma)	48,98 (36,402)		85,55 (56,275)		8,53 (13,115)	
	Ortanca (IQR)	50 (53)		75 (68)		5 (9)	

B: *Lactobacillus rhamnosus*, **C:** *Porphyromonas gingivalis* **BC-C:** *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *P.gingivalis* sayısı

*: İstatistiksel olarak anlamlı değer

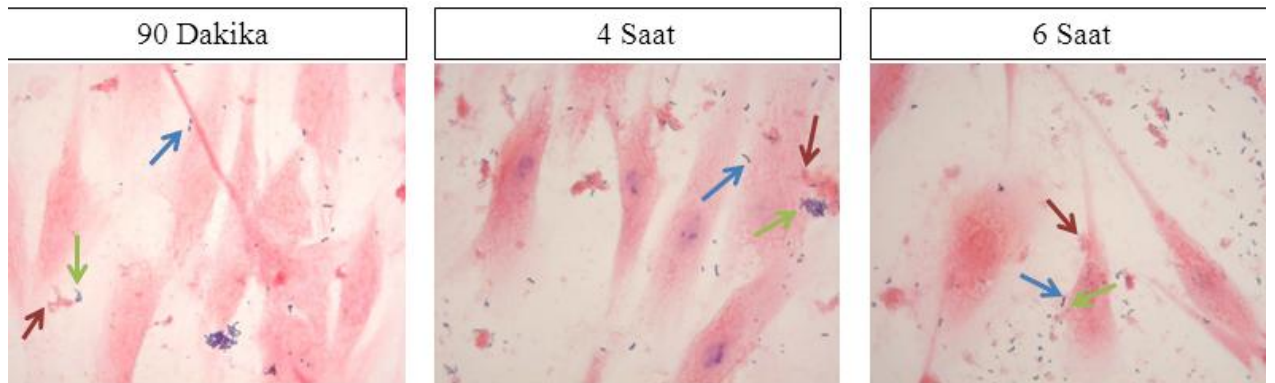
P.gingivalis bakterisinin 90. dakikada hücrede bulunma sayısı *L.rhamnosus* varlığında *P.gingivalis* bakterisinin bulunma sayısından farklıdır. Bu durumda *P.gingivalis* bakterisi 90. dakikada *L.rhamnosus* bakterisi bulunmasına rağmen istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p=0,002 < \alpha=0,05$). Dördüncü saatte *P.gingivalis* bakterisinin hücrede

bulunma sayısı *L.rhamnosus* varlığında *P.gingivalis* bakterisinin bulunma sayısından farklı değildir. Bu sonuca göre, 4. saatte *L.rhamnosus* bakterisinin hücrede bulunması *P.gingivalis* bakteri sayısını etkilememiş ve istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p=0,210 > \alpha=0,05$). Altıncı saatte *P.gingivalis* bakterisinin hücrede bulunma sayısı *L.rhamnosus* varlığında *P.gingivalis* bakterisinin bulunma sayısından farklıdır. Bu durumda *L.rhamnosus* bakterisinin hücrede bulunması *P.gingivalis* sayısını etkilemiş ve *P.gingivalis* sayısını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmıştır ($p=0,000 < \alpha=0,05$).



Şekil 4.6. *P.gingivalis* bakterisinin *L.rhamnosus* varlığında adezyon kapasitesindeki değişimin gösterilmesi

Çalışmada, *L.rhamnosus*, *P.gingivalis* ve *S.mutans* bakterileri aynı hücre kültür ortamına konularak birbirleri arasındaki ilişki incelenmiştir (Resim 4.8).



Resim 4.8. *P.gingivalis* ve *S.mutans*'ın *L.rhamnosus* varlığında insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonu (yeşil ok: *L.rhamnosus*, kırmızı ok: *P.gingivalis*, mavi ok: *S.mutans*) (Işık mikroskobu, 100x)

İnsan gingival fibroblast hücrelerine 90 dakika, 4 saat ve 6 saatlik inkübasyon süreleri sonunda hücre kültürü ortamında bakteriler bir aradayken adezyon yeteneklerindeki değişimin değerlendirilmesi için randomize sayılan hücre yüzeyine tutunmuş bakteri sayılarının ortalaması Çizelge 4.5’de gösterilmiştir.

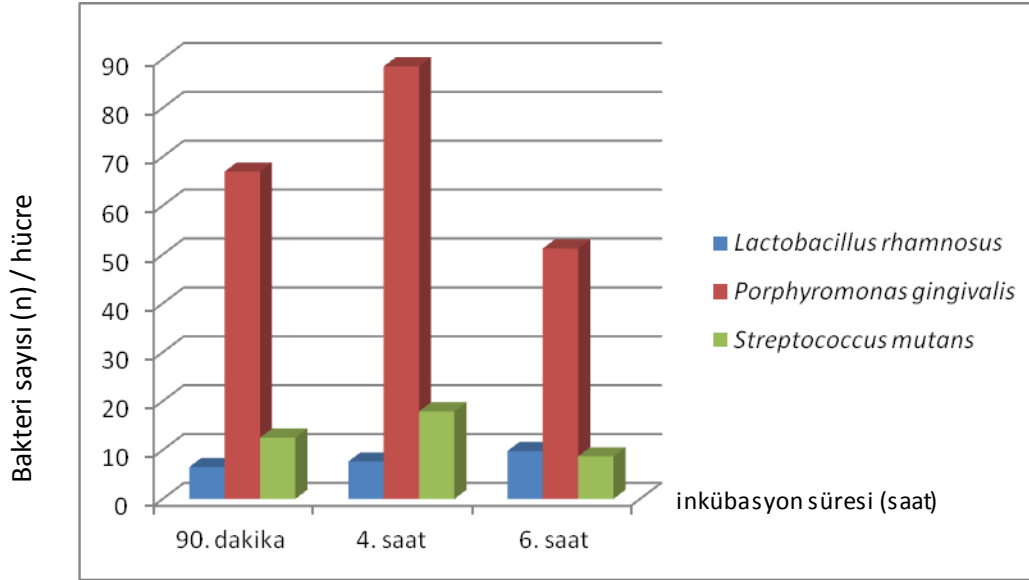
Çizelge 4.5. *L.rhamnosus*, *S.mutans* ve *P.gingivalis*’in aynı hücre kültürü ortamındayken hücrelere adezyonları

