

Dişetin Ekstraselüler Matriksi

Extracellular Matrix of Gingiva

Nurcan BUDUNELİ

Ege Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, İzmir

Özet

Bu derlemenin amacı, periodontal sağlık ve hastalığı belirleyen mekanizmalarla ilgili olarak, ekstraselüler matriks molekülleri ve matriks-hücre ilişkileri hakkındaki bilgileri gözden geçirmektir.

Diş yüzeylerindeki mikrobiyal dental plak birikimi sonucunda oluşan gingivitis ve periodontitis, insanlarda görülen en yaygın kronik enflamatuvar hastalıklar olmayı sürdürmektedir. Dişeti ekstraselüler matriksinin içeriği ve yapısı sadece enflamasyonda değil, yara iyileşmesi ve ilaca bağlı dişeti büyümelerinde de önemli bir yapıyı oluşturur. Dişeti ekstraselüler matriksi kollagenler, nonkollagenöz proteinler ve proteoglikanlar ile bunların reseptörlerini içerir. Epitel ile bağ dokusu, ve hücreler ile ekstraselüler matriks ilişkilerinin anlaşılabilmesi, periodontal hastalıkların patogenezinine yönelik önemli bilgiler ortaya koyacaktır. Hücrelerin manipülasyonu, yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi, doku rejenerasyonunun yönlendirilebilmesi ve bireysel yatkınlık yaratan faktörlerin tanımlanabilmesi için bu bilgilerden yararlanılabilecektir.

Anahtar sözcükler: ekstraselüler matriks, dişeti, enflamasyon, yara iyileşmesi

Abstract

The aim of the present review is to provide an overview to the extracellular matrix molecules, the interactions between the matrix and cells in relation to periodontal health and diseases.

Gingivitis and periodontitis remain to be the most common chronic inflammatory diseases affecting humans. The structure and composition of gingival extracellular matrix is important not only for inflammation, but also for wound healing and drug-induced gingival overgrowth. Extracellular matrix of gingiva comprises collagens, noncollagenous proteins, proteoglycans and their receptors. Clarification of the interactions between the epithelium and connective tissue as well as cells and the extracellular matrix may provide important information upon the pathogenic mechanisms acting in gingivitis and periodontitis. Such substantial knowledge may eventually lead to manipulation of periodontal cells, development of new treatment approaches, guiding the tissue regeneration and identification of individual susceptibility factors.

Keywords: extracellular matrix, gingiva, inflammation, wound healing

Diş yüzeylerindeki mikrobiyal dental plak birikimine konak savunma sisteminin verdiği yanıtla oluşan gingivitis ve periodontitis, insanları etkileyen en yaygın kronik enflamatuvar hastalıklardır. Gingivitisin periodontitise ilerlemesini belirleyen mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bazı olgularda gingivitis, periodontitise ilerlemeksizin senelerce persiste kalabilmektedir. Bu nedenle, gingivitis ve periodontitisin birbirinden tamamen ayrı klinik durum-

lar olduğu dahi düşünülmektedir. Periodontitis, başlama yaşı, ilerleme şekli ve hızı yönünden farklı tiplerden oluşmaktadır. Farklı periodontitis tiplerinin ortaya çıkışında konak faktörleri ve mikrofloranın içeriği ana etkenlerdir. Bakteriler olmadan gingivitis ya da periodontitis ortaya çıkmaz, ancak bakteriler hastalığı başlatsa da ilerlemesi için konak faktörleri gereklidir. Epitel ve bağ dokusu birlikte periodontal hastalıkların seyrinde önemli rol oynarlar. Kimyasal,

moleküler ya da hücrel tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde bu iki dokunun etkileşim mekanizmalarının anlaşılması önem kazanır.

Bu derlemenin amacı, periodontal sağlık ve hastalığı belirleyen mekanizmalarla ilgili olarak matriks proteinleri ve matriks-hücre ilişkileri hakkındaki bilgileri bir sistem içinde sunmaktır. Matriks elemanları ve hücreler arasındaki etkileşimde rol oynayan moleküllerin incelenmesi, periodontal hastalığın neden, nasıl ortaya çıktığını anlamayı ve bireysel yatkınlık yaratan faktörleri tanımlamayı sağlayabilir. Konunun çok geniş olması ve bugüne kadar çok sayıda araştırmanın yayınlanmış olması nedeniyle bazı bölümler hariç tutulmuş ya da çok kısa geçilmiştir.

Ekstraselüler matriks (ESM); dokuların normal gelişim ve fonksiyonları için gereklidir. ESM, başta protein ve karbonhidrat olmak üzere karmaşık bir makromolekül içeriğine sahiptir. Önceleri ESM'in hücrelerarası mesafeleri dolduran homojen bir yapı ve hücrelerin büyümesi ya da birarada durması için bir kılıftan ibaret olduğu düşünülüyordu. Özellikle son 15 yılda yapılan araştırmalar, ESM'nin, hücrelerin büyüme, protein sentezi, salgı ve göç gibi çeşitli fonksiyonlarının yönlendirilmesinde çok önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. ESM'de bulunan spesifik moleküller, genetik olarak benzer hücrelerle etkileşerek çeşitli biyolojik yanıtlara sebep olurlar. ESM'nin içeriği ve fonksiyonları bulunduğu dokuya göre değişkenlik gösterir. Periodonsiyum, fibröz ve mineralize dokulardan oluşur ve bu dokuların protein içerikleri, hücrel elemanları, inorganik bileşenleri, metabolizmaları ve fonksiyonları birbirinden farklılık gösterir. Farklı periodontal hastalıklar gibi çeşitli metabolik ya da kalıtsal hastalıklar da periodonsiyum dokularından bazılarını özel olarak etkileyebilir.

Dişeti Bağ Dokusuna Ait Ekstraselüler Matriksin İçeriği ve Yapısı

Dişeti bağ dokusunda yer alan ESM'nin organik bileşenleri kollagenler, nonkollagenöz proteinler ve proteoglikanlardır. Kollagenler esas yapı elemanını oluşturur. Periodontal hastalıklara bireysel yatkınlık yaratan faktörlerden biri de epitel ve bağ dokusu arasındaki etkileşimlerin doğası olabilir. Enflamasyon, belli hücre gruplarının ESM sinyallerine yanıtını yön-

lendirebilir, ve belli hücreler çoğalırken diğer bazı hücre gruplarının ölümü söz konusu olabilir.

Tablo 1. Dişeti bağ dokusuna ait ekstraselüler matriksin makromolekülleri.

