



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

GİNGİVAL DOKULARDA PERİODONTAL TEDAVİNİN
UBİKUİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI PROTEİNLERİNİN SEVİYESİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Arş. Gör. Onur Canpolat

Periodontoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Danışman

Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN

TOKAT-2021



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

GİNGİVAL DOKULARDA PERİODONTAL TEDAVİNİN
UBİKUİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI PROTEİNLERİNİN SEVİYESİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Arş. Gör. Onur Canpolat

Periodontoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Danışman

Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN

TOKAT-2021

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(02/07/2021)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Onur CANPOLAT

İmzası

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez dönemim boyunca her konuda yol göstericiliğini ve deneyimini benden esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız ve değerli danışman hocam Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE'ye;

Uzmanlık eğitimim süresince gerek klinik gerek akademik bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve tez döneminde yardımlarını esirgemeyen, eş danışman hocam Dr. Doç. Dr. Mehmet Murat TAŞKAN'a;

Uzmanlık eğitimimin ilk gününden itibaren öğreticiliği ve desteğini üzerimde hep hissettiğim, her konuda keyifli sohbetler edebildiğim değerli hocam Doç. Dr. Özkan KARATAŞ'a;

Tez dönemim boyunca klinik ve laboratuvar aşamalarında yardımlarını esirgemeyen başta Uzm. Dt. Aslı Keskin ve Arş. Gör. Sultan Taştan olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma;

Uzmanlık dönemim boyunca arkadaşlığı ve iyi niyeti ile daimi bir dostum olan Uzm. Dt. Emre LAFCI ve tüm tez dönemi zorluklarını birlikte sırtlandığımız çok sevdiğim arkadaşım Arş. Gör. Damla ÇELİK'e;

Tanıştığımız günden itibaren fikirleri ve bakış açısıyla bana yol gösteren ve benim için ayrı bir yeri olan çok sevdiğim değerli abim Uzm. Dt. Mustafa DİLLİ'ye;

Bu günlere gelmemi sağlayıp beni koşulsuz seven ve varlıklarını hep yanımda hissettiğim annem, babam ve biricik kardeşime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve olacağını bildiğim, hayatta ki en büyük şansım Sema SERİN iyi ki hayatımdasın.

ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında sağlıklı ve hastalıklı periodontal dokularda ubikuitin-proteozom sistemi (UPS) proteinlerinin diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) seviyelerini belirlemek ve periodontal tedavinin bu seviyelere etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya periodontal olarak sağlıklı 15 birey, periodontitis teşhisi almış 15 hasta ve aynı periodontitis hastalarının Faz-1 periodontal tedavilerinin yapılmasıyla oluşturulan toplamda 3 grupta yer alan 30 birey dahil edildi. Hastaların Faz-1 tedavileri öncesinde DOS örnekleri alındı. Faz-1 tedaviden 6 hafta sonra enflamasyon bulgularında gerileme olan periodontitis hastalarından tekrar DOS örnekleri alındı. Örnekler ELISA (Enzime Bağlı İmmünosorban Deneyi) yöntemi ile incelendi. Bütün gruplarda DOS örneklerinde ubikuitin-proteozom yolağı proteinleri olan Ub, E1, E2, E3, A20 ve UCHL1 seviyeleri incelendi.

Bulgular: Gruplar arası yaş ve cinsiyet değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak farklılık bulunmamaktadır. Klinik ataçman seviyesi (KAS), gingival indeks(Gİ) ve plak indeksi (Pİ) değerlendirildiğinde, sağlıklı grup, periodontitis grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). E1 ve E3 seviyeleri değerlendirildiğinde, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ub seviyeleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası grubundan düşük bulundu. E2 seviyeleri sağlıklı grubunda, tedavi sonrası grubundan düşük bulundu. A20 seviyesi periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere oranla daha düşük bulunmuştur. Ek olarak A20 seviyesi periodontal tedavi sonrasında, periodontal tedavi öncesine göre daha düşük tespit edilmiştir. UCHL1 seviyeleri sağlıklı grupta, tedavi sonrası grubundan düşük bulunmuştur.

Sonuçlar: Bu çalışmada periodontitisli ve sağlıklı bireylerden elde edilen DOS ve örneklerinde periodontal tedavinin UPS proteinlerin seviyelerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte UPS'nin enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin patogeneğinde önemli bir rolü olduğu düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Ubikuitin, UPS, Periodontal Tedavi

Onur CANPOLAT, Uzmanlık Tezi

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Tokat, 2021

ABSTRACT

Objective: In this thesis, it was aimed to determine the levels of ubiquitin-proteosome pathway (UPP) proteins in the gingival crevicular fluid (GCF) in healthy and diseased periodontal tissues and to examine the effect of periodontal treatment on these levels.

Method: This study included 15 periodontally healthy individuals, 15 patients diagnosed with periodontitis, and 30 individuals in 3 groups in total, formed by the Phase-1 periodontal treatment of the same periodontitis patients. GCF samples were taken before the Phase-1 treatments of the patients. GCF samples were taken again from periodontitis patients who had regression in signs of inflammation 6 weeks after phase-1 treatment. The samples were analyzed by ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) method. The levels of ubiquitin-proteosome pathway proteins Ub, E1, E2, E3, A20 and UCHL1 were examined in GCF samples in all groups.

Results: When the age and gender were evaluated between the groups, there was no statistical difference. When probing pocket depth (PPD), gingival index (GI) and plaque index (PI) were evaluated, the healthy group was found to be significantly lower than the periodontitis group ($p < 0.05$). When E1 and E3 levels were evaluated, no statistically significant difference was found between the groups. Ub levels were lower than the pre-treatment and post-treatment groups. E2 levels were lower in the healthy group than in the post-treatment group. A20 level was found to be lower in individuals with periodontitis than in healthy individuals. In addition, A20 level was found to be lower after periodontal treatment than before periodontal treatment. UCHL1 levels were lower in the healthy group than in the post-treatment group.

Conclusion: In this study, it was observed that periodontal treatment was effective on the levels of UPP proteins in DOS and samples obtained from periodontitis and healthy individuals. However, UPP can be considered to have an important role in the pathogenesis of periodontitis, an inflammatory disease.

Keywords: Ubiquitin, UPP, Periodontal Treatment

Onur CANPOLAT, Thesis

Tokat Gaziosmanpaşa University, The Faculty of Dentistry

Tokat, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PERİODONSİYUM.....	4
2.1.1. Diş Eti	5
2.1.2. Periodontal Ligament.....	6
2.1.3. Sement.....	6
2.1.4. Alveol Kemiği.....	7
2.2. PERİODONTAL DOKULARDA SAĞLIK.....	9
2.3. PERİODONTAL DOKULARDA HASTALIK	11
2.3.1. Gingivitis.....	17
2.3.2 Periodontitis	17

2.3. PERİODONTAL HASTALIK SINIFLAMASI	18
2.4. PERİODONTAL TEDAVİ.....	23
2.4.1. Periodontal Tedavi Sonrası İyileşme	27
2.5. PROTEİN SENTEZİ POSTTRANSLASYONEL MODİFİKASYONLAR VE UBİKÜİTİN-PROTEOZOM YOLAĞI	29
2.6. UBİKÜİTİN-PROTEOZOM YOLAĞI.....	31
2.6.1. Ubikuitin	31
2.6.2. Ubikuitinasyon	33
2.6.3. Deubikuitinasyon	34
2.6.4. Proteozom	36
2.6.5. Ubikuitin-Proteozom Yolağının Klinik Önemi.....	39
2.7. DİŞ ETİ OLUĞU SIVISI.....	43
2.8. AMAÇ VE HİPOTEZ.....	45
3. MATERYAL VE METOD.....	46
3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ.....	46
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	47
3.3. KLİNİK PERİODONTAL VERİLER	48
3.4. DİŞ ETİĞİ OLUĞU SIVISI TOPLANMASI.....	49
3.5. ELİSA ANALİZİ	50
3.6. İSTATİSTİKSEL VERİLER	52
4. BULGULAR.....	54

4.1. DEMOGRAFİK BULGULAR	54
4.2. KLİNİK BULGULAR	54
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR	56
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKLAR	70
EK-1	106
EK-2	107

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Periodontal Hastalıklar ve Durumlar.....	18
Tablo 4.1: Çalışma Gruplarında Demografik Bulgular.....	54
Tablo 4.2: Çalışma Gruplarında Klinik Bulgular.....	54
Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Ubikuitin-Proteozom Yolağı Biyobelirteçleri ELİSA Analizleri.....	56



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Periodonsiyumun Elemanlarının Şematik Gösterimi.....	4
Şekil 2.2: Sağlıklı ve Hastalıklı Periodonsiyumun Şematik Gösterimi.....	11
Şekil 2.3: Periodontal Hastalık Şeması.....	13
Şekil 2.4: Supragingival ve Subgingival Diş Taşı Temizliği.....	26
Şekil 2.5: Proteinlerin Katlanma Formasyonları.....	30
Şekil 2.6: Ubikuitin-Proteozom Yolağı.....	34
Şekil 2.7: Ubikuitin-Proteozom Yolağı Enzimleri.....	40
Şekil 3.1: Kağıt Bant ile DOS Toplanması.....	50
Şekil 3.2: ELİSA Optik Okuyucusu ve 96 Kuyucuklu Plaka.....	51
Şekil 3.3: ELİSA Standard Solüsyon Hazırlanışı.....	52
Şekil 4.1: Ubikuitin ELİSA Seviyeleri.....	57
Şekil 4.2: E1 ELİSA Seviyeleri.....	58
Şekil 4.3: E2 ELİSA Seviyeleri.....	58
Şekil 4.4: E3 ELİSA Seviyeleri.....	59
Şekil 4.5: A20 ELİSA Seviyeleri.....	59
Şekil 4.6: UCHL1 ELİSA Seviyeleri.....	60

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

°: Derece

°C: Selsiyus

μL: Mililitre

A.a.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

A20: Ubikuitin Düzenleyici Faktör

APC: Anafaz Teşvik Edici Kompleks

BMP: Kemik Morfojenik Protein

CDK: Siklin Bağımlı Kinaz

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DOS: Diş Eti Oluğu Sıvısı

DUB: Deubikuitinasyon Enzimleri

E1: Ubikutin Aktive Edici Enzim

E2: Ubikuitin Bağlayıcı Enzim

E3: Ubikuitin Protein Ligaz

ELISA: Enzime Bağlı İmmünosorban Deneyi

Gİ: Gingival İndeks

GM-CSF: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör

IFN-γ: İnterferon-γ

IL-1: İnterlökin-1

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-6: İnterlökin-6

IL-8: İnterlökin-8

KAS: Klinik ataçman seviyesi

kDa: Kilodalton

mm: Milimetre

mRNA: Haberci Ribonükleik Asit

NF-kB: Nükleer Faktör Kappa-B

OPG: Osteoprotegerin

P.gingivalis: Porphyromonas gingivalis

PBS: Fosfat Tampon Solüsyonu

PDL: Periodontal Ligament

PGE2: Prostaglandin E2

PI: Plak İndeksi

PTM: Posttranslasyonel Modifikasyon

RANK: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatörü

RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Ligandı

T.forsythia: Tannerella forsythia

TGF- β 1: Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1

Th1: Yardımcı T Hücresi 1

Th17: Yardımcı T Hücresi 17

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü- α

TNF: Tümör Nekroz Faktör

Ub: Ubikuitin

UBP: Ubikuitine Özgü Spesifik İşleme Proteazları

UCHL1: Ubikuitin Karboksi-Terminal Hidrolaz İzozim L1

UPS: Ubikuitin-Proteozom Sistemi



1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, bakteri plağı birikimi ve bu mikrobiyal plağın konak doku cevabını uyarmasıyla başlar (Silva ve ark., 2015). Periodontitis, primer etyolojisinde disbiyotik ekolojik değişikliğe uğramış mikrobiyal dental plağın olduğu, konak aracılı enflamasyon ve progresif periodontal ataçman kaybı ile karakterize, enflamatuvar, enfeksiyöz ve destrüktif bir periodonsiyum hastalığıdır (Tonetti, Greenwell, ve Kornman, 2018). Periodontitiste, diş etinde enflamasyon, cep oluşumu, periodontal ataçman ve kemik kaybı, diş etinde ödem ve renk değişikliği, diş eti kanaması klinik bulgular arasında gösterilmiştir. Biyofilm yoğun olarak anaerobik bakterilerden oluşur ve bu bakteri türleri yerel, sistemik, immün ve enflamatuvar yanıtı tetikler (Colombo ve ark., 2016). Bu sürecin gerçekleşmesi için bakterilere gereksinim olmasına rağmen sadece bakteri varlığı yeterli değildir; bakterilere karşı gelişen konak yanıtının periodontal hastalıkta önemli bir rol aldığı bilinmektedir (Taubman ve ark., 2005). Periodontal tedavinin enflamasyon bulgularını azalttığı ve diş eti dokularındaki enflamasyon biyobelirteçlerinde değişiklik yarattığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Holmlund, Hånström, ve Lerner, 2004; Oh ve ark., 2015). Diş eti oluşu sıvısı (DOS), diş etini dişe bağlayan birleşim epiteli adı verilen özelleşmiş bir epitel dokusunun hücrelerarası sıvısıdır (Barros ve ark., 2016). Bu sıvı, diş-diş eti birleşiminden koronal yönde ağız içerisine akmaktadır. Enflamasyon varlığında damar sayısı ve geçirgenliğinde oluşan artış nedeniyle serum proteinleri epitel dokusuna geçmekte ve DOS bileşimi değişmektedir. DOS, diş etinde oluşan enflamasyon ve ilgili değişiklikleri belirlemek için kullanılan bir sıvıdır ve diş eti biyopsi örnekleri gibi

ilgili dokudaki biyokimyasal değişiklikler hakkında önemli bilgiler sağlar (Wang ve Maldonado, 2006).

Ubikuitinasyon fonksiyonunu tamamlamış veya hatalı üretilmiş proteinlerin yıkımını sağlayan sistemdir (Sun ve Chen, 2004). Aynı zamanda hücre büyümesi, canlılığı, hücre döngüsü düzenleme, DNA onarımı, morfogenez, sinyal ve bağışıklık fonksiyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Kliza ve Husnjak, 2020). Periodontal hastalığın ilerlemesiyle apoptozun, hücre proliferasyonunun ve doku yıkımının arttığı bilinmektedir (Abuhussein ve ark., 2014; Kinane ve Lappin, 2001). Hücre içi ve hücre dışı proteinlerin patolojik olarak yıkımında, ubikuitin-proteazom sistemi (UPS) önemli bir rol oynar (Ciechanover, 1998). Ek olarak, bir dokuda ubikuitin-proteozom yolağının aktivitesindeki bozukluklar dokuda işlevsizliğe yol açabilir (Versari ve ark., 2006; Wang ve Maldonado, 2006). Şiddetli bağ doku ve alveol kemik yıkımına neden olan kronik enflamatuvar bir hastalık olarak periodontitis patogeneğinde ubikuitinasyon sisteminin ne derece rol aldığı henüz netleşmemiştir. Buna bağlı olarak bu araştırmanın hipotezi, protein yıkımını sağlayan ubikuitinasyon sistemi proteinlerinin şiddetli doku yıkımının olduğu periodontal dokularda daha yüksek seviyelerde bulabileceği yönünde kurulmuştur.

Bu nedenle; bu araştırmanın amacı; ubikuitin-proteozom yolağı proteinlerinin DOS seviyelerini belirlemek ve periodontal tedavinin bu seviyelere etkisini araştırmaktır.

Bu amaca ulaşmak için aşağıdaki proteinlerin seviyesinin ELISA ile belirlenmesi hedeflenmiştir. Bunlar; Ubikuitin(Ub), Ubikuitin aktive edici enzim (E1), Ubikuitin

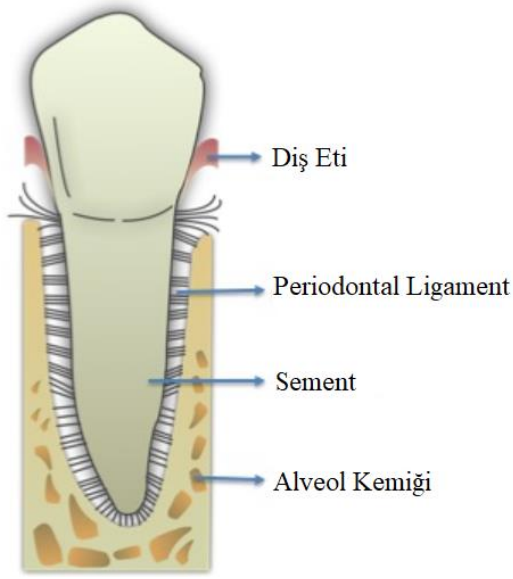
bağlayıcı enzim (E2), Ubikuitin protein ligaz (E3), Ubikuitin düzenleyici protein (A20), Ubikuitin karboksi-terminal hidrolaz izozim L1 (UCHL1)'dir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. PERİODONSİYUM

Periodonsiyum, iki sert doku, iki yumuşak dokudan oluşmaktadır bunlar; sement, alveol kemiği, diş eti ve periodontal ligamenttir (PDL). Bu dört temel yapı dişlerin fonksiyonunu sağlayan bir organ sistemi olarak düşünülebilir (Bartold ve Narayanan, 1998). Periodonsiyumun ana işlevi, dişleri çenelerin kemik dokusuna tutturmak ve ağız boşluğunun çiğneme mukozasının yüzeyinin bütünlüğünü korumaktır (Lang ve Lindhe, 2015).



Şekil 2.1: Periodonsiyumun Elemanlarının Şematik Gösterimi (Perillo ve ark., 2020)

2.1.1. Diş Eti

Diş eti, alveolar kemiği örten ve dişlerin servikal kısmını çevreleyen çiğneme mukozasının bir parçasıdır (Lindhe, Lang, ve Karring, 2003). Normal diş eti soluk pembe renktedir (somon veya mercan pembesi) ve apikal olarak oral mukozadan (genellikle koyu kırmızı renkte) mukogingival hat ile ayrılır; bu hat klinik olarak keratinizasyon ve pigmentasyon derecesine bağlı az veya daha çok belirgin olarak görülebilir (HASSELL, 1993). Diş eti anatomik olarak marjinal, yapışık ve interdental olmak üzere üç kısma ayrılmıştır. Diş eti türlerinin, fonksiyonlarına göre farklılaşma, histoloji ve kalınlıkta önemli farklılıkları olsa da, mekanik ve mikrobiyal hasara karşı işlev görecektir şekilde özel bir yapıya sahiptir (Ainamo ve Talari, 1976). Marjinal veya serbest diş eti, dişleri yaka benzeri bir şekilde çevreleyen diş etidir (Ainamo ve Löe, 1966). Marjinal diş eti diş çevresinde bulunan ve gingival sulkusu oluşturan diş eti bölümüdür. Diş yüzeyinden periodontal sond ile ayrılabilir (Mattos ve Santana, 2008). Gingival sulkus, diş ve marjinal diş eti arasında bulunan sıkı boşluktur. V şeklindedir ve periodontal sondanın girişine zar zor izin verir. Diş eti sulkusunun derinliğinin klinik olarak belirlenmesi, sondalama cep derinliği olarak ifade edilir, önemli bir tanı parametresidir (Gottlieb, 1933). Serbest diş etini takip eden diş eti bölümü ise marjinal diş eti olarak adlandırılır ve sağlam, dirençli ve alveol kemiğin altta yatan periosteumuna sıkıca bağlıdır (Newman ve ark., 2011).

2.1.2. Periodontal Ligament

PDL, diş kökünü çevreleyip, alveol kemiğin iç duvarına bağlayan bir vasküler ve hücreli olarak özelleşmiş bağ dokusundan oluşur (McKee, Zalzal, ve Nanci, 1996). PDL'nin işlevleri şunlardır;

1. Oklüzal kuvvetlerin kemiğe iletilmesi,
2. Dişlerin kemiğe tutturulması,
3. Aşırı oklüzal kuvvetlerin neden olabileceği doku hasarına karşı direnç,
4. Propriyosepsiyon duyusu,
5. Kan damarları yoluyla semente, kemiğe ve diş etine besin sağlar (Newman, Takei ve ark., 2011).

2.1.3. Sement

Sement, kökün dış örtüsünü oluşturan kalsifiye avasküler mezenşimal dokudur (Gottlieb, 1942). Lokalizasyonu, hücreliliği ve lif içeriğine bağlı olarak birkaç sement türü tanımlanmıştır. Bu farklılıklara göre sement; ara sement (intermediat sement, mine-sement birleşiminde), aselüler sement (kökün koronal ve orta kısımlarında) ve selüler sement (sementoblast içeren bu kısım kökün apikal ve radiküler kısımlarında) olarak sınıflandırılır (Saygin, Giannobile, ve Somerman, 2000). Sement matriksi organik ve inorganik komponentlerden oluşur. Sement içeriğinde, kalsifiye sharpey liflerini, kollajenleri, proteoglikanları, glikozaminoglikanları ve inorganik hidroksiapatit minerallerini bulundurur (Birkedal-Hansen, Butler, ve Taylor, 1977; Romanos ve ark., 1991; Schroeder, 1992; Zhang ve ark., 1993).

2.1.4. Alveol Kemiği

Alveol kemiği, maksilla ve mandibulanın diş soketlerini oluşturan ve destekleyen kısmıdır. Alveol kemiği dişler sürerken dişlerin PDL aracılığıyla kemiğe bağlanmasıyla oluşur, dişlerin kaybı sonucunda alveol kemiği de yavaş yavaş kaybolur (Newman, Takei ve ark., 2011). Alveol kemiğin % 23'ü mineralize dokudur; % 37'si çoğunlukla kolajen olan organik matristir ve diğer % 40'ı sudur (Letty, 1997). İnorganik kısmı büyük oranda kalsiyum ve fosfat minerallerinden oluşmuştur. Bunların yanında; hidroksil, karbonat, sitrat ve eser miktarda sodyum, magnezyum gibi iyonları da içermektedir (Monje ve ark., 2015). Organik matriks esas olarak tip I kollajenden (% 90) oluşmuştur. Kollajenin yanı sıra daha az miktarda kollajen yapıda olmayan; osteokalsin, osteonectin, kemik morfojenik protein (BMP), fosfoprotein ve proteoglikanlar gibi proteinleri içerir (Muhlemann, Zander, ve Halberg, 1954; Ritchey ve Orban, 1953; Tompkins, 2016).

Alveol kemik dokusu çocukluktan yetişkin yaşamına kadar yaklaşık olarak aynı formda olsa da sürekli olarak yeniden şekillendirmeye uğrar. Alveol kemiğindeki yeniden şekillendirme sayesinde; osteoblastlar yeni kemik oluştururken, osteoklastlar kemik yıkımı sağlayarak dengeyi oluştururlar. Yeniden şekillendirmeye sayesinde dokudaki kalsiyum ve fosfat homeostazı sağlanır (Ogasawara ve ark., 2004; Sodek ve Mckee, 2000). Kemik oluşumunu etkileyen birçok büyüme ve farklılaşma faktöründen, kemik morfojenetik proteinleri kemik oluşumu üzerinde en önemli etkiye sahiptir (Wozney, 1992).

Kemik rezorpsiyonu ve depozisyonu arasındaki dengesizlik, sırasıyla osteoporoz ve osteopetroz gibi patolojik durumlara neden olur (Feng ve McDonald, 2011). Aşırı

osteoklast aktivasyonundan kaynaklanan patolojik kemik kaybı, kronik veya akut enflamasyondan da kaynaklanabilir (Arron ve Choi, 2000). Osteoklastlar aktif hale geçtiklerinde, çeşitli enzimler salgılamaya başlarlar ve bu enzimler aracılığıyla kemiği parçalarlar (VAEs, 1988). Kemik rezorpsiyonu organik ve inorganik matriksin rezorbe olması ile gerçekleşir. Bu iki matriksin rezorbe olması farklı mekanizmaları içerir. Organik matriksin rezorpsiyonu hidrolitik enzimlerin salgılanmasıyla, inorganik matriksin rezorpsiyonu ise kemik yüzeyinde asidik bir ortam oluşturulmasını içerir (Kini ve Nandeesh, 2012).

Kemik rezorpsiyonunu düzenleyen hücreler arası etkileşimde rol alan moleküler mekanizmalar 1990'ların sonlarında açıklığa kavuşmuştur. Tümör nekroz faktörü (TNF) süper ailesinin bir üyesi olan nükleer faktör kappa-B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL), osteoklast farklılaşmasının ve kemik rezorpsiyonunun uyarılmasından sorumlu bir faktör olarak tanımlanmıştır (Kong ve ark., 1999; Lacey ve ark., 1998). RANKL, osteoblastlar, fibroblastlar veya aktive T ve B hücreleri tarafından salgılanır (Ikeda ve ark., 2001). RANKL pre-osteoklastların yüzeyinde ki aynı kökenli nükleer faktör kappa-B (NF-kB) reseptör aktivatörünü (RANK) aktive ederek, osteoklast farklılaşmasını ve füzyonunu sağlar, böylece kemik rezorpsiyonunu başlatır (Teitelbaum ve Ross, 2003). RANKL'in etkisi, TNF reseptör süper ailesinin bir üyesi olan osteoprotegerinin (OPG) RANK'a bağlanması ile bloke edilebilir (Simonet ve ark., 1997). OPG'nin RANKL'a bağlanması, osteoklast farklılaşmasına ve kemik rezorpsiyonuna yol açan tüm moleküler olayları önler (Lerner, 2006). Artmış RANKL veya azalmış OPG lokal ekspresyonu, insan iskeletinin çeşitli bölgelerinde kemik resorpsiyonuna neden olabilir. Tersine, azalmış RANKL veya artmış OPG ekspresyonu,

osteopetrotik koşullara yol açan artmış kemik oluşumuyla sonuçlanabilir (Vega, Maalouf, ve Sakhaee, 2007).

