

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İMLANTLARIN DOKUSAL OSSEOİTEGRASYONUNDA ETKİLİ MARKÖR
İTEGRİNLERİN TiO_2 (TİTANYUM DİOKSİT) İLE İTERAKSİYONLARININ IN
SILICO YAKLAŞIMLA İNCELENMESİ

BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PELİN YILMAZ

AĞUSTOS 2024

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İMLANTLARIN DOKUSAL OSSEOİTEGRASYONUNDA ETKİLİ MARKÖR
İNTEGRİNLERİN TiO_2 (TİTANYUM DİOKSİT) İLE İTERAKSİYONLARININ *IN*
SILICO YAKLAŞIMLA İNCELENMESİ

BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pelin YILMAZ

DANIŞMAN: Prof. Dr. İdris ARSLAN

ZONGULDAK

Ağustos 2024

KABUL:

Pelin YILMAZ tarafından hazırlanan “İmplantların Dokusal Osseointegrasyonunda Etkili Markör İntegrinlerin TiO₂ (Titanyum Dioksit) ile İnteraksiyonlarının in Silico Yaklaşım ile İncelenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 23/08/2024

Danışman: Prof. Dr. İdris ARSLAN

.....
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ceren KAYA

.....
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ali ÇALIM

.....
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./....../2024

Prof. Dr. Fikret GÖLGELEYEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Pelin YILMAZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İMLANTLARIN DOKUSAL OSSEOİTEGRASYONUNDA ETKİLİ MARKÖR İTEGRİNLERİN TiO_2 (TİTANYUM DİOKSİT) İLE İNTERAKSİYONLARININ İN SİLİCO YAKLAŞIMLA İNCELENMESİ

Pelin YILMAZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İdris ARSLAN

Ağustos 2024, 39 sayfa

Yapılan tez çalışmasında implantların dokuya uyumluluğunun bir göstergesi olan osseointegrasyon prosesinin hızlandırılması ve daha güçlü implant-doku arayüzünün oluşması amacıyla yeni tedavi yaklaşımı olarak yeni bir model çalışması yapılmıştır.

İmplantların en karakteristik üstün özelliklerinden birisi inflamasyon adı verilen yangısal tepkinin oluşmaması adına spesifik biyomalzemelerden üretilmiş olmalarıdır. Pirojenite biyomalzemelerin en öncelikli araştırma konularından birisidir. İmplantların canlı doku tarafından duyarlılaştırılması için son dönemde önerilen yaklaşımlardan birisi implant yüzeyinin peptit motifleriyle kaplanmasıdır. Bazı peptit motiflerinin *in vivo* çalışmalarda osseointegrasyonu hızlandırdığı ve böylece implantın daha sağlıklı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Yapılan tez çalışması kapsamında; implantların osseointegrasyonunda etkili olan 2 farklı integrin proteinleri ($\alpha\text{v}\beta 3$ ve $\alpha 5\beta 1$) seçilmiş ve bunların doğal ligandlarıyla interaksyonları

ÖZET (devam ediyor)

dikkate alınarak bazı peptit modeller geliştirilmiştir. Geliştirilen peptit modellerin açık kimyasal yapıları farklı algoritmalar kullanılarak 3 boyutlu peptit yapılarına dönüştürülmüştür.

İntegrin proteinlerin topografik yapıları CASTp algoritması kullanılarak taranmıştır. Peptit modeller ve integrin proteinlerinin olası interaksyonları ClusPro moleküler docking yöntemiyle tespit edilmiştir. Bununla birlikte; iMODs algoritması kullanarak protein stabilitesi ve kararlılığı analiz edilmiştir.

Tez çalışmasından elde edilen tüm bu veriler ışığında TiO₂ bazlı implant yüzeylerinin **I-K-Y-A-S-Q-S-I-S-G-I-P** ve **P-H-S-R-N** peptit modeliyle kaplanmasının $\alpha v\beta 3$ ve $\alpha 5\beta 1$ integrin proteinleriyle etkileşime girerek osseointegrasyonu hızlandırabileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: İmplant, Osseointegrasyon, integrin proteinleri, Peptit modeller, Moleküler docking

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE INTERACTIONS OF MARKER INTEGRINS WITH TiO_2 (TITANIUM DIOXIDE), EFFECTIVE IN THE TEXTURED OSSEOINTEGRATION OF IMPLANTS, ARE REQUIRED TO INVESTIGATE WITH AN IN-SILICO APPROACH

Pelin YILMAZ

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biomedical Engineering**

Thesis Advisor: Prof. Dr. İdris ARSLAN

August 2024, 39 pages

In this thesis study, a new model study was carried out as a new treatment approach in order to accelerate the osseointegration process, which is an indicator of the compatibility of implants with tissue, and to create a stronger implant-tissue interface.

One of the most characteristic features of implants is that they are produced from specific biomaterials to prevent the inflammatory response called inflammation. Pyrogenicity is one of the most priority research topics in biomaterials. One of the recently proposed approaches to sensitize implants by living tissue is to coat the implant surface with peptide motifs. It has been determined that some peptide motifs accelerate osseointegration in in vivo studies and thus the implant gives healthier results.

ABSTRACT (continued)

Within the scope of this thesis study; two different integrin proteins ($\alpha v\beta 3$ and $\alpha 5\beta 1$) that are effective in the osseointegration of implants were selected and some peptide models were developed by taking into account their interactions with their natural ligands. The explicit chemical structures of the developed peptide models were transformed into 3D peptide structures using different algorithms.

The topographic structures of integrin proteins were scanned using the CASTp algorithm. Possible interactions of peptide models and integrin proteins were detected by the ClusPro molecular docking method. With this; Protein stability and stability were analyzed using the iMODs algorithm.

As a result, all these data obtained from the thesis study, it is evaluated that coating TiO_2 -based implant surfaces with the I-K-Y-A-S-Q-S-I-S-G-I-P and P-H-S-R-N peptide model can accelerate osseointegration by interacting with $\alpha v\beta 3$ and $\alpha 5\beta 1$ integrin proteins.

Keywords: Implant, Osseointegration, Integrin proteins, Peptide models, Molecular docking

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının hazırlanma sürecinde desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen pek çok kişiye teşekkür etmek istiyorum.

Öncelikle, bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren, çok kıymetli danışmanım Prof. Dr. İdris ARSLAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onun rehberliği ve anlayışı, bu tezin ortaya çıkmasında büyük rol oynamıştır.

Bu süreçte manevi desteğini esirgemeyen, sabır ve anlayışla hep yanımda olarak bana destek olan başta sevgili eşim Onur YILMAZ olmak üzere tüm aile fertlerime teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, görev yaptığım okulumda bana her türlü kolaylığı sağlayan ve anlayış gösteren değerli okul idaresine ve kıymetli çalışma arkadaşlarıma içten teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
 BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	 1
1.1 İMPLANT VE OSSEOİNTEGRASYON.....	1
1.2 İNTEGRİN PROTEİNLERİ.....	6
 BÖLÜM 2 MATERYAL METOT.....	 11
2.1 PROTEİN VE PEPTİTLERİN HAZIRLANMASI.....	11
2.2 MOLEKÜLER DOCKING SİMÜLASYONLARI.....	16
2.3 MOLEKÜLLERİN MİNİMAL ENERJİ VE MAKSİMUM KARARLILIK DÜZEYİNE ALINMASI.....	17
2.4 MOLEKÜLER DİNAMİK ÇALIŞMALARI.....	17
2.5 PROTEİNLERİN TOPOLOJİK ANALİZLERİ.....	17
 BÖLÜM 3 BULGULAR.....	 19
3.1 İNTEGRİN PROTEİNİ – PEPTİT MOTİFLERİ MOLEKÜLER DOCKING SİMÜLASYONLARI.....	19

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 4 TARTIŞMA VE SONUÇ	29
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Diş implantında osseointegrasyon modeli	2
Şekil 1.2 Diş implantında osseointegrasyon modeli	3
Şekil 1.3 Ekstraselüler matriks bileşeni olarak integrin ve fibrinektin yapısı.....	5
Şekil 1.4 İntegrinlerin yapı ve aktivasyonu.....	7
Şekil 1.5 Fibronektin bağlayan integrin proteini ve stoplazmadaki reseptörlerinden bir tanesinin şematik gösterimi.	8
Şekil 2.1 $\alpha\beta3$ integrin protein 3D yapısı (6AVU) ve ona bağlı antikor molekülü. $\alpha\beta3$ integrin protein 3D yapısı (6AVU) ve ona bağlı antikor molekülü.....	11
Şekil 2.2 $\alpha5\beta1$ integrin protein (PDB kodu:7NWL) yapısı.....	12
Şekil 2.3 -SGFAFSSYD- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.4 -IKYASQSIGIP- peptit sekansının açık kimyasal yapısı	14
Şekil 2.6 -RGD- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.7 -PHSRN- peptidinin farklı açılardan 3D yapısı	15
Şekil 2.8 Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak aminoasit sekansı çiziminde izlenen komutlar	16
Şekil 3.1 $\alpha\beta3$ proteini A ve B zincir sekansları ve renk motiflerinin yapısal tanımlamaları.	19
Şekil 3.2 $\alpha5\beta1$ proteini A ve B zincir sekansları ve renk motiflerinin yapısal tanımlamaları.	20
Şekil 3.3 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) deformabilite indeksi.....	22
Şekil 3.4 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) B-faktör indeksi.....	23
Şekil 3.5 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) eigenvalue mod indeksi.....	23
Şekil 3.6 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) varians-mod indeksi.	23
Şekil 3.7 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) atom indeksi.	24
Şekil 3.8 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) rezidü indeksi.	24
Şekil 3.9 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) deformabilite indeksi.....	25
Şekil 3.10 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) B-faktör indeksi.....	25
Şekil 3.11 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) eigenvalue mod indeksi.....	25
Şekil 3.12 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) varians-mod indeksi.	26
Şekil 3.13 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) atom indeksi.	26
Şekil 3.14 Test protein yapısının ($\alpha5\beta1$) rezidü indeksi.	27
Şekil 3.15 CATp algoritması kullanılarak elde edilen protein ve etkileşim alanları.	27



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Tez çalışmasında kullanılan integrin proteinleri ve peptit modeller.	13
Çizelge 3.1 Van der Waals ve elektrostatik çekim kuvveti moleküler docking değerleri.	21
Çizelge 3.2 Elektrostatik-tercihli moleküler docking değerleri.	21
Çizelge 3.3 Hidrofobik-tercihli moleküler docking değerleri.	21
Çizelge 3.4 Dengelenmiş moleküler docking skorları.	22
Çizelge 3.5 Peptit modeli bazlı docking skorları.	22



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

α	: Lorentz
Δ	: Delta
ψ	: Roll

KISALTMALAR

CASTp	: Computed Atlas of Surface Topology of proteins
ECM	: Ekstraselüler matriks
Elec	: Elektrostatik interaksiyon
NMA	: Normal mod analizi
PDB	: Protein Data Bank
pSer	: Fosfoserin
RGD	: arjinin-glisin-aspartik asit
RMS	: Root mean square
TiO₂	: Titanyum dioksit
VdW	: Van der Waals kuvveti
$\alpha 5\beta 1$	: alfa-5-beta-1
$\alpha IIb\beta 3$	: alfa-II-b-beta-3
$\alpha v\beta 3$	: alfa-v-beta-3



BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 İMPLANT VE OSSEOİNTEGRASYON

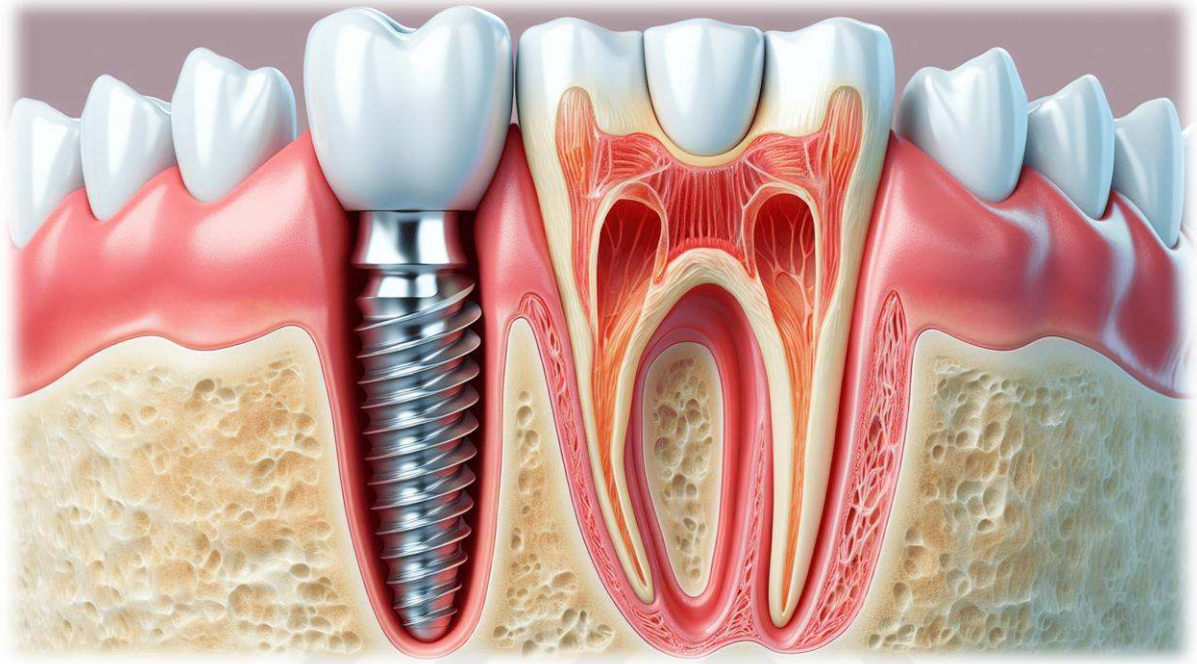
İskelet kas sisteminde meydana gelen ciddi boyutlardaki travmalar ve/veya hastalıklar spesifik biyomalzemelerden yapılmış gelişmiş implantlara ihtiyacı her geçen gün arttırmaktadır (Agarwal ve García 2015).

İmplant terimi 'vücut içerisine ya da canlı dokulara yerleştirilen cansız materyalleri' ifade eder. İnsanlık varolduğu günden beri daha modern ve sağlıklı bir yaşam sürmenin yollarını aramıştır. İmplant kullanımı çok eski dönemlere dayanmaktadır. Arkeolojik kalıntılardan elde edilen kanıtlara göre implant kullanımı MÖ 2000'li yıllara kadar uzanmaktadır. Çin'de kazılardan elde edilen veriler insanların bambu mandallarını bir diş olarak kullandıklarını göstermektedir. Metal implantların ilk kullanımı MÖ. 1000'li yıllarda Mısır'da kullanıldığını göstermektedir (URL-1).