Bakteri	Tanımlayıcı İstatistikler	90 DAKİKA	4 SAAT	6 SAAT	P
ABC-A	Ortalama (St.Sapma)	12,53 (11,6)	17,9 (18,14)	8,7 (9,174)	0,230
	Ortanca (IQR)	10 (18)	11,5 (18)	6 (9)	
ABC-B	Ortalama (St.Sapma)	6,53 (4,674)	7,65 (4,054)	9,8 (6,026)	0,103
	Ortanca (IQR)	5,5 (6)	8 (6)	9 (10)	
ABC-C	Ortalama (St.Sapma)	66,98 (60,259)	88,5 (62,473)	51,23 (26,037)	0,018*
	Ortanca (IQR)	55 (84)	75 (60)	48 (40)	

A: *Streptococcus mutans*, **B:** *Lactobacillus rhamnosus*, **C:** *Porphyromonas gingivalis*, **ABC-A:** *L.rhamnosus*, *S.mutans* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *S.mutans* sayısı, **ABC-B:** *L.rhamnosus*, *S.mutans* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *L.rhamnosus* sayısı, **ABC-C:** *L.rhamnosus*, *S.mutans* ve *P.gingivalis* birlikteyken sayılan *P.gingivalis* sayısı

*: İstatistiksel olarak anlamlı değerler

Sonuçlara göre, *S.mutans* ve *L.rhamnosus*’un adezyon kapasitelerinin 90 dakika, 4 saat ve 6 saat süren inkübasyon sürelerinde sabit kaldığı görülmüş, fakat *P.gingivalis*’in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyonunun 90 dakika ve 4 saat arasında arttığı, 4 saat ve 6 saatlik inkübasyon sürelerinde ise azaldığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7. *L.rhamnosus* suşu varlığında *P.gingivalis* ve *S.mutans* suşlarının insan gingival fibroblast hücreleri üzerine süreye bağlı adezyon kapasitesi

5. TARTIŞMA

Dişeti hastalıkları ve diş çürüklerinin oluşumunda ağız bakterileri önemli rol oynamaktadırlar. Birbiri ile etkileşerek hastalık oluşumunda iş birliği yaparak dişeti hastalıklarının oluşumunu hızlandırmaktadırlar. Ayrıca oluşan bakteriyel birikim (dental plak), destek, kemik ve bağ dokularında enflamatuvar cevap oluşumunu da artırmaktadır.

Periodontitisin başlangıç ve ilerlemesinde esas olan dişler üzerindeki bakteri biyofilmidir. Bu organize yapı, mikroorganizmalar ve metabolitleri tarafından oluşturulmuş yoğun, dinamik bir tabakadır. Bu tabakada ki bakteriyel kolonizasyonun büyük bir kısmını *S. mutans* oluşturmaktadır [83]. *S. mutans*, metabolizma faaliyetleri sonunda polisakkaritleri oluşturur. Bu polisakkaritler yardımıyla oral yüzeylere daha kolay tutunabilir.

Dental ve periodontal hastalıkların oluşmasında oldukça önem taşıyan oral bakterilerin ağızdan tam olarak eradikasyonunun mümkün olmaması ve antibakteriyel tedavi amaçlı kullanılan maddelerin her zaman başarılı olamamaları ağız hastalıklarında başka alternatif tedavi yaklaşımlarının gündeme gelmesini sağlamıştır. Son yıllarda vücutta özellikle gastrointestinal hastalıklarda çok kullanılmaya başlanan probiyotik etkili ürünler ile ilgili çok sayıda olumlu sonuç bildirilmektedir. Fakat probiyotik ürünlerin dental ve periodontal hastalıklarda kullanımı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Yapılan araştırmalara göre, oral mikroflorada bulunan probiyotik bakteriler, dental plağın karmaşık yapısında, biyofilm tabakasının oluşumunda ve gelişiminde konak lehine etki gösterebilmektedir. Probiyotikler, dental plağın yapısında bulunan patojen bakterileri inhibe eden kimyasal maddeler üreterek bakterilerin çoğalmalarını engelleyebilmektedirler [84].

Montalto ve arkadaşları [85], laktobasil suşu içeren probiyotiklerin kapsül veya sıvı formda alınımının *S. mutans* üzerinde engelleyici bir etki gösterip göstermediğini incelemişlerdir. Laktobasil suşu içeren probiyotiklerin kapsül veya sıvı formda kullanılmasının ağızdaki *S. mutans* miktarına etkili olmadığını, fakat hem sıvı hem de kapsül formundaki laktobasil preparatı uygulamasının tükürükteki laktobasil miktarında anlamlı derecede artışa sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Tsubura ve arkadaşları [86] yapmış oldukları bir çalışmada, periodontitis bulunan hastalarda *Bacillus subtilis* içeren probiyotikli bir ağız gargarası ile benzalkonyum klorür

içeren bir ağız gargarasının periodontal dokularda kolonize olan oral bakteriler üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda *Bacillus subtilis* içeren probiyotikli ağız gargarasının benzalkonyum klorür içeren ağız gargarasına oranla anlamlı derecede periodontal patojenleri azalttığı belirlenmiştir.