Fizyolojik koşullar altında, periodonsiyumdaki RANKL, mezenkimal hücreler, özellikle osteoblastlar ve PDL hücreleri tarafından eksprese edilir (Kajiya ve ark., 2010). RANKL ekspresyonu aynı zamanda, diş sürmesi sırasında periodonsiyumun oklüzal kuvvetlere adaptasyonu için fizyolojik bir role sahiptir (Wise ve ark., 2000). Sağlıklı periodonsiyumda, OPG periodontal bağ doku fibroblastları ve endotel hücreleri tarafından sürekli üretilir (Kobayashi-Sakamoto ve ark., 2004). Periodontal hastalıkta RANKL'ın birincil kaynağı, yardımcı T hücreleri 1 ve 17 (T-helper1, Th1 veya T-helper17, Th17) hücrelerinin yanı sıra B hücreleridir (Han ve ark., 2009; Vernal ve ark., 2006). Bununla birlikte, bakteriyel tehdit altındaki tüm mezenkimal hücreler RANKL eksprese edebilir (Belibasakis ve ark., 2007; Kajiya, Giro ve ark., 2010). RANKL-OPG sisteminin periodontal hastalıktaki rolünü gösteren çalışmalarda, periodontitisten etkilenen dokularda sağlıklı diş eti dokusuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek RANKL ve daha düşük OPG seviyeleri olduğu gösterilmiştir (Crotti ve ark., 2003). RANK/RANKL sinyal yolaklarının düzenlenmesi UPS tarafından kontrol edilir (Ang ve ark., 2009).

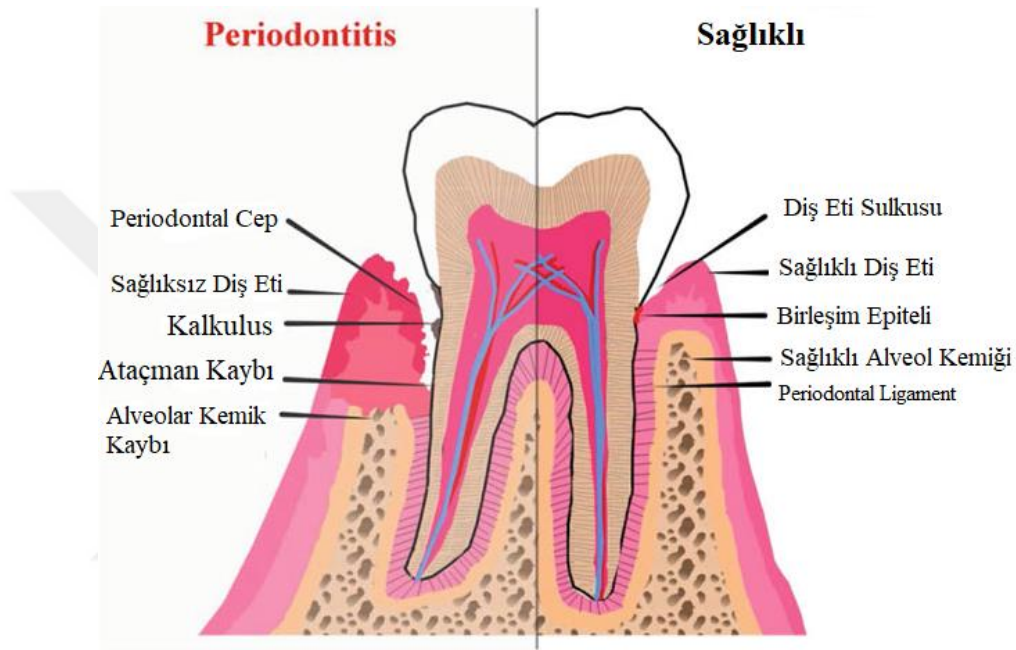
2.2. PERİODONTAL DOKULARDA SAğLIK

"Sağlık, yalnızca hastalık veya sakatlığın olmaması değil tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal iyilik halidir." Dünya Sağlık rgt'nün bu tanımına uygun olarak, periodontal sağlık, bir bireyin normal şekilde fonksiyon görmesine izin veren ve geçmişteki bir

hastalığın sonuçları nedeniyle herhangi bir zihinsel veya fiziksel yoksunluğa maruz kalmayan, enflamatuvar periodontal hastalıktan arınmış bir durum olarak tanımlanmalıdır (Lang ve Bartold, 2018a). Periodontal sağlık yalnızca plak / bakteri seviyelerinin kontrolü bağlamında ele alınmamalı, aynı zamanda sağlığın kazandırılması ve sürdürülmesinin yanı sıra hastalığın ortaya çıkmasından sorumlu tüm faktörlerin bütüncül bir değerlendirmesini içermelidir (Zaura ve Jacob, 2015). Bozulmamış haliyle, periodontal sağlık, periodontal enflamasyonun histolojik kanıtının olmaması ve periodonsiyumda anatomik değişiklik belirtisi olmaması olarak tanımlanmalıdır. Ancak, periodontal dokuların anatomik ve fizyolojik özellikleri dikkate alındığında histolojik olarak sağlıklı durum mümkün değildir. Bu nedenle periodontal sağlık, klinik olarak sağlıklı periodontal dokuları ifade eder ve anatomik olarak sağlam veya azalmış periodonsiyumda klinik olarak enflamasyon yokluğunu (veya çok önemli ölçüde azalmasını) kapsayacak şekilde ifade edilir (Lang ve Bartold, 2018a). Sağlıklı periodontal dokular, ataçman kaybı olmaması, sondalamada kanama olmaması, sondalama derinliğinin 3 mm'den fazla olmaması ve kızarıklık, ödem, pü varlığı gibi enflamasyon belirteçlerinin gözlenmemesi ile karakterizedir (Lang ve Bartold, 2018a).

Anatomik olarak sağlam bir periodonsiyumun radyografik özellikleri, sağlam bir lamina dura, furkasyon alanlarında kemik kaybı bulunmaması ve alveol kemik kret tepesinden, mine-sement birleşimine kadar olan mesafenin ortalama olarak 2 milimetreyi (mm) geçmemesi olarak tanımlanabilir (Axelsson, Lindhe, ve Nyström, 1991). İyi ağız hijyeni her zaman periodontal sağlığın temel dayanağı olarak kabul edilmiştir (Tonetti ve ark., 2015). İyi bir ağız hijyeni genellikle kişisel ağız bakımı ve düzenli profesyonel bakımın bir kombinasyonu ile elde edilir (Axelsson, Lindhe ve ark., 1991).

Ağız, sağlıklı bir konakçı ile simbiyoz içinde yaşayan önemli bir mikrobiyotaya sahiptir. Ağızdaki mikrobiyota yüzlerce aerobik ve anaerobik bakteri türü bulunur. Bu organizmalar, biyofilm içinde karmaşık, karışık, birbirine bağımlı koloniler halinde diş yüzeyinde büyür ve yüzeysel tabakalarda daha hareketli formda, daha derin tabakalarda ise yoğun ve dişe yapışık bir şekilde bulunur (Listgarten, 1976).

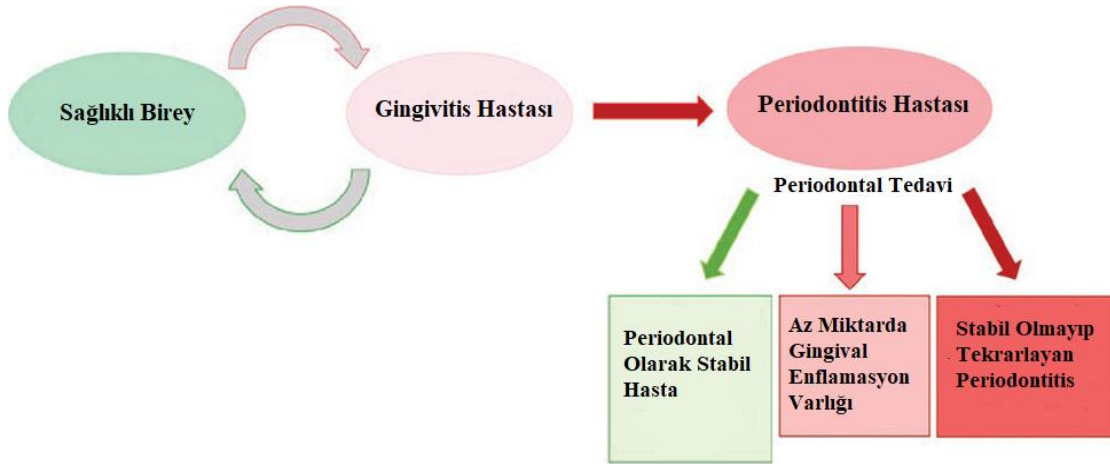


Şekil 2.2: Sağlıklı ve Hastalıklı Periodonsiyumun Şematik Gösterimi. Sağ tarafta sağlıklı periodontal doku, sol tarafta periodontitis durumunda ki diş taşı oluşumu, diş eti dokusu iltihabı, periodontal ataşman kaybı, periodontal cep oluşumu ve alveolar kemik kaybı ile etkileri (Xiao, Wu, ve Graves, 2016)

2.3. PERİODONTAL DOKULARDA HASTALIK

Periodontal hastalıklar, patojenik mikroorganizmalar ve konak immün cevabı arasındaki karmaşık etkileşimin bir sonucu olarak doku hasarına ve diş kaybına neden olan enflamatuvar bozukluklardır (Akalin, Toklu, ve Renda, 2005). Diş eti dokularının sağlığı veya iltihabının belirlenmesinde en sık kullanılan parametre sondalamada

kanamadır (Lang, Joss, ve Tonetti, 1996). Sondalamada kanama, kontrollü basınç ile diş eti sulkusu içinde sondalama yapılmasını içerir. Bunu takiben enflamasyon varlığında sulkus tabanındaki mikro ülserasyon alanlarında kanama gözlenir (Lang, Joss ve ark., 1996). Periodontal hastalık, ağız ortamında simbiyotik halde bulunan bakterilerin disbiyotik bir forma geçişiyle başlar (Elburki, 2018). Diş etinin hücresel ve moleküler bileşenleri disbiyotik mikrobiyotaya karşı oluşturulan savunma sisteminde görevlidirler (Honda ve ark., 2006). Gingival dokularda enflamasyon başladığında; pro-enflamatuvar hücre sayısında artış, kollajen ve fibroblast hücre sayısında azalma, kompleman sisteminin aktivasyonu ve granülasyon dokusu oluşumu gibi yapısal ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelir (Offenbacher, 1996). Disbiyotik mikrobiyata, periodontal hastalığın başlamasında önemlidir ancak periodontal hastalıktaki bağ dokusu yıkımı ve alveol kemik kaybının büyük bölümünden, konağın verdiği yanıt sorumludur (Devine, Marsh, ve Meade, 2015; Feng ve Weinberg, 2006). Periodontal dokularda bakteri varlığına karşı verilen enflamatuvar reaksiyon, sıklıkla bağ dokusu yıkımına ve kemik rezorpsiyonuna yol açar (Page, 1991).



Şekil 2.3: Periodontal Hastalık Şeması

Ağız boşluğunda en yaygın Gram-negatif bakteri türleri arasında *Treponema*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus* ve *Eikenella* bulunur (Socransky ve ark., 1998). Önceki çalışmalar, *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.a.*) ve *Tannerella forsythia* (*T.forsythia*) 'yı periodontal hastalıkta nedensel ajanlar olarak tanımlamıştır (Zambon, 1996). Periodontal hastalık üzerine yapılan araştırmaların çoğu bu mikroorganizmalara odaklanmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, daha yeni çalışmalar, ağız boşluğunun yaklaşık olarak 500-700 yaygın takson içerdiğini belirlemiştir; bu mikrobiyal topluluk, oral mikrobiyota, oral mikroflora veya oral mikrobiyom olarak adlandırılır (Dewhirst ve ark., 2010).

Dental plak, mikroorganizmaların hayatta kalmasına ve konakçı savunma mekanizmalarına veya antibiyotik tedavisine direnmesine izin verecek şekilde diş yüzeyine veya diğer mikroorganizmalara bağlanan organize bir mikroorganizma biyofilmidir (Mann ve Wozniak, 2012). Biyofilm olgunlaştıkça, mikrobiyal disbiyoz

meydana gelir ve Gram-pozitiften ağırlıklı olarak Gram-negatif anaerobik türlere ilerleyen bir kaymaya neden olur ve diş eti yüzeyi altında biyofilm oluşumuna neden olur (Rudney ve ark., 2015). Ek olarak, diş plağı biyofilmiyle şeker metabolizması, diş yüzeyinin pH'nın düşürülmesinde ve demineralizasyonunda önemli bir rol oynayan organik asitlerin üretimine yol açar (Leme ve ark., 2006).

Periodontal hastalığın gelişimi ve ilerlemesi, plakta *T. forsythia*, *T. denticola* ve *P. gingivalis* gibi spesifik Gram-negatif bakterilerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (How, Song, ve Chan, 2016). *P. gingivalis*'in oral tedaviden sonra subgingival plakta kalıcılığı periodontal hastalık için, progresif alveolar kemik kaybı ile ilişkilidir (Rajakaruna ve ark., 2018). Temel araştırma ve klinik kanıtlar, periodontal ceplerdeki yüksek sayıda diğer proteolitik gram-negatif bakterilerle birlikte *T. denticola* prevalansının periodontal hastalığın ilerlemesine yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (Sharma, 2010). Periodontal anaerobik patojenler arasında oral spiroketler, özellikle *T. denticola*, erken başlangıçlı periodontitis gibi periodontal hastalıklarla ilişkilidir. *T. denticola*, fibroblastlara ve epitel hücrelerine ve ayrıca periodontal dokularda bulunan hücre dışı matriks bileşenlerine yapışarak bakteriyel virülansı artıracak çeşitli faktörler üretir (Dashper ve ark., 2011). *Prevotella intermedia*, *P. gingivalis*'ten daha az virülan ve daha az proteolitik olan, kısa, yuvarlak, hareketsiz gram negatif anaerobik patojenik bir çubuktur (Socransky, Haffajee ve ark., 1998).

Hemolizin, hemaglutinin, proteolitik ve hidrolitik enzimler gibi çeşitli virülans faktörler bakterilerin ağız boşluğunda kolonize olmasına, konak savunmalarından

kaçmasına, bağışıklık yanıtlarını modüle etmesine ve doku yıkımına neden olmasına izin veren başlıca periodontal patojenlerdir (Eley ve Cox, 2003).

P. gingivalis bulunan epitel hücreleri apoptotik ölüme dirençlidir (Yılmaz, 2008). Önceki çalışmalar, periodontal patojenlerden lipopolisakkaridin (LPS), konak hücrelerini interlökin (IL) -1, IL-6, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi proenflamatuvar araçlar salgılamak için uyardığını göstermiştir (Jiang ve ark., 2013). *P. gingivalis*, aterosklerotik kalp hastalığı ve aspirasyon pnömonisi gibi belirli sistemik durumlarda yardımcı bir faktör olarak gösterilmiştir (Cullinan ve Seymour, 2013). Bu nedenle, *P. gingivalis*, moleküler düzeyde en yoğun şekilde incelenen oral organizmadır ve patojenitesi, sistein proteaz ve LPS gibi potansiyel virülans faktörlerine atfedilir (Cullinan ve Seymour, 2013). Periodontal patojenlerden LPS, konak hücreleri IL-1, TNF- α , IL-6 ve PGE2 gibi proenflamatuvar araçların üretimesi için uyarır ve bu da osteoblast hücrelerinde osteoklast farklılaşmasına yol açan RANKL reseptör aktivatörünü indükler (Mättö ve ark., 1996).

Periodontal Doku Homeostazı

Periodonsiyum, periodontal hastalıktan etkilenen dokulardaki sık turnover, yüksek mekanik stres seviyeleri ve enflamatuvar koşullar nedeniyle sürekli yeniden şekillendirmeye uğrayan oldukça dinamik bir mikro ortamdır. Periodontal dokularda oldukça yüksek kollajen turnoverı ve hücre dışı matriks yeniden şekillendirmesi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Bartold, 1995). Periodontal olarak sağlıklı bireylerde, matriks degradasyonu ve kemik rezorbsiyonu, yeni matriks ve kemik oluşumu ile bir denge içerisinde (Graves, Li, ve Cochran, 2011). Periodontal doku homeostazından sorumlu

anahtar hücreler, yeni PDL oluşturabilen periodontal progenitörlerdir (Dangaria ve ark., 2011). Bu periodontal progenitörler sadece mineralize olmayan PDL'yi korumakla kalmaz, aynı zamanda dişleri çenelere sabitleyen mineralize alveolar soketin bütünlüğünü de korur (Dangaria ve ark., 2009). Periodontal hastalığı olan bireylerde, anabolik ve katabolik süreçler arasındaki denge bozulur, bu da artan resorptif aktiviteye, azalmış yeni kemik oluşumuna neden olur (Redlich ve Smolen, 2012).

Homeostaz durumunda periodontal dokularda bulunan bakteriler ve bu bakterilere karşı verilen enflamatuvar yanıt minimal seviyededir. Ağız ortamındaki simbiyotik mikrobiyatanın, disbiyotik hale gelmesiyle homeostaz durumu enflamasyon lehine bozulur (Roberts ve Darveau, 2015). Bu dengenin bozulmasıyla supragingival ve subgingival plakta bulunan bakteriler, prostaglandinlerin, sitokinlerin ve kemokinlerin aktivasyonu yoluyla gingival dokularda enflamatuvar bir tepkiye neden olurlar (Darveau, 2010). Periodontal hastalık ilerlediğinde, ilk enflamatuvar yanıt periodontal bağ doku matriksinin parçalanmasıyla başlar, enflamatuvar reaksiyonun alevlenmesiyle alveol kemiğinde enflamasyondan etkilenir ve kemik kaybı meydana gelir (Bartold ve Van Dyke, 2013).

Oral bakterilere yanıt olarak, diş eti epitelinin en dış katmanları IL-8 ve β -defensin üretir (Chung ve ark., 2007; Lu ve ark., 2005). Periodontal dokularda artan enflamasyon artan IL-1 β , TNF ve prostoglandin gibi mediyatörlerin birikmesine neden olur. Sağlıklı durumda bu mediyatör seviyeleri çok daha düşüktür (Salvi, Beck, ve Offenbacher, 1998). Enflamasyonda eksprese edilen sitokinlerin yanı sıra, lökosit artışı, kompleman sistem

aktivasyonu ve artan reaktif oksijen türlerinin etkisiyle periodontal doku hasarı oluşur (Hajishengallis, 2015).

Periodontal dokulardaki enflamasyon başlıca iki enflamatuvar hastalığa yol açar. Bu hastalıklardan ilki gingivitis, diğeri ise periodontitistir (Fox, 1992).

2.3.1. Gingivitis

Gingivitis, dental biyofilm birikimi ile başlayan enflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilir (Trombelli ve ark., 2018). Diş eti kızarıklığı ve ödeminin yanı sıra periodontal ataçman kaybının olmaması ile karakterizedir (Murakami ve ark., 2018). Gingivitis genellikle ağrısızdır, nadiren kendiliğinden kanamaya yol açar ve genellikle hafif klinik değişikliklerle karakterizedir ve bu sebeplerden çoğu hastanın hastalığın farkına varamamasına neden olur (Blicher, Joshipura, ve Eke, 2005). Periodontitis ile karşılaştırıldığında, gingivitisin bir özelliği, diş biyofilmi uzaklaşmasından sonra enflamatuvar değişikliklerinin tamamen düzelmesi ve dokunun sağlığa kavuşmasıdır. Gingivitisin neden olduğu doku değişikliklerinin geri döndürülebilirliğine rağmen, biyofilm uzaklaştırılmazsa ve dokudaki enflamasyon uzun süre devam ederse, ataçman kaybı ve kemik kaybı ile karakterize bir hastalık olan periodontitise ilerleyebilir (Chapple ve ark., 2018).

2.3.2 Periodontitis

Periodontitis, belirli mikroorganizmaların veya belirli mikroorganizma gruplarının neden olduğu, dişlerin destek dokularının enflamatuvar bir hastalığı olarak

tanımlanır; bu hastalık, PDL ve alveol kemikte artmış sondalama derinliği oluşumu ve bunların aşamalı yıkımıyla sonuçlanır (Graves, Jiang, ve Genco, 2000). Periodontitisi gingivitisten ayıran klinik özellik, klinik olarak saptanabilir ataçman kaybının varlığıdır. Bu kayba sıklıkla periodontal cep oluşumu ve alttaki alveolar kemiğin yoğunluk ve yüksekliğindeki değişiklikler de eşlik eder (Newman, Takei ve ark., 2011). Dünyadaki yetişkin nüfusunun % 50'sinden fazlasını etkileyen ve yaşla birlikte artma eğiliminde olan bir hastalıktır (Petersen ve Ogawa, 2012).

2.3. PERİODONTAL HASTALIK SINIFLAMASI

Tablo 2.1: Periodontal Hastalıklar ve Durumlar

Periodontal Hastalıklar ve Durumlar		
Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar	Periodontitis	Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar
1. Periodontal Sağlık ve Gingival Sağlık 2. Plağa Bağlı Gingivitis 3. Plak Bağlı Olmayan Gingival Hastalıklar	1. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar 2. Periondontitis 3. Sistemik Hastalıkların Bir Belirtisi Olarak Periodontitis	1. Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Hastalıklar veya Durumlar 2. Diğer Periodontal Durumlar 3. Diş Etrafındaki Mukogingival Deformiteler ve Durumlar 4. Travmatik Okluzal Kuvvet 5. Plak Kaynaklı Diş eti Hastalıklarının ve Periodontitisi Modifiye Eden veya Yatkınlık Kazandıran Protezler ve Dişle İlgili Faktörler

Son 30 yılda, periodontitisin sınıflandırılması, ortaya çıkan bilimsel kanıtlarla uyumlu hale getirilmesi amacıyla defalarca değiştirilmiştir. 2017 çalışmayı, patofizyoloji hakkındaki mevcut bilgilerle tutarlı olarak, periodontitisin üç formunun tanımlanabileceğini kabul etti bunlar; periondontitis, nekrotizan periodontitis, sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitistir.

Sınıflandırmanın gözden geçirilmesinde konsensus, yeni kanıt ortaya çıktıkça zaman içinde uyarlanabilen çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirme sistemine dayanan periodontitis için bir sınıflandırma sistemi üzerinde anlaşmıştır (Caton ve ark., 2018).

Periodontitis evre ve derecesine göre sınıflandırılmıştır.

Evrelendirme hastalığın şiddetine ve kompleksliğine göre yapılmıştır.

Şiddet: En çok kayıp görülen bölgedeki interdental klinik ataçman seviyesi; radyografik kemik kaybı ve diş kaybına göre değerlendirilmiştir.

Komplekslik: Sondalama derinliği, kemik kaybı paterni, furkasyon lezyonları, kalan diş sayısı, diş mobilitesi, kemik defektleri ve çiğneme disfonksiyonlarına göre değerlendirilmiştir.

Periodontitis Evreleri

- Evre 1: Başlangıç düzeyindeki periodontitis
- Evre 2: Orta derecede periodontitis
- Evre 3: İlave diş kaybı potansiyeli olan şiddetli periodontitis

- Evre 4: Dentisyon kaybı potansiyeli olan şiddetli periodontitis (Tonetti, Greenwell ve ark., 2018).

Başlangıç aşaması klinik ataçman kaybı kullanılarak belirlenir; klinik olarak ataçman kaybı incelendikten sonra, radyografik olarak değerlendirme yapılır. Periodontitise atfedilebilen diş kaybı mevcutsa komplekslik faktörlerinin yokluğunda bile evre derecesini direkt olarak değiştirir. İnterdental ataçman kaybına bakılmaksızın, komplekslik faktörleri periodontitis evresini değiştirir. Örneğin; 2. veya 3.derecedeki bir furkasyon defekti periodontitis evresini direkt olarak 3. veya 4. evreye kaydırır. Evre 3 ve evre 4 arasındaki ayrım öncelikli olarak komplekslik faktörlerine dayanmaktadır. Örneğin; yüksek düzeyde bir diş mobilitesi ve/veya posterior bölgedeki oklüzyon kaybı evre 4 tanısını gösterecektir. Tedavi sonrası hastalar için, klinik ataçman seviyesi ve radyografik kemik kaybı birincil derecede belirleyicidir. Tedavi sonrası herhangi bir komplekslik faktörü elimine edilirse, orijinal periodontitis evresi düşük bir evreye gerilemez. İdame aşamasında orijinal periodontitis evresi her zaman göz önünde bulundurulur (Tonetti, Greenwell ve ark., 2018).

Periodontitis Dereceleri

Periodontitisin ilerleme oranının bir göstergesi olarak derecelendirme sistemi kullanılır. Temel kriterler ya doğrudan ya da dolaylı bir ilerlemenin kanıtıdır. Doğrudan kanıtların varlığında doğrudan kanıtlar kullanılır, doğrudan kanıtların yokluğunda, dolaylı tahmin kullanılır. Dolaylı tahmin, en çok etkilenen dişte yaşı bir fonksiyonu olarak kemik kaybı kullanılarak yapılır. Hastalığın derecesi başlangıçta derece B olarak dikkate alınır. Teşhis belirli kanıtlar doğrultusunda A veya C derecesine kayabilir.