Kısaca '*kemik apozisyonu ve fonksiyonel fiksasyon*' olarak tanımlanan 'osseointegrasyon' terimi ilk kez 1983 yılında Branemark ve meslektaşları tarafından 'canlı kemik dokusu ile yük taşıyan implant yüzeyi arasındaki direk yapısal ve fonksiyonel bağlantı' olarak tanımlanmıştır (Branemark 1985). Branemark, osseointegrasyon konusundaki ilk gözlemleriyle titanyum implantların kalıcı olarak kemiğe entegre edilebildiğini, yani canlı kemiğin implantın titanyum oksit tabakasıyla önemli derecede kaynaşabildiğini ve ikisinin kırılmadan ayrılamayacağını gösterdi. Osseointegrasyon, implant, kemik ve yumuşak dokunun uyumlu bir şekilde bir arada bulunmasıdır. Yetersiz osseointegrasyon fibröz doku oluşumuna ve bunun sonucunda protezlerin gevşemesine neden olmaktadır (Mavrogenis ve ark. 2009).

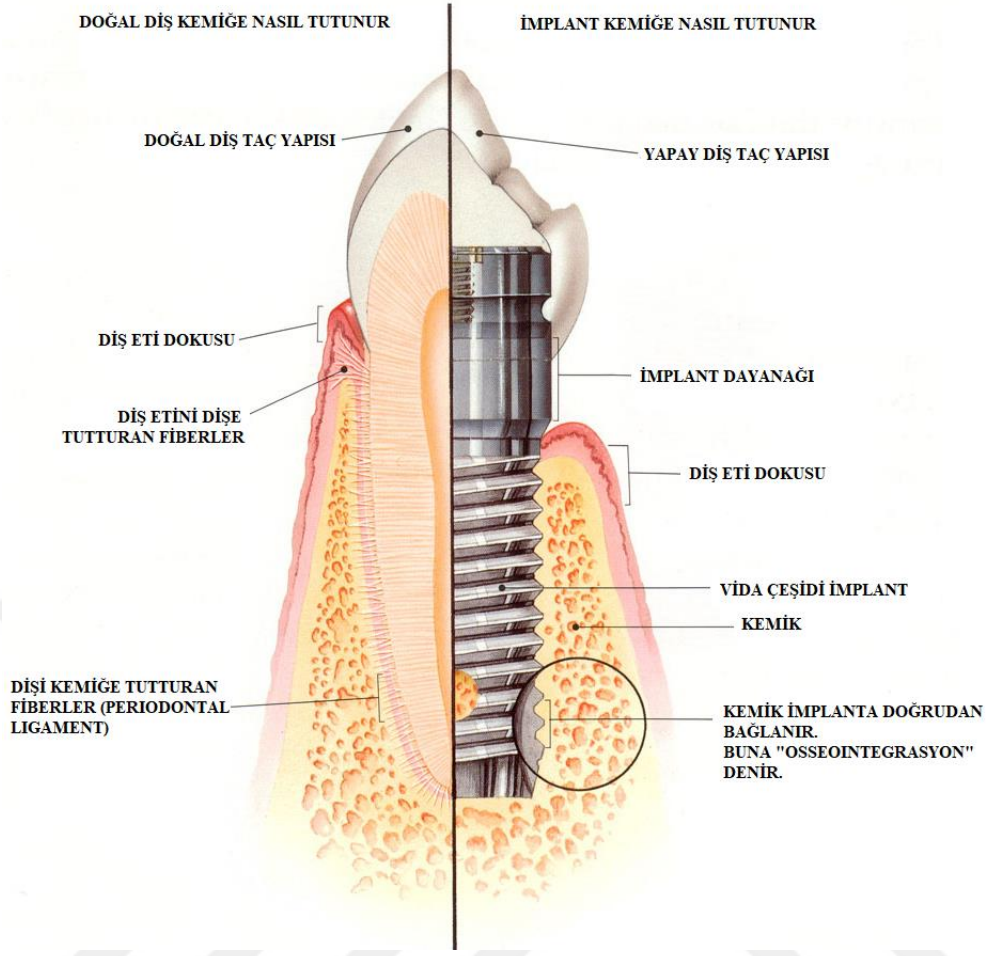
İmplantların tasarımı, kimyasal bileşimi, yüzey pürüzlülüğü ve yüzey kimyası ile yükleme koşulları gibi faktörler, implantların iyi bir osseointegrasyonu için önemlidir. Bu nedenle,

entegre olunan kemikle iyi bir şekilde bütünleşen bir yüzey, osteolizin önlenmesi için hayati öneme sahiptir (Mavrogenis ve ark. 2009).



Şekil 1.1 Diş implantında osseointegrasyon modeli (URL-2).

Günümüzde, implant ile doğrudan temas ettiği kemik arasında ilerleyici bir göreceli hareket olmadığında, bir implantın osseointegre olduğu kabul edilmektedir. Temel olarak osseointegrasyon süreci, hayati olmayan bileşenlerin güvenilir bir şekilde yerleştirilebildiği bir ankraj mekanizmasını yansıtmaktadır. Canlı kemiğe dahil olan ve tüm normal yükleme koşullarında varlığını sürdüren yapılardır (Rigo vd. 2004). Osseointegrasyon terimi, bir protezin uzun süreli stabilitesini sağlayan klinik bir durumu tanımlamaktadır. Bununla birlikte, osseointegrasyon herhangi bir implant sisteminin veya metalin biyolojik bir özelliği değildir. Bir başka ifadeyle, histolojik olarak gözlemlenen "doğrudan kemik temasının", o yüzeye lokal veya sistemik bir biyolojik tepkinin bulunmadığının göstergesi olabileceği iddia edilebilir. Bu nedenle osseointegrasyonun avantajlı bir biyolojik doku tepkisinin sonucu değil, negatif bir doku tepkisinin yokluğunun sonucunu göstermektedir (Linder vd. 1983, Linder vd. 1991).



Şekil 1.2 Diş implantında osseointegrasyon modeli (URL-3).

İmplantları çevreleyen kemik dokusunun iyileşim süreci; implant yüzeyinde yeni oluşan bir kemik dokusuyla kaplanmış görününceye kadar kemik-implant arayüzünde meydana gelen bir dizi hücresel ve hücre dışı biyolojik olayları içerir. Bu iyileşim süreci benzer osteogenetik süreçlerin aktivasyonunu içerir. Burada gerçekleşen biyokimyasal tepkimeler kemik-implant arayüzünde aktive edilmiş kan hücrelerince salgılanan büyüme ve farklılaşma faktörlerince düzenlenir (Davies 1998).

Geniş yelpazedeki materyal genişliği düşünüldüğünde; titanyum ve titanyum alaşımları implant teknolojisinde yaygın kullanılan biyomalzemeler arasında olduğu tartışmasız bir gerçektir. Titanyumun fizikokimyasal ve biyolojik karakteristiği ona yüksek düzeyde biyouyumluluk özelliği kazandırmaktadır. Bu özellikler arasında; (i) yüksek korozyon direnci, (ii) vücut sıvılarındaki stabilitesi (kararlılığı), (iii) düşük toksisitesi ve (iv) ideal mekaniksel özellikleri yer almaktadır (Alipal vd. 2021; Bezerra vd. 2020). TiO_2 bazlı implantların yüksek

biyouyumluluk özelliği implant yüzeyinde yer alan titanyum elementinin oksijenle interaksiyonunun bir sonucudur.

Son yıllarda 6 farklı titanyum veya titanyum alaşımı ticari olarak ön plana çıkmaktadır. Bunlar arasında 4 tanesi ticari saf titanyum ailesini (CPTi – commercial pure titanium) oluşturmaktadır. GPTi ailesinin üyeleri; Grade I, Grade II, Grade III ve Grade IV şeklinde sınıflandırılmaktadır. Titanyum alaşımları ise Ti-6Al-4V ve Ti-6Al-4V-ELI (ekstra düşük interstisyel) versiyonlardır. Ti-6Al-4V-ELI modifikasyonu en yaygın kullanılan titanyum alaşımıdır ve ekstra düşük interstisyelleri (oksijen, nitrojen ve karbon) içerir (Agrelli vd. 2022; Osman ve Swain 2015).

İmplant ile hastanın kemik dokusu arasındaki fiksasyon implantların uzun süre başarılı bir şekilde amaca hizmet etmesinde son derece önemli bir etken olduğu rapor edilmiştir (Wang vd. 2018). Aksi takdirde, metabolik kemik hastalıkları veya implantasyon bölgesindeki iyileşme sürecindeki başarısızlıklar (kronik veya akut inflamatuvar reaksiyonlar) nedeniyle doku-implant arayüzünde lokal olarak küçük boşluklar oluşabilmektedir (Seemann vd. 2022).

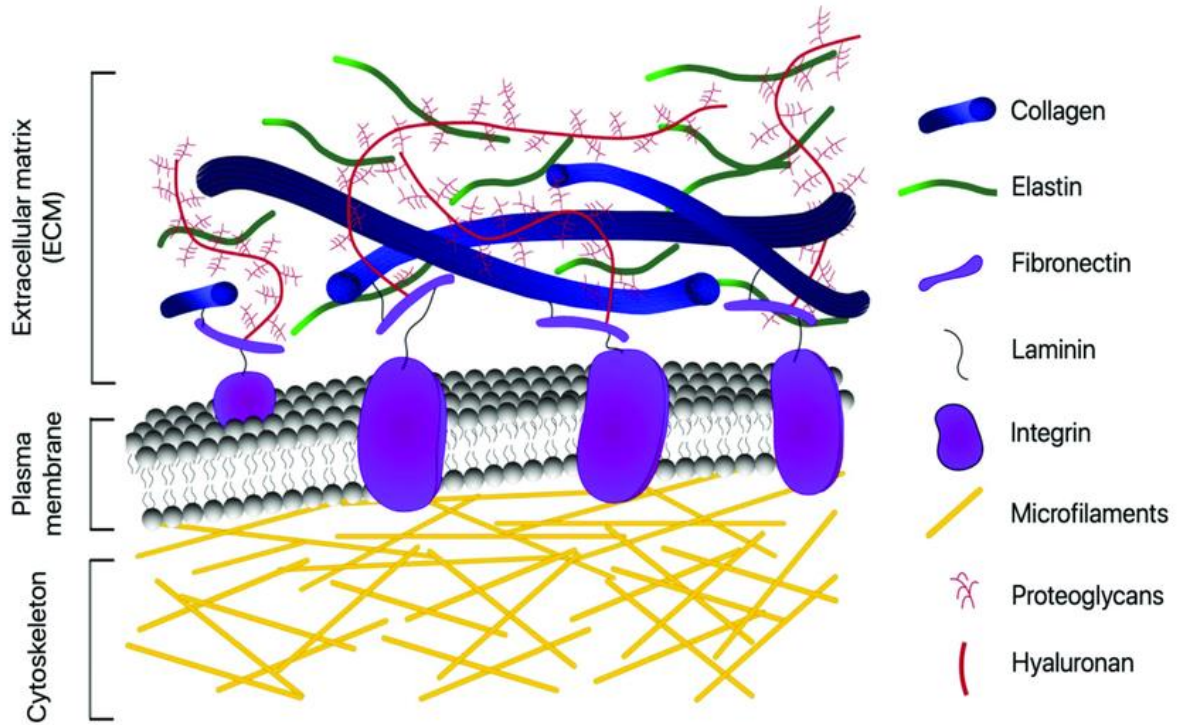
Bazı faktörlerin osseointegrasyonu hızlandırdığı veya inhibe ettiği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Osseointegrasyonu hızlandıran implant ile ilgili faktörler arasında; implant dizaynı ve implant kimyasal kompozisyonu, implant yüzeyinin topografik yapısı, materyal cinsi/çeşidi, şekil, uzunluk, yarıçap implant yüzey modifikasyonu (kaplaması) gösterilebilir (Marco vd. 2005). Benzer şekilde konakçı kemik yatağı statüsü ve kişiye ait iyileşme potansiyeli osseointegrasyonu hızlandıran intrinsik faktörlerdir (Linder, Obrant ve Boivin 2005). Ayrıca; implantın mekanik stabilitesi ve yükleme koşullarının (Soballe 1993), kemik greftleme, osteojenik biyolojik kaplama ve biyofiziksel stimülasyon gibi adjuvan kullanılmasının (Khan vd. 2005; Arrington vd. 1996; Younger ve Chapman 1989) ve simvastatin ve bisphosphonates farmakolojik ajanların kullanılmasının osseointegrasyonu hızlandırdığı bilimsel olarak rapor edilmiştir (Eberhardt vd. 2007; Basarir vd. 2007).

Kemik modifikasyonu işlemlerinden sonra, travmanın oluşturduğu kanama ve kemik kalıntıları, implant yüzeyiyle temas ettikleri implant bölgesinde çeşitli sitokinlerin ve kemik matriks proteinlerinin salınmasına neden olmaktadır (Perez vd. 2015).

Titanyum yüzeyinin hidrofiliği, yük ve topografyaya ilave olarak, iyileşmede sürecinin başında önemli bir rol oynar ve albumin gibi plazma proteinlerinin anında yapışmasını

kolaylaştırmaktadır. Bu proteinlerin yerini eş zamanlı olarak fibronektin ve vitronektin gibi daha yüksek afiniteye sahip diğer proteinler alır. Fibronektin ve vitronektin olarak bir trombosit tıkacı oluşturur ve sonuç olarak doku hemostazına yol açar (Bosch-Rué vd. 2021; Rupp vd. 2018; Perez vd. 2015; Terheyden vd. 2012; Vroman vd. 1980).

Sonraki aşamalarda; makrofajlar implant yüzeyine yapışır ve yabancı cisim dev hücrelerini oluşturarak kaynaşır. Bu hücreler fibroblastları fibrogenizi başlatmak için uyarır (Anderson vd 2008; Song vd. 2000). Bu aşamada implant, kemik-implant ara yüzeyindeki fibroblastların kollajenle dolmasıyla birincil stabilitesini tamamlar. Eş zamanlı olarak makrofajlar tarafından diğer proteinler ve sitokinler salgılanır ve böylece mezenkimal kök hücrelerin anjiyogeneze ve osteoblastlara farklılaşmasına yol açar (Terheyden vd. 2012). Kemik morfogenetik proteinleri eski kemik matriksinden salınarak implant yüzeyi çevresinde yeni kemik oluşumunu gerçekleştirir (Choi vd. 2017; Terheyden vd. 2012). Bu nedenle osseointegrasyon prosesi, iyileşme sürecinin ilk üç aşaması olan hemostaz, immünoinflamasyon ve osteogenez/anjiyogenez olaylarında etkin rol oynar (Wang vd. 2016).