Zahradnik ve arkadaşları [87], probiyotikli bir ağız gargarası olan ProBiora3®'nın 4 hafta boyunca günde iki defa kullanımının *S.mutans* ve ağız içerisinde bilinen çeşitli periodontal patojenler üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda ProBiora3®'nın subgingival plak içerisindeki patojenlerin seviyesi ve *S.mutans* seviyesi üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca araştırmacılar probiyotikli ağız gargarasının günlük kullanımının diş sağlığı ve periodontal sağlık açısından uygun ve güvenli olduğunu da belirtmişlerdir.

Noordin ve Kamin [88] çalışmalarında, probiyotikli gargaraların plak birikimi ve gingivitis üzerine belirgin inhibitör etki sağladığını belirlemişlerdir. Ayrıca probiyotikli ağız gargaralarının plak formasyonunu önledikleri ve gingivitis azaltmada potansiyel bir terapötik değere sahip oldukları sonucuna varmışlardır.

Hasslöf ve arkadaşları [89], laktobasil suşu içeren probiyotiklerin oral *S.mutans* ve *C.albicans*'ların üremesi üzerine etkilerini inceledikleri in vitro çalışmaları sonucunda, bu probiyotiklerin kandida üremesini engellediği fakat bu engelleyici etkinin *S.mutans* üzerindeki etkiden daha zayıf olduğunu belirlemişlerdir.

Kotan ve arkadaşları [90] yaptıkları bir çalışma sonucunda, *Streptococcus salivarius* K12 probiyotik suşunu içeren ağız gargarasının (KForce, Avustralya) *S.mutans*'ın adezyonunda istatistiksel anlamda bir azalmaya neden olmadığını belirlemişlerdir.

Bu çalışmada da benzer olarak, probiyotik bir suş olan *L.rhamnosus*'un, *S.mutans*'ın gingival fibroblast hücrelere adezyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmadığı görülmüştür. Çalışmada varılan bu sonuç diğer araştırmacıların sonuçları ile tutarlılık göstermiştir.

Biyofilimde baskın olarak Gram pozitif fakültatif anaerob bakteriler bulunmaktadır. Düzenli olarak biyofilm tabakasının giderilmemesi durumunda ekolojik değişikliklere bağlı olarak biyofilm yapısında Gram negatif türlerin (*P.gingivalis* gibi) sayısı artmaktadır. Bu Gram negatif bakterilerin çoğu periodontal patojenler olarak kabul edilirler.

Biyofilm içindeki bir bakterinin patojen olabilmesi ve periodontitis oluşturabilmesi için dokulara yapışabilme özelliğine sahip olması gerekmektedir. Her bakteri gibi *P.gingivalis*'in de konakta hastalık yapabilmesi için ilk önce konak dokuya tutunması gerekmektedir. *P.gingivalis* dişeti epitel hücrelerine fimbriyaları aracılığı ile tutunur ve hücrenin içerisine girer [68]. *P.gingivalis*'in çeşitli konak hücrelerine invazyonu ve epitel hücrelerinde çoğalması daha önce in vitro olarak yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir [65]. Ancak *P.gingivalis*, invazyon yeteneği yüksek bir patojen olduğu için sadece epitel hücresine tutunmakla kalmayıp bağ dokusunun çoğunluğunu oluşturan fibroblast hücrelerini de etkileyebildiği ve hatta fibroblast hücrelerine de internalize olabildiği bildirilmiştir [66].

Lamont ve arkadaşları [79], fimbriyalı bir *P.gingivalis* suşunun inkübasyondan en fazla 90 dakika sonra gingival epitel hücrelerine invaze olabildiğini göstermişlerdir.

Palm ve arkadaşları [66] ise, *P.gingivalis*' in 6 saatte etkin bir şekilde hücrelere tutunduğunu ve fibroblastlara invaze olduğunu belirlemişlerdir.

Bu çalışmada optimizasyon için denenen inkübasyon sürelerine bakıldığında diğer araştırmacıların çalışma sonuçlarına benzer olarak 1 saat sonunda *P.gingivalis*'in adezyonunun çok fazla olmadığı, 90 dakika, 4 saat ve 6 saat sonunda adezyonun giderek arttığı, 6. saatten sonra ise tutunan *P.gingivalis* sayısının gittikçe azaldığı görülmüştür. Bu bulguya göre *P.gingivalis*' in hücrelere adezyonu için 90 dakikanın yeterli olduğu, 6 saatlik inkübasyon sonunda ise hücre yüzeyinde tutunmuş bakteri sayısının azaldığı, ancak gingival fibroblast hücrelerinin içine girmiş olabileceği düşünülmüştür.

P.gingivalis periodontal hastalık oluşumunda ve kronikleşmesinde çok etkili bir patojendir. Bunun nedeni, bakterinin invazyon yeteneğine bağlı olarak konak immün cevabından ve antibakteriyel tedavilerden kaçabiliyor olmasıdır. Sistemik antibiyotik kullanımı sonrası hastalardan toplanan epitel hücrelerinde *P.gingivalis*' in hücre içindeki varlığı gösterilmiştir. Bakterinin hücre içinde bulunması nedeniyle klasik antibiyotik tedavisinin *P.gingivalis* enfeksiyonları için etkili olamayacağı belirtilmiştir [65].