Kollagen	Kollagen tip I, III, IV, V, VI
Non-kollagenöz proteinler	Elastin, fibronektin, laminin, osteonektin, vitronektin, tenasin
Glikozaminoglikanlar	Dermatan sülfat, kondroitin sülfat, hyaluronan, heparan sülfat
Proteoglikanlar	Dekorin, biglikan, versikan, sindekan, perlekan

Kollagen

Yapısal özellikleri

Sinekten insana kadar birçok canlıda en fazla bulunan protein kollagendir. İnsan vücudundaki toplam proteinin yaklaşık %30'unu yapar.¹ Kelime olarak Yunanca'dan kaynaklıdır; colla= tutkal (yapıştırıcı) ve gene. Fransızca'da da tutkal kaynağı yapılar anlamını taşır, çünkü kollagenöz dokular tutkal ve jelatin kaynağı olarak kullanılmıştır. Kollajeni diğer matriks moleküllerinden ayıran özellikleri şunlardır:

1. α zinciri olarak adlandırılan, üç polipeptit zincirden oluşan üçlü heliks yapıdadır.
2. Glisin bu üçlü heliks yapı için esastır.
3. İki özgün aminoasit içerir; hidrosilizin ve hidrosiprolin.
4. Lizin kaynaklı intra ve intermoleküler çapraz bağlar ile stabilizasyonu sağlanır.

Kollagen tipleri

Bugüne kadar en az 19 farklı kollagen tipi tanımlanmıştır.² Genel olarak, fibril oluşturma yeteneğine göre, kollagenler 3 gruba ayrılırlar:

1. Fibril oluşturan kollagenler: Tip I, II, III, V, XI.
2. Kesikli üçlü heliks yapıda fibrille ilişkili kollagenler: IX, XII, XIV
3. Nonfibriler kollagenler: Ağ oluşturan kollagenler; IV, VIII, X, çapa fibriller; VII, boncuk kollagen; VI. Ayrıca omurgasızlardaki kütükül kollagen de bu grupta yer alır.

Birinci gruptaki kollagenlerde üçlü heliks kesintisiz izlenirken, ikinci gruptaki kollagenlerde üçlü heliks yapı non-helik al kısımlar ile kesintiye uğrar ve bunlara kesikli üçlü yapıda fibrille ilişkili kollagenler (Fibril-associated collagens with interrupted triple helices; FACITs) adı da verilir.

Dişetinde bulunan kollagenler

Dişeti bağ dokusunun kollagen fibrilleri sağlam bir yapı sağlar. Kollagen, total doku proteininin %60'ını yapar.³ Kollagen fibriller farklı kollagen tiplerinin heteromerik karışımından oluşur ve tip I en fazla bulunan kollagen tipidir.³⁻⁵ İki farklı kollagen fibrili görülür; büyük, yoğun, kalın veya gevşek, kısa, ince fibriller.^{6,7} Sağlıklı dişetinde ekstrakte edilebilen kollagenin %99'u tip I ve III, %1'den azı tip V'dir.³ Tip I ve III'ün esas görevi dokunun mekanik direncini sağlamaktır. Tip I kalın kollagen fibrillerde, tip III ise daha ince fibrillerde bulunur.^{6,8} Ayrıca, tip III lamina propriada daha yaygın haldedir. Dişetinde tip III kollagen total kollagenin yaklaşık %9'udur. Tip V de buna paralel diffüz filamentöz dağılım gösterir ve tip I ile III'ün oluşturduğu kollagen fibrilleri kaplar.⁸ Ayrıca, bazal membranda bulunur, hücre yapışmasını ve göçünü artırır. Tip III ve V kollagenler enflamasyon ve rejenerasyon ile ilişkilidir. Tip IV kollagen sadece bazal membranda, özellikle lamina densada bulunur, periodontopatojenlerin proteolitik enzimlerine karşı oldukça hassastır. Tip VI diffüz mikrofibriler formdadır,⁹ bazal membranlarda da bulunur, bağ doku hücrelerini fibriler kollagene bağlar. Çapa fibriller ise Tip VII kollagenden oluşur.

Gelişim, enflamasyon ve yara iyileşmesi sırasında kollagen sentezi çeşitli büyüme faktörleri, hormonlar, sitokinler ve lenfokinlerden etkilenir. Periodontal hastalık varlığında kollagen yapım ve yıkımının arttığı bildirilmiştir.¹⁰ Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) kollagen ve diğer matris elemanlarının yapımını uyarır, fibrotik lezyonların gelişiminde rol oynar. Özellikle TGF- β 1 yara iyileşmesi ve fibrozisde çok etkilidir.¹¹ Enflamatuvar sitokinler olan tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) ve interferon-gama (IFN- γ) ise kollagen üretimini yavaşlatır. Kollagen sentezini etkileyen birçok büyüme faktörü ve sitokin trombosit, makrofaj, keratinosit ve fibroblastlar tarafından enflamasyon alanında salınır ve bu hücrelerden oluşan enflamatuvar odaklar genellikle

kollagen sentezindeki değişikliklerin yoğunlaştığı yerlerdir.¹²

Nonkollagenöz proteinler

Elastin

İnsanda birçok dokunun fonksiyon görebilmesi için gerekli olan elastikiyeti sağlayan protein elastindir. Periodontal ligament gibi dokularda çok az bulunur. Elastin çözünürlüğü en az olan proteinlerdendir. Kollagene benzer şekilde aminoasit içeriğinin % 33'ü glisindir. Hidroksiprolin içerir, fakat hidroksilizin içermez. Fibroblastlar elastin sentezleyebilen hücrelerdir.

Fibronektin

Dişetin bütünü bağ dokusunda yaygındır, bazal membranda ve kan damarlarında da bulunur. Yara alanında başlıca kaynağı makrofajlardır. Fibronektin, hücreler ve kollagen arasında köprü görevi görür. Hücrelerin fibronektinle etkileşimi hücre adezyonunu, yayılımını ve göçünü kolaylaştırır. Bu özellikleri nedeniyle fibronektin büyüme ve gelişmede, yara iyileşmesinde ve onkojenik dönüşümde önemli rol oynar.¹³ Re-epitelizasyon, yara kontraksiyonu ve granülasyon dokusunun oluşumunda etkilidir. Fibronektin pıhtı içindeki fibrin ile etkileşir ve fibrini kalınlaştırır. Ayrıca, opsonin görevi yaparak enflamasyon alanından fibrinin temizlenmesinde de rol oynar. Çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri (TGF- β , TNF- α) için depo görevi görür. Fibronektinin spesifik integrinlerle etkileşimi sonucunda hücre içine sinyal iletimi gerçekleşir.¹⁴

Lamininler

Birçok hücre bir bazal membrana yapışık durumdadır. Bazal membran ile hücre yüzey reseptörleri arasındaki etkileşimler sonucunda hücre şekli, göç, farklılaşma ve apoptozis gibi fonksiyonlar yönlendirilir. Ayrıca, bazal membran büyüme faktörlerini bağlayarak hücrelere ulaştırır.¹⁵ Bazal membranlar Tip IV kollagen, laminin, nidogen ve diğer proteinlerden oluşur. Bunlardan laminin bazal membranın başlıca nonkollagenöz proteindir. Laminin ESM bileşenleriyle etkileşimlerin yanı sıra çeşitli hücrelerin yapışma, çoğalma ve göç faaliyetlerini de düzenler.¹⁶ Laminin hücrelerin hareketliliğini artırabilir ya da

azaltabilir. Bazal epitel hücrelerinin bazal laminadan ayrılması, hızlı büyüme ve matris metaloproteinaz (MMP) salgısı gibi agresif faaliyetler için sinyal oluşturabilir. Bu özellik, dişeti bağ dokusunun yıkımı ve periodontal cep oluşumunda bağlantı epitelinin katkısını açıklayabilir.