Hastanın muayenesi sonucunda kanıta dayalı bir periodontitis derecesi belirlenmişse, bu derece mevcut risk faktörlerine bağlı olarak modifiye edilir (Papapanou ve ark., 2018).

2017 konsensusuna göre, eğer bir hasta periodontitis vakası ise:

1. ≥ 2 komşu olmayan dişte, saptanabilir klinik ataçman kaybı veya
2. ≥ 2 dişte, >3 mm cep derinliğiyle birlikte ≥ 3 mm klinik ataçman kaybı saptanması gerekir.

Gözlenen klinik ataçman kayıplarının periodontal olmayan sebeplerden kaynaklanmaması gerekir. Bunlar;

1. Travma kaynaklı diş eti çekilmesi
2. Dişin servikal bölgesine uzanan çürükler
3. Malpoze 3.molar dişlerden veya 3.molar dişin çekimi sonrası, 2. molar dişin distal bölgesindeki klinik ataçman kaybı
4. Periodonsiyum'a drene olan endodontik lezyon
5. Vertikal kök kırığı vakaları

Periodontitis, tek bir patofizyolojiye sahip bir hastalık değildir(Papapanou, Sanz ve ark., 2018). Hastalığa maruz kalan kişilerdeki farklı fenotiplerin açıklaması için, periodontitis için multifaktoriyel bir hastalık ve risk faktörlerinin karmaşık etkileşimi şeklinde bir açıklama getirilmiştir. Bu durum dikkate alındığında periodontitis derecelendirme sisteminin kullanılması hastalığın teşhisi ve tedavisinde büyük önem arz etmektedir. Periodontitis hangi evrede olursa olsun,

ilerleme hızı kişiden kişiye göre değişebilir ve bazı hastalarda tedaviye verilen yanıt tahmin edilemeyebilir. (Tonetti, Greenwell ve ark., 2018).

Sistemik Hastalığın Bir Belirtisi Olarak Periodontitis

Çeşitli sistemik hastalıklar ve durumlar periodontitis oluşumunu etkileyebilir veya PDL'yi olumsuz etkileyebilir. Diş plağı biyofilminin neden olduğu enflamasyondan bağımsız olarak periodontitisin seyrini ve periodontal destek dokuları etkileyebilecek birçok hastalık ve durum vardır. Bunlar şunları içerir:

1. Periodontitisin seyrini etkileyen başlıca nadir hastalıklar
2. Periodontitisin seyrini etkileyen temelde yaygın hastalıklar ve durumlar
3. Diş plağı biyofilminin neden olduğu enflamasyondan bağımsız olarak periodonsiyumu etkileyen başlıca nadir durumlar

Örneğin; skuamöz hücreli karsinom, langerhans hücreli histiyositoz gibi. Sonuçta periodontal dokuların parçalanması ve bazılarında periodontitisin klinik görünümünü taklit edebilen daha heterojen bir durum grubudur (Jepsen ve ark., 2018). Diş eti çekilmeleri oldukça yaygındır ve sıklıkla aşırı duyarlılık, açıkta kalan kök yüzeyinde çürük ve çürük olmayan yüzeylerde servikal lezyonlara bozulmuş estetik eşlik edebilir. Oklüzal kuvvetler dişlerin ve PDL'nin yaralanmasına neden olabilir. Dişler veya protezlerle ilişkili çeşitli gelişimsel veya edinilmiş koşullar, periodonsiyum hastalıklarına yatkınlık oluşturabilir (Jepsen, Caton ve ark., 2018).

2.4. PERİODONTAL TEDAVİ

Periodontal tedavi teşhis ve prognozunun belirlenmesinden sonra planlanır. Sağlıklı bir periodontal ortam ile beraber fonksiyon gören bir dentisyon oluşturmak ve bu durumu devam ettirmek amaçlanır (Newman, Takei ve ark., 2011).

Hastalarda öncelikli acil işlemler ilk sırada yapılmalıdır. Bu işlemler, ağrı kontrolü ve giderilmesi, akut enfeksiyon tedavisi, travma gibi acil durumlar ve defektif restorasyonların düzeltilmesidir. Kapsamlı periodontal değerlendirme sonucunda umutsuz olan dişlerin çekilmesi gerekir (Newman ve ark., 2018).

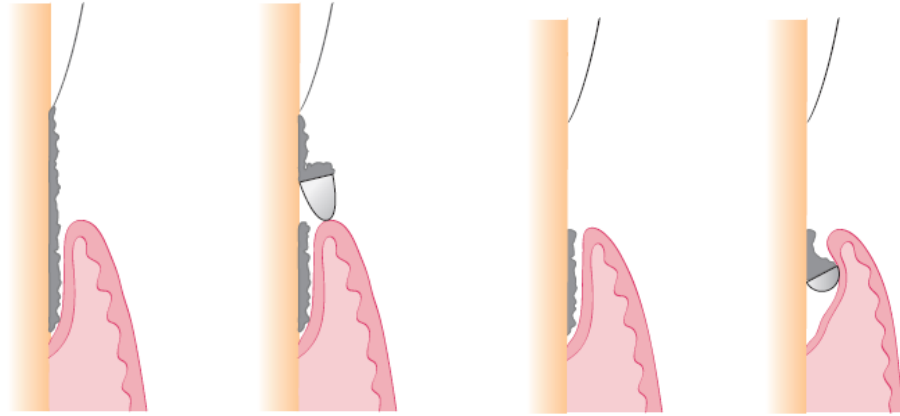
Faz I tedavi, periodontal tedaviyi oluşturan prosedürlerin kronolojik sırasındaki ilk tedavidir (Dentino ve ark., 2013). Faz I tedavinin amacı, diş eti ve periodontal hastalıklara katkıda bulunan faktörleri mümkün olan en geniş ölçüde değiştirmek veya ortadan kaldırmak, böylece hastalığın ilerlemesini durdurmak ve diş yapısını sağlıklı bir duruma döndürmektir. Faz I tedavi, oral hijyenin değerlendirilmesini ve eğitimi, supragingival ve subgingival detertrajını, kök yüzeyi düzleştirmesini, gingival ve subgingival enfekte yumuşak dokunun küretajını, defektif restorasyonların düzeltilmesini ve çürük lezyonlarının tedavisini içermelidir. Gingival enflamasyona neden olan birincil faktör mikrobiyal dental plağın günlük kontrolünün hasta tarafından sağlanması tedavinin ana hedefidir ve plak akümülyasyonunu arttıran lokal faktörlerin eliminasyonu çok önemlidir (Newman, Takei ve ark., 2011). Periodontal tedavinin başarısı, sert ve yumuşak birikintilerin kök yüzeylerinden uzaklaştırılmasına bağlıdır (Badersten, Nilveus, ve Egelberg, 1984; Breiningen, O'Leary, ve Blumenshine, 1987; Lindhe ve ark., 1982). Diş taşı mineralize bakteri plağı olarak tanımlanan ve diş etini irrite eden oluşumdur, ancak

bakteriyel plak, diş taşından daha büyük bir patojenik potansiyele sahiptir (Chiew ve ark., 1991). Diş taşı, periodontal patojenlerin retansiyonuna neden olabilen harici düzensizliklere ve dahili kanallara sahiptir, bu nedenle enflamasyona neden olan mikrobiyal ürünler ve bileşenler için bir rezervuar görevi görür (Calabrese, Galgut, ve Mordan, 2007; Tan ve ark., 2004). Diş taşının uzaklaştırılmasında; kretuarlar, küretler, ultrasonik el aletleri veya bunların birlikte kullanıldığı yöntemler uygulanmaktadır. Kretuarlar iki keskin kenarın tek bir sivri uçta birleştiği diş taşı temizliğinde kullanılan el aletleridir (Newman, Takei ve ark., 2011). Küretler, diş taşı temizliğinde, kök yüzeyi düzleştirmesinde ve granülasyon dokusu uzaklaştırmada kullanılan araçlardır (Lindhe, Karring, ve Lang, 2008). Küretin çalışan ucu, çift kavisli kesici kenara sahiptir. Sapın uzunluğu ve açısı ile bıçağın boyutları, aletin farklı markalarına göre farklılık gösterir. Subgingival mikrobiyotayı periodontal sağlıkla uyumlu olacak şekilde değiştirmek veya diş yüzeylerindeki bakteri yükünü ve birikintileri azaltmak, el aletleri veya ultrasonik aletler ile eşit verimlilikle sağlanabilir (Axelsson, Lindhe ve ark., 1991; Babay, 2001; Breining, O'Leary ve ark., 1987). Periodontitis tedavisinde kullanılan enstrümanların benzer tedavi sonucu sağladığı çalışmalarca gösterilmiştir (Heitz-Mayfield ve Lang, 2013; Ioannou ve ark., 2009).

Diş taşının uzaklaştırılması erişimin zor olduğu alanlarda enstrümantasyon etkinliğini optimize etmek için aletin veya aktif ucun şeklini değiştirerek modifiye edilmiş küretlerle gerçekleştirilir. Benzer şekilde, ultrasonik teknolojiler kullanan cihazların da subgingival plak ve diş taşı çıkarma kapasitelerini artırmak için farklı uygulama uçları bulunmaktadır (Sanz ve ark., 2012). Ayrıca kök yüzeyi düzleştirmesi için özelleştirilmiş ultrasonik aletler de bulunmaktadır (Kawashima ve ark., 2007).

Faz I Periodontal Tedavi

Mekanik enstrümantasyon ile plak ve diş taşı temizlemenin periodontitisin başlamasını ve gelişmesini önleyebileceği iyi bilinmektedir (Trombelli, Franceschetti, ve Farina, 2015). Dental plağın supragingival ve subgingival konumda kalsifiye olmasıyla diş taşı oluşur (White, 1997). Diş taşlarının uzaklaştırılması detertraj olarak adlandırılır (Newman, Takei ve ark., 2018). Diş taşının diş yüzeyinden uzaklaştırılması, yerleşik diş eti iltihabının şiddetini azaltır (Van der Weijden ve Hioe, 2005). Diş taşı temizliğine ek olarak, bakteri plağı biyofilmi ve bir miktar sement, enstrümantasyon prosedürleri sırasında çıkarılır. Subgingival küretaj, supragingival diş taşı temizliğini takiben, hastalıklı yumuşak dokuyu çıkarmak için patolojik cebin diş eti duvarının kazınması olarak tanımlanır (Newman, Takei ve ark., 2011). Subgingival enstrümantasyon, diş eti cebinde bulunan biyofilmi çıkararak diş etindeki enflamasyonu gidermeyi ve ilerleyen yıkımını durdurmayı amaçlamaktadır. Etkili bir plak kontrol programı ile birleştirildiğinde, subgingival debridman periodontitis tedavisinde en önemli önlemdir (Lindhe, Karring ve ark., 2008). Kök yüzeyi düzleştirmesi ise kök yüzeyindeki nekrotik sementin ve LPS gibi bakteri toksinlerinin kök yüzeyinden uzaklaştırılmasını içerir (Caffesse, Sweeney, ve Smith, 1986).



Şekil 2.4: Supragingival ve Subgingival Diş taşı Temizliği. Solda Kretuar ile Supragingival Diştaşı Temizliği, Sağda ise Küret ile Subgingival Diştaşı Temizliği Gösterilmiştir (Newman, Takei ve ark., 2018).

Faz I tedavi sonrası 5 mm ve daha fazla ataçman kaybı ve cep derinliği varlığında, hastanın sistemik ve bireysel faktörleri ile periodontitisten etkilenen dişlerin durumu göz önünde bulundurularak Faz II (cerrahi periodontal tedavi) tedavi planlanmalıdır. Faz II tedavi periodontal operasyonlar (gingivektomi, flep cerrahisi vb.), dental implant uygulaması ve kök kanal tedavileri yer almaktadır. Faz III tedavide final restorasyonlar yapılır (sabit ve hareketli protezler, geçici dolguların daimi dolgu olarak tamamlanması vb.). Faz III'de (İdame Fazı) oral hijyenin yeniden değerlendirilmesi, gerekli ise oral hijyen eğitiminin tekrarlanması, hastalık nüksünün değerlendirilmesi, periodontal/restoratif tedavinin tekrar planlanması ve kontrol seanslarının planlanarak sonraki kontrol seansının yapılmasını içerir (Newman, Takei ve ark., 2011).

2.4.1. Periodontal Tedavi Sonrası İyileşme

Periodontal tedavinin temel amacı sağlıklı bir periodonsiyuma ulaşmak ve bu durumu devam ettirmektir. Periodontal sağlık, popülasyon sürveyansında klinisyenler için kritik terapötik hedeflerin belirlenmesinde çok önemli bir rol oynar (Lang ve Bartold, 2018b). Spesifik olarak, periodontal sağlık, enflamasyonsuz ve sığ cepler ve diş eti kanaması olmaması ile karakterize bir durumu ifade eder (Mariotti ve Hefti, 2015). Periodontal sağlık yalnızca plak / bakteri seviyelerinin kontrolü bağlamında ele alınmamalı, aynı zamanda sağlığın sürdürülmesinin yanı sıra hastalığın ortaya çıkmasından sorumlu tüm faktörlerin bütünsel bir şekilde değerlendirmesini kapsamalıdır (Zaura ve Jacob, 2015).

Sistemik incelemeler ve meta-analiz, periodontal tedavinin, sondlamada kanama ve sondalama derinliğini azaltarak, ataçman seviyesini artırarak enflamatuvar periodontal hastalığı tersine çevirme veya kontrol etme etkinliğini kanıtlamıştır (Suvan, 2005; Van der Weijden ve Timmerman, 2002). Bu nedenle Faz I tedavi, tüm koşullarda (Faz 0 acil tedaviler haricinde) birinci basamak tedavi seçeneğidir. Periodontal debridmanın, orta ve derin ceplerde yaklaşık 1-2 mm problama derinliğini azalttığı ve orta ila derin ceplerde yaklaşık 0.5-2 mm ataçman seviyelerini artırdığı gösterilmiştir (Cobb, 2002; Sanz, Alonso ve ark., 2012). Patojenler, doğal bağışıklığa ve antibakteriyal ilaçlara dirençli olarak subgingival kök yüzeyine yapışık biyofilm halinde bulunurlar (Stoodley ve ark., 2002). Yalnızca subgingival biyofilmlerin mekanik olarak bozulmasını sağlayan tedavilerin başarılı olduğu kanıtlanmıştır ve bu nedenle periodontal sağlık ancak hasta

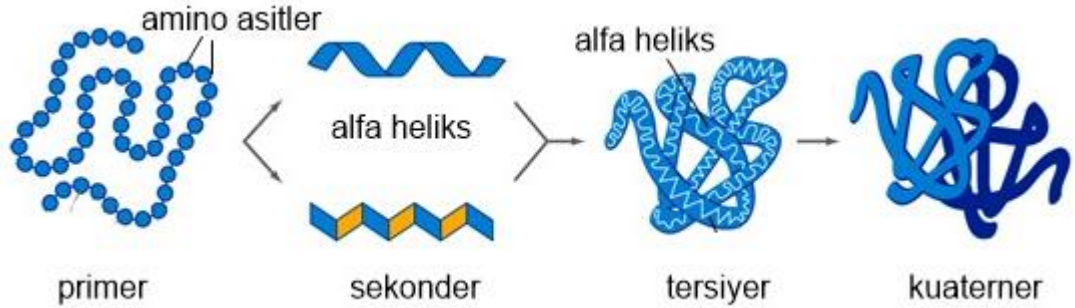
tarafından yeterli plak kontrolü ve profesyonel profilaksi olması koşuluyla korunabilir (Sanz, Teughels, ve Periodontology, 2008).

Tedavi sonrası enflamatuvar dokularda iyileşme, enfekte hücre sayısında azalma eritem ve ödem gibi enflamasyonun klinik belirtilerinde azalma görülmektedir (Newman, Takei ve ark., 2011). Periodontal dokularda sağlık ve hastalık durumu, dokularda bulunan enflamatuvar mediyatörlerin, sitokinlerin ve büyüme faktörleri gibi biyobelirteçlerin tespit edilmesiyle belirlenebilir (Kinane ve ark., 2011). Bunlar arasında, IL -1 ve TNF- α gibi enflamatuvar sitokinlerin, RANKL ve OPG gibi kemik yapım, yıkım göstergelerinin, C5b9 gibi kompleman faktörlerinin periodontitisin terapötik sonuçlarını değerlendirmek için biyobelirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Buduneli ve Kinane, 2011). Periodontitis hastalarında, IL-1 β sağlıklı diş etine göre daha yüksek bulunmuştur (Oh, Hirano ve ark., 2015). Aynı durum interferon gama (IFN- γ), IL- 6, IL- 8 ve TNF- α için de rapor edilmiştir (Fujita ve ark., 2012; Reis ve ark., 2014). Biyobelirteçler ayrıca periodontal tedaviden önce ve sonra hastalıklı bölgelerde tekrar tekrar test edilmiştir. Başlangıç periodontal tedavi sonrasında, diş eti oluğu sıvısında IL-1 β , IFN- γ , IL-8 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktörün (GM-CSF) seviyeleri düşmüştür (de Lima Oliveira ve ark., 2012; Konopka, Pietrzak, ve Brzezińska-Błaszczyk, 2012; Thunell ve ark., 2010).

2.5. PROTEİN SENTEZİ POSTTRANSLASYONEL MODİFİKASYONLAR VE UBİKÜİTİN-PROTEOZOM YOLAĞI

Protein sentezi, yeni proteinlerin üretimi yoluyla hücrel protein kaybını dengeleyen temel bir biyolojik süreçtir. Proteinler, enzimlerde, yapısal proteinlerde veya hormonlarda bir dizi kritik işleve sahiptir (Alberts, 2008). Protein sentezi genel olarak transkripsiyon ve translasyon olarak iki aşamaya ayrılabilir. Transkripsiyon sırasında, bir proteini kodlayan bir DNA bölümü, haberci RNA (mRNA) adı verilen bir şablon moleküle dönüştürülür. Bu dönüşüm, hücre çekirdeğindeki RNA polimerazlar olarak bilinen enzimler tarafından gerçekleştirilir (O'Connor, Adams, ve Fairman, 2010). Olgun mRNA, translasyonun gerçekleşmesi için hücre çekirdeğinden nükleer porlar yoluyla hücrenin sitoplazmasına aktarılır. Translasyon sırasında, mRNA, amino asitlerin dizisini belirlemek için mRNA'nın nükleotid dizisini kullanan ribozomlar tarafından okunur. Ribozomlar, bir polipeptit zinciri oluşturmak için kodlanan amino asitler arasında kovalent peptit bağlarının oluşumunu katalize eder (Scheper, Van Der Knaap, ve Proud, 2007). Translasyon sırasında ribozomlar, mRNA şablon moleküllerinden polipeptit zincirlerini sentezler. Ökaryotlarda translasyon, serbest ribozomlarda veya endoplazmik retikuluma bağlı olduğu hücrenin sitoplazmasında gerçekleşir. Çekirdeksiz prokaryotlarda, hem transkripsiyon hem de translasyon süreçleri sitoplazmada gerçekleşir (Tuller ve ark., 2010). Polipeptit zincirinin sentezi tamamlandığında, polipeptit zinciri, proteinin işlevlerini yerine getirmesini sağlayan özel bir yapıya sahip olacak şekilde katlanır. Protein yapısının temel formu, basitçe polipeptit zinciri, yani kovalent olarak bağlanmış amino asitler dizisi olan primer yapı olarak bilinir (Bock ve Gough, 2001). Bir

proteinin primer yapısı, daha sonra proteinin sekonder yapısını oluşturmak için katlanabilir veya kıvrılabilir. En yaygın sekonder yapı türleri, bir alfa sarmal veya beta yaprağı olarak bilinir, bunlar polipeptit zinciri içinde oluşan hidrojen bağları tarafından üretilen küçük yapılardır. Bu sekonder yapı daha sonra katlanarak proteinin tersiyer yapısını oluşturur (Berezovsky, Guarnera, ve Zheng, 2017). Tersiyer yapı, birbirine katlanan farklı sekonder yapılardan oluşan proteinlerin genel üç boyutlu yapısıdır. Tersiyer yapıda, anahtar protein özellikleri proteinin işlev görmesini sağlayacak şekilde katlanır ve oluşturulur. Son olarak, bazı proteinler karmaşık bir kuartern yapı alabilir. Çoğu protein, tek bir polipeptit zincirinden yapılır, ancak bazı proteinler, dörtlü yapıyı oluşturmak için katlanan ve etkileşime giren çoklu polipeptit zincirlerinden oluşur (Eisenhaber, Persson, ve Argos, 1995).



Şekil 2.5: Proteinlerin Katlanma Formasyonları (Görsel <https://eng.thesaurus.rusnano.com/wiki/article561> sitesinden alınmıştır.)

Katlanmış bir protein, posttranslayonel modifikasyonlarla daha fazla işlenmeye tabi tutulabilir. 200'den fazla bilinen translasyon sonrası modifikasyon türü vardır, bu modifikasyonlar proteinin hücre içinde bulunduğu yere göre, protein aktivitesini ve proteinin diğer proteinlerle etkileşime girme kabiliyetini değiştirir (Wang, Peterson, ve Loring, 2014).

Posttranslasyonel modifikasyonlar (PTM'ler), çeşitli sinyal yollarını düzenlemesinde ve hücrenin spesifik durumunun belirlenmesinde önemli biyokimyasal süreçlerdir (Ke ve ark., 2016). PTM'ler, fosfat, glikan, metil, asetil, ubiquitin vb. gibi proteinleri çeşitli kimyasal gruplarla modifiye etmeye yönelik biyokimyasal işlemlerdir. Ökaryotik proteinlerin çoğu (% 50-70), PTM'ler tarafından modüle edilir (Christopher, 2006). PTM'ler, fonksiyon modülasyonu için proteinlerin üç boyutlu yapısını önemli ölçüde değiştirebilir. Buradaki bir durum, sarmal yapılarını stabilize eden kollajenlerdeki prolin ve lizin kalıntılarının hidroksilasyonudur. Fosforilasyon gibi PTM'ler, dinamik protein-protein etkileşimlerini düzenlemek için anahtar faktörlerdir (Blom ve ark., 2004). Bazı proteinlerin hücre altı lokalizasyonu PTM'ler tarafından yönlendirilir. Örneğin, sistein üzerinde glikosilfosfatidilinositol ile modifiye edilen proteinler genellikle hücresel membrana yönlendirilir. Protein stabilitesi ve yarı ömür süresi de PTM'ler tarafından modüle edilir. K48-ubikuitinasyon etiketinin, proteazom yolu ile protein degradasyonu için bir sinyal olduğu iyi bilinmektedir (Bakri ve ark., 2005). Ubikuitin modifikasyonu, esas olarak protein indirgenme mekanizmasını aktive ederek bir sinyal mekanizması olarak işlev görür (Hicke, 2001).

2.6. UBİKÜİTİN-PROTEOZOM YOLAĞI

2.6.1. Ubikuitin

Ubikuitin, ökaryotik organizmaların çoğu dokusunda bulunan küçük (8.6 kDa) bir düzenleyici proteindir (Goldstein ve ark., 1975). Bir substrat proteinine ubikuitinin eklenmesi, ubikuitinasyon olarak adlandırılır. Ubikuitinasyon, proteinleri birçok yönden

etkiler; proteazom aracılığıyla indirgemek için işaretleyebilir, hücrel konumlarını değiştirebilir, aktivitelerini etkileyebilir ve protein etkileşimlerini teşvik edebilir veya önleyebilir (Glickman ve Ciechanover; Mukhopadhyay ve Riezman, 2007; Schnell ve Hicke, 2003)

Ubikuitinasyon üç ana adım içerir:

-Ubikitin aktive edici enzimler (E1s)

-Ubikitin konjüge edici enzimler (E2s)

-Ubikitin ligazlar (E3s)

Aktivasyon, konjugasyon ve ligasyon ubikitin ligazlar (E3s) tarafından gerçekleştirilir (Komander ve Rape, 2012; McDowell ve Philpott, 2013; Pickart ve Eddins, 2004).

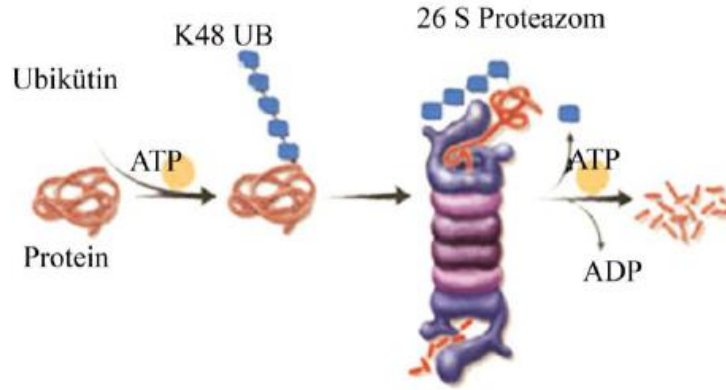
1. Aktivasyon: Ubikitin, ATP'ye bağı olan E1 ubikitin aktive edici bir enzim tarafından iki aşamalı bir reaksiyonda aktive edilir. İlk aşama, bir ubikitin-adenilat ara ürününün üretilmesini içerir. E1, hem ATP'yi hem de ubikitini bağlar ve ubikitin molekülünün C-terminalinin açıl-adenilasyonunu katalize eder. İkinci adım, ubikitini AMP'nin salınmasıyla birlikte aktif bir site sistein kalıntısına aktarır. Bu adım, ubikuitinin C-terminal karboksil grubu ile E1 sistein sülfhidril grubu arasında bir tioester bağlantısı ile sonuçlanır (Breitschopf ve ark., 1998; Metzger, Hristova, ve Weissman, 2012). İnsan genomu, ubikitini aktive edebilen enzimleri üreten iki gen içerir: UBA1 ve UBA6 (Skaar ve Pagano, 2009).