Doksan dakikalık inkübasyonun ardından bakterilerin tutunmaları tek başlarına bulunduklarda koşullarda değerlendirilmiştir. Tutunmalar değerlendirildiğinde *L.rhamnosus* ve *S.mutans*'ın hemen hemen aynı miktarlarda insan gingival fibroblastlarına tutunabildiği ve adezyon kapasitelerinin çok yüksek olmadığı gözlemlenmiştir. Buna

karşılık *P.gingivalis*'in bu süredeki adezyon kapasitesi bu bakterilere göre daha yüksek bulunmuştur. Altı saatlik inkübasyon sonunda *P.gingivalis*'in daha yüksek kapasitede tutunabildiği, *L.rhamnosus* ve *S.mutans*'ın daha düşük kapasitede tutunabildikleri belirlenmiştir. *P.gingivalis*'in hücrelere adezyon kapasitesini artıran en önemli virülans faktörü sahip olduğu adezinleridir [66,91,92,93,94,95].

Hem Marquis ve arkadaşları [96] hem de Aruni ve arkadaşları [91] yaptıkları çalışmalar sonucunda, *P.gingivalis*'in ağız epiteli hücrelerine adezyonu ve invazyonu için 90 dakikanın yeterli olduğunu göstermişlerdir.

Kadowaki ve arkadaşları [97] çalışmalarında, *P.gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine 6 saatte etkin bir şekilde tutunduğunu gözlemlemiştir. Palm ve arkadaşları [66] ise çalışmalarında, *P.gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine 1 saatte etkin bir şekilde tutunduğunu, 6 saatte ise invaze olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada da benzer olarak *P.gingivalis*'in 90 dakikalık inkübasyondan sonra etkin olarak insan gingival fibroblast hücrelerine tutunduğu belirlenmiştir.

S.mutans ve *L.rhamnosus*'un hücrelere 1.5, 4 ve 6 saat sonunda adezyon kapasiteleri değerlendirilmiş ve inkübasyon süresi arttıkça tutunma sayılarının istatistiksel anlamda arttığı belirlenmiştir. Buna karşılık, *P.gingivalis*'in inkübasyon süresine göre adezyon kapasitesinde istatistiksel anlamda bir fark bulunmamıştır.

İnkübasyon süresi arttıkça, *S.mutans* ve *L.rhamnosus*'un hücrelere tutunma sayılarında da artış belirlenmiştir. Buna karşılık, *P.gingivalis*'in inkübasyon süresine bağlı olarak tutunma sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmamıştır. Bunun nedeni, *P.gingivalis*'in belli bir inkübasyon süresinden sonra sahip olduğu enzimler yardımıyla hücre içine girmesinden dolayı tutunan bakteri sayılarında azalma olması olabilir. Bu çalışmada bakterilerin hücrelere adezyon yetenekleri incelenmiştir. Bu nedenle hücre içine giren *P.gingivalis* sayılamadığından bakteri adezyonunda artış görülmemiş olabileceği kanaatine varılmıştır.

L.rhamnosus ve *P.gingivalis* birlikte hücrelerle inkübe edildiklerinde, hücrelere tutunan *L.rhamnosus* sayıları zamana göre değişmemiştir. *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis* birlikte hücrelerle inkübe edildiklerinde tutunan *P.gingivalis* sayısının 90. dakikadan 4. saate kadar arttığı, 6. saatte ise hem 90. dakikaya göre hem de 4. saate göre önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. Bu azalışın nedeni *L.rhamnosus*'un hücre yüzeyine etkin

olarak adezyonunun ancak 6 saatlik inkübasyon sonunda gerçekleşmesi ile *P.gingivalis*'in adezyonunu engellemiş olmasıdır. Bunun yanı sıra 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda *P.gingivalis*'in hücre içine girmesi de olabilir. Palm ve arkadaşları [66] da çalışmalarında, *P.gingivalis*'in 6 saatte etkin bir şekilde hücrelere tutunduğunu ve fibroblastlara invaze olduğunu belirlemişlerdir.

S.mutans ve *L.rhamnosus*, insan gingival fibroblast hücreleri ile birlikte inkübe edildikleri zaman hücrelere tutunan *S.mutans* sayısının 90. dakikadan 4. saate kadar arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. *S.mutans* ve *L.rhamnosus*, hücre kültüründe birlikte iken tutunan *L.rhamnosus* sayısının 90. dakikadan 4. saate kadar anlamlı bir şekilde arttığı, 4. saatten 6. saate kadar ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bunun nedeni, *L.rhamnosus*'un hücrelere etkin tutunmasını 6.saatte gerçekleştirirken, *S.mutans*'ın şekerleri kullanarak polisakkaritleri üretmesi ve oral yüzeylere adezyon yeteneğini artırması nedeni ile 4.saatte hücrelere etkin bir şekilde tutunabilmesi olabilir [84]. Bu çalışmada hücre kültürü ile birlikte inkübe edilen *L.rhamnosus* ve *S.mutans*'ın adezyon özellikleri mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, 6.saat sonunda *L.rhamnosus*'un konak hücreden ziyade *S.mutans*'a tutundukları ve koagregasyon yaptıkları belirlenmiştir.

S.mutans, *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis* bakterileri aynı anda aynı hücre kültüründe iken, *S.mutans*'ın hücrelere tutunma sayısının geçen inkübasyon süresine göre değişmediği, sabit kaldığı belirlenmiştir. *L.rhamnosus* sayısının da geçen zamana göre değişmediği görülmüştür. *P.gingivalis*'in tutunma sayısının 90. dakikadan 4. saate kadar arttığı, 6. saatte ise 90. dakikadaki sayıya düştüğü ve bu sayılardaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, oral ekosistemde birlikte bulunan bakterilerin birbirleri ile oral hücreler üzerindeki etki ve dinamiklerini farklılaştıracak şekilde etkileştiklerini göstermektedir.

