



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

KOMPLEMAN SİSTEMİNİN DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-
İMLANT OLUĞU SIVISINDA KLASİK, LEKTİN BAĞIMLI VE
ALTERNATİF YOLAKLARDAKİ AKTİVASYONUNU GÖSTEREN
MEDİYATÖR SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Arş. Gör. Aslı KESKİN

Periodontoloji Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ
İkinci Danışman
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

TOKAT – 2021



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

KOMPLEMAN SİSTEMİNİN DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-
İMLANT OLUĞU SIVISINDA KLASİK, LEKTİN BAĞIMLI VE
ALTERNATİF YOLAKLARDAKİ AKTİVASYONUNU GÖSTEREN
MEDİYATÖR SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Arş. Gör. Aslı KESKİN

Periodontoloji Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ
İkinci Danışman
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

TOKAT – 2021

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

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.

(26/03/2021)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Aslı KESKİN

İmzası

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde engin klinik bilgi ve tecrübeleriyle desteğini esirgemeyen, tez sürecimde sabır ve hoşgörüsüyle yol gösteren danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ'a

Uzmanlık eğitimimin başlangıcından itibaren akademik bilgi ve klinik tecrübelerini büyük bir özveriyle paylaşan, tez sürecimin bütün aşamalarında yanımda olan Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE'ye

Uzmanlık sürecimde çok değerli bilgi, birikim, deneyim ve önerilerini büyük bir içtenlikle paylaşan ve desteğiyle her zaman yol gösterici olan Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN'a

Laboratuvar aşamalarında ihtiyaç duyduğumuz her anda bilgilerini bizimle paylaşan Doç. Dr. Fikret GEVREK'e

Analiz sonuçlarımın istatistiksel hesaplamalarında bilgisini ve yardımını büyük bir özveriyle paylaşan Uzm. Dt. Gözde IŞIKER KARA'ya, tezimin laboratuvar aşamalarında yardımcı olan çok sevgili ve değerli çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Sultan TAŞTAN ve Arş. Gör. Damla ÇELİK'e

Tez sürecimin ve uzmanlık eğitimimin her aşamasını benimle birlikte yaşayan, ihtiyaç duyduğum her anda yardımlarını ve manevi desteğini benimle paylaşan, çok uzaklarda olsa da varlığı her zaman bana güç veren Mustafa Ümit ÖNER'e

Uzmanlık sürecimde dostluğuyla her zaman destek olan ve beni yalnız bırakmayan kıymetli arkadaşım Sümeyra AKKOÇ'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında Evre 3-Derece B periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden elde edilen diş eti oluğu sıvısı (DOS) ve peri-implant oluğu sıvısı (PİOS) örneklerinde, kompleman sisteminin klasik, alternatif ve lektin bağımlı yollarının aktivasyonunu gösteren biyobelirteçlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya periodontal olarak sağlıklı 15 birey, Evre 3-Derece B periodontitis teşhisi almış 15 hasta ve peri-implantitis teşhisi almış 15 hasta olmak üzere toplamda 3 grupta yer alan 45 birey dahil edildi. Hastaların Faz-1 tedavileri öncesinde DOS ve PİOS örnekleri alındı. Örnekler ELISA (Enzime Bağlı İmmünosorban Deneyi) yöntemi ile incelendi. Bütün gruplarda DOS ve PİOS örneklerinde klasik yolak aktivasyonunu tespit etmek için C1q, lektin bağımlı yolak aktivasyonunu tespit etmek için MBL (Mannan Bağlayıcı Lektin) ve MASP-1(Mannan Bağlayıcı Lektin İlişkili Serin Proteaz) proteinleri ve alternatif yolak aktivasyonunu tespit etmek için CFB (Kompleman Faktör B) proteinleri seviyeleri ve bunlara ek olarak kompleman sisteminin bütün yollarında görev alan C3C (Kompleman Faktör 3 Konvertaz), C3a, C5C (Kompleman Faktör 5 Konvertaz) ve C5b-9 proteinleri seviyeleri incelendi.

Bulgular: Gruplar arası cinsiyette istatistiksel olarak fark olmamakla birlikte yaşta istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır. Bukkal ve palatinal/lingual klinik ataşman seviyesi (KAS), gingival indeks (Gİ) ve plak indeksi (Pİ) değerlendirildiğinde; sağlıklı grup, Evre 3-Derece B periodontitis ve peri-implantitis grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). C1q, MBL, CFB ve C3C seviyeleri değerlendirildiğinde, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. MASP-1 ve C5b-9 seviyeleri; sağlıklı grupta, Evre 3-Derece B periodontitis ve peri-implantitis

gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$). C3a seviyeleri; peri-implantitis grubunda, sağlıklı ve Evre 3-Derece B periodontitis gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$). C5C seviyeleri; peri-implantitis grubunda, sağlıklı ve Evre 3-Derece B periodontitis gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sonuçlar: Bu çalışmada periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden elde edilen DOS ve PİOS örneklerinde kompleman sistemi aktivasyonunda herhangi bir yolağın baskınlığı görülmemiştir. Bununla birlikte kompleman sisteminin periodontitis ve peri-implantitis patogeneğinde önemli bir rolü olduğu düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Kompleman, DOS, PİOS, ELISA

Ash KESKİN, Uzmanlık Tezi

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Tokat, 2021

ABSTRACT

Objective: In this thesis study, it was aimed to investigate biomarkers showing the activation of classical, alternative and lectin-dependent pathways of the complement system in gingival crevicular fluid (GCF) and peri-implant crevicular (PICF) samples obtained from individuals with stage 3-degree B periodontitis and peri-implantitis.

Method: A total of 45 individuals in 3 groups, including 15 periodontally healthy individuals, 15 patients diagnosed with Stage 3-Grade B periodontitis and 15 patients diagnosed with peri-implantitis were included in this study. GCF and PICF samples were collected before Phase-1 treatments of the patients. The samples were analyzed by ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) method. C1q protein to evaluate classical pathway activation, MBL and MASP-1 proteins to evaluate lectin-dependent pathway activation and CFB protein to evaluate alternative pathway activation in GCF and PICF samples in all groups. In addition, C3C, C3a, C5C and C5b-9 proteins were evaluated which are involved in all pathways of the complement system.

Results: Although there is no statistically difference between the groups in terms of gender, there is a statistically significant difference in age. When buccal and palatinal / lingual clinical attachment level (CAL), gingival index (GI) and plaque index (PI) were evaluated; the healthy group was lower than the Stage 3-Grade B periodontitis and peri-implantitis group ($p < 0.05$). When C1q, MBL, CFB and C3C levels were evaluated, no statistically significant difference was found between the groups. When MASP-1 and C5b-9 levels were evaluated; they were statistically lower in the healthy group than the Stage 3-grade B periodontitis and peri-implantitis groups ($p < 0.05$). When C3a levels are evaluated; the peri-implantitis group was significantly lower than the healthy and Stage 3-grade B periodontitis groups ($p < 0.05$). When C5C levels were evaluated, the peri-

implantitis group was found to be significantly higher than the healthy and Stage 3-grade B periodontitis groups ($p<0.05$).

Conclusion: In this study, no dominance of any pathway was observed in the activation of the complement system in GCF and PICF samples collected from individuals with periodontitis and peri-implantitis. However, it can be thought that the complement system have an important role in the pathogenesis of periodontitis and peri-implantitis.

Keywords: Complement, GCF, PICF, ELISA

Aslı KESKİN, Thesis

Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Dentistry

Tokat, 2021

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ENFLAMASYON, PERİODONSIYUM VE PERİODONTAL ENFLAMASYON	4
2.1.1. Enflamasyon.....	4
2.1.2. Periodonsiyum ve Periodontal Enflamasyon	8
2.2. PERİODONTAL HASTALIKLAR.....	13
2.3. PERİODONTAL HASTALIKLARIN SINIFLANDIRILMASI.....	15
2.4. DENTAL İMPLANTLAR.....	22
2.5. PERİ-İMLANTİTİS.....	26
2.6. KOMPLEMAN SİSTEMİ	30
2.6.1. Klasik Yol.....	33
2.6.2. Lektin Yolu.....	34
2.6.3. Alternatif Yol	35
2.7. DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUĞU SIVISI	37
2.7.1. Diş Eti Oluğu Sıvısı.....	37
2.7.2. Peri – İmplant Oluğu Sıvısı	40
2.7.3. DOS ve PİOS Toplama Yöntemleri	41
2.8. ELISA TESTİ.....	43
2.8.1. ELISA Türleri.....	44
2.9. HİPOTEZ VE AMAÇ.....	47
3. MATERYAL VE METOT	49
3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ.....	49
3.2. DAHİL EDİLME KRİTERLERİ.....	49
3.3. PERİODONTAL SAĞLIK, PERİODONTİTİS VE PERİ-İMLANTİTİS İÇİN TEŞHİS KRİTERLERİ	50
3.3.1. Klinik Periodontal Değerlendirmeler:	51
3.3.2. Klinik Ataşman Kaybı.....	51
3.3.3. Plak İndeksi (PI):.....	51
3.3.4. Gingival İndeks (GI):	52
3.4. DOS VE PİOS ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI	53
3.5. ELİSA ANALİZLERİ.....	53

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	54
4. BULGULAR.....	56
4.1. KLİNİK VERİLER	57
4.2. ELİSA VERİLERİ	58
4.2.1. Klasik Yolak Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri.....	58
4.2.2. Lektin Yolağı Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri.....	62
4.2.3. Alternatif Yolak Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri.....	64
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
7. KAYNAKLAR	83
EK-1	115
EK-2	116

TABLOLAR

Tablo 2.1: Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılmasının Tarihsel Özeti (Carcuac ve Berglundh, 2014)	16
Tablo 2.2: Periodontal Ve Peri-İmplant Hastalık Ve Sağlık Durumlarının Sınıflandırılması (Caton ve ark., 2018)	18
Tablo 2.3: 2017 Yılında Yapılan Sınıflamaya Göre Periodontitis Evreleri (Stage) (Caton ve ark., 2018)	20
Tablo 2.4: 2017 Yılında Yapılan Sınıflamaya Göre Periodontitis Dereceleri (Stage) (Caton ve ark., 2018).....	21
Tablo 4.1: Çalışma Gruplarında Demografik Veriler ve Klinik Ölçümler	57
Tablo 4.2: Çalışma Gruplarında Klasik Yolak Biyobelirteçleri ELISA Verileri	58
Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Lektin Yolağı Biyobelirteçleri ELISA Verileri	62
Tablo 4.4: Çalışma Gruplarında Alternatif Yolak Biyobelirteçleri ELISA Verileri	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Enflamasyonun Kimyasal Mediyatörleri.	6
Şekil 2.2: Sağlıklı Periodonsiyumun Şematik Olarak Gösterimi.	9
Şekil 2.3: Gingivitis Ve Periodontitisin Şematik Olarak Karşılaştırılması	14
Şekil 2.4: Sağlıklı Periodonsiyum ve Peri-implant Dokular	23
Şekil 2.5: İmplant Çevresinde Görülen Artmış Sondalama Derinliği ve Süpürasyon Varlığı, İlgili Bölgenin Cerrahi Olarak Açılması ve Radyografik Görüntüsü	27
Şekil 2.6: Enflamatuvar Bağ Dokusunun Diş Ve İmplant Çevresinde, Ligatürün Çıkarılmasından Sonra Alveol Kret Etrafında Yayılımı.....	28
Şekil 2.7: Kronik Periodontitisli 40 İnsan Biyopsisi Ve Peri-İmplantitisli 40 İnsan Biyopsisinin Enflamatuvar Bağ Doku İnfiltrasyonu Arasındaki Fark.....	29
Şekil 2.8: Kompleman Sisteminin Elemanları Ve Birbirleriyle Olan Etkileşimleri.	33
Şekil 2.9: Biyofilm Varlığında DOS'un Epitel Hücrelerden Akışını Gösteren Şematik Figür.....	39
Şekil 2.10: Kağıt Bantın Diş Eti Oluğuna Yerleştirilmesi.....	42
Şekil 2.11: Sandviç ELISA.....	46
Şekil 3.1: Sandviç ELISA Sırasında Standart Solüsyonların Hazırlanması	54
Şekil 4.1: Çalışmanın Görsel Özeti	56
Şekil 4.3: C1q ELISA Seviyeleri.....	59
Şekil 4.4: C3C ELISA Seviyeleri	59
Şekil 4.5: C5C ELISA Seviyeleri	60
Şekil 4.6: C3a ELISA Seviyeleri.....	60

Şekil 4.7: C5b-9 ELISA Seviyeleri	61
Şekil 4.8: MBL ELISA Seviyeleri.....	63
Şekil 4.9: MASP-1 ELISA Seviyeleri	63
Şekil 4.10: CFB ELISA Seviyeleri.....	65



KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

%: Yüzde

°: Derece

°C: Derece Celsius

µg: Mikrogram

C3C: Kompleman Faktör 3 Konvertaz

C5C: Komleman Faktör 5 Konvertaz

CFB: Kompleman Faktör B

DOS: Diş Eti Oluğu Sıvısı

ELISA: Enzime Bağlı İmmünosorban Deneyi

g: Gravite

IgG: İmmüoglobülin G

IgM: İmmüoglobülin M

KAK: Klinik Ataşman Kaybı

L: Litre

MAK: Membran Atak Kompleksi

MASP: Mannoza İlişkili Serin Proteinaz

MBL: Mannoza Bağlayıcı Lektin

mg: Miligram

mL: Mililitre

mm: Milimetre

ng: Nanogram

P. gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*

PDL: Periodontal Ligament

pg: Pikogram

PIOS: Peri-İmplant Oluğu Sıvısı

TLR: Toll Benzeri Reseptör

TNF-a: Tümör Nekroz Faktörü Alfa



1. GİRİŞ

Periodonsiyum; diş eti, periodontal ligament (PDL), sement ve alveol kemikten oluşan organize bir yapıdır. Periodonsiyum, dişlerin alveol kemiğe atake olmasını sağlar ve ağız ortamı ile altta yatan yapılar arasında bir bariyer görevi yapar (Schroeder, 2012).

Periodontal dokular, sürekli bakteriyel bir atağa maruz kalan dokulardır. Oral hijyen etkinliği sağlandığında bu bakteriyel atak, herhangi bir enflamasyona sebep olmazken oral hijyen etkinliği sağlanamadığı zaman dental biyofilm oluşmaya başlar. Plağa bağlı gingivitis, diş eti marjinde ve subgingival bölgede bakteri plağı birikiminden kaynaklanan, diş eti dokusunun enflamatuvar bir tepkisidir (Murakami ve ark., 2018). Eğer bu patolojik süreç devam ederse, enflamatuvar reaksiyonlar periodonsiyumun daha derin dokularına ilerler ve alveol kemik de yıkım sürecinden etkilenir. Periodontal ataşman kaybıyla sonuçlanan, mikrobiyal ilişkili ve konak aracılı enflamasyon ile karakterize olan bu hastalık ise periodontitis olarak adlandırılır (Tonetti ve ark., 2018). İmplant çevresinde nazık sondalamayla kanama, eritem, ödem ve/veya süpürasyon varlığı ise peri-implant mukozitisin önemli klinik bulgularıdır (Tord Berglundh ve ark., 2018). Peri-implant mukozada enflamasyon ve ardından ilerleyen destekleyici kemik kaybı ile karakterize, plakla ilişkili patolojik durum ise peri-implantitis olarak tanımlanmaktadır (Tord Berglundh ve ark., 2018).

Periodontal durumu tanımlayan biyobelirteçler hakkında bilgi sahibi olmak için, diş eti oluşu sıvısı (DOS) analizlerinden yararlanmak oldukça sık başvurulmuş bir yöntemdir. DOS, diş eti oluşunda veya dişlerin etrafındaki periodontal ceplerde bulunan, kan plazması kökenli, bulunduğu bölgenin biyokimyasal profilini yansıtan, eksüdatif özellikli bir sıvıdır (Ataoglu ve ark., 2002). DOS, kan serumu kaynaklı bir sıvı

olduğundan, lökositler, antikorlar, enzimler, sitokinler ve kompleman sistemi biyobelirteçleri de dahil olmak üzere enflamatuvar olaylarla ilgili çeşitli bileşenleri içerir (Beikler ve ark., 2008; Bertolini ve ark., 1986).

Peri-implant oluğu sıvısı (PİOS), DOS'un dental implantlar çevresindeki karşılığıdır. PİOS, implant çevresindeki enflamatuvar eksüda olduğundan, akış hızındaki ve içeriğindeki değişiklikler peri-implant dokularının durumunu gösteren bir belirteç olarak işlev görebilmektedir (Heitz-Mayfield, 2008). PİOS analizleri, kolayca fark edilemeyen erken metabolik ve biyokimyasal değişikliklerin tespit edilmesinde, aynı zamanda osseointegrasyonun ve protetik yüklemde kemik yanıtının izlenmesinde ve böylece implantların uzun vadeli başarısının artırılmasında yardımcı olabilir (Kaklamanos ve Tsalikis, 2002).

Kompleman sistemi, konakçı savunması ve enflamasyonunda önemli bir rol oynayan, sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir protein ağından oluşur (Sarma ve Ward, 2011). Klasik serum proteinlerine (C1-9) ek olarak, ağ, örüntü tanıma molekülleri, konvertazlar ve diğer proteazlar, reseptörler ve düzenleyiciler dahil olmak üzere toplamda yaklaşık 50 protein içerir (Hajishengallis ve ark., 2019). Kompleman sistemi, bağışıklığı ve enflamasyonu aktive eden, artıran ve düzenleyen, çözünür, hücre yüzeyiyle ilişkili ve hücre içi moleküllerin etkileşimli bir ağını temsil eder (Hajishengallis, Reis, ve ark., 2017; Ricklin ve ark., 2010).

Kompleman sistemi kaynaklı doku patogenezinde yer alan mekanizmaların derinlemesine anlaşılması, enflamatuvar süreçler benzer şekilde başlamasına rağmen periodontitis ve peri-implantitis patogenezindeki farklılığın açıklanmasını, aynı zamanda periodontitis ve peri-implantitis için yeni tedavi konseptlerinin geliştirilmesini kolaylaştırabilir. Periodontitis patogenezinde kompleman sisteminin rolü üzerine yapılan

alışmalar, peri-implantitis tedavisinin yetersiz noktalarının anlaşılmasına da katkıda bulunabilir (Damgaard ve ark., 2015).

Bu tez çalışmasında sağlıklı, Evre 3-Derece B periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden elde edilen DOS ve PİOS örneklerinde, kompleman sisteminin klasik, alternatif ve lektin bağımlı yolaklarının aktivasyonunun tespiti amacıyla C1q, MBL, MASP-1, CFB, C3C, C5C, C3a ve C5b-9 (MAC) seviyeleri ELISA (Enzime Bağlı İmmünosorban Deneyi) yöntemiyle incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. ENFLAMASYON, PERİODONSİYUM VE PERİODONTAL ENFLAMASYON

2.1.1. Enflamasyon

Enflamasyon, ısı, kimyasal maddeler veya bakteriyel enfeksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli yaralanmalara ve doku hasarlarına karşı damarsal bağ dokusunun verdiği her türlü hücresel, humoral ve vasküler bir fizyolojik yanıttır (Ferrero-Miliani ve ark., 2007). Bir yandan zararlı etkenler ortadan kaldırılırken bir yandan da onarımın sağlandığı, dinamik bir süreç olan enflamasyonun beş temel bulgusu: ısı artışı, kızarıklık, ağrı, ödem ve fonksiyon kaybıdır (Tracy ve Sciences, 2006). Enflamasyon, zararlı etkene yanıt sürecine bağlı olarak üç türe ayrılabilir; yaralanmadan hemen sonra ortaya çıkan ve birkaç gün süren akut enflamasyon, akut enflamasyonun geçmediği aylar hatta yıllar sürebilen kronik enflamasyon ve 2 ile 6 hafta arasında süren, akutтан kronik hale dönüşen subakut enflamasyon (Pahwa ve ark., 2020).

Enflamatuvar süreç damarsal değişikliklerle başlar. Kısa süreli vazokonstriksiyonun ardından hücresel elemanların geçişi için vazodilatasyon gözlenir. Vazodilatasyon, vasküler geçirgenlikte artışa sebep olur, buna bağlı olarak da kan akımı yavaşlar (staz)(Warren ve Ward, 2001). Mikrobiyal yanıt, akut enflamasyon, sitokinler ve kemokinlerin üretimi yoluyla enfeksiyon bölgelerine gerekli hücrelerin göçü ile devam eder (Warren ve Ward, 2001).

Enflamasyonun akut aşaması, ağırlıklı olarak nötrofil ve makrofajların rol oynadığı, hızlı ve kısa süreli bir yanıttır (Hannoodde ve Nasuruddin, 2020). Bu durumun

nötrofillerin kemotaksise olan hassasiyetinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Petri ve Sanz, 2018). Nötrofillerin enflamasyonun başlangıcında farklı görevleri vardır. Nötrofiller; emigrasyon (nötrofillerin damar çeperi içinde merkezden periferine doğru göçü), marginasyon (nötrofillerin merkezden uzaklaşarak damar duvarına dizilmesi), adherens (nötrofillerin damar endoteli ile yüzey molekülleri aracılığıyla etkileşime girmesi) ve diapedez (nötrofillerin psödopodlar aracılığıyla ve damar endotelini enzimatik olarak rezorbe ederek damar dışına çıkması) aşamalarından sonra akut enflamasyonu başlatır (Gane ve Stockley, 2012). Nötrofilik proteazlar hücre zarını ve hücre zarı proteinlerini yok ederler ve pıhtılaşma, kinin ve kompleman yollarının proteolitik aktivasyonundan sorumludur (Riede, 2004).

Akut enflamasyonun devam etmesiyle aşağıdaki 3 durum gözlemlenebilir (Mutsaers ve ark., 1997):

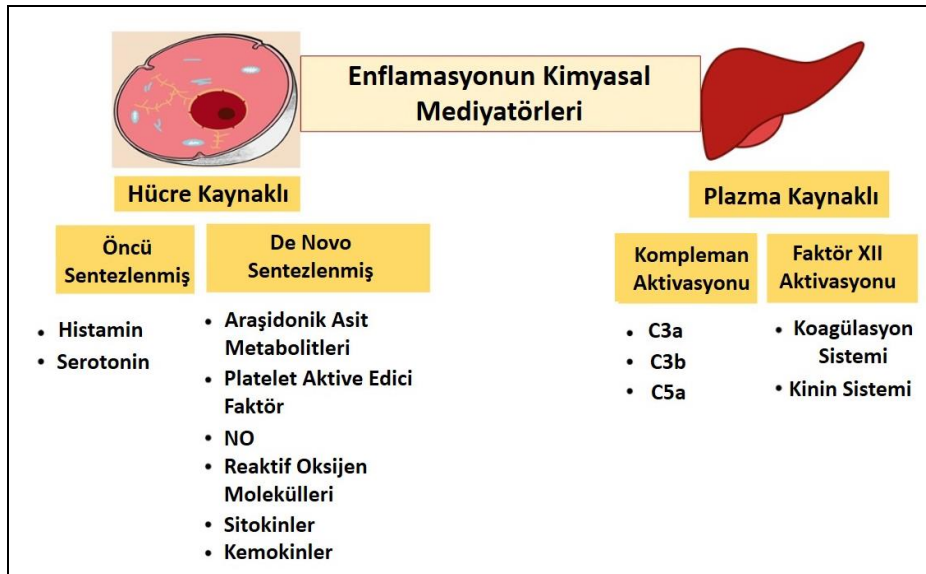
1-) Çözülme (resolution): Enflamasyonun dokuda yol açtığı minimal hasar kısa sürede düzelir. Akut enflamasyon dokularda kalıcı bir hasara neden olmaz. Histolojik açıdan ve fonksiyon bakımından dokuda bir kayıp oluşmaz.

2-) Skarlaşma veya fibrozis: Rejenerasyon yeteneği sınırlı dokularda, enflamasyon sonrasında doku orijinal elemanlarıyla değil, bağ doku elemanlarının gelişimiyle iyileşir.

3-) Kronik enflamasyon: Doku hasarları veya yaralanma çözülmezse, enflamatuvar yanıt kronikleşir. Kronik enflamasyon doku yıkım ve yapımının birlikte görüldüğü bir süreç olarak kabul edilebilir ve bu süreçte baskın olarak rol alan lenfosit ve makrofajlarla birlikte mast hücreleri, plazma hücreleri ve eozinofil lökositler görev alır (Pahwa ve ark., 2020). Ayrıca kronik enflamasyonda damar proliferasyonu ve fibrozis gözlenir (Jackson ve ark., 1997).

Enflamasyona karşı konağın verdiği bağışıklık yanıtı, sitokin ve kemokin sinyalleri tarafından düzenlenir. Sitokinler, vücuttaki çekirdekli hücreler tarafından üretilen, enflamasyonun başlangıcına ve daha ileri aşamalarına dahil olan düzenleyici proteinlerdir (Thomson ve Lotze, 2003). Sitokinler, epitel hücreleri ve fibroblastlar gibi stromal hücreler, enflamasyonun akut ve erken kronik fazlarında görülen fagositler (nötrofiller ve makrofajlar) ile yerleşmiş ve ilerlemiş lezyonlarda görülen immün hücreler (lenfositler) tarafından üretilir (Cekici ve ark., 2014).

Kemokinler, bağışıklık ve enflamatuvar reaksiyonlarda çok önemli bir role sahip küçük proteinlerden oluşan bir süper ailedir (Mantovani, 1999; Rollins, 1997). Kemokinlerin çeşitli sistemler üzerinde birçok rolü olduğu bilinmektedir (Zlotnik ve Yoshie, 2000). Mikroorganizmalar ve yabancı maddelerin tanınmasından sonra, fagositik hücrelerin ortama göçü için kemokinler salgılanır (Hughes ve Nibbs, 2018). Bazı enflamatuvar kemokinler, bağışıklık sistemi aktivasyonunu başlatmak veya yara iyileşmesini desteklemek için hücreleri uyarır (Zlotnik ve Yoshie, 2000).



Şekil 2.1: Enflamasyonun Kimyasal Mediyatörleri

<http://ilovepathology.com/chemical-mediators-of-inflammation-histamine-serotonin/> sitesinden Türkçeleştirilmiştir.

Enflamasyonda, vücutta birçok farklı sistem aktive olur ve bu sistemler birbirini etkileyerek enflamatuvar reaksiyonlar dizisini oluşturur (Chen ve ark., 2018). Nöropeptitler, substance P, kalsitonin gen-ilişkili peptit (CGRP), vazoaaktif intestinal peptit (VIP), Toll-benzeri reseptörler (TLRs), antijen sunumu ve kazanılmış bağışıklık sisteminin aktivasyonu, sitokin-kemokin etkileşimleri, lipid mediyatörler ve kompleman sistemi bu sürece katılan temel mediyatör ve sistemlerdendir (Chiu ve ark., 2012; Fryer ve ark., 2006; Taylor ve ark., 1998).

Vücutta enflamatuvar sürece katkı sağlayan en önemli sistemlerden birisi de kompleman sistemidir (Taylor ve ark., 1998). Kompleman sistemi, farklı konakçı immün hücreleri (monositleri, lenfositleri ve nötrofilleri) etkileyen anafilotoksinler (C3a, C4a ve C5a) de dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif proteinler üretir (Wetsel ve ark., 2000). Kompleman sistemi aktivasyonu, bakterilerin membranlarında büyük porlar oluşturan kompleksler yoluyla, immün hücreler tarafından hızlı bir şekilde temizlenmesine ve doğrudan öldürülmesine neden olur (Heesterbeek ve ark., 2018). Konakçıya, enfeksiyona veya yaralanmaya verilen yanıtın daha iyi koordinasyonu için diğer sistemlerle bir etkileşim ağı içerir (Amara ve ark., 2008; Lukácsi ve ark., 2020; Yoo ve Lee, 2020). Bu bağlantılar, TLR'lerle çapraz iletişim yoluyla doğuştan gelen bağışıklığı koordine eder (Darveau, 2009) ve lokal pıhtılaşmayı güçlendirerek istilacı bakterilerin yayılmasına karşı bir bariyer sağlar (Markiewski ve ark., 2007), aynı zamanda kemik iliğinden hematopoetik kök/progenitor hücrelerin mobilizasyonu yoluyla bağışıklık sistemini yeniler (Jalili ve ark., 2010; Lee ve ark., 2010). Kompleman sisteminin çeşitli mediyatörleri T hücre alt gruplarının aktivasyonu ve farklılaşmasını da etkiler (Dunkelberger ve Song, 2010; A. Klos ve ark., 2009; Longhi ve ark., 2006; C. Wagner ve ark., 2006) Bununla birlikte, kompleman aktiviteleri, konağın patojenlere karşı

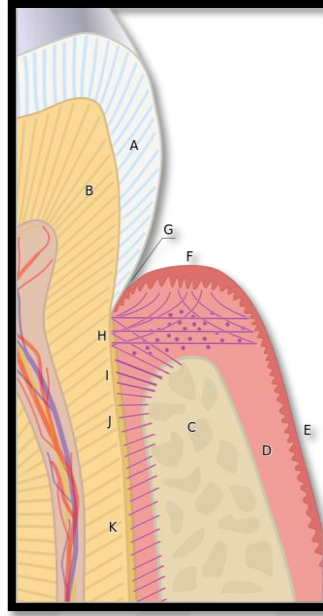
korunmasında başarısızlığa neden olabilir, enflamatuvar doku hasarını başlatabilir veya arttırabilir (Lambris ve ark., 2008; Pettigrew ve ark., 2009; Ricklin ve Lambris, 2007; Ward, 2004; Zipfel ve Skerka, 2009).

2.1.2. Periodonsiyum ve Periodontal Enflamasyon

Periodonsiyum; dişleri alveol kemiğe bağlayan ve ağız boşluğunun yüzey bütünlüğünü sağlayan dokulardan oluşur. Sağlıklı periodonsiyum dişlerin çiğneme, konuşma ve estetik işlevlerini sürdürmesine yardımcı olmaktadır. Periodonsiyum dört ana bileşenden oluşur:

- Diş eti
- Periodontal ligament
- Sement
- Alveol kemik

Bu periodontal bileşenlerin her biri konumu, doku mimarisi ve biyokimyasal bileşimi bakımından farklıdır, ancak bu bileşenlerin tümü tek bir birim olarak birlikte işlev görür.



Şekil 2.2: Sağlıklı Periodonsiyumun Şematik Olarak Gösterimi. A: Mine, B: Dentin, C: Alveol Kemik, D: Diş eti, E: Oral Epitel, F: Serbest Diş eti Marjini, G: Diş eti Oluğu, H: Diş eti Fibrilleri, I: Periodontal Ligamentin Alveol Kret Fibrilleri, J: Periodontal Ligamentin Horizontal Fibrilleri, K: Periodontal Ligamentin Oblik Fibriller. https://tr.wikipedia.org/wiki/Periodontal_ligament Sitesinden Alınmıştır.