Şekil 1.3 Ekstraselüler matriks bileşeni olarak integrin ve fibrinektin yapısı (Poole and Mostaço-Guidolin 2021).

Moleküler düzeyde, bu fazlar aşamalı olarak meydana gelir ve ekstraselüler matriste bulunan fibronektin, vitronektin ve fibrinojen gibi glikoproteinler tarafından düzenlenir. Bu proteinler, integrin olarak adlandırılan kemik matriks progenitör hücrelerinin reseptörlerine bağlanır. Bunlara; $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 3$ ve $\alpha IIb\beta 3$ integrin proteinleri örnek olarak gösterilebilir (Danen vd. 2002; Huang vd. 2019; Shekaran vd. 2011). Bununla birlikte; $\alpha v\beta 3$ ve $\alpha 5\beta 1$ integrin proteinleri, hücre adezyonu ve farklılaşması mekanizmalarında etkin rol oynarlar ve osteogenezi tetiklerler (Mas-Moruno vd. 2016), $\alpha IIb\beta 3$ ise hücre-hücre etkileşimleri ve trombosit agregasyonu için gereklidir (Bledzka vd. 2013).

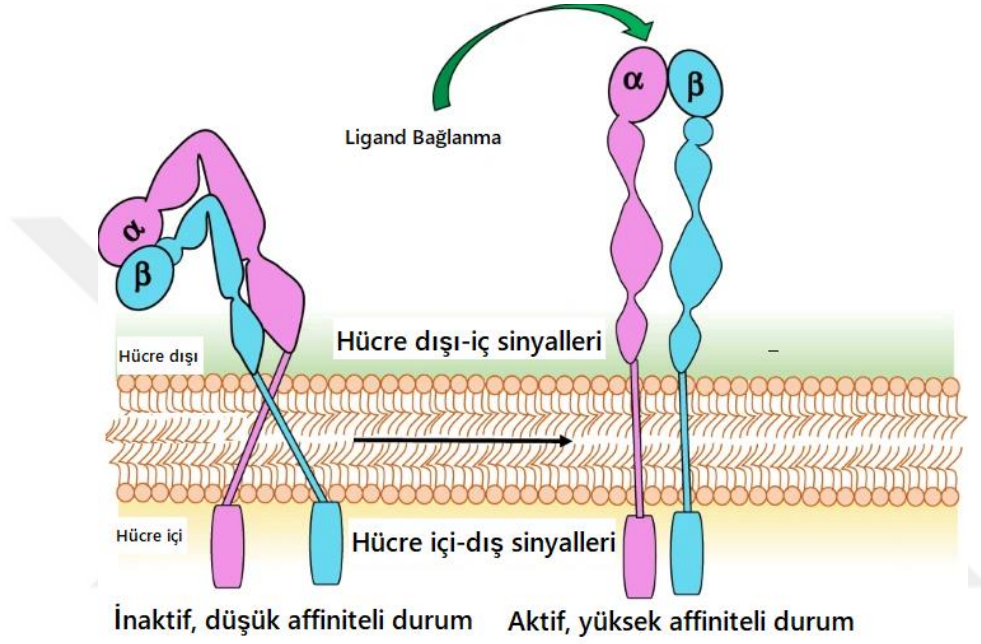
Osseointegrasyon sürecindeki komplikasyonları önlemek için, inflamatuvar fazı kontrol etmek ve osteojenik hücre adezyonunu, osteoblastik farklılaşmayı ve kemik oluşum aktivitesini uyarmak amacıyla çeşitli metodolojik yaklaşımlar öne sürülmüştür (Yeo vd. 2015). Bu bağlamda implant yüzeyinin adezyon proteinleri veya fonksiyonel peptidlerle kaplanması, kemik-implant arayüzünde osseointegrasyonu hızlandırabilir ve osteogenez sürecini destekleyebileceği rapor edilmiştir (Seemann vd. 2022). İmplant yüzeyindeki peptitlerin daha düşük antijeniteye, daha fazla seçiciliğe ve daha büyük kimyasal immobilizasyon kapasitesine sahip olması bu yaklaşımı güçlendirmektedir (Seemann vd. 2022; Yeo vd. 2015). Bu nedenle, biyofonksiyonel bir dizi sunan peptitler, biyolojik olarak uygun koşullar için yerel çevreyi değiştirme potansiyeline sahiptir ve bu, kemik veya sistemik metabolik hastalıkları olan hastalar için önemli olabilir (Luke vd. 2022).

1.2 İNTEGRİN PROTEİNLERİ

Integrinler; hücrelerde yaygın olarak bulunan transmembran hücre adezyon molekülleridir. Hücre dışı farklı ligandlarla etkileşime giren integrinler yapısal olarak $\alpha\beta$ -heterodimerik reseptör proteinleridir. Bu proteinler hücre ve onu çevreleyen ekstraselüler matriks (ECM) ile interaksiyonlara aracılık ettiği için sinyal iletimi ve hemozta kritik rol oynarlar (Mezu-Ndubuisi vd. 2021).

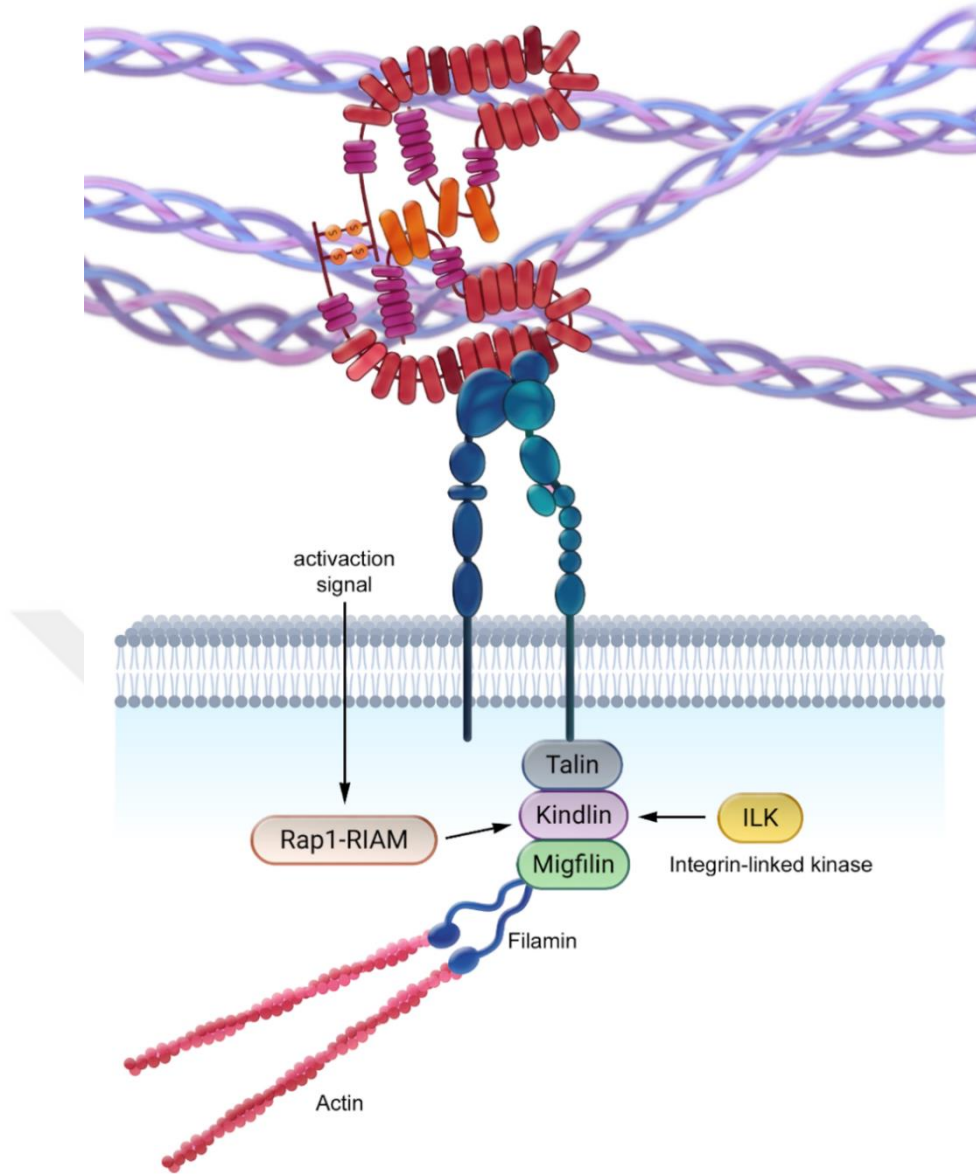
İntegrinler; hücre içi aktin hücre iskeleti ve ECM arasındaki dinamik bağlantıları kolaylaştırarak, aynı zamanda hem hücre dışı hem de hücre içi mekanokimyasal ve plazma membranı boyunca uzanan çift yönlü sinyalleri düzenlerler. Bu nedenle; hücrelerin hayatta kalması, inflamasyon, imünite, enfeksiyon, trombozis, angiogenez ve malignanside hayati derece önemli rol oynarlar (Mezu-Ndubuisi vd. 2021; Cooper vd. 2019; Morse vd. 2014).

İntegrin ailesi; hücre ve ECM arasındaki interaksyonu düzenlemede etkili 24 heterodimerik hücre yüzey transmembran protein yapısından oluşmaktadır (Agreli vd. 2022; Lopez vd. 2019). Tüm bu protein formları sadece 2 alt ünitelerden oluşmaktadır. Bunlar; α ve β alt üniteleridir. Şimdiye değin farklı yapıda 18 α ve 8 β alt ünitesi tespit edilmiştir (Agreli vd. 2022).



Şekil 1.4 İntegrinlerin yapı ve aktivasyonu (Mezu-Ndubuisi vd. 2021).

İmplantların yapıldığı biyomalzemelerin en ideal karakteristiklerinden birisi pirojen olmamalarıdır. Pirojenite, canlılarda inflamasyonu tetikleyen herhangi canlı veya cansız unsur olarak tanımlanabilir. İntegrinler, inflamatuarda kilit rol oynayan zar proteinlerdir (Mezu-Ndubuisi vd. 2021).



Şekil 1.5 Fibronektin bağlayan integrin proteini ve stoplazmadaki reseptörlerinden bir tanesinin şematik gösterimi (Nascimento vd. 2023).

Moleküler seviyede osseointegrasyonun rol oynadığı hemotaz, immünoinflamasyon ve osteogenez olayları fibronektin, vitronektin ve fibrinojen gibi ekstraselüler matriksde (ECM) bulunan glikoproteinlerce düzenlenir. Bu proteinler kemik-matriks progenitör hücrelerinin integrin adı verilen reseptörlerine bağlanırlar (Huang vd. 2019; Shekaran vd. 2011; Danen vd. 2002). Söz konusu integrin proteinlere $\alpha 5 \beta 6$, $\alpha \nu \beta 3$ ve $\alpha \text{IIb} \beta 3$ örnek olarak gösterilebilir. Bu proteinlerden $\alpha \nu \beta 3$ ve $\alpha 5 \beta 1$ integrin proteinleri hücre adezyon ve farklılaşma mekanizmasına katılarak osteogenez tetiklemektedir (Mas-Moruno vd. 2016).

Günümüzde farelerin aşılınması yoluyla çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere R-G-D-bağlayıcı integrinleri hedef alan bazı antikorlar sentezlenmiş olmakla birlikte (Takasaka vd. 2018; Stockis vd. 2017; Weinreb vd. 2004), bu antikorların hedef integrin proteini üzerinde ne düzeyde bir konformasyonel değişiklik yaptığı bireysel olarak aydınlatılamamıştır (Roy vd. 2023).

Günümüzde osseointegrasyon prosesindeki komplikasyonları engellemek için çeşitli metodolojik yaklaşımlar ortaya konulmuştur. Bu yaklaşımların ortak noktası olarak; enflamasyon fazının kontrol edilmesi, kemik oluşumunun ve osteoblastik farklılaşmanın hızlandırılması gösterilebilir. Bu noktada yapılan güncel bir çalışmada; implant yüzeyinin adezyon proteinler ya da fonksiyonel peptitler ile kaplanmasının kemik-implant arayüzünde kemik oluşumunu tetiklediği ve böylece osseointegrasyonu hızlandığı rapor edilmiştir (Luke Yeo 2022). Bu amaçla daha düşük antijenik özellik gösteren, daha seçici ve daha fazla kimyasal immobilizasyona sahip peptitlerin implant yüzeyine entegre edilebileceği öne sürülmüştür (Seemann vd. 2022; Yeo vd. 2015).

Yukarıda açıklanan nedenlerden dolayı integrinlere bağlanan doğal ECM proteinlerinin bağlantı noktalarının mimikri edilmesiyle implant yüzeyleri integrinlere bağlanabilecek peptitlerle kaplanabilir.

İmplantların, fibronektinden gibi doğal ligandlarına bağlanmasında etkili RGD hücre yapışkan dizisi gibi biyoaktif motifler sunacak şekilde değiştirilmesi, rejeneratif tıpta umut verici bir yaklaşımı temsil eder.

İmplantların integrinler tarafından tanınma potansiyeli olan biyoaktif moleküllerle işlevselleştirilmesi, daha hızlı ve daha güçlü osseointegrasyonu teşvik edebileceği değerlendirilmektedir. Bu nedenle umut vaadeden bir integrin bağlayıcının, hücre dışı matris proteinlerine (integrinlerin biyolojik ligandları) benzer özellikler sunması gerekir. Hücreden hücreye adezyon oligopeptidi RGD (arginin-glisin-aspartik asit), integrinlerin ligandlarında çoğu integrin tarafından tanınan spesifik bir bölgedir (Yang vd. 2021).

Bu tez çalışmasında; implantların osseointegrasyonunda etkin rol oynayan $\alpha v\beta 3$ ve $\alpha 5\beta 1$ integrin proteinlerine bağlanabilecek peptit modelleri araştırılmıştır. Peptit modelleri ilgili

integrin proteinlerin doğal ligandlarının taranması ve/veya literatür araştırması sonucunda integrinlerin bağlanabildiği protein sekansları dikkate alınmıştır.