2. Konjugasyon: E2 ubikuitin-konjüge edici enzimler, ubikitinin E1'den E2'nin aktif bölge sisteinine bir trans (tio) esterifikasyon reaksiyonu yoluyla transferini katalize eder. Bu reaksiyonu gerçekleştirmek için, E2 hem aktive edilmiş ubikuitin hem de E1 enzime bağlanır. İnsanlar, 35 farklı E2 enzime sahipken, diğer ökaryotik organizmalar 16 ile 35 arasında bulunur. Bunlar, ubikitin-konjüge edici katalitik (UBC) kat olarak bilinen yüksek oranda korunmuş yapılarıyla karakterize edilirler (Kerscher, Felberbaum, ve Hochstrasser, 2006).

3. Ligasyon: E3 ubikuitin ligazları, ubikitinasyon kaskadının son adımını katalize eder. En yaygın olarak, hedef proteinin bir lizini ile ubikitinin C-terminal glisini arasında bir izopeptit bağı oluştururlar. Genel olarak, bu adım yüzlerce E3'ten birinin etkinliğini gerektirir. E3 enzimleri, sistemin substrat tanıma modülleri olarak işlev görür ve hem E2 hem de substrat ile etkileşime girebilir. Bazı E3 enzimleri ayrıca E2 enzimlerini de aktive eder (Koegl ve ark., 1999).

2.6.2. Ubikuitinasyon

Ubikuitinasyon, bir ubikuitin proteininin bir substrat proteinine eklendiği enzimatik bir post-translasyonel modifikasyondur. Bu işlem en yaygın olarak ubikitinin son amino asidini (glisin 76) substrat üzerindeki bir lizin kalıntısına bağlar. Ubikuitin glisinin karboksil grubu (COO^-) ile substratın lizininin epsilon-amino grubu ($\epsilon\text{-NH} + 3$) arasında bir izopeptit bağı oluşur (Breitschopf, Bengal ve ark., 1998).



Şekil 2.6: Ubikuitin-Proteozom Yolağı (Şekil <http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/cg/sempozyum/ogrsmpzsnm12/4.2.pdf> sitesinden alınmıştır.)

Ubikuitinasyon şu yollarla hücrel süreci etkiler; proteazom ve lizozom yoluyla proteinlerin yıkımını düzenleyerek, proteinlerin hücrel lokalizasyonunu koordine ederek, proteinleri aktive-inaktifte ederek ve protein-protein etkileşimlerini düzenleyerek (Glickman ve Ciechanover; Mukhopadhyay ve Riezman, 2007; Schnell ve Hicke, 2003).

2.6.3. Deubikuitinasyon

Ubikuitin benzeri proteinlerin konjugasyonu, tersine çevrilebilir bir süreçtir. En küçük ubikitin alanının G76'sındaki peptit bağının hidrolizini katalize eden üç protein ailesinin üyeleri olan en az 19 protein vardır (D'Andrea ve Pellman, 1998). Polimerik ubikuitin üzerinde etkili olan ve ubikitin C-terminal glisininde bölünen iki spesifik proteaz sınıfı vardır. Bunlar, deubikitinasyon enzimleri (DUB) olarak adlandırılır ve ubikuitin C-terminal hidrolazlarından (UCH) ve ubikuitine özgü spesifik işleme

proteazlarından (UBP) oluşur(Li ve Hochstrasser, 1999). Genel olarak, UCH izozimlerinin ubiquitin-füzyon proteinlerinin işlenmesinde rol oynadığı ve küçük peptitler veya C-terminal alanını bağlayan esnek bir peptit ile daha büyük substratlar tarafından genişletilmiş ubiquitin üzerinde daha aktif oldukları düşünülmektedir. Öte yandan UBP enzimlerinin, ubiquitini daha büyük proteinlerden uzaklaştırmaktan ve poliubikitin zincirlerini sökmekten sorumlu olduğu düşünülmektedir(Li ve Hochstrasser, 1999).

Ubikitin C-terminal hidrolazları, 230 amino asitlik bir çekirdek katalitik alanı ve küçük veya düzensiz C-terminal bölgeleri olan ubiquitin türevlerinin bölünmesi için özgülüğü olan papain benzeri tiol proteazlardır (Wilkinson ve Hochstrasser, 1998). UCH ailesi üyelerindeki bir dizi mutasyon, hastalıkla ilişkili görünmektedir. PGP9.5 olarak da bilinen nöronal spesifik bir izoform olan insan UCH-L1'deki bir I93M mutasyonu, vakaların küçük bir bölümünde Parkinson hastalığının gelişimi ile ilişkili olabilir (Leroy ve ark., 1998). Sitokin ile indüklenen sinyal olayları, büyümenin düzenlenmesinde rol oynayan bir memeli deubikitinasyon enzimleri ailesini indükler. JAK2 yolu, sinyalin dönüştürülmesinde rol oynar ve bu enzimlerin aşırı ekspresyonu, büyümenin baskılanmasıyla sonuçlanmıştır (D'Andrea ve Pellman, 1998).

Ubikuitinin fonksiyonları

Ubikuitinasyon sistemi, çok çeşitli hücresel süreçlerde işlev görür bunlar; Antijen sunma, apoptoz, organellerin biyogenez, hücre döngüsü ve bölünmesi, DNA transkripsiyonu ve onarımı, farklılaşma ve gelişme, bağışıklık tepkisi ve iltihaplanma,

nöral dejenerasyon ve kas dejenerasyonu, sinir ağlarının morfogenezi, hücre yüzeyi reseptörlerinin, iyon kanalları ve salgı yolunun modülasyonu, strese yanıt ve hücre dışı modülatörler, ribozom biyogenez, viral enfeksiyon (Shaheen, Shanmugam, ve Hromas, 2010; Zhao ve Ulrich, 2010)

Başlangıçta ubikuitin sistemi proteazomal bozulmadaki rolü ile tanınmıştır, oysa son zamanlarda mitofajinin düzenlenmesi, otofaji, reseptör internalizasyonu, hücre içi trafik, DNA onarımı ve protein-protein etkileşimleri dahil olmak üzere diğer düzenleyici işlevleri ortaya çıkarılmıştır (Kliza ve Husnjak, 2020).

2.6.4. Proteozom

Proteozomlar, peptit bağlarını kıran kimyasal bir reaksiyon olan proteoliz ile gerekli olmayan veya hasar görmüş proteinleri parçalayan protein kompleksleridir. Bu tür reaksiyonlara yardımcı olan enzimlere proteazlar denir. Proteozomlar, hücrelerin belirli proteinlerin konsantrasyonunu düzenlediği ve yanlış katlanmış proteinleri indirgediği ana mekanizmanın parçasıdır. Proteinler, ubikuitin adı verilen küçük bir protein ile parçalanma için etiketlenir. Etiketleme reaksiyonu, ubikitin ligazlar adı verilen enzimler tarafından katalize edilir. Bir protein, tek bir ubikuitin molekülüne bağlanması, diğer ubikuitin moleküllerini bağlaması için diğer ligazlara bir sinyal oluşturur. Sonuç, proteozom tarafından bağlanan ve etiketli proteini parçalamasına izin veren bir poliubikuitin zinciridir (Lodish ve ark., 2008). Bozunma süreci, yaklaşık yedi ila sekiz amino asit uzunluğunda peptidler verir ve bunlar daha sonra daha kısa amino asit dizilerine indirgenebilir ve yeni proteinlerin sentezlenmesinde kullanılabilir (Lodish,

Berk ve ark., 2008). Tüm ubiquitinasyon ve proteozomal degradasyon sistemi, ubiquitin-proteozom yolağı olarak bilinir (Nassif, Cambray, ve Kraut, 2014).

Proteozomun yapısı ve organizasyonu

Proteozom alt bileşenleri genellikle Svedberg sedimentasyon katsayısı (S olarak gösterilir) ile anılır. Memelilerde kullanılan proteozom, bir 20S protein alt birimi ve iki 19S düzenleyici başlık alt birimi içeren moleküler kütle olarak yaklaşık 2000 kilodalton (kDa) olan sitozolik 26S proteozomudur. Çekirdeğin içi boştur ve proteinlerin parçalandığı kapalı bir boşluk sağlar; çekirdeğin iki ucundaki açıklıklar, hedef proteinin girmesine izin verir. Çekirdek partikülün her bir ucu, çoklu ATPaz aktif bölgeleri ve ubiquitin bağlanma bölgeleri içeren bir 19S düzenleyici alt birim ile birleşir; poliubikitinlenmiş proteinleri tanıyan ve bunları katalitik çekirdeğe aktaran bu yapıdır (Dong ve ark., 2019). 11S parçacığı olarak adlandırılan alternatif bir düzenleyici alt birim biçimi, esasen 19S parçacığı ile aynı şekilde çekirdekle birleşebilir; 11S, bir virüs enfeksiyonundan sonra üretilenler gibi yabancı peptitlerin degradasyonunda rol oynayabilir (Wang ve Maldonado, 2006).

Proteoliz

Proteozom bir endoproteaz olarak işlev görür (Coux, Tanaka, ve Goldberg, 1996; Seemuller ve ark., 1995). Proteozom normal olarak çok kısa peptid fragmanları üretmesine rağmen, bazı durumlarda bu ürünlerin kendileri biyolojik olarak aktif ve fonksiyonel moleküllerdir (Rape ve Jentsch, 2002). NF- κ B'nin bir bileşeni dahil olmak üzere, spesifik genlerin ekspresyonunu düzenleyen belirli transkripsiyon faktörleri, ubiquitinasyon ve bunu takip eden proteozomal bozunma onları aktif bir forma

dönüştüren inaktif öncüler olarak sentezlenir. Bu proteinlerin yüzeylerindeki uzun ilmeklerin proteazomal substratlar olarak görev yaptığı ve merkezi boşluğa girerken, proteinin çoğunluğunun dışarıda kaldığı öne sürülmüştür (Rape ve Jentsch, 2002). NF- κ B sinyalizasyonu, mikroRNA regülasyonu gibi posttranskripsiyonel mekanizmalar veya fosforilasyon ve ubiquitinasyon gibi posttranslasyonel mekanizmalar aracılığıyla düzenlenir (Adelaja ve Hoffmann, 2019).

Proteozomun hücre döngüsündeki rolü ve apoptoz

Hücre döngüsünün ilerlemesi, hücre döngüsünün fazlarını sınırlayan spesifik siklinler tarafından aktive edilen, sikline bağımlı kinazlar (CDK) ile kontrol edilir. Hücrede sadece birkaç dakika kalan mitotik siklinler, tüm hücre içi proteinler arasında en kısa yaşam sürelerinden birine sahiptir (Lodish, Berk ve ark., 2008). Bir CDK-siklin kompleksi işlevini yerine getirdikten sonra, ilişkili siklin, hücre döngüsü için yönlülük sağlayan proteozom tarafından polikitine edilir ve yok edilir. Özellikle mitozdan çıkış, düzenleyici bileşen olan siklin B'nin mitozu teşvik edici faktör kompleksinden proteozoma bağımlı olarak ayrılmasını gerektirir (Chesnel ve ark., 2006).

G1 fazı ile S fazı arasındaki kısıtlama sonrası nokta kontrolü gibi daha önceki hücre döngüsü kontrol noktaları, benzer şekilde, bir E3 ubiquitin ligazı olan anafaz teşvik edici kompleks (APC) tarafından siklin A'nın proteazomal degradasyonunu içerir (Havens ve ark., 2006). Apoptozun kontrolü için gerekli olan çok sayıda proteinin, 26S proteozom kompleksinde degrade edilmesi için, ubiquitin-proteozom yolağına girdiği bildirilmiştir (Yew, 2001).

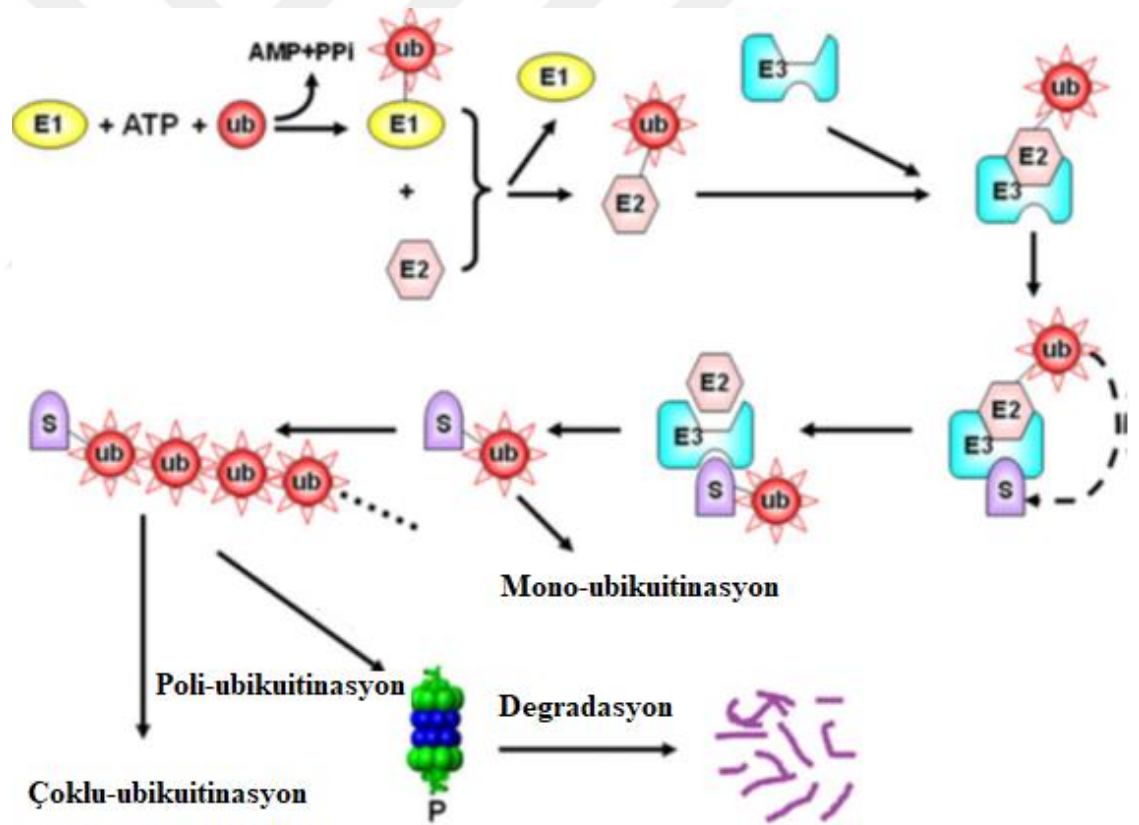
Hem iç hem de dış sinyaller apoptozun indüksiyonuna veya programlanmış hücre ölümüne yol açabilir. Hücresel bileşenlerin sonuçta ortaya çıkan yıkımı, öncelikle kaspazlar olarak bilinen özelleşmiş proteazlar tarafından gerçekleştirilir, ancak proteozom ayrıca apoptotik süreçte önemli ve çeşitli roller oynar. Proteozomun bu süreçteki rolü, hem proteinin ubiquitinasyonunda ki artış, hem de apoptozdan çok önce gözlenen E1, E2 ve E3 enzimlerinin artmasıyla gösterilir (Haas ve ark., 1995; Schwartz ve ark., 1990; Weijers ve ark., 2005). Apoptoz sırasında, çekirdeğe lokalize olan proteozomların da apoptozun özelliği olan dış zar kabarcıklarına yer değiştirdiği gözlenmiştir (Löw ve ark., 1997).

Proteozom inhibisyonunun, farklı hücre tiplerinde apoptoz indüksiyonu üzerinde farklı etkileri vardır. Genel olarak, proteozom apoptoz için gerekli değildir, ancak proteozomun engellenmesi, birçok hücre tipinde pro-apoptotiktir. Proteozom, anabolik hücre döngüsünde görevli proteinlerin ubiquitinasyonu yoluyla apoptoza aracılık eder (Yew, 2001). Bununla birlikte, bazı hücrelerin özellikle, timositler ve nöronlar gibi hareketsiz ve farklılaşmış hücrelerin kültürleri proteazom inhibitörlerine maruz kalmalarıyla apoptoza girmeleri engellenir. Bu etkinin mekanizması net değildir, ancak hareketsiz durumdaki hücrelere özgü olduğu veya pro-apoptotik kinaz JNK'nin diferansiyel aktivitesinden kaynaklandığı varsayılmaktadır (Xiang ve ark., 2017).

2.6.5. Ubikuitin-Proteozom Yolağının Klinik Önemi

Proteozomlar, ubiquitin-proteozom sisteminde (UPS) hücresel protein kalite kontrolü için çok önemli bir bileşeni oluşturur. Protein ubiquitinasyonu ve proteozom

tarafından proteoliz ile parçalanması, hücre döngüsünün, hücre büyümesinin ve farklılaşmasının, gen transkripsiyonunun, sinyal transdüksiyonunun ve apoptozun düzenlenmesinde önemli mekanizmalardır (Kleiger ve Mayor, 2014) UPS işleyişinin bozulması proteolitik aktivitelerin azalmasına ve hasar görmüş veya yanlış katlanmış protein türlerinin birikmesine yol açar. Bu tür protein birikimi, nörodejeneratif hastalıklarda, kardiyovasküler hastalıklarda, enflamatuvar yanıtlarda ve otoimmün hastalıklarda patogeneze ve fenotipik karakterin değişimine sebep olabilir ve malignitelere yol açan sistemik DNA hasarı yanıtlarına katkıda bulunabilir (Chung, Dawson, ve Dawson, 2001; Karin ve Delhase, 2000).



Şekil 2.7: Ubikuitin-Proteozom Yolağı Enzimleri (Hou ve Yang, 2013)

Ubikuitin yolağı, aşağıdakiler de dahil olmak üzere çok çeşitli hastalık ve bozuklukların patogeneğinde rol oynamıştır. Bunlar; nörodejenerasyon, enfeksiyon ve bağışıklık, genetik bozukluklar ve kanserdir (Popovic, Vucic, ve Dikic, 2014).

Ubikuitin, homeostazi, enfeksiyon sırasında aktivasyon ve klirens üzerine azalma dahil olmak üzere neredeyse tüm aşamalarda immün sinyal iletim yollarını kapsamlı bir şekilde düzenler. Bu düzenleme olmadan, patojenlere karşı bağışıklık aktivasyonu kusurlu olabilir ve kronik hastalık veya ölümle sonuçlanabilir. Alternatif olarak, bağışıklık sistemi hiperaktif hale gelebilir ve organlar ve dokular, otoimmün hasara maruz kalabilir (Heaton, Borg, ve Dixit, 2016).

Son zamanlarda ubikuitinasyonun birçok regülasyon arasında, hücrel homeostazın neredeyse her yönünü kontrol etmede önemli bir rol oynadığı ortaya çıkmıştır (Swatek ve Komander, 2016).

Ubikuitin regülasyonunda yer alan enzimlerin anormal işlevi, çoğu zaman çeşitli bozuklukların başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunur. Özellikle, ubikuitin düzenleyici protein A20'nin (tümör nekroz faktörü α –ile indüklenen protein 3 veya TNFAIP3) anormal ekspresyonu ve / veya işlevi, kronik enflamasyon ve doku hasarı ile ilişkilendirilmiş olup, diyabet ve kanser dahil olmak üzere, pulmoner, nörolojik, cilt ve gastrointestinal bozukluklar gib, birçok otoimmün ve enflamatuvar hastalığın immünopatolojisine katkıda bulunmaktadır (Fukaya ve ark., 2016). Çeşitli işlevleri nedeniyle, A20 sıklıkla NF- κ B aktivasyonunun sonlandırılması yoluyla iltihaplanmanın temel bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Priem, van Loo, ve Bertrand, 2020). Diğer dokulara benzer şekilde, A20, sağlıklı koşullarda ekspresyonu düşük veya hiç olmasa da,

diş etinde yapısal olarak eksprese edilir (Crump ve ark., 2017). Ubikuitin aracılı regülasyonun daha da anlaşılması, A20'nin hücrel homeostazın kritik bir modülatörü olarak keşfedilmesine yol açmıştır (Hu ve Sun, 2016). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, romatoid artrit, diyabet, sistemik lupus eritematozus, enflamatuvar bağırsak hastalığı, sedef hastalığı, Sjögren sendromu, koroner arter hastalığı, multipl skleroz, kistik fibroz ve astımda A20'nin somatik mutasyonlarını, delesyonlarını ve anormal ekspresyonunu tanımlamıştır (Boonyasrisawat ve ark., 2007; Momtazi ve ark., 2019). A20 ubikuitinasyonu başlatan bir protein olarak birçok hastalıkta klinik bir öneme sahiptir (Ma ve Malynn, 2012). A20 diğer UPS proteinlerinden farklı olarak ikili bir fonksiyona sahiptir. Birincil fonksiyonu deubikuitinasyon enzimi olmasıdır, ikincil olarak ise E3 ligaz olarak ubikuitinasyonda görev alır. UCHL1 ise deubikuitinasyon yaparak ubikuitinasyonu durduran proteindir (Yan ve ark., 2018).

UCHL1, nöronal spesifik protein gen ürünü 9.5 olarak da bilinen, beyne özgü ve beyindeki nöronlarda oldukça bol bulunan bir proteindir (Day ve Thompson, 2010). Bu enzim, ubikuitinin ATP'ye bağlı proteazom yolu aracılığıyla metabolize edilmesi hedeflenen proteinlere eklenmesinde veya çıkarılmasında rol oynar (Tongaonkar ve ark., 2000). Böylece nöronlarda hem normal hem de nöropatolojik koşullar sırasında oksitlenmiş veya yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynar (Gong ve Leznik, 2007a). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada araştırmacılar, beyin omurilik sıvısındaki UCHL1 düzeylerinin, şiddetli travmatik beyin yaralanması olan hastalarında kontrol deneklerine kıyasla önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir (Papa ve ark., 2010).

2.7. DİŞ ETİ OLUĞU SIVISI

DOS, gingival pleksusun postkapiller venüllerinden köken alır. Diş eti sulkusunda yıkama etkisine sahiptir, aynı zamanda konak savunmasının kan bileşenlerini (örneğin nötrofiller, antikorlar, tamamlayıcı bileşenler) sulkusa getirme işlevi de görür (Griffiths, 2003). DOS, periodonsiyumun antimikrobiyal savunmasında ve birleşim epitelinin yapısının korunmasında rol oynar(Subbarao ve ark., 2019).

Enflamasyonda DOS akışı ve nötrofillerde artış olur, bunlar periodontal sağlık ve hastalıkta DOS'un önemli özellikleridir (Kornman, Page, ve Tonetti, 1997). Bileşenleri, serum, bağ dokusu ve DOS'un sulkusa giderken geçtiği epitel dahil olmak üzere bir dizi kaynaktan elde edilir (Lamster, 1997).

Sağlıklı durumdan, hastalıkla ilişkili subgingival mikrobiyotaya geçişte, pH, oksijen seviyeleri, sıcaklık, ozmotik basınç ve oksidasyon-indirgeme potansiyeli dahil olmak üzere bir dizi allojenik faktör rol oynamaktadır (Barros, Williams ve ark., 2016). Klinik olarak sağlıklı durumda, DOS akışı düşük olmasına rağmen yinede sulkusta bulunur (Attström ve ark., 1975). DOS akışını uyaran birçok faktör vardır. Diş eti enflamasyonu, artmış cep derinliği, lifli gıdaların çiğnenmesi, diş eti oluşunun uyarılması, sirkadiyen periyot, cerrahi müdahaleler, restoratif işlemler, strip yerleştirme, diş mobilitesi, vücut sıcaklığının artması, kadın seks hormonları, yumurtlama, hormon dengesini değiştiren kontraseptifler, sigara ve histaminin topikal uygulaması bunlardan bazılarıdır (Subbarao, Nattuthurai ve ark., 2019). Yapılan çalışmalar DOS kompozisyonunun, doku metabolizmasının incelenmesinde, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bağ doku formasyonundaki subklinik değişiklikleri tespit etmek için

kullanılmasının mümkün olduğunu göstermektedir (Baliban ve ark., 2013; Bostanci ve Belibasakis, 2018). Klinik olarak sağlıklı diş etine sahip bireylerden toplanan DOS örneklerinde, periodontal doku yıkımı ile ilişkili enflamatuvar mediyatörlere ya hiç rastlanmaz ya da çok düşük seviyelerde rastlanabilir (Chapple, Mealey ve ark., 2018). IL-1 β , TNF ve PGE2 gibi normalde enflamasyonla ilişkili birçok sitokin, klinik olarak sağlıklı bölgelerden gelen diş eti oluşu sıvısında hastalıklı sıvıya göre daha düşük seviyelerde bulunur (Górska ve ark., 2003; Kamma ve ark., 2009).

3 farklı DOS toplama yöntemi tanımlanmıştır: (Newman, Takei ve ark., 2011)

- Kağıt Bant Yöntemi
- Mikropipet Yöntemi
- Diş Eti Oluşu Yıkama Yöntemi

Kağıt Bant Yöntemi

DOS örnekleri, kağıt bant yöntemiyle klinik ortamda kolay, girimşel olmayan ve hastaya rahatsızlık vermeyecek bir şekilde toplanabilmektedir. Kısa sürede tamamlanması bir avantajıdır. Kağıt bantlar, hafif direnç tespit edilinceye kadar diş eti oluşu içine (apikal doğrultuda) yerleştirilerek veya cebin girişine ya da üstüne yerleştirmek suretiyle DOS örneği toplamak için kullanılır (Lamster, 1997).