Periodonsiyumu etkileyen iki yaygın hastalık vardır. İlki diş eti bağ dokusunun orjinal seviyesinde kaldığı, diş etinin enflamasyonu olarak tanımlanan gingivitistir. Hastalık, gingival epitel ve bağ dokusunda sınırlıdır. İkincisi olan periodontitis ise ilerleyici ataşman kaybı ve kemik rezorpsiyonunun görüldüğü enflamatuvar hastalıktır. Her iki hastalık da dentogingival sınırdaki bakteri birikimi ile ilişkilidir. Periodontal dokulardaki ilk enflamasyon, patolojiden ziyade mikrobiyal aktiviteye karşı fizyolojik bir savunma mekanizması olarak düşünülmelidir. Bu aşamadaki hastalığın klinik bulguları, genellikle supragingival ve subgingival plak oluşumuyla birlikte buna eşlik eden diş taşı oluşumu ve diş eti enflamasyonunu içermektedir. Periodontitiste mikrobiyal dental plak, biyofilm ve konak bağışıklık sistemi arasındaki dengenin bozulması; pro-enflamatuvar sitokinlerin salınımının artması, ardından bağ dokusu ve alveol kemik yıkımı ile sonuçlanır (Okada ve Murakami, 1998). Plak ortadan kaldırılırsa, homeostazla geri dönüş

sağlanır; bakteriyel atak devam ederse, enflamasyon kronik enflamasyona dönüşür ve doku yıkımı başlar.

Periodontitis, ilerlemiş enflamasyon, kemik ve ataşman kaybı ile karakterizedir. Hastalığın patofizyolojisi; marjinal periodontal ligament liflerinin yıkımına sebep olan konak kaynaklı proteinazların aktivasyonu ve yıkımın sonucunda birleşim epitelinin apikale göçü ve bakteriyel biyofilmin apikale yayılması ile karakterizedir (Tonetti ve ark., 2018).

Periodontal dokulardaki bakteriler, makrofajlar ve nötrofiller gibi fagositoz yapan hücrelerin yüzeylerinde bulunan yüzey reseptörleri aracılığıyla tanınır (Zadeh ve ark., 1999). TLR de dâhil olmak üzere bu reseptörler, konakçı ve bakteriler arasında ayrım yapar (Rietschel ve Brade, 1992). Mikroorganizmaların tanınmasından ve tanıtilmesinden sonra, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a), interlökin-1 beta ve interlökin-6; periodontal hastalık patogeneğinde doğal bağışıklıkta ilk ortaya çıkan immün yanıt sitokinleridir (Garlet, 2010).

Periodontal enflamasyonu daha iyi anlamak için, enflamasyonlu periodontal dokuların klinik olarak bilinmesinin yanı sıra histolojik açıdan da bilinmesi önemlidir. Düşük dereceli enflamatuvar yanıt, klinik düzeyde makroskopik olarak tespit edilemez, ancak bakteriyel ataklarla mücadele etmek, bakterilerin ve ürünlerinin dokulara sızmasını ve doku hasarına neden olmasını önlemek için önemli bir koruyucu mekanizmadır.

Page ve Schroeder, gingival dokularda meydana gelen histolojik değişiklikleri başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş gingival lezyonlar olarak tanımlamıştır (Page ve Schroeder, 1976). Geniş anlamda, başlangıç lezyonu klinik olarak sağlıklı görünüme sahip ancak hafif bir enflamasyonun bulunduğu dokulara, erken lezyon klinik olarak belirgin gingivitisin erken evrelerine, yerleşmiş lezyon ise kronik gingivitise karşılık

gelir. İlerlemiş lezyonda ataşman kaybı ve kemik rezorpsiyonu gözlenir, bu durum periodontitise karşılık gelmektedir.

Başlangıç lezyonu, klinik olarak sağlıklı diş eti dokularına karşılık gelir. Plak içermeyen ve mikroskopik olarak belirgin bir enflamasyon bulunmayan bir yerde plak birikiminden itibaren 2 ila 4 gün içinde gelişir. Bakterilerin metabolik ürünleri, birleşim epiteli hücrelerini uyarak lokal kan damarlarının vazodilatasyonuna sebep olur. Lökositlerin, özellikle nötrofillerin, diş eti bağ dokusu boyunca, birleşim epiteline ve sulkusa nispeten az sayıda göçü gerçekleşir. Serum proteinlerinde artış (özellikle fibrin) gözlenir (Cekici ve ark., 2014; Fiorellini ve ark., 2006; Page ve Schroeder, 1976).

Erken lezyon, klinik olarak belirgin olan erken gingivitise karşılık gelir. Yaklaşık 1 hafta devam eden plak birikiminden sonra gelişir. Artmış vasküler geçirgenlik, vazodilatasyon ve DOS akışı görülür. Artan DOS akışı, bakteri ürünlerini seyreltme etkisine sahiptir, ayrıca yıkama etkisiyle bakterileri ve ürünlerini diş eti oluğundan uzaklaştırır. Bununla birlikte, bakteriyel biyofilmin doğası göz önüne alındığında, bu şekilde sadece planktonik (serbest yüzen) bakterilerin uzaklaştırılması muhtemeldir. Çok sayıda infiltrate lökosit (esas olarak nötrofil ve lenfositler) izlenir. Fibroblastların dejenerasyonu ve perivasküler kollajen yıkımı görülür. Birleşim epitelinde retepeg oluşumu gözlenir ve kompleman sistemi proteinleri aktive olur. Kanama, gingival enflamasyon gibi klinik belirtiler görülür (Cekici ve ark., 2014; Fiorellini ve ark., 2006; Page ve Schroeder, 1976).

Yerleşmiş lezyon, klinik olarak kronik gingivitise karşılık gelir ve doğuştan gelen bağışıklık yanıtından kazanılmış bağışıklık yanıtına geçiş dönemi olarak düşünülebilir. Yaklaşık 14-21 günde görülür. Bağ dokuda enflamatuvar hücrelerin birikmesi ve yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonu (yani plazma hücreleri, lenfositler ve nötrofiller) izlenir.

Çok sayıda nötrofil içeren sulkus epiteli oluşumu görülür ve plazma hücreleri tarafından domine edilir (Cekici ve ark., 2014; Fiorellini ve ark., 2006; Page ve Schroeder, 1976).

İlerlemiş lezyon, gingivitisten periodontitise geçişi işaret eder. Bağ dokusunda yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonu (özellikle plazma hücreleri) gözlenir. Bozulmamış epitel bariyerini korumak için birleşim epitelinin apikale göçü izlenir. Kolajen lif demetlerinde ve diş etinde ileri derecede yıkım vardır. Bununla birlikte lezyon apikale ilerledikçe transseptal lifler rejenere olmaya devam eder. Özellikle vasküler kanal bölgesinde alveol kemiğin osteoklastik rezorpsiyonu görülür (Cekici ve ark., 2014; Fiorellini ve ark., 2006; Page ve Schroeder, 1976).

Periodontal dokularda enflamasyonun çözülmemesi ve devam etmesi geri dönüşümsüz doku hasarına neden olur. Bu geri dönüşümsüz hasardan doğrudan etkilenen doku ise alveol kemiktir. Alveol kemik kaybı, periodontitisin önemli bir işaretidir ve kemik yıkımın önlenmesi periodontal hastalıkların tedavisinde önemli bir klinik sorundur. Konak hücreleri ve bakteriyel atak arasındaki dengenin bozulup disbiyozisin gelişmesiyle alveol kemik rezorpsiyonuna sebep olan sitokinler sentezlenir (Cavalla ve ark., 2018).

Temel kemik rezorpsiyon hücresi olan osteoklast, kritik sitokin makrofaj koloni uyarıcı faktörü, RANK ligandı ve osteoprotegerin regülasyonu altında monosit/makrofaj öncüllerinden farklılaşır (Hienz ve ark., 2015). TNF-a, interlökin-1 ve prostaglandin E2, periodontitiste enflamatuvar osteoliz için osteoklast aktivitesini teşvik eder (Hienz ve ark., 2015). RANKL ve osteoprotegerin, kemik remodelasyonunun kilit düzenleyicilerindendir, osteoklastların ve osteoklast öncüllerinin farklılaşmasına, kemiğin aktivasyonuna ve canlılığına doğrudan dahil olurlar (Cavalla ve ark., 2018).

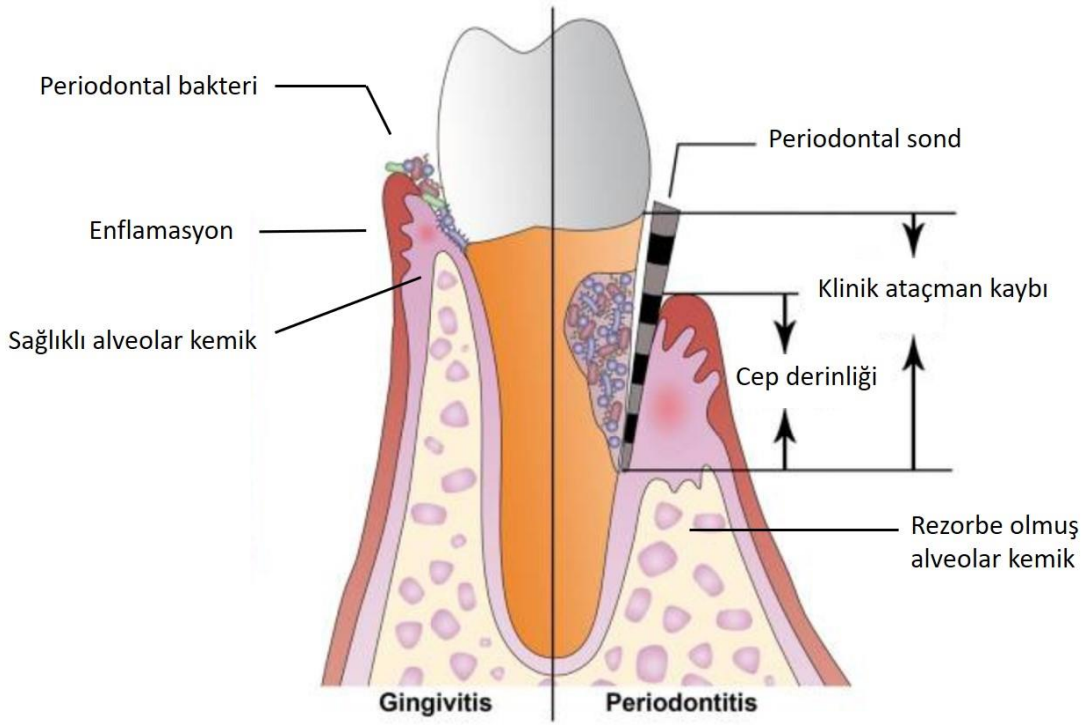
Kompleman sisteminin aktivasyonu veya baskılanması, periodontal enflamasyon ve patogeneizde önemli bir rol oynamaktadır. Kompleman sisteminin periodontal cepler içindeki bakteriler tarafından aktivasyonu, lokal doku tahribatını artırır, bu da biyofilm içindeki bakterilerin büyümesi için hem gerekli besini hem de alanı sağlar (Hajishengallis ve ark., 2013).

2.2. PERİODONTAL HASTALIKLAR

Gingivitis, dental plağın birikimi sonucu biyofilm ile konağın immün-enflamatuvar yanıtı arasındaki simbiyozisin kaybı ve yeni başlayan disbiyozis gelişimi nedeniyle meydana gelir (Murakami ve ark., 2018). Gingivitis, diş eti ile sınırlı olan, ataşman kaybı göstermeyen, ödem, hiperemi, kanama ile ilişkili klinik enflamatuvar belirtilerin varlığı ile karakterize edilmiştir (Baker, 2000; Trombelli ve ark., 2018). Eğer enflamatuvar süreç devam ederse yıkım diş etinin altındaki dokulara ilerleyerek alveol kemik ve periodontal ligamenti etkiler ve bu durum periodontitis olarak adlandırılır (Armitage, 1999; Lamont ve ark., 2018; Murakami ve ark., 2018; Trombelli ve ark., 2018). Gingivitis, periodontitisin gelişimi ve dişlerin etrafında ilerleyici ataşman kaybı için gerekli bir ön koşul olarak kabul edilir (Kinane ve ark., 2005).

Periodontitis, tüm dünya toplumlarında oldukça sık görülen ve patojen mikroorganizmalar, konak yanıtı, çevresel ve sistemik faktörler gibi birçok etkenin neden olduğu multifaktöriyel ve enfeksiyöz karakterde, kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Mikrobiyal dental plaktaki patojen mikroorganizmalar hastalığı başlatan en önemli etken olsa da, bu mikroorganizmalara karşı oluşan konak kaynaklı savunma mekanizması yanıtı, hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır (Jiao ve ark., 2014; Page ve Kornman, 1997; Socransky ve Haffajee, 2005)

Hastalığın klinik bulguları; KAK ve radyografik olarak değerlendirilen alveol kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve dişeti kanaması ile ortaya çıkan periodontal doku desteğinin kaybını içerir (Papapanou ve ark., 2018). Hastalıkta histopatolojik olarak; birleşim epitelinin mine-sement birleşiminin apikaline doğru göçü, periodontal cep oluşumu, diş destek dokularında hasar ve yıkım, birleşim ve cep epitelinde çok sayıda polimorfonükleer lökosit birikimi, makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu gözlenir (Kang ve ark., 2003).



Şekil 2.3: Gingivitis Ve Periodontitisin Şematik Olarak Karşılaştırılması (Ren ve Du, 2017)

Konakçı yanıtının periodontal enfeksiyonu ve hastalığın ilerlemesini kontrol edememesinin nedenleri iyi anlaşılmamıştır, ancak homeostazın periodontal patojenler lehine bozulması önemli bir faktör olabilir (Darveau, 2010). Tüm biyofilm topluluğunun

hayatta kalmasını ve virölansını arttırdığı düşünülen ve orkestra şefi olarak adlandırılan *P. Gingivalis*, periodontitiste kilit unsurlar içerir (Darveau, 2009; Hajishengallis, 2009).

Periodontal patojenlerin ürettiği endotoksine yanıt olarak, osteoklast kaynaklı bazı mediyatörler, alveol kemik ve periodontal ligament gibi destekleyici dokuların yıkımını hedefler (Giannobile, 2008). Bu agresif doku yıkımının ana itici güçleri matriks metaloproteinazlar, katepsinler ve diğer osteoklast kaynaklı enzimlerdir (Giannobile, 2008). Dental biyofilmde bulunan bakteriler periodontitisin başlaması için gerekli olsa da, bu durumu başlatan asıl etken konakçı enflamatuvar yanıttır ve bu durum periodontal doku hasarına neden olur (Gaffen ve Hajishengallis, 2008; Graves, 2008).

2.3. PERİODONTAL HASTALIKLARIN SINIFLANDIRILMASI

Periodontal hastalıkların daha iyi anlaşılabilmesi için günümüze kadar birçok sınıflandırma sistemi kullanılmıştır. Şu anki en güncel sınıflama olan 2017 yılı sınıflamasından önce kullanılan periodontal hastalık sınıflamaları ve sınıflamaların temel noktaları aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Tablo 2.1: Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılmasının Tarihsel Özeti (Carcuac ve Berglundh, 2014)

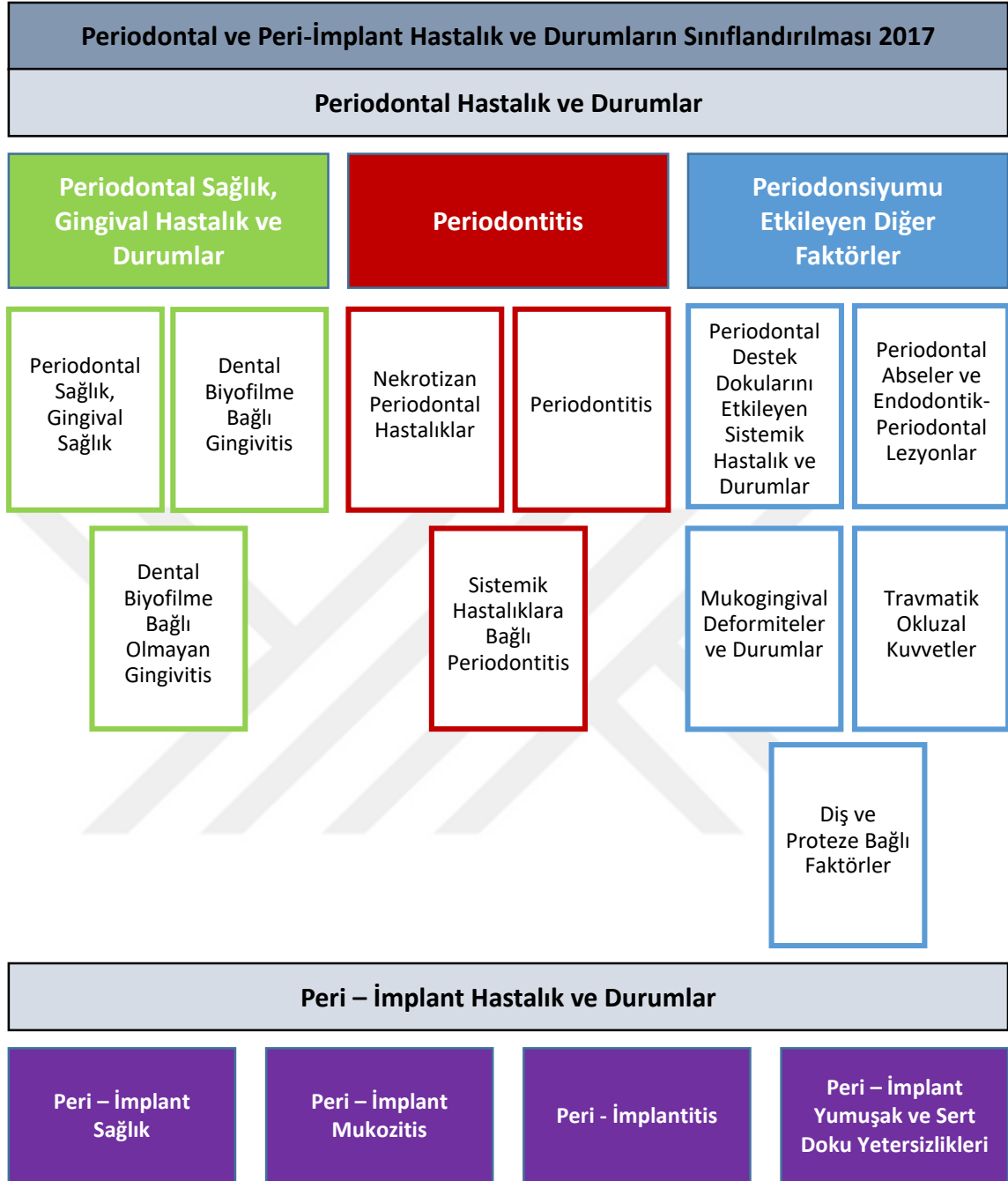
Yıl	Sorumlu kişi/kuruluş	Sınıflamanın Temel Noktaları
1806	Joseph Fox	Literatürdeki ilk "diş eti hastalığı" sınıflandırması
1942	Orban	Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından tanınan ilk sınıflandırma
1966	Amerikan Periodontoloji Akademisi	Kronik marjinal periodontitis
1977	Amerikan Periodontoloji Akademisi	Jüvenil Periodontitis
1986	Amerikan Periodontoloji Akademisi	Prepubertal periodontitis Lokalize jüvenil Generalize jüvenil Yetişkin periodontitis Nekrotizan ülseratif periodontitis Refraktör periodontitis
1989	Nyman ve Linde, <i>Textbook of Clinical Periodontology</i>	Periodontitis levis Periodontitis gravis
1989	Amerikan Periodontoloji Akademisi	Erken başlangıçlı periodontitis Sistemik hastalıklarla ilişkili periodontitis Refraktör periodontitis
1993	Avrupa Periodontoloji Çalıştayı	Erken başlangıçlı periodontitis Yetişkin periodontitis Nekrotizan ülseratif periodontitis
1999	Uluslararası Periodontoloji Sınıflandırma Çalıştayı	

2017 yılında gerçekleştirilen Dünya Periodontoloji Çalıştayı'nda yapılan sınıflamaya göre periodontal hastalık ve durumlar temel olarak 3 ana başlık altında incelenmiştir (Caton ve ark., 2018):

- Periodontal Sağlık, Gingival Hastalık ve Durumlar
- Periodontitis
- Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar

Peri-İmplant hastalık ve durumlar ise 4 ana başlık altında incelenmiştir (Caton ve ark., 2018):

- Peri-implant Sağlık
- Peri-implant Mukozitis
- Peri-implantitis
- Peri-implant Yumuşak ve Sert Doku Yetersizlikleri



Tablo 2.2: Periodontal Ve Peri-İmplant Hastalık Ve Sağlık Durumlarının Sınıflandırılması (Caton ve ark., 2018)

2017 sınıflamasına göre, periodontitisle ilgili olmayan sebeplerden dolayı (travmatik kökenli diş eti çekilmesi, dişin servikal bölgesine kadar uzanan çürük, üçüncü

moların malpozisyonu veya ekstraksiyonu ile ilişkili olarak ikinci moların distalinde ataşman kaybı varlığı, sulkustan drene olan endodontik lezyon, vertikal kök kırığı oluşumu) görülen ataşman kayıpları dışlandığında;

- İki veya daha fazla komşu olmayan dişte görülen interproksimal ataşman kaybı,
- 3 mm ve üzeri bukkal veya oral ataşman kaybı,
- 3 mm ve üzeri periodontal cep varlığı tespit edilirse,

Bu durum klinik bağlamda bir periodontitis vakası olarak kabul edilir (Caton ve ark., 2018).

2017 sınıflamasında periodontitisin evrelendirilmesi hastalığın şiddetine ve kompleksliğine göre yapılmıştır.

Periodontitisin evrelendirilmesinde şiddet; en çok kayıp görülen bölgedeki interdental klinik ataşman kaybını, radyografik kemik kaybını ve diş kaybını; komplekslik ise sondalama derinliğini, kemik kaybı paternini, furkasyon lezyonlarını, kalan diş sayısını, diş mobilitesini, kemik defektlerini ve çiğneme disfonksiyonlarını ifade etmektedir (Tonetti ve ark., 2018).

Periodontitisin derecelendirilmesinde ise hastalığın ilerleme hızı, beklenen tedavi yanıtı ve sistemik sağlık üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir (Tonetti ve ark., 2018).

Periodontitis Evreleri (Stage)

Tablo 2.3: 2017 Yılında Yapılan Sınıflamaya Göre Periodontitis Evreleri (Stage) (Caton ve ark., 2018)

Periodontitis Evreleri		Evre I Hafif Periodontitis	Evre II Orta Periodontitis	Evre III Şiddetli Periodontitis	Evre IV Şiddetli Periodontitis
Şiddet	En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥ 5mm
	Radyografik Kemik Kaybı	Koronal Üçlü (< %15)	Koronal Üçlü (%15 - %33)	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanım	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanım
	Diş kaybı	Periodontal kaynaklı diş kaybı yok		Periodontal kaynaklı diş kaybı ≤4 diş	Periodontal kaynaklı diş kaybı ≥4 diş
Kompleks Oluşu	Lokal (SD: Sondalama Derinliği)	Maks. SD ≤4 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Maks.SD ≤5 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Evre II'ye ek olarak: • SD ≥ 6mm • Vertikal kemik kaybı ≥ 3 mm • Furka tutulumu Sınıf II veya III • Orta kret defekti	Evre III'e ek olarak • Çiğneme disfonksiyonu • Sekonder okluzal travma (mobilité derecesi ≥ 2) • Şiddetli alveol kret kaybı • Azalmış dikey boyut • 20'den az kalmış diş (karşılıklı 10 diştan az)
Boyut ve dağılım	Tamamlayıcı olarak evreye ekle	Lokalize (< %30) Generalize Molar – keser dağılımlı			

Periodontitis Dereceleri (Grade)

Tablo 2.4: 2017 Yılında Yapılan Sınıflamaya Göre Periodontitis Dereceleri (Stage)
(Caton ve ark., 2018)

Periodontitis Derecesi			Derece A: Yavaş Hızda İlerleme	Derece B: Orta Hızda İlerleme	Derece C: Hızlı İlerleme
Primer Kriter	Direkt İlerleme Kanıtı	Longitudinal data (radyolojik kemik kaybı veya klinik ataşman kaybı)	Son 5 yıl içinde kayıp yok	Son 5 yıl içinde < 2mm kayıp	Son 5 yıl içinde ≥ 2 mm kayıp
	İndirek Progresyon Kanıtı	% Kemik Kaybı / Yaş	< 0.25	0.25 - 1	> 1
		Fenotip	Fazla biyofim birikimine rağmen düşük düzeyde yıkım	Biyofilm miktarıyla orantılı yıkım	Mevcut biyofilme göre daha fazla yıkım: Hızlı progresyon ve/veya erken başlangıçlı hastalık dönemlerini düşündüren spesifik klinik modeller (Örn; molar-keser paterni, standart tedaviye beklenen yanıtın olmaması)
Dereceyi Modifiye Ediciler	Risk Faktörleri	Sigara	-	<10 sigara/gün	≥10 sigara/gün
		Diyabet	-	HbA1c<7	HbA1c≥7
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	Enflamatuvar Yük	Yüksek CRP Hassasiyeti (hsCRP)	< 1 mg/L	1-3 mg/L	> 3 mg/L

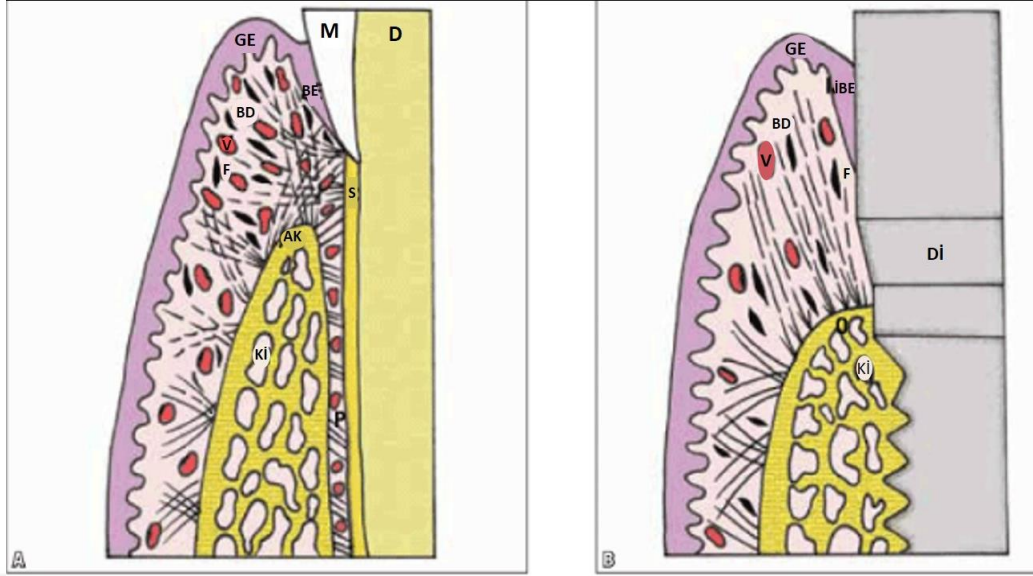
2.4. DENTAL İMPLANTLAR

Dental implantlar alveol kemiğine yerleştirilen, eksik dişlerin protetik tedavisini kolaylaştırmak için geliştirilmiş, genellikle titanyum alaşımından yapılmış, yapay diş kökü fonksiyonu gören silindirik veya konik şekilli vidalardır (Carl Misch, 2004). Dental implantlar, hastalara estetik, çiğneme, gülümseme ve konuşma fonksiyonlarını geri kazanmada yardımcı olmaktadır.

İmplant stabilitesi, implantların yüklenebilmesi ve uzun dönem başarısı için implantın osseointegrasyonu şarttır. Osseointegrasyon, organize, canlı kemik dokusu ile yük taşıyan bir implant yüzeyi arasında yumuşak doku olmaksızın, doğrudan olan yapısal ve işlevsel bağlantı olarak tanımlanabilir (Brånemark ve Chien, 2005). Klinik olarak osseointegrasyon, kemiğe yerleştirilmiş bir implantın oklüzal kuvvetlere dayanma kabiliyetine sahip asemptomatik rijit fiksasyonu olarak tanımlanabilir (Zarb ve Albrektsson, 1991).

Dental implant uygulamalarının başarısı implantın primer osseointegrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. İmplant yüzey özelliği de iyileşme sürecini etkileyen faktörlerden bir diğeridir. Klinik performansı arttırmak için pek çok yüzey modifikasyonu geliştirilmiştir ve yeni yüzeyler üzerinde çalışılmaktadır. Günümüze kadar geliştirilen implant yüzeyleri arasında tornalanmış, asitle pürüzlendirilmiş, oksitlenmiş, plazma spreyi uygulanmış, hidroksiapatitle kaplanmış implantlar ve bunların kombinasyonları sayılabilir (Yeo, 2014).

İmplant çevresindeki bölgede sağlıklı bir yumuşak doku oluşumu uzun dönem başarı için gerekli diğer bir faktördür. İmplant - yumuşak doku arayüzü, diş- periodontal ligament ve alveol kemik arayüzü çarpıcı benzerlikler sunmasına rağmen, bazı farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: A’da Normal Periodonsiyum, Alveol Kemikten(AK) Semente (S) Uzanan Kollajen Fibriller İşaretlenmiş, Bağ Dokuda Çapraz Tarama Deseni Yapan Periodontal Ligament(P) Gösterilmiştir. Zengin Kan Damarı Ağı (V) Ve Fibroblastik Bileşenler (F) Görülebilir Ancak İmplant Çevresindeki Servikal Bağ Doku (BD) Çevresinde Daha Azdır. B, Şematik Olarak Peri-İmplant Servikal Bağ Doku Ataşmanında Kollajen Lif Demetlerinin İmplant Yüzeyine Paralel İlerlediğini Göstermektedir. GE = Gingival epitel, BE = Birleşim epitel, İBE =İmplant Birleşim Epiteli; D = Dentin; KI = Kemik İliği; DI = Dental İmplant. (Consolaro ve ark., 2010)

Diş çevresinde yumuşak dokular birleşim epiteli, bağ doku ataşmanı, PDL ve diş etinden oluşmaktadır. İmplant çevresinde ise birleşim epiteli, bağ doku ataşmanı ve mukoza dokusu bulunmaktadır. Diş çevresinde birleşim epiteli ve bağ doku ataşmanı dokularına biyolojik genişlik adı verilmektedir. Biyolojik genişlik implant çevresinde de bulunmaktadır. Biyolojik genişlik diş çevresinde ortalama 2.04 mm iken, implant çevresinde 3,09 mm’dir (D. L. Cochran ve ark., 1997; Gargiulo ve ark., 1961; J. P. Macedo ve ark., 2016) Diş ve implant çevresi dokular karşılaştırıldığında PDL’nin olmaması en çarpıcı farktır (Carl Misch, 2014). Bu durum, implantlar ve destekleyici kemik arasında esnek bir bağlantının olmadığı anlamına gelir ve önemli klinik farklılıklara yol açar. PDL yokluğu, implant çevresinde azalmış vasküler desteğe neden

olmaktadır (T. Berglundh ve ark., 1991; Ericsson ve ark., 1992). Ayrıca PDL’de bulunan mezenşimal kök hücreler farklılaşma potansiyelleri sayesinde yara iyileşmesinin proliferatif fazında oldukça önemli rol oynarlar (Song ve ark., 2015).