S.mutans, *L.rhamnosus* ve *P.gingivalis*, insan gingival fibroblast hücre kültürü ile birlikte inkübe edildiklerinde, *L.rhamnosus*'un hücrelere tutunma sayısının, tek başına iken tutunma sayısından daha düşük olduğu görülmüştür. Diğer bakteriler daha erken tutunduğu için *L.rhamnosus*'un hücre yüzeyine tutunmak yerine koagregasyon yaparak *S.mutans* suşlarına tutunduğu izlenmiştir. Aynı zamanda, hücrelere tutunan *P.gingivalis* suşlarının etrafında da kümeleştikleri görülmüştür.

Hawrelak ve arkadaşları [76], antibiyotik verilen hastaların bir kısmına *L.rhamnosus* preperatı vererek antibiyotiğe bağlı ishale yakalanma sıklığına bu probiyotiğin etkisini incelemişlerdir. Bu konuda yaptıkları 6 farklı çalışmada *L.rhamnosus* verilen hastalarda genel olarak plasebo grubuna göre antibiyotik-ilişkili diyare insidansının azaldığını belirlemişlerdir. Bu çalışmalardan dördünde *L.rhamnosus*'un antibiyotik-ilişkili diyare insidansını anlamlı olarak azalttığını saptamışlardır. Bir çalışmada *L.rhamnosus* verilen hastalarda görülen diyarenin devam ettiği gün sayısını azalttığını belirlemişlerdir.

L.rhamnosus'un gastrointestinal sistem hastalıklarına karşı kullanıldığını gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen, ağız bakterilerine karşı kullanıldığını gösteren kapsamlı bir çalışma bulunmamıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada probiyotik bir bakteri olan *Lactobacillus rhamnosus*'un, ağız florasında kommensal olarak bulunan *Streptococcus mutans* ile patojen bir bakteri olan *Porphyromonas gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyon kapasiteleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bakterilerin adezyon yeteneklerini ve *Lactobacillus rhamnosus*'un buna olumlu bir etkisinin olup olmadığını değerlendirdiğimiz çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre;

1. *Lactobacillus rhamnosus*'un diş çürüklerine sebep olan bakterilerin başında gelen *Streptococcus mutans*'ın insan gingival fibroblast hücrelerine adezyon yeteneğini etkilemediği görülmüştür. Bu sebeple probiyotik bir bakteri olan *Lactobacillus rhamnosus*'un karyojeniteyi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltıcı bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

2. *Lactobacillus rhamnosus*'un kronik periodontitis etyolojisinden sorumlu tutulan bakteriler arasında yer alan anaerob patojen bir bakteri olan *Porphyromonas gingivalis*'in insan gingival fibroblast hücrelerine adezyon yeteneğini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Buna göre, *L.rhamnosus*'un kronik periodontitis etkenlerinden biri olan *P.gingivalis*'e karşı inhibe edici bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu probiyotik bakterinin klinikte faydalanılacak ağız içinde kullanılan bir ürün haline getirilmesi için ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bakterinin profilaktik ve tedavi amaçlı kullanılan bir ürün olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Armitage, G. C. (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases, *Periodontology* 2000, 7(1), 39-53.
2. Loesche, W. J. and Grossman, N. S. (2001). Periodontal Disease as a Specific, albeit Chronic, Infection: Diagnosis and Treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 727-752.
3. Kılıç, N. (1995). İlerlemiş periodontal hastalığı olan kişilerde periodontal tedavinin dişeti cep sıvısı ve serum aspartat ve amino transferaz enzim aktivite düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
4. Cobb, C. M., Williams, K. B. and Gerkovitch, M. M.. (2009). Is the prevalence of periodontitis in the USA in decline?. *Periodontology* 2000, 50(1), 13-24.
5. Marakoğlu, İ. (1996). Periodontitisli bireylerde non-steroidal antienflamatuar ilaç (Tenoxicam)'ın dişeti cep sıvısı beta-glukuronidaz ve laktat dehidrogenaz aktivitelerine etkisi. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
6. Albandar, J. M. and Tinoco, E. M. B. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontology* 2000. 29(1), 153-176.
7. Jacob, S. (2012). Global Prevalence of Periodontitis: A Literature Review. *Periodontology*, 3(1), 26-30.
8. Külekçi, G. ve Gökbuget, A. (2009). Ağız mikroflorasının genel sağlığa etkisi. *ANKEM Dergisi*, 23(3), 137-145.
9. Ustaçelebi, Ş. (Editör). (1999). *Temel ve klinik mikrobiyoloji*, Ankara: Güneş kitabevi.
10. Meier, R., Hauser-Gerspach, I., Lüthy, H. and Meyer, J. (2008). Adhesion of oral streptococci to all-ceramics dental restorative materials in vitro. *Journal of Materials Science; Materials in Medicine*, 19(10), 3249-3253.
11. Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal disease and conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1-6.
12. The American Academy of Periodontology. (1999). The pathogenesis of periodontal diseases (position paper). *Journal of Periodontology*, 70(4), 32-38.
13. Pan, Z. (2009). Tıp II diyabeti olan kronik periodontitisli hastaların dişeti dokusunda ve dişeti oluşu sıvısındaki nitrik oksit seviyelerinin incelenmesi. Doktora tezi, T.C. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara.
14. Wolf, H. F. and Rateitschak, K. H. (2004). Plaque Bacteria-Complexes. In *Color Atlas of Dental Medicine*. Thieme, 7,37.