Osteonektin

Morfogenez, remodelasyon ve tamir olaylarında dokulardaki miktarı artar. Kollagen, hidroksilapatit, albümin, trombospondin gibi çeşitli katyonlara bağlanabilir. Periodontal fibroblastlar tarafından sentezlenebilir. Yara iyileşmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Hücrelerin yayılmasını engeller. Sitokin ve büyüme faktörlerine bağlanarak endotel hücreleri gibi bazı hücrelerin büyümelerini düzenler. ESM bileşenlerinin ve özellikle MMP'lerin sentezini etkiler. TGF- β osteonektinin aktivasyonunu düzenlemekte etkilidir.

Vitronektin

Plazma ve ESM'de bulunan asidik bir glikoproteindir. Çeşitli integrinlere bağlanabilir. Hücre-matris haberleşmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Hücre adezyonunu artırır, hücre yayılımını ve göçünü yönlendirir. Yara iyileşmesinde önemlidir. Konak immün fonksiyonlarını etkileyebilir. Belirli bazı hücreler, özellikle polimorf nüveli lökositler (PNL) vitronektin üzerinde göç eder.

Tenasin

Hücre ataşmanını artırabilir ya da engelleyebilir. Kondroitin sülfat, proteoglikan tenasin ile yüksek etkileşim özelliğine sahiptir. Kollagen, fibronektin veya lamininlere önemli bir bağlanma özelliği yoktur. Epitel-mezenkimal doku birleşim bölgelerinde bulunur. Erişkin dokularında azdır fakat yara iyileşmesinde, özellikle granülasyon dokusunun oluşum safhasında artar.

Proteoglikanlar

1958'de ortaya atılan "mukopolisakkarit" terimi 1960'da "glikozaminoglikan" (GAG) terimi ile yer değiştirmiştir.¹⁷ GAG'ler (hyaluronan hariç) her zaman bir protein çekirdeğe bağlı olarak bulunurlar. Bütün olarak molekül aslında bir proteoglikandır. 'Proteog-

likan' terimi ilk kez 1967'de bir protein çekirdeğe bağlı GAG'leri ifade etmek için kullanılmıştır.¹⁸ Proteoglikanlar, dokunun hidrasyonu, kollagen fibrillerin oluşumu, büyüme faktörlerinin bağlanması, hücre adezyonu ve hücre büyümesinde rol oynarlar. Dişetinde GAG'ler ve proteoglikanlar ESM için temel yapı elemanlarıdır ve özellikle agresif periodontitis hastalarında önemli derecede yıkıma uğrarlar.¹⁹ Daha önceleri GAG içeriğine göre adlandırılan proteoglikanlar, son zamanlarda çekirdek proteinin sekansına ya da buldukları dokuya göre adlandırılmaktadırlar.

Genel yapı ve içeriği

GAG'ler proteoglikanların esas karbonhidratlarıdır.²⁰ Dişeti bağ dokusunda bulunan GAG'lerin %60'ı dermatan sülfat, %30'u kondroitin sülfat, %5'i hyaluronan ve geri kalan %5'i de heparan sülfattan oluşur. Hyaluronan, en yüksek molekül ağırlığına sahip GAG'dir. Ayrıca, bir protein çekirdeğe kovalan bağlarla bağlanarak proteoglikan molekülü oluşturmaya tek GAG'dir. Bir başka ayırıcı özelliği, diğerleri gibi Golgi apareyinde yapılmamasıdır, hücre membranında bulunan hyaluronan sentaz enzimi aracılığıyla yapılır.

Dişetinde bulunan proteoglikanlar

Dekörin (dermatan sülfat proteoglikan): Dişetinde kollagen fibril demetleriyle ilişkilidir ve kollagen fibrillerin büyümesini düzenlediği düşünülmektedir. Fibronektine de afinitesi vardır. TGF- β 1 gibi büyüme faktörlerini bağlayabildiği ve dokuda bunlar için depo görevi gördüğü düşünülmektedir. TGF- β 1 proteoglikanların zincir uzunluğunu artırır. Periodontal hastalıkta dekorinde değişiklik saptanmamıştır.

Biglikan (dermatan sülfat proteoglikan): Kollajene bağlanmaz fakat fibronektine bağlanır. Normal dişetinde az miktarda bulunur, fakat TGF- β 1 uyarısıyla artar.

Versikan (kondroitin sülfat proteoglikan): Hücre yüzey reseptörlerinin matrisle bağlanmasını kolaylaştırdığı, fibroblast göçünde rol oynadığı düşünülmektedir. TGF- β 1 uyarısıyla artar.

Sindekan (heparan sülfat proteoglikan): Fibronektin, kollagen gibi ESM moleküllerini, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi büyüme faktörlerini

bağlar. Hem hücre-hücre hem de hücre-matriks etkileşimlerinde rol oynar.

Perlekan (heparan sülfat proteoglikan): Bazal membranda bulunur, laminine ve bFGF'ye bağlanabilir. Doku yaralanması halinde proteolitik faaliyetler proteoglikanları parçalar ve büyüme faktörleri serbestlenir.

CD44: Fibronektin, laminin ve kollagenleri bağlayabilir. $\beta 1$ integrinler gibi hem hücre-hücre hem de hücre-matriks etkileşimlerinde rol oynar.

Matriks Proteinlerinin Reseptörleri

Hücrelerin buldukları çevreye adezyonu, hücre şeklini belirlediği gibi hücre fonksiyonlarının gerçekleşmesi ve doku bütünlüğünün sağlanması için de gereklidir.