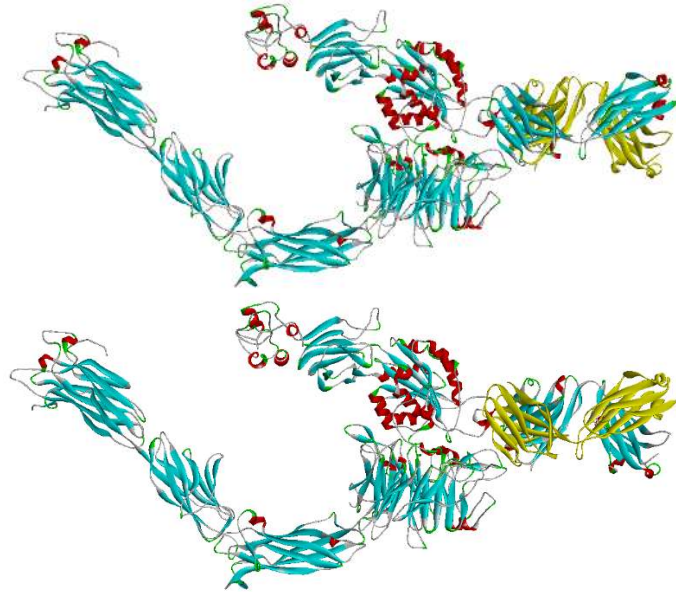
BÖLÜM 2

MATERYAL METOT

2.1 PROTEİN VE PEPTİTLERİN HAZIRLANMASI

Öncelikle osseointegrasyon prosesine katılan etkili integrin protein yapıları tespit edilmiştir. $\alpha 5 \beta 1$; osteogenez ve osteogenik farklılaşma sürecinde, osteoblast, osteoprojenitör ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından sentezlenen kilit proteindir (Shekaran ve García 2011). Bu amaçla; $\alpha \nu \beta 3$ ve $\alpha 5 \beta 1$ proteinleri hedef proteinler olarak tespit edilmiştir.

3 boyutlu $\alpha \nu \beta 3$ ve $\alpha 5 \beta 1$ protein yapıları Protein Data Bank sayfasından indirilmiştir (URL-4). $\alpha \nu \beta 3$ için 6AVU (Borst vd. 2017) ve $\alpha 5 \beta 1$ proteini için PDB kodu 7NWL (Schumacher vd. 2021) olarak belirlenmiştir. Yapı üzerindeki su, ligand ya da iyon yapıları Discover Studio Visualizer programı yardımıyla uzaklaştırılmıştır.



Şekil 2.1 $\alpha \nu \beta 3$ integrin protein 3D yapısı (6AVU) ve ona bağlı antikor molekülü. $\alpha \nu \beta 3$ integrin protein 3D yapısı (6AVU) ve ona bağlı antikor molekülü. (Sarı renkle gösterilen domain antikor A ağır zincir; B hafif zincir yapısı).

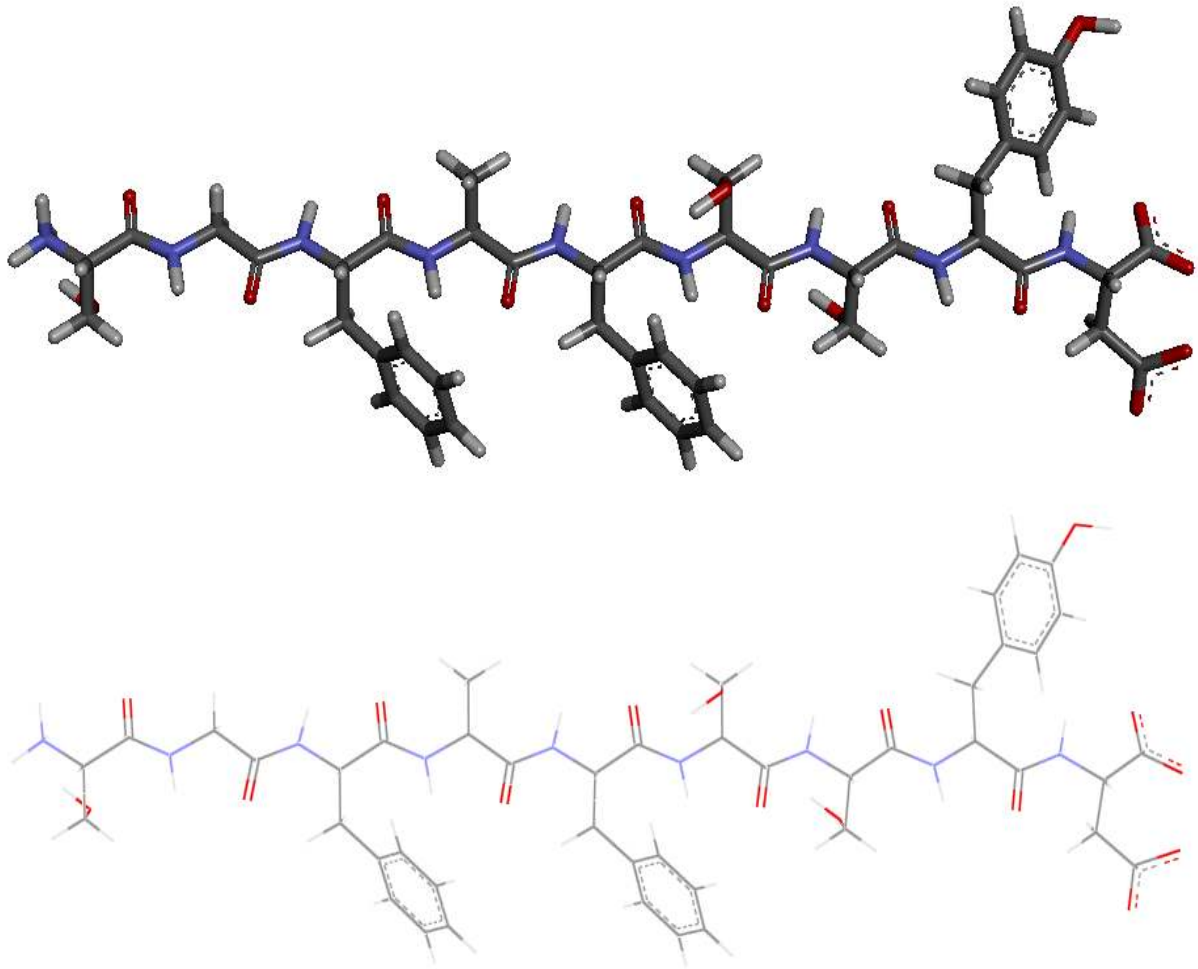
Peptit modellemesinde Çizelge 2.1'de detayları verilen motifler kullanılmıştır. Peptit modeller; literatür taraması ve integrin proteinlerinin doğal ligandlarıyla interaksyonlarının Discovery Studio Visualizer programıyla incelenmesi sonucunda seçilmiştir.



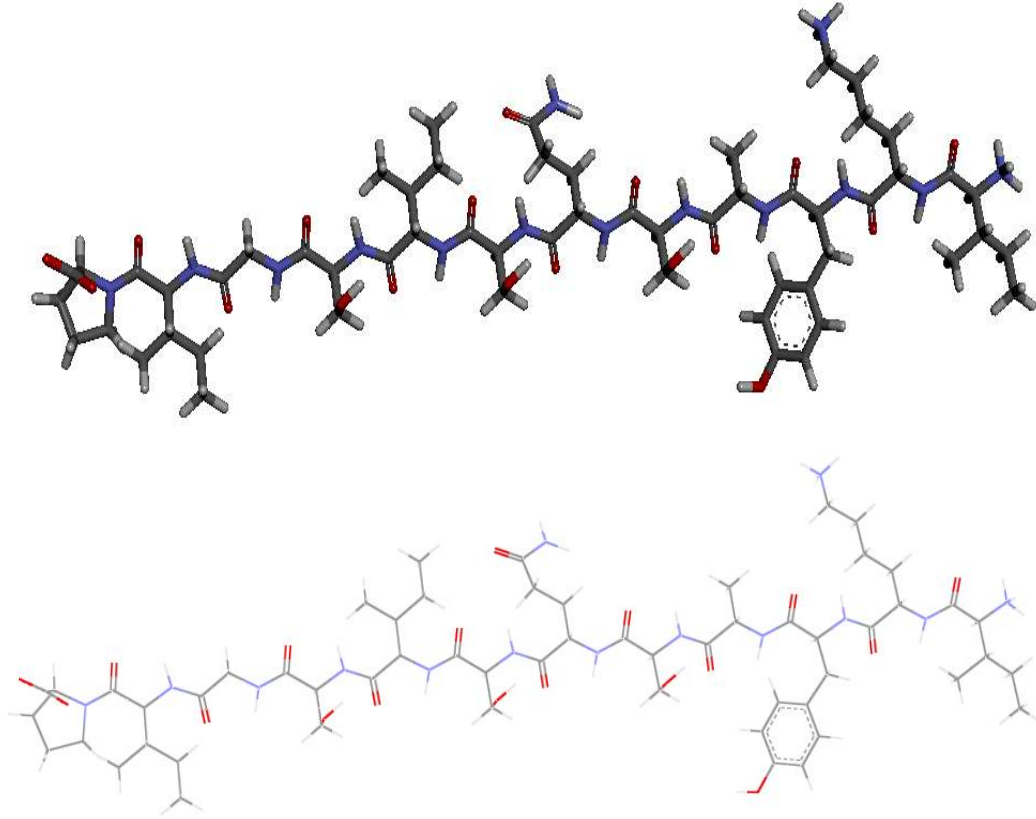
Şekil 2.2 $\alpha 5\beta 1$ integrin protein (PDB kodu:7NWL) yapısı.

Çizelge 2.1 Tez çalışmasında kullanılan integrin proteinleri ve peptit modeller.

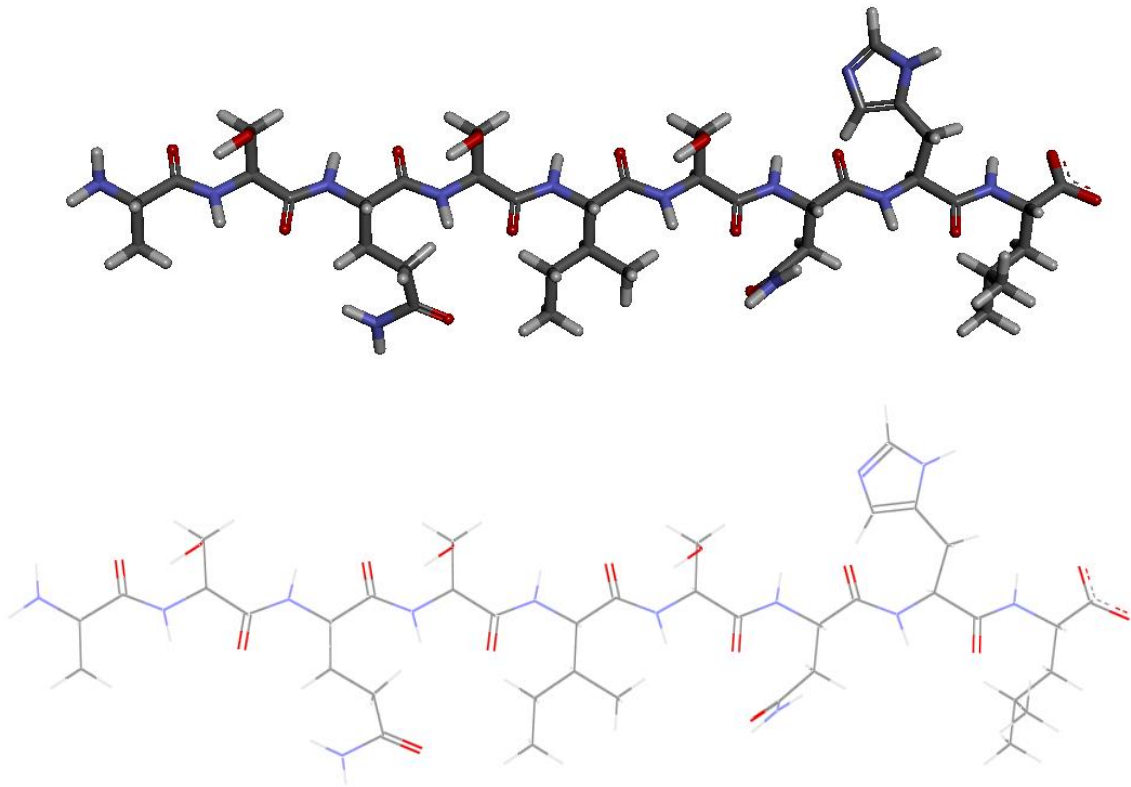
Protein	Peptit modeller	
	3 harfli kısaltma	Tek harfli kısaltma
$\alpha\beta 3$	Ser-Gly-Phe-Ala-Phe-Ser-Ser-Tyr-Asp	SGFAFSSYD
	Ile-Lys-Tyr-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Ser-Gly-Ile-Pro	IKYASQSISGIP
	Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Ser-Asn-His-Leu	ASQSISNHL
	Arg-Gly-Asp	RGD
	Pro-His-Ser-Arg-Asn	PHSRN
$\alpha 5 \beta 1$	Ser-Gly-Phe-Ala-Phe-Ser-Ser-Tyr-Asp	SGFAFSSYD
	Ile-Lys-Tyr-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Ser-Gly-Ile-Pro	IKYASQSISGIP
	Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Ser-Asn-His-Leu	ASQSISNHL
	Arg-Gly-Asp	RGD
	Pro-His-Ser-Arg-Asn	PHSRN



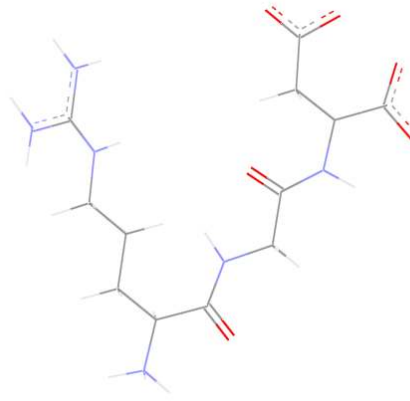
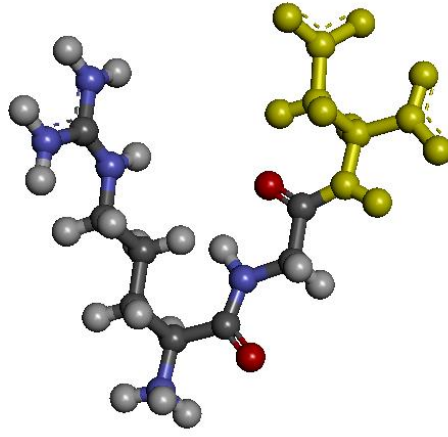
Şekil 2.3 -SGFAFSSYD- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.