Kemik seviyesinde, implantı çevreleyen periodontal ligamentin yokluğu önemli klinik sonuçlara sahiptir. PDL, dişler çevresinde periodonsiyumu sağlar. İmplantların etrafında bir periodontal ligamentin yokluğu, dokunma hassasiyeti ve refleks işlevini azaltır (Bonte ve van Steenberghe, 1991; Jacobs ve van Steenberghe, 1994)

İmplantlar, prematür bir oklüzal temasın varlığını telafi etmek için dişler gibi intruzyon ve ekstruzyon hareketleri yapamaz. İmplantlar ve rijit olarak bağlanmış implant restorasyonları hareket etmez. Bu nedenle, herhangi bir oklüzal uyumsuzluk ya restorasyona, ya kemik-implant ara yüzüne ya da her ikisine birden zarar verebilir.

Dental implantlar ve dişler arasındaki bir diğer farklılık da birleşim epiteli kökeninden kaynaklanmaktadır. İmplantların etrafındaki birleşim epiteli, dişlerin etrafındaki azalmış mine epiteli kökenli birleşim epitelinin aksine, her zaman ağız mukozasının epitel hücrelerinden köken alır (Bosshardt ve Lang, 2005). Bu durumda bu iki birleşim epitelinin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin aynı olup olmadığı sorgulanabilir. Yapısal olarak, peri-implant birleşim epiteli dişlerin etrafındaki birleşim epiteline çok benzer (T. Berglundh ve ark., 1991; D. Cochran, 2000; Koka, 1998). Bakteriyel atağa karşı savunma mekanizmalarında yer alan moleküllerin birçoğunun peri-implant epitelinde de ifade edildiğine dair kanıt vardır (Koka, 1998). Bu da, iki epitelin farklı kökenlerine rağmen, implantların etrafında bir epitel bağlantı oluşturduğunda fonksiyonel bir adaptasyonun meydana geldiği anlamına gelir (Koka, 1998).

Diş ve implant çevresi bağ dokular karşılaştırıldığında ise diş çevresindeki bağ dokusu liflerinin daha iyi organize olduğu görülmektedir. Diş çevresindeki bağ

dokusunda bulunan fibroblast hücresi miktarı, implant çevresinde bulunan bağ dokuya oranla daha fazladır (Moon ve ark., 1999). İmplant çevresinde peri-implant epitel ve bağ doku ataşmanın geçirgenliği diş çevresindeki birleşim epiteli ve bağ doku ataşmanına göre daha fazladır (T. Berglundh ve ark., 1991; T. Berglundh ve ark., 1994; Hermann ve ark., 2001; Moon ve ark., 1999). İmplant, sement ve periodontal ligament gibi karakteristik diş yapılardan yoksundur (Schroeder, 2012). Dişlerin çevresindeki bağ dokusu lifleri, kök yüzeyine dik olsa da, dental implantların çevresindeki lifler implant yüzeyine paralel uzanır (Atsuta ve ark., 2016). Bu durum, dental implantların bakteriyel ataklara karşı zayıf bir direnç göstermesine sebep olur.

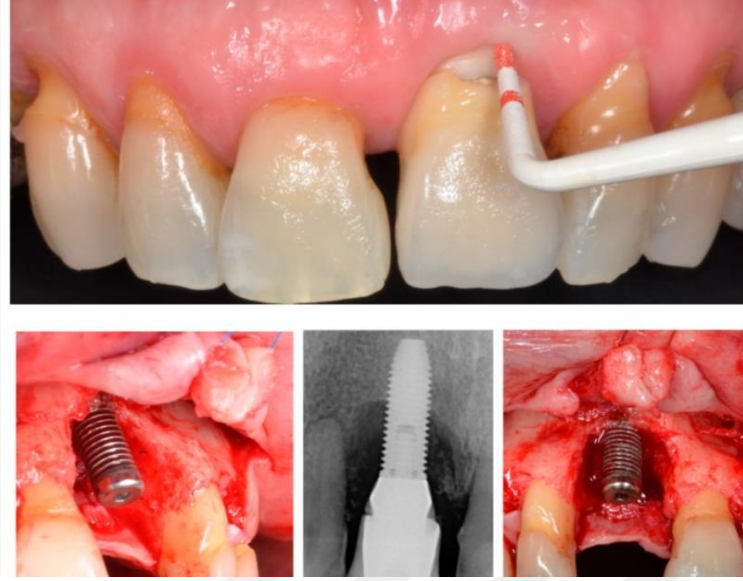
Dentoalveol ve dentogingival lif demetleri, yumuşak dokuları dişle (sement) birleştirirken, bu tür lif demetleri, peri- implant dokularda yoktur (Ivanovski ve Lee, 2018). İmplant yüzeyi, kan damarları olmayan dar, yaklaşık 50 ila 100 µm kalınlığında bir bağ dokusu bölgesi ile çevrilidir (Buser ve ark., 1992; Listgarten ve ark., 1992). İmplant yüzeyinden uzaklaştıkça, bariyere (birleşim epiteli) ve sulküler epitele komşu olan bölgede, kan damarları gözlemlenmeye başlanmıştır (Buser ve ark., 1992). Bu durum, implant yüzeyinden uzaklaştıkça kan damarlarının sayısı artması anlamına gelmektedir. Dişler çevresindeki uygun bölgelere kıyasla, implant çevresindeki supra-krestal yumuşak bağ dokusunda daha az vasküler yapı varlığı tespit edilmiştir (Moon ve ark., 1999).

Periodontal olarak sağlıklı bölgelerde, diş eti marjini, mine-sement bileşkesinin ana hatlarını takip ederken, aynı koşulları karşılayan bir implant bölgesinde mukoza marjini, krestal kemiğin kontürünü takip eder (Araujo ve Lindhe, 2018).

2.5. PERİ-İMLANTİTİS

Peri-implant hastalıklar, periodontal hastalıkların başlangıcında rol oynayan benzer etiyolojik faktörlerin varlığı ile başlamaktadır (Heitz-Mayfield ve Lang, 2010). Doğal dişlerin periodonsiyumunu etkileyen gingivitise ve periodontitise benzer olarak, dental implantları çevreleyen yumuşak dokuların enflamasyonu peri-implant mukozitis ve sert dokuların enflamasyonu peri-implantitis olarak adlandırılır (Meyerov ve ark., 2012; Wilson, 2013; N. Zitzmann ve ark., 2006). Bu iki durum arasındaki geçiş genellikle akıcıdır ve klinik olarak net bir şekilde ayrılamaz . Peri-implant mukozitis, peri-implant yumuşak dokunun kızarıklığı, şişliği ve kanamasıyla birlikte bakterilerin neden olduğu, tersinir bir enflamatuvar sürecini tarif eder (Meyerov ve ark., 2012; F Schwarz ve ark., 2008; Wilson, 2013; N. Zitzmann ve ark., 2006).

Peri-implantitis, dental implantların etrafındaki dokularda meydana gelen, peri - implant bağ dokusunda enflamasyon ve ilerleyen destekleyici kemik kaybı ile karakterize patolojik bir durumdur (Frank Schwarz ve ark., 2018). Peri-implantitis teşhisi için implant restorasyonunun tesliminden bir yıl sonra, radyografik olarak 2 mm ve üzeri peri-implant kemik kaybıyla birlikte klinik enflamasyonun varlığı önerilmiştir (Sanz ve ark., 2012). Kızarıklık, ödem, sondalamada kanamaya eşlik eden süpürasyon varlığı veya yokluğu gibi klinik enflamasyon belirtileri, sondalama derinliğinde artış ve radyografik kemik kaybı, peri-implantitisin klinik olarak teşhisinde yaygın olarak kullanılır (T. Berglundh ve ark., 2011; Cornellini ve ark., 2001; Wilson Jr ve ark., 2015) (Şekil 2.5).

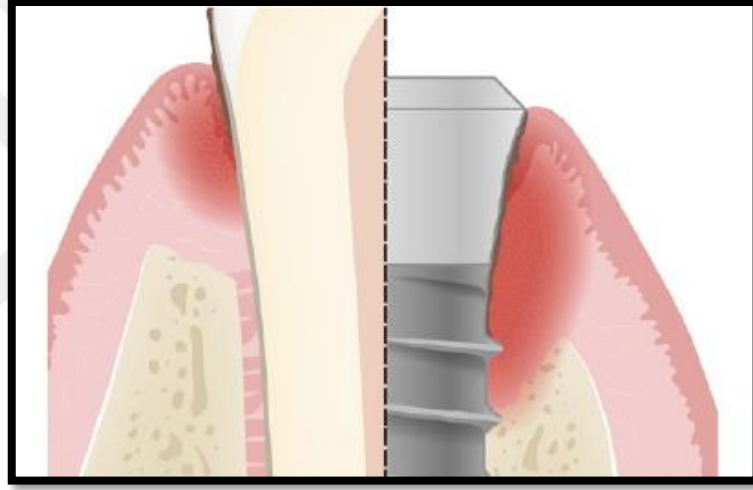


Şekil 2.5: İmplant Çevresinde Görülen Artmış Sondalama Derinliği ve Süpürasyon Varlığı, İlgili Bölgenin Cerrahi Olarak Açılması ve Radyografik Görüntüsü (Monje ve ark., 2019)

İmplantın şekli, bağlantı tipi, dayanak ve alt yapı malzemesi ve protez alt yapı tipi peri-implant yumuşak ve sert dokularını etkiler (Mombelli ve ark., 2012). İmplantın komşu dişlerle olan seviyesinin doğru ayarlanmaması ve implantın derine yerleştirilmesi oral hijyen gereksinimlerinin sağlanamamasına yol açarak peri-implantitise sebep olabilir (F Schwarz ve ark., 2008).

Peri-implantitis, anaerobik polimikrobiyal bir enfeksiyondur (Charalampakis ve ark., 2012). Bununla birlikte, periodontitisin aksine, peri-implantitis lezyonları tipik periodontopaojenik mikrobiyotanın bir parçası olmayan bakterileri barındırır. Özellikle, *Staphylococcus aureus*'un peri-implantitis gelişimi için baskın bir rol oynadığı görülmektedir (Smeets ve ark., 2014). Salvi ve arkadaşlarının bulgularına göre bu bakteri, yüksek pozitif (% 80) ve negatif (% 90) prediktif değer gösterir (Giovanni E Salvi ve ark., 2008).

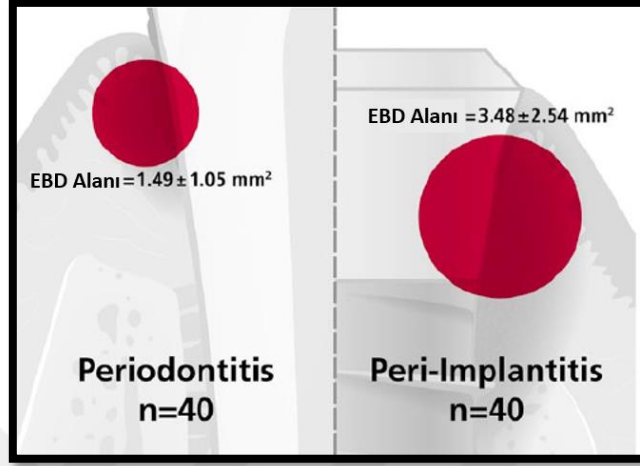
Periodontitis ve peri-implantitis patogenezi kıyaslayan deneysel çalışmalar, köpekler ve maymunlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Lindhe ve ark., 1992; Marinello ve ark., 1995; N. U. Zitzmann ve ark., 2004) (Schou ve ark., 1993; Warrer ve ark., 1995; N. U. Zitzmann ve ark., 2004). Berglund ve arkadaşları, peri-implantitisin periodontitis gibi hayvanlarda ligatür ile indüklenebileceğini ve deneysel hastalık oluşturulabileceğini ve etken (ligatür) ortamdaki uzaklaştığında deneysel periodontitiste hastalığın durduğunu ancak deneysel peri-implantitiste hastalığın ve doku yıkımının devam ettiğini göstermişlerdir (T. Berglundh ve ark., 2011). (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Enflamatuvar Bağ Dokusunun Diş Ve İmplant Çevresinde, Ligatürün Çıkarılmasından Sonra Alveol Kret Etrafında Yayılımı. İmplant Çevresinde, Enflamatuvar Bağ Dokusu Alveol Krete Ulaşıp Kemik Krete Kadar Uzanırken, Enflamatuvar Bağ Dokusu Diş Çevresinde Supra-Krestal Kollajen Lif Tabakası İle Alveol Kretten Apikal Olarak Ayrılmıştır. ((Lindhe ve ark., 1992)’den uyarlanmıştır)

Etken ortadan kaldırıldıktan sonra peri-implantitis lezyonlarında durma eğilimi gözlenirse de, genellikle başlayan enflamasyon sonraki bir yıl içinde artan kemik kaybına yol açmaktadır (N. U. Zitzmann ve ark., 2004). Carcuac ve arkadaşları, köpeklerde peri-implantitis lezyonlarının alveol krete daha yakın oluştuğunu, periodontitis lezyonlarına kıyasla daha büyük olduğunu ve lezyonların daha çok nötrofil ve osteoklast içerdiğini

göstermiştir (Carcuac ve ark., 2013). (Şekil 2.7). Bu nedenle, klinik açıdan peri-implantitis lezyonları daha agresif bir karakter gösterebilir ve periodontitis lezyonlarıyla karşılaştırıldığında daha hızlı ilerlemesi beklenebilir.



Şekil 2.7: Kronik Periodontitisli 40 İnsan Biyopsisi Ve Peri-İmplantitisli 40 İnsan Biyopsisinin Enflamatuvar Bağ Doku İnfiltrasyonu Arasındaki Fark. İmplant Bölgelerindeki Enflamatuvar Bağ Doku Alanı, Diş Bölgelerindeki Alandan Yaklaşık İki Kat Daha Büyüktü (Carcuac ve ark., 2013)'den uyarlanmıştır)

Periodontitis ve peri-implantitisli bölgelerin histopatolojik ve fonksiyonel verilerini analiz eden çeşitli insan çalışmaları da yapılmıştır (Becker ve ark., 2014; T. Berglundh ve ark., 2004; Bullon ve ark., 2004; Gualini ve Berglundh, 2003; Venza ve ark., 2010). Diş eti ve peri-implant mukoza biyopsilerin karşılaştırmalı analizi, periodontitis ve peri-implantitisin iki farklı durumu temsil ettiğini göstermektedir (Becker ve ark., 2014; Venza ve ark., 2010). Her ne kadar periodontitis ve peri-implantitis ortak etiyolojik faktörleri paylaşırsa da, insan diş eti ve mukoza biyopsilerinin karşılaştırmalı analizleri kritik histopatolojik farklılıkları ortaya koymuştur (Heitz-Mayfield ve Lang, 2010). Periodontitis lezyonlarıyla karşılaştırıldığında, peri-implantitis lezyonları; apikal olarak cep epitelinden büyümüştür ve sağlıklı bağ dokusuyla çevrelenmemiştir (Carcuac

ve Berglundh, 2014). Ayrıca peri-implantitiste doğuştan gelen bağışıklık yanıt sistemleri baskınken, periodontitiste bakteriyel yanıt sistemleri baskındır (Becker ve ark., 2014).

Diş ve dental implant çevresinde diş eti hastalığı benzer şekilde başlasa da aynı şekilde ilerlememektedir. Bununla birlikte periodontitisin, peri-implantitis gelişimi için bir risk oluşturduğu düşünülmektedir. Periodontitis için uygulanan güncel tedavi prosedürleri (faz 1 tedaviyi takiben gerekli olduğunda faz 2 tedavi, lokal veya sistemik antibiyotiklerle desteklenebilen manuel ablasyonlar, lazer destekli sistemler, fotodinamik tedavi) peri-implantitis tedavisinde kullanılan prosedürlerle çok büyük benzerlikler göstermektedir; ancak, benzer prosedürler uygulanmasına rağmen iki hastalığın patogenezindeki farklılıklar nedeniyle tedavi sonuçları arasında belirgin farklılıklar görülebilmektedir.

2.6. KOMPLEMAN SİSTEMİ

Kompleman sistemi ilk olarak bir asırdan daha uzun bir süre önce Hans Buchner tarafından kandaki ısıya duyarlı bir "bakterisit" olarak tanımlanmıştır (Fosbrink ve ark., 2005). Daha sonra Jules Bordet, serumun bakterisidal aktivitesinin ısıtmayla yok edildiğinde taze serum eklenerek geri kazanılabileceğini göstermiş ve aktif bileşen "alexine" olarak adlandırılmıştır (Tegla ve ark., 2011). Paul Ehrlich ise bu serum faktörünü "kompleman (tamamlayıcı)" olarak adlandırılmıştır (Ehrlich, 1902). Kompleman sistemi, bağışıklığı ve enflamasyonu aktive eden, artıran ve düzenleyen; çözünür, hücre yüzeyiyle ilişkili ve hücre içi moleküllerin etkileşimli bir ağ sistemidir (Hajishengallis, Reis, ve ark., 2017; Ricklin ve ark., 2010). Klasik serum proteinlerine (C1-9) ek olarak, ağ, örüntü tanıma molekülleri, konvertazlar ve diğer proteazlar,

reseptörler ve düzenleyiciler dahil olmak üzere toplamda yaklaşık 50 protein içerir (Hajishengallis ve ark., 2019).

Kompleman sistemi, hem doğal hem kazanılmış bağışıklıkta rol alan, bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede ve immün komplekslerin temizlenmesinde rol oynayan önemli bir savunma mekanizmasıdır. Kompleman sistemi enflamasyonun düzenlenmesinde en önemli yollardan biridir ve opsonizasyon aracılığı ile fagositoza yardımcı olmaktadır. Bir opsonin olan C3b, hücre membranına doğrudan bağlanarak C3b reseptörü taşıyan fagositik hücrelerin bakteriye doğru migrasyonunu sağlar ve böylece bakterilerin fagositozuna yardımcı olur (Dunkelberger ve Song, 2010).

IgG ve IgM antikorlarının antijenlerle birleşme yetenekleri yanında bazı tip hücrelerle de birleşme yetenekleri vardır (Ogawa ve Grant, 2007). Mast hücreleri ile birleşen bu antikorlar kompleman sisteminin özellikle C3a, C4a, C5a proteinleri aracılığıyla anafilaksiye neden olan bradikinin, histamin, prostaglandin, serotonin ve asetilkolin gibi maddelerin sentezlenmesine neden olurlar (Ogawa ve Grant, 2007). Bu maddeler düz kaslarda kasılma, bronş spazmı, kapiller geçirgenliğin artması ve karakteristik anafilaksi semptomlarının oluşmasına sebep olur.

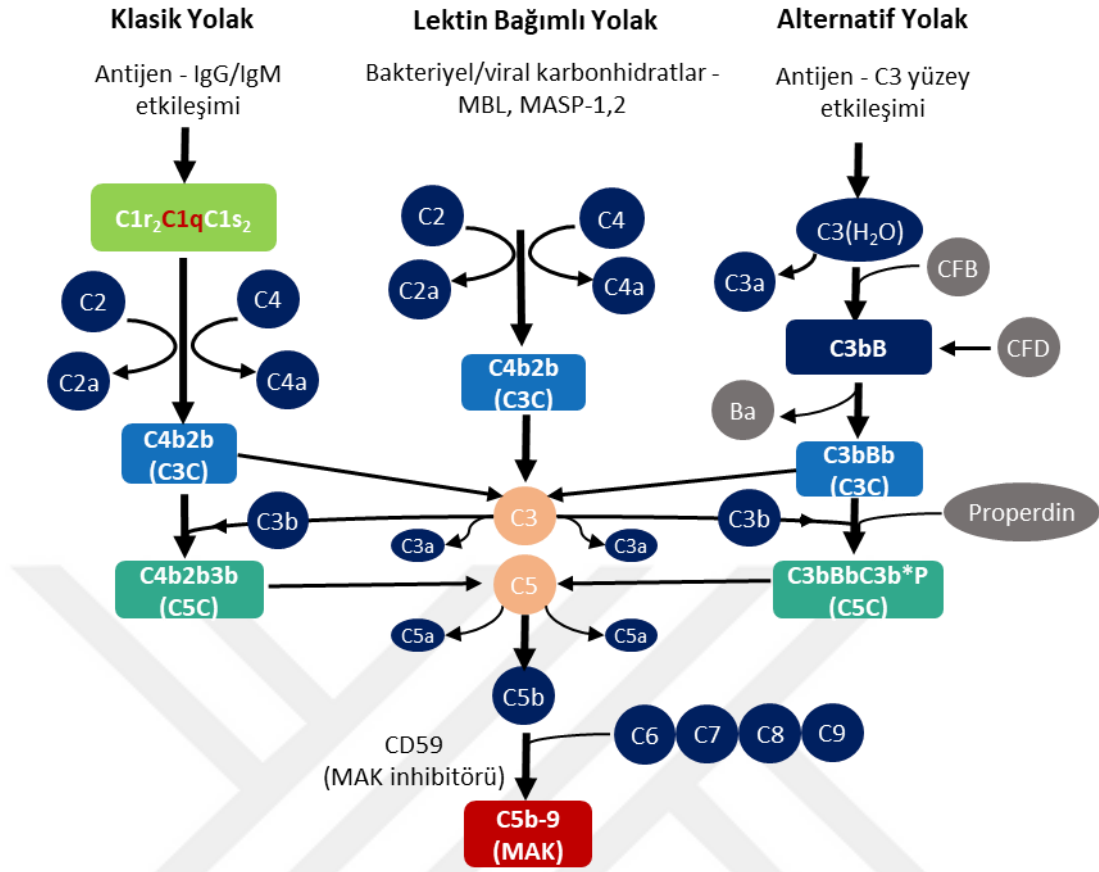
İmmün kompleksler bir antijene yanıt sonucu oluşan humoral immün cevap sonucunda oluşabilirler. Bu kompleksler damar çeperinde birikerek kompleman sistemini aktive ederler ve oluşturdukları enflamatuvar cevapla çevre dokulara zarar verebilirler. Kompleman sistemi bileşenleri immünoglobulinlere bağlanarak immün komplekslerin fagositozuna yardımcı olarak dolaşımdan uzaklaştırılmalarını sağlar (Wiggins ve Cochrane, 1981).

Kompleman sistemi bileşenlerinin makrofajlara ve polimorfonükleer lökositlere bağlanmasıyla fagositoz yapan hücrelerin enflamasyon yerine migrasyonu (kemotaksis)

sağlanır (Frank ve Fries, 1991). Kompleman sistemi kemotaksis aracılığıyla(C3a, C4a ve özellikle C5a) fagositoya katkıda bulunur (Soto ve ark., 2005).

Kompleman sistemi periodontal dokularda da oldukça aktif bir sistemdir. Kompleman sistemi bileşenleri periodontal dokularda bulunur ve sistem periodontitiste aktive olur. Bununla birlikte, kompleman sisteminin periodontal ceplerdeki biyofilm içindeki bakteriler tarafından sürekli aktivasyonu ve modülasyonu, lokal doku tahribatını artırabilir (Damgaard ve ark., 2015). Periodontal dokularda artan kompleman sisteminin lokal aktivasyonu, lokal enflamatuvar cevabın yoğunluğunu artırır, böylece artan vasküler geçirgenlik, vazodilatasyon ve enflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin, proteolitik enzimlerin ve interlökinlerin aşırı salınımı ile sonuçlanır (Butko ve ark., 1999; Frakking ve ark., 2007; Roos ve ark., 2001; Roos ve ark., 2002; Yuste ve ark., 2006). Bu durum, klinik olarak diş etinde ödeme, ataşman kaybına ve nihayetinde kemik rezorpsiyonuna yol açabilir.

Kompleman sisteminin aktive olması klasik, lektin ve alternatif olmak üzere üç ayrı mekanizmanın sıralı aktivasyonu ve bir dizi serum proteininin proteolitik olarak bölünmesini içerir (Damgaard ve ark., 2015) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Kompleman Sisteminin Elemanları Ve Birbirleriyle Olan Etkileşimleri: <https://www.researchgate.net/figure/Complement-Activation-Pathways-And-Assembly-Of-The-Terminal-Path-Sitesinden> Uyarlanmıştır.

2.6.1. Klasik Yol

Klasik yol aktivasyonu, esas olarak IgM veya IgG tarafından oluşturulan bağışıklık komplekslerinin varlığıyla aktive edilir (A. C. Macedo ve Isaac, 2016). Bununla birlikte, C1q doğrudan patojenlere veya diğer parçacıklara bağlanabilir ve spesifik antikorların yokluğunda bile klasik yolu doğrudan aktive edebilir (A. C. Macedo ve Isaac, 2016).

Antijen-antikor kompleksi oluştuğunda C1q, immüoglobulinin Fc kısmına bağlanır ve C1s ile C1r aktivasyonu gerçekleşir (A. C. Macedo ve Isaac, 2016). C1r ve C1s proteazlarının, C1q yüzeyine bağlanması üzerine C1 kompleksi (C1qr₂s₂) aktive

edilir (Gaboriaud ve ark., 2004; Wallis ve ark., 2010). C1s daha sonra C4'ü C4a ve C4b, C2'yi de C2a ve C2b olmak üzere ikiye ayırır (Lu ve Kishore, 2017). C4b, C2b'ye bağlanır, böylece C3'ü parçalayabilen klasik yol C3 konvertaz (C4b2b) proteini oluşur (Mathern ve Heeger, 2015). Kompleman yolaklarındaki fragman isimlendirmesini kolaylaştırmak için, küçük, proteolitik olmayan C2 fragmanı C2a ve büyük, proteaz segmenti C2b olarak belirlenmiştir. Klasik yol ve lektin yolundaki C3 konvertaz, C3bBb'ye benzetilerek C4b2b olarak adlandırılmıştır.

C4b2b kompleksi C3 konvertaz özelliği sayesinde C3' ü C3a ve C3b moleküllerine ayırır (Mathern ve Heeger, 2015). C3b, C4b2b molekülüne bağlanarak C4b2b3b kompleksini oluşturur (Mathern ve Heeger, 2015). Oluşan yeni kompleks C5 konvertaz aktivitesi kazanır ve C5'i C5a ve C5b moleküllerine ayırır. (Mathern ve Heeger, 2015). C5b, C6, C7, C8, C9' u da kendisine bağlayarak MAK (Membran Atak Kompleksi) oluşturur ve hücre lizisi gerçekleşir (Mathern ve Heeger, 2015).

Üç kompleman yolağının tümü, C5'in C5C aracılığıyla proteolitik bölünmesi sonucu C5a ve C5b'yi oluşturması ve C5b-7, C5b-8 ve MAK'ın (C5b-9) meydana gelmesi üzerinde birleşir, bu sıralı olaylar dizisi kompleman sisteminin terminal kaskadı (TCC) olarak adlandırılır (Tegla ve ark., 2011; Xie ve ark., 2020). MAK oluşumu hedef hücrelerde transmembran bir por oluşturarak iyon dengesinin bozulmasına ve sonunda ozmotik lizise yol açar (Morgan ve ark., 2017).

2.6.2. Lektin Yolu

Lektin yolu klasik yola benzemektedir, ancak lektin yolu hedef aktivasyonu için antikorlar yerine yüzey tanıma moleküllerini, MBL ve fikolinleri kullanır (Matsushita, 2010; Sørensen ve ark., 2005). Yapısal olarak C1'e benzerlik göstermesi nedeniyle

lektinlerin rol aldığı bu aktivasyon mekanizması başlangıç aşamasından sonraki aşamalarda klasik yol sürecine benzer bir süreç gösterir (Janeway ve ark., 1999).

MBL, primer olarak karaciğerde sentezlenen, pek çok şekere etkin bir şekilde bağlanabilen, mikrobiyal hücrelerin yüzeyleri ile iyi uyum gösteren ve antikor olarak görev yapan bir proteindir (Eddie Ip ve ark., 2009). MBL, hücre yüzey reseptörleri ile doğrudan etkileşime girebilir ve böylece kompleman sisteminden bağımsız bir şekilde opsonofagositozu teşvik edebilir (Turner, 2003).

Lektin yolağı, aktivasyonunun C3C oluşumuna yol açması bakımından klasik yolağa benzer (Noris ve Remuzzi, 2013). Bununla birlikte lektin yolağı, patojenik bileşenleri tanımak için antikorlara güvenmek yerine, geniş bir yüzeyde bulunan karbonhidrat ligandlarının modellerini tanımlamak için, MBL ve fikolinleri kullanır (Noris ve Remuzzi, 2013). MBL'nin aktivasyonu, MASP-1 ve MASP-2'yi (sırasıyla C1r ve C1s'ye çok benzer) aktive eder, böylece C4'ü C4a ve C4b; C2'yi C2a ve C2b olmak üzere ikiye ayırır (Beltrame ve ark., 2015; Matsushita ve Fujita, 1995; Matsushita ve ark., 2000). Böylece lektin yolağı, klasik yolakla aynı şekilde kompleman aktivasyonunu başlatır ve C4b'nin C2b'ye bağlanmasıyla C3 konvertaz oluşur (Janeway ve ark., 1999). Lektin yolağının bundan sonraki kısmı, klasik yolak akışında olduğu gibi devam eder.

2.6.3. Alternatif Yol

Kompleman aktivasyonunun üçüncü yolu, klasik yol tanımlandıktan sonra kompleman aktivasyonu için ikinci veya alternatif" bir yol olarak keşfedildiği için alternatif yol olarak adlandırılır (Janeway ve ark., 1999). "Alternatif" olarak isimlendirilmesine rağmen, alternatif yolak kompleman aktivasyonunun % 80-90'ına katkıda bulunur (Harboe ve Mollnes, 2008). Bu yol, spesifik antikor yokluğunda birçok

mikrobiyal yüzey üzerinde ilerleyebilir ve klasik ve lektin yollarındaki C3 konvertazın aksine, C3bBb olarak adlandırılan farklı bir C3 konvertaz oluşumuna yol açar (Janeway ve ark., 1999). Alternatif yolak aktivasyonu, bir patojen bağlayıcı proteine bağlı değildir; bunun yerine, C3'ün kendiliğinden hidrolizi yoluyla başlatılır (Janeway ve ark., 1999). Bu durum alternatif yol aktivasyonunun doğal bağışıklık yanıtında etkili olduğu anlamına gelmektedir.