İntegrinler

İntegrin kelimesi ilk kez 1987'de Hynes tarafından kullanılmıştır. Zamanla 17α ve 8β altünitesi tanımlanmıştır.²² Bu altünitelerin farklı kombinasyonları sonucunda 23 farklı integrin oluşmaktadır ve integrinin fonksiyonel olması için her iki altünite de gereklidir. Genel olarak $\beta 1$ integrinler hücreler ile ESM moleküllerinden özellikle kollagen, laminin ve fibronektin arasındaki etkileşimlerde rol oynar, hücre adezyonu, göçü, farklılaşması ve sinyal iletimini yönlendirirler. $\beta 2$ integrinler, enflamatuvar hücrelerin matriks ile veya diğer hücrelerle etkileşimlerinde rol oynar ve lökosit integrinleri olarak da bilinirler. $\beta 3$ integrinler ise, genellikle hücrelerin vasküler sistem elemanları ile (trombospondin, vitronektin, fibrinojen gibi) ilişkilerinde etkili olur.^{23,24} Dişeti epitelinde $\beta 1$, $\beta 4$, $\alpha 6$ integrinler, fibroblastlarda ise $\beta 1$, $\alpha 2$, $\alpha 5$, αv , $\alpha v\beta 3$ integrinler gösterilmiştir.²⁵

İntegrinlerin yapısı

Birçok hücre yüzey glikoproteini gibi integrinler de üç kısımdan oluşur; büyük bir hücre dışı kısım, hücre membranında uzanan kısım ve küçük bir sitoplazmik kısım. Alfa altünitesi genellikle 1200-1800 aminoasitten oluşurken β altünitesi yaklaşık 800 aminoasitten oluşur.²⁶

İntegrin-ligand bağlantısı

Ligand bağlanması için kalsiyum ve magnezyum gibi katyonlar gereklidir. İntegrinin hücre içindeki kısmı-

nın ligand bağlanmasıdaki rolü kesin bilinmemektedir. İntegrin-ligand bağlantısında özel bir aminoasit dizisi rol oynar; Arg-Gly-Asp (RGD). Bu dizide bir değişiklik olması halinde ataşman gerçekleşmez.²⁷ Bununla birlikte integrin-ligand bağlantısı genellikle nonspesifiktir, bir integrin farklı ligandlara bağlanabildiği gibi, bir ligand da farklı integrinlere bağlanabilir. İntegrinlerle yönlendirilen hücre adezyonu farklı fonksiyon ve gereksinimlere bağlı olarak 3 şekilde gerçekleşebilir.

1. ESM bileşenleri ile doğrudan etkileşim sonucu hücre-matriks adezyonu yönlendirilir.
2. Hücre membran proteinlerine bağlanarak hücre-hücre adezyonu yönlendirilir.
3. Çözünür adezyon proteinlerine bağlanarak hücre adezyonları yönlendirilir.

İntegrinlerin fonksiyonları

Lökosit göçü, T hücresi-makrofaj etkileşimi, pıhtı oluşumu, epitel hücresi göçü ve fibroblast adezyonunda integrinler önemli rol oynarlar. Yara iyileşmesi ve tümör gelişiminde yüksek oranlarda bulunurlar.²⁸ Matriks birikimi ve olgunlaşmasında hayati öneme sahiptirler. Matriks tamirinde ilk olay fibroblastların $\alpha 5\beta 1$ ile fibronektine bağlanmasıdır. İntegrinler ESM ile hücre iskeletinin ilişkisinde ve hücre içine sinyal iletiminde de rol oynarlar.²⁹ Hücre-matriks etkileşimi normal gelişme, enflamasyon, yara iyileşmesi ve doku tamiri için çok önemlidir. Bu nedenle, hücre-matriks ilişkisinde rol oynayan moleküllerin daha detaylı şekilde tanımlanması, doku yanıtının manipüle edilmesi, yıkımın düzeltilebilmesi ve rejenerasyonun geliştirilebilmesi için faydalı olabilir.

Ekstraselüler Matriksin Yıkım Mekanizmaları

Periodontal bağ dokularının biyokimyasal içeriği sağlıkta ve hastalıkta etkili olan yapım ve yıkım olaylarının boyutuyla ilgilidir.³⁰ Yıkım sağlıklı dokular için normal bir olaydır ve dokuların sürekli yenilenmesine imkan sağlar. Ayrıca, periodontitis, romatoid artrit ve diğer kronik enflamatuvar hastalıklarda görülen patolojik olayların da önemli bir özelliğidir. Yıkım aslında çok iyi düzenlenen bir mekanizmadır, fakat hiperplazi ve fibrozis tablosunda kollagen yıkımı azalır, enflamasyonda ise artar. Normal dişetin-

III. Serum ve dokularda bulunan inhibitörler MMP'leri nötralize ederler. Alfa₂-makroglobulin serumda bulunan başlıca inhibitördür ve kollagenazlara çapraz bağlanarak inaktive eder. Bu arada proteinazlara karşı etkili başka bir inhibitör de α₁ proteinaz inhibitörüdür. Dokularda ise TIMP bulunur. Bugüne kadar 3 farklı TIMP tanımlanmıştır. MMP tipi salgılayan hücreye göre değişir. Periodontitis hastalarına ait DOS'da bulunan başlıca MMP'ler MMP-8 ve MMP-9'dur.³² Bu enzimler PNL kaynaklıdır ve doku yıkımından primer olarak sorumludurlar.^{32,33} Fibroblast ve endotel hücrelerinden kaynaklı MMP'ler ise daha çok normal doku remodelasyonunda rol oynarlar.³⁴

Fibroblastların çeşitli uyarılara yanıtı, hücrelerin yaşı, hücre siklusundaki durumu ve lokal çevre gibi faktörlerden etkilenir.³⁵ Farklı matriks bileşenlerinin sentezi ve çeşitli hücre tiplerinin spesifik sitokinlere yanıtı değişkenlik gösterir. Örneğin, IL-1 uyarısıyla tip VII kollagenin sentezi artarken tip I etkilenmez. Fibroblastların, fonksiyonel özellikler ve çeşitli mediyatörlere yanıt açısından birbirinden farklı alt grupları vardır.³⁶ Aktif periodontal doku yıkımında MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulmuştur.³⁰ Enflamasyonda ESM içeriğinde meydana gelen değişiklikler bu alanda üretilen MMP tiplerinin de değişmesine yol açabilir.

Gingivitis ve Periodontitiste ESM'de Meydana Gelen Değişiklikler

Epitel

Dişeti epiteli, özellikle bağlantı epiteli enflamasyona başlangıcından itibaren etkilenir ve hastalığın ilerlemesinde de rol oynar. Epitel hücreleri nötrofil trafiğini etkileyen IL-1 ve IL-8 gibi çeşitli sitokinleri, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi büyüme faktörlerini üretebilir. Nötrofil göçü arttıkça inter-selüler adezyon molekülü (ICAM-1) ekspresyonu da artar, infiltrat odağı yoğunlaştığında ise azalır.³⁷ Enflamasyonda bağlantı epitelinde hücreler arası mesafe genişler ve enflamatuvar eksudanın dişetinden sulkusa geçişine olanak sağlar. Bu genişlemenin mekanizması kesin olarak anlaşılamamış olmakla beraber, biriken enflamatuvar eksudanın sebep olduğu hidrostatik basınca bağlanmaktadır. Epitel-bağ dokusu birleşim yerindeki doku yıkımı bu 2 dokunun etkileşimlerinde meydana gelen değişik-

liklere bağlı olabilir ve bunda da integrinler rol oynayabilir.^{28,38} Örneğin, α₂β₁, α₃β₁ integrinlerin cep epitelinde daha yaygın bulunması keratinosit proliferasyonu ve göçü ile ilgili olabilir, α₆β₄ integrinin cep epitelinde daha az bulunması ise epitelin dış yüzünden ayrılmasında rol oynayabilir.³⁸