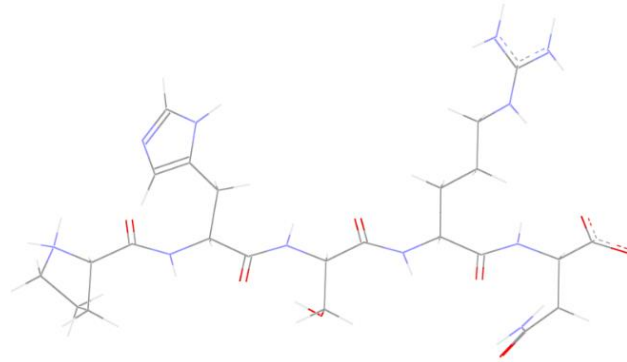
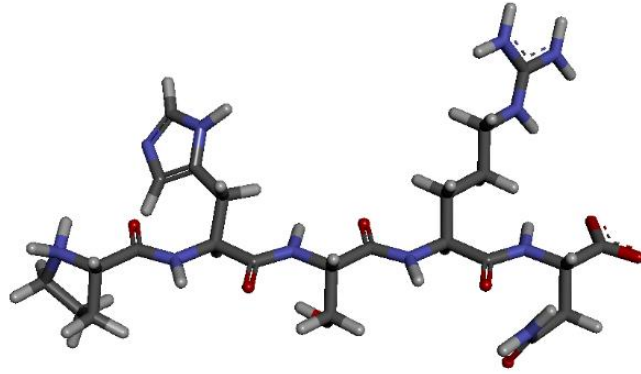
Şekil 2.4 -IKYASQSISGIP- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.



Şekil 2.5 ASQSISNHL- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.



Şekil 2.6 -RGD- peptit sekansının açık kimyasal yapısı.



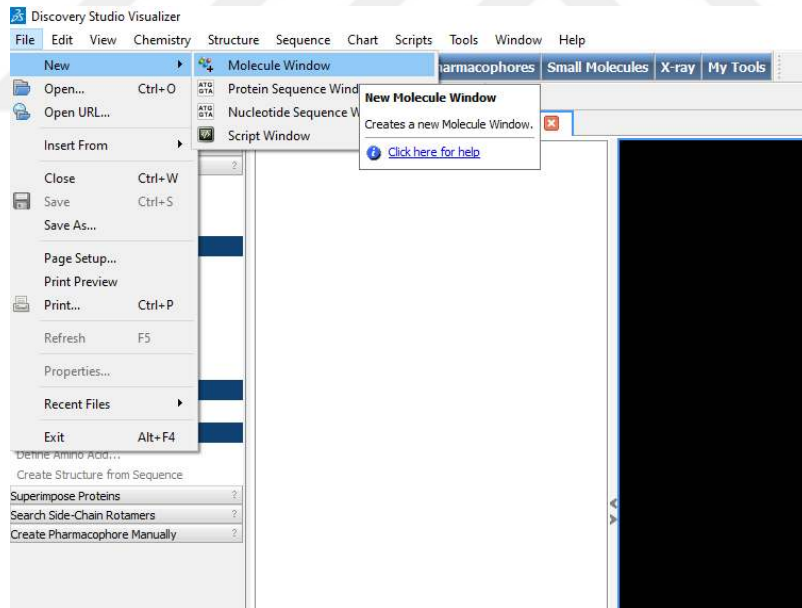
Şekil 2.7 -PHSRN- peptidinin farklı açılardan 3D yapısı.

2.2 MOLEKÜLER DOCKING SİMÜLASYONLARI

Makromolekül ve model peptitlerin moleküler docking analizleri Boston ve Stony Brook Üniversiteleri bünyesinde kurulmuş ClusPro 2.0 web-server kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Comeau vd. 2004). Söz konusu server; protein-protein kompleksleri arasındaki etkileşimi 4 farklı hesaplama modelleri üzerinden gerçekleştirmektedir. Bu hesaplama modelleri şunlardır: (i) van der Waals kuvveti ve elektrostatik interaksyonları (VdW+Elec); (ii) dengelenmiş (balanced); (iii) elektrostatik tercihli; (iv) hidrofobik tercihli. Hesaplamalarda aşağıdaki formülden faydalanılmıştır (Kozakov vd. 2017). Formülasyon ve hesaplamalara dair detaylı bilgiye <http://www.cluspro.org> (URL-5) adresinden ulaşabilmektedir.

$$E=0.40 E_{rep} + -0.40E_{att} + 600E_{elec} + 1.00 E_{DARS}$$

Her bir peptit model Discovery Visualizer programında File → New → Molecule Window → Build and Edit Protein komutlarıyla açılan arayüzde çizilmiştir.



Şekil 2.8 Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak aminoasit sekansı çiziminde izlenen komutlar.

2.3 MOLEKÜLLERİN MİNİMAL ENERJİ VE MAKSİMUM KARARLILIK DÜZEYİNE ALINMASI

3D çizilen TiO_2 nanopartikülleri Discovery Studio Visualizer programı yardımıyla görüntülenmiş ve örgü ağ yapısı incelenmiştir. Molekülün en kararlı halini elde etmek amacıyla Avogadro yazılımı kullanılmış ve docking öncesinde enerji düzeyi minimize edilmiştir.

2.4 MOLEKÜLER DİNAMİK ÇALIŞMALARI

Proteinlerin stabiliteleri ve hareket kabiliyetlerini ölçmek amacıyla gerçekleştirilen moleküler dinamik çalışmaları detayları López-Blanco ve meslektaşları (2014) tarafından geliştirilmiş online web-server iMODS kullanılarak gerçekleştirilmiştir (URL-6).

2.5 PROTEİNLERİN TOPOLOJİK ANALİZLERİ

TiO_2 nanopartiküllerinin protein yapılarının hangi noktalarına bağlanabileceğine dair olası koordinatlar için CASTp (Computed Atlas of Surface Topology of proteins) yazılımından faydalanılmıştır (Tian vd. 2018).

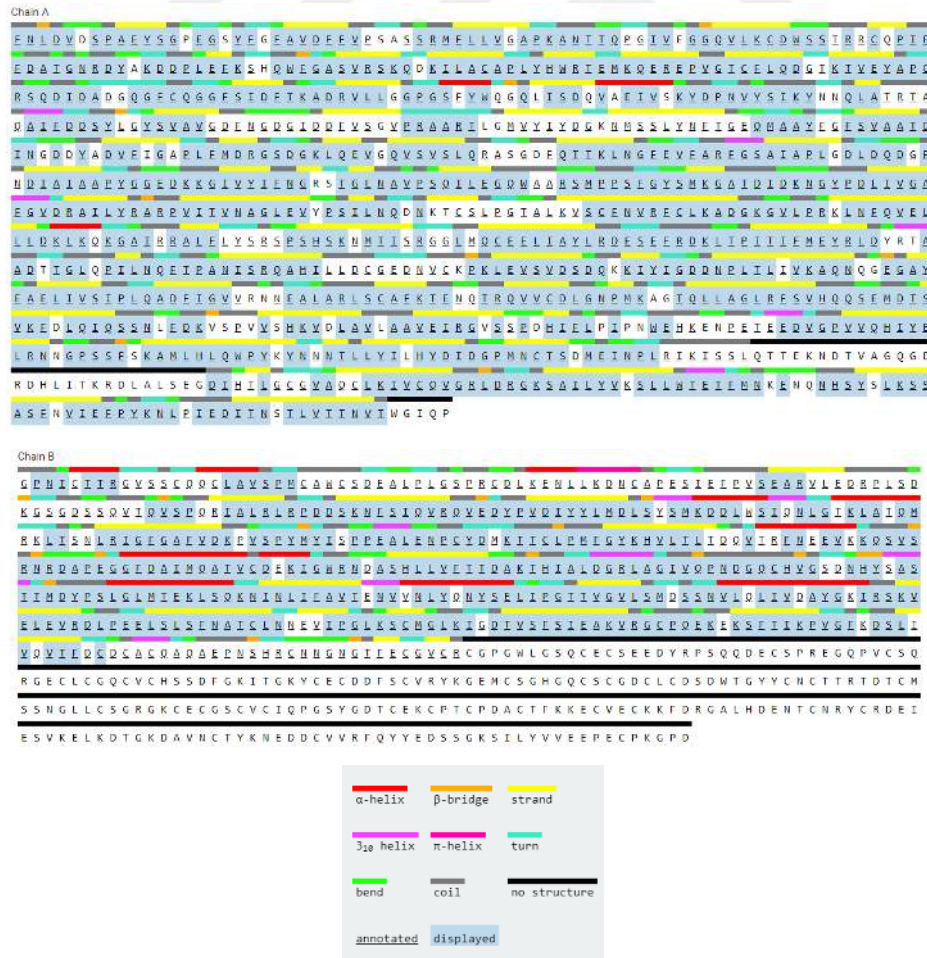


BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1 INTEGRİN PROTEİNİ – PEPTİT MOTİFLERİ MOLEKÜLER DOCKİNG SİMÜLASYONLARI

Söz konusu tez çalışmasında implant yüzeylerinin peptit motifleriyle kaplanması ve böylece canlı dokuda enflamatuvar oluşturmaması adına integrin proteinlerince tanınabilmesi için olası peptit motifler araştırılmıştır. CASTp algoritması yarımıyla $\alpha\beta 3$ ve $\alpha 5\beta 1$ proteinlerin 3D yapıları üzerinde olası interaksiyonlar tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 $\alpha\beta 3$ proteini A ve B zincir sekansları ve renk motiflerinin yapısal tanımlamaları.



Şekil 3.2 α5β1 proteini A ve B zincir sekansları ve renk motiflerinin yapısal tanımlamaları.

ClusPro server kullanılarak elde edilmiş sonuçlar Çizelge 3.1'de verilmiştir. En düşük kümeler (cluster) skoru en güçlü affiniteyi gösterdiği için farklı kümeler (cluster) arasından enerji düzeyi en düşük olan değerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Van der Waals ve elektrostatik çekim kuvveti moleküler docking değerleri.

$\alpha\beta3$ (VdW +Elec)	Peptit modeli	$\alpha5\beta1$ (VdW +Elec)	Peptit modeli
-144.4	SGFAFSSYD	-154.6	SGFAFSSYD
-187.7	IKYASQSISGIP	-201.1	IKYASQSISGIP
-142.7	ASQSISNHL	-153.7	ASQSISNHL
-106.6	RGD	-136.4	RGD
-150.1	PHSRN	-178.3	PHSRN

Çalışmada elde edilen moleküler docking sonuçları açısından sadece elektrostatik-tercihli (electrostatic-favoured) sonuçlar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Elektrostatik-tercihli moleküler docking değerleri.

$\alpha\beta3$	Peptit modeli	$\alpha5\beta1$	Peptit modeli
-845.8	SGFAFSSYD	-939.4	SGFAFSSYD
-1016.6	IKYASQSISGIP	-975.3	IKYASQSISGIP
-771.9	ASQSISNHL	-844.8	ASQSISNHL
-442.9	RGD	-492.7	RGD
-685.1	PHSRN	-701.8	PHSRN

Protein ve peptit modeller arasındaki yapıya katılan hidrofobik aminoasitlerin rol oynadığı hidrofobik interaksyonlar açısından ortaya konulan docking sonuçları Çizelge 3.3’te verilmiştir. Her ne kadar hidrofobik interaksyonlar zayıf bağlar olarak değerlendirilse de tüm docking skorları açısından en düşük enerji (yüksek affinite) bu etkileşimlerde ortaya konulmuştur.

Çizelge 3.3 Hidrofobik-tercihli moleküler docking değerleri.

$\alpha\beta3$	Peptit modeli	$\alpha5\beta1$	Peptit modeli
-1114.9	SGFAFSSYD	-1110.6	SGFAFSSYD
-1214.3	IKYASQSISGIP	-1171.3	IKYASQSISGIP
-1034.3	ASQSISNHL	-1009.7	ASQSISNHL
-511.7	RGD	-387.9	RGD
-805.8	PHSRN	-808.3	PHSRN

ClusPro aracılı moleküler docking çalışmalarında sonuçlar farklı interaksyonlarla ifade edildiğinden her bir araştırmacı hedef etkileşimi daha sağlıklı analiz edebilmektedir. Bununla birlikte genel amaçlı docking çalışmalarında dengelenmiş skorların dikkate alınması gerektiği önerilmektedir.

Çizelge 3.4 Dengelenmiş moleküler docking skorları.

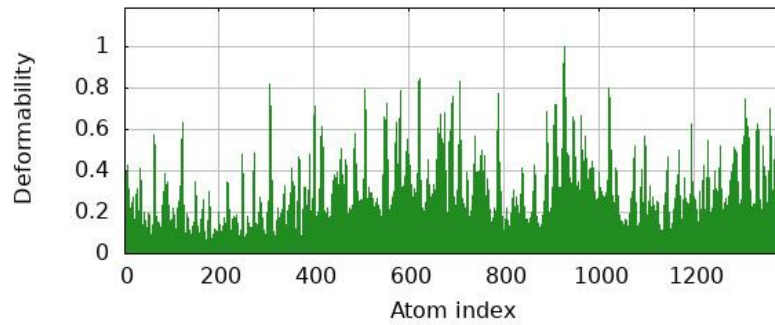
$\alpha\beta3$	Peptit modeli	$\alpha5\beta1$	Peptit modeli
-795.6	SGFAFSSYD	-910.2	SGFAFSSYD
-1004.7	IKYASQSISGIP	-965.6	IKYASQSISGIP
-781.9	ASQSISNHL	-820.0	ASQSISNHL
-427.0	RGD	-382.9	RGD
-662.2	PHSRN	-643.3	PHSRN

Verilerin protein ve peptit modeli bazında tüm skorlar açısından karşılaştırılması Çizelge 3.5’te verilmiştir.

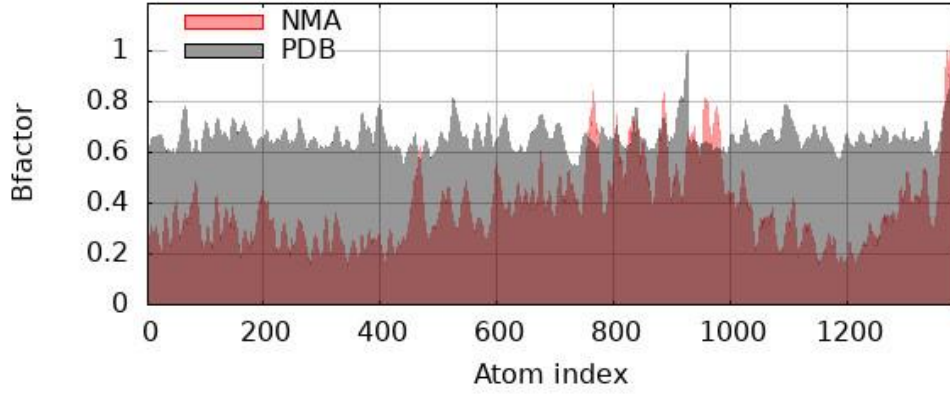
Çizelge 3.5 Peptit modeli bazlı docking skorları.