C3, plazmada bol miktarda bulunur ve C3b, önemli oranda spontan bölünmeyle ("tickover" olarak da bilinir) üretilir (Bexborn ve ark., 2008; Pangburn ve Muller-Eberhard, 1980; Spitzer ve ark., 2007; E. Wagner ve Frank, 2010). C3'teki tioester bağının spontan hidroliziyle C3(H₂O) oluşur ve bu yapı faktör B'nin bağlanmasını sağlar (Janeway Jr ve ark., 2001). Faktör B'nin C3(H₂O) ile bağlanması daha sonra faktör D adı verilen bir plazma proteazına izin verir ve Faktör B, Ba ve Bb'ye parçalanır (Janeway Jr ve ark., 2001). Bb, C3(H₂O) ile etkileşime girer ve böylece C3(H₂O)Bb kompleksi oluşur (Janeway Jr ve ark., 2001). Bu kompleks, sıvı fazlı bir C3 konvertazdır ve yalnızca küçük miktarlarda oluşmasına rağmen, birçok C3 molekülünü C3a ve C3b'ye ayırabilir (Janeway Jr ve ark., 2001). Oluşan C3b'nin çoğu hidrolizle etkisiz hale getirilir, ancak bazıları konakçı hücrelerin yüzeylerine veya patojenlere kovalent olarak bağlanır (Janeway Jr ve ark., 2001). Bu şekilde bağlanan C3b, faktör B ve faktör D aracılığıyla küçük fragman Ba ve aktif proteaz Bb'yi oluşturur. Bu durum, alternatif yol C3 konvertaz yani C3bBb oluşumuyla sonuçlanır (Janeway Jr ve ark., 2001).

C3bBb kompleksi, Properdin'in bağlanmasıyla stabilize edilir (Hourcade, 2006). C3bBb yeni C3a ve C3b oluşturarak alternatif yolu devam ettirir (Spitzer ve ark., 2007). C3b'ler yeni faktör B'leri bağlar ve sonuçta daha fazla C3b oluşur ve siklus bu şekilde devam eder (Rooijackers ve ark., 2009). Yeni oluşan C3b'nin mevcut C3 konvertaza

(C3bBb) bağlanması, alternatif C5 konvertaz C3bBb3b oluşumuna ve devamında klasik ve lektin bağımlı yolaklardaki gibi C5b-9 oluşumuna yol açar (Boshra ve ark., 2006; Sarma ve Ward, 2011).

Kompleman sistemi, konakçı savunmasında merkezi olarak yer alsa da, aşırı aktivasyonu veya deregülasyonu, enflamasyonu aşırı derecede artırabilir ve immünopatolojiye katkıda bulunabilir (Ricklin ve Lambris, 2007; Ward, 2004). Periodontitis, sağlık üzerinde sistemik bir etki yaratan oral enfeksiyon kaynaklı kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Klinik ve histolojik gözlemler, periodontal enflamatuvar aktivite ile lokal kompleman aktivasyonu arasında bir korelasyon gösterir (Attström ve ark., 1975; Rautemaa ve Meri, 1996). Periodontitiste bir anahtar tür olan *P. gingivalis*, enflamasyon varlığında adaptif uygunluğunu artıran yollarla kompleman reseptörü 3 ve C5a anafilotoksin reseptör sinyalini bozar (Bamberg ve ark., 2010; Hajishengallis ve ark., 2007; Wang ve ark., 2010). Mevcut kanıtlar, kompleman aktivasyonunun veya yıkımının, periodontal patogeneze katkıda bulunduğunu, ancak tüm kompleman yolların veya fonksiyonların kesin olarak yıkıcı olmadığını göstermektedir (Hajishengallis, 2010).

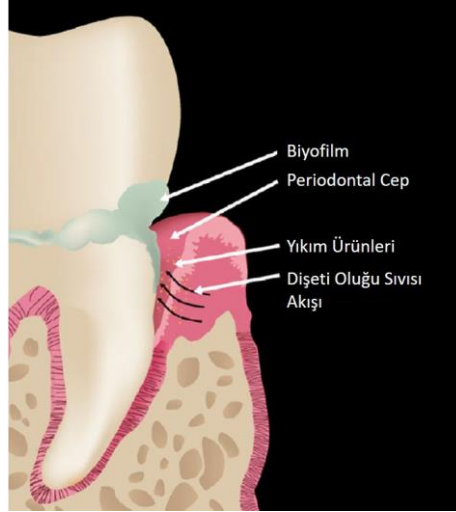
2.7. DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUĞU SIVISI

2.7.1. Diş Eti Oluğu Sıvısı

Diş eti oluğu sıvısı (DOS), diş eti oluğunda çeşitli içeriklerde bulunabilen, kan serumu kaynaklı eksüdatif bir sıvıdır. DOS, serum ve doku yıkım ürünleri, enflamatuvar mediyatörler ve plakta bulunan bakterilere karşı üretilmiş antikorlar gibi bileşenlerden oluşur (Subbarao ve ark., 2019).

DOS, birleşim epitelinin yapısının korunmasında ve periodonsiyumun antimikrobiyal savunmasında özel bir rol oynar (Subbarao ve ark., 2019). DOS'un serum, lökosit, periodonsiyum ve oral bakterilerin karışımı olduğunu onaylanmıştır (Eley ve Cox, 2003). DOS bileşenleri, serum, bağ dokusu ve DOS'un diş eti oluşuna ulaşana kadar geçtiği epitel dokusu gibi birçok kaynaktan elde edilir (Lamster, 1997).

DOS, çeşitli bakteri ürünlerinin ya da konakçı kaynaklı bağışıklık bileşenlerinin diş eti oluşuna taşınması için aracılık etmektedir. Sağlıklıdan, hastalıkla ilişkili subgingival mikrobiyotaya geçişte, pH, oksijen seviyeleri, sıcaklık, ozmotik basınç ve oksidasyon-indirgeme potansiyeli gibi bir dizi allojenik faktör rol oynar (Barros ve ark., 2016). Bununla birlikte, lökositik infiltratlar, birleşim epiteli boyunca görülür ve polimorfonükleer lökositler, DOS akışının nispeten düşük olduğu klinik olarak sağlıklı durumlarda bile her zaman sulkusta bulunabilir (Attström ve Egelberg, 1971).



Şekil 2.9: Biyofilm Varlığında DOS'un Epitel Hücrelerden Akışını Gösteren Şematik Figür. Bu mikto ortamda eksüda, subgingival biyofilmin yeniden düzenlenmesine katkıda bulunur, hem konakçı hem de bakteriyel kökenli bakteriyel antijenleri ve enzimleri barındırır ve de enflamatuvar mediyatörleri ve enflamatuvar hücreleri periodontal cebe taşır (Barros ve ark., 2016).

DOS akışını uyaran çeşitli faktörler vardır: Diş eti enflamasyonu, lifli gıdaların çiğnenmesi, artmış cep derinliği, diş eti oluşunun uyarılması, sirkadiyen periyot, periodontal cerrahi, restoratif prosedür, strip yerleştirme, diş mobilitesi, vücut sıcaklığının artması, kadın seks hormonları, yumurtlama, hormonal kontraseptifler, sigara ve histaminin topikal uygulaması bunlardan bazılarıdır (Subbarao ve ark., 2019). DOS akışı oldukça yavaştır, genellikle sadece saatte birkaç mikrolitredir (Subbarao ve ark., 2019).

DOS dental biyofilmde bulunan oral mikroorganizmalara cevap olarak lokal olarak üretilen serum ve çeşitli bileşenlerden (doku yıkım ürünleri, enflamatuvar mediyatörler ve antikorlar gibi) oluşur. DOS, hücreler ve periodontal dokular tarafından üretilen yanıt, disbiyotik mikroflarının diş eti oluşu ve cebinde hayatta kalabilmek için gösterdiği yanıt ve ayrıca bu yanıt mekanizmalarını birlikte nasıl etkileşimde bulunduğunu göstermek için büyük bir potansiyel sunar. Yapılan çalışmalarda DOS

kompozisyonunun, doku metabolizmasının anlaşılmasında, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bağ dokusunun yeniden yapılanmasında subklinik değişiklikleri tespit etmek için potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Baliban ve ark., 2013; Barros ve ark., 2016; Bostanci ve ark., 2010).

DOS'un sağlıklı diş eti içerisindeki difüzyonu yavaştır, ancak deneysel gingivitis oluşumu sırasında diş eti oluğu sıvısının hem hacmi hem de protein içeriği artar (Bostanci ve ark., 2013; Grant ve ark., 2010). İnsan deneysel gingivitis modellerinde, gingivitisin ağız hijyeni kesintiye uğradıktan hemen sonra 3 gün içinde meydana geldiği ve DOS üretimi artışının, sondalamada kanama gibi klinik enflamatuvar belirtilerden önce meydana geldiği gösterilmiştir (Barros ve ark., 2016). Bu bakımdan, DOS analizleri sayesinde enflamatuvar değişiklikler henüz klinik duruma yansımadan ve periodontal yıkım çok ileri boyutlara ulaşmadan tespit edilebilir.

Literatürde sağlıklı bireylerde ve periodontitis hastalarında enflamatuvar biyobelirteç ve sitokinlerin DOS'taki konsantrasyonlarını araştıran birçok çalışma mevcuttur (Bostanci ve Belibasakis, 2018; Scully ve Challacombe, 1979; Surna ve ark., 2009; Teles ve ark., 2010). Bu çalışmalar DOS'un periodontal hastalıkların araştırılmasında etkili ve geçerli bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

2.7.2. Peri – İmplant Oluğu Sıvısı

Peri-implant oluğu sıvısı (PIOS), implant yüzeyi ile peri-implant mukoza arasında oluşan peri-implant sulkus veya oluğun enflamatuvar eksüdasıdır (Belibasakis ve ark., 2015). Enflamatuvar süreç ve yıkım ilerledikçe bu oluk, submukozal plak birikimine elverişli hale gelen peri-implant cebe dönüşebilir (Belibasakis ve ark., 2015). Doğal dişleri yıkayan DOS'a benzer şekilde, PIOS miktarı, oluşan biyofilme verilen

enflamatuvar bir yanıttır (Belibasakis ve ark., 2015). PİOS'un, yeni oluşum aşamasında olmasına rağmen, doku yıkım ürünleri, enflamatuvar mediyatörler ve biyofilm bakterilerine karşı üretilmiş antikorlar gibi çeşitli moleküller içerdği bilinmektedir (Adonogianaki ve ark., 1995). Bu nedenle, PİOS, peri-implant dokuların enflamatuvar durumunu kantitatif olarak değerlendirmek için araştırılmaktadır (Belibasakis, 2014; Kaklamanos ve Tsalikis, 2002).

Sağlıklı peri-implant dokularda, PİOS akış hızı oldukça pasif ve yavaştır (Belibasakis ve ark., 2015). Bununla birlikte, biyofilm kaynaklı enflamasyon başladıktan sonra (yani peri-implant mukozitis durumunda) PİOS'un hacimsel artışı gözlenmektedir (Belibasakis ve ark., 2015). İnsan deneysel peri-implant mukozitis çalışmaları, PİOS hacminin ve protein içeriğinin, 3 hafta sonunda önemli düzeyde arttığını göstermiştir (G. E. Salvi ve ark., 2012). İnsan deneysel gingivitis ve peri-implant mukozitis arasındaki güçlü klinik benzerliklere rağmen, peri-implant mukozitiste plak birikimine karşı daha belirgin bir enflamatuvar yanıt bulunmaktadır (Pontoriero ve ark., 1994; G. E. Salvi ve ark., 2012; Schierano ve ark., 2008). PİOS bileşimi, enflamasyon artışıyla birlikte değiştiği için PİOS'un moleküler analizi, klinik olarak saptanamayan değişikliklerin tespitini sağlayabilir (Schierano ve ark., 2008).

2.7.3. DOS ve PİOS Toplama Yöntemleri

DOS ve PİOS yöntemleri genel olarak 3 başlık altında toplanabilir (Caranza ve ark., 1996):

- Kağıt Bant Yöntemi

- Mikropipet Yöntemi
- Diş Eti Oluğu Yıkama Yöntemi

Kağıt Bant Yöntemi

DOS ve PİOS örnekleri, kağıt bantlar yöntemiyle klinik ortamda kolay, girimşel olmayan ve hastaya rahatsızlık bir şekilde toplanabilmektedir. İşlem uzun zaman gerektirmez. Kağıt bantlar, hafif direnç tespit edilinceye kadar diş eti oluğu içine (apikal doğrultuda) yerleştirilerek veya cebin girişine ya da üstüne yerleştirmek suretiyle DOS örneği toplamak için kullanılır (Lamster, 1997).



Şekil 2.10: Kağıt Bantın Diş Eti Oluğuna Yerleştirilmesi.

https://www.researchgate.net/figure/A-Positioning-Of-Paper-Strip-Overlying-The-Tooth-Gingiva-And-Alveolar-Mucosa-For_Fig5_51856002 Sitesinden Alınmıştır.

Mikropipet Yöntemi

Mikropipetlerin kullanılması kılcallık sayesinde sıvının emilmesine izin verir. Standart uzunluk ve çaptaki kılcal borular cebe yerleştirilir, toplanan sıvı santrifüj edilir ve içerikleri analiz edilir. Mikropipetler kullanarak DOS ve PİOS toplamak için gereken uzun süre, bu tekniğin sınırlamalarından biri olarak kabul edilmektedir, bu durum tükürük ve kan kontaminasyonu olasılığını artırabilir (Nazar Majeed ve ark., 2016). Ayrıca, işlem klinisyenin hassasiyetini gerektirir ve hasta için zaman alıcı olabilir.

Diş Eti Oluğu Yıkama Yöntemi

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, maxillary 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 durularak elde edilir (Cimasoni, 1983). Bu yöntem teknik hassasiyet gerektirdiğinden ötürü çok fazla tercih edilmemektedir (Nazar Majeed ve ark., 2016).

2.8. ELISA TESTİ

ELISA, antikorlar ile antijenlerin arasındaki kimyasal etkileşimi temsil eden antijen-antikor reaksiyonları kavramına dayanmaktadır (Sakamoto ve ark., 2018). ELISA, ilk olarak 1971 yılında Engvall ve Perlmann tarafından tarif edilmiştir ve yaygın olarak kullanılan bir biyokimyasal testtir (Eva Engvall ve Perlmann, 1972). ELISA, proteinler, peptitler, nükleik asitler, hormonlar, herbisitler ve bitki ikincil metabolitleri dahil olmak üzere antijenlerin oldukça hassas ve seçici kantitatif/kalitatif analizine izin verir ve birçok alanda diagnostik amaçlı kullanılır (Alhajj ve Farhana, 2020; Aydın, 2015; Sakamoto ve ark., 2018; Shah ve Maghsoudlou, 2016).

ELISA testinin çalışma prensibi basitçe şu şekilde açıklanabilir: Antijen, bir mikropilaka kuyusu içinde ya doğrudan ya da "yakalama antikor" olarak bilinen spesifik bir antikor tarafından immobilize edilir ve antijen-antikor kompleksi oluşturan bir "birincil saptama antikor" eklenir. Birincil saptama antikor ya doğrudan bir enzimle (yani direkt ELISA) etiketlenir veya kendisi "ikincil saptama antikor" olarak bilinen ikincil bir antikora (yani indirek ELISA) eklenir. Her adım arasında kuyu bir tampon

çözelti ile yıkanır. Bir substratın eklenmesi, numunedeki antijenin varlığını gösteren bir renk sinyali üretir. Optik yoğunluğun ölçümü, numunedeki antijen miktarı ile orantılıdır (Shah ve Maghsoudlou, 2016).

2.8.1. ELISA Türleri

Eşleşen antikorları kullanan belirli moleküller için birçok ELISA testi vardır. ELISA testleri, analitlerin ve antikorların nasıl bağlandığına ve kullanıldığına bağlı olarak çeşitli türlere ayrılır (Eva Engvall ve Perlmann, 1972; Robert, 2016). Ana türleri şunlardır (Shah ve Maghsoudlou, 2016):

- Direkt ELISA
- İndirekt ELISA
- Sandiviç ELISA
- Yarışmalı ELISA

Direkt ELISA

Direkt ELISA adımları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Test edilecek antijenin tamponlu bir çözeltisi, bir mikrotitre plakasının her oyuğuna (genellikle 96 oyuklu plakalar) ilave edilir, burada yük etkileşimleri yoluyla plastiğe yapışması için zaman verilir.
- Her bir kuyucuğa antijen tarafından kaplanmamış yüzeyi kaplamak için sıgır serum albümini veya kazein gibi reaksiyona girmeyen bir protein çözeltisi eklenir.
- Özel olarak kuyucuğu kaplayan test antijenine bağlanan konjüge bir enzime sahip birincil antikor eklenir.

- Daha sonra bu enzim için bir substrat eklenir. Genellikle, bu substrat enzim ile reaksiyon üzerine renk değiştirir.

- Serumda bulunan primer antikorun konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, renk değişimi o kadar güçlü olur. Genellikle, renk değişimi için uygun nicel değerler vermek için bir spektrometre kullanılır (Berg ve ark., 2002).

İndirekt ELISA

İndirekt ELISA adımları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Antijen immobilizasyonu, bloke etme ve yıkamayı takiben, antijene bağlanan primer antikor, karbonat-bikarbonat kaplama tamponu kullanılarak plakaya eklenir.

- Plaka daha sonra inkübe edilir ve bir yıkama tamponu ile yıkanır, ardından bir bloker ve bir konjüge enzime sahip ikincil bir antikor eklenir.

- Direkt ELISA'ya benzer şekilde, plaka daha sonra inkübe edilir, yıkanır, bir substrat eklenir ve kuyucukları taramak için bir mikrolaka okuyucu kullanılır.

- İkincil antikor ayrıca bir florofor ile etiketlenebilir ve sonuç, bir florometre kullanılarak ultraviyole ışık altında ölçülebilir. Bu dizi, floresan bağlantılı bir immünosorbent deneyi (FLISA) olarak bilinir (Shah ve Maghsoudlou, 2016).

Sandviç (İmmünometrik) ELISA

Sandviç ELISA adımları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

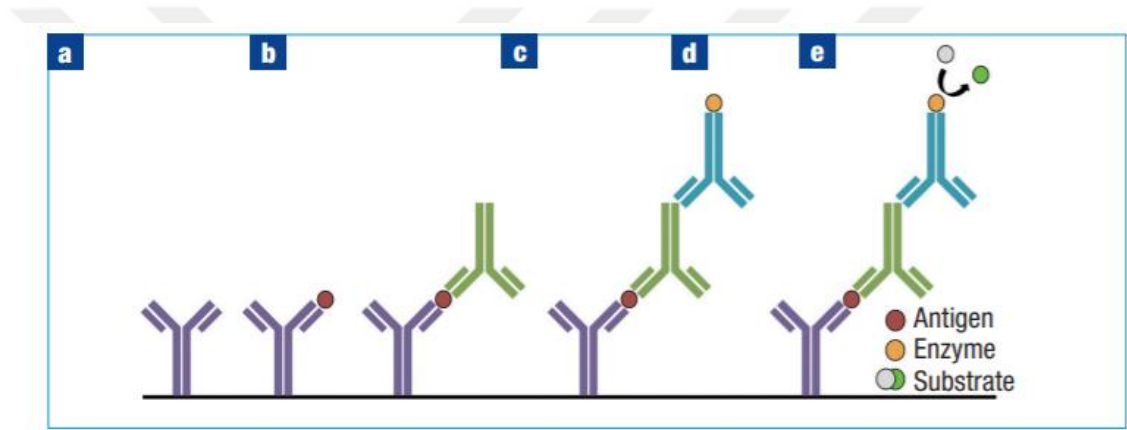
- Bilinen bir yakalama antikoru içeren kaplama tamponu çözeltisi plakanın her kuyucuğuna eklenir ve yapışmasına izin verilir.

- İnkübasyonun ardından, plaka yıkanır ve kuyucuk üzerindeki spesifik olmayan bağlanma yerlerini bloke etmek için blokaj tamponu eklenir.

- Numuneler kuyucuklara eklenir ve belirli bir süre boyunca inkübe edilir

- Kuyucuklar yıkama solüsyonu ile yıkanır.

- Her kuyucuğa primer saptayıcı bir antikor eklenir, plaka inkübe edilir ve yıkanır.
- Ardından konjuge bir sekonder antikor ve bloke edici tampon eklenir. (“sandviç”: antijen iki antikor arasında yakalanır, Şekil: 2.10).
- Substrat solüsyonu eklenir ve sonucu saptamak için bir mikropilaka okuyucu kullanılır.
- Sonuçların doğruluğunu sağlamak için, her plakayla standart bir numune (pozitif kontrol) ve boş bir numune (negatif kontrol) çalışılmalıdır (Shah ve Maghsoudlou, 2016).



Şekil 2.11: Sandviç ELISA. (A) Plaka, Bir Yakalama Antikoru İle Kaplanır; (B) Numune Eklenir Ve Mevcut Olan Herhangi Bir Antijen, Antikoru Yakalamak İçin Bağlanır; (C) Tespit Antikoru İlave Edilir Ve Antijene Bağlanır; (D) Enzime Bağlı İkincil Antikor Eklenir; (E) Her Adım Arasında Kuyucuklar Fosfat Tamponlu Salin İle Yıkanır. Bir Substrat Solüsyonu Eklenir Ve Ardından Tepkimeyi Durdurucu Solüsyon Eklenir. Sonucu Tespit Etmek İçin Bir Mikropilaka Okuyucu Kullanılır (Shah ve Maghsoudlou, 2016)

Yarışmalı ELISA

Bu ELISA testi diğer türlerden farklılıklar barındırmaktadır. Yarışmalı ELISA adımları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Primer antikor, saflaştırılmamış bir numune ile inkübe edilir ve numunede bulunan herhangi bir antijene bağlanır. Numunede ne kadar çok antijen varsa, o kadar fazla antijen-antikor kompleksi oluşur.

- Antijen-antikor kompleksleri, antijen ile önceden kaplanmış 96 kuyucuklu bir plakaya eklenir. Bağlanmamış herhangi bir antikor, kuyucuktaki antijene bağlanacaktır. Ne kadar çok antijen-antikor kompleksi oluşursa, kuyucuktaki antijene bağlanmak için o kadar az antikor bulunacaktır. Bu nedenle, numunedeki antijenler ile antikorlar için kuyucukta önceden kaplanmış olanlar arasında rekabet vardır.

- Plaka belirli bir süre inkübe edilir ve daha sonra bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak için fosfat tamponlu salin ile yıkanır ve bir bloke edici tampon eklenir.

- Bir enzimle konjüge edilmiş sekonder bir antikor eklenir ve birincil antikora bağlanır.

- Son olarak, bir substrat eklenir ve renk değişikliğini değerlendirmek için bir mikropilaka okuyucu kullanılır (Shah ve Maghsoudlou, 2016).

2.9. HİPOTEZ VE AMAÇ

Bu tez çalışmasının hipotezi, Evre 3-Derece B periodontitis ve peri-implantitis lezyonlarında kompleman sisteminin klasik, lektin ve alternatif yollarının en az birinin farklı şekilde aktive olduğu yönünde kurulmuştur.

Bu hipotezi test etmek için bu tez çalışmasında kompleman sisteminin klasik, lektin bağımlı ve alternatif yollarının sağlıklı, Evre 3-Derece B periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerdeki aktivasyonuna işaret eden biyobelirteçlerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla aşağıdakiler hedeflenmiştir:

1. Sağlıklı bireylerin DOS'larında bulunan C1q, MBL, MASP-1, CFB, C3C, C5C, C3a ve C5b-9 (MAC) biyobelirteçlerinin araştırılması
2. Periodontitisli bireylerin DOS'larında bulunan C1q, MBL, MASP-1, CFB, C3C, C5C, C3a ve C5b-9 (MAC) biyobelirteçlerinin araştırılması
3. Peri-implantitisli bireylerin PİOS'larında bulunan C1q, MBL, MASP-1, CFB, C3C, C5C, C3a ve C5b-9 (MAC) biyobelirteçlerinin araştırılması



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 15 periodontal olarak sağlıklı bireyin, 15 evre-3 derece-B periodontitis ve 15 peri-implantitis hastasının DOS örneklerinin ELISA testi ile karşılaştırıldığı bir klinik çalışmadır.

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (TOGÜ) Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 83116987 – 80007 karar numaralı ve 11.2019 tarihli onayı alınarak gerçekleştirilmiştir (EK 1).

3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ

Bu araştırmaya Aralık 2019 - Mayıs 2020 tarihleri arasında TOGÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim dalına muayene ve tedavi amacıyla başvuran hastalardan çalışma kriterlerine uygun olan 18-65 yaşları arasında hastalar dâhil edilmiştir. Tüm hastalara yapılacak işlemler detaylı bir şekilde yazılı ve sözlü olarak bildirilmiş, hastaların onayı yazılı ve sözlü olarak alınmış ve aydınlatılmış onam formları imzalatılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş, sulkus ve cep ölçüm değerleri, plak indeksi (PI) ve gingival indeks (GI) değerleri kaydedilmiştir. DOS ve PİOS örnekleri, dişlerin ve implantların mesio-bukkal, mid-bukkal ve disto-bukkal olmak üzere 3 farklı bölgeden standardize kağıt bantlar (Periopaper®, Proflow Inc., NY, USA) kullanılarak alınmıştır.

3.2. DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

Bu araştırmaya; 18-65 yaş arası, sistemik hastalığı olmayan, son 6 ay içerisinde

periodontal tedavi görmemiş, son 6 ay içinde antibiyotik kullanmamış, sigara kullanmayan (daha önce hiç kullanmamış), implantları en az 3 yıldır fonksiyonda olan, bayanlar için; hamilelik ve laktasyon döneminde olmayan sağlıklı bireyler, Evre 3-Derece B periodontitis ve peri-implantitis teşhisi konulmuş hastalar dâhil edilmiştir. Aktif çiğneme fonksiyonu gören, karşıt çenesinde karşılığı olan posterior bir diş seçilmiştir. Bu kriterleri sağlamayan bireyler çalışmaya dâhil edilmemiştir.

3.3. PERİODONTAL SAĞLIK, PERİODONTİTİS VE PERİ-İMLANTİTİS İÇİN TEŞHİS KRİTERLERİ

Tüm klinik periodontal indeksler ve radyografiler toplanıp ölçümlerin yapılmasından sonra hastalar periodontal hastalık mevcudiyeti ve tipleri açısından değerlendirilmiştir. Periodontitis teşhisi Periodontal Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması için düzenlenen 2017 Uluslararası Dünya Çalıştayı'nda tanımlanan klinik ve radyografik kriterlere dayanarak konulmuştur(Caton ve ark., 2018).

Kontrol grubu için her dişin 6 bölgesinde yapılan değerlendirmeye göre %10'dan daha az alanda sondalamada kanama gösteren, <4 mm sondalama derinliğine sahip olan, ataşman kaybı bulunmayan ve radyografik kemik kaybı görülmeyen bireyler (Trombelli ve ark., 2018);

Periodontitis grubu için; en fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı ≥ 5 mm olan, radyografik kemik kaybı kökün en az orta üçlüsüne kadar uzanan, periodontal kaynaklı ≤ 4 diş kaybı olan; aynı zamanda son 5 yıl içinde <2 mm radyolojik kemik ve klinik ataşman kaybı olan, kemik kaybı/diş yüzdesi 0.25-1 arasında olan ve biyofilmle ilişkili yıkım gösteren bireyler (Tonetti ve ark., 2018);

Peri-implantitis grubu için; implant çevresinde nazik sondalamada kanama ve/veya süpürasyon görülen, en az bir bölgede ≥ 6 mm cep derinliği bulunan ve en az 1 bölgede ≥ 3 mm kemik kaybı olan bireyler çalışmaya dahil edildi (Tord Berglundh ve ark., 2018).

3.3.1. Klinik Periodontal Değerlendirmeler:

Ağız aynası, 0,5 mm çapı bulunan periodontal sond (Hu-Friedy Periodontal Sond, Hu-Friedy, Chicago, IL) ve peri-implant sond (Hu-Friedy Peri-implant Sond 11 COLORVUE™ PROBE KIT-PCV11KIT6, Hu-Friedy, Chicago, IL) yardımı ile çalışmaya dâhil edilen dişlerde ve implantlarda (KAK) (mm), ölçümleri yapılmıştır. KAK ile birlikte GI ve PI verileri toplanmış ve kaydedilmiştir.

3.3.2. Klinik Ataşman Kaybı

Periodontal ve peri-implant sondlar, çalışmaya dâhil edilen dişlerin diş eti oluklarına, periodontal ceplerine ve peri-implant ceplerine yerleştirilerek, dişlerin ve implantların uzun aksına paralel olacak şekilde, sondun kendi ağırlığından fazla bir kuvvet uygulamadan yerleştirilmiştir. Dişlerde birleşim sulkus/cep tabanından mine-sement sınırına kadar olan mesafe ve implantlarda peri-implant cep tabanından abutment-implant bağlantı noktasına kadar olan mesafe ölçülerek kaydedilmiştir.

3.3.3. Plak İndeksi (PI):

Silness ve Loe tarafından tanımlanan PI skorlarına göre, hastaların örnek alınacak dişlerin ve implantların hepsinden toplamda 6 bölge olmak üzere, mevcut dental plak

(MDP) miktarı değerlendirilerek 0 ile 3 arasında skorlama yapılmıştır. Skorlama aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır;

- 0: Plak yok
- 1: Serbest diş eti kenarı ve ona komşu olan alanda film şeklinde plak bulunmaktadır. Plak diş yüzeyine sondun sürtülmesi veya boyayıcı solüsyon uygulanarak görülebilmektedir.
- 2: Diş eti cebinde yumuşak plak birikimi vardır. Plak çıplak gözle görülebilmektedir.
- 3: Diş eti cebinde ve/veya diş yüzeyinde aşırı plak birikimi bulunmaktadır (Silness ve Loe, 1964).

3.3.4. Gingival İndeks (GI):

Hastaların örnek alınacak diş ve implantlarından toplamda 6 bölgede ödem, ülserasyon, enflamasyon miktarı, diş etinde sondlama ile veya spontan kanama, renk değişimi gibi faktörler değerlendirilerek 0 ile 3 arasında skorlama yapılmıştır. Loe ve Silness tarafından tanımlanan GI aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır;

- 0: Normal gingiva
- 1: Hafif şiddette enflamasyon, hafif renk değişikliği, ödem ve diş etinde kanama yok
- 2: Orta şiddette enflamasyon, kızarıklık, ödem ve sondlamada kanama
- 3: Şiddetli enflamasyon, belirgin kızarıklık, ödem, ülserasyon ve spontan kanamaya eğilim var (Loe ve Silness, 1963).