Gingivitis ve periodontitiste bağ doku matriks değişiklikleri

Gingivitisde daha çok PNL'lerin sentezlediği MMP'ler etkili olurken periodontitiste PNL, makrofaj, keratinosit ve fibroblastlar da matriks yıkımına katılır. Dişeti kollageninde kantitatif ve kalitatif değişiklikler olur. Dişetindeki kollagen daha çözünür hale gelir bu durum yeni ve aktif sentezi gösterir. Bağ doku kollageninin yaklaşık %70'i harab olabilir. Enflamasyonda tip I, III ve V kollagenler sırasıyla %87, 4 ve 8 oranında bulunur.⁷ Yavaş ilerleyen periodontitiste dişetinde fibrozis görülebilir. Akut enflamasyonda tip III tip I'den daha fazla yapılırken, fibrozisde tip I daha fazla yapılır. Nonkollagenöz proteinler de yıkıma uğrar. Ancak, proteoglikanlar daha az etkilenir. Yıkım MMP'ler ile TIMP'ler arasındaki dengenin bozulmuş olmasına bağlanmaktadır. MMP'lerin proteoglikanlar üzerine etkileri kollagenlere olandan azdır. Proteoglikan protein çekirdeklerinin ve hyaluronik asitin parçalanması enflame bağ dokusunun karakteristik özelliklerindedir.³⁹ Enflamasyon odaklarında proteoglikan kaybı olurken, periferde birikim olur. Periodontitisin ortaya çıkışıyla beraber bağlantı epitelinin apikale göç etmesi sadece hücre proliferasyonu ile açıklanamaz. Aynı zamanda, bağ dokusu üzerinden hücre göçü de olur. Son yıllarda yapılan araştırmalar epitel-bağ dokusu ve epitel-diş bağlantı bölgelerinde çeşitli integrin ve diğer adezyon moleküllerinin varlığını göstermektedir.^{38,40} Keratinositlerdeki integrin reseptörleri bağ dokusu değişikliklerinde önemli rol oynar.

Bağ dokusu değişikliklerinin enflamatuvar reaksiyonlara etkileri

Sağlıklı durumda fibroblastlar ESM içine gömülüdür. Dağınık ve yassılaştırmış durumdadırlar. Bu da düşük metabolik döngüyü gösterir. Yaralanma ve enflamasyon sonrasında matriks parçalanır ve fibroblastlar yara bölgesine göç eder, çoğalır ve yeni matriksi yapar. Bu aşamada düz kas hücrelerine benzerlik kazanır ve myofibroblast adını alırlar. Matriks yıkım ürünleri, sitokinler ve büyüme faktörleri fibroblast

aktivitelerini düzenler. Fibroblast göçü, adezyonu, çoğalması ve matriks sentezi bunlardan etkilenir. Enflamatuvar yanıtta hücre-matriks etkileşimleri önemli rol oynar. Bugüne kadar integrinler ve CD44 gibi çeşitli adezyon molekülleri ekstraselüler matrikste tanımlanmıştır. Matrisdeki değişikliklerin hücrelerin sadece adezyon ve göçüne değil çeşitli hücre fonksiyonlarına da etkili olduğu düşünülmektedir.

Fibroblast-enflamatuvar hücre etkileşimleri

Enflamasyonun erken dönemlerinde bağ dokusunda nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu vardır, bu hücrelerin fibroblastlar ile etkileşim potansiyeli yüksektir. Bu etkileşimler sonucunda ortama çeşitli çözünür maddeler salınır. Yeni bazı araştırmalar, lenfositlerin fibroblastlara yapışması sonucunda IL-1 α ve IL-6 için mRNA ekspresyonunun uyarıldığını göstermiştir.⁴¹ Uygun hücre yüzey reseptörlerinin varlığında, bir hücre başka bir hücrenin fonksiyonlarını etkileyebilir. Fibroblastlar da lenfositlerin fonksiyonlarını etkileyebilir. Örneğin, IFN- γ ile uyarılan gingival fibroblastlar T lenfositlerin çoğalmasını inhibe edebilir. Gingival fibroblastların antijen sunan hücre olarak görev yapabilecekleri düşünülmektedir. Lenfositlerin dişeti dokusunda yerleşmeleri ve periodontal doku yıkımına katılmalarında fibroblastlar ile lenfositler arasındaki etkileşimler rol oynayabilir.

Nötrofiller ile gingival fibroblastlar arasındaki adezyon ilişkileri de araştırılmıştır. Bu hücreler arasında spontan adezyondan söz edilmekle beraber IFN- γ , IL-1 ve IL-6'nın rolü önemlidir.⁴² Ancak, bu etkileşimde esas rol β 1 integrinlere (CD11/CD18) aittir ve ICAM-1 molekülü daha önemsiz bir etkiye sahiptir. Bu etkileşimlerin kesin önemi açıklanamamış olmakla birlikte, bu iki hücre grubunun birlikte kültüre edilmesi serbest oksijen radikallerinin sitotoksik etkilerinin ortaya çıkışına sebep olmuştur. LPS, nötrofillerin gingival fibroblastlara yapışmasında rol oynar ve bunun da nötrofillerin periodontal fibroblastlara verdiği hasarda önemli olduğu düşünülmektedir.

Yara İyileşmesinde Ekstraselüler Matriksin Rolü

Yara iyileşmesi organizmanın doku hasarını giderme ve fonksiyonu yeniden sağlama girişimidir. Rejenerasyon olursa, yapı ve fonksiyon açısından orijinal doku ile aynı özelliklere sahip doku oluşur. Rejenerasyon olmazsa, fibröz skar dokusu oluşumu ile tamir gerçekleşir. Yara iyileşmesi sırasında, sadece embriyolojik gelişme döneminde mevcut olan birçok molekül granülasyon dokusunda bulunur. Epitelde normalde bulunmayan ekstraselüler matriks reseptörleri ortaya çıkar. Granülasyon dokusunda özel bir fenotipte fibroblastlar görülür. Yaralanmış bazal membran ve bağ doku matriksinden proteolitik enzimler ve çeşitli büyüme faktörleri salgılanır. Matriks parçalanması sonucunda biyolojik aktif peptitler ortaya çıkar. Yeni oluşan matriks, büyüme faktörleri, matriks yıkım ürünleri ve hücreler arasındaki karmaşık ilişkilerin aydınlatılması yara iyileşmesinin anlaşılmasını sağlayacaktır.