Integrin	Peptit modeli	(VdW +Elec)	Elektrostatik tercihli	Hidrofobik tercihli	Dengelenmiş
$\alpha\beta3$	SGFAFSSYD	-144.4	-845.8	-1114.9	-795.6
	IKYASQSISGIP	-187.7	-1016.6	-1214.3	-1004.7
	ASQSISNHL	-142.7	-771.9	-1034.3	-781.9
	RGD	-106.6	-442.9	-511.7	-427.0
	PHSRN	-150.1	-685.1	-805.8	-662.2
$\alpha5\beta1$	SGFAFSSYD	-154.6	-939.4	-1110.6	-910.2
	IKYASQSISGIP	-201.1	-975.3	-1171.3	-965.6
	ASQSISNHL	-153.7	-844.8	-1009.7	-820.0
	RGD	-136.4	-492.7	-387.9	-382.9
	PHSRN	-178.3	-701.8	-808.3	-643.3

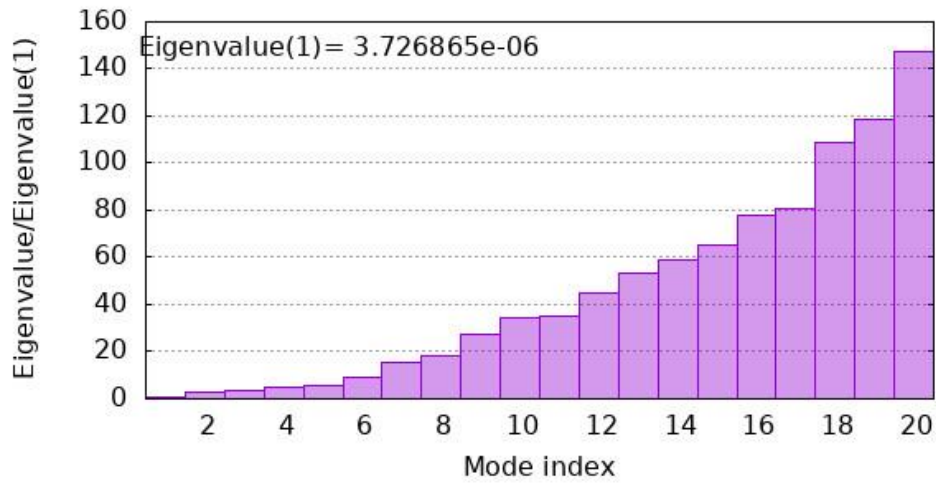
iMODS veri tabanından alınan ve tez çalışmalarında kullanılan proteinlere ait moleküler dinamik simülasyon şekil ve grafikleri aşağıda sunulmuştur.



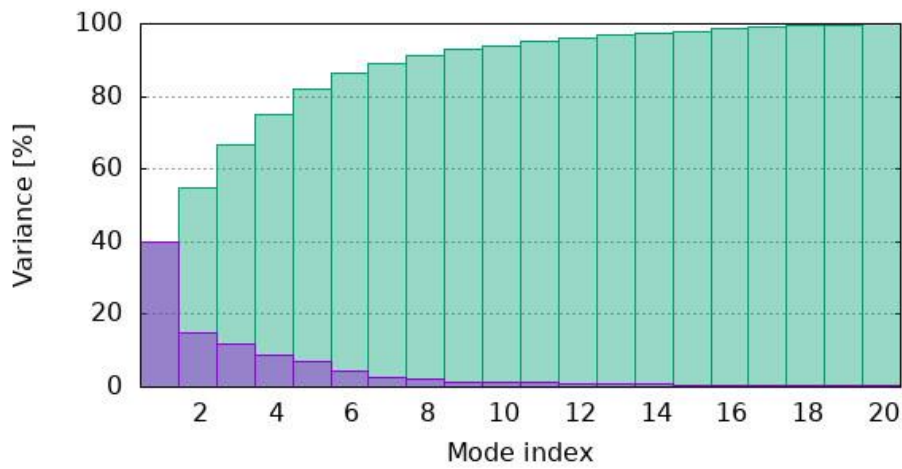
Şekil 3.3 Test protein yapısının ($\alpha\beta3$) deformabilite indeksi.



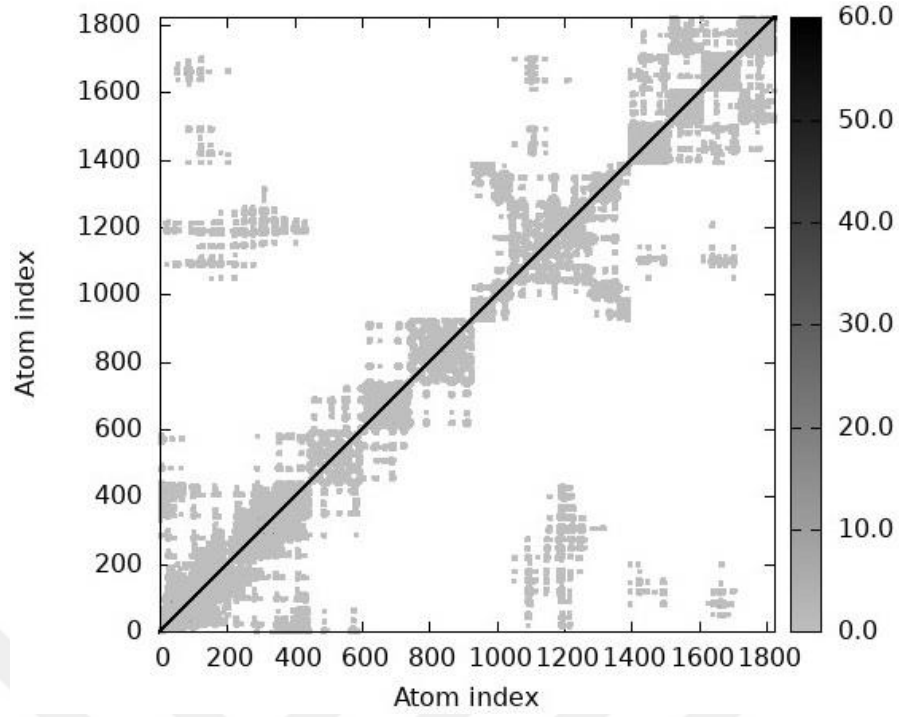
Şekil 3.4 Test protein yapısının ($\alpha\beta 3$) B-faktör indeksi.



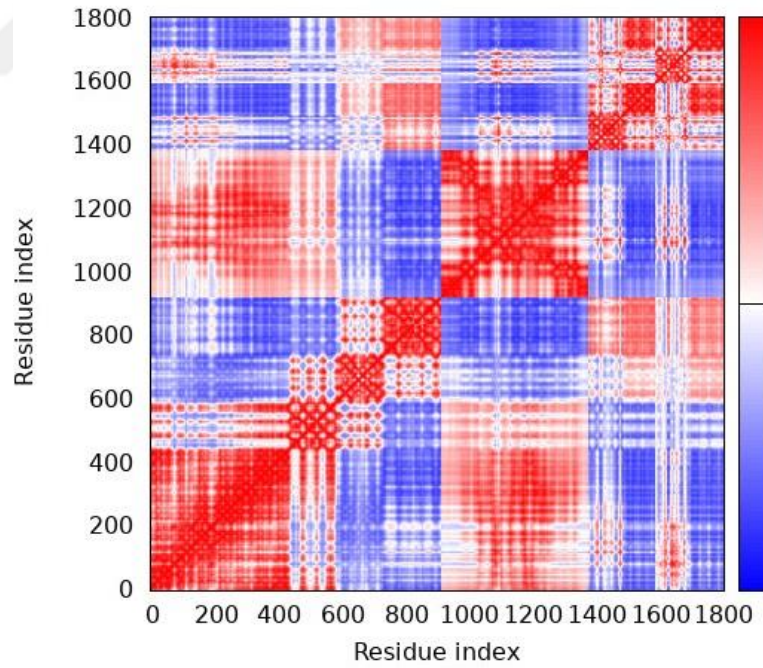
Şekil 3.5 Test protein yapısının ($\alpha\beta 3$) eigenvalue mod indeksi.



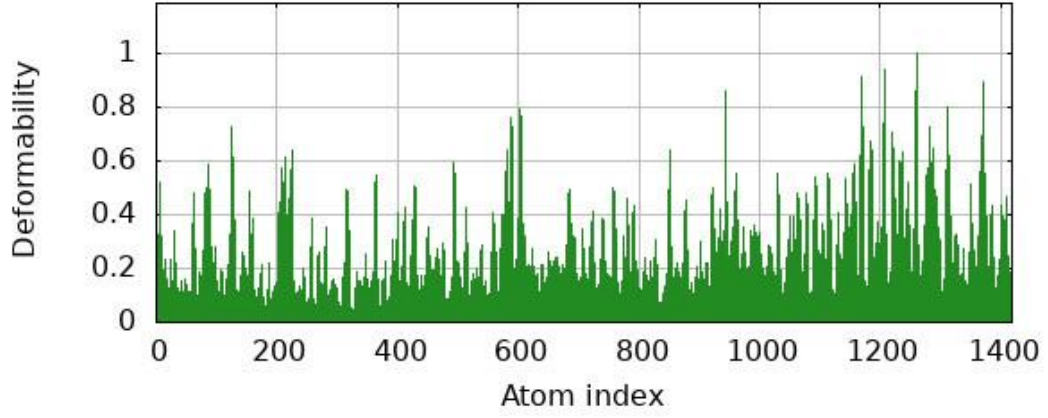
Şekil 3.6 Test protein yapısının ($\alpha\beta 3$) varians-mod indeksi.



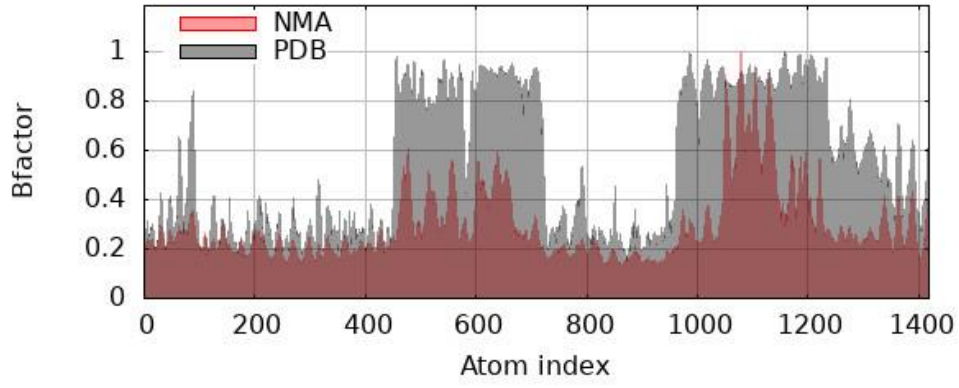
Şekil 3.7 Test protein yapısının (αvβ3) atom indeksi.



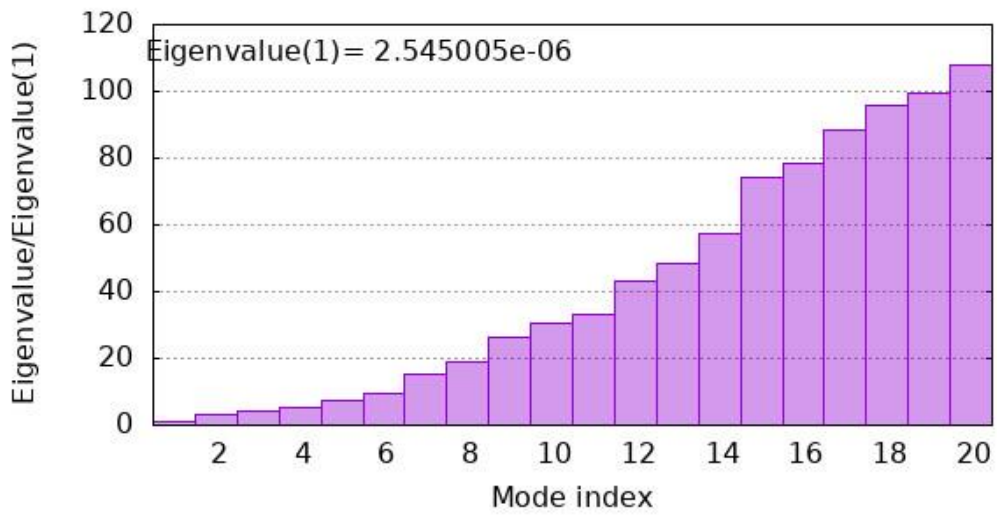
Şekil 3.8 Test protein yapısının (αvβ3) rezidü indeksi.



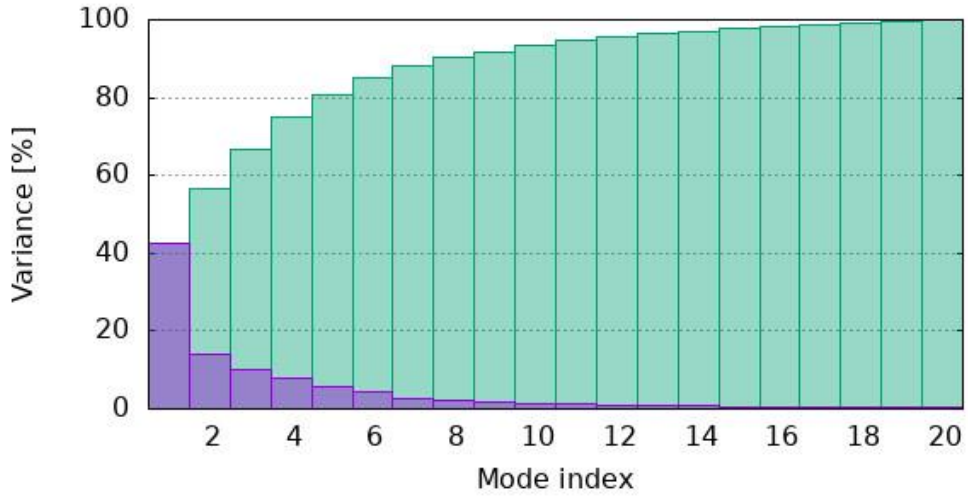
Şekil 3.9 Test protein yapısının ($\alpha 5\beta 1$) deformabilite indeksi.