15. Carranza, F.A. (1996). Glickman's Clinical periodontology, Philadelphia: WB Saunders Company (9th edition), 66.
16. Drake, D.R., Paul, J. and Keller, J.C. (1999). Primary bacterial colonization of implant surfaces. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*, 14(2), 226-232.
17. Scarano, A., Piattelli, M., Vrespa, G., Caputi, S. and Piattelli, A. (2003). Bacterial adhesion on titanium nitride-coated and uncoated implants: an in vivo human study. *Journal of Oral Implantology*, 29(2), 80-85.
18. Wu-Yuan, C. D., Eganhouse, K. J., Keller, J.C. and Walters, K.S. (1995). Oral bacterial attachment to titanium surfaces: a scanning electron microscopy study. *Journal of Oral Implantology*, 21(3), 207-213.
19. Tran, S.D. and Rudney, J. D. (1996). Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2674-2678.
20. Bollen, C.M., Papaioanno, W., Van Eldere, J., Schepers, E., Quirynen, M. and Van Steenberghe, D. (1996). The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Oral Implants Research*, 7(3), 201-211.
21. Anerud, K. E., Robertson, P. B., Löe, H. Anerud, L. A., Boysen, H. M. R. and Patters, M. R. (1983). Periodontal disease in three young adult populations. *Journal of Periodontal Research*, 18, 655-668.
22. Tatakis, D. N. and Trombelli, L. (2004). Modulation of clinical expression of plaque induced gingivitis. I. Background review and rationale. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(4), 229-238.
23. Emrich, L. J., Shlossman, M. and Genco, R. J. (1991). Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Periodontology*, 62(2), 123-131.
24. Reddy, M. S. (2001). Osteoporosis and periodontitis: discussion, conclusions, and recommendations. *Annals of Periodontology*, 6(1), 197-208.
25. Sooriyamoorthy, M. and Gower, D. B. (1989). Hormonal influences on gingival tissue: relationship to periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 16(4), 201-208.
26. Hart, T. C. and Kornman, K. S. (1997). Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 14(1), 202-215.
27. Lamster, I. B., Grbic, J. T., Bucklan, R. S., Mitchell-Lewis, D., Reynolds, H. S. and Zambon, J. J. (1997). Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. *Oral Diseases*, 3(1), 141-148.
28. Gonzales, Y. M., Nardin, A., Grossi, S. G., Machtei, E. E., Genco, R. J. and Nardin, E. (1996). Serum cortisone levels, smoking, and periodontal attachment loss. *Journal of Dental Research*, 75(2), 796-802.

29. Nishida, M., Grossi, S. G., Dunford, R. G., Ho, A. W., Trevisan, M. And Genco, R. J. (2000). Calcium and the risk for periodontal disease. *Journal of Periodontology* 2000, 71(7), 1057-1066.
30. Vettore, M. V., Leao, A. T. T., Monteiro, A. M., Quintanilha, R. S. and Lamarca, G. A. (2003). The relationship of stres and anxiety with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(5), 394-402.
31. Lindhe, J., Karring, T. and Lang, N. P. (2003). Clinical periodontology and implant dentistry. Blackwell Munsgaard: a Blackwell Publishing Company (4th Edition), 198-208.
32. Mariotti, A. (1994). Sex Steroid Hormones and Cell Dynamics in the Periodontium. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 5(1), 27-53.
33. Mascarenhas, P., Gapski, R., Al-Shammari, K. and Wang, H-L. (2003). Influence of sex hormones on the periodontium. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 671–681.
34. Markou, E., Eleana, B., Lazaros, T. and Antonios, K. (2009). The Influence of Sex Steroid Hormones on Gingiva of Women. *The Open Dentistry Journal*, 3, 114-119.
35. Mariotti, A. (1999). Dental plaque-induced gingival diseases. *Annals of Periodontology*, 4(1), 7-19.
36. Holmstrup, P. (1999). Non-plaque-induced gingival lesions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 20-31.
37. Hintermann, E., Haake, S. K., Christen, U., Sharabi, A. and Quaranta, V. (2002). Discrete Proteolysis of Focal Contact and Adherens Junction Components in *Porphyromonas gingivalis*-Infected Oral Keratinocytes: a Strategy for Cell Adhesion and Migration Disabling. *Infection and Immunity*, 70(10), 5846–5856.
38. Torresyap, G., Haffajee, A. D., Uzel, N. G. and Socransky, S. S. (2003) Relationship between periodontal pocket sulfide levels and subgingival species. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(11), 1003–1010.
39. Kim, J. and Amar, S. (2006) Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology*, 94(1), 10–21.
40. Yılmaz, G. (2011). Periodontitisli bireylerde Ghrelin düzeylerinin belirlenmesi. Doktora tezi, T. C. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı, Isparta.
41. Bilder, L., Elimelech, R., Szwarcwort-Cohen, M., Kra-Oz, Z. and Machtei, E. E. (2013). The prevelance of human herpes viruses in the saliva of chronic periodontitis patients compared to oral health providers and healthy controls. *Archives of Virology*, 158(6), 1221-1226.