3.4. DOS VE PİOS ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

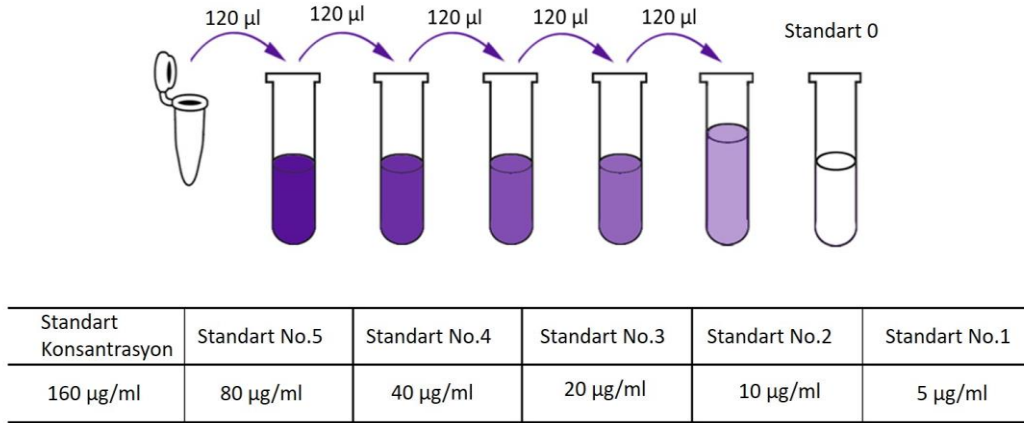
DOS ve PİOS örnekleri toplamadan önce, diş ve implant yüzeylerindeki supragingival plak pamuk pelet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. DOS ve PİOS miktarını azaltmamak için bölge hava spreyi ile kurutulmamıştır. İlgili bölgeler rulo pamuklarla izole edilmiştir. Kağıt bantlar diş eti oluğuna ve peri-implant oluğa yerleştirilerek 30 saniye beklenmiş ve böylece DOS ve PİOS'un kağıt bantlara geçmesi sağlanarak örnekler toplanmıştır.

Kağıt bantları yerleştirirken mekanik travma oluşturmamak için fazla kuvvet uygulanmamasına özen gösterilmiştir. Kağıt bantlar eppendorf tüplerine yerleştirilerek -80° C ortamda biyokimyasal analiz için bekletilmiştir.

3.5. ELİSA ANALİZLERİ

Bu tez çalışmasında DOS örneklerinin analizi sandviç ELISA yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Her bir biyobelirteç için bir kit 96 kutucuklu ELISA kitleri kullanılmıştır (Sunred Bio, Sunred Biological Technology Co., Lt, Shanghai, ÇİN ve BT Lab, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, ÇİN). ELISA analizleri üretici firmaların kullanım talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Analizin gerçekleştirileceği gün 1 saat önceden örneklerin bulunduğu eppendorf tüpleri buzdolabından (-20 °C) oda sıcaklığına çıkarılmıştır. Her eppendorf tüpüne her bir kağıt bant için 150 µL olmak üzere toplamda 450 µL Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) eklenmiştir. Kağıt bantlara emdirilmiş 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 mikroparka okuyucuda okutulmuştur. Standart çözeltilerin absorban konsantrasyon eğrisi çizilerek her bir örneğin, absorban değerine karşılık gelen konsantrasyonu belirlenmiştir.



Şekil 3.1: Sandviç ELISA Sırasında Standart Solüsyonların Hazırlanması

ELISA analizi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarında Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ, Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE ve Arş. Gör. Aslı KESKİN tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızda G*Power programı 3.1.9.2 versiyonu kullanılarak yapılan güç analizi sonucuna göre örneklem sayısı ve denek sayısı belirlenmiştir. 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 cinsiyet, palatinal/lingual cep derinliği, PI, GI, C5C, C3C, C5b-9, MBL ve C3a verileri One Way Anova ve Tukey testleri ile değerlendirildi.

Normal dağılıma uymayan yaş, bukkal KAS, C1q, MASP ve CFB ELISA verileri Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri ile değerlendirildi.

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



4.1. KLİNİK VERİLER

Tablo 4.1:Çalışma Gruplarında Demografik Veriler ve Klinik Ölçümler

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis	Peri-implantitis
Yaş	36,53±10,92	47,06±9,41 ^a	52,38±12,17 ^{a,b}
KAK Bukkal	0	6,73±1,53 ^a	7,61±1,80 ^a
KAK Palatinal/ Lingual	0	6,2±0,94 ^a	7,53±2,10 ^a
Gingival İndeks	0,60±0,50	2,13±0,74 ^a	1,84±0,55 ^a
Plak İndeksi	0,66±0,61	2,1±0,74 ^a	1,15±0,37 ^a

^ap<0,05 sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir. ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Gruplar arası yaş değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmektedir. (p<0,05). Sağlıklı grupla periodontitis grubu arasında ve periodontitis grubuyla peri-implantitis grubu arasında fark bulunmaktadır.

Gruplar arası bukkal ve palatinal/lingual KAK değerlendirildiğinde, sağlıklı grup ile periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı grup verileri, periodontitis ve peri-implantitis verilerinden düşük bulunmuştur. Periodontitis ve peri-implantitis grupları verileri ise benzer bulunmuştur.

Gruplar arası GI değerlendirildiğinde, sağlıklı grup ile periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı grup verileri, periodontitis ve peri-implantitis verilerinden düşük bulunmuştur. Periodontitis ve peri-implantitis grupları verileri ise benzer bulunmuştur.

Gruplar arası PI değerlendirildiğinde, sağlıklı grup ile periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Sağlıklı grup verileri, periodontitis ve peri-implantitis verilerinden düşük bulunmuştur. Periodontitis ve peri-implantitis grupları verileri ise benzer bulunmuştur.

4.2. ELİSA VERİLERİ

4.2.1. Klasik Yolak Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri

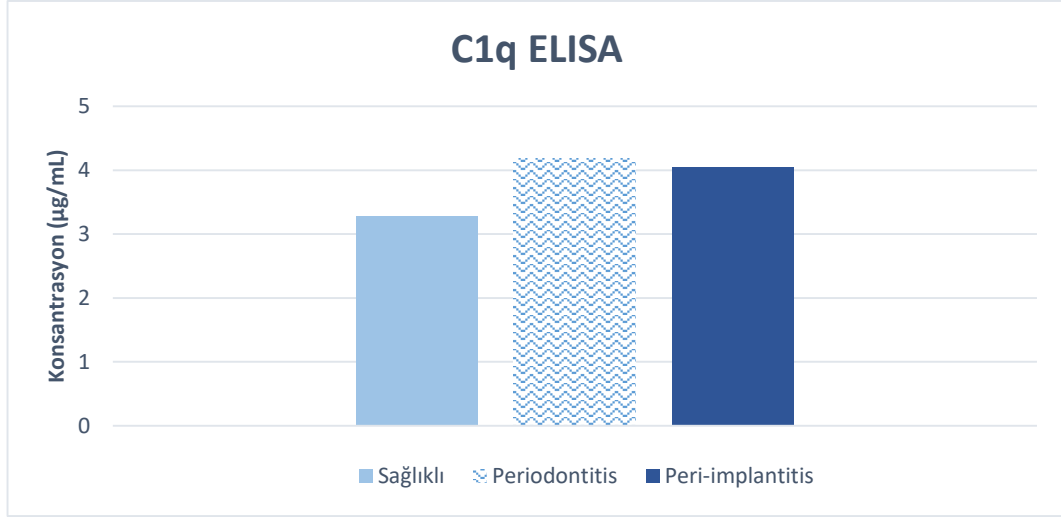
Tablo 4.2: Çalışma Gruplarında Klasik Yolak Biyobelirteçleri ELISA Verileri

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis	Peri-implantitis
C1q	3,27±1,72 Min:1,82 Maks:8,53 Ort:2,65	4,19±3,27 Min:1,44 Maks:13,13 Ort:2,53	4,05±3,20 Min:2,00 Maks:13,98 Ort:2,98
C3C*	12,25±1,49	11,71±1,74	13,10±2,56
C5C*	740,80±284,76	710,20±137,46 ^a	965,29±321,35 ^{a,b}
C3a*	57,27±6,55	62,54±4,39 ^a	36,32±23,03 ^{a,b}
C5b-9*	760,79±309,73	973,83±245,55 ^a	1044,05±179,83 ^{a,b}

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

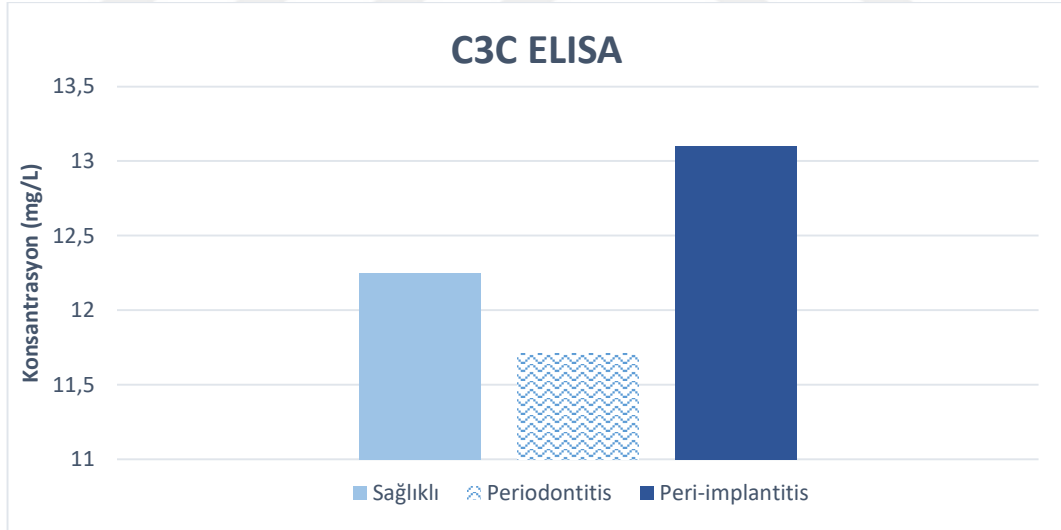
* ile işaretli biyobelirteçler üç yolak aktivasyonunda da yol almaktadır.

C1q verileri, non-parametrik olduğu için minimum, maksimum ve ortanca verileri de eklenmiştir.



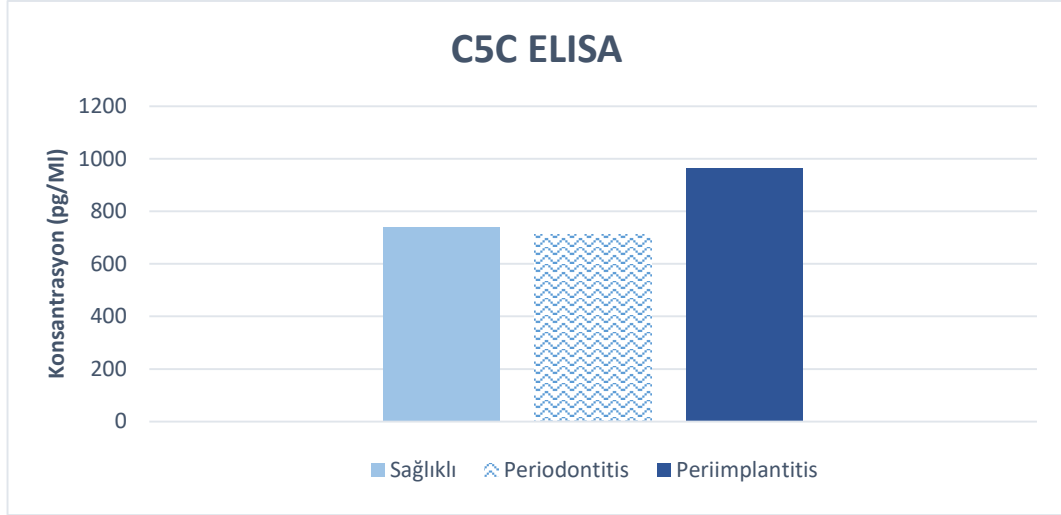
Şekil 4.2: C1q ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında C1q seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



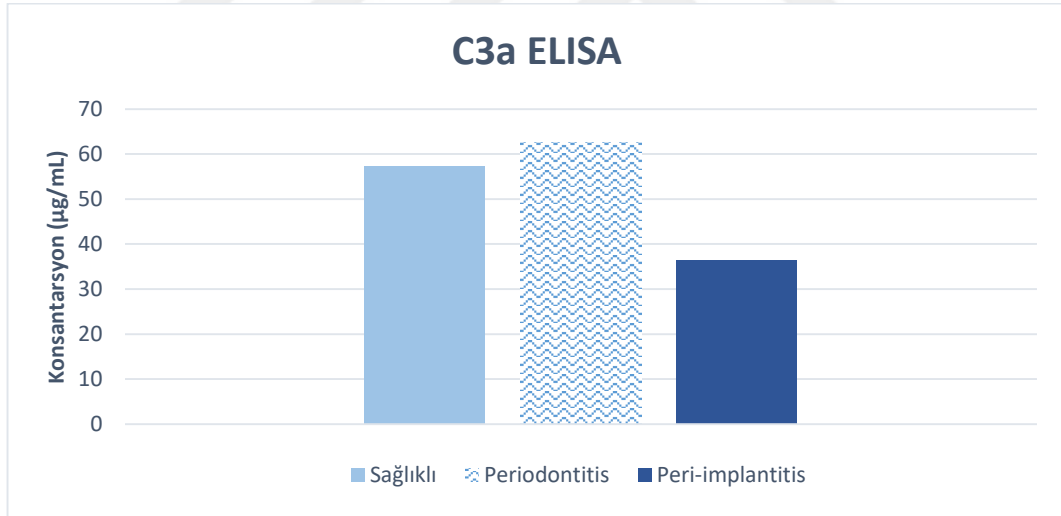
Şekil 4.3: C3C ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu peri-implantitis grubu, sağlıklı ve periodontitis gruplarından yüksek bulunsa da, gruplar arasında C3C seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



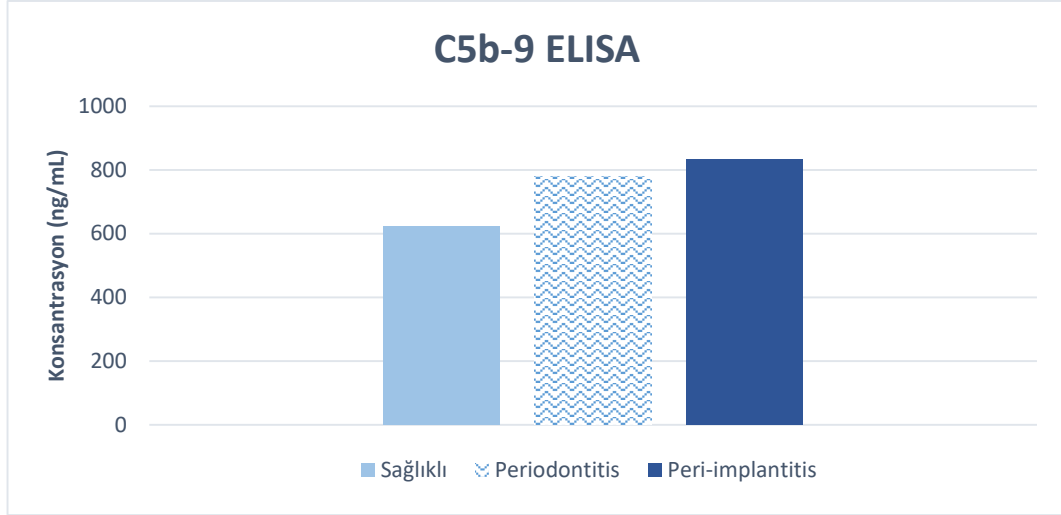
Şekil 4.4: C5C ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında C5C seviyelerinde peri-implantitis grubu, sağlıklı ve periodontitis gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).



Şekil 4.5: C3a ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında C3a seviyelerinde peri-implantitis grubu seviyesi, sağlıklı ve periodontitis gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$).



Şekil 4.6: C5b-9 ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında C5b-9 seviyeleri sağlıklı grupta, periodontitis ve peri-implantitis gruplarından anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Periodontitis ve peri-implantitis gruplarında ise birbirine benzer bulunmuştur.

4.2.2. Lektin Yolağı Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri

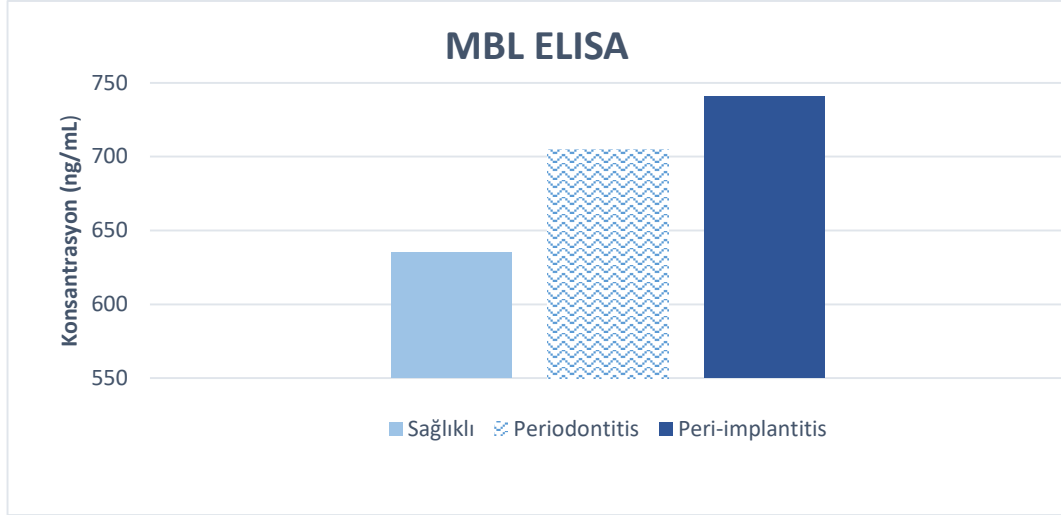
Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Lektin Yolağı Biyobelirteçleri ELISA Verileri

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis	Peri-implantitis
MBL	635,08±81,91	704,57±92,18	740,53±170,63
MASP-1	74,39±10,76 Min:47,02 Maks:88,47 Ort:75,99	101,77±34,68 ^a Min:74,33 Maks:203,91 Ort:90,30	103,47±24,38 ^a Min:68,74 Maks:155,92 Ort:95,80
C3C*	12,25±1,49	11,71±1,74	13,10±2,56
C5C*	740,80±284,76	710,20±137,46 ^a	965,29±321,35 ^{a,b}
C3a*	57,27±6,55	62,54±4,39 ^a	36,32±23,03 ^{a,b}
C5b-9*	760,79±309,73	973,83±245,55 ^a	1044,05±179,83 ^{a,b}

^ap<0,05 sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir. ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

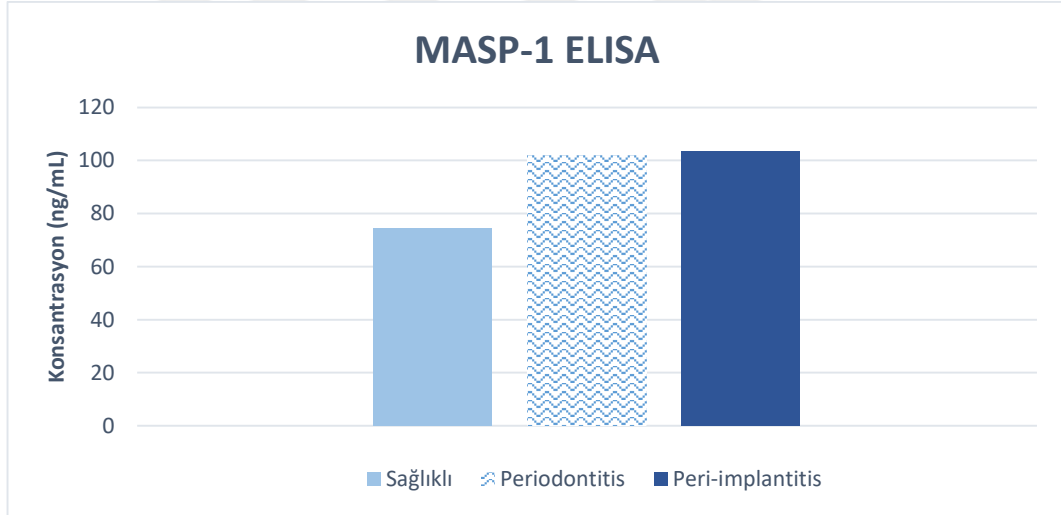
* ile işaretli biyobelirteçler üç yolak aktivasyonunda da yol almaktadır.

MASP-1 verileri, non-parametrik olduğu için minimum, maksimum ve ortanca verileri de eklenmiştir.



Şekil 4.7: MBL ELISA Seviyeleri

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



Şekil 4.8: MASP-1 ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu gruplar arasında MASP-1 seviyeleri sağlıklı grupta, periodontitis ve peri-implantitis gruplarından anlamlı derecede düşük bulunmuştur. ($p<0,05$). Periodontitis ve peri-implantitis gruplarında birbirine benzer bulunmuştur.

4.2.3. Alternatif Yolak Biyobelirteçleri Tablo ve Grafikleri

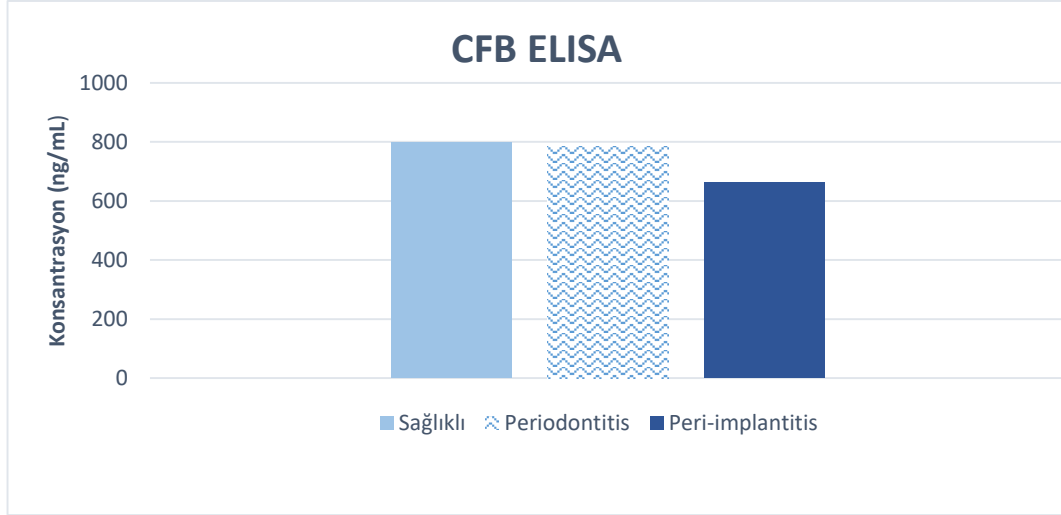
Tablo 4.4: Çalışma Gruplarında Alternatif Yolak Biyobelirteçleri ELISA Verileri

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis	Peri-implantitis
CFB	798,65±60,95 Min:734,92 Maks:947,07 Ort:787,32	785,50±107,24 Min:586,99 Maks:984,05 Ort:779,10	662,10±300,74 Min:120,58 Maks:932,68 Ort:839,71
C3C*	12,25±1,49	11,71±1,74	13,10±2,56
C5C*	740,80±284,76	710,20±137,46 ^a	965,29±321,35 ^{a,b}
C3a*	57,27±6,55	62,54±4,39 ^a	36,32±23,03 ^{a,b}
C5b-9*	760,79±309,73	973,83±245,55 ^a	1044,05±179,83 ^{a,b}

^ap<0,05 sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir. ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

* ile işaretli biyobelirteçler üç yolak aktivasyonunda da yol almaktadır.

CFB verileri, non-parametrik olduğu için minimum, maksimum ve ortanca verileri de eklenmiştir.



Şekil 4.9: CFB ELISA Seviyeleri

Yapılan ELISA analizleri sonucu CFB seviyeleri peri-implantitis grubunda diğer gruplardan düşük bulunmasına rağmen, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Periodontitis, tüm dünya toplumlarında oldukça sık görülen ve patojen mikroorganizmalar, konak yanıtı, çevresel ve sistemik faktörler gibi birçok etkenin neden olduğu multifaktöriyel ve enfeksiyöz karakterde, kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın klinik bulguları; diş çevresinde yoğun mikrobiyal dental plak formasyonu, diş etinde enflamasyona bağlı oluşan renk, şekil, kıvam ve yüzey özelliği (*stipling*) değişimi, sondalamada kanama, periodontal cep oluşumu ve/veya diş eti çekilmeleriyle birlikte görülen ataşman kaybı, dişlerde mobilite ve diş kaybıdır.

Periodontitis histopatolojik olarak; birleşim epitelinin mine-sement birleşiminin apikaline doğru göç ettiğini, diş destek dokularında, birleşim ve cep epitelinde çok sayıda PMNL, makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu gözlenir (Kang ve ark., 2003). Periodontitisin patofizyolojisinde ise, marjinal periodontal ligament liflerinin kaybına, birleşim epitelinin apikal migrasyonuna ve bakteriyel biyofilmin kök yüzeyi boyunca apikale yayılımına imkan veren konakçı kaynaklı proteinazların aktivasyonu rol oynamaktadır (Tonetti ve ark., 2018).

Dişler çevresinde periodontitis olarak görülen durum, implant çevresinde peri-implantitis olarak adlandırılmaktadır. Peri-implantitis, peri-implant mukozada enflamasyon ve destekleyici kemik kaybı ile karakterize olan patolojik bir durumdur (Tord Berglundh ve ark., 2018). Peri-implantitis lezyonları birleşim/cep epitelinin apikaline uzanır ve çok sayıda ve yoğunlukta plazma hücresi, makrofaj ve nötrofil içerir (Tord Berglundh ve ark., 2018).

Peri-implant hastalıkların, periodontal hastalıkların başlangıcında rol oynayan benzer etiyolojik faktörlerin varlığı ile başladığı belirtilmiştir (Heitz-Mayfield ve Lang, 2010). Ancak peri-implantitis lezyonlarında periodontitis lezyonlarına göre B lenfosit,

nötrofil ve osteoklast sayısının daha fazla ve aynı zamanda peri-implantitiste lezyonların daha büyük olduğunu söylenmiştir (Carcuac ve ark., 2013). Aynı zamanda, peri-implantitisin ilerlemesinin periodontitiste gözlemlenenden daha hızlı olduğu belirtilmektedir (Tord Berglundh ve ark., 2018).

Konak dokusunda doğal bağışıklık yanıtına ve bu yanıtta rol alan hücrelere ek olarak, bu sistemin önemli bir bileşeni de kompleman aktivasyonudur. Kompleman sistemi; klasik yolak, lektin bağımlı yolak ve alternatif yolak olmak üzere 3 ana yoldan oluşan uzun ve karmaşık bir süreçtir. Diğer immün ve fizyolojik sistemlerle işbirliği içinde, kompleman sistemi, normal doku ve organ gelişimine katkıda bulunur, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığı bütünleştirir ve koordine eder, apoptotik hücre temizlenmesine aracılık eder ve yaralanmadan sonra doku onarımını destekler (Hajishengallis ve Lambris, 2016; Ricklin ve ark., 2010).

Oral dokularda klasik yolak aktivasyonu, bakteriyel yüzeye bağlanan IgG veya IgM antikorunun, C1 kompleksine (C1q, C1r ve C1s) bağlanmasıyla başlar (Olsen ve ark., 2017). Courts ve arkadaşları, periodontitisli hastalarda DOS'ta C1'in dental plak ve diğer konakçı faktörler tarafından inaktive edildiğini ve bu inaktivasyonun da yaşla ilişkili olduğunu öne sürmüştür (Courts ve ark., 1977). Nieminen ve arkadaşları, *T. denticola*'nın kimotripsin benzeri proteinazının MMP-8 ve -9'u aktifleştirerek TIMP-1, TIMP-2 ve alfa-1-antikimotripsin ve kompleman C1q'yu inhibe ettiğini göstermiştir (Nieminen ve ark., 2018). Bu sonuçlar, periodontal hastalığa önemli katkıda bulunan *T. denticola*'nın C1q'yu inhibe ederek klasik yolu bloke ettiğini ve hastalık ilerlemesine katkıda bulunabileceğini göstermiştir. C1q ve kompleman aktivasyonu bağ doku homeostazı ile yakından ilişkilidir (Kapferer-Seebacher ve ark., 2016). Verardi ve arkadaşları, farklı periodontal dokulardan elde edilen fibroblast alt tiplerinin C1q ile indüksiyonu sonrasında

diş eti ve PDL fibroblastlarından kemokin salınımının önemli ölçüde arttığını, ancak granülasyon dokusunda bulunan fibroblastlarda bir değişiklik gözlenmediğini bildirmiştir. (Verardi ve ark., 2007). Tan ve arkadaşları, fibroblast hücre kültüründe C1q'nun adenilil siklaz aracılığıyla morfolojik defektlere neden olduğunu ve bunun da fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (Tan ve ark., 1998). Aynı çalışmada kompleman C1q'nun, ekstraselüler matriks aracılığıyla hücre yayılmasının inhibe ettiği belirtilmiştir. Yoshinaga ve arkadaşları, sıçanlarda gingival sulkusa LPS uygulamasının, ataşman kaybını, alveol kemik yıkımını ve RANKL(+) hücre sayısının arttığını, aynı zamanda C1q'nun birleşim epiteli ve komşu bağ dokusunda arttığını belirtmişlerdir (Yoshinaga ve ark., 2012). C1q'nun birleşim epiteli ve komşu bağ dokusunda LPS enjeksiyonu sonrasında artması yıkım sürecinde bağışıklık komplekslerinin oluşumuna işaret etmektedir. Bordin ve arkadaşları, epitel hücre yüzeylerinde C1q'ya özel reseptörlerin sentezlendiğini göstermiştir (Bordin ve ark., 1992). Bu durum diş eti epitel dokusunda C1q aktivasyonunun fazla olabileceğine işaret etmektedir. Verardi ve arkadaşları başka bir çalışmalarında, insan peri-implantitis lezyonlarından izole edilen fibroblastlarda C1q reseptör ekspresyonunu ve C1q'nun pro-enflamatuvar özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmalarında peri-implantitis lezyonlarından izole edilen fibroblastların fenotipik ekspresyonunda, sağlıklı dokulardan izole edilen fibroblastlardan fenotipik ve işlevsel olarak farklılık gösterdiğini bildirmiştir. (Verardi ve ark., 2011).