Epitelial yara iyileşmesi

Epitelial yara iyileşmesi

Re-epitelizasyon

Yara iyileşmesi çok karmaşık bir olaydır. Yaralanmadan sonra doku bütünlüğünün tekrar sağlanabilmesi için en kısa zamanda re-epitelizasyon olması gerekir. Keratinositler yaralanmadan 24 saat sonra yara alanına göç ederler. Rezidüel epitelial yapılarıdaki epitel hücreleri hemidesmosomal bağlantılarını çözererek bazal membrandan ayrılır ve hızla yaranın diğer tarafına hareket ederler. Hangi epitel hücrelerinin ilk önce hareket ettiği kesin olarak bilinmemektedir, fakat suprabasal hücreler olduğunu ileri sürenler vardır. Epitel hücrelerinin, fibrin-fibronektin pıhtı altından, açık bağ doku matriksi üzerinden yaranın karşı tarafına göç ettikleri gösterilmiştir. Bununla birlikte, küçük dişeti yaralanmalarında epitel hücreleri pıhtı içinden hareket ederek bağ dokusu ile hiç temas etmeyebilir. Göç eden keratinositlerin fagositik özellikleri çok yüksektir, böylece doku artıkları ve pıhtı içinde yol alabilirler. Fibrin pıhtının parçalanması yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Integrinlerin pıhtının parçalanmasında rol oynadıkları düşünülmektedir. Göç eden keratinositler MMP-9, MMP-1 ve MMP-10 içerirler. Hücre kültüründe MMP aktivasyonunun bloke edilmesi keratinosit göçünü engeller. Ancak bu MMP aktivitesi iyi kontrol edilmelidir, iyileşmeyen kronik yaralarda aşırı MMP aktivitesi saptanmıştır.⁴³

Yara iyileşmesinde epitelin açığa çıkmış bağ dokusunu hızla kapatması, hücreler ile ESM arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bazal keratinositler fenotipik

değişikliğe uğrayarak bazal membrandan ayrılır, yara yatağına göç eder ve bazal membranın rejenerasyonunu sağlarlar. Yara iyileşmesi sırasında bazal membranın birçok bileşeni; tip IV, VII kollagen, laminin-1 ve heparan sülfat bulunmaz. Laminin-5 burada kritik öneme sahiptir. Kronik aftöz ülserlerde keratinositlerin göçü kötüdür ve laminin-5'den zengin bir matriks depolamayı da başaramazlar.⁴⁴ Laminin-5, $\alpha 6\beta 4$ integrine bağlanması ve bazal membranın organizasyonunda çekirdek görevi görmesi bakımından önemlidir. Fibronektin ve tenasin de göç eden keratinositler tarafından kullanılır. Yani keratinositler kendi kullanacakları ESM'yi yapabilme özelliğine sahiptirler. Küçük dişeti yaralarında (yara kenarları arası 2-3 mm), yeni bazal membranın oluşumu göç eden epitel hücreleri birbirine ulaşıp kaynaştığında başlar. Bazal membranın çekirdeklenmesi birçok alanda birden olur. Epidermal yaralarda bunun fermuar ağzı şeklinde olduğu öne sürülmüştür. 4 hafta içinde bazal membranın yeniden düzenlenmesi tamamlanmış olur ve kollagen tip IV, VII, laminin-1 ve heparan sülfat normal şekilde bulunur. Keratinositler bunları sentezleyebilir fakat esas kısım yara fibroblastları tarafından sentezlenir. Keratinositler ve fibroblastlar arasında sinyal iletiminin bazal membranın yeniden organizasyonu için çok önemli olduğu açıkça ortadadır.

Re-epitelizasyon sırasında keratinosit-ESM etkileşimleri

Keratinositler yara iyileşmesi sırasında değişen çevresel şartlara uygun olarak integrinlerini değiştirirler. Fibronektin, pıhtı ve granülasyon dokusu oluşumunda en önemli öncü faktörlerdendir. Keratinositler fibronektinle bağlanabilen başlıca iki integrin içerirler; $\alpha 5\beta 1$ ve $\alpha \nu\beta 6$. Bunlardan $\alpha 5\beta 1$ spesifik fibronektin reseptörüdür, fibronektin üzerinde hücrelerin adezyon ve göçünde rol oynar. $\alpha \nu\beta 6$ ise hem fibronektin hem de tenasine bağlanabilir. Bu integrinler istirahat halindeki epitel hücrelerinde bulunmaz, fakat yara iyileşmesinde görülür. İlki epitelin erken göç aşamasında, ikincisi ise reorganizasyon aşamasında görülür. Laminin-5 ise $\alpha 6\beta 4$ ile bağlanır. Bu integrin bazal keratinositleri bazal membrana bağlar ve bu bağlantı laminin-5 ile çapa fibriller arasındaki etkileşimlere bağlıdır. $\alpha 3\beta 1$ integrin de laminin-5'i bağlar. Sağlıklı halde laminin-5 keratinositler için

hareket faktörü iken, proteolitik faaliyet varlığında hemidesmozomlar için çekirdek yapar ve bazal membran elemanlarının oluşumunu kolaylaştırır. Görüldüğü gibi, basit bazı proteolitik olaylar çeşitli proteinlerin fonksiyonlarını tersine çevirebilmektedir.

Yara iyileşmesi sırasında $\beta 1$ integrinlerin ekspresyonu artar. $\alpha 2\beta 1$ ve $\alpha 3\beta 1$ integrinler eşit oranda görülür. $\alpha 3\beta 1$ hem laminin-5 hem de fibronektine, $\alpha 2\beta 1$ ise birçok kollagen tipine bağlanabilir. Tip I, III, V, VI kollagenler göç eden keratinositlere substrat görevi görür. Tam kalınlıklı yaralarda keratinositlerin tip I, III, V gibi fibriller kollagenlerle etkileşimi daha fazladır. Burada $\alpha 2\beta 1$ integrin rol oynar. ESM yıkımında da integrinler etkili olur. Epitel ve bağ doku hücreleri $\alpha 2\beta 1$ integrin ile kollagene bağlanır, böylece MMP-1 uyarılır ve kollagen matriksin parçalanmasıyla epitel göçü kolaylaştırılır.

TGF- β ve re-epitelizasyon

Bu büyüme faktörü yara iyileşmesinde çok önemli bir role sahiptir. $\beta 1$, $\beta 2$ ve $\beta 3$ tipleri tanımlanmıştır. TGF- $\beta 1$ yara bölgesindeki keratinositlerde bulunan başlıca formdur ve başarılı bir re-epitelizasyon için göç eden keratinositlerde mutlaka bulunması gerekir. Keratinositlerin farklılaşma aşamasından rejenerasyona geçmelerini, fibronektin ve laminin-5 üretmelerini sağlar, çeşitli integrinlerin mRNA düzeylerini de artırır. Yara bölgesinde ilk kollagen fibriller $\alpha \nu\beta 6$ integrinin kuvvetli eksprese edildiği ve TGF- $\beta 1$ 'in aktif olduğu bölgelerde yerleşir.