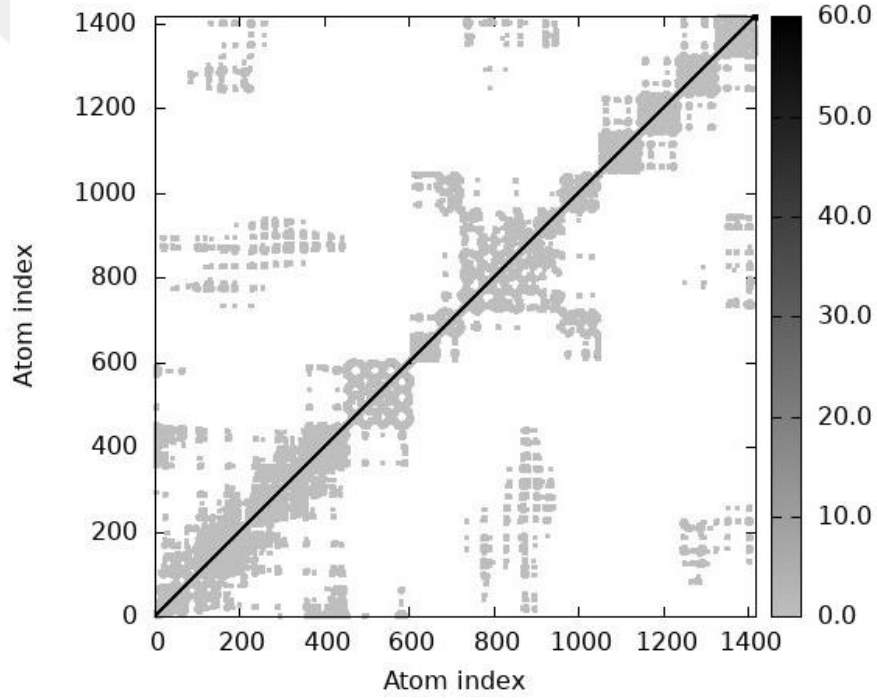
Şekil 3.10 Test protein yapısının ($\alpha 5\beta 1$) B-faktör indeksi.



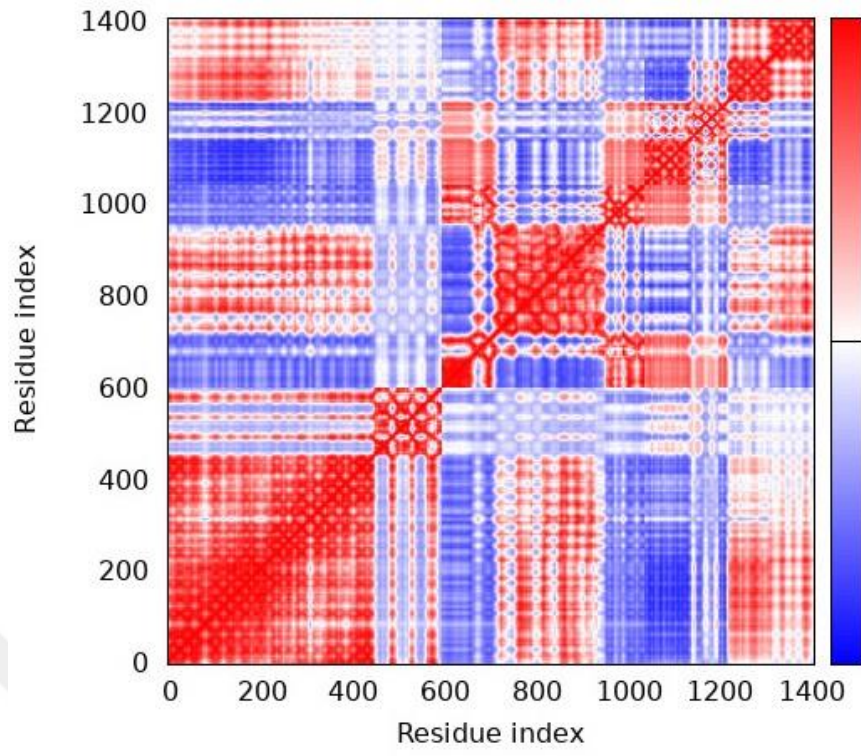
Şekil 3.11 Test protein yapısının ($\alpha 5\beta 1$) eigenvalue mod indeksi.



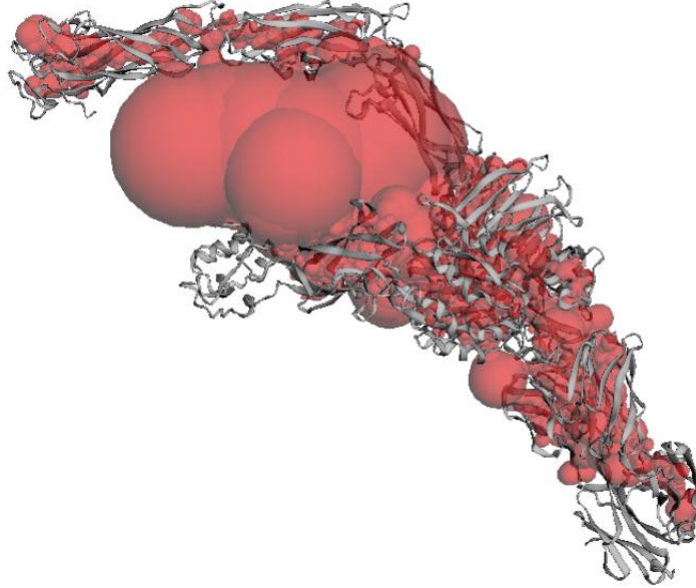
Şekil 3.12 Test protein yapısının (α5β1) varians-mod indeksi.



Şekil 3.13 Test protein yapısının (α5β1) atom indeksi.



Şekil 3.14 Test protein yapısının ($\alpha 5\beta 1$) rezidü indeksi.



Şekil 3.15 CATp algoritması kullanılarak elde edilen protein ve etkileşim alanları.



BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

Söz konusu çalışmanın en temel ve öncelikli amacı; TiO₂ implantlarının dokuya uyumluluğunun bir ölçüsü olan osseointegrasyon işleminin artırılması amacıyla, implant yüzeylerinin peptit kaplaması yapılması ve böylece enflamatuvar proteinlerine karşı duyarlı hale getirilmesi yönünde bazı bilgisayar yazılımlar aracılığıyla modellemeler yapılmasıdır.

Bu amaçla, 2 farklı integrin adı verilen enflamatuvar proteini ve 5 farklı peptit modeli seçilmiştir. Söz konusu protein ve modeller Çizelge 2.1'de verilmiştir. Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen moleküle docking simülasyonları 4 farklı model ile ifade edilmiştir. Bu modeller şunlardır:

(i) van der Waals kuvveti ve elektrostatik interaksionları (VdW+Elec);

(ii) dengelenmiş (balanced);

(iii) elektrostatik tercihli;

(iv) hidrofobik tercihli.

Bu modeller yapılan çalışmalarda amaca uygun modelin ön plana çıkarılmasını hedeflemektedir. ClosPro web-server'da genel amaçlı bir çalışmada dengelenmiş modelin dikkate alınmasının daha sağlıklı olabileceği değerlendirilmiştir (www.cluspro.org).

Peptit modeller arasında **IKYASQSIGIP** her iki integrin protein içinde ve tüm docking skorlarında en güçlü affiniteye sahip model olarak kaydedilmiştir. **RGD** (arjinin – lizin – aspartik asit) modeli ise tüm docking simülasyonlarında en zayıf affinite gösteren peptit model olmuştur.

Titanyum bazlı implantların spesifik peptit kaplamalarını amaçlayan bir çalışmada implant yüzeyleri için farklı peptit modelleri oluşturulmuştur. Bu modeller içerisinde RGD modeli en düşük affiniteyi gösteren bir tripeptit olduğu rapor edilmiştir (Agrelli vd. 2022). Söz konusu çalışma bulgularımızı destekler niteliktedir.

Integrin proteinleri açısından kıyaslandığında kimi peptit modellerinin $\alpha\beta3$ proteine güçlü affinite gösterirken kimi modeller $\alpha5\beta1$ proteine daha güçlü bağlanabildiği tespit edilmiştir. Protein aminoasit kompozisyonu ve peptit model aminoasit sekansının bu durumda etkili olduğu değerlendirilmektedir.

İskelet kas sisteminde meydana gelen ciddi boyutlardaki travmalar ve/veya hastalıklar spesifik biyomalzemelerden yapılmış gelişmiş implantlara ihtiyacı her geçen gün arttırmaktadır. İmplant başarısızlığı insan sağlığını olumsuz etkileyen ve günümüzde hala problem olmaya devam eden bir süreçtir. Dünya çapındaki implantların başarısızlık oranı yaklaşık olarak %10 olarak tahmin edilmektedir (Sakka vd. 2011; Kurtz vd. 2007). Zayıf fiksasyon, inflamasyon ve kemik rezorpsiyonu gibi nedenler implant başarısızlığının temel nedenleri olarak gösterilmektedir (Abu-Amer vd. 2007).

Son yıllarda implantların osseointegrasyonunu arttırmaya yönelik değişik yaklaşımlar öne sürülmüştür. Bu yaklaşımlardan birisi, implant yüzeyinin peptit motiflerce kaplanmasıdır. Bu bağlamda implant yüzeyinin adezyon proteinleri veya fonksiyonel peptidlerle kaplanması, kemik-implant arayüzünde osseointegrasyonu hızlandırdığı ve osteogenez sürecini desteklediği (Seemann vd. 2022). İmplant yüzeyindeki peptitlerin daha düşük antijeniteye, daha fazla seçiciliğe ve daha büyük kimyasal immobilizasyon kapasitesine sahip olması bu yaklaşımı güçlendirmektedir (Seemann vd. 2022; Yeo vd. 2015). Bu nedenle, biyofonksiyonel bir dizi sunan peptitler, biyolojik olarak uygun koşullar için yerel çevreyi değiştirme potansiyeline sahiptir ve bu, kemik veya sistemik metabolik hastalıkları olan hastalar için önemli olabilir (Luke vd. 2022). Güncel yapılan bir çalışmada bifonksiyonel peptit dizayn edilmiş ve hem TiO_2 implant yüzeylerindeki oksijen ile interaksyona giren hem de kalsiyum-fosfat adsorbsiyonunu teşvik eden peptit modeller geliştirilmiştir (Gitelman A and Rapaport 2014). Peptit model molekül iskeletiyle aynı yüzdeki 2 fosfoserin (pSer) amino asit kalıntısındaki oksijen atomuna bağlanacak şekilde dizayn edilmiştir. pSer yapısındaki fosfat grupları TiO_2 yapısıyla doğrudan koordine bağlar yaparak interaksyona girmektedir (Gitelman ve Rapaport 2014; Connor ve

McQuillan 1999). Tüm bu örnekler implant yüzeyinin peptit motiflerce kaplanmasının moleküler düzeyde osseointegrasyon sürecini ortaya koyan raporlardır.

Tez konusu çalışmaya benzer bir çalışmada; Agrelli ve arkadaşları (2022) osseointegrasyonu optimize etmek amacıyla titanyum bazlı implantların yüzeylerinin peptit modelleriyle kaplanmasını önermişlerdir. Söz konusu çalışma ClusPro serveri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada $\alpha 5\beta 1$, $\alpha \nu\beta 3$ ve $\alpha \text{IIb}\beta 3$ integrin proteinleri üzerine bazı peptit modelleri test edilmiştir. $\alpha 5\beta 1$ integrin proteini için -GHTHYHAVRTQTTGR- modeli en ideal model olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte; $\alpha \nu\beta 3$ için -RKLPDALK- modeli ve $\alpha \text{IIb}\beta 3$ proteini için -GHTHYHAVRTQTTGR- modeli en güçlü affinitenin olduğu peptit model olarak tespit edilmiştir.

GHTHYHAVRTQTTGR- peptit modelinin docking sonuçları her bir integrin için -155.5 ($\alpha \nu\beta 3$), 163.5 ($\alpha \nu\beta 3$) ve -150.4 ($\alpha \text{IIb}\beta 3$) olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz -IKYASQSIGIP- peptit modeline ait affinite skorları söz konusu docking değerlerinden daha güçlü olarak tespit edilmiştir.

Moleküler dinamik çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen analizlerden deformabilite; belirli bir molekülün her bir kalıntısında deforme olma yeteneğinin bir ölçüsüdür. Grafik üzerinde en yüksek tepe noktalarına yaklaşma deformabiliteyi arttırmaktadır. 1200-1400 atom indeksi değerlerinde en yüksek tepe noktaları gözlenlendiğinden $\alpha 5\beta 1$ için maksimum deformabilite bu aralıkta tespit edilmiştir. Bu değerler $\alpha \nu\beta 3$ proteini için 800-100 aralığında tespit edilmiştir.

B faktörü, PDB yapısını alıp buna normal mod analizi (NMA) uygulayarak NMA hareketliliğini $8\pi^2$ ile çarparak hesaplanmaktadır. B-faktörü analizi ayrıca ortalama bir RMS (root mean square deviation) tahmini sağlar. Çalışmada her iki B faktör değerlerinin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Kovaryans matrisi, kompleksteki kalıntıların nasıl ilişkilendirildiğini gösterir ve korelasyon ne kadar yüksek olursa kompleks o kadar iyidir. Kırmızı renk rezidüler arasında iyi bir korelasyon olduğunu, beyaz korelasyon olmadığını, mavi renk ise anti-korelasyon olduğunu gösteren renklerdir. Her iki protein grubunda pozitif ne negative korelasyonun yaklaşık olarak eşit düzeyde baskın olduğu değerlendirilmektedir.