Bu çalışmanın bulguları ise C1q seviyesinin sağlıklı, periodontitisli ve peri-implantitisli gruplarda benzer seviyede olduğunu göstermiştir. Çalışmalar bakteriyel uyarım sonrasında birleşim epiteli ve bağ dokusunda C1q'nun artışını gösterse de bu çalışmanın bulguları bu durumu desteklememektedir.

Kompleman sisteminin lektin bağımlı aktivasyonunda ise, klasik yolak aktivasyonunda yer alan C1q yerine opsonin, mannoz bağlayıcı lektin (MBL), fikolinler ve MASP grupları yer almaktadır (Gal ve Ambrus, 2001). Lektin bağımlı yolak, MBL'nin patojen yüzeyindeki mannoz kalıntılarına bağlanmasıyla aktive edilir, bu da MBL ile ilişkili serin proteazları, MASP-1 ve MASP-2'yi (sırasıyla C1r ve C1s analogu) aktive eder (Thiel ve ark., 2000). MASP-1, zimojen olarak sentezlenir ve lektin yolağının patojen tanıma molekülleri, MBL ve fikolinlerle kompleks oluşturduğunda aktive olur (Matsushita ve Fujita, 1992). MASP-1 kompleman aktivasyonuna doğrudan dahil değildir, ancak C2'yi parçalayarak veya MASP-2'yi etkinleştirerek kompleman aktivasyonunun bir amplifikatörü olarak bir rol oynayabilir (Krogh ve ark., 2017). MASP-1 ayrıca fibrinojeni ve faktör XIII'i parçalayabilir ve pıhtılaşmaya dahil olabilir (Hess ve ark., 2012).

Tsutsumi ve arkadaşları, düşük MBL serum konsantrasyonlarının, periodontitis gelişimi için bir risk oluşturduğunu öne sürmüştür (Tsutsumi ve ark., 2009). Caribé ve arkadaşları, periodontitisli bireylerin yüksek MBL ve CRP konsantrasyonlarına sahip olduğunu ve bu konsantrasyonların periodontal tedavi sonrası önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir (Caribé ve ark., 2020). Maffei ve arkadaşları ise periodontitisli bireylerde MBL seviyelerinin anlamlı bir değişiklik göstermediğini ve MBL konsantrasyonlarının periodontitis gelişimi ile ilişkili bulunmadığını ifade etmiştir. (Maffei ve ark., 2005). Lindholm ve arkadaşları, yüksek patojenite gösteren bir oral bakteri olan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'in dış yüzey membran proteini A'nın, lektin bağımlı yolak aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (Lindholm ve ark., 2019). Lewkowicz ve arkadaşları, rekürrent aftöz stomatitisi olan hastaların serumlarında C3C, C4 ve MBL seviyelerinde bir artış bildirmiştir. (Lewkowicz ve ark., 2003).

Arend ve arkadaşları ise, romatoid artiritli farelerde artmış lektin ve alternatif kompleman yolları aktivasyonunu göstermiş ve bu aktivasyonun MASP-1 ve MASP-3 seviyeleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Arend ve ark., 2013). Debreczeni ve arkadaşları, MASP-1'in endotel geçirgenliğini ve nötrofil hücrelerinin endotele adezyonunu arttırdığını, aynı zamanda MASP-1'in endotel adezyonunda görev alan önemli moleküllerin yapısını değiştirdiğini göstermiştir (Debreczeni ve ark., 2019). Gulla ve arkadaşları, MASP-1'in trombin benzeri aktiviteye sahip olduğunu ve böylelikle fibrinojeni ve faktör XIII'i aktive edip hidrolize ettiğini göstermiştir (Gulla ve ark., 2010). Aynı zamanda MASP ile katalize edilen fibrinin mikroorganizmaların yüzeyinde birikmesinin ve polimerizasyonunun, enfeksiyonun yayılmasını sınırlayarak koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir. Krogh ve arkadaşları, tip 2 diyabete sahip insanlarda ve farelerde MASP-1 seviyesinin sağlıklı gruplardan daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (Krogh ve ark., 2017). Takahashi ve arkadaşları, MASP-1 ve MASP-3 proteinleri olmayan farelerde, alternatif yolk aktivasyonunun gerçekleşmediğini göstermişlerdir (Takahashi ve ark., 2010). Bunun sebebinin MASP-1 ve MASP-3'ün pro-faktör D'yi aktif faktör D'ye dönüştürememesi olduğunu belirtmişler, dolayısıyla MASP-1'in hem lektin hem de alternatif kompleman yollarının temel bir proteazı olduğunu bildirmişlerdir (Takahashi ve ark., 2010).

MBL ve MASP-1, lektin bağımlı yolk aktivasyonunda rol oynayan birbiriyle ilişkili proteinlerdir. Bu çalışmada ise, sağlıklı, periodontitisli ve peri-implantitisli gruplarda MBL seviyelerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. MASP-1 ise, kompleman aktivasyonu ile birlikte enflamasyonla güçlü bir ilişkisi bulunan bir serin proteinazdır ve yakın zamanda enflamasyonla olan ilişkisi daha çok çalışılmıştır. MASP-1, endotel hücrelerini aktive eder, endotel hücrelerinden sentezlenen enflamatuvar sitokin

sentezini ve nötrofil adezyonunu artırır (Debreczeni ve ark., 2019; Jani ve ark., 2014). Bu açıdan kompleman aktivasyonu ile birlikte periodontal enflamasyona farklı bir katkısı bulunmaktadır. Bu çalışmanın bulguları, sağlıklı grupta MASP-1 seviyelerinin, periodontitis ve peri-implantitis gruplarına oranla daha düşük olduğunu göstermiştir. MASP-1 seviyeleri, periodontitis ve peri-implantitis gruplarında ise benzer bulunmuştur. Bu bulgular MASP-1'in enflamatuvar durumlarda yüksek olduğunu gösteren Debreczeni ve Krogh'un çalışmalarıyla uyumluk göstermektedir.

CFB, alternatif yolun aktivasyonunda görev alan ve kanda tek zincirli olarak dolaşan bir polipeptittir (Campbell, 1987). Kompleman faktör D tarafından katalitik olmayan zincir Ba ve katalitik alt birim Bb'ye ayrışır (Holers, 2008). Aktif alt birim Bb, alternatif yol C3 dönüştürücü (C3C) oluşturmak için C3b ile birleşen bir serin proteazdır (Reid ve Porter, 1981). C3b'nin antijen yüzeylerinde kovalent birikimi (opsonizasyon), faktör B'nin bu yapıya bağlanmasına ve daha fazla C3'ü C3b'ye hidrolize eden ve böylelikle kompleman yanıtını güçlendiren alternatif yol C3C'ye (C3bBb) dönüşmesine yol açar (Ricklin ve ark., 2010).

Sridharan ve arkadaşları, kronik periodontitiste *P. gingivalis* miktarlarının, CFB miktarları ile güçlü bir doğru orantıya sahip olduğunu ve cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrasında CFB değerlerinin azaldığını bildirmiştir (Sridharan ve ark., 2019). Andrades ve arkadaşları, kompleman proteinlerinin kırık-kemik transformasyonunda önemli rol oynayabileceğini belirtmişler; kırık-kemik dinlenme ve çoğalma alanlarında kompleman proteinleri C3, Faktör B ve Properdin'in varlığını tespit ederek, alternatif kompleman yolunun kırık-kemik gelişiminde bir rol oynayabileceğini göstermişlerdir (Andrades ve ark., 1996). Hietala ve arkadaşları, klasik ve alternatif yollarla gerçekleşen kompleman aktivasyonunun, kırık-kemik dokusundaki doku yıkımıyla

ilişkili olduğunu ve C3 veya CFB eksikliği olan farelerde eklem bölgesinde yıkım gözlenmediğini bildirmiştir (Hietala ve ark., 2002). Niekrash ve arkadaşları, periodontitisli bireylerin tedavi öncesi ve tedavi sonrası CFB seviyelerini incelediğinde, CFB seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığını göstermişlerdir (Niekrash ve ark., 1984).

Bu çalışmanın bulgularına göre CFB düzeylerinde, sağlıklı, periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında herhangi bir farklılık bulunmamaktadır.

Kompleman C3, kompleman sisteminin yaklaşık üçte birini oluşturur ve sistemin en önemli bileşenidir (Sridharan ve ark., 2019). Dolayısıyla C3C proteini kritik bir öneme sahiptir çünkü üç aktivasyon yolunun tamamı proteaz C3C'nin homolog varyantlarını oluşturmaktadır (Dinasarapu ve ark., 2012). Bileşenin aktivasyonu, C3'ü C3a ve C3b'ye hidrolize eder. Hem DOS hem de serumdaki C3 kompleman dönüşümünün derecesi hastalığın şiddetini yansıtabilir (Henry ve ark., 1987). Yapılan bir genom çalışması, C3'ü periodontal hastalık gelişimde yer alan potansiyel bir gen olduğunu bildirmiştir (Zhan ve ark., 2014).

Grande ve arkadaşları, periodontitisli bireylerin sağlıklı bireylere oranla daha yüksek tükürük C3C seviyelerine sahip olduğunu ve periodontal tedavi sonrası C3C seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir (Grande ve ark., 2021). Sridharan ve arkadaşları, periodontitisli bireylerde periodontal tedavisi sonrasında, DOS'ta ve serumda C3 seviyelerinin benzer olduğunu belirtmişlerdir (Sridharan ve ark., 2019). *P. gingivalis*, C3'ü gingipain adı verilen bir grup sistein proteaz aracılığıyla enzimatik olarak parçalayarak kompleman kaskadını inhibe eder (Potempa ve Pike, 2009). Dolayısıyla C3 seviyelerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olabilir (Sridharan ve ark., 2019). Johannesen ve arkadaşları, hiperplastik protez stomatitisi olan dokularında

enflamatuvar hücre infiltrasyonu bölgesinde C3C'nin biriktiğini göstermiştir. (Johannessen ve ark., 1986). Aksine Athina ve arkadaşları, periodontitis hastalarının diş eti örneklerinde, C3C miktarlarının daha düşük seviyelerde olduğunu göstermişlerdir ve C3C'nin diş eti dokusunda az miktarda bulunmasını, kompleman kaskadında sıvı fazda bulunmasıyla ilişkilendirmişlerdir (Athina ve ark., 1987). Niekrash ve Patters, farklı düzeylerde periodontal hastalığı olan bireylerin C3, C4 ve CFB düzeylerini incelemiş ve C3'ün C3C tarafından hidrolizinin, cep derinliği, gingivitis ve sondalamada kanama ile anlamlı korelasyon gösterdiğini belirtmiştir (Ntekrash ve Patters, 1986). Lewkowicz ve arkadaşları, oral dokularda, sağlıklı ve rekürrent aftöz stomatitisi olan hastaların serumlarında C3C, C4 ve MBL seviyelerini incelemişler ve C3C düzeyinin hem aktif hem de remisyon döneminde rekürrens aftöz stomatitisi hastalarda sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Lewkowicz ve ark., 2003).

Bu sonuçlar, C3'ün C3C tarafından hidrolizinin periodontal tedaviyi takiben DOS'ta azaldığını ve enflamatuvar periodontal hastalığın patogenezinde kompleman aktivasyonu için bir rol olduğunu ileri sürmüştür. Bu çalışmada ise sağlıklı, periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında C3C düzeyleri benzer seviyelerde bulunmuştur.

Kompleman bileşeni C5C, kompleman sisteminin önemli bir elemanıdır ve bu nedenle periodontitisin patogenezinde rol alabilir (Chai ve ark., 2010). C5 bileşeni, C5 konvertaz (C5C) tarafından C5a ve C5b fragmanını oluşturmak üzere hidrolize edilir (Chai ve ark., 2010). Hem C3a hem de C5a, doğrudan mast hücrelerinin degranülasyonunu tetikleyen, vasküler geçirgenliğini ve düz kas kontraksiyonunu artıran anafilotoksin aktivitesine sahiptir (Klos ve ark., 2014). C5b fragmanı ise, istilacı mikroorganizmaların zarında MAK oluşumunu başlatmak için kompleman sistemi bileşenleri C6 ve C7 ile birleşir (Podack ve ark., 1980).

P. gingivalis, C5C benzeri enzimatik bir aktiviteye sahiptir ve bu sayede kompleman-TLR iletişimi aracılığıyla konak savunmasından kaçabilir (Hajishengallis ve Lambris, 2012). Bu durum periodontal mikrobiyotanın periodontitise neden olan disbiyotik bir duruma dönüşmesine yol açar.

G. Hajishengallis ve arkadaşları, sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında kommensal mikrobiyota ve kompleman sisteminin *P. gingivalis*'in neden olduğu alveol kemik kaybı için gerekli olduğunu belirtmiştir (Hajishengallis ve ark., 2011). Çalışmaları C3a ve C5a reseptör eksikliğinde *P. gingivalis*'in alveol kemik kaybına neden olmadığını göstermiştir. Wang ve arkadaşları, *P. gingivalis*'in C5C benzeri bir aktive göstererek, C5a aracılığı ile siklik adenosin monofosfat üretimini arttırdığını ve makrofajların bağışıklık fonksiyonunu baskılayarak patojen sağ kalımının arttığını belirtmişlerdir (Wang ve ark., 2010). Liang ve arkadaşları, *P. gingivalis*'in C5 konvertaz benzeri aktivitesiyle C5aR-TLR2 aktivasyonunu manipüle ettiğini, ayrıca enflamasyona ve kemik rezorpsiyonuna sebep olan IL-1b, IL-6 ve TNF-a'nın sentezini arttırdığını göstermiştir (Liang ve ark., 2011).

Çalışmalar, C5C ile periodontal enflamasyon arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde bu çalışmanın bulguları da en yüksek enflamasyona sahip olan peri-implantitis grubunda, sağlıklı ve periodontitis gruplarına göre daha yüksek C5C seviyeleri göstermiştir. Bu bulgular, C5C'nin periodontal ve peri-implant enflamasyondaki rolünü desteklemektedir.

C3a, C3b ile birlikte C3'ün hidroliziyle oluşan proteinlerden biridir. C3a, vazodilatasyon artışına, histaminin mast hücresi ve bazofillerden degranülasyonuna ve nötrofiller, makrofajlar ve eozinofil hücrelerinde fagositoz artışına yol açar (Andreas

Klos ve ark., 2009). Ayrıca C3a mast hücreleri ve eozinofiller için kemotaktiktir (Schraufstatter ve ark., 2009).

Literatürdeki genel bilgiler C3a'nın anaflatoksin özelliği sebebiyle pro-enflamatuvar bir protein olduğunu vurgulasa da, yapılan son çalışmalar C3a'nın hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar etkilere sahip olduğu göstermiş, hatta araştırmacılar C3a için tanımlayıcı olarak pro-enflamatuvar protein yerine “enflamatuvar modölatör” terimini kullanmaya davet edilmiştir (Coulthard ve Woodruff, 2015; Gao ve ark., 2020).

Hajishengallis ve arkadaşları, *P. gingivalis* ile indüklenen kemik kaybı için hem kommensal mikrobiyotanın hem de kompleman aktivasyonun gerekli olduğunu, bakteri bulundurmayan veya doğuştan C3a ve C5a reseptör eksikliği olan farelerde, *P. gingivalis* ile aşılama sonrası kemik kaybı gelişmediğini belirtmişlerdir (Hajishengallis ve ark., 2011). Hajishengallis ve arkadaşları, C3aR ve C5aR'nin dentritik hücrelerde *P. gingivalis*'in ölümünü kolaylaştırdığını belirtmişlerdir (Hajishengallis, Krauss, ve ark., 2017). Matsuoka ve arkadaşları, kemik remodelasyonu sürecinde osteoklastlardan C3a sentezlendiğini ve osteoklastlardan sentezlenen C3a'nın osteoblastogenezi uyardığını göstermişlerdir (Matsuoka ve ark., 2014). Rufas ve arkadaşları, C3a'nın dental pulpa kök hücrelerini uyardığını ve özellikle pulpa fibroblastlarının onarımına öncülük ettiğini göstermişlerdir (Rufas ve ark., 2016). Maekawa ve arkadaşları, farelerde maksimum periodontal enflamasyon, kemik kaybı ve disbiyotik mikrobiyotanın devamı için C3'ün gerekli olduğunu belirtmiştir (Maekawa ve ark., 2014). C3'ün inhibisyonunun periodontal enflamasyonu ve kemik kaybını azalttığı öne sürülmüştür.

Bu çalışmanın bulguları ise, peri-implantitis grubunda C3a'nın periodontitis ve sağlıklı gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiştir. Peri-implantitis,

periodontitise oranla daha şiddetli enflamatuvar lezyonlara neden olmaktadır. Peri-implantitisli bireylerde C3a'nın düşük olması, bu proteinin periodontal enflamasyondaki rolünü doğrulamaktadır.

C5b-9, kompleman bileşenleri C5b, C6, C7, C8 ve birkaç C9 molekülünden oluşur (Bloom ve ark., 2016). Kompleman aktivasyonu ve C5b-9 oluşumu, bakteriler, parazitler, zarflı virüsler ve anormal konakçı hücreler gibi birçok farklı hücre yüzeyinde meydana gelebilir (Dunkelberger ve Song, 2010). C5b-9, hedef hücrelerin hücre zarı yapısını bozan porlara sebep olarak hücre lizisine ve ölümüne yol açar (Janeway Jr ve ark., 2001). Yeni aktive edilmiş C5b, bir C5b-6 kompleksi oluşturmak için C6'ya bağlanır, ardından C7, C5b-6 kompleksine bağlanarak C5b-6-7 kompleksini oluşturur (DiScipio ve ark., 1999; Preissner ve ark., 1985). C5b-6-7 kompleksi, üç zincirden (alfa, beta ve gama) oluşan C8'e bağlanarak C5b-6-7-8 kompleksini oluşturur (Brannen ve Sodetz, 2007). C5b-6-7-8 daha sonra C9'a bağlanır ve C9'un polimerizasyonunda bir katalizör görevi görür (Marazziti ve ark., 1988; Stanley ve ark., 1985). Öldürücü olmayan (sublitik) C5b-9 konsantrasyonları veya ara C5b-8 kompleksi, fosfolipaz A2 aktivasyonunu, araşidonik asit salınımını ve prostaglandin E2 sentezini indüklemektedir (Cybulsky ve ark., 2000; Daniels ve ark., 1990; Niculescu ve Rus, 2001).

CD59 glikoproteini, C5b-9 inhibitör proteini (MAK-IP) adıyla da bilinen, insanlarda CD59 geni tarafından kodlanan bir proteindir (Maio ve ark., 1998). CD59, bir glikofosfatidilinositol (GPI) çapası aracılığıyla konakçı hücrelere bağlanır (Brodsky, 2014). Kompleman aktivasyonu, C5b678'in konakçı hücreler üzerinde birikimine yol açtığında, CD59, C9'un polimerize olmasını ve C5b-9 oluşmasını önleyebilir (Maio ve ark., 1998). Yapılan çalışmalar, sıçanlarda CD59'u kodlayan genlerin silinmesinin veya CD59'un selektif terapötik kontrolünün sağlanmasının, antijenle indüklenen artriti ve

romatoid artiriti önlemede oldukça etkili olduğunu göstermektedir (Fischetti ve ark., 2007; Williams ve ark., 2004)

Bloom ve arkadaşları, CD59a'nın normal kemik homeostazını kontrol edebildiğini, aynı zamanda güçlü kemik morfolojisinin oluşumu için gerekli olduğuna dair kanıtlar göstermiş ve ilk kez, CD59a'nın kemik büyümesi ve homeostazın bir düzenleyicisi olduğunu ortaya koymuştur (Bloom ve ark., 2016). Cybulsky ve arkadaşları, C5b-9'un membran fosfolipazlarını aktive ederek araşidonik asit, lökotrienler ve sitokin sentezi de dahil olmak üzere çeşitli hücresel aktiviteleri uyardığını bildirmişlerdir (Cybulsky ve ark., 2000). Jeanneau ve arkadaşları, lipoteikoik asit ile uyarılan pulpa fibroblastlarının ürettiği C5b-9'un işlevsel olduğunu ve *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sanguinis*'u öldürebildiğini göstermiş, bununla birlikte kompleman sistemi aktivasyonu sonucu üretilen MAK'ın karyojenik bakterileri yok etmede rol oynadığını belirtmiştir.(Jeanneau ve ark., 2015). Daha önce karboksipeptidaz B'nin, C5a'yı inaktive ederek romatoid artritte eklem erozyonuna karşı koruduğunu gösteren Lepus ve arkadaşları, başka bir eklem hastalığı olan osteoartritte sinoviyal sıvıda karboksipeptidaz B seviyelerinin anormal derecede yüksek olduğunu ve karboksipeptidaz B'nin, C5b-9 oluşumunu ve C5b-9 aracılı hücre lizisini inhibe ettiğini göstermişlerdir (Lepus ve ark., 2013). Poole ve arkadaşları, *P. gingivalis*'in, Apolipoprotein E aracılığıyla C3a ve C5b-9 konsantrasyonlarında artış ile kompleman sistemi aktivasyona katkıda bulunduğunu göstermiştir (Poole ve ark., 2015).

Bu çalışmada ise C5b-9 düzeyi, sağlıklı grupta periodontitis ve peri-implantitis gruplarına oranla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Periodontitis ve peri-implantitis gruplarında ise benzer seviyelerde bulunmuştur. C5b-9 varlığı enflamatuvar durumlarla ilişkiliyken, C5b-9'un inhibe edilmesi kemik dokusunda büyüme ve homeostazın

sağlanmasıyla ilişkili bulunmuştur (Bloom ve ark., 2016; Poole ve ark., 2015). Bu bulgular bu durumu desteklemektedir.

Bu çalışmada klinik verilerin değerlendirilmesinde Löe-Silness gingival indeksi ve Silness-Löe plak indeksleri kullanılmıştır (Loe & Silness, 1963; Silness & Loe, 1964). Bu indekslerin bireylerin periodontal sağlık durumlarının belirlenmesinde en güvenilir yöntemlerden oldukları birçok kez vurgulanmıştır (Harks ve ark., 2016; Kinane ve ark., 2015; Toiviainen ve ark., 2015). Tüm katılımcıların periodontal klinik sağlık durumlarını gösteren başlangıç klinik parametreleri (KAK, Gİ, Pİ) kaydedilmiştir. Bulgulara göre KAK, GI ve PI; sağlıklı grupta diğer iki gruba göre daha düşük bulunmuştur. Periodontitis ve peri-implantitis gruplarının değerleri ise birbirine benzer bulunmuştur.

Bağışıklık sistemi, sağlığı korumak için kritik bir bileşen olmasına rağmen, yaşlanmanın nicel ve nitel modifikasyonları ile yeni bir karakter kazanabilmektedir (Ebersole ve ark., 2016). Bu çalışmaya, sistemik bir hastalığı bulunmayan ve sigara kullanmayan 18-65 yaş arası katılımcılar dahil edilmiş ve sağlıklı, periodontitis ve peri-implantitis olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Sağlıklı grubun yaş ortalaması en düşük, peri-implantitis grubunun yaş ortalaması ise en yüksektir. Gruplar arası bireylerde yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmasına rağmen periodontitis ve peri-implantitis grupları arasındaki farklılık nispeten daha düşüktür(p değeri gelince yaz.)

Bu çalışmada DOS ve PİOS'ta çalışılan biyobelirteç seviyelerinin analizi için uygulaması kolay, maliyeti düşük, kantitatif olarak değerlendirilebilen, bilim dünyasında kabul görmüş, hızlı sonuç veren, spektrofotometrede objektif olarak değerlendirilebilen sandviç ELISA yöntemi tercih edilmiştir (E. Engvall, 2005; Lequin, 2005).

DOS ve PİOS analizleriyle ilgili çeşitli yöntemler kullanılmaktadır ve elde edilen sıvı hacminin ölçülmesi de bu yöntemlerden biridir. Periotron, çok az miktarlarda sıvı hacmini ölçebilen ve ıslanan kağıt bant boyunca kapasitanstaki değişikliklerin ölçümü prensibiyle çalışan bir cihazdır (Gotoh ve ark., 2013; Sehdev ve ark., 2017). Bu değişiklik, DOS'un hacmiyle ilişkilendirilebilecek bir dijital okumaya dönüştürülür. Araştırmacılar, Periotron'un yaklaşık 0.1-1.2 μ l aralığında en doğru sonucu verdiğini düşünmektedir (Wassall ve Preshaw, 2016). Periotron'un doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi için çalışma protokolü ve kalibrasyon aşamalarının büyük bir hassasiyetle takip edilmesi gerekmektedir (Wassall ve Preshaw, 2016). Wassal ve Preshaw'ın görüşü, analiz esnasında potansiyel bir hata olasılığını ortadan kaldırdığı için, orijinal DOS hacmini hesaplamak yerine numune başına 30 saniyelik toplam mediyatör içeriğinin raporlanmasının daha doğru sonuçlar verdiği yönündedir (Wassall ve Preshaw, 2016). DOS hacminin kaydedilmesi, enflamasyonun genel bir göstergesi olarak kendi başına yararlıdır, ancak potansiyel olarak DOS örneğindeki mediyatör konsantrasyonlarının hesaplanması daha yararlı olabilir (Wassall ve Preshaw, 2016). Bu çalışmada da DOS ve PİOS hacmi yerine, içeriğindeki biyobelirteçlerin konsantrasyonları analiz edilmiştir.

Bu çalışmada, gruplar arasında MASP-1, C5C, C3a ve C5b-9 seviyelerinde istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmanın bulguları belirli limitasyonlar göz önünde bulundurularak yorumlanmalıdır.

İlk olarak bu çalışmada DOS ve PİOS örneği analizleri gerçekleştirilmiştir. DOS ve PİOS, periodontal ve peri-implant dokulara özgü yerel sitokin seviyelerinin tespiti için kullanılan önemli örneklerdendir. Ancak serum, tükürük ya da diş eti biyopsisi gibi farklı örneklerin bu biyobelirteçler açısından araştırılması kompleman sisteminin periodontitis

ve peri-implantitis patogenezindeki rolünün detaylı olarak anlaşılması için bilgi sağlayacaktır.

İkincil olarak bu çalışmada sadece ELISA analizi kullanılmıştır. ELISA'ya ilaveten daha kantitatif sonuçlar veren, daha hassas teknikler olan RT-PZR veya Western Blot gibi analizlerin kullanımı, kompleman sisteminin periodontitis ve peri-implantisteki rolünün anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Üçüncül olarak bu çalışmada klasik kompleman aktivasyonu için bir, lektin bağımlı kompleman aktivasyonu için iki, alternatif kompleman aktivasyonu için bir ve her üç yolda da yer alan dört proteinin seviyeleri tespit edilmiştir. Bu proteinlerle sinerjistik ya da antagonist etki gösteren farklı biyobelirteçlerin araştırılması kompleman sisteminin periodontal enflamasyondaki rolüyle ilgili daha çok bilgi verecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Peri-implantitis, artan dental implant cerrahisi uygulamaları sonucunda daha yüksek sıklıkla karşılaşılan ve dental implantların başarı ve sağ kalımını etkileyen önemli bir hastalıktır. Bu tez çalışmasında periodontitis ve patogenezi henüz periodontitis kadar aydınlatılamamış olan peri-implantitis hastalıklarına sahip DOS ve PİOS örneklerinde kompleman sisteminin farklı yolaklarının aktivasyonlarını gösteren proteinlerin seviyeleri belirlenmiştir. Bu çalışmadan çıkarılacak sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Bu çalışmada sağlıklı, periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden elde edilen DOS ve PİOS örneklerinde kompleman sistemi aktivasyonunda herhangi bir yolağın baskınlığı görülmemiştir.
2. Bu çalışmada sağlıklı, periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden elde edilen DOS ve PİOS örneklerinde üç farklı kompleman yolağı aktivasyonuna spesifik proteinler olan C1q, MBL ve CFB'nin ve aynı zamanda C3C'nin seviyelerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.
3. Bu çalışmada sağlıklı gruptaki bireylerde MASP-1 ve C5b-9 seviyeleri, periodontitis ve peri-implantitis gruplarındaki bireylere oranla daha düşük bulunmuştur.
4. Bu çalışmada C3a seviyeleri peri-implantitis grubunda diğer gruplara oranla daha düşük bulunmuştur.
5. Bu çalışmada C5C seviyeleri peri-implantitis grubunda diğer gruplara oranla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Pro-enflamatuvar göstergeler olan MASP-1 ve C5b-9'un sağlıklı grupta en düşük olması, C5C'nin peri-implantitis grubunda en yüksek olması bu biyobelirteçlerin periodontal dokulardaki enflamasyonla ilişkisini öne sürmektedir. Ek olarak C3a

düzeyleri, peri-implantitis grubunda anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Bu durum C3a proteininin anti-enflamatuvar yönünü vurgulamaktadır.



7. KAYNAKLAR

- Adonogianaki, E., Mooney, J., Wennstrom, J. L., Lekholm, U., & Kinane, D. F. (1995). Acute-phase proteins and immunoglobulin G against *Porphyromonas gingivalis* in peri-implant crevicular fluid: a comparison with gingival crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res*, 6(1), 14-23. doi: 10.1034/j.1600-0501.1995.060102.x
- Alhajj, M., & Farhana, A. J. S. (2020). Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).
- Amara, U., Rittirsch, D., Flierl, M., Bruckner, U., Klos, A., Gebhard, F., . . . Huber-Lang, M. (2008). Interaction Between the Coagulation and Complement System. *Current Topics in Complement Ii*, 632, 71-79. doi: 10.1007/978-0-387-78952-1_6
- Andrades, J. A., Nimni, M. E., Becerra, J., Eisenstein, R., Davis, M., & Sorgente, N. (1996). Complement proteins are present in developing endochondral bone and may mediate cartilage cell death and vascularization. *Experimental Cell Research*, 227(2), 208-213. doi: DOI 10.1006/excr.1996.0269
- Araujo, M. G., & Lindhe, J. J. J. o. p. (2018). Peri-implant health. 89, S249-S256.
- Arend, W. P., Mehta, G., Antonioli, A. H., Takahashi, M., Takahashi, K., Stahl, G. L., . . . Banda, N. K. (2013). Roles of adipocytes and fibroblasts in activation of the alternative pathway of complement in inflammatory arthritis in mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 190(12), 6423-6433. doi: 10.4049/jimmunol.1300580
- Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, 4(1), 1-6. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.1
- Ataoglu, H., Alptekin, N. O., Haliloglu, S., Gursel, M., Ataoglu, T., Serpek, B., & Durmus, E. J. C. o. i. r. (2002). Interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid: Correlation with clinical parameters and effect of smoking. 13(5), 470-476.