Bağ doku tamiri

Fibroblastların aktivasyonu

Yara iyileşmesinde fibroblastlar fenotipik değişime uğrar. Fibroblastlar yara bölgesinde bulunan kan pıhtısındaki serum ile temas sonucu, hücre çoğalması için uyarılır. Serum temasından başka, çeşitli matriks proteinlerine adezyon da gen ekspresyonu ve protein sentezini etkiler. Bağ dokusunda fibroblastlar başta kollagen ve fibronektin olmak üzere ESM elemanları ile çevrilidir, matrikse yapışmak için kollagen reseptörleri olan $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$ ve fibronektin reseptörü olan $\alpha 5\beta 1$ integrin taşıır.

İlaça Bağlı Dişeti Büyümelerinde Ekstraselüler Matriksin Rolü

Fenitoin, siklosporin ve kalsiyum kanal blokleri kullanan hastalarda görülen ilaca bağlı dişeti büyümelerinin karakteristik özelliği fibroepitelyal değişiklikler ve bağ doku matriksi birikimi sonucunda dişeti kütlesinde artış olmasıdır.⁴⁵ Dişeti enflamasyonu ilaca bağlı dişeti büyümelerinin ortak bulgusudur. Ancak, gingivitis ve periodontitiste matriks yıkımı olurken, ilaca bağlı büyümlerde matriks depolanması olur. Üç ilaç grubunda da lezyonlar birbirine benzer ve esas özellik, epitel ve bağ dokusu elemanlarında özellikle kollagende aşırı çoğalmadır. İlaç kullanımı tek başına dişeti büyümesi için yeterli görülmemektedir, genetik yatkınlık ve enflamasyon da gereklidir. Büyümenin erken döneminde yüksek oranda hücre bulunurken, ileri dönemde matriks/hücre oranı normale yaklaşır.⁴⁵ Farklı kollagen tiplerinin yerleşimi sağlıklı dokuya benzer bulunmuştur. Örneğin, tip I, III, V ve VI kollagenler ve fibronektin bağ dokusunda ve kollagen tip IV ve VII de bazal membranda bulunurlar.⁴⁶ Kollagen tip I/III oranı tip I'in artması ve tip III'ün azalması sonucu değişir.⁴⁷ Fenitoinle bağlı dişeti büyümesinde non-kollagenöz proteinler de artar. Sağlıklı dokuda non-kollagenöz proteinler kuru ağırlığın yaklaşık %7'sini, fenitoinle bağlı dişeti büyümesinde ise yaklaşık %20'sini yapar.⁴⁸ Ayrıca, proteoglikan içerikleri de artmıştır.⁴⁹ Matrikste meydana gelen değişikliklere ya matriksi parçalayan enzim sistemlerindeki azalmalar ya da matriks üretiminde artışın sebep olduğu düşünülmektedir. Kollagen üretiminin uyarılması ya doğrudan ilaç etkilerine bağlı olarak⁵⁰ ya da kollagenaz üretiminin azalmasına bağlı olarak⁵¹ ortaya çıkabilir. Kollagen artışı doğrudan gen transkripsiyon oranının etkilenmesi ya da TGF- β , bFGF gibi büyüme faktörlerinin etkileri sonucunda olabilir.^{52,53} Ayrıca, kollagenazların miktarındaki değişimler de matriksin aşırı artışına sebep olabilir.⁵⁴ Vernillo ve ark.⁵⁵ fenitoinin kollagen yıkımını azalttığını bildirmiştir. İlaça bağlı büyümler ve diğer fibrotik lezyonlardan alınan fibroblastların kollagen sentez kabiliyetleri normalden yüksektir, kollagenaz ve TIMP sentezleri de farklıdır.⁵¹ Bütün bu araştırmalar sonucunda belirli bazı fibroblast fenotiplerinin varlığının ilaca bağlı büyümlerde rol oynadığı hipotezi kabul görmektedir.³

Kaynaklar

1. Nimni ME. The molecular organization of collagen and its role in determining the biophysical properties of the connective tissues. *Biorheology* 1980; 17: 51-82.
2. Prockop DJ, Kivirikko KI. Collagens: Molecular biology, diseases and potential for therapy. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 403-434.
3. Narayanan AS, Page RC. Connective tissues of the periodontium: a summary of current work. *Collagen Rel Res* 1983; 3: 33-64.
4. Bartold PM, Narayanan AS. Biology of the periodontal connective tissues. Quintessence Publishing, Chicago, 1998, 73-92.
5. Narayanan AS, Bartold PM. Biochemistry of periodontal connective tissues and their regeneration: a current perspective. *Connect Tissue Res* 1996; 34: 191-201.
6. Chavrier C, Couble ML, Magloire H, Grimaud JA. Connective tissue organization of healthy human gingiva. ultrastructurel localization of collagen types I-III-IV. *J Periodont Res* 1984; 19: 221-229.
7. Narayanan AS, Page RC, Meyers DF. Characterization of collagens of diseased human gingiva. *Biochemistry* 1980; 19: 5037-5043.
8. Narayanan AS, Clagett JA, Page RC. Effect of inflammation on the distribution of collagen types I, III, IV and V and type I trimer and fibronectin in human gingiva. *J Dent Res* 1985; 64: 1111-1116.
9. Romanos GE, Schröter KC, Hinz N, Wachtel HC, Bernimoulin J-P. Immunohistochemical localization of collagenous components in healthy periodontal tissues of the rat and marmoset (*Callithrix jacchus*). II. Distribution of collagen types IV, V and VI. *J Periodont Res* 1991; 26: 323-332.
10. Akalın FA, Şengün D, Eratalay K, Renda N, Çağlayan G. Hydroxyproline and total protein levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with juvenile, rapidly progressive and adult periodontitis. *J Periodontol* 1993; 64: 323-329.
11. Roberts AB, Sporn MB. The transforming growth factor- β s. *Hand Exp Pharm* 1990; 95: 419-458.
12. Clark RAF. The molecular and cellular biology of wound repair. 2nd edn. Plenum Press, New York, 1996.
13. Hynes R, Yamada K. Fibronectins: multifunctional modular glycoproteins. *J Cell Biol* 1982; 95: 369-377.
14. Juliano RL, Haskill S. Signal transduction from the extracellular matrix. *J Cell Biol* 1993; 120: 557-585.
15. Timpl R. Macromolecular organization of basement membranes. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8: 618-624.