Mikropipet Yöntemi

Kılcallık sayesinde sıvının mikropipetlere emilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Standart uzunluk ve çaptaki kılcal borular cebe yerleştirilir, toplanan sıvı santrifüj edilir ve içerikleri analiz edilir. Yöntemin uzun sürmesi ve klinik hassasiyet gerektirmesi

dezavantajlarıdır. Bu durum tükürük ve kan kontaminasyonu olasılığını artırabilir (Nazar Majeed ve ark., 2016).

Diş Eti Oluğu Yıkama Yöntemi

Bu yöntemi gerçekleştirmek için kullanılan cihaz, iç içe yerleştirilmiş iki enjeksiyon iğnesinden oluşmaktadır. Diş eti oluğu yıkaması, klinik olarak normal diş etinden elde edilen DOS'u incelemek için kullanılabilir. Oppenheim tarafından tasarlanan cihaz, marjinal diş etinin bütünlüğünü bozmadan diş eti sıvısının toplanmasına izin verir. Cihaz, maksillayı yumuşak kenarlarla kaplayan sert bir akrilik plaka ve dört plastik küpe bağlı diş eti kenarı boyunca bir oluktan oluşur. Diş eti yıkamaları, peristaltik bir pompa aracılığıyla parafin ve bukkal kanallar vasıtasıyla bir taraftan diğer tarafa sabit bir süre boyunca durulanarak elde edilir. Teknik hassasiyet gerektirmesi ve cihaz gereksiniminden dolayı tercih edilmemektedir (Nazar Majeed, Philip ve ark., 2016).

2.8. AMAÇ VE HİPOTEZ

Bu çalışmanın hipotezi, protein yıkımını sağlayan ubikuitinasyon sisteminde görevli proteinlerin şiddetli doku yıkımının olduğu periodontal dokularda daha yüksek seviyelerde bulunabileceği yönünde kurulmuştur. Bu araştırmanın amacı; sağlıklı ve hastalıklı periodontal dokularda ubikuitin-proteozom yolağı proteinlerinin seviyelerini belirlemek ve periodontal tedavinin bu seviyelere etkisini araştırmaktır. Literatürde bu proteinlerin seviyeleri DOS'ta bu hasta gruplarında daha önce çalışılmadığından bu çalışma özgün bir çalışmadır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim dalına 2020-2021 yılları arası muayene ve tedavi amacıyla başvuran hastalardan çalışma kriterlerine uygun olan hastalar dâhil edilmiştir.

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun, 19-KAEK-248 kayıt numaralı, 05.12.1019 tarihli onayını takiben Bilimsel Araştırma Projelerinin 2020/16 numaralı projesi olarak başlanmıştır. Tüm hastalara yapılacak işlemler detaylı bir şekilde anlatılıp yazılı ve sözlü olarak bildirilmiş ve hastaların onamı alınmıştır.

3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ

Medikal anamnezinde sistemik hastalık hikayesi bulunmayan son 6 ay içinde diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltilmesi tedavisi görmüş 18-50 yaş arası periodontal açıdan sağlıklı ve periodontitis hastaları çalışmaya dahil edilmiştir. Herhangi bir nedenle son 3 ay içinde antibiyotik tedavisi almış olan, sigara kullanan, ağızda 20'den az sayıda dişi bulunan, hamile veya emziren hastalar ve çalışmaya katılmayı reddeden hastalar çalışmaya dâhil edilmemiştir. Bu araştırma rutin klinik ve radyografik muayenelerde sağlıklı olduğu tespit edilen veya periodontitis teşhisi konulan, toplam 30 hasta ile yürütülmüştür. Aydınlatılmış onam formunu imzalayanlar çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI

Periodontitis hastalarından, cerrahi olmayan periodontal tedavi öncesinde ve tedaviden 6 hafta sonra olmak üzere 2 defa DOS örneği toplanmıştır. Çalışmaya sadece Evre 3 Derece B olan periodontitis hastaları dahil edilmiştir. Periodontitisli hastalar tedavi öncesi ve tedavi sonrası olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Grup PTÖ: periodontitis tedavi öncesi (n=15)

Periodontitis tedavi öncesi grubu klinik ve radyografik inceleme sonucunda en az bir diş çevresinde ve en az bir yüzeyinde dört mm ve dört mm'den fazla KAS tespit edilen, radyografi incelemesinde kemik kaybı gözlenen hastalardan oluşturulmuştur.

Grup PTS: periodontitis tedavi sonrası

Periodontitis tedavi sonrası grubu, tedavi öncesi grubun Faz I tedavilerini takiben gingival dokularda klinik olarak enflamasyon belirtisi bulunmayan, KAS üç mm ve altına gerilemiş hastalar tarafından oluşturulmuştur.

Grup S: sağlıklı grup (n=15)

Klinik ve radyografik incelemeyi takiben herhangi bir dişinde patolojik cep varlığı bulunmayan, radyografik değerlendirmede kemik kaybı gözlenmeyen hastalardan oluşturulmuştur.

3.3. KLİNİK PERİODONTAL VERİLER

Klinik ataçman seviyesi (KAS), Plak indeksi (Pİ) ve Gingival indeks (Gİ) olmak üzere veriler toplanmış ve kaydedilmiştir. Tüm klinik ölçümler sağlıklı bireyler için bir kez, periodontitis hastaları için periodontal tedavi öncesi ve sonrası için 2 kez alınmıştır.

Pİ ölçümü için Silness ve Loe tarafından tanımlanan skarlama sistemi kullanılmıştır. Hastaların tüm dişlerinde toplamda 6 bölge (mesiobukkal, midbukkal, distobukkal, mesiolingual, midlingual, distolingual) olmak üzere, mikrobiyal dental plak miktarı değerlendirilerek 0 ile 3 arasında skarlama yapılmıştır. Bunlar:

0: Hava ile kurutmayı takiben plak bulunmaması.

1: Hava ile kurutmayı takiben serbest diş eti kenarı ve ona komşu alanda film şeklinde plak bulunmaktadır ve diş yüzeyindeki plak sondu sürterek veya boyayıcı solüsyon uygulanarak görülebilmektedir. Plak gözle görünmez.

2: Hava ile kurutarak ya da kurutmadan diş eti cebinde yumuşak plak birikimi bulunmaktadır ve plak gözle görülebilmektedir.

3: Diş eti cebinde ve/veya diş yüzeyinde kalın ve aşırı plak birikimi bulunmaktadır. (Silness ve Loe, 1964).

Gİ, Silness ve Loe tarafından tanımlanan, tüm dişlerde toplamda 6 bölgede olmak üzere enflamasyon miktarı, ödem, diş etinde sondlama ile veya spontan kanama, renk

değişimi, ülserasyon gibi değişkenler değerlendirilerek 0 ile 3 arasında skorlama yapılmıştır. Bunlar:

0: Sağlıklı gingiva

1: Hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği, ödem ve sondlandığında diş etinde kanama yok

2: Orta derecede enflamasyon, kızarıklık, ödem ve sondlamada kanama

3: Şiddetli enflamasyon, belirgin kızarıklık, ödem, ülserasyon ve spontan kanamaya eğilim olması (Loe ve Silness, 1963).

Klinik ataçman seviyesi ölçümü için klinikte rutin olarak kullanılan Williams sondu (Hufriedy Co., Chicago, IL, USA) ile diş eti içinde dişin uzun aksına paralel olarak itilip ilk direnç görülen yerde durularak diş eti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülür.

3.4. DIŞ ETİĞİ OLUĞU SIVISI TOPLANMASI

DOS toplanmasında Kağıt Bant yöntemi tercih edilmiştir. Hastaların her bir dişinin çevresinden 3 DOS örneği (mezio-bukkal, mid-bukkal ve disto bukkal) alınmıştır. Diş yüzeylerinde ki supragingival plak ve yiyecek artıkları uzaklaştırıldıktan sonra bu yüzeyler hava spreyi yardımıyla kurutulmuştur ve rulo pamuk peletler ile izole edilmiştir. DOS örnekleri kağıt bantlarla (Periopaper strips, OraFlow, Amityville, NY) toplanmıştır. DOS toplama işlemi ağrısız, anestezi gerektirmeyen bir prosedürdür. Özel kağıt bantlar

diş etine hafifçe yerleştirilerek 30 saniye bekletilmiştir. Mekanik zarar vermemek için özen gösterilmiştir. Kan ile veya tükürük ile kontamine olan kağıt bantlar değerlendirilme dışı bırakılmıştır. Kağıt bantlar eppendorf tüplerine yerleştirilerek -80°C derecelik ortamda biyokimyasal analiz için muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1: Kağıt Bant ile DOS Toplanması

3.5. ELİSA ANALİZİ

ELISA testi, Enzyme-Linked İmmünoSorbent Assay (ELISA), testinin İngilizce kısaltmasıdır. Antijen-antikor ilişkisini ve antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini belirlemeye dayanan bir yöntemidir. Antijene karşı antikor ya da antikora karşı antijen aramak mümkündür (Engvall ve Perlmann, 1972).

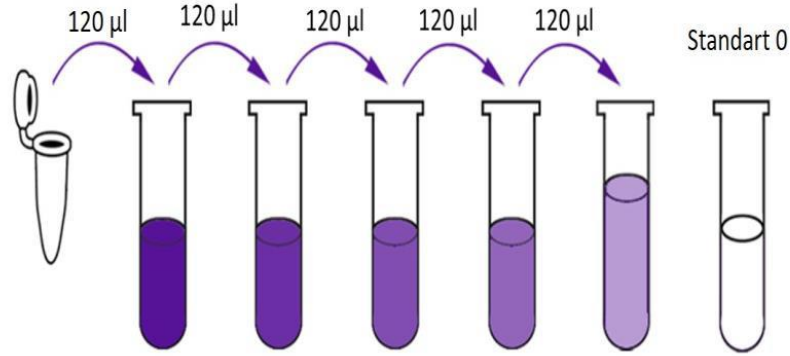
DOS örneklerinde Ub, E1, E2, E3, A20 ve UCHL1 değerlendirilmesi sandviç ELISA yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Her bir biyobelirteç için birer adet 96 kuyucuklu ELISA kiti kullanılmıştır (YL Biont, Shangai YL Biotech Co., Ltd).



Şekil 3.2: ELİSA Optik Okuyucusu ve 96 Kuyucuklu Plaka

ELISA analizi üretici firmanın kullanım talimatları ışığında gerçekleştirilmiştir. Analizin gerçekleştirileceği gün 1 saat öncesinden örneklerin bulunduğu eppendorf tüpleri -20 °C ‘den oda sıcaklığına çıkarılmıştır. Her tüpün içinde ki her bir peripapera 100 mililitre (µL) olacak şekilde toplam 300 µL Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) eklenmiştir. Peripaperların içindeki örneklerin ekstraksiyonu için tüpler vorteks cihazında birer dakika süre ile çalkalanmıştır. ELISA kitinin üretici firmasının tarif ettiği

kullanım talimatları doğrultusunda tüm aşamalar uygulanarak, tüpler içindeki sıvı örneklerin ELISA analizi gerçekleştirilmiştir. Numuneler 450 nm dalga boyundaki optik okuyucuda okutulmuştur. Standart çözeltilerin absorbens-konsantrasyon eğrisi çizilerek her bir örneğin, absorbens değerine karşılık gelen konsantrasyonu belirlenmiştir.



Standart Konsantrasyon	Standart No.5	Standart No.4	Standart No.3	Standart No.2	Standart No.1
160 µg/ml	80 µg/ml	40 µg/ml	20 µg/ml	10 µg/ml	5 µg/ml

Şekil 3.3: ELİSA Standard Solüsyon Hazırlanışı

3.6. İSTATİSTİKSEL VERİLER

Bu tez çalışmasında, daha önceki yapılan benzer çalışma referans alınarak Power Analizi hesaplaması yapılmıştır (Ketabi, Friese, ve Weber, 2017). G*Power programı 3.1.9.2 versiyonu kullanılarak yapılan güç analizi sonuçları; 0,50 etki büyüklüğü, % 80 güç ve %5 hata miktarı ile çalışmaya 30 bireyle devam edilmesine karar verilmiştir. Tüm istatistiksel analizler, IBM SPSS Statistics 20.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0, IBM Corp., Armonk, NY, ABD)

Verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov Smirnov Testi ile belirlenmiştir. Normal dağılıma uyan yaş, cinsiyet, PI, GI ve CD verileri One Way Anova ve Tukey testleri ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan Ub, E1, E2, E3, UCHL1, A20 verileri Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri ile değerlendirilmiştir.

Sonuçların istatistiksel olarak anlamlılığının değerlendirmesinde %95 güven aralığı ve $p < 0,05$ seviyesi baz alınmıştır.

Klinik ve laboratuvar bulgularına ilişkin korelasyon verileri Spearman korelasyon analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK BULGULAR

Çalışmaya katılan tüm hastaların demografik ve periodontal klinik ölçümleri alınmıştır.

Tablo 4.1: Çalışma Gruplarında Demografik Bulgular

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis
Yaş	43,07±15,54	41,80±11,47
Cinsiyet	8 Kadın 7 Erkek	9 Kadın 6 Erkek

Gruplar arası yaş ve cinsiyet değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır. ($p>0,05$).

4.2. KLİNİK BULGULAR

Tablo 4.2: Çalışma Gruplarında Klinik Bulgular

Gruplar	Sağlıklı (S)	Periodontitis Tedavi Öncesi (PTÖ)	Periodontitis Tedavi Sonrası (PTS)
Klinik Ataçman Seviyesi	1,27±0,46	6,73±1,53 ^a	4,15±1,55 ^{a, b}
Gingival İndeks	0,60±0,51	2,13±0,74 ^a	0,62±0,55 ^b
Plak İndeksi	0,67±0,62	2,13±0,74 ^a	0,71±0,54 ^b

^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir. ^b $p<0,05$ tedavi öncesi grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Gruplar arası klinik ataçman seviyesi değerlendirildiğinde sağlıklı grup ile tedavi öncesi ve tedavi sonrası grupları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Sağlıklı grup verileri periodontitis gruplarından düşük bulunmuştur. Tedavi öncesi grubu ve tedavi sonrası grubu klinik ataçman seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavi öncesi grubu verileri, tedavi sonrası grubu verilerinden daha düşük bulunmuştur.

Gruplar arası Gİ değerlendirildiğinde, periodontitis grubu ile sağlıklı grup ve tedavi sonrası grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Periodontitis grup verileri, sağlıklı ve iyileşmiş grup verilerinden yüksek bulunmuştur. Sağlıklı grup ile tedavi sonrası grup verileri arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır. ($p>0,05$).

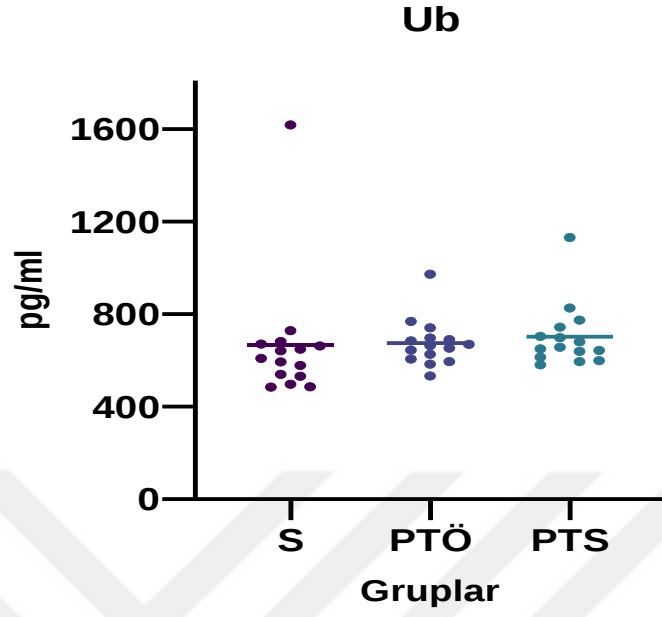
Gruplar arası Pİ değerlendirildiğinde, periodontitis grubu ile sağlıklı grup ve tedavi sonrası grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Periodontitis grup verileri, sağlıklı ve tedavi sonrası grup verilerinden yüksek bulunmuştur. Sağlıklı grup ile tedavi sonrası grup verileri arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır. ($p>0,05$).

4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Ubikuitin-Proteozom Yolağı Biyobelirteçleri ELİSA Analizleri

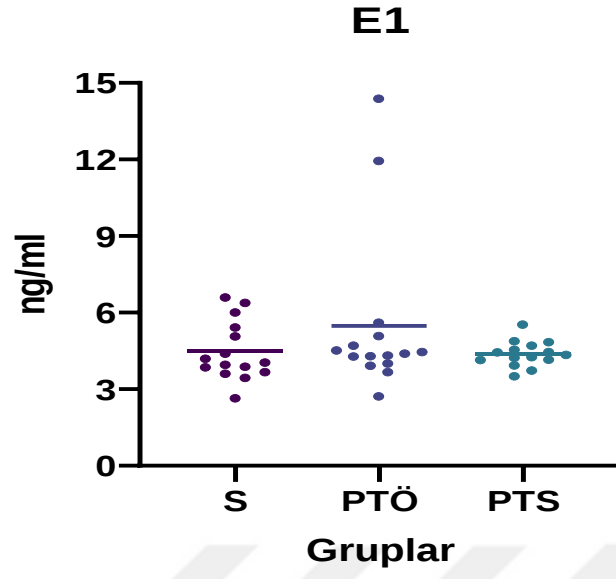
Gruplar	Sağlıklı (S)	Periodontitis Tedavi Öncesi (PTÖ)	Periodontitis Tedavi Sonrası (PTS)
Ub	596,85 ± 76,56 Min: 484,16 Maks: 1617,7 Ort: 608,8	675,28±102,14 ^a Min: 533,06 Maks: 972,44 Ort: 664,01	702,20±137,06 ^a Min: 581,18 Maks: 1130,21 Ort: 656,12
E1	4,48±1,16 Min: 2,64 Maks: 6,6 Ort: 3,25	5,49±3,21 Min: 2,72 Maks: 14,38 Ort: 4,39	4,38±0,50 Min: 3,5 Maks: 5,53 Ort: 4,34
E2	5,14±1,47 Min: 4,31 Maks: 10,15 Ort: 4,72	4,89±0,55 Min: 3,42 Maks: 5,58 Ort: 4,95	5,38±0,57 ^a Min: 4,69 Maks: 6,79 Ort: 5,16
E3	6,41±0,64 Min: 5,25 Maks: 8,08 Ort: 6,40	6,44±1,04 Min: 3,93 Maks: 7,92 Ort: 6,56	6,65±0,75 Min: 5,11 Maks: 8,07 Ort: 6,69
A20	895,06±293,17 Min: 539,98 Maks: 1507,31 Ort: 728,21	511,05±219,28 ^a Min: 308,69 Maks: 1027,86 Ort: 425,18	848,07±289,79 Min: 430,24 Maks: 1443,16 Ort: 699,51
UCHL1	5,22±1,42 Min: 1,26 Maks: 6,51 Ort: 5,64	6,32±1,39 Min: 5,15 Maks: 10,72 Ort: 5,97	6,90±0,65 ^a Min: 5,55 Maks: 8,17 Ort: 6,91

^ap<0,05 sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir. ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir. ELISA analiz verileri, non-parametrik olduğu için minimum, maksimum ve ortanca verileri de eklenmiştir.



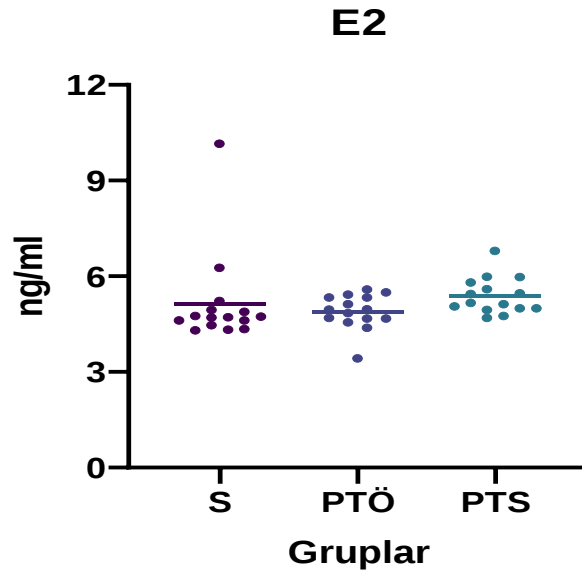
Şekil 4.1: Ubikuitin ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında Ub seviyeleri sağlıklı grubunda, tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplarından anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ub seviyelerinde, tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplarında farklılık gözlenmemiştir.



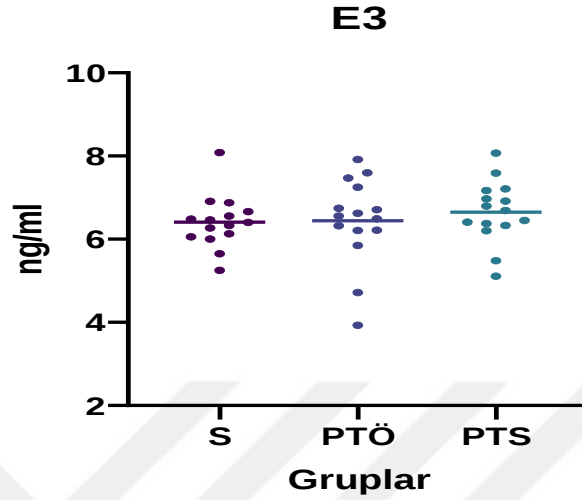
Şekil 4.2: E1 ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında E1 seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



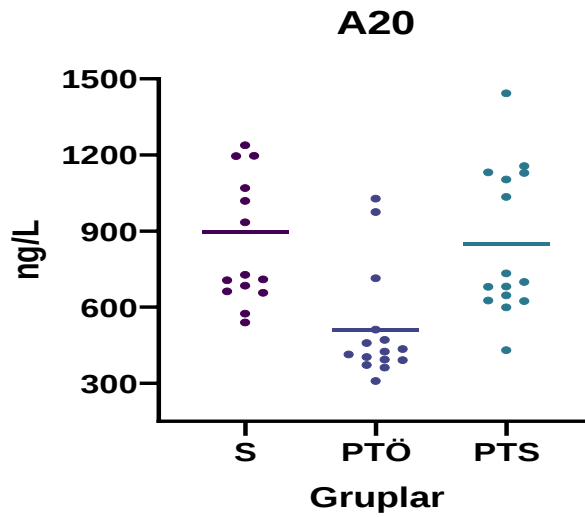
Şekil 4.3: E2 ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında E2 seviyeleri sağlıklı grubunda, tedavi sonrası grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).



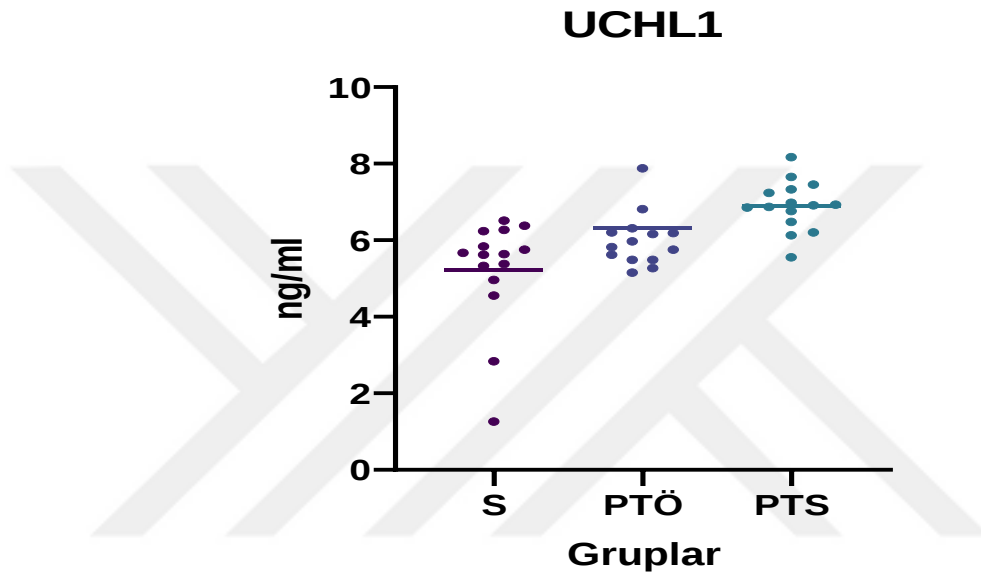
Şekil 4.4: E3 ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında E3 seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.5: A20 ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında A20 seviyeleri tedavi öncesi grubunda, sağlıklı gruptan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Sağlıklı ve tedavi sonrası gruplarında ise farklılık bulunamamıştır. Yapılan korelasyon analizleri sonucunda, GI ile orta düzeyde negatif yönlü korelasyon ($p=0.03$), KAS ile orta-kuvvetli düzeyde negatif yönlü korelasyon ($p=0.000$) saptanmıştır.



Şekil 4.6: UCHL1 ELİSA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında UCHL1 seviyeleri sağlıklı grup, tedavi sonrası grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplarında ise farklılık bulunamamıştır.