- Athina, A., Papaconstantinou, N., Johannessen, A. C., & Kristoffersen, T. J. A. o. S. (1987). Deposits of immunoglobulins, complement, and immune complexes in inflamed human gingiva. *45*(3), 187-193.
- Atsuta, I., Ayukawa, Y., Kondo, R., Oshiro, W., Matsuura, Y., Furuhashi, A., . . . Koyano, K. (2016). Soft tissue sealing around dental implants based on histological interpretation. *J Prosthodont Res*, *60*(1), 3-11. doi: 10.1016/j.jpor.2015.07.001
- Attström, R., & Egelberg, J. J. J. o. P. R. (1971). Presence of leukocytes within the gingival crevices during developing gingivitis in dogs. *6*(2), 110-114.
- Attström, R., Laurel, A. B., Lahsson, U., & Sjöholm, A. J. J. o. p. r. (1975). Complement factors in gingival crevice material from healthy and inflamed gingiva in humans. *10*(1), 19-27.
- Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, *72*, 4-15. doi: 10.1016/j.peptides.2015.04.012
- Baker, P. J. (2000). The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes Infect*, *2*(10), 1181-1192. doi: 10.1016/s1286-4579(00)01272-7
- Baliban, R. C., Sakellari, D., Li, Z. K., 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. doi: 10.1111/jcpe.12037
- Bamberg, C. E., Mackay, C. R., Lee, H., Zahra, D., Jackson, J., Lim, Y. S., . . . Gerard, N. P. (2010). The C5a Receptor (C5aR) C5L2 Is a Modulator of C5aR-mediated Signal Transduction. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(10), 7633-7644. doi: 10.1074/jbc.M109.092106

- 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. doi: 10.1111/prd.12107
- Becker, S. T., Beck-Broichsitter, B. E., Graetz, C., Dorfer, C. E., Wiltfang, J., & Hasler, R. (2014). Peri-implantitis versus periodontitis: functional differences indicated by transcriptome profiling. *Clin Implant Dent Relat Res*, 16(3), 401-411. doi: 10.1111/cid.12001
- Beikler, T., Peters, U., Prior, K., Eisenacher, M., & Flemmig, T. F. (2008). Gene expression in periodontal tissues following treatment. *BMC Med Genomics*, 1(1), 30. doi: 10.1186/1755-8794-1-30
- Belibasakis, G. N. (2014). Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Arch Oral Biol*, 59(1), 66-72. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.09.013
- Belibasakis, G. N., Charalampakis, G., Bostanci, N., & Stadlinger, B. (2015). Peri-implant infections of oral biofilm etiology. *Adv Exp Med Biol*, 830, 69-84. doi: 10.1007/978-3-319-11038-7_4
- Beltrame, M. H., Boldt, A. B., Catarino, S. J., Mendes, H. C., Boschmann, S. E., Goeldner, I., & Messias-Reason, I. (2015). MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Molecular immunology*, 67(1), 85-100. doi: 10.1016/j.molimm.2015.03.245
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). *Biochemistry*: New York: WH Freeman.
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., . . . Figuero, E. J. J. o. p. (2018). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. 89, S313-S318.
- Berglundh, T., Gislason, O., Lekholm, U., Sennerby, L., & Lindhe, J. (2004). Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *Journal of clinical periodontology*, 31(5), 341-347. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00486.x

- Berglundh, T., Lindhe, J., Ericsson, I., Marinello, C. P., Liljenberg, B., & Thomsen, P. (1991). The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical Oral Implants Research*, 2(2), 81-90. doi: 10.1034/j.1600-0501.1991.020206.x
- Berglundh, T., Lindhe, J., Jonsson, K., & Ericsson, I. (1994). The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 21(3), 189-193. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00302.x
- Berglundh, T., Zitzmann, N. U., & Donati, M. (2011). Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *Journal of clinical periodontology*, 38 Suppl 11, 188-202. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01672.x
- Bertolini, D. R., Nedwin, G. E., Bringman, T. S., Smith, D. D., & Mundy, G. R. (1986). Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature*, 319(6053), 516-518. doi: 10.1038/319516a0
- Bexborn, F., Andersson, P. O., Chen, H., Nilsson, B., & Ekdahl, K. N. (2008). The tick-over theory revisited: formation and regulation of the soluble alternative complement C3 convertase (C3(H₂O)Bb). *Molecular immunology*, 45(8), 2370-2379. doi: 10.1016/j.molimm.2007.11.003
- Bloom, A. C., Collins, F. L., Van't Hof, R. J., Ryan, E. S., Jones, E., Hughes, T. R., . . . Williams, A. S. (2016). Deletion of the membrane complement inhibitor CD59a drives age and gender-dependent alterations to bone phenotype in mice. *Bone*, 84, 253-261. doi: 10.1016/j.bone.2015.12.014
- Bonte, B., & van Steenberghe, D. (1991). Masseteric post-stimulus EMG complex following mechanical stimulation of osseointegrated oral implants. *J Oral Rehabil*, 18(3), 221-229. doi: 10.1111/j.1365-2842.1991.tb00051.x

- Bordin, S., Smith, M., Ghebrehiwet, B., Oda, D., & Page, R. C. (1992). Smooth muscle and epithelial cells express specific binding sites for the C1q component of complement. *Clin Immunol Immunopathol*, 63(1), 51-57. doi: 10.1016/0090-1229(92)90093-4
- Boshra, H., Li, J., & Sunyer, J. O. (2006). Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol*, 20(2), 239-262. doi: 10.1016/j.fsi.2005.04.004
- Bosshardt, D. D., & Lang, N. P. (2005). The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res*, 84(1), 9-20. doi: 10.1177/154405910508400102
- Bostanci, N., & Belibasakis, G. N. (2018). Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontology 2000*, 76(1), 68-84. doi: 10.1111/prd.12154
- Bostanci, N., Heywood, W., Mills, K., Parkar, M., Nibali, L., & Donos, N. (2010). Application of Label-Free Absolute Quantitative Proteomics in Human Gingival Crevicular Fluid by LC/MSE (Gingival Exudatome). *Journal of Proteome Research*, 9(5), 2191-2199. doi: 10.1021/pr900941z
- Bostanci, N., Ramberg, P., Wahlander, A., Grossman, J., Jonsson, D., Barnes, V. M., & Papapanou, P. N. (2013). Label-free quantitative proteomics reveals differentially regulated proteins in experimental gingivitis. *J Proteome Res*, 12(2), 657-678. doi: 10.1021/pr300761e
- Brånemark, P.-I., & Chien, S. (2005). *The osseointegration book: from calvarium to calcaneus*: Quintessence Publishing Company.
- Brannen, C. L., & Sodetz, J. M. J. M. i. (2007). Incorporation of human complement C8 into the membrane attack complex is mediated by a binding site located within the C8 β MACPF domain. 44(5), 960-965.
- Brodsky, R. A. (2014). Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, 124(18), 2804-2811. doi: 10.1182/blood-2014-02-522128
- Bullon, P., Fioroni, M., Goteri, G., Rubini, C., & Battino, M. (2004). Immunohistochemical analysis of soft tissues in implants with healthy and peri-implantitis condition, and aggressive

- periodontitis. *Clin Oral Implants Res*, 15(5), 553-559. doi: 10.1111/j.1600-0501.2004.01072.x
- Buser, D., Weber, H. P., Donath, K., Fiorellini, J. P., Paquette, D. W., & Williams, R. C. (1992). Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *Journal of periodontology*, 63(3), 225-235. doi: 10.1902/jop.1992.63.3.225
- Butko, P., Nicholson-Weller, A., & Wessels, M. R. (1999). Role of complement component C1q in the IgG-independent opsonophagocytosis of group B streptococcus. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 163(5), 2761-2768.
- Campbell, R. D. (1987). The molecular genetics and polymorphism of C2 and factor B. *Br Med Bull*, 43(1), 37-49. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072175
- Caranza, F. A., Newman, M. G., & Glickman's, I. J. P., .—470p. (1996). Clinical periodontology.
- Carcuac, O., Abrahamsson, I., Albouy, J. P., Linder, E., Larsson, L., & Berglundh, T. (2013). Experimental periodontitis and peri-implantitis in dogs. *Clin Oral Implants Res*, 24(4), 363-371. doi: 10.1111/clr.12067
- Carcuac, O., & Berglundh, T. (2014). Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *J Dent Res*, 93(11), 1083-1088. doi: 10.1177/0022034514551754
- Caribé, P. M. V., Villar, C. C., Romito, G. A., Pacanaro, A. P., Strunz, C. M. C., Takada, J. Y., . . . Mansur, A. d. P. J. J. o. p. (2020). Influence of the treatment of periodontal disease in serum concentration of sirtuin 1 and mannose-binding lectin. 91(7), 900-905.
- 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: Wiley Online Library.

- Cavalla, F., Bigueti, C. C., Garlet, T. P., Trombone, A. P. F., & Garlet, G. P. (2018). Inflammatory pathways of bone resorption in periodontitis *Pathogenesis of periodontal diseases* (pp. 59-85): Springer.
- Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(1), 57-80. doi: 10.1111/prd.12002
- Chai, L., Song, Y. Q., Zee, K. Y., & Leung, W. K. (2010). Single nucleotide polymorphisms of complement component 5 and periodontitis. *Journal of periodontal research*, 45(3), 301-308. doi: 10.1111/j.1600-0765.2009.01234.x
- Charalampakis, G., Leonhardt, A., Rabe, P., & Dahlen, G. (2012). Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study. *Clin Oral Implants Res*, 23(9), 1045-1054. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02258.x
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., . . . Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204-7218. doi: 10.18632/oncotarget.23208
- Chiu, I. M., von Hehn, C. A., & Woolf, C. J. (2012). Neurogenic inflammation and the peripheral nervous system in host defense and immunopathology. *Nat Neurosci*, 15(8), 1063-1067. doi: 10.1038/nn.3144
- Cimasoni, G. (1983). Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*, 12, III-VII, 1-152.
- Cochran, D. (2000). The scientific basis for and clinical experiences with Straumann implants including the ITI® Dental Implant System: A consensus report Note. 11, 33-58.
- Cochran, D. L., Hermann, J. S., Schenk, R. K., Higginbottom, F. L., & Buser, D. (1997). Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implanto-gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *Journal of periodontology*, 68(2), 186-198. doi: 10.1902/jop.1997.68.2.186

- Consolaro, A., Carvalho, R., Francischone Jr, C. E., Consolaro, M., & Francischone, C. E. J. D. P. J. O. (2010). Saucerization of osseointegrated implants and planning of simultaneous orthodontic clinical cases. *15*, 19-30.
- Cornelini, R., Artese, L., Rubini, C., Fioroni, M., Ferrero, G., Santinelli, A., & Piattelli, A. (2001). Vascular endothelial growth factor and microvessel density around healthy and failing dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, *16*(3), 389-393.
- Coulthard, L. G., & Woodruff, T. M. J. T. J. o. I. (2015). Is the complement activation product C3a a proinflammatory molecule? Re-evaluating the evidence and the myth. *194*(8), 3542-3548.
- Courts, F. J., Boackle, R. J., Fudenberg, H. H., & Silverman, M. S. J. J. o. D. R. (1977). Detection of functional complement components in gingival crevicular fluid from humans with periodontal disease. *56*(3), 327-331.
- Cybulsky, A. V., Takano, T., Papillon, J., & McTavish, A. J. J. K. i. (2000). Complement-induced phospholipase A2 activation in experimental membranous nephropathy¹ See Editorial by Shankland, p. 1204. *57*(3), 1052-1062.
- Damgaard, C., Holmstrup, P., Van Dyke, T. E., & Nielsen, C. H. (2015). The complement system and its role in the pathogenesis of periodontitis: current concepts. *Journal of periodontal research*, *50*(3), 283-293. doi: 10.1111/jre.12209
- Daniels, R. H., Houston, W. A., Petersen, M. M., Williams, J. D., Williams, B. D., & Morgan, B. P. (1990). Stimulation of human rheumatoid synovial cells by non-lethal complement membrane attack. *Immunology*, *69*(2), 237-242.
- Darveau, R. P. (2009). The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. *DNA Cell Biol*, *28*(8), 389-395. doi: 10.1089/dna.2009.0864
- Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol*, *8*(7), 481-490. doi: 10.1038/nrmicro2337

- Debreczeni, M. L., Nemeth, Z., Kajdacsi, E., Schwaner, E., Mako, V., Masszi, A., . . . Cervenak, L. (2019). MASP-1 Increases Endothelial Permeability. *Frontiers in immunology*, *10*, 991. doi: 10.3389/fimmu.2019.00991
- Dinasarapu, A. R., Chandrasekhar, A., Sahu, A., & Subramaniam, S. J. U. M. P. (2012). Complement C3. *1*(2).
- DiScipio, R. G., Linton, S. M., & Rushmere, N. K. (1999). Function of the factor I modules (FIMS) of human complement component C6. *The Journal of biological chemistry*, *274*(45), 31811-31818. doi: 10.1074/jbc.274.45.31811
- Dunkelberger, J. R., & Song, W. C. (2010). Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res*, *20*(1), 34-50. doi: 10.1038/cr.2009.139
- Ebersole, J. L., Graves, C. L., Gonzalez, O. A., Dawson, D., 3rd, Morford, L. A., Huja, P. E., . . . Wallet, S. M. (2016). Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontology 2000*, *72*(1), 54-75. doi: 10.1111/prd.12135
- Eddie Ip, W., Takahashi, K., Alan Ezekowitz, R., & Stuart, L. M. J. I. r. (2009). Mannose-binding lectin and innate immunity. *230*(1), 9-21.
- Ehrlich, P. (1902). *Ueber die vielheit der complemente des serums*.
- 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. doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03107.x
- Engvall, E. (2005). Perspective on the historical note on EIA/ELISA by Dr. R.M. Lequin. *Clin Chem*, *51*(12), 2225. doi: 10.1373/clinchem.2005.059618
- Engvall, E., & Perlmann, P. J. T. J. o. I. (1972). Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA: III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *109*(1), 129-135.

- Ericsson, I., Berglundh, T., Marinello, C., Liljenberg, B., & Lindhe, J. J. C. o. i. r. (1992). Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *3*(3), 99-103.
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O., Andersen, P., Girardin, S. J. C., & Immunology, E. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *147*(2), 227-235.
- Fiorellini, J., Ishikawa, S., & Kim, D. J. C. p. P. E. S. (2006). Gingival inflammation. 355-361.
- Fischetti, F., Durigutto, P., Macor, P., Marzari, R., Carretta, R., & Tedesco, F. (2007). Selective therapeutic control of C5a and the terminal complement complex by anti-C5 single-chain Fv in an experimental model of antigen-induced arthritis in rats. *Arthritis Rheum*, *56*(4), 1187-1197. doi: 10.1002/art.22492
- Fosbrink, M., Niculescu, F., & Rus, H. (2005). The role of c5b-9 terminal complement complex in activation of the cell cycle and transcription. *Immunol Res*, *31*(1), 37-46. doi: 10.1385/IR:31:1:37
- Frakking, F. N., Brouwer, N., van Eijkelenburg, N. K., Merkus, M. P., Kuijpers, T. W., Offringa, M., & Dolman, K. M. (2007). Low mannose-binding lectin (MBL) levels in neonates with pneumonia and sepsis. *Clinical and experimental immunology*, *150*(2), 255-262. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03479.x
- Frank, M. M., & Fries, L. F. (1991). The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol Today*, *12*(9), 322-326. doi: 10.1016/0167-5699(91)90009-I
- Fryer, A. D., Stein, L. H., Nie, Z., Curtis, D. E., Evans, C. M., Hodgson, S. T., . . . Jacoby, D. B. (2006). Neuronal eotaxin and the effects of CCR3 antagonist on airway hyperreactivity and M2 receptor dysfunction. *J Clin Invest*, *116*(1), 228-236. doi: 10.1172/JCI25423
- Gaboriaud, C., Thielens, N. M., Gregory, L. A., Rossi, V., Fontecilla-Camps, J. C., & Arlaud, G. J. (2004). Structure and activation of the C1 complex of complement: unraveling the puzzle. *Trends in immunology*, *25*(7), 368-373. doi: 10.1016/j.it.2004.04.008

- Gaffen, S. L., & Hajishengallis, G. (2008). A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res*, 87(9), 817-828. doi: 10.1177/154405910808700908
- Gal, P., & Ambrus, G. (2001). Structure and function of complement activating enzyme complexes: C1 and MBL-MASPs. *Current Protein & Peptide Science*, 2(1), 43-59. doi: 10.2174/1389203013381242
- Gane, J., & Stockley, R. (2012). Mechanisms of neutrophil transmigration across the vascular endothelium in COPD. *Thorax*, 67(6), 553-561. doi: 10.1136/thoraxjnl-2011-200088
- Gao, S., Cui, Z., & Zhao, M. H. (2020). The Complement C3a and C3a Receptor Pathway in Kidney Diseases. *Frontiers in immunology*, 11, 1875. doi: 10.3389/fimmu.2020.01875
- Gargiulo, A. W., Wentz, F. M., & Orban, B. J. T. J. o. P. (1961). Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. 32(3), 261-267.
- Garlet, G. P. (2010). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*, 89(12), 1349-1363. doi: 10.1177/0022034510376402
- Giannobile, W. V. (2008). Host-response therapeutics for periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 79(8 Suppl), 1592-1600. doi: 10.1902/jop.2008.080174
- Gotoh, S., Watanabe, Y., & Fujibayashi, T. (2013). Development of an electronic device for sialometry of minor salivary glands. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 116(3), 301-305. doi: 10.1016/j.oooo.2013.04.008
- Grande, M. A., Belstrom, D., Damgaard, C., Holmstrup, P., Thangaraj, S. S., Nielsen, C. H., & Palarasah, Y. (2021). Complement split product C3c in saliva as biomarker for periodontitis and response to periodontal treatment. *Journal of periodontal research*, 56(1), 27-33. doi: 10.1111/jre.12788

- Grant, M. M., Brock, G. R., Matthews, J. B., & Chapple, I. L. (2010). Crevicular fluid glutathione levels in periodontitis and the effect of non-surgical therapy. *Journal of clinical periodontology*, 37(1), 17-23. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01504.x
- Graves, D. (2008). Cytokines That Promote Periodontal Tissue Destruction. *Journal of periodontology*, 79(8), 1585-1591. doi: 10.1902/jop.2008.080183
- Gualini, F., & Berglundh, T. (2003). Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *Journal of clinical periodontology*, 30(1), 14-18. doi: DOI 10.1034/j.1600-051X.2003.300103.x
- Gulla, K. C., Gupta, K., Krarup, A., Gal, P., Schwaeble, W. J., Sim, R. B., . . . Hajela, K. (2010). Activation of mannan-binding lectin-associated serine proteases leads to generation of a fibrin clot. *Immunology*, 129(4), 482-495. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03200.x
- Hajishengallis, G. (2009). Porphyromonas gingivalis–host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? , 11(6-7), 637-645.
- Hajishengallis, G. (2010). Complement and periodontitis. *Biochem Pharmacol*, 80(12), 1992-2001. doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.017
- Hajishengallis, G., Abe, T., Maekawa, T., Hajishengallis, E., & Lambris, J. D. (2013). *Role of complement in host–microbe homeostasis of the periodontium*. Paper presented at the Seminars in immunology.
- Hajishengallis, G., Kajikawa, T., Hajishengallis, E., Maekawa, T., Reis, E. S., Mastellos, D. C., . . . Lambris, J. D. (2019). Complement-Dependent Mechanisms and Interventions in Periodontal Disease. *Frontiers in immunology*, 10, 406. doi: 10.3389/fimmu.2019.00406
- Hajishengallis, G., Krauss, J. L., Jotwani, R., & Lambris, J. D. (2017). Differential capacity for complement receptor-mediated immune evasion by Porphyromonas gingivalis depending on the type of innate leukocyte. *Mol Oral Microbiol*, 32(2), 154-165. doi: 10.1111/omi.12161

- Hajishengallis, G., & Lambris, J. D. (2012). Complement and dysbiosis in periodontal disease. *Immunobiology*, 217(11), 1111-1116. doi: 10.1016/j.imbio.2012.07.007
- Hajishengallis, G., & Lambris, J. D. J. I. r. (2016). More than complementing Tolls: complement–Toll-like receptor synergy and crosstalk in innate immunity and inflammation. 274(1), 233-244.
- Hajishengallis, G., Liang, S., Payne, M. A., Hashim, A., Jotwani, R., Eskan, M. A., . . . Curtis, M. A. (2011). Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host & Microbe*, 10(5), 497-506. doi: 10.1016/j.chom.2011.10.006
- Hajishengallis, G., Reis, E. S., Mastellos, D. C., Ricklin, D., & Lambris, J. D. (2017). Novel mechanisms and functions of complement. *Nat Immunol*, 18(12), 1288-1298. doi: 10.1038/ni.3858
- Hajishengallis, G., Shakhathreh, M. A., Wang, M., & Liang, S. (2007). Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of *Porphyromonas gingivalis* and negates its virulence in vivo. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 179(4), 2359-2367. doi: 10.4049/jimmunol.179.4.2359
- Hannoodee, S., & Nasuruddin, D. N. J. S. (2020). Acute Inflammatory Response.
- Harboe, M., & Mollnes, T. E. (2008). The alternative complement pathway revisited. *J Cell Mol Med*, 12(4), 1074-1084. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00350.x
- Heesterbeek, D. A. C., Angelier, M. L., Harrison, R. A., & Rooijackers, S. H. M. (2018). Complement and Bacterial Infections: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Applications. *J Innate Immun*, 10(5-6), 455-464. doi: 10.1159/000491439
- Heitz-Mayfield, L. J. (2008). Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *Journal of clinical periodontology*, 35(8 Suppl), 292-304. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01275.x

- Heitz-Mayfield, L. J., & Lang, N. P. (2010). Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontology* 2000, 53(1), 167-181. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00348.x
- Henry, C. A., Ungchusri, T., Charbeneau, T. D., & Winford, T. E. (1987). Relationships of serum opsonins and complement in human experimental gingivitis. *Journal of periodontology*, 58(3), 177-186. doi: 10.1902/jop.1987.58.3.177
- Hermann, J. S., Cochran, D. L., Hermann, J. S., Buser, D., Schenk, R. K., & Schoolfield, J. D. (2001). Biologic Width around one-and two-piece titanium implants: A histometric evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Clinical oral implants research*, 12(6), 559-571.
- Hess, K., Ajjan, R., Phoenix, F., Dobo, J., Gal, P., & Schroeder, V. (2012). Effects of MASP-1 of the complement system on activation of coagulation factors and plasma clot formation. *PLoS One*, 7(4), e35690. doi: 10.1371/journal.pone.0035690
- Hienz, S. A., Paliwal, S., & Ivanovski, S. (2015). Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J Immunol Res*, 2015, 615486. doi: 10.1155/2015/615486
- Hietala, M. A., Jonsson, I. M., Tarkowski, A., Kleinau, S., & Pekna, M. (2002). Complement deficiency ameliorates collagen-induced arthritis in mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 169(1), 454-459. doi: 10.4049/jimmunol.169.1.454
- Holers, V. M. (2008). The spectrum of complement alternative pathway-mediated diseases. *Immunol Rev*, 223(1), 300-316. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00641.x
- Hourcade, D. E. (2006). The role of properdin in the assembly of the alternative pathway C3 convertases of complement. *The Journal of biological chemistry*, 281(4), 2128-2132. doi: 10.1074/jbc.M508928200
- Hughes, C. E., & Nibbs, R. J. B. (2018). A guide to chemokines and their receptors. *Febs Journal*, 285(16), 2944-2971. doi: 10.1111/febs.14466

- Ivanovski, S., & Lee, R. (2018). Comparison of peri-implant and periodontal marginal soft tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 76(1), 116-130. doi: 10.1111/prd.12150
- Jackson, J. R., Seed, M. P., Kircher, C. H., Willoughby, D. A., & Winkler, J. D. (1997). The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J*, 11(6), 457-465.
- Jacobs, R., & van Steenberghe, D. (1994). Role of periodontal ligament receptors in the tactile function of teeth: a review. *Journal of periodontal research*, 29(3), 153-167. doi: 10.1111/j.1600-0765.1994.tb01208.x
- Jalili, A., Shirvaikar, N., Marquez-Curtis, L., Qiu, Y. Y., Korol, C., Lee, H., . . . Janowska-Wieczorek, A. (2010). Fifth complement cascade protein (C5) cleavage fragments disrupt the SDF-1/CXCR4 axis: Further evidence that innate immunity orchestrates the mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Experimental Hematology*, 38(4), 321-332. doi: 10.1016/j.exphem.2010.02.002
- Janeway, C. A., Capra, J. D., Travers, P., & Walport, M. (1999). *Immunobiology: the immune system in health and disease*.
- Janeway Jr, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. J. (2001). The complement system and innate immunity *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition*: Garland Science.
- Jani, P. K., Kajdacs, E., Megyeri, M., Dobo, J., Doleschall, Z., Futosi, K., . . . Cervenak, L. (2014). MASP-1 Induces a Unique Cytokine Pattern in Endothelial Cells: A Novel Link between Complement System and Neutrophil Granulocytes. *Plos One*, 9(1), e87104. doi: ARTN e87104
10.1371/journal.pone.0087104
- Jeanneau, C., Rufas, P., Rombouts, C., Giraud, T., Dejou, J., & About, I. J. J. o. d. r. (2015). Can pulp fibroblasts kill cariogenic bacteria? Role of complement activation. 94(12), 1765-1772.

- Jiao, Y., Hasegawa, M., & Inohara, N. (2014). The Role of Oral Pathobionts in Dysbiosis during Periodontitis Development. *J Dent Res*, 93(6), 539-546. doi: 10.1177/0022034514528212
- Johannessen, A. C., Isacsson, G., Nilsen, R., & Bergendal, T. (1986). In situ characterization of the inflammatory cell infiltrates of hyperplastic denture stomatitis. *Acta Odontol Scand*, 44(3), 185-192. doi: 10.3109/00016358609026572
- Kaklamanos, E. G., & Tsalikis, L. (2002). A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *J Int Acad Periodontol*, 4(2), 49-59.
- Kang, B. Y., Choi, Y. K., Choi, W. H., Kim, K. T., Choi, S. S., Kim, K., & Ha, N. J. J. A. o. p. r. (2003). Two polymorphisms of Interleukin-4 gene in Korean adult periodontitis. 26(6), 482.
- Kapferer-Seebacher, I., Pepin, M., Werner, R., Aitman, T. J., Nordgren, A., Stoiber, H., . . . Consorti, M. B. P. E. (2016). Periodontal Ehlers-Danlos Syndrome Is Caused by Mutations in C1R and C1S, which Encode Subcomponents C1r and C1s of Complement. *American Journal of Human Genetics*, 99(5), 1005-1014. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.019
- Kinane, D. F., Attstrom, R., & European Workshop in Periodontology group, B. (2005). Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 32 Suppl 6(Suppl 6), 130-131. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00823.x
- Klos, A., Tenner, A. J., Johswich, K.-O., Ager, R. R., Reis, E. S., & Köhl, J. J. M. i. (2009). The role of the anaphylatoxins in health and disease. 46(14), 2753-2766.
- Klos, A., Tenner, A. J., Johswich, K. O., Ager, R. R., Reis, E. S., & Kohl, J. (2009). The role of the anaphylatoxins in health and disease. *Molecular immunology*, 46(14), 2753-2766. doi: 10.1016/j.molimm.2009.04.027

- Klos, A., Wende, E., Wareham, K. J., & Monk, P. N. (2014). International Union of Pharmacology. LXXXVII. Complement Peptide C5a, C4a, and C3a Receptors (vol 65, pg 500, 2013). *Pharmacological Reviews*, 66(2), 466-466.
- Koka, S. (1998). The implant-mucosal interface and its role in the long-term success of endosseous oral implants: a review of the literature. *Int J Prosthodont*, 11(5), 421-432.
- Krogh, S. S., Holt, C. B., Steffensen, R., Funck, K. L., Hoyem, P., Laugesen, E., . . . Hansen, T. K. (2017). Plasma levels of MASP-1, MASP-3 and MASP-4 in patients with type 2 diabetes: influence of glycaemic control, body composition and polymorphisms in the MASP1 gene. *Clinical and experimental immunology*, 189(1), 103-112. doi: 10.1111/cei.12963
- Lambris, J. D., Ricklin, D., & Geisbrecht, B. V. (2008). Complement evasion by human pathogens. *Nat Rev Microbiol*, 6(2), 132-142. doi: 10.1038/nrmicro1824
- Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*, 16(12), 745-759. doi: 10.1038/s41579-018-0089-x
- Lamster, I. B. J. A. o. P. (1997). Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. 2(1), 123-137.
- Lee, H. M., Wysoczynski, M., Liu, R., Shin, D. M., Kucia, M., Botto, M., . . . Ratajczak, M. Z. (2010). Mobilization studies in complement-deficient mice reveal that optimal AMD3100 mobilization of hematopoietic stem cells depends on complement cascade activation by AMD3100-stimulated granulocytes. *Leukemia*, 24(3), 573-582. doi: 10.1038/leu.2009.271
- Lepus, C., Song, J., Wang, Q., Wagner, C., Lindstrom, T., Chu, C., . . . rheumatism. (2013). Carboxypeptidase B serves as a protective mediator in osteoarthritis.
- Lequin, R. M. (2005). Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry*, 51(12), 2415-2418. doi: 10.1373/clinchem.2005.051532

- Lewkowicz, N., Lewkowicz, P., Kurnatowska, A., Banasik, M., Glowacka, E., Cedzynski, M., . . . Tchorzewski, H. (2003). Innate immune system is implicated in recurrent aphthous ulcer pathogenesis. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 32(8), 475-481. doi: DOI 10.1034/j.1600-0714.2003.00181.x
- Liang, S., Krauss, J. L., Domon, H., McIntosh, M. L., Hosur, K. B., Qu, H., . . . Hajishengallis, G. J. T. J. o. i. (2011). The C5a receptor impairs IL-12–dependent clearance of *Porphyromonas gingivalis* and is required for induction of periodontal bone loss. 186(2), 869-877.
- Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Liljenberg, B., & Marinello, C. (1992). Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res*, 3(1), 9-16. doi: 10.1034/j.1600-0501.1992.030102.x
- Lindholm, M., Min Aung, K., Nyunt Wai, S., & Oscarsson, J. (2019). Role of OmpA1 and OmpA2 in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Aggregatibacter aphrophilus* serum resistance. *Journal of oral microbiology*, 11(1), 1536192. doi: 10.1080/20002297.2018.1536192
- Listgarten, M. A., Buser, D., Steinemann, S. G., Donath, K., Lang, N. P., & Weber, H. P. (1992). Light and Transmission Electron-Microscopy of the Intact Interfaces between Non-Submerged Titanium-Coated Epoxy-Resin Implants and Bone or Gingiva. *Journal of Dental Research*, 71(2), 364-371. doi: Doi 10.1177/00220345920710020401
- Longhi, M. P., Harris, C. L., Morgan, B. P., & Gallimore, A. J. T. i. i. (2006). Holding T cells in check—a new role for complement regulators? , 27(2), 102-108.
- Löe, H., & Silness, J. J. A. o. s. (1963). Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. 21(6), 533-551.
- Lu, J., & Kishore, U. (2017). C1 Complex: An Adaptable Proteolytic Module for Complement and Non-Complement Functions. *Frontiers in immunology*, 8, 592. doi: 10.3389/fimmu.2017.00592