42. Slots, J., Sabeti, M. and Simon, J. H. (2003). Herpesviruses in periapical pathosis: An etiopathogenic relationship?. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 96(3), 327-331.
43. Smith, M., Seymour, G. J. and Cullinan, M. P. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 53(1), 45-54.
44. Page, R. C. and Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 34(3), 235-249.
45. Carranza, F. A. and Camargo, P. M. (2002). The Periodontal Pocket. In Newman, M. G., Takei, H. H. and Carranza, F. A. (Eds), *Carranza's Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 337-353.
46. Li, X., Kolltveit, K. M., Tronstad, L. and Olsen, I. (2000). Systemic Diseases Caused by Oral Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 547-558.
47. Dixon, D. R., Bainbridge, B. W. and Darveau, R. P. (2004). Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontology 2000*, 35(1), 53-74.
48. Pischon, N., Hagewald, S., Kunze, M., Heng, N., Christan, C., Kleber, B.-M., Müller, C. and Bernimoulin, J.-P. (2007). Influence of Periodontal Therapy on the Regulation of Soluble Cell Adhesion Molecule Expression in Aggressive Periodontitis Patients. *Journal of Periodontology*, 78(4), 683-690.
49. Bizzarro, S., Velden, U., Heggeler, J. M. A. G., Leivadaros, E., Hoek, F. J., Gerdes, V. E. A., Bakker, S. J. L., Gans, R. O. B., Cate, H. and Loos, B. G. (2007). Periodontitis is characterized by elevated PAI-1 activity. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(7), 574-580.
50. Mealey, B. L. and Rethman, M. P. (2003). Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dentistry Today*, 22(4), 107-113.
51. Seymour, G. J., Ford, P. J., Cullinan, M. P., Leishman, S. and Yamazaki, K. (2007). Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(4), 3-10.
52. Offenbacher, S., Beck, J. D., Moss, K., Mendoza, L., Paquette, D. W., Barrow, D. A., Couper, D. J., Stewart, D. D., Falkner, K. L., Graham, S. P., Grossi, S., Gunsolley, J. C., Madden, T., Maupome, G., Trevisa, Dyke, M. T. E. and Genco, R. J. (2009). Results From the Periodontitis and Vascular Events (PAVE) Study: A Pilot Multicentered, Randomized, Controlled Trial to Study Effects of Periodontal Therapy in a Secondary Prevention Model of Cardiovascular Disease. *Journal of Periodontology*, 80(2), 190-201.
53. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. and Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721-32.

54. Avila, M., Ojcius, D. M. and Yilmaz Ö. (2009). The oral microbiota: Living with a permanent guest. *DNA and Cell Biology*, 28(8), 405-11.
55. Socransky, S. S. and Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, 38(1), 135-87.
56. Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J.A. and Dewhirst, F. E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology 2000*, 42(1), 80-7.
57. Moore, W. E. and Moore, L. V. (1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 5(1), 66-77.
58. Ruby, J. and Goldner, M. (2007). Nature of symbiosis in oral disease. *Journal of Dental Research*, 86(1), 8-11.
59. Lopez-Garcia, P. and Moreira, D. (2008). Tracking microbial biodiversity through molecular and genomic ecology. *Research in Microbiology*, 159(1), 67-73.
60. Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R. and Gordon, J. I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature* 449(7164), 804-10.
61. Dewhirst, F. E., Izard, J., Paster, B. J. et al. (2008). The Human Oral Microbiome Database, <http://www.HOMD.org>
62. Keijser, B. J., Zaura, E., Huse, S. M. Vossen, J. M. B. M., Schuren, F. H. J., Montijn, R. C., Cate, J. M. and Crielaard, W. (2008). Pyrosequencing analysis of the oral microflora of health adults. *Journal of Dental Research*, 87(11), 1016-1020.
63. Harris, M., Edgar, M., Meghji, S. (1998). *Clinical Oral Sciences*. United Kingdom: Reed Educational and Professional Publishing Ltd, 200.
64. Cengiz, A. T., Mısırlıgil, A. ve Aydın, M. (Editörler). (2004). Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Yayınevi, 224.
65. Irshad, M., Reijden, W., Crielaard, W. And Laine, M. L. (2012). In Vitro Invasion and Survival of Porphyromonas gingivalis in Gingival Fibroblasts; Role of the Capsule. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 60(6), 469–476.
66. Palm, E., Khalaf, H. and Bengtsson, T. (2013). Porphyromonas gingivalis downregulates the immune response of fibroblasts. *BioMedCentral Microbiology*, 13, 155.
67. Deshpande, R. G., Khan, M. B., Genco C. A. (1998). Invasion of aortic and heart endothelial cells by Porphyromonas gingivalis. *Infection and Immunity*, 66(11), 5337-43.
68. Cengiz, A. T., Mısırlıgil, A. ve Aydın, M. (Editörler). (2004). Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Yayınevi, 633-644.

69. Giulio, M., Giacomo, V., Campli, E., Bartolomeo, S., Zara, S., Pasquantonio, G., Cataldi, A. and Cellini, L. (2013). Saliva improves *Streptococcus mitis* protective effect on human gingival fibroblasts in presence of 2-hydroxyethyl-methacrylate. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 24(8), 1977–1983.
70. Wang, Y., Chung, F. F., Lee, S. M. and Dykes, G. A. (2013). Inhibition of attachment of oral bacteria to immortalized human gingival fibroblasts (HGF1) by tea extracts and tea components. *BioMedCentral Research Notes*, 6, 143.
71. Wang, W., Tao, R., Tong, Z., Ding, Y., Kuang, R., Zai, S., Liu, J. and Ni, L. (2012). Effect of a novel antimicrobial peptide chrysopsin-1 on oral pathogens and *Streptococcus mutans* biofilms. *Peptides*, 33(2), 212–219.
72. Akca G., Kayaoğlu G., Akca A. E. ve Sultan N. (2010). Diş çürüğü kavitesinden izole edilen viridans streptokoklar ve eski/yeni nesil antibiyotiklere duyarlılıkları. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 27(3), 187-193.
73. Caceres, M., Martinez, C., Martinez, J. and Smith, P. C. (2011). Effects of platelet-rich and –poor plasma on the reparative response of gingival fibroblasts. *Clinical Oral Implants Research*, 23(2012), 1104-1111.
74. Amdekar, S., Dwivedi, D., Roy, P., Kushwah, S., Singh, V. (2010). Probiotics: multifarious oral vaccine against infectious traumas. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 58(2010), 299-306.
75. Liu, S., Hu, P., Du, X., Zhou, T. and Pei, X. (2013). *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation for preventing respiratory infections in children: A meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Indian Pediatrics*, 50(4), 377-381.
76. Hawrelak, J. A., Whitten, D. L. and Myers, S. P. (2005). Is *Lactobacillus rhamnosus* GG Effective in Preventing the Onset of Antibiotic-Associated Diarrhoea: A Systemic Review. *Karger*, 72(1), 51-56.
77. Lindhe, J., Karring, T. and Lang, N. P. (2005). Anatomy of the Periodonsium. In *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Blackwell Munksgaard, 19.
78. Leask, A., Abraham, D. J. (2004). TGF-beta signaling and the fibrotic response. *The FASEB Journal*, 18(7), 816-827.
79. Lamont, R. J., Chan, A., Belton, C. M., Izutsu, K. T., Vasel D. and Weinberg, A. (1995). *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infection and Immunity*, 63(10), 3878–3885.
80. Cengiz, A. T., Mısırlıgil, A. ve Aydın, M. (Editörler). (2004). Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Yayınevi, 119-124.
81. Hahnel, S., Rosentritt, M., Bürgers, R. and Handel, G. (2008). Adhesion of oral streptococcus mutans NCTC 10449 to artificial teeth: An in vitro study. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 100(4), 309-315.