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, bakterilerin neden olduğu enflamasyon ve konak immün yanıtının aktivasyonu ile diş desteğinin kaybına neden olan ve periodonsiyumu etkileyen bakteriyel enfeksiyonlardır (Darveau, Hajishengallis, ve Curtis, 2012). Periodontal hastalık, periodonsiyumun sert doku ve yumuşak bağ doku bileşenlerinin yıkımı ile karakterizedir. Temel özellikleri arasında periodontal cep oluşumu, bağ dokusu ataçman kaybı, alveoler kemik rezorpsiyonu ve diş eti enflamasyonu yer alır. Tedavi edilmediğinde, sıklıkla diş kaybına neden olur (Kinane, Stathopoulou, ve Papapanou, 2017). Periodontal hastalık ile oluşan enflamasyonun başlatılması ve düzenlenmesi fosforilasyon ve ubikuitinasyon gibi bir dizi post-translasyonel modifikasyon yoluyla gerçekleşir (Liu, Qian, ve Cao, 2016). Ubikuitinasyon yoluyla işleyen bu sistem, immün yanıtların işlenmesinde rol oynar (Chitra, Nalini, ve Rajasekhar, 2012).

Ubikuitinasyon, E1, E2 ve E3 dahil olmak üzere bir dizi faktörü içeren bir mekanizma ile elde edilir (Danielsen ve ark., 2011). Aktive edici enzim olan E1'in memelilerde tüm hücrelerde eksprese edildiği gözlenmiştir (Handley ve ark., 1991). Hücre çekirdeğindeki E1 aktivitesi, hücre döngüsünde görevli proteinlerin, ubikuitinasyon durumunu belirler ve bu nedenle hücre döngüsü ilerlemesinin önemli bir düzenleyicisidir (Joo ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda E1 aktivitesinin ubikuitinasyon ve deubikutinasyon yoluyla H2A histon proteinleri ve p53 üzerine etkisi yoluyla hücre döngüsünü düzenlendiği gösterilmiştir (Joo, Zhai ve ark., 2007; Kitagaki ve ark., 2009). Proteinlerin ubikuitinasyonu ve degradasyonu, çeşitli hücresel işlevlerin yanı sıra çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda yanlış katlanmış ve toksik proteinlerin uzaklaştırılmasında

rol oynar (Lim ve Lim, 2011). UPS bileşenlerindeki bozulmalar, generalize enflamasyon ve kanser dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkta tanımlanmıştır (Hegde ve Upadhy, 2011). Yang ve ark. E1'in farmakolojik inhibisyonunun, tümör baskılayıcı protein p53'ün UPS aracılı bozunmasını önleyerek hücre döngüsü boyunca ilerlemeyi inhibe ettiğini göstermiştir (Yang ve ark., 2007). UPS işleyişindeki bozulmaların diyabet gibi metabolik hastalıklara yol açtığına dair bulgular mevcuttur (Wing, 2008). Shruthi ve ark. diyabetik fare modeli üzerinden yaptıkları çalışmada diyabetli grupta, kontrol grubuna oranla beyin dokusunda daha yüksek E1 seviyeleri ve ubikuitine edilmiş proteinlerde artış gözlemlemişlerdir (Shruthi ve ark., 2019). Reddy ve ark. diyabetik fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, hiperglisemik kas hücrelerinde artmış E1 ekspresyonu ve ubikuitinle bağlanmış proteinlerde artış gözlemlemişlerdir (Reddy ve ark., 2018). Bir diğer diyabetik fare çalışmasında ise retina hücrelerindeki E1 seviyesi, diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur (Shruthi, Reddy, ve Reddy, 2017). Bu bulgulardan farklı olarak bu tez çalışmasında E1 seviyeleri gruplarda benzer bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde ve periodontitisli bireylerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası E1 seviyelerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Ubikuitinasyon hatalı katlanmış proteinlerin parçalanması için gerekli bir modifikasyondur (Varshavsky, 2017). Hastalık durumunda ubikuitin ve ubikuitinlenmiş protein miktarında bir artış beklenmektedir. Bu tez çalışmasında da bu bulgularla uyumlu olarak Ub seviyeleri sağlıklı grupta, periodontitis tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplarından daha düşük bulunmuştur.

E2, ubikuitin-proteozom sisteminde hücre döngüsü ilerlemesini sağlayan ana konjüge edici enzimdir (Wang ve ark., 2019). E2, aktive edilmiş ubikuitin molekülünün doğrudan veya lizin kalıntıları üzerinden E3 ligaza transferine aracılık eder (Shen ve ark.,

2013). E2, mitotik hücre döngüsünde ve hücre bölünmesinin kontrolünde görevlidir (Bassermann, Eichner, ve Pagano, 2014). Huyan ve ark. yaptıkları çalışmada makrofaj hücrelerinin RANKL ile uyarılması sonucunda osteoklastogeneze yol açan Bub1b, Rbl1, Kif11 ve Nusap1 genleriyle beraber E2 gen ekspresyonunun da arttığını gözlemlemişlerdir (Huyan ve ark., 2020). Chen ve ark. yaptıkları çalışmada kemik kökenli mezenşimal kök hücrelerinin TGF- β 'ya maruz kaldığında IL-6, MAPK8, E2 ekspresyonlarında artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Chen ve ark., 2021). Zhang ve ark. NF- κ B üzerinde enflamasyonun düzenlenmesinde rol alan STAT3'ün eksikliği durumunda E2 seviyesinin arttığı gözlemlemişlerdir (Zhang ve ark., 2014). Liu ve ark. melanoma lezyonlarında E2 ekspresyonunun yükseldiğini bildirmiş ve E2'nin kanserli dokularda miktarının arttığını göstermişlerdir (Liu ve ark., 2019). E2 enflamasyon ve hastalık durumunda miktarı artan bir enzimdir. Bu tez çalışmasında da diğer çalışmaları destekler şekilde sağlıklı grupta E2 miktarları daha düşük bulunmuştur.

UPS sisteminin üçüncü enzimi olan E3 ligaz, bir substrat lizin ile kovalent bir bağ oluşturmak için ubikuitinin bir E2 enziminden transferini katalize ederek, ubikuitin kaskadındaki son adımı gerçekleştirir (Berndsen ve Wolberger, 2014). E3 ligazları, nörodejenerasyon, nörogelişimsel bozukluklar ve zihinsel engelliliği içeren nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (Upadhyay ve ark., 2017). Parkinson hastalığı başta olmak üzere Angelman sendromu, nadir epilepsi türleri, Louis Bar sendromu, Moyamoya sendromu ve Juberg-Marsidi sendromu gibi nörodejeneratif hastalıklar UPS enzimlerinden olan E3 ligaz işlev bozukluğuyla ilişkilendirilmiştir (George ve ark., 2018). E3 ligazın UPS'deki rolü nedeniyle nörolojik hastalıkların yanı sıra konak bağışıklığı ve enflamasyonda da görev aldığı bilinmektedir (Tang, Langdon, ve Zhang,

2019). Maekawa ve arkadaşları, E3 ligazların periodontal bir patojen olan *P. gingivalis* ile ilişkisine dair yaptıkları çalışmada, *P. gingivalis*in nötrofillerde Toll benzeri reseptör 2 (TLR2) ve C5aR'yi birlikte aktive ettiğini ve ortaya çıkan bu çapraz aktivasyonun, E3 ubiquitin ligaza bağlı ubiquitinasyona ve MyD88'in proteozomal bozunmasına yol açtığını ve konak antimikrobiyal yanıtını inhibe ettiğini bulmuşlardır (Maekawa ve ark., 2014). E3 ligazın, Tip 2 yardımcı T hücreleri aracılığıyla konak bağışıklığında rol oynadığı bildirilmiştir (Umetsu ve ark., 2002). Perry ve arkadaşları E3 ligaz eksikliği olan hayvanlarla yaptıkları çalışmada, bağışıklık cevaplarındaki bozulmaya bağlı olarak, kalın bağırsakta enflamatuvar hastalık gelişimi, pulmoner interstisyel enflamasyon, alveolar proteinoz, mide ve deri bezlerinde enflamasyon ve lenfoid ve hematopoietik hücrelerde hiperplazi gibi enflamatuvar hastalıklar geliştiğini göstermişlerdir (Perry ve ark., 1998). Venuprasad ve arkadaşlarının E3 eksikliği olan farelerde yaptıkları çalışmada, hava yolunda enflamasyon gelişimi görülmüştür (Venuprasad ve ark., 2006). Aynı zamanda Masumoto ve ark. onkojenik E3 ligazın ubiquitin aracılı degradasyon yoluyla oral kanser etyolojisinde rol oynadığını belirtmişlerdir (Masumoto ve Kitagawa, 2016). Umetsu ve ark. yaptıkları çalışmada, E3 ligaz enzim artışının, NF- κ B sinyalinin TNF- α aracılığıyla artışına ve ubiquitin kompleksinin artışına aynı zamanda bu yolla enflamasyonun şiddetini arttırdığı göstermişlerdir (Umetsu ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında diğer çalışmaların bulgularından farklı olarak E3 seviyeleri gruplarda benzer bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde ve periodontitisli bireylerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası E3 seviyelerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.

Normal homeostaz kaybı, hücresel işlev bozukluğuna ve hastalığa yol açan enfeksiyon veya stres dahil birçok mekanizmadan kaynaklanabilir. Çeşitli patofizyolojik

durumlarda, ubikuitinlenmiş ürünlerde bir artış olduğu görülmektedir (Versari, Herrmann ve ark., 2006). UPS düzensizliği, kanser, diyabet, felç, greft reddi, Alzheimer hastalığı, amiotropik lateral skleroz, multipl skleroz, astım, enflamatuvar bağırsak hastalığı, otoimmün tiroiditis, enflamatuvar artrit ve sistemik lupus eritematozus gibi bir dizi kalıtsal ve edinilmiş hastalıkla bağlantılıdır (Wang ve Maldonado, 2006). UPS, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla enflamatuvar yanıtlara aracılık eder (Lecker, Goldberg, ve Mitch, 2006). Periodontal hastalıklarda enflamatuvar yanıt, konak immün yanıtı ile başlatılır (Silva, Abusleme ve ark., 2015). Enflamatuvar yanıtın başlaması ve ilerlemesinin düzenlenmesinde, ubikuitinasyon mekanizması önemli rol oynar (Li ve ark., 2016). UPS ile enflamasyon arasındaki en önemli bağlantı NF- κ B ile ilgilidir. NF- κ B, birçok enflamatuvar sitokin geninin ana düzenleyicisidir ve aktivasyonuna UPS aracılık eder. NF- κ B, I κ B'ye bağlandığında aktif olarak inhibe edilir. NF- κ B aktivasyonu, I κ B'nin ubikuitinasyonuna bağlı olan I κ B'nin degradasyonunu ve ardından proteazomal degradasyonu takip eder. Bu nedenle, UPS'deki değişiklikler, enflamatuvar sitokin regülasyonu dahil olmak üzere bağışıklık yanıtları üzerinde etkilidir. Aynı zamanda NF- κ B aktivasyonu periodontal patojenlere maruz kalan oral epitel hücrelerinde de gözlenmiştir (Xu ve ark., 2009). Oral mukozada, immün hücre ömrünün ve döngüsünün sıkı düzenlenmesi, immün homeostazın önemli bir işlevidir ve apoptozun bozulması, periodontitiste görülen kronik enflamasyona katkıda bulunabilir (Meghil ve Cutler, 2020).

A20, hem deubikitinleştirici (DUB), hem de ubikitin E3 ligaz aktivitesi gösteren ve TNF reseptör yolağında protein kinaz olarak görev alan bir ubikuitin düzenleyici enzim olarak işlev görür (Wertz ve ark., 2004). A20, NF- κ B sinyalleşmesinin gücünü ve

süresini sınırlamada önemli bir role sahiptir (Coornaert, Carpentier, ve Beyaert, 2009). NF- κ B sinyallemede, A20 güçlü bir inhibitördür (Wertz, O'rourke ve ark., 2004). Abbasi ve ark. TNF- α , IL-1 β , LPS, CD40 ve IL-17 gibi enflamatuvar moleküllerin ilgili hücre yüzey reseptörlerine bağlanması gibi birçok mekanizma ile ubiquitin düzenleyici protein A20'nin, NF- κ B sinyalini negatif olarak düzenlediğini göstermişlerdir (Abbasi, Forsberg, ve Bischof, 2015). Ma ve ark. A20'nin NF- κ B sinyallemesini inhibe ederek antiapoptotik işlev gösterdiğini bildirmişlerdir (Ma ve Malynn, 2012). Li ve ark. yetersiz A20 seviyelerinin oral mukoza hücrelerini enflamasyona bağlı oluşan TNF'lerin apoptozuna duyarlı hale getirdiğini bildirmişlerdir (Li ve ark., 2020). Turer ve ark. A20'nin, TNF- α ve TLR ile stimülasyonu takiben hızla indüklenebilen bir gen olduğu bildirmişlerdir (Turer ve ark., 2008). Yan ve ark. periodontitisi taklit eden hipoksik ortamda PDL hücre kültüründe A20'nin antiosteoklastik etki göstererek RANKL/OPG oranındaki artışı geciktirdiğini bulmuştur (Yan ve ark., 2020). Hong YJ ve ark. , A20'nin aşırı ekspresyonunun periodontitisli hastalarda enflamatuvar yanıt üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. A20'nin diş eti dokularında, LPS'ye maruz kalan PDL hücrelerinde ve nötrofillerde miktarının arttığını ve bu durumunda A20 ekspresyonunun artışının periodontal hastalık gibi enflamatuvar kemik kaybı gözlenen hastalıklarda potansiyel bir terapötik olabileceğini düşündürmüştür (Hong ve ark., 2016). Bu nedenle, A20 ekspresyonunun artışı, hücreleri NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederek LPS ve TNF- α ile indüklenen sitotoksiteden korur, böylece endotel hücrelerinde IL-1 β ve TNF- α gen ekspresyonunun azalmasına yol açar (Song, Rothe, ve Goeddel, 1996). Aksine Crump ve ark. periodontitisli ve sağlıklı hastalardan aldıkları diş eti biyopsilerinde A20 seviyesinin periodontitis hastalarında daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Crump, Oakley ve ark.,

2017). Bu tez çalışmasında, Crump ve ark. farklı olarak Hong YJ ve ark. bulgularına benzer şekilde toplanan DOS örneklerinde A20 seviyesi periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere oranla daha düşük bulunmuştur. Ek olarak A20 seviyesi periodontal tedavi sonrasında, periodontal tedavi öncesine göre daha düşük tespit edilmiştir. Bu bulgu sağlıklı ve tedavi sonrası gruplarındaki A20 konsantrasyon artışının, enflamasyonunun düzenlenmesi ve sonlandırılması ile ilişkili olduğunu doğrular niteliktedir. Yapılan korelasyon analizleri sonucunda, GI ile orta düzeyde negatif yönlü korelasyon ($p=0.03$), KAS ile orta-kuvvetli düzeyde negatif yönlü korelasyon ($p=0.000$) saptanmıştır. Bu negatif yönlü korelasyon ilişkileri, A20'nin anti-apoptotik ve anti-enflamatuvar özelliklerini destekler niteliktedir.

A20 ile benzer olarak NF- κ B kaskadını kullanan bir diğer UPS enzimi ise UCHL1'dir. UCHL1'in işlevi, proteazom yoluna yönlendirilmesi gereken proteinlerden ubiquitini çıkarmaktır (Gong ve Leznik, 2007b). UCHL1, serbest ubiquitini geri dönüştürerek ubiquitin-proteazom aracılı protein yıkımını kolaylaştıran nöronal deubikuitinleştirici bir enzimdir (Larsen, Krantz, ve Wilkinson, 1998). UCHL1, nöronal yapının, işlevinin ve sağlığının korunmasında önemli rol oynar (Mrozik ve ark., 2010). UCHL1'in gen ekspresyonunun azalması, ubiquitinlenmiş proteinlerin agregasyonunu indükler ve nöronlarda hücre ölümünü teşvik eder. Wang ve ark. UCHL1'in hem iskemik hasarda hem de Alzheimer hastalığında azaldığını bulmuşlardır (Wang ve ark., 2017). Mrozik ve ark. PDL, diş pulpası ve kemik iliği kök hücrelerinde UCHL1 seviyelerini araştırdıkları çalışmada, diş pulpası kök hücrelerindeki UCHL1 seviyesinin, PDL kök hücreleri ve kemik iliği kök hücrelerine kıyasla daha yüksek seviyede bulunduğunu göstermişlerdir (Mrozik, Zilm ve ark., 2010). Takami ve ark. UCHL1'in hem insan

endotelial hücrelerinde hem de vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edildiğini göstermişlerdir (Takami ve ark., 2007). Ichikawa ve ark. UCHL1'in gen ekspresyon artışı, TNF- α aracılı vasküler enflamasyona negatif geri dönüş sağladığını bildirmiştir (Ichikawa ve ark., 2010). Pro-enflamatuvar sitokin TNF- α 'nın, vasküler hastalıkların patogeneğinde önemli bir rolü olduğu bulunmuştur (McKellar ve ark., 2009). NF- κ B kaskadının, TNF- α sinyal transdüksiyonunun önemli bir bileşeni olduğu gözlemlenmiştir (Bradley, 2008). Bu tez çalışmasında Ichikawa ve ark. çalışmalarına benzer şekilde enflamasyonun düzenlendiği periodontitis tedavi sonrası grubunda UCHL1 ekspresyon seviyeleri diğer gruplardan anlamlı derece yüksek bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında, DOS biyobelirteç seviyelerinin belirlenmesi için ELISA analizinden faydalanılmıştır. ELISA analizi uygulaması kolay, maliyeti düşük, kantitatif olarak değerlendirilebilen, spektrofotometrede objektif olarak değerlendirilebilen bir analiz olduğundan bu çalışmada kullanılmıştır (Lequin, 2005). DOS'un periodontal sağlık ve hastalık durumunda analizi hastalığın seyri ve periodontal tedavinin başarısıyla ilgili bilgi vermektedir (Özkavaf ve ark., 2000). DOS ile yapılan çalışmalarda periodontal hastalıkların patogeneğinde konak kaynaklı mediyatörlerin enflamasyon üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Buduneli ve Kinane, 2011). Bu tez çalışmasında UPS proteinleri araştırılmıştır. Çalışmanın bazı limitasyonları mevcuttur. Bunlar; periodontitis hasta grubunda sadece Grade B hastaları dahil edilmiştir, sınırlı sayıda marker ile yürütülmüştür ve sadece ELISA analizi kullanılmıştır. Ancak ELISA yönteminin bazı dezavantajları bulunmaktadır. ELISA'ya kıyasla daha hassas sonuç veren RT-PCR ve Western Blot gibi analizlerin kullanımı UPS'nin periodontal dokulardaki rolünün daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, sağlıklı, periodontitisli bireylerde periodontal tedavinin Ub, E1, E2, E3, A20, UCHL1 seviyelerine etkisi ELISA ile araştırılmıştır. Literatürde bu proteinlerin seviyeleri DOS'ta bu hasta gruplarında daha önce çalışılmadığından bu çalışma özgün bir çalışmadır. Periodontitis hastalığında UPS proteinlerinin seviyelerinin sağlıklı dokulardan farklarının anlaşılabilmesinin hedeflendiği bu çalışmanın sonuçları aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

1. Bu çalışmada toplanan DOS örneklerinde, sağlıklı grup Ub seviyeleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası grubundan düşük bulunmuştur.
2. Bu çalışmada gruplar arası, E1 ve E3 seviyelerinde farklılık bulunamıştır.
3. Bu çalışmada E2 seviyeleri sağlıklı grubunda, tedavi sonrası grubundan düşük bulunmuştur.
4. Bu çalışmada A20 seviyeleri tedavi öncesi grubunda, sağlıklı gruptan düşük bulunmuştur.
5. Bu çalışmada UCHL1 seviyeleri sağlıklı grupta, tedavi sonrası grubundan düşük bulunmuştur.

Bu tez çalışması 30 sağlıklı ve periodontitisli bireyin ELISA analizinin gerçekleştirildiği klinik bir çalışmadır. Daha yüksek örneklem sayıları ve daha hassas biyokimyasal analizler, UPS'nin periodontal dokulardaki rolünün daha iyi anlaşılmasında fayda sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbasi, A., Forsberg, K., & Bischof, F. (2015). The role of the ubiquitin-editing enzyme A20 in diseases of the central nervous system and other pathological processes. *Frontiers in molecular neuroscience*, 8, 21.
- Abuhussein, H., Bashutski, J. D., Dabiri, D., Halubai, S., Layher, M., Klausner, C., . . . Kapila, Y. (2014). The role of factors associated with apoptosis in assessing periodontal disease status. *Journal of periodontology*, 85(8), 1086-1095.
- Adelaja, A., & Hoffmann, A. (2019). Signaling crosstalk mechanisms that may fine-tune pathogen-responsive NFκB. *Frontiers in immunology*, 10, 433.
- Ainamo, J., & Löe, H. (1966). Anatomical characteristics of gingiva. A clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. *The Journal of Periodontology*, 37(1), 5-13.
- Ainamo, J., & Talari, A. (1976). The increase with age of the width of attached gingiva. *Journal of Periodontal research*, 11(4), 182-188.
- Akalin, F. A., Toklu, E., & Renda, N. (2005). Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *Journal of clinical periodontology*, 32(3), 238-243.
- Alberts, B. (2008). *Molecular biology of the cell*: Garland science.
- Ang, E., Pavlos, N. J., Rea, S. L., Qi, M., Chai, T., Walsh, J. P., . . . Xu, J. (2009). Proteasome inhibitors impair RANKL-induced NF-κB activity in osteoclast-like

- cells via disruption of p62, TRAF6, CYLD, and I κ B α signaling cascades. *Journal of cellular physiology*, 220(2), 450-459.
- Arron, J. R., & Choi, Y. (2000). Bone versus immune system. *Nature*, 408(6812), 535-536.
- Attström, R., Laurel, A. B., Lahsson, U., & Sjöholm, A. (1975). Complement factors in gingival crevice material from healthy and inflamed gingiva in humans. *Journal of periodontal research*, 10(1), 19-27.
- Axelsson, P., Lindhe, J., & Nyström, B. (1991). On the prevention of caries and periodontal disease: results of a 15-year longitudinal study in adults. *Journal of clinical periodontology*, 18(3), 182-189.
- Babay, N. (2001). Attachment of human gingival fibroblasts to periodontally involved root surface following scaling and/or etching procedures: a scanning electron microscopy study. *Braz Dent J*, 12(1), 17-21.
- Badersten, A., Nilveus, R., & Egelberg, J. (1984). Effect of nonsurgical periodontal therapy: II. Severely advanced periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 11(1), 63-76.
- Bakri, Y., Sarrazin, S., Mayer, U. P., Tillmanns, S., Nerlov, C., Boned, A., & Sieweke, M. H. (2005). Balance of MafB and PU. 1 specifies alternative macrophage or dendritic cell fate. *Blood*, 105(7), 2707-2716.
- Baliban, R. C., Sakellari, D., Li, Z., Guzman, Y. A., Garcia, B. A., & Floudas, C. A. (2013). Discovery of biomarker combinations that predict periodontal health or disease with high accuracy from GCF samples based on high-throughput

- proteomic analysis and mixed-integer linear optimization. *Journal of clinical periodontology*, 40(2), 131-139.
- Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., & Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*, 70(1), 53-64.
- Bartold, P. (1995). Turnover in periodontal connective tissues: dynamic homeostasis of cells, collagen and ground substances. *Oral diseases*, 1(4), 238-253.
- Bartold, P. M., & Narayanan, A. S. (1998). *Biology of the periodontal connective tissues*: Quintessence Publishing (IL).
- Bartold, P. M., & Van Dyke, T. E. (2013). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000*, 62(1), 203-217.
- Bassermann, F., Eichner, R., & Pagano, M. (2014). The ubiquitin proteasome system—implications for cell cycle control and the targeted treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1843(1), 150-162.
- Belibasakis, G. N., Bostanci, N., Hashim, A., Johansson, A., Aduse-Opoku, J., Curtis, M. A., & Hughes, F. J. (2007). Regulation of RANKL and OPG gene expression in human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by *Porphyromonas gingivalis*: a putative role of the Arg-gingipains. *Microbial pathogenesis*, 43(1), 46-53.
- Berezovsky, I. N., Guarnera, E., & Zheng, Z. (2017). Basic units of protein structure, folding, and function. *Progress in biophysics and molecular biology*, 128, 85-99.

- Berndsen, C. E., & Wolberger, C. (2014). New insights into ubiquitin E3 ligase mechanism. *Nature structural & molecular biology*, 21(4), 301.
- Birkedal-Hansen, H., Butler, W. T., & Taylor, R. E. (1977). Proteins of the periodontium. *Calcified tissue research*, 23(1), 39-44.
- Blicher, B., Joshipura, K., & Eke, P. (2005). Validation of self-reported periodontal disease: a systematic review. *Journal of dental research*, 84(10), 881-890.
- Blom, N., Sicheritz-Pontén, T., Gupta, R., Gammeltoft, S., & Brunak, S. (2004). Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics*, 4(6), 1633-1649.
- Bock, J. R., & Gough, D. A. (2001). Predicting protein–protein interactions from primary structure. *Bioinformatics*, 17(5), 455-460.
- Boonyasrisawat, W., Eberle, D., Bacci, S., Zhang, Y.-Y., Nolan, D., Gervino, E. V., . . . Doria, A. (2007). Tag polymorphisms at the A20 (TNFAIP3) locus are associated with lower gene expression and increased risk of coronary artery disease in type 2 diabetes. *Diabetes*, 56(2), 499-505.
- Bostanci, N., & Belibasakis, G. N. (2018). Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontology 2000*, 76(1), 68-84.
- Bradley, J. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 214(2), 149-160.
- Breining, D. R., O'Leary, T. J., & Blumenshine, R. V. (1987). Comparative effectiveness of ultrasonic and hand scaling for the removal of subgingival plaque and calculus. *Journal of Periodontology*, 58(1), 9-18.