16. Beck K, Hunter I, Engel J. Structure and function of laminin: anatomy of a multidomain glycoprotein. *FASEB J* 1990; 4: 148-160.
17. Jeanloz RW. The nomenclature of mucopolysaccharides. *Arthritis Rheum* 1960; 3: 233-250.
18. Balasz EA. Guide to nomenclature. In: Balasz EA ed. *Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix*. Academic Press; New York, 1967, 1-39.
19. Yamalik N, Kılınc K, Çağlayan F, Eratalay K, Çağlayan G. Molecular size distribution analysis of human gingival proteoglycans and glycosaminoglycans in specific periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 145-152.
20. Jackson DG, Bell JI, Dickinson R, Timans J, Shields J, Whittle N. Proteoglycan forms of the lymphocyte homing receptor CD44 are alternatively spliced variants containing the v3 exon. *J Cell Biol* 1995; 128: 673-685.
21. Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987; 48: 549-554.
22. Hakkinen L, Uitto V-J, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol 2000* 2000; 24: 127-152.
23. Graber H-G, Conrads G, Wilharm J, Lampert F. Role of interactions between integrins and extracellular matrix components in healthy epithelial tissue and establishment of a long junctional epithelium during periodontal wound healing: a review. *J Periodontol* 1999; 70: 1511-1522.
24. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25.
25. Hormia M, Ylänne J, Virtanen E. Expression of integrins in human gingiva. *J Dent Res* 1990; 69: 1817-1823.
26. Tuckwell DS, Humphries MJ. Molecular and cellular biology of integrins. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993; 15: 149-171.
27. Rouslahti E, Pierschbacher MD. New perspective in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 1987; 238: 491-497.
28. Larjava H, Haapasalmi K, Salo T, Wiebe C, Uitto V-J. Keratinocyte integrins in wound healing and chronic inflammation of the human periodontium. *Oral Dis* 1996; 2: 77-86.
29. Schwartz MA. Transmembrane signalling by integrins. *Trend Cell Biol* 1992; 2: 304-308.
30. Reynolds JJ, Meikle MC. The functional balance of metalloproteinases and inhibitors in tissue degradation: relevance to oral pathologies. *J R Cell Surg Edinb* 1997; 42: 154-160.
31. Birkedal-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 197-250.
32. Sorsa T, Suomalainen K, Uitto VJ. The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases. *Arch Oral Biol* 1990; 35: S193-S196.
33. Overall CM, Wrana JL, Sodek J. Induction of formative and resorptive cellular phenotypes in human gingival fibroblasts by TGF- β 1 and concanavalin A: regulation of matrix metalloproteinases and TIMP. *J Periodont Res* 1991; 26: 279-282.
34. Sodek J, Overall CM. Matrix metalloproteinases in periodontal tissue remodeling. *Matrix* 1992; Supp 1: 352-362.
35. Irwin CR, Schor SL, Fergusson MJW. Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are mediated by the extracellular matrix. *J Periodont Res* 1994; 29: 309-317.
36. Fries KM, Bleiden T, Looney J, et al. Evidence of fibroblast heterogeneity and the role of fibroblast subpopulations in fibrosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1994; 72: 283-292.
37. Gemmell E, Walsh LJ, Savage NW, Seymour GJ. Adhesion molecule expression in chronic inflammatory periodontal disease tissue. *J Periodont Res* 1994; 29: 46-53.
38. Gürses N, Thorup AK, Reibel J, Carter GW, Holmstrup P. Expression of VLA-integrins and their related basement membrane ligands in gingiva from patients of various periodontitis categories. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 217-224.
39. Bartold PM, Page RC. The effect of chronic inflammation on gingival connective tissue proteoglycans and hyaluronic acid. *J Oral Pathol* 1986; 15: 367-374.
40. Haapasalmi K, Makela M, Oksala O et al. Expression of epithelial adhesion proteins and integrins in chronic inflammation. *Am J Pathol* 1995; 147: 193-206.
41. Guilianì AL, Spisani S, Cavalletti T, et al. Fibroblasts increase adhesion to neutrophils after stimulation with phorbol ester and cytokines. *Cell Immunol* 1993; 149: 208-222.
42. Murakami S, Shimabukuro Y, Saho T, et al. Immunoregulatory roles of adhesive interactions between lymphocytes and gingival fibroblasts. *J Periodont Res* 1997; 32: 110-114.
43. Pilcher BK, Wang M, Qin XJ, Parks WC, Senior RM, Welgus HG. Role of matrix metalloproteinases and their inhibition in cutaneous wound healing and allergic contact hypersensitivity. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 878: 12-24.

44. Richards DW, MacPhail LA, Dekker N, et al. Expression of laminin 5, fibronectin, and epithelium-associated integrins in recurrent aphtous ulcers. *J Dent Res* 1996; 75: 1512-1517.
45. Hassell T, Hefti A. Drug-induced gingival overgrowth: old problem, new problem. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2: 103-137.
46. Romanos GE, Strub JR, Bernimoulin J-P. Immunohistochemical distribution of extracellular matrix proteins as a diagnostic parameter in healthy and diseased gingiva. *J Periodontol* 1993; 64: 110-119.
47. Narayanan A, Hassell T. Characterization of collagens in phenytoin-enlarged human gingiva. *Matrix* 1985; 5: 513-518.
48. Ballard JB, Butler WT. Proteins of the periodontium. Biochemical studies on the collagen and noncollagenous proteins of human gingiva. *J Oral Pathol* 1974; 3: 176-184.
49. Seymour RA, Thomason JM, Ellis JS. The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 165-175.
50. Schincaglia G, Forniti F, Cavallini R et al. Cyclosporin-A increases type I procollagen production in human gingival fibroblasts in vitro. *J Oral Pathol* 1992; 21: 181-185.
51. Tipton D, Stricklin G, Dabbous M. Fibroblast heterogeneity in collagenolytic responses to cyclosporine. *J Cell Biochem* 1991; 46: 152-165.
52. Saito K, Mori S, Iwakura M et al. Immunohistochemical localization of transforming growth factor beta, basic fibroblast growth factor and heparan sulphate glycosaminoglycan in gingival hyperplasia. *J Periodont Res* 1996; 31: 545-555.
53. Overall CM. Regulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase expression. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 732: 51-64.
54. Hassell T. Evidence for production of an inactive collagenase by fibroblasts from phenytoin-enlarged human gingiva. *J Oral Pathol* 1982; 11: 313-317.
55. Vernillo AT, Schwartz NB. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production by phenytoin (5.5-diphenylhydantoin) in monolayer cultures of mesenchmal cells derived from embryonic chick sternae. *Arch Oral Biol* 1986; 31: 819-823.

Yazışma Adresi:

Dr. Nurcan BUDUNELİ
Ege Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
35100 Bornova, İZMİR
Tel. : (232) 388 11 05
Faks : (232) 388 03 25
E-posta: nurcan@bornova.ege.edu.tr