82. Aydın M., Cengiz, T. ve Mısırlı, A. (Editörler). (2004). Oral bakterilerde aderans, Ankara: Güneş Yayınevi, 147-151.
83. Andre, R. F. G., Andrade, I. M., Silva-lovato, C. H., Paranhos, H. F. O., Pimente, F. C. and Ito, I. Y. (2011). Prevalence of mutans streptococci isolated from complete dentures and their susceptibility to mouthrinses. *Brazilian Dental Journal*, 22(1), 62-67.
84. Deepa, D. and Mehta, D. S. (2009). Is the role of probiotics friendly in the treatment of periodontal diseases. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 13(1), 30-31.
85. Montalto, M., Vastola, M., Marigo, L., Covino, M., Graziosetto, R. and Curigliano, V. (2004). Probiotic Treatment Increases Salivary Counts of Lactobacilli: A Double-Blind, Randomized, Controlled Study. *Digestion*, 69(1), 53-56.
86. Tsubara, S., Mizunuma, H., Ishikawa, S., Oyake, I., Okabayashi, M., Katoh, K., Shibata, M., Iizuka, T. and Toda, T. (2009). The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *European Journal of Clinical Microbiology*, 28(11), 1353-1356.
87. Zahradnik, R. T., Magnusson, I., Walker, C., McDonell, E., Hillman, C. H. and Hillman, J. D. (2009). Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora3 TM, a probiotic mouthwash. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 682-690.
88. Noordin, K., Kamin, S. (2007). The effect of probiotic mouth rinse on plaque and gingival inflammation. *Annals of Dentistry*, 14. 19-25.
89. Hasslöf, P., Hedberg, M., Tveatman, S. and Stecksén-Blicks, C. (2010). Growth inhibition of oral streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli-an in vitro study. *BioMed Central Journals Oral Health*, 10, 10-18.
90. Kotan, H., E. (2014). Üç Farklı Ağız Gargarasının Protetik Restorasyon Materyallerinde *Streptococcus mutans* Adezyonuna Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 66.
91. Aruni, W., Vanterpool, E., Osbourne, D., Roy, F., Muthiah, A., Dou, Y. and Fletcher, H. M. (2011). Sialidase and Sialoglycoproteases Can Modulate Virulence in *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 79(7), 2779–2791.
92. Masaka, T., Hayashi, J. and Ishikawa, I. (1999). Soluble CD14-dependent intercellular adhesion molecular-1 induction by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontology*, 70(7), 772-778.
93. Kerr, J. E., Abramian J. R., Dao, D. H., Rigney T. W., Fritz, J., Pham, T., Gay, I., Parthasarathy, K., Wang, B. Y., Zhang, W. and Tribble, G. D. (2014). Genetic exchange of fimbrial alleles exemplifies the adaptive virulence strategy of *Porphyromonas gingivalis*. *PLoS One*, 9(3), e91696.

94. Ruggiero, S., Cosgarea, R., Potempa, J., Potempa, B., Eick, S. and Chiquet, M. (2013). Cleavage of extracellular matrix in periodontitis: gingipains differentially affect cell adhesion activities of fibronectin and tenascin-C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*, 1832(4), 517-526.
95. O'Brien-Simpson, N. M., Pathirana, R. D., Walker, G. D. and Reynolds, E. C. (2009). Porphyromonas gingivalis RgpA-Kgp proteinase adhesin complexes penetrate gingival tissue and induce proinflammatory cytokines or apoptosis in a concentration-dependent manner. *Infection and Immunity*, 77(3), 1246-1261.
96. Marquis, A., Genovese, S., Epifano, F. and Grenier, D. (2012). The plant coumarins auraptene and lacinartin as potential multifunctional therapeutic agents for treating periodontal disease. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 80.
97. Kadowaki, T., Baba, A., Abe, N., Takii, R., Hashimoto, M., Tsukuba, T., Okazaki, S., Suda, Y., Asao, T. and Yamamoto, K. (2004). Suppression of pathogenicity of Porphyromonas gingivalis by newly developed gingipain inhibitors. *Molecular Pharmacology*, 66(6), 1599-1606.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : ÇELİK, İrem
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01/03/1990 Ankara
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (545) 466 19 90
 e-posta : irem90_bio@hotmail.com

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Tıbbi Mikrobiyoloji ABD	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2012
Lise	TED Ankara Koleji Vakfı Özel Lisesi	2007

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2012- 2013	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Biyolog

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Yıldırım-Bicer, A. Z., Peker, I., Akca, G. and Celik, I. (2014). In Vitro Antifungal Evaluation of Seven Different Disinfectants on Acrylic Resins. *BioMed Research International*, 2014, 1-9.

Hobiler

Çok sesli müzik, Rugby, Seyahat etmek, Kitap okumak, Tango, Scuba-diving



GAZİ GELECEKTİR...