Tez çalışmasından elde edilen moleküler docking, deformabilite, B-faktörü ve kovaryans faktörü analizleri dikkate alındığında; TiO₂ bazlı implant yüzeylerinin **IKYASQSIGIP** ve **PHSRN** peptit modeliyle kaplanmasının $\alpha\beta3$ ve $\alpha5\beta1$ integrin proteinleriyle etkileşime girerek osseointegrasyonu hızlandırabileceği değerlendirilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abu-Amer Y, Darwech I and Clohisy J C** (2007) Aseptic loosening of total joint replacements: mechanisms underlying osteolysis and potential therapies. *Arthritis Research Therapy*, 9 Suppl 1(Suppl 1):S6.
- Agarwal R and García A J** (2015) Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 94: 53-62.
- Agrelli A, Vasconcelos N F, Silva R C S d, Mendes-Marques C L, Arruda I R dS, Oliveira P S S d, Santos L R L, Andrade A N d, Moura R R d, Bernardo-Menezes L C, Silva A N d A and Machado G** (2022) Peptides for Coating TiO₂ Implants: An In Silico Approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 14048.
- Alipal J, Lee T C, Koshy P, Abdullah H Z and Idris M I** (2021) Evolution of Anodised Titanium for Implant Applications. *Heliyon*, 7, e07408.
- Anderson J M, Rodriguez A and Chang D T** (2008) Foreign Body Reaction to Biomaterials. *Semin. Immunol*, 20: 86–100.
- Arrington E D, Smith W J, Chambers H G, Bucknell A L and Davino N A** (1996) Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop* 329: 300-9.
- Basarir K, Erdemli B, Can A, Erdemli E and Zeyrek T** (2007) Osseointegration in arthroplasty: can simvastatin promote bone response to implants? *International Orthopaedics*, 33(3):855-859.
- Bezerra-Neta I A, Mota M F and Lira H L** (2020) Neves G A and Menezes R R. Nanostructured Titanium Dioxide for Use in Bone Implants: A Short Review. *Ceramica*, 66: 440–450.
- Bledzka K, Smyth S S and Plow E F** (2013) Integrin $\text{AIIb}\beta 3$. *Circulation Research*, 112: 1189–1200.
- Borst A J, James Z M, Zagotta W N, Ginsberg M, Rey F A, DiMaio F, Backovic M and Veesler D** (2017) The Therapeutic Antibody LM609 Selectively Inhibits Ligand Binding to Human $\alpha\text{V}\beta 3$ Integrin via Steric Hindrance. *Structure*. Nov 7;25(11):1732-1739.e5.
- Bosch-Rué E, Diez-Tercero L, Giordano-Kelhoffer B, Delgado L M, Bosch B M, Hoyos-Nogués M, Mateos-Timoneda M A, Tran P A, Gil F J and Perez R A** (2021) Biological Roles and Delivery Strategies for Ions to Promote Osteogenic Induction. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 8, 614545.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Branemark P I** (1985) Introduction to osseointegration. In P-I Branemark, G A Zarb, T Albrektsson (eds) *Tissue-Integrated Prostheses*. Chicago; Quintessence Pub. Co.Inc.
- Campbell M G and Cryo-EM Reveals** (2020) Integrin-Mediated TGF- β Activation without Release from Latent TGF- β . *Cell*. 180:490–501.e16.
- Choi J Y, Sim J H and Yeo I-S L** (2017) Characteristics of Contact and Distance Osteogenesis around Modified Implant Surfaces in Rabbit Tibiae. *Journal of Periodontal Implant Science*, 47: 182–191.
- Comeau S R, Gatchell D W, Vajda S and Camacho C J** (2004) ClusPro: An Automated Docking and Discrimination Method for the Prediction of Protein Complexes. *Bioinformatics*, 20: 45–50.
- Connor P and McQuillan A J** (1999) Phosphate Adsorption onto TiO₂ from Aqueous Solutions: An in Situ Internal Reflection Infrared Spectroscopic Study. *Langmuir* 15, 2916.
- Cooper J and Giancotti F G** (2019) Integrin signaling in cancer: mechanotransduction, stemness, epithelial plasticity, and therapeutic resistance. *Cancer Cell*, 35: 347–367
- Danen E H J, Sonneveld P, Brakebusch C, Fassler R and Sonnenberg A** (2002) The Fibronectin-Binding Integrins Alpha5beta1 and Alpha5beta3 Differentially Modulate RhoA-GTP Loading, Organization of Cell Matrix Adhesions, and Fibronectin Fibrillogenesis. *The Journal of Cell Biology*, 159: 1071–1086.
- Davies J E** (1998) Mechanisms of endosseous integration. *International Journal of Prosthodontics*, 1, 11: 391-401.
- Dong X, Zhao B, Iacob R E, Zhu J, Koksal A C, Lu C, Engen J R and Springer T A** (2017) Force interacts with macromolecular structure in activation of TGF- β . *Nature*. 542:55–59.
- Eberhardt C, Habermann B, Müller S, Schwarz M, Bauss F and Kurth A H** (2007) The bisphosphonate ibandronate accelerates osseointegration of hydroxyapatite-coated cementless implants in an animal model. *Journal of Orthopedic Science*, 12: 61-6.
- Gitelman A and Rapaport H** (2014) Bifunctional Designed Peptides Induce Mineralization and Binding to TiO₂. *Langmuir* 30 (16), 4716-4724.
- Huang J, Li X, Shi X, Zhu M, Wang J, Huang S, Huang X, Wang H, Li L and Deng H** (2019) Platelet Integrin $\text{AIIb}\beta 3$: Signal Transduction, Regulation, and Its Therapeutic Targeting. *Journal of Hematology and Oncology*. 12, 26.
- Khan S N, Cammisa F P Jr, Sandhu H S, Diwan A D, Girardi F P and Lane J M** (2005) The biology of bone grafting. *The Journal of the American Academy of Orthopedic Surgeons*, 13: 77-86.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kozakov D, Hall D R, Xia B, Porter K A, Padhorny D, Yueh C, Beglov D and Vajda S** (2017) The ClusPro web server for protein-protein docking. *Nature Protocols*. Feb;12(2): 255-278.
- Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F and Halpern M** (2007) Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, Apr;89(4): 780-5.
- Linder L, Albrektsson T, Brånemark P I, Hansson H A, Ivarsson B, Jönsson U and Lundström I** (1983) Electron microscopic analysis of the bone-titanium interface. *Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplement*, 54: 45-52.
- Linder L, Obrant K and Boivin G** (1989) Osseointegration of metallic implants. II. Transmission electron microscopy in the rabbit. *Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplement*, 60: 135-9.
- Lopes H B, Freitas G P, Elias C N, Tye C, Stein J L, Stein G S, Lian J B, Rosa A L and Beloti M M** (2019) Participation of Integrin B3 in Osteoblast Differentiation Induced by Titanium with Nano or Microtopography. *Journal Biomedical Materials Research.- Part A*, 107: 1303–1313.
- López-Blanco J R, Aliaga J I, Quintana-Ortí E S and Chacón P** (2014) IMODS: internal coordinates normal mode analysis server. *Nucleic Acids Research*, 42(W1): W271–W276.
- Luke Yeo I S** (2022) Dental Implants: Enhancing Biological Response Through Surface Modifications. *Dental Clinics of North America*, 66: 627–642.
- Marco F, Milena F, Gianluca G and Vittoria O** (2005) Periimplant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron*, 36: 630-44.
- Mas-Moruno C, Fraioli R, Rechenmacher F, Neubauer S, Kapp T G and Kessler H** (2016) Avβ3- or A5β1-Integrin-Selective Peptidomimetics for Surface Coating. *Angewandte Chemie*, 55: 7048–7067.
- Mavrogenis A F, Dimitriou R, Parvizi J and Babis G C** (2009) Biology of implant osseointegration. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*. Apr-Jun, 9(2): 61-71.
- Mezu-Ndubuisi O J and Maheshwari A** (2021) The role of integrins in inflammation and angiogenesis. *Pediatric Research*, 89: 1619–1626.
- Morse E M, Brahme N N and Calderwood D A** (2014) Integrin cytoplasmic tail interactions. *Biochemistry*, 53: 810–820.
- Nascimento M do, Brito T O, Lima A M and Elias C N** (2023) Protein interactions with osseointegrable titanium implants. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 22(00): e238749.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Osman R B and Swain M V** (2015) A Critical Review of Dental Implant Materials with an Emphasis on Titanium versus Zirconia. *Materials (Basel)*, Mar 5;8(3):932-958.
- Perez R A, Seo S-J, Won J-E, Lee E-J, Jang J-H, Knowles J C and Kim H-W** (2015) Therapeutically Relevant Aspects in Bone Repair and Regeneration. *Materials Today*, 18: 573–589.
- Poole J J A and Mostaço-Guidolin L B** (2021) Optical microscopy and the extracellular matrix structure: a review. *Cells*, 10(7):1760.
- Rigo E C S, Boschi A O, Yoshimoto M, Allegrini S Jr, Konig B Jr and Carbonari M J** (2004) Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. *Materials Science Engineering*, 24: 647-51.
- Roy A, Shi L, Chang A, Dong X, Fernandez A, Kraft J C, Li J, Le V Q, Winegar R V, Cherf G M, Slocum D, Poulson P D, Casper G E, Vallecillo-Zúniga M L, Valdoz J C, Miranda M C, Bai H, Kipnis Y, Olshefsky A, Priya T, Carter L, Ravichandran R, Chow C M, Johnson M R, Cheng S, Smith M, Overed-Sayer C, Finch D K, Lowe D, Bera A K, Matute-Bello G, Birkland T P, DiMaio F, Raghu G, Cochran J R, Stewart L J, Campbell M G, Van Ry P M, Springer T and Baker D** (2023) De novo design of highly selective miniprotein inhibitors of integrins $\alpha\beta6$ and $\alpha\beta8$. *Nature Communications*, Sep 13: 14(1):5660.
- Rupp F, Liang L, Geis-Gerstorf J, Scheideler L and Hüttig F** (2018) Surface Characteristics of Dental Implants: A Review. *Dental Materials*, 34: 40–57.
- Sakka S and Coulthard P** (2011) Implant failure: etiology and complications. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 16: e42-e44.
- Schumacher S, Dedden D, Nunez R V, Matoba K, Takagi J, Biertümpfel C and Mizuno N** (2021) Structural insights into integrin $\alpha5\beta1$ opening by fibronectin ligand. *Science Advances*, May 7;7(19):eabe9716.
- Seemann A, Akbaba S, Buchholz J, Türkkan S, Tezcaner A, Woche S K, Guggenberger G, Kirschning A and Dräger G** (2022) RGD-Modified Titanium as an Improved Osteoinductive Biomaterial for Use in Dental and Orthopedic Implants. *Bioconjugate Chemistry*, 33: 294–300.
- Shekaran A and García A J** (2011) Extracellular Matrix-Mimetic Adhesive Biomaterials for Bone Repair. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 96A, 261–272.
- Soballe K** (1993) Hydroxyapatite ceramic coating for bone implant fixation. Mechanical and histological studies in dogs. *Acta orthopaedica Scandinavica. Supplement*, 255: 1-58.
- Song E, Ouyang N, Hörbelt M, Antus B, Wang M and Exton M S** (2000) Influence of Alternatively and Classically Activated Macrophages on Fibrogenic Activities of Human Fibroblasts. *Cellular Immunology*, 204: 19–28.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Stanford C M and Keller J C** (1991) The concept of osseointegration and bone matrix expression. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2: 83-101.
- Stockis J, Liénart S, Colau D, Collignon A, Nishimura S L, Sheppard D, Coulie P G and Lucas S** (2017) Blocking immunosuppression by human Tregs in vivo with antibodies targeting integrin $\alpha V\beta 8$. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114: E10161–E10168.
- Takasaka N, Seed R I, Cormier A, Bondesson A J, Lou J, Elattma A, Ito S, Yanagisawa H, Hashimoto M, Ma R, Levine M D, Publicover J, Potts R, Jespersen J M, Campbell M G, Conrad F, Marks J D, Cheng Y, Baron J L and Nishimura S L** (2018) Integrin $\alpha V\beta 8$ -expressing tumor cells evade host immunity by regulating TGF- β activation in immune cells. *Journal of clinical investigation insight*, 3: e122591.
- Terheyden H, Lang N P, Bierbaum S and Stadlinger B** (2012) Osseointegration—Communication of Cells. *Clinical oral implants research*, 23: 1127–1135.
- Tian W, Chen C, Lei X, Zhao J and Liang J** (2018) CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Research*, 46(W1): W363–W367.
- URL-1** <<https://amazingsmiles.com.au/osseointegration-and-dental-implants>>, Ziyaret tarihi: 12.05.2024.
- URL-2** <<https://kheranidentalataspen.com/discover-reliable-dental-implants-for-a-confident-smile>>, Ziyaret tarihi: 12.05.2024.
- URL-3** < <https://www.cluspro.org/>>, Ziyaret tarihi: 18.05.2024.
- URL-4** < <https://www.imods.iqfr.csic.es/>>, Ziyaret tarihi: 17.06.2024.
- URL-5** <<https://www.news-medical.net/health/History-of-Dental-Implants.aspx>>, Ziyaret tarihi: 11.05.2024.
- URL-6** < <https://www.rcsb.org/>>, Ziyaret tarihi: 10.05.2024.
- Vroman L, Adams A L, Fischer G C and Munoz P C** (1980) Interaction of High Molecular Weight Kininogen, Factor XII, and Fibrinogen in Plasma at Interfaces. *Blood*, 55: 156–159.
- Wang G, Dargusch M and Doan N** (2018) Material Perspectives of the Dental Implants: A Review. *IFMBE Proceedings*, 63: 449–453.
- Wang Y, Zhang Y and Miron R J** (2016) Health, Maintenance, and Recovery of Soft Tissues around Implants. *Clinical implant dentistry and related research*, 18: 618–634.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Weinreb P H, Simon K J, Rayhorn P, Yang W J, Leone D R, Dolinski B M, Pearse B R, Yokota Y, Kawakatsu H, Atakilit A Sheppard D and Violette S M** (2004) Function-blocking integrin $\alpha\beta 6$ monoclonal antibodies: distinct ligand-mimetic and nonligand-mimetic classes. *The Journal of biological chemistry*, 279: 17875–17887.
- Yang M, Zhang Z-C, Liu Y, Chen Y-R, Deng R-H, Zhang Z-N, Yu J-K and Yuan F-Z** (2021) Function and Mechanism of RGD in Bone and Cartilage Tissue Engineering. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9: 773636.
- Yeo I-S, Min S-K, Kang H-K, Kwon T-K, Jung S-Y and Min B-M** (2015) Identification of a Bioactive Core Sequence from Human Laminin and Its Applicability to Tissue Engineering. *Biomaterials*, 73: 96–109.
- Younger E M and Chapman M W** (1989) Morbidity at bone graft donor sites. *Journal of orthopaedic trauma*, 3: 192-5.

ÖZGEÇMİŞ

Pelin YILMAZ; ilk, orta ve lise öğrenimini Sinop Merkez’de tamamladı. 2011 yılında kazandığı Namık Kemal Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü’nden 2015 yılında mezun oldu. 2016 – 2017 yılında arasında Sinop Üniversitesi’nde pedagojik formasyon eğitimini tamamladı. 2018 yılında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı İstanbul ili Kartal ilçesinde bulunan Yakacık Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesine Biyomedikal Cihaz Teknolojileri Öğretmeni olarak atandı. 2022 – 2023 yılında görev yaptığı okulda Atölye Şefi olarak görevlendirildi. 2023 – 2024 Eğitim Öğretim yılında Bahçelievler Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi’nde Müdür Yardımcısı olarak göreve başladı. Halen aynı görevde çalışmaktadır.