- Lukácsi, S., Mácsik-Valent, B., Nagy-Baló, Z., Kovács, K. G., Kliment, K., Bajtay, Z., & Erdei, A. J. F. I. (2020). Utilization of complement receptors in immune cell–microbe interaction. *594*(16), 2695-2713.
- Macedo, A. C., & Isaac, L. (2016). Systemic Lupus Erythematosus and Deficiencies of Early Components of the Complement Classical Pathway. *Frontiers in immunology*, *7*, 55. doi: 10.3389/fimmu.2016.00055
- Macedo, J. P., Pereira, J., Vahey, B. R., Henriques, B., Benfatti, C. A. M., Magini, R. S., . . . Souza, J. C. M. (2016). Morse taper dental implants and platform switching: The new paradigm in oral implantology. *Eur J Dent*, *10*(1), 148-154. doi: 10.4103/1305-7456.175677
- Maekawa, T., Abe, T., Hajishengallis, E., Hosur, K. B., DeAngelis, R. A., Ricklin, D., . . . Hajishengallis, G. (2014). Genetic and Intervention Studies Implicating Complement C3 as a Major Target for the Treatment of Periodontitis. *Journal of Immunology*, *192*(12), 6020-6027. doi: 10.4049/jimmunol.1400569
- Maffei, G., Brouwer, N., Dolman, K. M., van der Velden, U., Roos, D., & Loos, B. G. (2005). Plasma levels of mannan-binding lectin in relation to periodontitis and smoking. *Journal of periodontology*, *76*(11), 1881-1889. doi: 10.1902/jop.2005.76.11.1881
- Maio, M., Brasoveanu, L. I., Coral, S., Sigalotti, L., Lamaj, E., Gasparollo, A., . . . Fonsatti, E. (1998). Structure, distribution, and functional role of protectin (CD59) in complement-susceptibility and in immunotherapy of human malignancies (Review). *Int J Oncol*, *13*(2), 305-318. doi: 10.3892/ijo.13.2.305
- Mantovani, A. (1999). The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunol Today*, *20*(6), 254-257. doi: 10.1016/s0167-5699(99)01469-3
- Marazziti, D., Eggertsen, G., Fey, G. H., & Stanley, K. K. (1988). Relationships between the Gene and Protein-Structure in Human-Complement Component C9. *Biochemistry*, *27*(17), 6529-6534. doi: DOI 10.1021/bi00417a050

- Marinello, C. P., Berglundh, T., Ericsson, I., Klinge, B., Glantz, P. O., & Lindhe, J. (1995). Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 22(6), 475-479. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb00180.x
- Markiewski, M. M., Nilsson, B., Ekdahl, K. N., Mollnes, T. E., & Lambris, J. D. (2007). Complement and coagulation: strangers or partners in crime? *Trends in immunology*, 28(4), 184-192. doi: 10.1016/j.it.2007.02.006
- Mathern, D. R., & Heeger, P. S. (2015). Molecules Great and Small: The Complement System. *Clin J Am Soc Nephrol*, 10(9), 1636-1650. doi: 10.2215/CJN.06230614
- Matsuoka, K., Park, K. A., Ito, M., Ikeda, K., & Takeshita, S. (2014). Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res*, 29(7), 1522-1530. doi: 10.1002/jbmr.2187
- Matsushita, M. (2010). Ficolins: complement-activating lectins involved in innate immunity. *J Innate Immun*, 2(1), 24-32. doi: 10.1159/000228160
- Matsushita, M., & Fujita, T. (1992). Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *The Journal of experimental medicine*, 176(6), 1497-1502. doi: 10.1084/jem.176.6.1497
- Matsushita, M., & Fujita, T. (1995). Cleavage of the third component of complement (C3) by mannose-binding protein-associated serine protease (MASP) with subsequent complement activation. *Immunobiology*, 194(4-5), 443-448. doi: 10.1016/S0171-2985(11)80110-5
- Matsushita, M., Thiel, S., Jensenius, J. C., Terai, I., & Fujita, T. (2000). Proteolytic activities of two types of mannose-binding lectin-associated serine protease. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 165(5), 2637-2642. doi: 10.4049/jimmunol.165.5.2637

- Meyerov, R., Feller, L., Lemmer, J., & Khammissa, R. J. S. A. D. J. (2012). Peri-implant mucositis and periimplantitis: clinical and histopathological characteristics and treatment. *67*(3), 122-126.
- Misch, C. (2004). *Dental implant prosthetics-E-book*: Elsevier Health Sciences.
- Misch, C. (2014). An implant is not a tooth: a comparison of periodontal indices. *46*.
- Mombelli, A., Muller, N., & Cionca, N. (2012). The epidemiology of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, *23 Suppl 6*, 67-76. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02541.x
- Monje, A., Insua, A., & Wang, H. L. (2019). Understanding Peri-Implantitis as a Plaque-Associated and Site-Specific Entity: On the Local Predisposing Factors. *Journal of Clinical Medicine*, *8*(2), 279. doi: ARTN 279
10.3390/jcm8020279
- Moon, I. S., Berglundh, T., Abrahamsson, I., Linder, E., & Lindhe, J. (1999). The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant - An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*, *26*(10), 658-663. doi: DOI 10.1034/j.1600-051X.1999.261005.x
- Morgan, B. P., Boyd, C., & Bubeck, D. (2017). *Molecular cell biology of complement membrane attack*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. L. J. J. o. c. p. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *45*, S17-S27.
- Mutsaers, S. E., Bishop, J. E., McGrouther, G., & Laurent, G. J. (1997). Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*, *29*(1), 5-17. doi: 10.1016/s1357-2725(96)00115-x
- Nazar Majeed, Z., Philip, K., Alabsi, A. M., 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. *Dis Markers*, 2016, 1804727. doi: 10.1155/2016/1804727
- Niculescu, F., & Rus, H. (2001). Mechanisms of signal transduction activated by sublytic assembly of terminal complement complexes on nucleated cells. *Immunologic Research*, 24(2), 191-199. doi: Doi 10.1385/Ir:24:2:191
- Niekrash, C. E., Patters, M. R., & Lang, N. P. (1984). The relationship of complement cleavage in gingival fluid to periodontal diseases. *Journal of periodontal research*, 19(6), 622-627. doi: 10.1111/j.1600-0765.1984.tb01328.x
- Nieminen, M. T., Listyarifah, D., Hagstrom, J., Haglund, C., Grenier, D., Nordstrom, D., . . . Sorsa, T. (2018). Treponema denticola chymotrypsin-like proteinase may contribute to orodigestive carcinogenesis through immunomodulation. *British Journal of Cancer*, 118(3), 428-434. doi: 10.1038/bjc.2017.409
- Noris, M., & Remuzzi, G. (2013). *Overview of complement activation and regulation*. Paper presented at the Seminars in nephrology.
- Ntekrash, C., & Patters, M. R. J. J. o. p. r. (1986). Assessment of complement cleavage in gingival fluid in humans with and without periodontal disease. 21(3), 233-242.
- Ogawa, Y., & Grant, J. A. (2007). Mediators of anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am*, 27(2), 249-260, vii. doi: 10.1016/j.iac.2007.03.013
- Okada, H., & Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9(3), 248-266. doi: 10.1177/10454411980090030101
- Olsen, I., Lambris, J. D., & Hajishengallis, G. (2017). Porphyromonas gingivalis disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function. *Journal of oral microbiology*, 9(1), 1340085. doi: 10.1080/20002297.2017.1340085
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9-11. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x

- Page, R. C., & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34(3), 235-249.
- Pahwa, R., Goyal, A., Bansal, P., & Jialal, I. J. S. (2020). Chronic inflammation.
- Pangburn, M. K., & Muller-Eberhard, H. J. (1980). Relation of putative thioester bond in C3 to activation of the alternative pathway and the binding of C3b to biological targets of complement. *The Journal of experimental medicine*, 152(4), 1102-1114. doi: 10.1084/jem.152.4.1102
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., . . . Graziani, F. J. J. o. p. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. 89, S173-S182.
- Petri, B., & Sanz, M. J. (2018). Neutrophil chemotaxis. *Cell Tissue Res*, 371(3), 425-436. doi: 10.1007/s00441-017-2776-8
- Pettigrew, H. D., Teuber, S. S., & Gershwin, M. E. (2009). Clinical significance of complement deficiencies. *Ann N Y Acad Sci*, 1173(1), 108-123. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04633.x
- Podack, E. R., Esser, A. F., Biesecker, G., & Muller-Eberhard, H. J. (1980). Membrane attack complex of complement: a structural analysis of its assembly. *The Journal of experimental medicine*, 151(2), 301-313. doi: 10.1084/jem.151.2.301
- Pontoriero, R., Tonelli, M. P., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S. R., & Lang, N. P. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res*, 5(4), 254-259. doi: 10.1034/j.1600-0501.1994.050409.x
- Poole, S., Singhrao, S. K., Chukkapalli, S., Rivera, M., Velsko, I., Kesavalu, L., & Crean, S. (2015). Active Invasion of *Porphyromonas gingivalis* and Infection-Induced Complement

- Activation in ApoE(-/-) Mice Brains. *Journal of Alzheimers Disease*, 43(1), 67-80. doi: 10.3233/Jad-140315
- Potempa, J., & Pike, R. N. (2009). Corruption of innate immunity by bacterial proteases. *J Innate Immun*, 1(2), 70-87. doi: 10.1159/000181144
- Preissner, K. T., Podack, E. R., & Muller-Eberhard, H. J. (1985). The membrane attack complex of complement: relation of C7 to the metastable membrane binding site of the intermediate complex C5b-7. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 135(1), 445-451.
- Rautemaa, R., & Meri, S. (1996). Protection of gingival epithelium against complement-mediated damage by strong expression of the membrane attack complex inhibitor protectin (CD59). *J Dent Res*, 75(1), 568-574. doi: 10.1177/00220345960750010901
- Reid, K. B., & Porter, R. R. (1981). The proteolytic activation systems of complement. *Annu Rev Biochem*, 50(1), 433-464. doi: 10.1146/annurev.bi.50.070181.002245
- Ren, H., & Du, M. (2017). Role of Maternal Periodontitis in Preterm Birth. *Frontiers in immunology*, 8, 139. doi: 10.3389/fimmu.2017.00139
- Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., & Lambris, J. D. (2010). Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*, 11(9), 785-797. doi: 10.1038/ni.1923
- Ricklin, D., & Lambris, J. D. (2007). Complement-targeted therapeutics. *Nat Biotechnol*, 25(11), 1265-1275. doi: 10.1038/nbt1342
- Riede, U.-N. (2004). *Color Atlas of Pathology Pathologic Principles· Associated Diseases· Sequela*: Thieme Stuttgart.
- Rietschel, E. T., & Brade, H. (1992). Bacterial endotoxins. *Sci Am*, 267(2), 54-61. doi: 10.1038/scientificamerican0892-54
- Robert, H. (2016). *ELISA: HUMANA*.

- Rollins, B. J. (1997). Chemokines. *Blood*, 90(3), 909-928.
- Rooijackers, S. H., Wu, J., Ruyken, M., van Domselaar, R., Planken, K. L., Tzekou, A., . . . Gros, P. (2009). Structural and functional implications of the alternative complement pathway C3 convertase stabilized by a staphylococcal inhibitor. *Nat Immunol*, 10(7), 721-727. doi: 10.1038/ni.1756
- Roos, A., Nauta, A. J., Broers, D., Faber-Krol, M. C., Trouw, L. A., Drijfhout, J. W., & Daha, M. R. (2001). Specific inhibition of the classical complement pathway by C1q-binding peptides. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 167(12), 7052-7059. doi: 10.4049/jimmunol.167.12.7052
- Roos, A., Ramwadhoebe, T. H., Nauta, A. J., Hack, C. E., & Daha, M. R. (2002). Therapeutic inhibition of the early phase of complement activation. *Immunobiology*, 205(4-5), 595-609. doi: 10.1078/0171-2985-00157
- Rufas, P., Jeanneau, C., Rombouts, C., Laurent, P., & About, I. (2016). Complement C3a Mobilizes Dental Pulp Stem Cells and Specifically Guides Pulp Fibroblast Recruitment. *J Endod*, 42(9), 1377-1384. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.011
- Sakamoto, S., Putalun, W., Vimolmangkang, S., Phoolcharoen, W., Shoyama, Y., Tanaka, H., & Morimoto, S. J. J. o. n. m. (2018). Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. 72(1), 32-42.
- Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P., & Ramseier, C. A. (2012). Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res*, 23(2), 182-190. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02220.x
- Salvi, G. E., Fürst, M. M., Lang, N. P., & Persson, G. R. J. C. o. i. r. (2008). One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. 19(3), 242-248.

- Sanz, M., Chapple, I. L., & periodontology, W. G. o. t. V. E. W. o. P. J. J. o. c. (2012). Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *39*, 202-206.
- Sarma, J. V., & Ward, P. A. (2011). The complement system. *Cell Tissue Res*, *343*(1), 227-235. doi: 10.1007/s00441-010-1034-0
- Schierano, G., Pejrone, G., Brusco, P., Trombetta, A., Martinasso, G., Preti, G., & Canuto, R. A. J. J. o. c. p. (2008). TNF- α TGF- β 2 and IL-1 β levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *35*(6), 532-538.
- Schou, S., Holmstrup, P., Stoltze, K., Hjørting-Hansen, E., & Kornman, K. J. C. o. i. r. (1993). Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth. Clinical and radiographic observations in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *4*(1), 12-22.
- Schraufstatter, I. U., DiScipio, R. G., Zhao, M., & Khaldoyanidi, S. K. (2009). C3a and C5a Are Chemotactic Factors for Human Mesenchymal Stem Cells, Which Cause Prolonged ERK1/2 Phosphorylation. *Journal of Immunology*, *182*(6), 3827-3836. doi: 10.4049/jimmunol.0803055
- Schroeder, H. E. (2012). *The periodontium* (Vol. 5): Springer Science & Business Media.
- Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H. L. (2018). Peri-implantitis. *%J Journal of clinical periodontology*, *45*, S246-S266.
- Schwarz, F., Sahm, N., & Becker, J. (2008). Aktuelle aspekte zur therapie periimplantärer entzündungen. *%J Quintessenz*, *59*(00).
- Scully, C., & Challacombe, S. J. J. o. p. r. (1979). The migration of ¹¹¹Indium-labelled polymorphonuclear leucocytes into the oral cavity in the rhesus monkey. *14*(6), 475-481.
- Sehdev, B., Ganji, K. K., Bhongade, M. L., Toriya, J., Imanishi, T., Shoumura, M., & Alam, M. K. J. J. o. H. T. B. (2017). Evaluation of the Impact of the Clinical Periodontal Status on

- Volumetric Features of Gingival Crevicular Fluid by using Periotron® 8000. 26(2), 187-194.
- Shah, K., & Maghsoudlou, P. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *Br J Hosp Med (Lond)*, 77(7), C98-101. doi: 10.12968/hmed.2016.77.7.C98
- Silness, J., & Loe, H. J. A. o. s. (1964). Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. 22(1), 121-135.
- Smeets, R., Henningsen, A., Jung, O., Heiland, M., Hammächer, C., Stein, J. M. J. H., & medicine, f. (2014). Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis—a review. 10(1), 34.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, 38(1), 135-187. doi: 10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x
- Song, I. S., Han, Y. S., Lee, J.-H., Um, S., Kim, H. Y., & Seo, B. M. J. C. O. H. R. (2015). Periodontal ligament stem cells for periodontal regeneration. 2(4), 236-244.
- Sørensen, R., Thiel, S., & Jensenius, J. C. (2005). *Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations*. Paper presented at the Springer seminars in immunopathology.
- Soto, E., Richani, K., Romero, R., Espinoza, J., Chaiworapongsa, T., Nien, J. K., . . . Mazor, M. (2005). Increased concentration of the complement split product C5a in acute pyelonephritis during pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 17(4), 247-252. doi: 10.1080/14767050500072805
- Spitzer, D., Mitchell, L. M., Atkinson, J. P., & Hourcade, D. E. (2007). Properdin can initiate complement activation by binding specific target surfaces and providing a platform for de novo convertase assembly. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 179(4), 2600-2608. doi: 10.4049/jimmunol.179.4.2600

- Sridharan, S., Sravani, P. M. J. D., & Research, M. (2019). Interrelationship between Porphyromonas gingivalis and complement C3 and factor B Levels in chronic periodontitis individuals. *7*(2), 49.
- Stanley, K. K., Kocher, H. P., Luzio, J. P., Jackson, P., & Tschopp, J. (1985). The sequence and topology of human complement component C9. *EMBO J*, *4*(2), 375-382.
- Subbarao, K. C., Nattuthurai, G. S., Sundararajan, S. K., Sujith, I., Joseph, J., & Syedshah, Y. P. (2019). Gingival Crevicular Fluid: An Overview. *J Pharm Bioallied Sci*, *11*(Suppl 2), S135-S139. doi: 10.4103/JPBS.JPBS_56_19
- Surna, A., Kubilius, R., Sakalauskiene, J., Vitkauskiene, A., Jonaitis, J., Saferis, V., & Gleiznys, A. (2009). Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. *Med Sci Monit*, *15*(2), CR66-73.
- Takahashi, M., Ishida, Y., Iwaki, D., Kanno, K., Suzuki, T., Endo, Y., . . . Fujita, T. (2010). Essential role of mannose-binding lectin-associated serine protease-1 in activation of the complement factor D. *The Journal of experimental medicine*, *207*(1), 29-37. doi: 10.1084/jem.20090633
- Tan, X., Wong, S. T., Ghebrehiwet, B., Storm, D. R., & Bordin, S. (1998). Complement C1q inhibits cellular spreading and stimulates adenylyl cyclase activity of fibroblasts. *Clin Immunol Immunopathol*, *87*(2), 193-204. doi: 10.1006/clin.1997.4485
- Taylor, P., Botto, M., & Walport, M. (1998). The complement system. *Curr Biol*, *8*(8), R259-261. doi: 10.1016/s0960-9822(98)70167-8
- Tegla, C. A., Cudrici, C., Patel, S., Trippe, R., 3rd, Rus, V., Niculescu, F., & Rus, H. (2011). Membrane attack by complement: the assembly and biology of terminal complement complexes. *Immunol Res*, *51*(1), 45-60. doi: 10.1007/s12026-011-8239-5
- Teles, R. P., Gursky, L. C., Faveri, M., Rosa, E. A., Teles, F. R. F., Feres, M., . . . Haffajee, A. D. (2010). Relationships between subgingival microbiota and GCF biomarkers in

- generalized aggressive periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 37(4), 313-323.
doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01534.x
- Thiel, S., Petersen, S. V., Vorup-Jensen, T., Matsushita, M., Fujita, T., Stover, C. M., . . . Jensenius, J. C. (2000). Interaction of C1q and mannan-binding lectin (MBL) with C1r, C1s, MBL-associated serine proteases 1 and 2, and the MBL-associated protein MAp19. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 165(2), 878-887. doi: 10.4049/jimmunol.165.2.878
- Thomson, A. W., & Lotze, M. T. (2003). *The Cytokine Handbook, Two-Volume Set*: Elsevier.
- 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 clinical periodontology*, 45, S149-S161.
- Tracy, R. P. J. T. J. o. G. S. A. B. S., & Sciences, M. (2006). The five cardinal signs of inflammation: calor, dolor, rubor, tumor... and penuria (apologies to Aulus Cornelius Celsus, De medicina, c. AD 25). 61(10), 1051-1052.
- Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of periodontology*, 89 Suppl 1, S46-S73.
doi: 10.1002/JPER.17-0576
- Tsutsumi, A., Kobayashi, T., Ito, S., Goto, D., Matsumoto, I., Yoshie, H., & Sumida, T. (2009). Mannose binding lectin gene polymorphism and the severity of chronic periodontitis. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 32(1), 48-52. doi: 10.2177/jsci.32.48
- Turner, M. W. (2003). The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Molecular immunology*, 40(7), 423-429. doi: 10.1016/s0161-5890(03)00155-x
- Venza, I., Visalli, M., Cucinotta, M., De Grazia, G., Teti, D., & Venza, M. (2010). Proinflammatory Gene Expression at Chronic Periodontitis and Peri-Implantitis Sites in Patients With or Without Type 2 Diabetes. *Journal of periodontology*, 81(1), 99-108. doi: 10.1902/jop.2009.090358

- Verardi, S., Page, R. C., Ammons, W. F., & Bordin, S. (2007). Differential chemokine response of fibroblast subtypes to complement C1q. *Journal of periodontal research*, 42(1), 62-68. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00916.x
- Verardi, S., Quaranta, M., & Bordin, S. (2011). Peri-implantitis fibroblasts respond to host immune factor C1q. *Journal of periodontal research*, 46(1), 134-140. doi: 10.1111/j.1600-0765.2010.01323.x
- Wagner, C., Ochmann, C., Schoels, M., Giese, T., Stegmaier, S., Richter, R., . . . Hansch, G. M. (2006). The complement receptor 1, CR1 (CD35), mediates inhibitory signals in human T-lymphocytes. *Molecular immunology*, 43(6), 643-651. doi: 10.1016/j.molimm.2005.04.006
- Wagner, E., & Frank, M. M. (2010). Therapeutic potential of complement modulation. *Nature reviews. Drug discovery*, 9(1), 43-56. doi: 10.1038/nrd3011
- Wallis, R., Mitchell, D. A., Schmid, R., Schwaebler, W. J., & Keeble, A. H. (2010). Paths reunited: Initiation of the classical and lectin pathways of complement activation. *Immunobiology*, 215(1), 1-11. doi: 10.1016/j.imbio.2009.08.006
- Wang, M., Krauss, J. L., Domon, H., Hosur, K. B., Liang, S., Magotti, P., . . . Hajishengallis, G. J. S. (2010). Microbial hijacking of complement–Toll-like receptor crosstalk. 3(109), ra11-ra11.
- Ward, P. A. (2004). The dark side of C5a in sepsis. *Nat Rev Immunol*, 4(2), 133-142. doi: 10.1038/nri1269
- Warren, J. S., & Ward, P. A. J. W. H. (2001). The inflammatory response. 7.
- Warrer, K., Buser, D., Lang, N. P., & Karring, T. (1995). Plaque-induced peri-implantitis in the presence or absence of keratinized mucosa. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res*, 6(3), 131-138. doi: 10.1034/j.1600-0501.1995.060301.x

- Wassall, R. R., & Preshaw, P. M. (2016). Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*, 70(1), 65-79. doi: 10.1111/prd.12109
- Wetsel, R. A., Kildsgaard, J., & Haviland, D. L. (2000). Complement anaphylatoxins (C3a, C4a, C5a) and their receptors (C3aR, C5aR/CD88) as therapeutic targets in inflammation *Therapeutic interventions in the complement system* (pp. 113-153): Springer.
- Wiggins, R. C., & Cochrane, C. G. (1981). Immune-complex-mediated biologic effects. *The New England journal of medicine*, 304(9), 518-520. doi: 10.1056/NEJM198102263040904
- Williams, A. S., Mizuno, M., Richards, P. J., Holt, D. S., & Morgan, B. P. (2004). Deletion of the gene encoding CD59a in mice increases disease severity in a murine model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 50(9), 3035-3044. doi: 10.1002/art.20478
- Wilson Jr, T. G., Valderrama, P., Burbano, M., Blansett, J., Levine, R., Kessler, H., & Rodrigues, D. C. J. J. o. p. (2015). Foreign bodies associated with peri-implantitis human biopsies. 86(1), 9-15.
- Wilson, V. J. P. d. j. (2013). An insight into peri-implantitis: a systematic literature review. 2(2), 69-73.
- Xie, C. B., Jane-Wit, D., & Pober, J. S. (2020). Complement Membrane Attack Complex: New Roles, Mechanisms of Action, and Therapeutic Targets. *Am J Pathol*, 190(6), 1138-1150. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.02.006
- Yeo, I. S. (2014). Reality of dental implant surface modification: a short literature review. *Open Biomed Eng J*, 8, 114-119. doi: 10.2174/1874120701408010114
- Yoo, S.-M., & Lee, M.-S. J. P. (2020). Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus and Host Interaction by the Complement System. 9(4), 260.
- Yoshinaga, Y., Ukai, T., Kaneko, T., Nakatsu, S., Shiraishi, C., Kuramoto, A., . . . Hara, Y. (2012). Topical application of lipopolysaccharide into gingival sulcus promotes periodontal

- destruction in rats immunized with lipopolysaccharide. *Journal of periodontal research*, 47(5), 674-680. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01486.x
- Yuste, J., Ali, S., Sriskandan, S., Hyams, C., Botto, M., & Brown, J. S. (2006). Roles of the alternative complement pathway and C1q during innate immunity to *Streptococcus pyogenes*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 176(10), 6112-6120. doi: 10.4049/jimmunol.176.10.6112
- Zadeh, H. H., Nichols, F. C., & Miyasaki, K. T. (1999). The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontology* 2000, 20(1), 239-288. doi: 10.1111/j.1600-0757.1999.tb00163.x
- Zarb, G. A., & Albrektsson, T. J. I. J. P. R. D. (1991). Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament. 11(1), 88-91.
- Zhan, Y. B., Zhang, R. M., Lv, H. C., Song, X. J., Xu, X. M., Chai, L., . . . Zhang, R. J. (2014). Prioritization of Candidate Genes for Periodontitis Using Multiple Computational Tools. *Journal of periodontology*, 85(8), 1059-1069. doi: 10.1902/jop.2014.130523
- Zipfel, P. F., & Skerka, C. (2009). Complement regulators and inhibitory proteins. *Nat Rev Immunol*, 9(10), 729-740. doi: 10.1038/nri2620
- Zitzmann, N., Walter, C., & Berglundh, T. J. D. Z. Z. (2006). Ätiologie, Diagnostik und Therapie der Periimplantitis—eine Übersicht. 61(12), 642-649.
- Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Ericsson, I., & Lindhe, J. (2004). Spontaneous progression of experimentally induced periimplantitis. *Journal of clinical periodontology*, 31(10), 845-849. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00567.x
- Zlotnik, A., & Yoshie, O. (2000). Chemokines: A new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12(2), 121-127. doi: Doi 10.1016/S1074-7613(00)80165-X

EK-1



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

Sayı : 83116987 - 800
Konu : Etik Kurul Kararı
Toplantı Tarihi : 07.11.2019
Toplantı No : 2019/16
Proje No : 19-KAEK-223

19.11.2019

Sayın, Dr. Öğretim Üyesi Özkan KARATAŞ

Etik Kurulumuzun 07.11.2019 tarihli toplantısında görüşülen 19-KAEK-223 kayıt numaralı **“Kompleman Sisteminin Dişeti Oluğu Sıvısı ve Peri-İmplant Oluğu Sıvısında Klasik, Lektin Bağımlı ve Alternatif Yolaklardaki Aktivasyonunu Gösteren Mediyatör Seviyelerinin 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 KUTLUTÜRK
Başkan



EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**(Periodontitis ve Peri-implantitis Hastaları)****Araştırmacının/Hekimin Açıklaması**

Dişeti oluğu, dişler ve çevresindeki dişetini birbirinden ayıran küçük bir boşluktur. Bütün bireylerde bu boşlukta dişeti oluğu sıvısı denilen serum kaynaklı bir sıvı bulunur. Bu çalışmada dişeti oluğunda bulunan dişeti oluğu sıvısından bir sürüntü örneği alınacaktır.

Dişeti oluğu 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. Dişeti oluğu sıvısının oluşumu ve dişeti oluğundan ağız boşluğuna salınımı bölgede mevcut dental plak ürünlerine karşı bir cevap olarak değerlendirilmektedir. Dişeti oluğu sıvısı, kendine özel yapısı nedeniyle periodontal sağlık ve hastalık hakkında bilgi verme potansiyeline sahiptir. Dişeti oluğu 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. Dişetindeki iltihabi cevabın ve damarsal geçirgenliğin artmasıyla, dişeti oluğu sıvısı miktarında artış gözlenmektedir.

Dental implantlar, hastaların diş eksikliklerinde günümüzde sıkça uygulanan tedavi prosedürlerindendir. Dental implant cerrahisini tercih eden hasta sayısı artmaya devam ettikçe,

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

implant tedavisi ve devamındaki idame sürecini yönetmenin zorlukları giderek artan bir önem kazanmaktadır. ¹

Dişeti oluğu sıvısının implant bölgelerindeki karşılığı İmplant Çevresi Oluğu Sıvısıdır. Dişeti oluğu sıvısının ve implant çevresi oluğu sıvısı içeriğindeki biyolojik moleküller, ilgili bölgede hastalık varlığını ve sürecini anlamamıza yardımcı olmaktadır.

Peri-implantitis, yapılmış olan implant çevresinde cerrahi, protez yapımı ya da implant çevresi dokularına bağlı olarak oluşan ve çevre dokularda kemik kaybına yol açan bir enfeksiyondur. Bakterilerin birikimi ile dokular kendini koruma amaçlı kemik kaybına sebep olan bir enfeksiyon oluştururlar. Bu durumun da implant kaybına sebep olan ana etken olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda hastalardan girişimsel olmayan yöntemlerle dişeti oluğu sıvısı veya implant çevresi oluğu sıvısı örneği alınması ve kliniğimize başvuran her hastada yaptığımız rutin klinik ölçümlerin yapılması amaçlanmaktadır.

Dişeti oluğu sıvısı örneği veya implant çevresi oluğu sıvısı örneği 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 nazıkçe temizlenir, küçük bir bant şeklindeki kağıtçıklar diş veya implant 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 veya implantlarınız periodontitis veya peri-implantitis 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.

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

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.

Araştırmaya davet edilmenizden nedeni, dişlerinizin veya implantlarınızın periodontitis veya periimplantitis teşhislerinden birine uygun bulunmuş olmasıdır.

Dişler ve implantlar çevresindeki iltihabi süreçler ve uygulanan tedaviler benzer olsa da, tedavi sonrasında gösterilen yanıtlara büyük farklılıklar görülebilmektedir.

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 sorumlusu 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

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özkan Karataş tarafından, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu 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.

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 ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi 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.

Araştırmanın adı :

Araştırma sorumlusu :

Tarih :

İmza :

Tarih

Katılımcı (Gönüllü)*Adı, Soyadı* :*Adres* :*Telefon* :*İmza* :**Görüşme Tanığı***Adı, Soyadı* :*Adres* :*Telefon* :*İmza* :**Katılımcı (Gönüllü) ile Görüşen Araştırmacı***Adı, Soyadı, Ünvanı* :*Adres* :*Telefon* :*İmza* :***(Tüm sayfaları imzalı bu formun bir kopyası katılımcıya verilecektir)******Araştırmanın adı*** :***Araştırma sorumlusu*** :***Tarih*** :***İmza*** :