- Breitschopf, K., Bengal, E., Ziv, T., Admon, A., & Ciechanover, A. (1998). A novel site for ubiquitination: the N-terminal residue, and not internal lysines of MyoD, is essential for conjugation and degradation of the protein. *The EMBO Journal*, 17(20), 5964-5973.
- Buduneli, N., & Kinane, D. F. (2011). Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 38, 85-105.
- Caffesse, R. G., Sweeney, P. L., & Smith, B. (1986). Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. *Journal of clinical periodontology*, 13(3), 205-210.
- Calabrese, N., Galgut, P., & Mordan, N. (2007). Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* within human dental calculus: a pilot investigation. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 9(4), 118.
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., . . . Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*, 89, S1-S8.
- Chapple, I. L., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., . . . Goldstein, M. (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal

- and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S74-S84.
- Chen, J., Chen, L., Hua, J., & Song, W. (2021). Long-term dynamic compression enhancement TGF- β 3-induced chondrogenesis in bovine stem cells: a gene expression analysis. *BMC Genomic Data*, 22(1), 1-12.
- Chesnel, F., Bazile, F., Pascal, A., & Kubiak, J. Z. (2006). Cyclin B dissociation from CDK1 precedes its degradation upon MPF inactivation in mitotic extracts of *Xenopus laevis* embryos. *Cell Cycle*, 5(15), 1687-1698.
- Chiew, S., Wilson, M., Davies, E., & Kieser, J. (1991). Assessment of ultrasonic debridement of calculus-associated periodontally-involved root surfaces by the limulus amoebocyte lysate assay: An in vitro study. *Journal of clinical periodontology*, 18(4), 240-244.
- Chitra, S., Nalini, G., & Rajasekhar, G. (2012). The ubiquitin proteasome system and efficacy of proteasome inhibitors in diseases. *International journal of rheumatic diseases*, 15(3), 249-260.
- Christopher, W. (2006). Posttranslational modification of proteins: expanding nature's inventory. *Colo.: Roberts and Co. Publishers, Englewood*, p xxi.
- Chung, K. K., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2001). The role of the ubiquitin-proteasomal pathway in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. *Trends in neurosciences*, 24, 7-14.
- Chung, W., Dommisch, H., Yin, L., & Dale, B. (2007). Expression of defensins in gingiva and their role in periodontal health and disease. *Current pharmaceutical design*, 13(30), 3073-3083.

- Ciechanover, A. (1998). The ubiquitin–proteasome pathway: on protein death and cell life. *The EMBO journal*, 17(24), 7151-7160.
- Cobb, C. M. (2002). Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 22-32.
- Colombo, A. P. V., Magalhães, C. B., Hartenbach, F. A. R. R., do Souto, R. M., & da Silva-Boghossian, C. M. (2016). Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microbial pathogenesis*, 94, 27-34.
- Coornaert, B., Carpentier, I., & Beyaert, R. (2009). A20: central gatekeeper in inflammation and immunity. *Journal of Biological Chemistry*, 284(13), 8217-8221.
- Coux, O., Tanaka, K., & Goldberg, A. L. (1996). Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annual review of biochemistry*, 65(1), 801-847.
- Crotti, T., Smith, M. D., Hirsch, R., Soukoulis, S., Weedon, H., Capone, M., . . . Haynes, D. (2003). Receptor activator NF κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *Journal of periodontal research*, 38(4), 380-387.
- Crump, K. E., Oakley, J. C., Xia-Juan, X., Madu, T. C., Devaki, S., Mooney, E. C., & Sahingur, S. E. (2017). Interplay of toll-like receptor 9, myeloid cells, and deubiquitinase A20 in periodontal inflammation. *Infection and immunity*, 85(1).
- Cullinan, M. P., & Seymour, G. J. (2013). Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? *Periodontology 2000*, 62(1), 271-286.

- D'Andrea, A., & Pellman, D. (1998). Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 33(5), 337-352.
- Dangaria, S. J., Ito, Y., Luan, X., & Diekwisch, T. G. (2011). Successful periodontal ligament regeneration by periodontal progenitor preseeding on natural tooth root surfaces. *Stem cells and development*, 20(10), 1659-1668.
- Dangaria, S. J., Ito, Y., Walker, C., Druzinsky, R., Luan, X., & Diekwisch, T. G. (2009). Extracellular matrix-mediated differentiation of periodontal progenitor cells. *Differentiation*, 78(2-3), 79-90.
- Danielsen, J. M., Sylvestersen, K. B., Bekker-Jensen, S., Szklarczyk, D., Poulsen, J. W., Horn, H., . . . Nielsen, M. L. (2011). Mass spectrometric analysis of lysine ubiquitylation reveals promiscuity at site level. *Molecular & Cellular Proteomics*, 10(3), M110. 003590.
- Darveau, R., Hajishengallis, G., & Curtis, M. (2012). Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease. *Journal of dental research*, 91(9), 816-820.
- Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 481-490.
- Dashper, S., Seers, C., Tan, K., & Reynolds, E. (2011). Virulence factors of the oral spirochete Treponema denticola. *Journal of dental research*, 90(6), 691-703.
- Day, I. N., & Thompson, R. J. (2010). UCHL1 (PGP 9.5): neuronal biomarker and ubiquitin system protein. *Progress in neurobiology*, 90(3), 327-362.

- de Lima Oliveira, A. P., de Faveri, M., Gursky, L. C., Mestnik, M. J., Feres, M., Haffajee, A. D., . . . Teles, R. P. (2012). Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *Journal of clinical periodontology*, 39(3), 295-302.
- Dentino, A., Lee, S., Mailhot, J., & Hefti, A. F. (2013). Principles of periodontology. *Periodontology 2000*, 61(1), 16-53.
- Devine, D. A., Marsh, P. D., & Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of oral microbiology*, 7(1), 26941.
- Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C., Yu, W.-H., . . . Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*, 192(19), 5002-5017.
- Dong, Y., Zhang, S., Wu, Z., Li, X., Wang, W. L., Zhu, Y., . . . Mao, Y. (2019). Cryo-EM structures and dynamics of substrate-engaged human 26S proteasome. *Nature*, 565(7737), 49-55.
- Eisenhaber, F., Persson, B., & Argos, P. (1995). Protein structure prediction: recognition of primary, secondary, and tertiary structural features from amino acid sequence. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 30(1), 1-94.
- Elburki, M. S. (2018). The Etiology and Pathogenesis of Periodontal Disease. *BAOJ Dentistry*, 4, 042.
- Eley, B. M., & Cox, S. W. (2003). Proteolytic and hydrolytic enzymes from putative periodontal pathogens: characterization, molecular genetics, effects on host defenses and tissues and detection in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 31(1), 105-124.

- Engvall, E., & Perlmann, P. (1972). Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA: III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *The Journal of Immunology*, 109(1), 129-135.
- Feng, X., & McDonald, J. M. (2011). Disorders of bone remodeling. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 6, 121-145.
- Feng, Z., & Weinberg, A. (2006). Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontology 2000*, 40(1), 50-76.
- Fox, C. (1992). New considerations in the prevalence of periodontal disease. *Current opinion in dentistry*, 2, 5.
- Fujita, Y., Ito, H., Sekino, S., & Numabe, Y. (2012). Correlations between pentraxin 3 or cytokine levels in gingival crevicular fluid and clinical parameters of chronic periodontitis. *Odontology*, 100(2), 215-221.
- Fukaya, M., Brorsson, C. A., Meyerovich, K., Catrysse, L., Delaroche, D., Vanzela, E. C., . . . Andersen, M. L. (2016). A20 inhibits β -cell apoptosis by multiple mechanisms and predicts residual β -cell function in type 1 diabetes. *Molecular Endocrinology*, 30(1), 48-61.
- George, A. J., Hoffiz, Y. C., Charles, A. J., Zhu, Y., & Mabb, A. M. (2018). A comprehensive atlas of E3 ubiquitin ligase mutations in neurological disorders. *Frontiers in genetics*, 9, 29.
- Glickman, M., & Ciechanover, A. April 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev*, 82(2), 373-428.
- Goldstein, G., Scheid, M., Hammerling, U., Schlesinger, D., Niall, H., & Boyse, E. (1975). Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties

- and is probably represented universally in living cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(1), 11-15.
- Gong, B., & Leznik, E. (2007a). The role of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 in neurodegenerative disorders. *Drug news & perspectives*, 20(6), 365-370.
- Gong, B., & Leznik, E. (2007b). The role of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 in neurodegenerative disorders. *Drug News Perspect*, 20(6), 365-370.
- Górska, R., Gregorek, H., Kowalski, J., Laskus-Perendyk, A., Syczewska, M., & Madaliński, K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 30(12), 1046-1052.
- Gottlieb, B. (1933). Active and passive continuous eruption of teeth. *J. Dent. Res.*, 13, 214.
- Gottlieb, B. (1942). Biology of the cementum. *The Journal of Periodontology*, 13(1), 13-17.
- Graves, D., Li, J., & Cochran, D. (2011). Inflammation and uncoupling as mechanisms of periodontal bone loss. *Journal of dental research*, 90(2), 143-153.
- Graves, D. T., Jiang, Y., & Genco, C. (2000). Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health. *Current opinion in infectious diseases*, 13(3), 227-232.
- Griffiths, G. S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 31(1), 32-42.
- Haas, A. L., Baboshina, O., Williams, B., & Schwartz, L. M. (1995). Coordinated induction of the ubiquitin conjugation pathway accompanies the developmentally

- programmed death of insect skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 270(16), 9407-9412.
- Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 15(1), 30-44.
- Han, X., Lin, X., Seliger, A., Eastcott, J., Kawai, T., & Taubman, M. (2009). Expression of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand by B cells in response to oral bacteria. *Oral microbiology and immunology*, 24(3), 190-196.
- Handley, P. M., Mueckler, M., Siegel, N. R., Ciechanover, A., & Schwartz, A. L. (1991). Molecular cloning, sequence, and tissue distribution of the human ubiquitin-activating enzyme E1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(1), 258-262.
- HASSELL, T. M. (1993). Tissues and cells of the periodontium. *Periodontology 2000*, 3(1), 9-38.
- Havens, C. G., Ho, A., Yoshioka, N., & Dowdy, S. F. (2006). Regulation of late G1/S phase transition and APC^{Cdh1} by reactive oxygen species. *Molecular and cellular biology*, 26(12), 4701-4711.
- Heaton, S. M., Borg, N. A., & Dixit, V. M. (2016). Ubiquitin in the activation and attenuation of innate antiviral immunity. *Journal of Experimental Medicine*, 213(1), 1-13.
- Hegde, A. N., & Upadhyay, S. C. (2011). Role of ubiquitin–proteasome-mediated proteolysis in nervous system disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1809(2), 128-140.

- Heitz-Mayfield, L. J., & Lang, N. P. (2013). Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts. *Periodontology 2000*, 62(1), 218-231.
- Hicke, L. (2001). Protein regulation by monoubiquitin. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2(3), 195-201.
- Holmlund, A., Hänström, L., & Lerner, U. H. (2004). Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 31(6), 475-482.
- Honda, T., Domon, H., Okui, T., Kajita, K., Amanuma, R., & Yamazaki, K. (2006). Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clinical & Experimental Immunology*, 144(1), 35-40.
- Hong, J. Y., Bae, W. J., Yi, J. K., Kim, G. T., & Kim, E. C. (2016). Anti-inflammatory and anti-osteoclastogenic effects of zinc finger protein A 20 overexpression in human periodontal ligament cells. *Journal of periodontal research*, 51(4), 529-539.
- Hou, C.-C., & Yang, W.-X. (2013). New insights to the ubiquitin–proteasome pathway (UPP) mechanism during spermatogenesis. *Molecular biology reports*, 40(4), 3213-3230.
- How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. (2016). Porphyromonas gingivalis: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Frontiers in microbiology*, 7, 53.
- Hu, H., & Sun, S.-C. (2016). Ubiquitin signaling in immune responses. *Cell research*, 26(4), 457-483.

- Huyan, T., Peng, H., Cai, S., Li, Q., Dong, D., Yang, Z., & Shang, P. (2020). Transcriptome Analysis Reveals the Negative Effect of 16 T High Static Magnetic Field on Osteoclastogenesis of RAW264. 7 Cells. *BioMed research international*, 2020.
- Ichikawa, T., Li, J., Dong, X., Potts, J. D., Tang, D.-Q., Li, D.-S., & Cui, T. (2010). Ubiquitin carboxyl terminal hydrolase L1 negatively regulates TNF α -mediated vascular smooth muscle cell proliferation via suppressing ERK activation. *Biochemical and biophysical research communications*, 391(1), 852-856.
- Ikeda, T., Kasai, M., Utsuyama, M., & Hirokawa, K. (2001). Determination of Three Isoforms of the Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand and Their Differential Expression in Bone and Thymus. *Endocrinology*, 142(4), 1419-1426.
- Ioannou, I., Dimitriadis, N., Papadimitriou, K., Sakellari, D., Vouros, I., & Konstantinidis, A. (2009). Hand instrumentation versus ultrasonic debridement in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial. *Journal of clinical periodontology*, 36(2), 132-141.
- Jepsen, S., Caton, J. G., Albandar, J. M., Bissada, N. F., Bouchard, P., Cortellini, P., . . . Fan, J. (2018). Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology*, 45, S219-S229.
- Jiang, Z.-L., Cui, Y.-Q., Gao, R., Li, Y., Fu, Z.-C., Zhang, B., & Guan, C.-C. (2013). Study of TNF- α , IL-1 β and LPS levels in the gingival crevicular fluid of a rat model of diabetes mellitus and periodontitis. *Disease markers*, 34(5), 295-304.

- Joo, H.-Y., Zhai, L., Yang, C., Nie, S., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., . . . Wang, H. (2007). Regulation of cell cycle progression and gene expression by H2A deubiquitination. *Nature*, 449(7165), 1068-1072.
- Kajiya, M., Giro, G., Taubman, M. A., Han, X., Mayer, M. P., & Kawai, T. (2010). Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. *Journal of oral microbiology*, 2(1), 5532.
- Kamma, J., Mombelli, A., Tsinidou, K., Vasdekis, V., & Giannopoulou, C. (2009). Cytokines in gingival crevicular fluid of adolescents and young adults. *Oral microbiology and immunology*, 24(1), 7-10.
- Karin, M., & Delhase, M. (2000). *The I κ B kinase (IKK) and NF- κ B: key elements of proinflammatory signalling*. Paper presented at the Seminars in immunology.
- Kawashima, H., Sato, S., Kishida, M., & Ito, K. (2007). A comparison of root surface instrumentation using two piezoelectric ultrasonic scalers and a hand scaler in vivo. *Journal of periodontal research*, 42(1), 90-95.
- Ke, M., Shen, H., Wang, L., Luo, S., Lin, L., Yang, J., & Tian, R. (2016). Identification, quantification, and site localization of protein posttranslational modifications via mass spectrometry-based proteomics. *Modern Proteomics—Sample Preparation, Analysis and Practical Applications*, 345-382.
- Kerscher, O., Felberbaum, R., & Hochstrasser, M. (2006). Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 22, 159-180.
- Ketabi, A., Friese, H., & Weber, H. (2017). A Comparison Of Il-1 β , E2 (Pge2), Pai-2 and Tnf-A Levels in Gingival Crevicular Fluid (Gcf) and Peri-Implant Crevicular

- Fluid (Picf) from Groups of Patients with Healthy Teeth, Healthy Implants, Periodontitis and Peri-Implantitis. *Dentistry*, 7(445), 2161-1122.1000445.
- Kinane, D. F., & Lappin, D. F. (2001). Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease. *Acta Odontologica Scandinavica*, 59(3), 154-160.
- Kinane, D. F., Preshaw, P. M., Loos, B. G., & Periodontology, W. G. o. t. S. E. W. o. (2011). Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions—Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 38, 44-48.
- Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 1-14.
- Kini, U., & Nandeesh, B. (2012). Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism *Radionuclide and hybrid bone imaging* (pp. 29-57): Springer.
- Kitagaki, J., Yang, Y., Saavedra, J., Colburn, N., Keefer, L., & Perantoni, A. (2009). Nitric oxide prodrug JS-K inhibits ubiquitin E1 and kills tumor cells retaining wild-type p53. *Oncogene*, 28(4), 619-624.
- Kleiger, G., & Mayor, T. (2014). Perilous journey: a tour of the ubiquitin–proteasome system. *Trends in cell biology*, 24(6), 352-359.
- Kliza, K., & Husnjak, K. (2020). Resolving the complexity of ubiquitin networks. *Frontiers in molecular biosciences*, 7, 21.
- Kobayashi-Sakamoto, M., Hirose, K., Isogai, E., & Chiba, I. (2004). NF- κ B-dependent induction of osteoprotegerin by *Porphyromonas gingivalis* in endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 315(1), 107-112.

- Koegl, M., Hoppe, T., Schlenker, S., Ulrich, H. D., Mayer, T. U., & Jentsch, S. (1999). A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. *Cell*, 96(5), 635-644.
- Komander, D., & Rape, M. (2012). The ubiquitin code. *Annual review of biochemistry*, 81, 203-229.
- Kong, Y.-Y., Yoshida, H., Sarosi, I., Tan, H.-L., Timms, E., Capparelli, C., . . . Itie, A. (1999). OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*, 397(6717), 315-323.
- Konopka, Ł., Pietrzak, A., & Brzezińska-Błaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *Journal of periodontal research*, 47(6), 681-688.
- Kornman, K. S., Page, R. C., & Tonetti, M. S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000*, 14(1), 33-53.
- Lacey, D., Timms, E., Tan, H.-L., Kelley, M., Dunstan, C., Burgess, T., . . . Scully, S. (1998). Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *cell*, 93(2), 165-176.
- Lamster, I. B. (1997). Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Annals of Periodontology*, 2(1), 123-137.
- Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018a). Periodontal health. *Journal of periodontology*, 89, S9-S16.

- Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018b). Periodontal health. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S9-S16. doi: 10.1002/jper.16-0517
- Lang, N. P., Joss, A., & Tonetti, M. S. (1996). Monitoring disease during supportive periodontal treatment by bleeding on probing. *Periodontology 2000*, 12(1), 44-48.
- Lang, N. P., & Lindhe, J. (2015). *Clinical periodontology and implant dentistry, 2 Volume Set*: John Wiley & Sons.
- Larsen, C. N., Krantz, B. A., & Wilkinson, K. D. (1998). Substrate specificity of deubiquitinating enzymes: ubiquitin C-terminal hydrolases. *Biochemistry*, 37(10), 3358-3368.
- Lecker, S. H., Goldberg, A. L., & Mitch, W. E. (2006). Protein degradation by the ubiquitin–proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(7), 1807-1819.
- Leme, A. P., Koo, H., Bellato, C., Bedi, G., & Cury, J. (2006). The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—new insight. *Journal of dental research*, 85(10), 878-887.
- Lequin, R. M. (2005). Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clinical chemistry*, 51(12), 2415-2418.
- Lerner, U. (2006). Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *Journal of dental research*, 85(7), 596-607.

- Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G., Leube, B., Ulm, G., Mezey, E., . . . Chernova, T. (1998). The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature*, 395(6701), 451-452.
- Letty, M.-S. (1997). Melvin L. Moss and the functional matrix. *Journal of dental research*, 76(12), 1814-1817.
- Li, L., Qian, G., Zuo, Y., Yuan, Y., Cheng, Q., Guo, T., . . . Zheng, H. (2016). Ubiquitin-dependent turnover of adenosine deaminase acting on RNA 1 (ADAR1) is required for efficient antiviral activity of type I interferon. *Journal of Biological Chemistry*, 291(48), 24974-24985.
- Li, S.-J., & Hochstrasser, M. (1999). A new protease required for cell-cycle progression in yeast. *Nature*, 398(6724), 246-251.
- Li, Y., Mooney, E. C., Xia, X.-J., Gupta, N., & Sahingur, S. E. (2020). A20 restricts inflammatory response and desensitizes gingival keratinocytes to apoptosis. *Frontiers in immunology*, 11, 365.
- Lim, K.-L., & Lim, G. G. (2011). K63-linked ubiquitination and neurodegeneration. *Neurobiology of disease*, 43(1), 9-16.
- Lindhe, J., Karring, T., & Lang, N. P. (2008). *Clinical periodontology and implant dentistry; Volume 1+ 2*: Blackwell.
- Lindhe, J., Lang, N. P., & Karring, T. (2003). *Clinical periodontology and implant dentistry* (Vol. 4): Blackwell munksgaard Copenhagen.
- Lindhe, J., Westfelt, E., Nyman, S., Socransky, S. S., Heijl, L., & Bratthall, G. (1982). Healing following surgical non-surgical treatment of periodontal disease: A clinical study. *Journal of clinical periodontology*, 9(2), 115-128.

- Listgarten, M. (1976). Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man: a light and electron microscopic study. *Journal of periodontology*, 47(1), 1-18.
- Liu, G., Zhao, J., Pan, B., Ma, G., & Liu, L. (2019). UBE2C overexpression in melanoma and its essential role in G2/M transition. *Journal of Cancer*, 10(10), 2176.
- Liu, J., Qian, C., & Cao, X. (2016). Post-translational modification control of innate immunity. *Immunity*, 45(1), 15-30.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., . . . Matsudaira, P. (2008). *Molecular cell biology*: Macmillan.
- Loe, H., & Silness, J. (1963). Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta odontologica Scandinavica*, 21, 533-551.
- Löw, P., Bussell, K., Dawson, S., Billett, M., Mayer, R., & Reynolds, S. (1997). Expression of a 26S proteasome ATPase subunit, MS73, in muscles that undergo developmentally programmed cell death, and its control by ecdysteroid hormones in the insect *Manduca sexta*. *FEBS letters*, 400(3), 345-349.
- Lu, Q., Samaranayake, L. P., Darveau, R. P., & Jin, L. (2005). Expression of human β -defensin-3 in gingival epithelia. *Journal of periodontal research*, 40(6), 474-481.
- Ma, A., & Malynn, B. A. (2012). A20: linking a complex regulator of ubiquitylation to immunity and human disease. *Nature Reviews Immunology*, 12(11), 774-785.
- Maekawa, T., Krauss, J. L., Abe, T., Jotwani, R., Triantafilou, M., Triantafilou, K., . . . Nussbaum, G. (2014). *Porphyromonas gingivalis* manipulates complement and TLR signaling to uncouple bacterial clearance from inflammation and promote dysbiosis. *Cell host & microbe*, 15(6), 768-778.

- Mann, E. E., & Wozniak, D. J. (2012). Pseudomonas biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS microbiology reviews*, 36(4), 893-916.
- Mariotti, A., & Hefti, A. F. (2015). *Defining periodontal health*. Paper presented at the BMC Oral Health.
- Masumoto, K., & Kitagawa, M. (2016). E3 ubiquitin ligases as molecular targets in human oral cancers. *Current cancer drug targets*, 16(2), 130-135.
- Mattos, C. M., & Santana, R. B. (2008). A quantitative evaluation of the spatial displacement of the gingival zenith in the maxillary anterior dentition. *Journal of periodontology*, 79(10), 1880-1885.
- Mättö, J., Saarela, M., von Troil-Lindén, B., Alaluusua, S., Jousimies-Somer, H., & Asikainen, S. (1996). Similarity of salivary and subgingival *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Oral microbiology and immunology*, 11(6), 395-401.
- McDowell, G. S., & Philpott, A. (2013). Non-canonical ubiquitylation: mechanisms and consequences. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(8), 1833-1842.
- McKee, M., Zalzal, S., & Nanci, A. (1996). Extracellular matrix in tooth cementum and mantle dentin: localization of osteopontin and other noncollagenous proteins, plasma proteins, and glycoconjugates by electron microscopy. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 245(2), 293-312.

- McKellar, G. E., McCarey, D. W., Sattar, N., & McInnes, I. B. (2009). Role for TNF in atherosclerosis? Lessons from autoimmune disease. *Nature Reviews Cardiology*, 6(6), 410.
- Meghil, M. M., & Cutler, C. W. (2020). Oral microbes and mucosal dendritic cells, “spark and flame” of local and distant inflammatory diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1643.
- Metzger, M. B., Hristova, V. A., & Weissman, A. M. (2012). HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance. *Journal of cell science*, 125(3), 531-537.
- Momtazi, G., Lambrecht, B., Naranjo, J. R., & Schock, B. C. (2019). Regulators of A20 (TNFAIP3): new drug-able targets in inflammation. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 316(3), L456-L469.
- Monje, A., Chan, H. L., Galindo-Moreno, P., Elnayef, B., Suarez-Lopez del Amo, F., Wang, F., & Wang, H. L. (2015). Alveolar bone architecture: A systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology*, 86(11), 1231-1248.
- Mrozik, K. M., Zilm, P. S., Bagley, C. J., Hack, S., Hoffmann, P., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2010). Proteomic characterization of mesenchymal stem cell-like populations derived from ovine periodontal ligament, dental pulp, and bone marrow: analysis of differentially expressed proteins. *Stem Cells and Development*, 19(10), 1485-1499.
- Muhlemann, H., Zander, H., & Halberg, F. (1954). Mitotic activity in the periodontal tissues of the rat molar. *Journal of dental research*, 33(4), 459-467.

- Mukhopadhyay, D., & Riezman, H. (2007). Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, 315(5809), 201-205.
- Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. L. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *Journal of clinical periodontology*, 45, S17-S27.
- Nassif, N. D., Cambray, S. E., & Kraut, D. A. (2014). Slipping up: Partial substrate degradation by ATP-dependent proteases. *IUBMB life*, 66(5), 309-317.
- Nazar Majeed, Z., Philip, K., Alabsi, A., Pushparajan, S., & Swaminathan, D. (2016). Identification of gingival crevicular fluid sampling, analytical methods, and oral biomarkers for the diagnosis and monitoring of periodontal diseases: A systematic review. *Disease Markers*, 2016.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2011). *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier health sciences.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2018). *Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book*: Elsevier Health Sciences.
- O'Connor, C. M., Adams, J. U., & Fairman, J. (2010). Essentials of cell biology. *Cambridge, MA: NPG Education*, 1, 54.
- Offenbacher, S. (1996). Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology*, 1(1), 821-878.
- Ogasawara, T., Yoshimine, Y., Kiyoshima, T., Kobayashi, I., Matsuo, K., Akamine, A., & Sakai, H. (2004). In situ expression of RANKL, RANK, osteoprotegerin and cytokines in osteoclasts of rat periodontal tissue. *Journal of periodontal research*, 39(1), 42-49.

- Oh, H., Hirano, J., Takai, H., & Ogata, Y. (2015). Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 β level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. *Journal of oral science*, 57(2), 67-71.
- Özkavaf, A., Aras, H., Huri, C. B., Mottaghian-Dini, F., Tözüm, T. F., Etikan, I., . . . Çaglayan, F. (2000). Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science*, 42(4), 231-238.
- Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of periodontal research*, 26(3), 230-242.
- Papa, L., Akinyi, L., Liu, M. C., Pineda, J. A., Tepas III, J. J., Oli, M. W., . . . Gabrielli, A. (2010). Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Critical care medicine*, 38(1), 138.
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., . . . Graziani, F. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S173-S182.
- Perillo, L., d'Apuzzo, F., Illario, M., Laino, L., Di Spigna, G., Lepore, M., & Camerlingo, C. (2020). Monitoring Biochemical and Structural Changes in Human Periodontal Ligaments during Orthodontic Treatment by Means of Micro-Raman Spectroscopy. *Sensors*, 20(2), 497.
- Perry, W. L., Hustad, C. M., Swing, D. A., O'Sullivan, T. N., Jenkins, N. A., & Copeland, N. G. (1998). The itchy locus encodes a novel ubiquitin protein ligase that is disrupted in a 18H mice. *Nature genetics*, 18(2), 143-146.

- Petersen, P. E., & Ogawa, H. (2012). The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontology 2000*, 60(1), 15-39.
- Pickart, C. M., & Eddins, M. J. (2004). Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1695(1-3), 55-72.
- Popovic, D., Vucic, D., & Dikic, I. (2014). Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. *Nature medicine*, 20(11), 1242-1253.
- Priem, D., van Loo, G., & Bertrand, M. J. (2020). A20 and cell death-driven inflammation. *Trends in immunology*, 41(5), 421-435.
- Rajakaruna, G. A., Negi, M., Uchida, K., Sekine, M., Furukawa, A., Ito, T., . . . Umeda, M. (2018). Localization and density of Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia in gingival and subgingival granulation tissues affected by chronic or aggressive periodontitis. *Scientific reports*, 8(1), 1-13.
- Rape, M., & Jentsch, S. (2002). Taking a bite: proteasomal protein processing. *Nature cell biology*, 4(5), E113-E116.
- Reddy, S. S., Shruthi, K., Prabhakar, Y. K., Sailaja, G., & Reddy, G. B. (2018). Implication of altered ubiquitin-proteasome system and ER stress in the muscle atrophy of diabetic rats. *Archives of biochemistry and biophysics*, 639, 16-25.
- Redlich, K., & Smolen, J. S. (2012). Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. *Nature reviews Drug discovery*, 11(3), 234-250.
- Reis, C., Da Costa, A. V., Guimarães, J. T., Tuna, D., Braga, A. C., Pacheco, J. J., . . . Cardoso, E. M. (2014). Clinical improvement following therapy for periodontitis:

- Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Experimental and therapeutic medicine*, 8(1), 323-327.
- Ritchey, B., & Orban, B. (1953). The crests of the interdental alveolar septa. *The Journal of Periodontology*, 24(2), 75-87.
- Roberts, F. A., & Darveau, R. P. (2015). Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontology 2000*, 69(1), 18-27.
- Romanos, G., Schröter-Kermani, C., Hinz, N., & Bernimoulin, J.-P. (1991). Immunohistochemical distribution of the collagen types IV, V, VI and glycoprotein laminin in the healthy rat, marmoset (*Callithrix jacchus*) and human gingivae. *Matrix*, 11(2), 125-132.
- Rudney, J. D., Jagtap, P. D., Reilly, C. S., Chen, R., Markowski, T. W., Higgins, L., . . . Griffin, T. J. (2015). Protein relative abundance patterns associated with sucrose-induced dysbiosis are conserved across taxonomically diverse oral microcosm biofilm models of dental caries. *Microbiome*, 3(1), 1-17.
- Salvi, G. E., Beck, J. D., & Offenbacher, S. (1998). PGE₂, IL-1 β , and TNF- α Responses in Diabetics as Modifiers of Periodontal Disease Expression. *Annals of Periodontology*, 3(1), 40-50.
- Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D., & Sanz, M. (2012). Nonsurgical treatment of periodontitis. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 12(3), 76-86.
- Sanz, M., Teughels, W., & Periodontology, G. A. o. t. E. W. o. (2008). Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 35, 3-7.

- Saygin, N. E., Giannobile, W. V., & Somerman, M. J. (2000). Molecular and cell biology of cementum. *Periodontology 2000*, 24(1), 73-98.
- Scheper, G. C., Van Der Knaap, M. S., & Proud, C. G. (2007). Translation matters: protein synthesis defects in inherited disease. *Nature Reviews Genetics*, 8(9), 711-723.
- Schnell, J. D., & Hicke, L. (2003). Non-traditional functions of ubiquitin and ubiquitin-binding proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 278(38), 35857-35860.
- Schroeder, H. E. (1992). Biological problems of regenerative cementogenesis: synthesis and attachment of collagenous matrices on growing and established root surfaces *International review of cytology* (Vol. 142, pp. 1-59): Elsevier.
- Schwartz, L. M., Myer, A., Kosz, L., Engelstein, M., & Maier, C. (1990). Activation of polyubiquitin gene expression during developmentally programmed cell death. *Neuron*, 5(4), 411-419.
- Seemuller, E., Lupas, A., Stock, D., Lowe, J., Huber, R., & Baumeister, W. (1995). Proteasome from *Thermoplasma acidophilum*: a threonine protease. *Science*, 268(5210), 579-582.
- Shaheen, M., Shanmugam, I., & Hromas, R. (2010). The role of PCNA posttranslational modifications in translesion synthesis. *Journal of nucleic acids*, 2010.
- Sharma, A. (2010). Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontology 2000*, 54(1), 106.
- Shen, Z., Jiang, X., Zeng, C., Zheng, S., Luo, B., Zeng, Y., . . . Guo, J. (2013). High expression of ubiquitin-conjugating enzyme 2C (UBE2C) correlates with nasopharyngeal carcinoma progression. *BMC cancer*, 13(1), 1-10.

- Shruthi, K., Reddy, S. S., Chitra, P. S., & Reddy, G. B. (2019). Ubiquitin-proteasome system and ER stress in the brain of diabetic rats. *Journal of cellular biochemistry*, 120(4), 5962-5973.
- Shruthi, K., Reddy, S. S., & Reddy, G. B. (2017). Ubiquitin-proteasome system and ER stress in the retina of diabetic rats. *Archives of biochemistry and biophysics*, 627, 10-20.
- Silness, J., & Loe, H. (1964). PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. II. CORRELATION BETWEEN ORAL HYGIENE AND PERIODONTAL CONDITION. *Acta odontologica Scandinavica*, 22, 121-135. doi: 10.3109/00016356408993968
- Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., . . . Gamonal, J. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *Journal of Applied Oral Science*, 23(3), 329-355.
- Simonet, W., Lacey, D., Dunstan, C., Kelley, M., Chang, M.-S., Lüthy, R., . . . Boone, T. (1997). Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89(2), 309-319.
- Skaar, J. R., & Pagano, M. (2009). Control of cell growth by the SCF and APC/C ubiquitin ligases. *Current opinion in cell biology*, 21(6), 816-824.
- Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C., & Kent Jr, R. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134-144.
- Sodek, J., & Mckee, M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000*, 24(1), 99-126.

- Song, H. Y., Rothe, M., & Goeddel, D. V. (1996). The tumor necrosis factor-inducible zinc finger protein A20 interacts with TRAF1/TRAF2 and inhibits NF-kappaB activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(13), 6721-6725.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.
- Subbarao, K. C., Nattuthurai, G. S., Sundararajan, S. K., Sujith, I., Joseph, J., & Syedshah, Y. P. (2019). Gingival crevicular fluid: An overview. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 11(Suppl 2), S135.
- Sun, L., & Chen, Z. J. (2004). The novel functions of ubiquitination in signaling. *Current opinion in cell biology*, 16(2), 119-126.
- Suvan, J. E. (2005). Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontology 2000*, 37(1), 48-71.
- Swatek, K. N., & Komander, D. (2016). Ubiquitin modifications. *Cell research*, 26(4), 399-422.
- Takami, Y., Nakagami, H., Morishita, R., Katsuya, T., Cui, T.-X., Ichikawa, T., . . . Nishikawa, T. (2007). Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1, a novel deubiquitinating enzyme in the vasculature, attenuates NF-κB activation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 27(10), 2184-2190.
- Tan, B. T., Mordan, N. J., Embleton, J., Pratten, J., & Galgut, P. N. (2004). Study of bacterial viability within human supragingival dental calculus. *Journal of periodontology*, 75(1), 23-29.
- Tang, R., Langdon, W. Y., & Zhang, J. (2019). Regulation of immune responses by E3 ubiquitin ligase Cbl-b. *Cellular immunology*, 340, 103878.

- Taubman, M. A., Valverde, P., Han, X., & Kawai, T. (2005). Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *Journal of periodontology*, 76, 2033-2041.
- Teitelbaum, S. L., & Ross, F. P. (2003). Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature Reviews Genetics*, 4(8), 638-649.
- Thunell, D., Tymkiw, K., Johnson, G., Joly, S., Burnell, K., Cavanaugh, J., . . . Guthmiller, J. (2010). A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *Journal of periodontal research*, 45(1), 148-152.
- Tompkins, K. A. (2016). The osteoimmunology of alveolar bone loss. *Connective tissue research*, 57(2), 69-90.
- Tonetti, M. S., Eickholz, P., Loos, B. G., Papapanou, P., Van Der Velden, U., Armitage, G., . . . Hughes, F. (2015). Principles in prevention of periodontal diseases: consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *Journal of clinical periodontology*, 42, S5-S11.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89, S159-S172.
- Tongaonkar, P., Chen, L., Lambertson, D., Ko, B., & Madura, K. (2000). Evidence for an interaction between ubiquitin-conjugating enzymes and the 26S proteasome. *Molecular and cellular biology*, 20(13), 4691-4698.

- Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology*, 45, S44-S67.
- Trombelli, L., Franceschetti, G., & Farina, R. (2015). Effect of professional mechanical plaque removal performed on a long-term, routine basis in the secondary prevention of periodontitis: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, S221-S236.
- Tuller, T., Carmi, A., Vestsigian, K., Navon, S., Dorfan, Y., Zaborske, J., . . . Pilpel, Y. (2010). An evolutionarily conserved mechanism for controlling the efficiency of protein translation. *Cell*, 141(2), 344-354.
- Turer, E. E., Tavares, R. M., Mortier, E., Hitotsumatsu, O., Advincula, R., Lee, B., . . . Ma, A. (2008). Homeostatic MyD88-dependent signals cause lethal inflammation in the absence of A20. *The Journal of experimental medicine*, 205(2), 451-464.
- Uematsu, A., Kido, K., Takahashi, H., Takahashi, C., Yanagihara, Y., Saeki, N., . . . Kai, T. (2019). The E3 ubiquitin ligase MIB2 enhances inflammation by degrading the deubiquitinating enzyme CYLD. *Journal of Biological Chemistry*, 294(38), 14135-14148.
- Umetsu, D. T., McIntire, J. J., Akbari, O., Macaubas, C., & DeKruyff, R. H. (2002). Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nature immunology*, 3(8), 715-720.
- Upadhyay, A., Joshi, V., Amanullah, A., Mishra, R., Arora, N., Prasad, A., & Mishra, A. (2017). E3 ubiquitin ligases neurobiological mechanisms: development to degeneration. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10, 151.

- VAEs, G. (1988). Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. *Clinical orthopaedics and related research*(231), 239-271.
- Van der Weijden, G., & Hioe, K. (2005). A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *Journal of clinical Periodontology*, 32, 214-228.
- Van der Weijden, G., & Timmerman, M. (2002). A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 29, 55-71.
- Varshavsky, A. (2017). The ubiquitin system, autophagy, and regulated protein degradation. *Annual review of biochemistry*, 86, 123-128.
- Vega, D., Maalouf, N. M., & Sakhaee, K. (2007). The role of receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(12), 4514-4521.
- Venuprasad, K., Elly, C., Gao, M., Salek-Ardakani, S., Harada, Y., Luo, J.-L., . . . Karin, M. (2006). Convergence of Itch-induced ubiquitination with MEKK1-JNK signaling in Th2 tolerance and airway inflammation. *The Journal of clinical investigation*, 116(4), 1117-1126.
- Vernal, R., Dutzan, N., Hernández, M., Chandía, S., Puente, J., León, R., . . . Gamonal, J. (2006). High expression levels of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand associated with human chronic periodontitis are mainly secreted by CD4⁺ T lymphocytes. *Journal of periodontology*, 77(10), 1772-1780.

- Versari, D., Herrmann, J., Gössl, M., Mannheim, D., Sattler, K., Meyer, F. B., . . . Lerman, A. (2006). Dysregulation of the ubiquitin-proteasome system in human carotid atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 26(9), 2132-2139.
- Wang, J., & Maldonado, M. A. (2006). The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol*, 3(4), 255-261.
- Wang, K. K., Yang, Z., Sarkis, G., Torres, I., & Raghavan, V. (2017). Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) as a therapeutic and diagnostic target in neurodegeneration, neurotrauma and neuro-injuries. *Expert opinion on therapeutic targets*, 21(6), 627-638.
- Wang, X., Yin, L., Yang, L., Zheng, Y., Liu, S., Yang, J., . . . Wang, H. (2019). Silencing ubiquitin-conjugating enzyme 2C inhibits proliferation and epithelial–mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma. *The FEBS journal*, 286(24), 4889-4909.
- Wang, Y.-C., Peterson, S. E., & Loring, J. F. (2014). Protein post-translational modifications and regulation of pluripotency in human stem cells. *Cell research*, 24(2), 143-160.
- Weijers, D., Benkova, E., Jäger, K. E., Schlereth, A., Hamann, T., Kientz, M., . . . Jürgens, G. (2005). Developmental specificity of auxin response by pairs of ARF and Aux/IAA transcriptional regulators. *The EMBO journal*, 24(10), 1874-1885.
- Wertz, I. E., O'rourke, K. M., Zhou, H., Eby, M., Aravind, L., Seshagiri, S., . . . Boone, D. L. (2004). De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF- κ B signalling. *Nature*, 430(7000), 694-699.

- White, D. J. (1997). Dental calculus: recent insights into occurrence, formation, prevention, removal and oral health effects of supragingival and subgingival deposits. *European journal of oral sciences*, 105(5), 508-522.
- Wilkinson, K., & Hochstrasser, M. (1998). The ubiquitinating enzymes: Plenum Press, New York, NY.
- Wing, S. S. (2008). The UPS in diabetes and obesity. *BMC biochemistry*, 9(1), 1-10.
- Wise, G., Lumpkin, S., Huang, H., & Zhang, Q. (2000). Osteoprotegerin and osteoclast differentiation factor in tooth eruption. *Journal of dental research*, 79(12), 1937-1942.
- Wozney, J. M. (1992). The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Molecular reproduction and development*, 32(2), 160-167.
- Xiang, Y., Ye, W., Huang, C., Lou, B., Zhang, J., Yu, D., . . . Zhou, M. (2017). Brusatol inhibits growth and induces apoptosis in pancreatic cancer cells via JNK/p38 MAPK/NF- κ B/Stat3/Bcl-2 signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 487(4), 820-826.
- Xiao, E., Wu, Y., & Graves, D. T. (2016). Impact of diabetes on periodontal disease *Diabetic Bone Disease* (pp. 95-112): Springer.
- Xu, J., Wu, H. F., Ang, E. S., Yip, K., Woloszyn, M., Zheng, M. H., & Tan, R. X. (2009). NF- κ B modulators in osteolytic bone diseases. *Cytokine & growth factor reviews*, 20(1), 7-17.
- Yan, C., Huo, H., Yang, C., Zhang, T., Chu, Y., & Liu, Y. (2018). Ubiquitin C-Terminal Hydrolase L1 regulates autophagy by inhibiting autophagosome formation

- through its deubiquitinating enzyme activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 497(2), 726-733.
- Yan, K., Wu, C., Ye, Y., Li, L., Wang, X., He, W., . . . Xu, Y. (2020). A20 inhibits osteoclastogenesis via TRAF6-dependent autophagy in human periodontal ligament cells under hypoxia. *Cell proliferation*, 53(3), e12778.
- Yang, Y., Kitagaki, J., Dai, R.-M., Tsai, Y. C., Lorick, K. L., Ludwig, R. L., . . . Oberoi, P. (2007). Inhibitors of ubiquitin-activating enzyme (E1), a new class of potential cancer therapeutics. *Cancer research*, 67(19), 9472-9481.
- Yew, P. R. (2001). Ubiquitin-mediated proteolysis of vertebrate G1-and S-phase regulators. *Journal of cellular physiology*, 187(1), 1-10.
- Yilmaz, Ö. (2008). The chronicles of Porphyromonas gingivalis: the microbium, the human oral epithelium and their interplay. *Microbiology (Reading, England)*, 154(Pt 10), 2897.
- Zambon, J. J. (1996). Periodontal diseases: microbial factors. *Annals of periodontology*, 1(1), 879-925.
- Zaura, E., & Jacob, M. (2015). Towards understanding oral health. *Caries research*, 49(Suppl. 1), 55-61.
- Zhang, H., Hu, H., Greeley, N., Jin, J., Matthews, A. J., Ohashi, E., . . . Mandal, P. K. (2014). STAT3 restrains RANK-and TLR4-mediated signalling by suppressing expression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13. *Nature communications*, 5(1), 1-10.
- Zhang, X., Schuppan, D., Becker, J., Reichart, P., & Gelderblom, H. (1993). Distribution of undulin, tenascin, and fibronectin in the human periodontal ligament and

cementum: comparative immunoelectron microscopy with ultra-thin cryosections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 41(2), 245-251.

Zhao, S., & Ulrich, H. D. (2010). Distinct consequences of posttranslational modification by linear versus K63-linked polyubiquitin chains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(17), 7704-7709.



EK-1



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 83116987 - 849
Konu : Etik Kurul Kararı
Toplantı Tarihi : 05.12.2019
Toplantı No : 2019/18
Proje No : 19-KAEK-248

05.12.2019

Sayın, Doç.Dr. Hatice BALCI YÜCE

Etik Kurulumuzun 05.12.2019 tarihli toplantısında görüşülen 19-KAEK-248 kayıt numaralı **“Gingival Dokularda Periodontal Tedavinin Ubikutin-Proteazom Yolağı Proteinlerinin Seviyesine Etkisinin Araştırılması”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmeliğin 14-4. maddesi ve yönergemizin 18-3. maddesine göre çalışmanız tamamlandıktan sonra sonuç raporunun tarafımıza en geç 90 gün içerisinde bildirilmesi gerekmektedir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk KUTLUÖZ
Başkan

EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**(Periodontitis Gönüllüler)****Araştırmacının/Hekimin Açıklaması**

Diş eti oluşu, dişler ve çevresindeki diş etini birbirinden ayıran küçük bir boşluktur. Bütün bireylerde bu boşlukta diş eti oluşu sıvısı denilen serum kaynaklı bir sıvı bulunur. Bu çalışmada diş eti oluşunda bulunan diş eti oluşu sıvısından bir sürüntü örneği alınacaktır.

Diş eti oluşu sıvısı, farklı hastalık tiplerindeki salınımı ve içerdiği bileşenlerle son yıllarda periodontal hastalık gelişimi ile ilgili önemli bilgiler veren bir sıvı olup aynı zamanda hasta savunma mekanizmasının önemli bir basamağını da oluşturmaktadır. Diş eti oluşu sıvısının oluşumu ve diş eti oluşundan ağız boşluğuna salınımı bölgede mevcut dental plak ürünlerine karşı bir cevap olarak değerlendirilmektedir. Diş eti oluşu sıvısı, kendine özel yapısı nedeniyle periodontal sağlık ve hastalık hakkında bilgi verme potansiyeline sahiptir. Diş eti oluşu sıvısı örneklerinin girişimsel olmayan yöntemlerle elde edilmesi, objektif değerlendirmeye izin veren bir süreç olması, bölgesel düzeyde incelemelere olanak vermesi tanısal potansiyelinin önemli bir unsurunu oluşturmaktadır. Diş etindeki iltihabi cevabın ve damarsal geçirgenliğin artmasıyla, diş eti oluşu sıvısı miktarında artış gözlenmektedir.

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Diş eti oluğu sıvısı örneğinin alınması oldukça basit ve birkaç dakika süren bir işlemdir. Herhangi bir anestezi, kesi işlemi veya girişimsel bir işlem yapılması gerekmez. Örnek alınacak bölge rulo pamuklarla izole edilir, diş üzerindeki plak pamuk bir top yardımıyla nazikçe temizlenir, küçük bir bant şeklindeki kağıtçıklar diş çevresi oluğa yerleştirilir ve 30 saniye kadar beklenir. Böylece kağıtçıklar diş çevresindeki sıvıyı emer ve işlem tamamlanmış olur.

Yapılan klinik ve radyografik muayeneler sonucunda, dişleriniz periodontitis teşhislerinden birine uygun bulunmuştur. Tıbbi ve dental durumunuz çalışmamıza uygun olduğu için çalışmamıza sizi de davet ediyoruz. Ancak hemen belirtilmelidir ki araştırmaya katılıp katılmamak gönüllülük esasına dayalıdır. Bu bilimsel çalışmaya katılma kararını tamamen hür iradeniz ile vermelisiniz. Bu kararı verirken hiç kimse tarafından size telkin ve baskıda bulunulamaz.

Kararınızdan önce söz konusu bilimsel araştırma ve bu araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda yapılacak işlemler hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra bu bilimsel araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bilimsel çalışma hakkında bilgiler

Bu araştırma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilecektir.

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni, dişlerinizin periodontitis teşhislerinden birine uygun bulunmuş olmasıdır.

Bu çalışmanın amacı; yukarıda bahsedilen hastalıkların iltihabi sürecinde ve ilerlemesinde rol alan mekanizmalar hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olabilmektir.

Çalışma kapsamında bilinmesi gereken durumlar ve araştırmacılar ile gönüllülerin uyması

gereken kurallar

Araştırmaya katılmanız durumunda;

1. Sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.
2. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.
3. Hekim ile aranızda kalması gereken size ait bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı gösterilecektir.
4. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz çok büyük bir hassasiyetle korunacaktır.
5. Çalışma sırasında meydana gelebilecek sağlınız ile ilgili ve diğer olumsuzlukların sorumluluğu araştırmacılara aittir.
6. Gönüllü olarak katıldığınız çalışmanın herhangi bir aşamasında araştırmadan ayrılabilirsiniz. Ancak ayrılmadan önce araştırmacılara bu durumu bildirmeniz önemlidir.
7. Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda tedavinizde ve klinik izlemelerinizde hiçbir değişiklik olmayacak, her zaman olduğu gibi aynı özen ve ihtimam ile hastalığınızın tedavisi sürdürülecektir.

Katılımcının (Gönüllü) / Hastanın Beyanı

Sayın Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE tarafından, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam, hekim ile aramda kalması gereken, bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı gösterileceği, araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı kesin ve net bir şekilde belirtilmiştir.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Benden herhangi bir ücret talep edilmeyeceği ve bana da herhangi bir ödeme yapılmayacağı net ve kesin bir şekilde ifade edilmiştir.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğum bildirilmiştir. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının da bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun, araştırma sürecinde araştırma ile ilgili ortaya çıkabilecek sağlık durumuyla ilgili olumsuzluklarda sorumluluk araştırmacılara ait olup parasal bir yük altına girmeyeceğim.

Araştırma sırasında araştırma ile ilgili bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; günün herhangi bir saatinde Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE’ ye 0507 941 82 24 numaralı telefonlardan ulaşarak danışabileceğimi biliyorum.

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı herhangi bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir dūřınme sūresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (gönüllü) olarak yer alma kararını tamamen hür iradem ile almış bulunuyorum. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllük içerisinde kabul ediyorum.

Tarih

Katılımcı (Gönüllü)

Adı, Soyadı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Görüşme Tanığı

Adı, Soyadı :

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Adres :

Telefon :

İmza :

Katılımcı (Gönüllü) ile Görülen Araştırmacı

Adı, Soyadı, Ünvanı :

Adres :

Telefon :

İmza :

(Tüm sayfaları imzalı bu formun bir kopyası katılımcıya verilecektir)

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :