

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

PERİODONTİTİSLİ BİREYLERİN DİŞ ETİ OLUĞU
SIVISINDA NLRP3, KASPAZ-1 VE GASDERMİN-D
SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

Utkucan BUDAK
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI
Doç. Dr. Beral AFACAN

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)
tarafından **124S331** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

AYDIN-2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, anlayış gösteren, yardımını esirgemeyen, beni bilimsel ve mesleki anlamda yetiştiren ve tez çalışmamda büyük emeği bulunan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Beral AFACAN' a,

Tüm eğitim sürecimde mesleki bilgi, tecrübe ve deneyimlerini paylaşan ve bugünlere gelmemde büyük emeği olan değerli hocam Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Veli Özgen ÖZTÜRK' e,

Tez konumu proje olarak değerlendirerek destekleyen ve tez çalışmalarımın maddi giderlerini karşılayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna,

Tezimin istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Timur KÖSE' ye,

Tezimin biyokimyasal aşamalarının gerçekleştirilmesinde büyük katkıları bulunan Sayın Prof. Dr. Özge ÇEVİK' e,

Çalışma zamanlarımızı kolaylaştıran ve güler yüzleri ile keyifli hale getiren bölümümüz sekreter ve personeline,

Asistanlık sürecimde yardımını ve desteğini esirgemeyen, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve öğrencilerimize,

Bugüne kadar hiçbir emek ve fedakarlıktan kaçınmayan, sevgisini ve güvenini koşulsuz hissettiğim, her daim yanımda olan; başta sevgili annem Güllü BUDAK, babam Yaşar BUDAK ve abim Umut BUDAK başta olmak üzere, tüm aileme teşekkür ederim.

Son olarak, lisans ve uzmanlık eğitimim boyunca her türlü zorluğa karşı benimle birlikte mücadele eden, mutluluğumu ve üzüntümü paylaşan, varlığıyla bana büyük mutluluk ve huzur veren, en değerli şansım eşim Merve TURAN BUDAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	5
ŞEKİLLER DİZİNİ	7
TABLolar DİZİNİ	9
ÖZET	10
ABSTRACT	12
1. GİRİŞ	14
2. GENEL BİLGİLER	17
2.1. Periodontal Hastalık Tanımı ve Epidemiyolojisi	17
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi	18
2.1.2. Periodontal Hastalığın Patogenezi	19
2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	22
2.2.1. Periodontal ve Gingival Sağlık	23
2.2.2. Dental Biyofilm Kaynaklı Gingivitis	24
2.2.3. Periodontitis	25
2.3. Homeostaz, Programlanmış Hücre Ölümü	26
2.4. Piroptoz	28
2.5. NLRP3	31
2.6. Kaspaz-1	32
2.7. GSDM-D	33
2.8. IL-1 β	34
2.9. IL-18	35
2.10. Periodontitis ve Piroptoz	37
2.11. Amaç ve Hipotez	39

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Hasta Seçimi	40
3.2. Klinik Periodontal Ölçümler.....	40
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	41
3.4. DOS Örneklerinin Toplanması.....	42
3.5. DOS NLRP3, Kaspaz-1, GSDM-D IL-1 β ve IL-18 Seviyelerinin Tayini.....	43
3.6. İstatiksel Analizler	43
4.BULGULAR	45
4.1. Demografik Veriler	45
4.2. Klinik Periodontal Bulgular.....	45
4.2.1 Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler.....	45
4.2.2. Örnek Alınan Bölgelerin Klinik Periodontal Parametreleri	46
4.3. Biyokimyasal Bulgular	48
4.4. Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
AAP	: Amerikan Periodontoloji Akademisi
AIM2	: Melonomda bulunmayan-2
ASC	: Apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein
CARD	: Kaspaz aktivasyonu ve toplanma bölgesi
DAMP	: Hasarla ilişkili moleküler desenler
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOS	: Diş eti oluğu sıvısı
EFP	: Avrupa Periodontoloji Federasyonu
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
Gasdermin-D	: GSDM-D
Gİ	: Gingival indeks
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
KAK	: Klinik ataşman kaybı
Kaspaz-1	: Sistein bağımlı aspartat spesifik proteaz-1
LPS	: Lipopolisakkarit
MLKL	: Karışık soy kinaz alanı benzeri protein
mm	: Milimetre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
ng	: Nanogram
NK	: Nükleer faktör
NLR	: Nod-like reseptör
NLRC4	: NLR ailesi CARD içeren protein 4
NLRP3	: NACHT-, LRR- ve pirin alanı içeren 3
OPG	: Osteoprotegerin

PAMP	: Patojen ilişkili moleküler desenler
pg	: Pikogram
Pİ	: Plak indeksi
PRR	: Patern tanıma reseptörlerinin
RANK	: Reseptör aktivator nükleer kappa B
RANKL	: Reseptör aktivator nükleer kappa B ligandı
RIPK	: Reseptörle etkileşen protein kinaz
RKK	: Radyolojik kemik kaybı
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SD	: Sondalama derinliği
SK	: Sondalamada kanama
Th	: Yardımcı T hücresi
TLR	: Toll-like reseptör
TNF	: Tümör nekroz faktör
TNFR	: Tümör nekroz faktör reseptörü
TXNIP	: Tioeredoksin etkileşimli protein
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
κ	: Kappa
μl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Periodontitis oluşum etkenleri	17
Şekil 2. Klasik piroptoz yolağı.....	30
Şekil 3. Çalışma gruplarının DOS NLRP3 total miktarı	48
Şekil 4. Çalışma gruplarının DOS kaspaz-1 total miktarı.....	49
Şekil 5. Çalışma gruplarının DOS GSDM-D total miktarı.	50
Şekil 6. Çalışma gruplarının DOS IL-1 β total miktarı.....	51
Şekil 7. Çalışma gruplarının DOS IL-18 total miktarı.....	52

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. 1a ve 1b. DOS örneğinin toplanması.....	43
---	----



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri	45
Tablo 2. Tüm ağız klinik periodontal parametreler.....	46
Tablo 3. Örnek alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri.....	47
Tablo 4. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin, örnek alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri ve birbirleri ile olan korelasyonları	54



ÖZET

PERİODONTİTİSLİ BİREYLERİN DİŞ ETİ OLUĞU SIVISINDA NLRP3, KASPAZ-1 VE GASDERMİN-D SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

**Budak U., Afacan B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Uzmanlık Tezi, Aydın, 2025**

Amaç: Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür. Kanonik piroptotik yol genellikle hücre içi patojen enfeksiyonu ile uyarılır ve konağın hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemi ile ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, periodontal patojenlerin neden olduğu kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste, kanonik piroptotik yolun başlıca bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1, gasdermin-D (GSDM-D), interlökin-1beta (IL-1 β) ve IL-18'in diş eti oluğu sıvısı (DOS) seviyelerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, evre 3 derece C periodontitis (n=24), gingivitis (n=24) ve periodontal sağlık (n=24) gruplarında toplam 72 birey yer aldı. Periodontal durumun belirlenmesi için tüm ağız sondalama derinliği (SD), klinik ataşman kaybı (KAK), sondalamada kanama (SK +/-), gingival indeks (Gİ) ve plak indeksi (Pİ) değerleri kaydedildi. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyeleri ELISA ile ölçüldü ve total miktar cinsinden sunuldu. Veriler, parametrik olmayan istatistiksel testler ile analiz edildi.

Bulgular: Periodontal sağlık grubunun DOS NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri, gingivitis ve periodontitis gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis ve periodontitis gruplarının DOS NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri benzerdi ($p>0.05$). Periodontitis grubunun DOS IL-1 β seviyesi, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Periodontitis grubunun DOS IL-18 seviyesi, periodontal sağlık grubuna göre anlamlı düşüktü ($p<0.05$). DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D ve IL-18 seviyeleri birbirleri ile pozitif korelasyon gösterdi ($p<0.05$).

Sonuç: Literatürde periodontal hastalık patogenezinde kanonik piroptotik yolun rolüne ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışma, periodontal hastalıklı ve sağlıklı bireylerde DOS GSDM-D seviyelerini gösteren ilk çalışmadır. Bu çalışmanın sınırlamaları dahilinde, periodontitisli bireylerde saptanan düşük DOS NLRP3, kaspaz-1,

Anahtar kelimeler: Periodontal hastalık, diş eti oluğu sıvısı, hücre ölümü, piroptoz

ABSTRACT

Investigation of NLRP3, Caspase-1, and Gasdermin-D Levels in the Gingival Crevicular Fluid of Individuals with Periodontitis

**Budak U., Afacan B. Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Dentistry,
Periodontology Master Thesis, Aydın, 2025**

Aim: Pyroptosis is a form of programmed cell death distinct from apoptosis, associated with the inflammatory response. The canonical pyroptotic pathway is typically triggered by intracellular pathogenic infections and is linked to both the innate and adaptive immune systems of the host. The aim of this study is to investigate the levels of the key components of the canonical pyroptotic pathway—NLRP3, caspase-1, gasdermin D (GSDM-D), interleukin-1 beta (IL-1 β), and IL-18—in the gingival crevicular fluid (GCF) of individuals with periodontitis, a chronic inflammatory disease caused by periodontal pathogens.

Materials and Methods: The study included a total of 72 individuals, divided into three groups: stage 3 grade C periodontitis (n=24), gingivitis (n=24), and periodontal health (n=24). To determine periodontal status, full-mouth probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL), bleeding on probing (BOP +/-), gingival index (GI), and plaque index (PI) values were recorded. GCF levels of NLRP3, caspase-1, GSDM-D, IL-1 β , and IL-18 were measured using ELISA and presented as total amounts. Data were analyzed using non-parametric statistical tests.

Results: The GCF levels of NLRP3, caspase-1, and GSDM-D in the periodontally healthy group were found to be significantly higher than those in the gingivitis and periodontitis groups ($p<0.05$). The GCF levels of NLRP3, caspase-1, and GSDM-D were similar between the gingivitis and periodontitis groups ($p>0.05$). The GCF IL-1 β level in the periodontitis group was significantly higher than in both the gingivitis and periodontally healthy groups ($p<0.05$). Conversely, the GCF IL-18 level in the periodontitis group was significantly lower than in the periodontally healthy group ($p<0.05$). GCF levels of NLRP3, caspase-1, GSDM-D, and IL-18 were positively correlated with each other ($p<0.05$).

Conclusion: There are a limited number of studies in the literature regarding the role of the canonical pyroptotic pathway in the pathogenesis of periodontal disease. To the best of our knowledge, this is the first study to report GCF GSDM-D levels in both periodontally healthy and diseased individuals. Within the limitations of this study, the lower GCF levels of NLRP3, caspase-1, GSDM-D, and IL-18 observed in individuals with periodontitis suggest that these molecules may play a role in the pathogenesis of periodontal disease. Large-scale cohort studies are needed to further elucidate the potential relationship between pyroptosis and periodontal disease.

Keywords: Periodontal disease, gingival crevicular fluid, cell death, pyroptosis



1. GİRİŞ

Periodontitis, bağ dokusu ataşmanın ve alveol kemiğinin kaybı ile karakterize kronik enflamatuvar bir hastalıktır (1,2). Hastalığın ilerlemesinden, subgingival mikrobiyal florada yer alan gram-negatif anaerob patojenlere karşı gelişen konak immunoenflamatuvar yanıtı sorumludur (3,4). Periodontal dokuların sürekli maruz kaldığı mikrobiyal saldırı konağın doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerini uyarır (5,6). Özellikle doğal bağışıklık sisteminde rol oynayan enflamatuvar süreçler, periodontal dokulardaki hasarın ana nedenlerinden biridir (5). Çok sayıda çalışmada, periodontitisli bireylerin diş eti oluğu sıvısı (DOS)'taki çeşitli enflamatuvar medyatör seviyeleri, klinik periodontal parametrelerle ilişkili bulunmuştur (7-9).

Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür (10). Proinflamatuvar hücre ölüm şekli olarak tanımlanan piroptoz, genellikle hücre içi patojen enfeksiyonu ile uyarılır. Konağın hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemlerinin önemli bir parçası olarak kabul edilir (11). Piroptotik yollar, bir taraftan istilacı hücre içi patojenlerin replikatif nişini ortadan kaldırırken diğer yandan savunma hücrelerinin enfeksiyon bölgesine çekilmesini sağlarlar (12,13). Kanonik piroptotik yolk, patojen ve hasar ilişkili moleküler paternlerin reseptörlerce tanınması ile başlar (14). Ardından, hücre içinde, mikrobiyal enfeksiyona ve hücre hasara karşı immün yanıtın temel inflamazomu olan ve NACHT-, LRR- ve pirin alanı içeren 3 (NLRP3) inflamazomu meydana gelir. Bu inflamazom, NLRP3 proteini, kaspaz aktivasyonu ve toplanma bölgesi (CARD) içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein (ASC) ve pro- sistein bağımlı aspartat spesifik proteaz-1'den (kaspaz-1) oluşan çoklu sitozolik protein kompleksidir (15). NLRP3 inflamazomunun uyarılması, pro-kaspaz-1'i olgun ve aktif kaspaz-1 formuna dönüştürür (16). Kaspaz-1 ise pro-interlökin-1beta (IL-1 β) ve pro-IL-18'i olgun ve aktif IL-1 β ve IL-18 formlarına dönüştürür (16,17). Kaspaz-1, aynı zamanda hücre zarında bulunan gasdermin-D (GSDM-D) proteinini spesifik olarak tanır. GSDM-D'nin N-terminal alanı hücre zarında porlar oluşturur (18,19). Oluşan porlar, hücrenin şişmesine, membranın yırtılmasına ve hücre içi içeriğin dış ortama salınmasına yol açar (10,20). Oluşan porlarla birlikte, olgun ve aktif IL-1 β ve IL-18 gibi proenflamatuvar sitokinler hücre dışına salınır (21,22).

Periodontal hastalık patogenezinde, piroptozun rolüne ilişkin çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (23,24). Periodontitisli bireylerin doku, serum ve oral biyolojik sıvılarında kanonik piroptotik yolağın temel bileşenlerinden biri olan NLRP3 proteininin yüksek seviyeleri gösterilmiştir (25–27). Bu yüksek NLRP3 seviyelerinin, periodontal enflamasyonun ilerlemesine yol açarak alveoler kemik rezorpsiyonunu arttırabileceği ve periodontitis için bağımsız bir prediktif faktör olabileceği ileri sürülmüştür (26–34). Literatürde, sistemik sağlıklı periodontitis hastalarının DOS NLRP3 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştıran yalnızca tek bir çalışma vardır (32). Surlin ve ark (2021) bu çalışmalarında, evre II-III, derece A periodontitis hastalarının DOS NLRP3 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuştur (32).

Kaspaz-1, NLRP3 inflamozumunun, bakteriyel lipopolisakkarit (LPS), viral ribonükleik asit (RNA) veya hücresel hasar ürünleri ile uyarılmasıyla aktive olur (35–37). Önceki çalışmalar, NLRP3 ile kaspaz-1 arasındaki pozitif ilişkiyi göstermiştir (38,39). Makrofajlardaki kaspaz-1 eksikliğinin, enflamatuvar moleküllerin salımını baskıladığı ve periodontitiste kemik rezorpsiyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, kaspaz-1 aktivasyonunun, periodontitiste prorezorptif bir rolünün olduğu ve hastalığın şiddetini arttırabileceği ileri sürülmüştür (40). Periodontitisli bireylerde yapılan çalışmalar, kaspaz-1'in doku, serum ve tükürükteki seviyelerinin, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek olduğunu göstermektedir (29,41). Kırmızıgül ve ark (2023) ise gingivitis ve periodontitis hastalarının DOS kaspaz-1 seviyelerini, sağlıklı kontrol grubundan düşük bulmuştur (42). Kaspaz-1'in periodontitisli bireylerdeki seviyelerine ilişkin daha fazla sayıda çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

GSDM-D, enflamasyonla ilişkili hücre ölüm şekli olan piroptozun efektör proteindir. Kanonik ya da kanonik olmayan piroptotik yolakların aktive olmuş enflamatuvar kaspazları (kaspaz-1/4/5/11) tarafından bölünür (43). GSDM-D bölündüğünde, N-terminal alanı plazma zarına girmek üzere serbest kalır ve porların oluşmasını sağlar. GSDM-D, membranda oluşturduğu porlar aracılığıyla IL-1 β ve IL-18 gibi enflamatuvar sitokinlerin ve iyonların hücre dışına çıkışını sağlar (44,45). Yapılan çalışmalar, NLRP3 ve kaspaz-1'in GSDM-D ile olan pozitif ilişkisini göstermiştir (45,46). Periodontitis hastalarının dişeti dokusunda ve tükürüklerinde GSDM-D seviyelerinin yüksek olduğu ve bunun tanısal bir değerinin olabileceği bildirilmiştir (31,47,48). Ancak, bildiğimiz kadarıyla, literatürde DOS GSDM-D seviyelerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

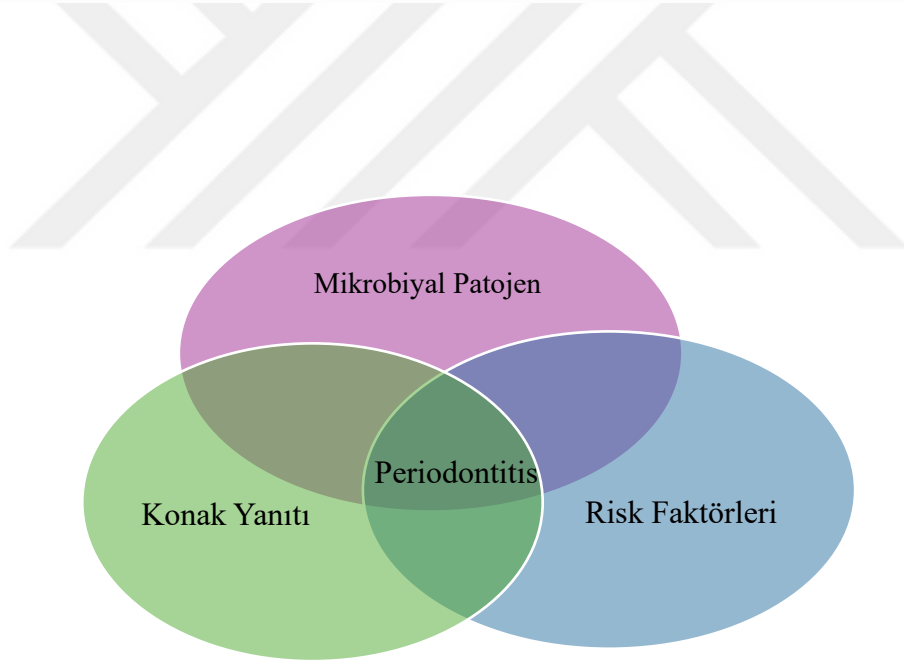
IL-1 β , periodontal enflamasyon ve doku yıkımı ile ilişkisi oldukça iyi bilinen proenflamatuvar sitokinlerden biridir (49–53). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin oral biyolojik sıvılarındaki yüksek IL-1 β seviyeleri de periodontitis ile ilişkilendirilmiş (54–56) ve bu durum IL-1 β , periodontitis için potansiyel bir biyobelirteç haline getirmiştir (52). IL-18'in ise antimikrobiyal savunmada yer alan önemli bir proenflamatuvar sitokin olduğu kabul edilmektedir. Literatürde, periodontitisli ve gingivitisli bireylerin DOS IL-18 seviyeleri, periodontal sağlıklı bireyler ile benzer (57) ya da yüksek (58–61) bulunmuştur. Keleş ve ark (2020) da gingivitisli çocukların DOS IL-18 seviyelerini, periodontal sağlıklı çocuklardan düşük bulmuştur (62). Hücre içinde, inaktif prekürsör formda sentezlenen pro-IL-1 β ve pro-IL-18, enflamatuvar bir sinyal sonrasında kaspaz-1 tarafından aktif formlarına dönüştürülerek salınır (63). Aktive olan kaspaz-1, bir yandan GSDM-D'nin aktivasyonuna ve membranda por oluşumuna yol açarken diğer yandan IL-1 β ve IL-18'i aktif hale getirerek bu sitokinlerin porlardan salımına neden olmaktadır (45,64). Yapılan çalışmalar, piroptozda artan NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D seviyelerinin artan IL-1 β ile ilişkili olduğunu göstermektedir (48,65–69).

Literatürde, enflamatuvar yanıtla ilişkili programlanmış hücre ölümü olan piroptozun periodontal hastalığındaki rolünü araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, periodontitisli bireylerin enflamasyonlu periodontal dokularında, serum ve oral biyolojik sıvılarında kanonik piroptotik yolağın temel bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri araştırılmıştır (24,29–32,41,42,70). Literatürde, periodontitisli bireylerin DOS NLRP3 seviyelerini periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştıran yalnızca tek bir çalışma bulunmaktadır (32). Periodontitis hastalarında DOS kaspaz-1 seviyelerini gösteren çok az sayıda çalışmada ise çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (32,42). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin DOS GSDM-D seviyelerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, periodontitisli bireylerde DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyeleri yüksektir hipotezinden hareketle periodontal hastalıklı bireylerde DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık Tanımı ve Epidemiyolojisi

Periodontal hastalıklar, diş eti, periodontal ligament ve alveol kemiğini içeren diş destek dokularının ilerleyici tarzdaki yıkımı ile karakterize kronik enflamatuvar hastalıklardır (1,2). Diş ile diş eti birleşiminde biriken mikrobiyal dental plakta bulunan bakteriler tarafından başlatılır (3,4). Periodontal hastalıklar, diş eti iltihabı olan gingivitis ile başlar. Periodontal hastalığa yatkınlığı olan bireylerde, gingivitis tedavi edilmediğinde, periodontal cep oluşumu ve ataşman kaybı ile sonuçlanan periodontitis meydana gelir Periodontitis, spesifik bakteriyel patojenler, konak immün yanıtı ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık dinamik etkileşimleri içerir (1,2,71).



Şekil 1. Periodontitis oluşum etkenleri

Periodontal hastalıklar, insan popülasyonunda en sık görülen oral hastalıklardandır (72). Epidemiyolojik çalışmalar, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yetişkin popülasyonun yaklaşık %50'sinde periodontitis görüldüğünü ve bireylerin %80'ine ulaşan bir oranının yaşamları boyunca periodontal hastalığın en az bir formunu deneyimlediğini göstermektedir. Bununla

birlikte, yaşlı bireyler, erkekler ve Afrikalı Amerikalılar gibi bazı gruplarda periodontal hastalık insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir (72,73). Trindade ve ark (2023), 17 ülkenin erişkin bireyleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında, periodontitis prevalansının %61,6 olduğunu ve bu oranının yaş ile birlikte arttığını bildirmişlerdir (74). Düşük gelir ve eğitim seviyelerinin de periodontitis ile ilişkili olduğu bilinmektedir (75,76).

2.1.1. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi

Periodontal hastalıklar, yetersiz ağız bakımı ve hastaya özgü risk faktörlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkar (77). Periodontal hastalığa neden olan ana etken, ağız ortamındaki miks bakteriyel kolonizasyon ve mikrobiyal dental plağın varlığıdır (22, 23). Subgingival plakta bulunan periodontal patojenler, özellikle de kırmızı kompleks olarak adlandırılan bir grup spesifik gram-negatif anaerobik tür, periodontal dokularda kronik inflamasyona ve doku yıkımına neden olur (80,81). Bu kırmızı kompleks bakteriler arasında *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) ve *Treponema denticola* (*T. denticola*), ağırlıklı olarak periodontitisli hastaların derin periodontal ceplerinde bulunur (81,82).

Yetersiz ağız bakım uygulamaları, periodontal hastalıkların başlamasında ve gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (73,83). Günlük optimal plak kontrolünün yapılmadığı bireylerde, dişlerde biriken bakteri ve plak gingivitise yol açabilir. Gingivitis uygun şekilde tedavi edilmediğinde periodontitise ilerleme potansiyeli taşır (83,84). Mikrobiyal dental plağın artması ve kompozisyonun patojen türler lehine değişmesi, periodontal hastalıkların şiddetinin ve yaygınlığının artmasıyla ilişkilidir (83,85,86).

Periodontal hastalıkların gelişimi için sigara kullanımı, diyabet ve hamilelik değiştirilebilen risk faktörleri içinde yer alırken yaş, kalıtım ve genetik hastalıklar değiştirilemeyen risk faktörleri olarak tanımlanır (83,84,86,87). Sigara kullanımı, periodontal hastalık riskini 5 ila 20 kat artırabilir (87,88). Sigara içen bireylerde, sigara içmeyen bireylere göre daha fazla alveoler kemik kaybı, klinik ataşman kaybı ve periodontal hastalığa bağlı diş kaybı gözlenmektedir. Sigara kullanımı, bir yandan periodontal hastalıkların şiddetini arttırırken diğer yandan periodontal tedavinin etkinliğini de azaltmaktadır (89). Diyabet, periodontal dokuların yıkımını hızlandıran bir dizi patolojik mekanizma ile ilişkilidir (73,90). Uzun süreli hipergliseminin bir sonucu olarak ortaya çıkan ileri glikasyon son ürünleri, bir periodontal dokularda kollajen yıkımını hızlandırarak doku bütünlüğünü bozar (91). Kontrolsüz diyabet hastalarında, derin periodontal cepler ve bunlarla ilişkili periodontal

abseler, ileri klinik ataşman kayıpları ve alveol kemik yıkımları gözlenir (91,92). Ayrıca periodontal tedavi sonrası yara iyileşmesi de olumsuz etkilenir (93,94). Hamilelik, kadınlarda hormon seviyelerindeki değişikliklerle ilişkilidir. Hem hipoöstrojenizmin hem de hiperöstrojenizmin gingivitisle ilişkili olduğu bildirilmiştir (95–97). Ayrıca, gebelik hormonlarının periodontal hastalığın ilerlemesinde önemli bir bakteri olan *P. gingivalis* ile pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir (96,98).

Yaş, periodontal hastalıkların değiştirilemeyen bir risk faktörü olarak literatürde kapsamlı bir şekilde tartışılmaktadır. Yaşlı bireylerin, plak birikimine karşı daha fazla enflamatuvar hücre içeren daha şiddetli bir enflamatuvar yanıtı sahip olduğu gösterilmiştir (86,99). Ayrıca, yaşlı bireylerde el becerisinin azalması nedeniyle ağız bakım uygulamalarının etkinliğinin düştüğü bilinmektedir (86,99,100). Bu durum, yaşlı bireylerde yüksek plak seviyelerine yol açmaktadır. Araştırmalar, 50 yaş altı bireylere kıyasla 60-90 yaş arası bireylerde klinik ataşman kaybının arttığını göstermektedir (100).

2.1.2. Periodontal Hastalığın Patogenezi

Kommensal ağız bakterileri, mikrobiyal disbiyoz süreci yoluyla periodontal hastalığın başlamasından ve yayılmasından sorumludur (4,83). Hastalığın tedavi edilmediği durumlarda, diş destek dokularındaki yıkım ilerleyebilir ve dişlerin kaybına kadar giden bir süreç yaşanabilir. Bu süreç alevlenme ve remisyon dönemlerini içeren episodik bir karakter gösterir (4,101). Periodontal patojenlerin çoğu, periodontal ceplere yerleştikleri için, yani periodontal dokulara invaze olmadıkları için, bağışıklık sistemi tarafından tamamen yok edilemezler. Periodontal hastalık gingivitisten periodontitise ilerledikçe, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. Actinomycetemcomitans*) ve *P. gingivalis* gibi daha fazla sayıda anaerobik organizma daha derin periodontal ceplerde kolonize olur ve bu da konağın enflamatuvar yanıtını tetikler (80,102). Patojen bakterilere karşı oluşan lokal konak cevabı sonucu periodontal hastalıkların patogenezinde ve periodontal doku yıkımında önemli rol oynayan enflamatuvar mediyatörlerin, sitokinlerin, kemokinlerin, arasıdonik asit metabolitlerinin ve kollajenazların salımı gerçekleşir (50,103). Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu, periodontal hastalıkların patogenezinde kritik bir rol oynar (104,105). IL-6, karaciğerde CRP gibi akut faz proteinlerinin sentezini uyarak inflamasyonun sistemik etkilerini artırır (106). IL-8 ise nötrofillerin kemotaksisini sağlayarak inflamasyon olan bölgeye göçlerini yönlendirir (107). IL-1 β ve TNF- α , fibroblastların fonksiyonlarını baskılar, bağ dokusunun yıkımına yol açar ve osteoklastları uyarak alveoler kemik rezorpsiyonunu artırır (108). Bu sitokinler, matriks

metalloproteinaz-8 (MMP-8) ve MMP-9'lerin salınımını uyararak da kollajen yıkımına ve ilerleyen süreçte alveol kemik rezorpsiyona neden olurlar (109).

Periodontal hastalıkların histopatolojik özellikleri ilk olarak 1976 yılında Page ve Schroeder tarafından tanımlanmıştır (110). Periodontal hastalık, başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşik lezyon ve ilerlemiş lezyon olmak üzere dört temel evrede incelenmektedir. Her bir evre, periodontal dokularda meydana gelen değişimleri hem klinik hem de histopatolojik açıdan kapsamlı bir biçimde yansıtmaktadır. Başlangıç lezyonu, vasküler yapılarda değişiklikler, DOS'ta artış ve savunma hücrelerinin ilgili bölgeye göçü ile karakterizedir. Adezyon moleküllerinin ekspresyonu artar ve nötrofiller lezyon bölgesine çekilir. Bu evrede inflamasyonun klinik belirtileri gözlenmez. Başlangıç lezyonunu takiben gelişen erken lezyon, bağ dokusunda nötrofil, makrofaj, mast hücresi, lenfosit ve plazma hücrelerinin birikimi ile karakterizedir. Nötrofiller, apoptoza uğrayan fibroblastların temizlenmesini sağlar. Ancak, bu hücrel infiltrasyon, kollajen liflerin yıkımına yol açarak daha fazla enflamatuvar hücrenin dokuya göçüne zemin hazırlar. Bağlantı epiteline komşu bağ dokusu matriksinde yapısal bozulmalar görülür. Klinik olarak, diş eti dokusunda eritem ve DOS miktarında belirgin bir artış gözlenir. Gingivitisin karakteristik bulgularından biri olan sondalamada kanama (SK) ortaya çıkabilir. Yerleşik lezyonu, immün yanıtın baskın hücreleri olan plazma hücreleri ve B lenfositleri oluşturur. Bağlantı epiteli ve sulkuler epitel, cep epiteline dönüşmeye başlar. Cep epiteli yüksek geçirgenliğe sahip olduğundan dış etkenlere karşı savunmasızdır. Klinik olarak diş eti kanaması, renk değişiklikleri ve kontur bozukluklarının gözlemlendiği orta ila şiddetli düzeyde gingivitis tablosu vardır. İlerlemiş lezyonda ise bağ dokusu ataşmanında yıkım meydana gelir ve bağlantı epiteli apikale doğru yer değiştirir. Ataşman ve alveoler kemiğin kaybı, bu evre için karakteristiktir. Periodontal cep oluşumu ve ülsere cep epiteli, anaerob bakterilerin kolonizasyonu ve invazyonuna neden olur. Cep epiteli ile osteoklastik aktivitenin gözlemlendiği alveoler kemik yüzeyleri arasındaki bölgede belirgin bir enflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenir. İlerlemiş lezyon periodontitise bir geçiş aşamasıdır (110,111)

Enflamatuvar yanıt, konağın yerleşik hücrelerinin diş yüzeyine tutunan bakteriyel biyofilm ile etkileşimi ile tetiklenir. Bakteriyel biyofilmin diş yüzeyinde oluşması, bağışıklık sisteminin bakterileri etkili bir şekilde ortadan kaldırmasını zorlaştırır (112). Bağlantı epiteli, bakteriyel maruziyet ile karşılaşılan ilk periodontal yapıdır (113). Bakteriler, bağlantı epitelini geçerek bağ dokusuna girebilir ve fibroblastları uyararak ilk enflamatuvar yanıtı tetikleyebilir (114). Nükleer faktör kappa B (NFκB) ve aktivatör protein 1 (AP-1) gibi proenflamatuvar

transkripsiyon faktörleri uyarılır (115), çeşitli mediatörlerin sentezi ve salımı gerçekleşir. Dişeti ve periodontal ligament fibroblastları, MMP'lerin lokal üretimini ve aktivitesini artırarak hücre dışı matriksin yıkımına neden olurlar (116,117).

Periodontal lezyon, kemokin ve sitokinlerin uyarısıyla diş eti oluğuna göç eden nötrofillerle karakterize akut inflamasyon olarak başlatılır. Nötrofiller, kemokin salımıyla, IL-17 üretimi yapan yardımcı T hücresi-17 (Th-17) lenfositlerinin inflamasyon bölgesine göçünü uyarır. B lenfositlerinin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüşmesini sağlarlar(118). Aktive olmuş nötrofillerin, güçlü bir osteoklastojenik sitokin olan NF- κ B'nin ligandı olan membrana bağlı reseptör aktivator nükleer kappa B ligandı (RANKL) eksprese ettiği ve bu yolla osteoklastik kemik rezorpsiyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir. (118).Nötrofiller, periodontitiste yalnızca lezyonu başlatarak değil aynı zamanda Th-17 hücrelerini aktive ederek ya da yerleşik/ilerlemiş lezyonda B lenfositleri ve plazma hücrelerini uyararak da hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır. Enflamatuvar yanıtın kronikleşmesiyle birlikte kazanılmış bağışıklık sisteminin lenfositleri periodontal dokulara infiltre olur ve kemik metabolizmasının dengesini bozan çeşitli enflamatuvar ve immün mediyatörlerin salımına neden olur. Bu durum gingivitisten periodontitise geçişe işaret eder (118). Gingivitiste antijen sunan hücre popülasyonunun çoğunluğunu dendritik hücreler oluştururken periodontitiste B lenfositleri oluşturur. B ve T lenfositleri ile ilişkili kazanılmış bağışık yanıt, periodontitiste gözlenen alveoler kemik kaybı üzerinde belirleyici bir rol oynar. Periodontal inflamasyon sürecinde bu hücreler, RANKL için başlıca kaynaklardır (119).

RANKL, TNF ailesine ait, membrana bağlı veya çözünebilir formda bulunabilen bir sitokindir ve osteoklastların farklılaşmasını ve kemik rezorpsiyonunu uyarır (120,121). Kemik iliği stromal hücreleri, osteoblastlar, aktive olmuş T ve B lenfositleri RANKL ekspresyonu gerçekleştirerek osteoklastogenezi başlatır. Alveolar kemikte, RANKL/osteoprotegerin (OPG)/ reseptör aktivator nükleer kappa B (RANK) eksenli kemik metabolizmasının homeostazını düzenler (122). RANKL, osteoklast aktivasyonunda kritik rol oynayan ve kemik rezorpsiyonundan doğrudan sorumlu moleküler sinyal olup, osteoklast ve osteoklast öncüllerinin yüzeyinde bulunan RANK reseptörü ile etkileşime girerek bu hücrelerin kemik yüzeyinde birikimini, füzyonunu ve aktivasyonunu sağlar (123). Öte yandan, OPG çözünebilir bir protein olarak RANKL'nin biyolojik fonksiyonlarını rekabetçi inhibisyon yoluyla engelleme kapasitesine sahiptir (124). Periodontitiste, RANKL/OPG dengesindeki

bozulma, osteoklast öncüllerinin kemik yüzeyinde birikimini, hücre füzyonunu ve aktivasyonunu artırarak kemik rezorpsiyonuna yol açmaktadır (125).

Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki denge, periodontal hastalıkların patogeneğinde belirleyici bir rol oynar. Th1 hücreleri, hücreşel bağışıklık yanıtını destekleyerek interferon- γ (IFN- γ) gibi proinflatuvar sitokinler salgıırken; Th2 hücreleri humoral yanıtı güçlendiren IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi sitokinleri üretir (126). Periodontitisin ilerlemesinde Th1 baskınlığının erken evre inflamasyonu tetiklediğı, buna karşın hastalığın kronikleşmesiyle birlikte Th2 yanıtının baskın hale gelerek B hücre aktivasyonu ve antikör üretimi yoluyla doku hasarını sürdürdüğü öne sürölmektedir (127). Bu bağlamda, Th1/Th2 oranındaki dengesizlik, periodontal dokularda inflamasyonun şiddetini ve kemik yıkımının derecesini etkileyerek hastalığın seyrini belirlemektedir (128).

2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıklar, geçmişten günümüze kadar çeşitli sınıflamalara ayrılmıştır. Günümüzde Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP) ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu (EFP) tarafından 2017 yılında önerilen sınıflama kullanılmaktadır (129). Bu sınıflamaya göre periodontal hastalıklar şu şekilde sınıflandırılır:

1. Periodontal hastalıklar ve durumlar

1.1. Periodontal sağlık ve gingival hastalıklar ve durumlar

- Periodontal ve gingival sağlık
- Gingivitis- dental biyofilm kaynaklı olanlar
- Gingival hastalıklar- dental biyofilm kaynaklı olmayanlar

1.2. Periodontitis

- Periodontitis
- Nekrotizan periodontal hastalıklar
- Sistemik hastalıkların direkt belirtisi olarak periodontitis

1.3. Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar

- Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar ve durumlar
- Endodontik-periodontal lezyonlar ve periodontal apseler
- Mukogingival deformiteler ve durumlar

- Travmatik okluzal kuvvetler
- Dişler ve dental protezler ile ilişkili faktörler

2. Peri-implant hastalıklar ve durumlar

- Peri-implant sağlık
- Peri-implant mukozitis
- Peri-implantitis
- Peri-implant sert ve yumuşak doku eksiklikleri

2.2.1. Periodontal ve Gingival Sağlık

Periodontal sağlık, bireyin normal fonksiyonlarına izin veren, enflamatuvar periodontal hastalıktan arınmış bir durum olarak tanımlanmaktadır (129,130). Klinik olarak değerlendirildiğinde, gingivitis veya periodontitis ile ilişkili enflamasyonun olmaması periodontal sağlık tanımı için bir ön koşuldur. Bununla birlikte, gingivitis veya periodontitis hikayesi olup başarılı bir şekilde tedavi edilen hastalar ile diş eti iltihabının klinik belirtileri olmaksızın dişlerin korunduğu diğer periodontal durumlar da periodontal sağlık tanımı içinde yer almaktadır (129,130).

Periodontal sağlık, intakt periodonsiyum ya da azalmış periodonsiyumun varlığında gözlenebilir. İntakt periodonsiyuma sahip bireylerde, diş etinde kanama, kızarıklık ve şişlik gibi enflamasyon belirtileri görülmez, bağ dokusu kaybı olmaz ve alveol kret seviyesi, mine-sement sınırının 1-3 mm apikalindedir (129,130). Azalmış periodonsiyumda gözlenen periodontal sağlık ise stabil periodontitis hastalarında veya periodontitis olmayan bireylerde görülebilir. Stabil periodontitis hastalarında gözlenen gingival sağlık, periodontitisin tedavi edildiği, klinik ataşman kaybı (KAK) ve radyolojik kemik kaybı (RKK) gözlenen ancak (SK) ve derin periodontal ceplerin bulunmadığı durumları ifade eder. Periodontitis olmayan bireylerin azalmış periodonsiyumunda görülen periodontal sağlık ise genellikle dişeti çekilmesi sonucunda veya kron boyu yükseltme operasyonu geçiren bireylerde gözlenebilir. Bu bireylerde diş etinde kanama, pü, şişlik veya renk değişikliği gözlenmez ve sondalama derinliği (SD) 3 mm'nin altındadır (129,130).

Periodontal sağlık, periodontal dokularda enflamasyonun histolojik olarak bulunmaması ve periodonsiyumda anatomik değişikliğin olmaması durumudur (130). Ancak hastaların çoğunda bu durum gözlenmez. Bu nedenle, klinik olarak sağlıklı terimi, intakt veya azalmış periodonsiyumda enflamasyon bulgularının klinik olarak bulunmaması olarak kabul edilir

(130). Klinik olarak sağlıklı dişetlerine sahip bireylerden alınan histolojik doku örneklerinde, periodontal doku yıkımıyla ilişkili enflamatuvar mediyatörlere nadiren veya çok düşük düzeylerde rastlanabilir (130).

2.2.2. Dental Biyofilm Kaynaklı Gingivitis

Gingivitis genellikle dental biyofilm birikimi ile başlayan, dişetinde kızarıklık ve ödemin olduğu ancak periodontal dokularda ataşmanın bulunmadığı enflamatuvar bir hastalıktır (131,132). Diş etindeki enflamasyonun artması ile birlikte DOS'ta artış gözlenir. SK ve DOS'ta artış, hastalığın en erken belirtileri olarak kabul edilirken KAK ve RKK gözlenmez (129,131).

Gingivitis, yaygınlığına göre lokalize veya generalize olabilir. SK olan bölgelerin yüzdesi %10-30 arasında ise bu durum lokalize gingivitis olarak adlandırılırken %30 ve üzerinde olması generalize gingivitis olarak tanımlanır (130). Gingivitis genellikle ağrısızdır, nadiren spontan kanamaya yol ačar ve bu durum çođu kez bireylerin hastalığı fark etmemesine neden olur (130).

Gingivitis, çocuklarda ve genç yetişkinlerde en yaygın görülen periodontal hastalıktır. Hastalığın çocukluktan ergenliğe gečiř döneminde yaygınlığı ve şiddeti artar (133). Liu ve ark (2022) yaptıkları bir çalışmada 6-12 yař aralığındaki çocuklarda gingivitis oranını %28,58 olarak bulmuşlardır (85). Gingivitis, ağız bakımı yöntemlerinin doğru ve etkin bir şekilde uygulanması ile geri dönüşümlü iltihabi bir süreç olarak tanımlanır. Ancak, gingivitis tedavi edilmezse geri dönüşümsüz doku kaybının gözlendiği periodontitise ilerleyebilir ve diř kayıplarına sebep olabilir (130).

Dental plak birikimine neden olan lokal faktörler, plağın oluşumunu kolaylaştırır ve plağın mekanik olarak temizlenmesini zorlaştırır. Tükürük akış hızı ve kalitesindeki değişiklikler, ağız kuruluğuna yol ačarak dental plağın uzaklaştırılmasını güçleştirir ve diř eti iltihabının şiddetini artırabilir (130,132). Bunun yanı sıra, sistemik risk faktörleri veya değiştirilebilir faktörler, kişinin plağa karşı immünolojik tepkisini olumsuz yönde etkileyerek iltihabın şiddetlenmesine neden olabilir. Gingivitis üzerinde etkili olan sistemik durumlar arasında sigara kullanımı, diyabet, şiddetli C vitamini eksikliği, endokrin sistemi etkileyen ve tükürük akışını azaltan ilaçlar, ergenlik dönemi, gebelik, oral kontraseptifler, menstrüel döngü ve hematolojik bozukluklar sayılabilir (130,134).

2.2.3. Periodontitis

Periodontitis mikrobiyal dental plak ile ilişkili, diş eti, periodontal ligament ve alveol kemiğini içeren diş destek dokularının ilerleyici tarzdaki yıkımı ile karakterize kronik enflamatuvar bir hastalıktır (1,2). Periodontitisin bulguları arasında dişeti iltihabı, KAK, RKK, SD ve mobilitede artış, SK ve patolojik migrasyon sayılabilir (135).

Evre I periodontitis, ataşman kaybının başlangıç safhasına işaret eder. Evre I periodontitiste, KAK, 1-2 mm'dir ve koronal üçlüde gözlenen RKK %15'ten azdır. SD, 4 mm'ye eşit veya daha azdır (2,136). Evre II periodontitis, diş destek dokularında meydana gelen karakteristik hasarları tanımlayan yerleşik periodontitisi ifade eder. Evre II periodontitiste KAK, 3-4 mm'dir ve koronal üçlüde gözlenen RKK %15-33 arasındadır. SD, 5 mm'ye eşit veya daha azdır. Evre I ve II periodontitiste, genellikle horizontal kemik kaybı mevcuttur ve periodontitise bağlı diş kaybı bulunmamaktadır (2,136).

Evre III periodontitiste, KAK 5 mm ve üzerindedir. RKK, kökün orta üçlüsüne veya daha ilerisine kadar uzanmaktadır. SD, 6 mm ve üzerindedir. Evre III periodontitiste, vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha fazladır, periodontitise bağlı gözlenen diş kaybı sayısı 4 veya daha azdır. Sınıf II veya III furkasyon defekti gözlenir ve orta derecede lokalize alveoler kemik defekti gözlenir (2,129,130). Evre IV periodontitiste periodontitise bağlı olarak kaybedilen diş sayısı 5 veya daha fazladır. Evre III periodontitise ek olarak sekonder oklüzal travma nedeniyle ikinci derecede veya daha fazla mobilitate, çiğneme fonksiyon bozuklukları, daha şiddetli alveoler sırt defektleri, kapanış bozuklukları ve dişlerde yer değiştirmeler gözlenebilir. Mevcut diş sayısı 20'den daha azdır (2,136).

Periodontitisin derecesi hastalığın ilerleme hızını gösterir. Derecenin saptanmasında direkt ve indirekt kanıtlardan yararlanılır. Direkt kanıtlar, son 5 yıl içinde gözlenen KAK ya da RKK ile değerlendirilir. Direkt kanıtın mevcut olmadığı durumlarda indirekt kanıtlar kullanılır. Bu amaçla, ağızda periodontitis nedeniyle en fazla kemik kaybına sahip olan dişin RKK yüzdesi, hastanın yaşına bölünür. Sigara kullanımı veya diyabetin metabolik kontrolü periodontitisin derecesinin belirlenmesinde risk faktörleri olarak yer alır (2,136).

Derece A periodontitiste, 5 yıldan uzun sürede KAK ve RKK gözlenmez. RKK yüzdesinin yaşa oranı 0.25'den küçüktür. Biyofilm miktarı yüksek olmasına rağmen biyofilm ile ilişkili kemik yıkımı azdır. Sigara kullanımı yoktur ve diyabet belirtileri gözlenmez (2,130,136). Derece B periodontitiste, hastalığın ilerleme derecesi orta düzeydedir. 5 yıldan

uzun sürede meydana gelen KAK ve RKK değeri 2 mm'den azdır. RKK yüzdesinin yaşa oranı 1'den küçük ve 0.25'ten büyüktür. Biyofilm miktarı ile kemik yıkımı orantılıdır. Sigara kullanımı 10 adetten azdır ve diyabet hastalarında HbA1c değeri %7'nin altındadır (2,130,136). Derece C periodontitiste ise 5 yıldan uzun sürede meydana gelen KAK veya RKK değeri, 2 mm veya üzerindedir. RKK yüzdesinin yaşa oranı 1 veya daha fazladır. Biyofilme kıyasla kemik kaybı fazladır. Sigara kullanımı 10 adetten fazladır ve diyabet hastalarında HbA1c değeri %7'den büyüktür (2,136).

2.3. Homeostaz, Programlanmış Hücre Ölümü

Homeostaz, değişen çevre şartlarına karşı organizmanın iç kararlılığıdır (137). Homeostazın korunmasındaki en önemli biyolojik olaylardan bir tanesi hücre ölüm mekanizmasıdır(138). Vücudumuzda bir yandan yeni hücreler oluşurken diğer yandan mevcut hücrelerin bir kısmının hücre ölümü ile ortadan kaldırılması homeostazın sürmesini sağlar (137,138). Hücre ölüm mekanizmaları, programlanmış veya programlanmamış hücre ölüm mekanizmaları olarak ayrılabilir (139).

Programlanmış hücre ölümü, fizyolojik veya patolojik koşullarda ortaya çıkan sinyal iletim yollarının yönlendirdiği, genetik düzeyde sıkı bir şekilde kontrol edilen hücre ölüm şeklidir (10). Organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış ya da hasar görmüş hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar (10,139). Programlanmış hücre ölümü, hücrenin çevresel sinyallere verdiği yanıtla bağlı olarak çeşitli sinyal iletim yolları aracılığıyla aktive olur ve apoptoz, piroptoz, nekroptoz, ferroptoz, entotik hücre ölümü ve otofaji ile ilişkili hücre ölümü gibi farklı alt tiplere ayrılır (140,141).

Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün klasik bir türüdür (10). Ekstrensik apoptoz, intrensik apoptoz ve perforin/granzim yolu ile tetiklenen apoptoz olmak üzere üç farklı şekilde meydana gelir (142). Apoptotik mekanizmalar, fazla üretilmiş ve aktive olmuş T-lenfositlerinin, virüsle enfekte doğal öldürücü hücrelerin ve kanser hücrelerinin ortadan kaldırılmasını sağlar (143). Bu nedenle, apoptoz, bağışıklık sisteminin fonksiyonu ve homeostazı için kritik öneme sahiptir (17). Apoptoz sonucunda hücre iskeletinde bulunan proteinlerin yapısı bozulur, nükleer membran parçalanır ve deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonu meydana gelir. Kromatinin yoğunlaşması ve hücre büzülmesini takiben hücre zarında tomurcuklanmalar başlar ve apoptotik cisimcikler oluşur. Bu apoptotik cisimcikler, makrofajlar ve komşu hücreler tarafından tanınır ve fagosite edilir. (144). Apoptotik mekanizmalardaki disregülasyon, kronik enflamatuvar hastalıkların gelişmesine neden

olmaktadır. Tip 1 diyabet, romatoid artrit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, multipl skleroz, skleroderma, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında apoptozun arttığı bilinmektedir (145). Kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste, anti-apoptotik/proapoptotik protein oranının artması, hücrelerinin apoptotik süreçlerinde gecikmeye ve dolayısıyla persiste kronik enflamasyona yol açmaktadır. (146). Kontrol edilemeyen enflamatuvar yanıt ise periodontal destek dokuların kaybına neden olmaktadır (147).

Bununla birlikte, son yıllarda tanımlanan piroptoz ve nekroptoz gibi diğer programlanmış hücre ölüm mekanizmaları, enflamatuvar hücre ölümü ile karakterizedir ve genellikle enflamatuvar hastalıklarda ön plana çıkmaktadır (141). Piroptoz, inflamatuvar kaspazların aktivasyonu sonucu GSDM-D proteininin N-terminal alanının plazma membranında porlar oluşturması ile karakterizedir (45). Bu porlar, hücre içeriğinin dışarı sızmasına, IL-1 β ve IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımına ve enflamatuvar hücrelerin bölgeye çekilmesine yol açar (20,148). Özellikle NLRP3 inflamazomu, birçok kronik enflamatuvar hastalıkta piroptozun ana tetikleyicisi olarak tanımlanmıştır (20). Periodontitis gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda da NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D düzeylerinin artışı bu mekanizmanın hastalığın patogenezindeki olası rolünü desteklemektedir (149,150).

Nekroptoz, bir diğer enflamatuvar programlanmış hücre ölüm biçimidir. Tümör nekroz faktör reseptörü 1 (TNFR1) üzerinden başlatılan, ancak kaspaz aktivitesinin engellendiği durumlarda aktifleşen bir alternatif bir yoldur (151). Bu süreçte, reseptörle etkileşen protein kinaz 1 ve 3 (RIPK1 ve RIPK3) kinazlarının etkileşimi ve karışık soy kinaz alanı benzeri proteinin (MLKL) fosforilasyonu ile plazma membranının destabilizasyonu sağlanır (152). Nekroptotik hücre ölümü, tıpkı nekrozda olduğu gibi membran bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanır ve bu durum proenflamatuvar içeriklerin hücre dışı ortama salınımına yol açarak bağışıklık sistemini aktive eder (151). Nekroptozis yoluyla salınan hücre içi bileşenler, inflamasyonu artıran tehlike sinyalleri olarak hareket eder ve bu durum, periodontal yıkımını daha da derinleştirebilir (151). Ayrıca, RIPK3 ve MLKL'nin periodontal hastalıklarda artan ekspresyonu, nekroptozun aktif olarak çalıştığını desteklemektedir (153). Bu bilgiler, periodontitisin kronik inflamasyon seyrinde nekroptozisin etkili bir mekanizma olabileceğini ve hedeflenebilir yeni bir terapötik yol sunduğunu göstermektedir (154).

Programlanmamış hücre ölümü ise ekzojen kaynaklı fizikokimyasal stres faktörleri (iskemi, mekanik travma, toksin maruziyeti veya termal hasar gibi) nedeniyle hücrenin genetik kontrol mekanizmalarından bağımsız olarak geri dönüşümsüz şekilde hasara ve

fonksiyon kaybına uğraması sürecidir (155). Bu patolojik sürecin en tipik formu olan nekroz, hücre membran permeabilitesinde artış, organel şişmesi, ATP depolarının tükenmesi ve hücre lizisi ile karakterizedir (141). Membran bütünlüğünün kaybını takiben hücrel içeriğin ekstraselüler alana yayılması, hasar ilişkili moleküler paternleri (DAMPs) salınımına yol açarak immün hücreleri aktive etmekte ve sekonder enflamatuvar yanıtı tetiklemektedir (134). Akut doku hasarı, reperfüzyon injurisi ve toksik hepatik nekroz gibi çeşitli patolojik durumlarda gözlenen bu kontrolsüz hücre ölüm formu, dokusal homeostazın bozulmasında ve patolojik inflamasyon kaskadının başlatılmasında kritik rol oynamaktadır (156,157).

Programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının düzgün işlemesi, immün homeostazın korunmasında hayati rol oynar. Bu mekanizmalardaki bozulmalar veya hücrelerin apoptoza dirençli hale gelmesi, birçok patolojik duruma zemin hazırlar (141,158). Özellikle periodontitis gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda, apoptotik proteinler arasındaki dengenin bozulduğu, apoptozun geciktiği ve enflamatuvar hücrelerin dokuda uzun süre kalmasının hastalığın şiddetini artırdığı gösterilmiştir (159). Bu durum, doku hasarının devam etmesine ve periodontal destek dokuların yıkımına yol açan enflamatuvar yanıtın sürmesine neden olur (159,160).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, programlanmış hücre ölümü mekanizmaları içinde apoptozun dışında piroptoz, ferroptoz ve nekroptoz gibi yeni ve farklı hücre ölüm yollarının da tanımlandığını ortaya koymaktadır (141,155). Bu yeni mekanizmalar, hücre ölümünün çeşitli patolojik ve fizyolojik süreçlerdeki rolünü daha derinlemesine anlamamıza olanak sağlayacaktır. Özellikle piroptoz, bağışık yanıt ve inflamasyonla olan ilişkileri nedeniyle önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir (45,161).

2.4.Piroptoz

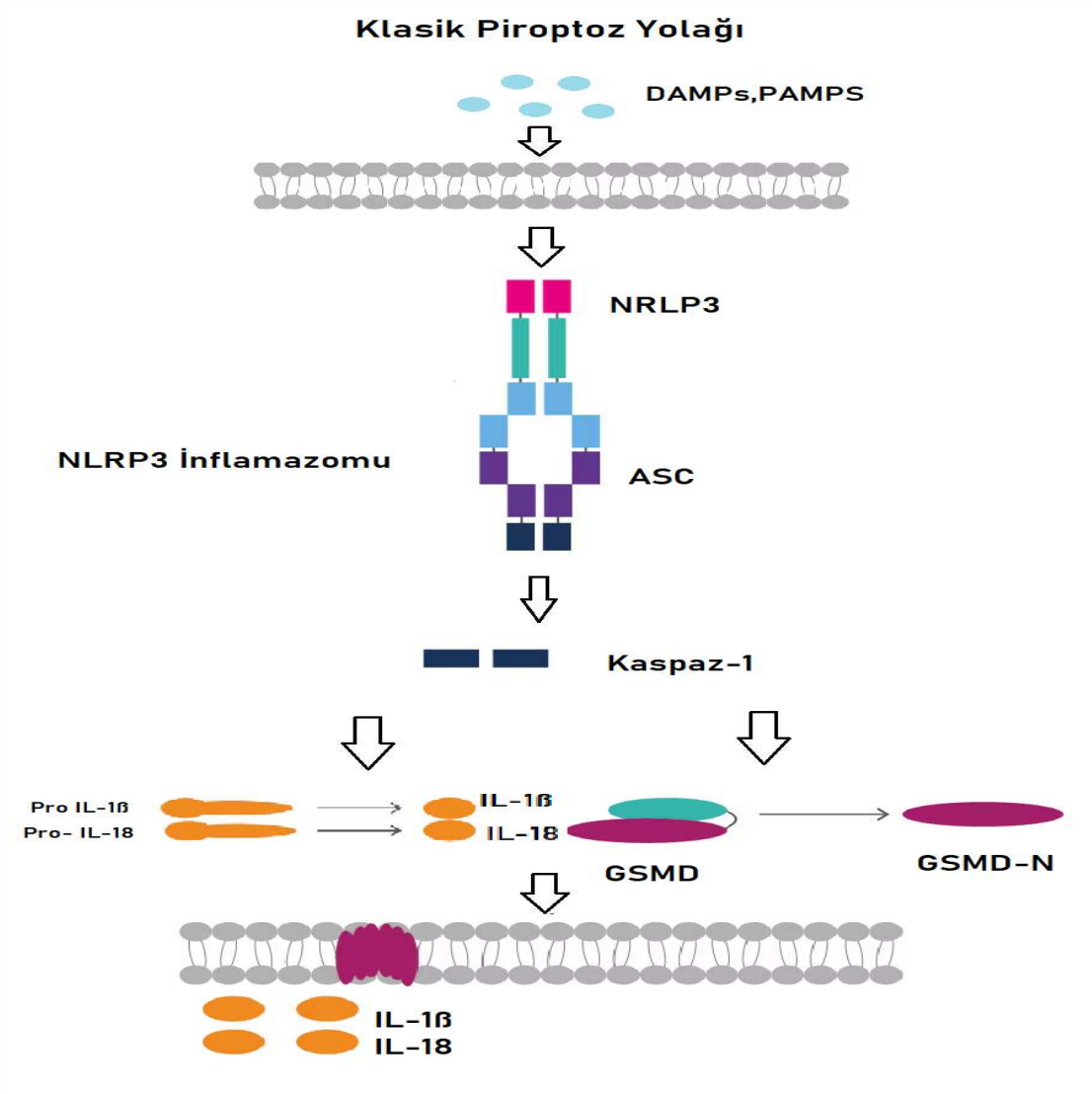
Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür (10). Sekonder nekroz olarak da adlandırılır (162). Esas olarak savunma hücrelerinde görülmekle birlikte keratinositlerde ve bazı epitel hücrelerinde de görülebilir (163). Por oluşumu, hücrenin şişmesi, plazma zarının yırtılması ve hücre içi içeriğin salınması ile karakterizedir (10,20). Kaspaz-1 bağımlı olan piroptozun, apoptozdan farklı olduğu netlik kazanmıştır (10,14).

Proinflamatuvar hücre ölüm şekli olan piroptoz, genellikle hücre içi patojen enfeksiyonu ile uyarılır ve konağın savunma sisteminin bir parçasıdır (11). Piroptotik mekanizmalar, klasik (kanonik) ve klasik olmayan (non-kanonik) enflamatuvar yollar

şeklinde meydana gelir. Klasik yolak, patern tanıma reseptörlerinin (PRR), patojen ilişkili moleküler paternleri (PAMP) ve DAMP tanınmasıyla başlar (14). Bu tanımanın ardından NF- κ B uyarılır ve pro-IL-1 β ve pro-IL-18 oluşumu gözlenir (14,20). Diğer yandan, hücre içine potasyum geçişi ve reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği lizozomal hasarla birlikte, hücre içinde NLRP3 inflamazomu meydana gelir. Bu inflamazom, NLRP3 proteini, CARD içeren ASC ve pro-kaspaz-1'den oluşan çoklu sitozolik protein kompleksidir (15). Mikrobiyal enfeksiyona ve hücre hasara karşı immün yanıtın temel inflamazomu olan NLRP3, pro-kaspaz-1'i olgun ve aktif kaspaz-1 formuna dönüştürür (16). Kaspaz-1 ise pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i olgun ve aktif IL-1 β ve IL-18 formlarına dönüştürür (14). Kaspaz-1, aynı zamanda hücre zarında bulunan GSDM-D proteinini spesifik olarak tanır; C ve N domainlerine parçalayarak hücre zarında porların oluşmasına ve hücrenin piroptozuna neden olur (18,19). GSDM-D'nin aktivasyonu sonucunda, hücre membranında IL-1 β ve IL-18 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salımına yol açan porlar meydana gelir (21,22). Apoptozdan farklı olarak piroptozda, hücre membranında oluşan porlar, hücre şişme ve osmotik lizis hücrenin ölümüne yol açar. Piroptoz sırasında kromatin yoğunlaşması, DNA parçalanması ve kaybı gerçekleşir (19). Klasik olmayan yolak ise inflamazomdan bağımsız olarak başlatılır. Farelerdeki prokaspaz-11, bakteri LPS tarafından doğrudan aktive edilir (164). Aktive edilen kaspazlar, plazma zarını parçalamak, potasyum iyon akışını arttırmak ve piroptozu indüklemek için GSDM'leri aktive eder. Başka bir deyişle, aktifleşmiş kaspaz-4/5/11, aktif kaspaz-1 gibi hücre membranında por oluşturacak olan GSDM-D'yi N domainine parçalar. Buna karşılık, kaspaz-4/5/11, pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i parçalayamamasına rağmen bazı hücrelerde NLRP3/kaspaz-1 yolağını kullanarak IL-1 β ve IL-18'in salımına aracılık edebilmektedir (165).

Çeşitli çalışmalar, piroptozun, kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezinde rol oynadığını göstermektedir (14,166). Romatoid artrit hastalarının sinoviyal dokularında NLRP3 inflamazomunun aktivasyonunu ve buna bağlı olarak artmış kaspaz-1 ve IL-1 β ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (167). Guo ve ark (2018), özellikle sinoviyal fibroblastlar ve makrofajlarda gözlenen bu değişikliklerin, eklem hasarının ilerlemesinde önemli olduğunu belirtmişlerdir (168). Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi enflamatuvar bağırsak hastalıklarında, kaspaz-1 ve IL-18 gibi piroptoz ile ilişkili moleküllerin, bağırsak mukozasında yoğun bir şekilde bulunduğu ve bu süreçlerin hastalığın ilerlemesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir (169,170). NLRP3 aracılı piroptoz, tip 1 diyabetin patogenezinde rol

oyunarak hastalığın ilerlemesini arttırmaktadır (171). Bununla birlikte, NLRP3 inflammasomunun aktive olması, tip 2 diyabette insülin direncini artırarak hastalığın ilerlemesini kolaylaştırmaktadır (172,173). Kursawe ve ark (2016) ise, NLRP3 inflammasomunun adipöz dokularda enflamasyonu arttırdığını ve insüline olan duyarlılığı azalttığını ileri sürmüştür (174). Bu nedenle, bu bulgular piroptozla düzenlenen hücre ölümünün kronik enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.



Şekil 2. Klasik piroptoz yolağı

2.5. NLRP3

NLRP3 proteini, çok çeşitli mikrobiyal motifleri, endojen tehlike sinyallerini, çevresel tehdit unsurlarını algılayan, NLRP3 inflamazomunun oluşumu ve aktivasyonu ile sonuçlanan hücre içi bir sensördür (175). NLRP3 inflamazomu, NLRP3 proteini, CARD içeren ASC ve pro-kaspaz-1'den oluşan çoklu sitozolik protein kompleksidir (15). Bu inflamazom mikrobiyal enfeksiyona ve hücre hasara karşı oluşan immün yanıtta görev alır (176). Enflamasyonda aktif rol oynayan monosit, lenfosit, nötrofil, osteoblast ve dendritik hücrelerde bulunur (177). NLRP3 inflamazomu, immün sisteme ulaşan çeşitli tehlike sinyallerini algılayan ve bu sinyallerin sitoplazmik bir sinyal kompleksi aracılığıyla IL-1 β ve IL-18 gibi enflamatuvar yanıtların aktivasyonuna katkıda bulunan bir yapıdır. Bu kompleks, hücre içinde çeşitli uyarıcı molekülleri algılar ve ardından enflamatuvar yanıtları tetiklemek için IL-1 β ve IL-18 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır. Bu süreç, enfeksiyon, doku hasarı veya diğer patojenik tehditlerle ilişkilidir (178,179). NLRP3 inflamazomu, konak immün savunmasında önemli bir rol oynar ve bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlarla mücadelede etkilidir (180). NLRP3'ün aktivasyonundan sonra ortaya çıkan enflamatuvar yanıt ile mikrobiyal enfeksiyonu hızlı ve etkili bir şekilde ortadan kaldırabilir, hasarlı dokuyu onarabilir. Bununla birlikte, NLRP3 inflamazomu çok fazla aktive edildiğinde, aşırı iltihaplanmaya ve gereksiz konakçı hasarına yol açarak vücudu patolojik bir durumda bırakır (180). Ayrıca, NLRP3 inflamazomu yaşlanma, fiziksel hareketsizlik, aşırı beslenme veya çevresel faktörler gibi çeşitli durumlarda aktive olabilir (178).

NLRP3, inflamasyon sürecinde yalnızca doğrudan mikrobiyal veya doku kaynaklı tehlike sinyalleriyle değil, aynı zamanda çeşitli hücre içi sinyal yolları aracılığıyla da aktive edilebilmektedir (180). Bu yolların başında, doğal bağışıklık sisteminin önemli bileşenlerinden biri olan Toll-like reseptörler (TLR'ler) yer almaktadır (181). Özellikle TLR4, NLRP3 inflamazomunun primer aktivasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (182). TLR4, LPS gibi PAMP'ları tanıyarak, NF- κ B yolunu aktive eder (183). Bu sinyal iletimi sonucunda pro-IL-1 β , pro-IL-18 ve NLRP3'ün gen ekspresyonu artar ve inflamasyon için gerekli olan ilk aşama başlatılmış olur (184). İnflamazomun tam aktivasyonu için ikinci bir sinyal gereklidir (185). Bu sinyaller; hücre içi potasyum iyonlarının azalması (K⁺ efflusu), hücre dışı ATP birikimi, lizozomal hasar, kristal birikimi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi gibi çeşitli hücre stres faktörlerinden kaynaklanır (186). Bu süreç, NLRP3'ün oligomerleşmesi ve ASC ile pro-kaspaz-1'in bir araya gelerek aktif inflamazom kompleksini oluşturması ile

sonuçlanır (187). Bu süreçte ROS hem hücre hasarının bir göstergesi hem de inflamazomun aktivasyonu için doğrudan bir tetikleyici görevi görmektedir (188).

NLRP3, tioredoksin etkileşimli protein (TXNIP) ile etkileşime girer, böylece doğal bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Daha önceki bir çalışmada, TXNIP eksikliğinin NLRP3 inflamatuvarının aktivasyonunu ve IL-1 β 'nin alt sekresyonunu bozduğu gösterilmiştir (189). Yüksek IL-1 β üretimi, insülin insensitivitesine, insülin direncine ve tip 2 diyabet şiddetine katkıda bulunabilir ve bunlarla ilişkili olabilir (172). Farelerde yapılan çalışmalar, NLRP3'ün, TXNIP'in aktivasyondaki rolüne bağlı olarak artmış insülin duyarlılığı ve glikoz toleransı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (190). NLRP3'ün adipoz dokuda glukoz toleransını, insülin direncini ve enflamasyonu düzenleyerek tip 1 ve tip 2 diyabet modülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (191). Tip 2 diyabet hastalarının periferik kan hücrelerinden monositlerde bazal NLRP3 aktivitesinin arttığı bulunmuştur (192). Aynı zamanda NLRP3'ün iskemi, hipertansiyon ve ateroskleroz dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojide dolaşımdaki sitokinleri ve enflamatuvar aracılıları artıran bir inflamazom olarak önemi bildirilmiştir (193). Koroner arter hastalarının serum NLRP3 seviyeleri sistemik sağlıklı bireylere oranla yüksek olduğu gösterilmiştir (194). Romatoid artrit hastalarında yapılan çalışmalarda, hastaların makrofajlarında, dendritik hücrelerinde ve sinoviyal sıvılarında NLRP3 mRNA seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (168,195,196).

2.6. Kaspaz-1

İnsan kaspaz ailesi, temel işlevlerine göre enflamasyon, apoptoz ve farklılaşma süreçlerinde görev alan 12 üyeden oluşur (44,197,198). Kaspaz-1, hem patojen kaynaklı faktörlere hem de endojen mediyatörlere yanıt olarak inflamazom komplekslerinin oluşumu yoluyla aktive olan enflamatuvar bir kaspazdır (35). Kaspaz-1'in en bilinen işlevi, proenflamatuvar sitokinlerin, özellikle pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in aktif formlarına dönüştürülmesidir. Aktive olan IL-1 β , lokal ve sistemik enflamatuvar süreçleri tetiklerken, IL-18 ise IFN- γ üretimini artırarak antimikrobiyal savunmada önemli bir rol oynar (49). Bunun yanı sıra, kaspaz-1 aracılığıyla gerçekleşen piroptoz, enfekte veya hasar görmüş hücrelerin ölümünü sağlayarak patojenlerin yayılmasını sınırlayıcı bir mekanizma olarak işlev görür (14). Kaspaz-1'in aktivasyonu genellikle PAMP veya DAMP'lar aracılığıyla gerçekleşir (36). Örneğin, bakteriyel LPS, viral RNA veya hücre hasar ürünleri, NLRP3 inflamazomunu ve NLRP3 olmayan diğer inflamazomları uyarır. NLRP3 proteini, CARD içeren ASC ve pro-kaspaz-1'den oluşan NLRP3 inflamazomu prokaspaz-1'i kaspaz-1'e dönüştürür (37). Aktif kaspaz-1 ise yalnızca sitokin aktivasyonu değil, aynı zamanda

enflamatuvar hücre ölümüyle karakterize olan piroptozun da meydana gelmesine neden olur. Bu durum, özellikle kronik enflamatuvar hastalıklarda doku hasarına yol açabilir (36,37).

Kaspaz-1, yalnızca NLRP3 inflamazomu aracılığıyla değil aynı zamanda insan hipereozinofilik enflamasyonunda NLR ailesi CARD içeren protein 4 (NLRC4) ve melanomda bulunmayan 2 (AIM2) gibi diğer inflamazom tipleri aracılığıyla da aktive olabilmektedir (199). Örneğin, AIM2 inflamazomu hücre içinde bulunan mikrobiyal DNA'yı tanıyarak inflamasyonu başlatabilirken, NLRC4 ise bakteriyel flagellin ve tip III sekresyon sistemi bileşenlerine yanıt vererek kaspaz-1'i aktive eder (200).

Kaspaz-1, makrofajlar, dendritik hücreler ve nötrofiller gibi savunma hücrelerinin yanı sıra immün sistem hücreleri dışındaki keratinositler, astrositler, hepatositler ve kardiyomiyositlerden de üretilir (201,202). Yapılan çalışmalar, kaspaz-1'in, sitoprotektif mekanizmaların, doku tamirinin ve hücre ölümünün düzenlenmesi yoluyla, strese karşı hücresel yanıtın bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir (203,204). Son çalışmalar, kaspaz-1'i sitoprotektif yanıtların, doku onarımının ve hücre ölümünün düzenlenmesi yoluyla, strese karşı hücresel yanıtların düzenleyicisi olarak göstermeye başlamıştır (35,203,204). Kaspaz-1 bu fonksiyonunun, hücre ve doku stresinin etkilediği hepatositlerde, nöronlarda ve kardiyomiyositlerde özellikle önemli olduğu düşünülmektedir (202,205). Kaspaz-1 gen polimorfizmine sahip bireylerde miyokard enfarktüsü ve kardiyovasküler hastalık görülme sıklığı yüksek bulunmuştur (206). Yapılan çalışmalar, tip 2 diyabet hastalarının serum kaspaz-1 değerlerinin sağlıklı bireylerden yüksek olduğunu bildirmiştir (207,208). Kronik enflamasyonun gözlemlendiği diğer bir hastalık olan aterosklerozda, kaspaz-1'in aktive ettiği IL-1 β , vasküler inflamasyonu artırarak plak oluşumunu hızlandırmaktadır. NLRP3 inflamazomu ve kaspaz-1'in bu süreçte rol oynadığı çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiştir (39).

2.7. GSDM-D

GSDM-D, insanlarda 8. kromozom üzerindeki GSDM-D geni tarafından kodlanan bir proteindir. Savunma hücrelerinin ve epitel hücrelerinin de dahil olduğu çeşitli hücre tiplerinde bulunur (22). Bu protein, farede D276 ve insanda D275 pozisyonlarında yer alan bir bölgeye sahiptir. Bu bölge, iki alan arasındaki bağlayıcı alan ile por oluşturan N-terminal kısmı ve inhibe edici bir C-terminal kısmı içerir (209). Bu bölünme bölgesi, viral DNA'yı, bakteriyel flagellini, hücre yapısındaki ve plazma membranındaki bozulmaları algılayan NLRP3 inflamazomunun aktiflediği kaspaz-1 tarafından hedeflenir (200). GSDM-D bölündüğünde, N-terminal alanı plazma zarına girmek üzere serbest kalır ve porların oluşmasını sağlar.

GSDM-D, membranda oluşturduğu porlar aracılığıyla IL-1 β ve IL-18 gibi enflamatuvar sitokinlerin ve iyonların hücre dışına geçişini sağlar (44,45). Por oluşumu, ozmotik homeostaz kaybına, hücrenin şişmesine ve ölümüne neden olur (44,45,191,210).

GSDM-D aracılı piroptoz, bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı savunmada kritik bir bağışıklık mekanizmasıdır. Gram-negatif bakterilerin LPS'leri, hücre içine girerek kaspaz-1 aracılığıyla GSDM-D'yi aktive eder. GSDM'nin aktif hale gelmesi ise membranda por oluşturarak enfekte hücrelerin piroptotik ölümüne yol açar (44). Bu durum, bir yandan patojenlerin çoğalmasını sınırlarken diğer yandan savunma hücrelerinin enfeksiyon bölgesine çekilmesi için güçlü bir enflamatuvar yanıt oluşturur.

Yapılan çalışmalar, GSDM-D'nin, enflamatuvar kaspazlara (kaspaz-1, -4, -5 ve -11) özgü bir substrat olduğunu ve piroptoz için efektör bir molekül olarak görev gördüğünü ortaya koymuştur (45,200). Bu nedenle, GSDM-D, mikrobiyal enfeksiyon ve tehlike sinyallerine karşı konak savunmasının önemli bir aracıdır. Aynı zamanda GSDM-D, bakteri zarlarında da gözenekler oluşturarak ilave bir antimikrobiyal etki de yaratmaktadır (210).

GSDM-D'nin düzensiz aktivasyonu, kronik enflamatuvar hastalıkların ve otoimmün bozuklukların patogenezi etkileyebilir (211,212). Örneğin, romatoid artrit, sepsis ve enflamatuvar bağırsak hastalığında, GSDM-D'nin aşırı aktivasyonu sonucu gerçekleşen kontrolsüz piroptoz, doku hasarına ve hastalığın kötüleşmesine neden olabilir (211). Tedavi edilmeyen ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olan bireylerde, GSDM-D aracılı piroptozun hücre ölümüne ve bağırsakta hasara neden olduğu gösterilmiştir (212). Diyabetik nefropati hastalarının böbrek tübül hücrelerinde GSDM-D seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (211).

2.8. IL-1 β

IL-1 β , enfeksiyon ve yaralanmaya karşı güçlü bir proenflamatuvar sitokindir (213). IL-1 sitokin ailesinin bir üyesidir, aktive edilmiş makrofajlar, monositler ve dentritik hücreler tarafından üretilir (70). Pro-IL-1 β , proenflamatuvar proteaz kaspaz-1 tarafından parçalanarak aktif IL-1 β 'ya dönüştürülür (214). Olgun IL-1 β ise hızla hücreden salınır (66).

IL-1 β , enflamasyon, vazodilatasyon ve immün hücre ekstrasvazasyonunun güçlü bir uyarıcısıdır. Adaptif immün yanıtları şekillendirmede de rolleri vardır (215). IL-1 β , kollajenaz gibi hücre dışı matriks enzimlerinin ekspresyonunu artırır, osteoklastlar ve kemik rezorpsiyonu üzerinde uyarıcı etkilere sahiptir (51). Doku yıkımına yol açan diğer enflamatuvar mediyatörlerin de salımına neden olmaktadır (49). Donath ve ark. (2011), tip 2 diyabet hastalarının pankreatik hücrelerinde IL-1 β gen ekspresyonunu sağlıklı kontrol

grubundan önemli ölçüde yüksek bulmuştur (216). Romatoid artrit hastalarının sinoviyal membranında ve sıvısında kontrol grubuna oranla daha yüksek IL-1 β ekspresyonları gözlenmiştir (217,218). Aynı zamanda IL-1 β 'nın, kardiyomiyositleri ve damar duvarının tüm bileşenlerini etkileyerek ateroskleroz ve miyokard enfarktüsüne yol açtığı bildirilmiştir (219).

Periodontal hastalık patogeneğinde IL-1 β 'nın proenflamatuvar rolü çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur. IL-1 β , başta makrofajlar olmak üzere birçok immün hücre tarafından sentezlenen, periodontal enflamasyon ve doku yıkımı ile ilişkisi oldukça iyi bilinen proenflamatuvar sitokinlerden biridir (49–52). Bu sitokin, periodontitisteki immune-enflamatuvar yanıtı ve osteoklastik kemik rezorpsiyonuna neden olan diğer proenflamatuvar sitokinleri, kemokinleri ve ekstrasellüler matrisi parçalayan enzimleri uyararak periodontal doku yıkımının şiddetini arttırmaktadır (51,52,220). Periodontitisli bireylerin enflamasyonlu diş eti dokusunda ve serumlarında IL-1 β ekspresyonun yüksek olduğu gösterilmiştir (56,221–224). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin oral biyolojik sıvılarındaki yüksek IL-1 β seviyeleri de periodontitis ile ilişkilendirilmiş (54–56) ve bu durum IL-1 β , periodontitis için potansiyel bir biyobelirteç haline getirmiştir (52). Sistemik sağlıklı ve sigara içmeyen SIIIGB ve SIIIGC periodontitis hastalarının DOS ve tükürük IL-1 β total miktarları, gingivitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuştur (54–56,225).

Önceki çalışmalar, piroptozda artan NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D seviyelerinin artan IL-1 β seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (48,65–68). Literatürde, özellikle inflamasyonun şiddetlendiği ve hücre hasarın arttığı durumlarda NLRP3 ve IL-1 β arasındaki pozitif ilişki sıklıkla vurgulanmıştır (226,227). Kaspaz-1 ile IL-1 β arasında pozitif ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (66,69). GSDM-D'nin IL-1 β ile ilişkisi ise por oluşumu ve hücre ölümüne bağlı olarak genellikle pozitif yönde gösterilse de (64) bazı çalışmalarda bu ilişkinin zayıf ya da negatif yönde olduğu da bildirilmiştir (228,229).

2.9. IL-18

IL-18, IL-1 ailesinin bir üyesidir, monositler ve makrofajların yanı sıra epitel ve endotel hücrelerinde üretilir. Çeşitli hücre tiplerini uyarır ve pleiotropik işlevlere sahiptir (230). IL-18, IL-1 β gibi proenflamatuvar bir sitokindir ve kaspaz-1 tarafından aktive edilir (231). IL-18, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, nitrik oksit sentezini ve kemokin üretimini uyarır. Çeşitli enfeksiyöz mikroorganizmalara karşı konak savunmasında önemli bir rol oynar (230). Antimikrobiyal savunmada yer alır ve doğal öldürücü hücreleri, T hücrelerini ve makrofajları aktive etmeye yardımcı olur (220). IL-18, IL-12 ile birleştiğinde, IFN- γ üretimini önemli

ölçüde artırarak patojenlere karşı güçlü bir bağışık yanıt oluşturur (230,232,233). Sağlıklı dokularda, vücudun savunma mekanizmalarını aktive ederek homeostazın korunmasına yardımcı olur (220). Bu sitokin hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemlerinin düzenlenmesine yardımcı olarak enfeksiyonlara zamanında ve kontrollü bir yanıt verilmesini sağlar (233).

IL-18, özellikle enflamasyon ve otoimmün yanıtlarla ilişkili sistemik hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynar. IL-18, sistemik juvenil idiyopatik artrit ve yetişkin başlangıçlı Still hastalığında yüksek seviyelerde bulunmuştur (234,235). IL-18, çoklu organ disfonksiyonu, T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi savunma hücrelerinin aktivasyonu ile karakterize makrofaj aktivasyon sendromunun gelişiminde rol oynar (220,232,233). IL-18'in amfizem, metabolik sendrom, sedef hastalığı, enflamatuvar bağırsak hastalığı, sepsis ve akut böbrek hasarı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (233,235–237).

IL-18'in periodontal hastalık patogenezindeki rolüne ilişkin literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (60,238–240). Periodontitisli bireylerin periodontal ligament hücrelerinde IL-18 seviyelerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (241). Periodontitisli bireylerin enflamasyonlu diş eti dokusunda IL-18 seviyelerinin, periodontal sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (239). Ancak, Chitrapriya ve ark. (2015), gingivitisli bireylerin dişeti dokularındaki IL-18 seviyelerinin hem periodontitisli hem de periodontal sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (242). Periodontitisli bireylerin serum IL-18 seviyeleri de sağlıklı bireylere kıyasla yüksek bulunmuştur (239,243). Buna karşın, Özçaka ve ark. (2011), periodontitisli bireylerin tükürük IL-18 seviyelerini periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulurken, serum IL-18 seviyelerini sağlıklı bireylerle benzer bulmuştur (240). Ayrıca, bazı çalışmalar, tükürük IL-18 seviyeleri açısından periodontitisli ve periodontitisli olmayan bireyler arasında anlamlı bir fark bulamamıştır (238,243). Durgapal ve Shetty (2025) ise gingivitisli bireylerin tükürük IL-18 seviyelerini periodontitis ve periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuştur. Ayrıca, periodontitisli bireylerin tükürük IL-18 seviyelerinin cerrahisiz periodontal tedaviden sonra azaldığını bildirmişlerdir (244). Literatürde, periodontitisli ve gingivitisli bireylerin DOS IL-18 seviyelerini periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulan çalışmalar bulunmaktadır (58–61). Bununla birlikte, Türkoğlu ve ark (2009) yapmış oldukları çalışmada, periodontitisli bireylerin DOS IL-18 seviyelerini periodontal sağlıklı bireylerle benzer bulmuştur (57). Keleş ve ark (2020) da gingivitisli çocukların DOS IL-18 seviyelerini, periodontal sağlıklı çocuklardan düşük bulmuştur (62).

Çalışmalar, kanonik piroptotik yolağın başlıca bileşenlerinden olan NLRP3, kaspaz-1 ve GSMD-D seviyeleri ile IL-18 düzeyleri arasında anlamlı korelasyonlar bildirmektedir (45,169,245). Özellikle enflamatuvar bağırsak hastalığı, sistemik lupus eritematozus ve romatoid artrit gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda artan NLRP3 ve kaspaz-1 seviyelerinin artan IL-18 seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (49,169). Literatürde, özellikle kaspaz-1 aracılığıyla aktif hâle gelen IL-18'in, NLRP3 inflamasyonunun aktivasyonu ile doğrudan ilişkili olduğu, hücresel hasar ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunu belirgin şekilde artırdığı vurgulanmaktadır (245,246). Bununla birlikte, GSMD-D'nin por oluşturma kapasitesinin IL-18 salınımını kolaylaştırdığı ve bu mekanizmanın da enflamatuvar yanıtın artmasında rol oynadığı bilinmektedir (45,64). Ancak, bazı çalışmalarda, IL-18 düzeylerinin GSMD-D ekspresyonu ile tutarlı bir şekilde artmadığı ve bu ilişkinin hastalık süreçlerine göre değişkenlik gösterebildiği de belirtilmiştir (247). Sonuç olarak, IL-18'in enflamatuvar yanıtın önemli bir mediatörü olduğu ve NLRP3, kaspaz-1 ve GSMD-D aracılığıyla düzenlenen kanonik piroptotik süreçlerle yakın ilişkili olduğu literatür tarafından desteklenmektedir.

2.10. Periodontitis ve Piroptoz

Periodontal hastalıklar, dişin destek dokularını etkileyen dişeti iltihabı, periodontal cep oluşumu, bağ dokusu ataşman kaybı ve alveoler kemik yıkımı ile karakterize kronik enflamatuvar hastalıklardır (4). Subgingival plakta yer alan ve çoğunluğunu Gram-negatif anaerobik bakterilerin oluşturduğu periodontal patojenler, konağın immunoenflamatuvar yanıtını uyararak periodontal doku yıkımına yol açmaktadırlar (248). Yapılan çok sayıda çalışmada, periodontitisli bireylerin DOS, tükürük, serum ve dişeti dokularında enflamatuvar sitokinlerin, proteolitik enzimlerin, büyüme faktörlerinin ve doku yıkım ürünlerinin değişen seviyeleri gösterilmiştir (53,249).

Günümüzde, periodontal hastalıkların tanısı, esas olarak klinik periodontal ölçümler (SD, KAK, SK ve Pİ) ve alveol kemiği kaybının radyografik analizi ile konulmaktadır. Ancak, SD, KAK ve RKK hastalığın geçmişte meydana getirdiği periodontal doku yıkımının derecesini ölçmektedir (7). Subklinik enflamasyonun saptanmasında, hastalığın erken teşhisinde, olası riskli bölgelerin geri dönüşümsüz hasar başlamadan önce belirlenmesinde ve hastalık aktivitesinin izlenmesinde hastalığa özgü, tutarlı sonuçlar veren, spesifik ve hassas biyokimyasal belirteçlerin tespitine ihtiyaç vardır (53,249). Bu bağlamda, periodontal hastalıkta konak aktivitesinin izlenmesinde geçerli, güvenilir ve en az invaziv yaklaşım DOS'un içeriğinin biyokimyasal analizidir (250). Periodontal hastalığın aktif fazı sırasında ortaya çıkan bakteri ve konak kökenli enzimler ve inhibitörleri, enflamatuvar mediyatörler,

büyüme fakörleri, immunglobulinler ve doku yıkım ürünleri DOS'ta tespit edilebilmektedir. Bu moleküllerin DOS'taki seviyeleri, periodontal hastalığın klinik parametreleri ile anlamlı korelasyonlar göstermektedir (7,249).

Periodontal hastalık patogenezinde, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümü olan piroptozun rolüne ilişkin çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (23,24). Bu çalışmalar, insan dişeti ve periodontal ligament fibroblastlarında, oral epitel hücrelerinde, makrofajlarda ve osteoblastlarda piroptozun gerçekleştiğini göstermektedir. Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin doku, serum ve tükürüklerinde kanonik piroptotik yolağın temel bileşenlerinden olan NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri gösterilmiştir (25–27). Periodontitis hastalarının doku, serum ve tükürük NLRP3 seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuştur (26,29,164). Literatürde, periodontitisli bireylerin DOS NLRP3 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştıran yalnızca tek bir çalışma bulunmaktadır (32). Surlin ve ark (2021), evre II-III, derece A periodontitis hastalarının DOS NLRP3 konsantrasyonlarını, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuştur (32). Bununla birlikte, Shahbeik ve ark (2021), periodontitisli bireylerde cerrahisiz periodontal tedaviden sonra DOS NLRP3 seviyelerinin azaldığını ve bu nedenle NLRP3'ün periodontal tedavi sonuçlarını değerlendirmede yararlı bir biyomarkır olabileceğini ileri sürmüştür (27).

Periodontitisli bireylerin hastalıklı dişeti dokularında ve tükürüklerinde kaspaz-1 seviyeleri yüksek bulunmuştur (29,41,70). Araştırmacılar, kaspaz-1'in periodontitisi, periodontal sağlıktan ayırt etmede yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterdiğini bildirmişlerdir. Periodontitiste DOS kaspaz-1 seviyelerini gösteren çok az sayıda çalışma vardır (32,42). Kırmızıgül ve ark (2023) yapmış oldukları çalışmada gingivitis ve periodontitis hastalarının DOS kaspaz-1 konsantrasyonunu, sağlıklı kontrol gruba kıyasla daha anlamlı derecede düşük bulmuşlardır (42). Surlin ve ark (2021) ise evre II-III, derece A periodontitis hastalarında DOS kaspaz-1 konsantrasyonunu, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulurken evre III derece B periodontitis hastalarının DOS kaspaz-1 total miktarını, gingivitis ve periodontal sağlıklı bireyler ile benzer bulmuştur (32). Aral ve ark (2017) ise gingivitisli bireylerin DOS kaspaz-1 ve IL-1 β gen ekspresyon seviyelerini, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuş ve bu molekülün gingivitisin patogenezinde önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüştür (30). Periodontitisli bireylerin hastalıklı periodontal dokularında GSDM-D ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (24,31). GSDM-D kaynaklı piroptozun, IL-1 β ekspresyonunu uyurarak enflamasyonu ve osteoklastogenezi arttırdığı ve bu yolla periodontal

hastalık patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (24). Bugüne kadar, periodontitisli bireylerde DOS GSDM-D seviyelerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Periodontal doku yıkımı ile yakından ilişkili proenflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β 'nin DOS'taki seviyesi periodontitisli bireylerde yüksektir (29,41,54,251). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin DOS ve tükürük IL-18 seviyeleri de periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuştur (32,41,60,252). Ancak, periodontitisli bireylerde NLRP3/Kaspaz-1/GSDM-D yolağının IL1 β ve IL-18 ile olan ilişkisini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

2.11. Amaç ve Hipotez

Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür (8). Piroptozun klasik (kanonik) yolağında, mikrobiyal enfeksiyona ve hücrel hasara karşı hücre içinde NLRP3 inflamazomu meydana gelir. NLRP3 inflamazomu, aktif kaspaz-1'in oluşumunu sağlar (13). Kaspaz-1, bir yandan IL-1 β ve IL-18 gibi proenflamatuvar sitokinlerin aktif formlarını oluştururken diğer yandan hücre zarında bulunan GSDM-D proteinini parçalayarak hücre zarında porların oluşmasına neden olur (12,15,16, Porlar, IL-1 β ve IL-18'nin hücre dışına çıkmasına ve enflamatuvar yanıtın uyarılmasına neden olurken hücrel şişme ve osmotik lizis ile hücrenin ölümüne yol açar (17,18).

Literatürde, enflamatuvar yanıtla ilişkili programlanmış hücre ölümü olan piroptozun periodontal hastalıktaki rolünü araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, periodontitisli bireylerin enflamasyonlu periodontal dokularında, serum ve oral biyolojik sıvılarında kanonik piroptotik yolağın temel bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri araştırılmıştır (24,29–32,41,42,70). Literatürde, periodontitisli bireylerin DOS NLRP3 seviyelerini periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştıran yalnızca tek bir çalışma bulunmaktadır (32). Periodontitis hastalarında DOS kaspaz-1 seviyelerini gösteren çok az sayıda çalışmada ise çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (32,42). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin DOS GSDM-D seviyelerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, periodontitisli bireylerde DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyeleri yüksektir hipotezinden hareketle periodontal hastalıklı bireylerde DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin araştırılmasıdır

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Araştırmamıza katılan gönüller, dişetindeki çeşitli sorunlar nedeniyle veya rutin periodontal kontrolleri için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniğine başvuran hastalar arasından kliniğe başvurma sıraları esas alınarak seçildi. Araştırmamız, 2013 Helsinki Deklarasyonu kriterlerine uygun olarak yürütüldü. Araştırma protokolümüz, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (Protokol no: AADÜDHF 2023/24) onaylandı. Çalışma öncesinde, tüm bireylere araştırmanın amacı ve yöntemi hakkında detaylı bilgi verildi ve katılımcıların sözlü ve yazılı onamları alındı. Araştırmamız Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1002 kapsamında (Proje no: 124S331) desteklendi.

Çalışmaya katılan tüm bireylerin medikal ve dental anamnezleri alındı. Araştırmaya dahil edilen tüm katılımcılar, sistemik olarak sağlıklı, sigara kullanmayan, ağızlarında en az 20 dişi olan ve 25-55 yaş aralığında bulunan bireylerdi. Diyabet, romatoid artrit, kardiyovasküler sistem hastalıkları bulunan bireyler ile immünolojik, mukokütanöz veya bulaşıcı hastalığı olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. İmmünsüpresif ilaç tedavisi altında olan, devamlı olarak antienflamatuvar ilaç kullanan, dental tedavileri için antibiyotik premedikasyonuna gereksinimi olan, son 6 ay içinde herhangi bir nedenle antibiyotik kullanmış hastalar çalışmaya alınmadı. Hamileler, laktasyon döneminde olan veya oral kontraseptif kullanan kadınlar çalışmaya dahil edilmedi. Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmüş, son 6 ay içinde antiseptik gargara kullanmış, restoratif veya endodontik tedavi gereksinimi olan, ortodontik aparey ya da hareketli protez kullanan hastalar çalışmaya alınmadı.

3.2. Klinik Periodontal Ölçümler

Dahil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan hastaların periodontal durumlarının belirlenmesi amacıyla klinik ve radyografik muayeneleri yapıldı. Çalışmaya katılan bireylerin periodontal klinik ölçümleri, tek bir araştırmacı (U. B.) tarafından periodontal ölçüm sondu (Williams, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) ile yapıldı. Klinik periodontal parametreler için SD,

KAK, SK (var/yok), gingival indeks (Gİ) (253) ve plak indeksi (Pİ) (254) değerleri kaydedildi. Ölçümler, 3. molar dişler dışında ağızda bulunan tüm dişlerin 6 noktasından (mezyobukkal, midbukkal, distobukkal, mezyopalatinal/lingual, midpalatinal/lingual ve distopalatinal/lingual) yapıldı.

SD, serbest dişeti kenarı ile sulkus/periodontal cebin tabanı arasındaki mesafe olarak; KAK ise mine-sement sınırı ile periodontal cebin tabanı arasındaki mesafe olarak kaydedildi. SD ölçümünden 30 saniye sonra sulkusta ya da periodontal cepte kanama olup olmamasına göre var (+) ya da yok (-) olarak skorlama yapıldı. Kanama olan bölgelerin sayısı, toplam bölge sayısına oranlanarak SK (%) değerleri hesaplandı. Dişetindeki enflamasyonun ve kanamanın derecesi, Löe ve Silness (253) Gİ sistemi ile belirlenirken; dişler üzerindeki plağın varlığı ve miktarı, Silness ve Löe (254) Pİ sistemi uyarınca kaydedildi. Gönüllülerde, interproksimal RKK'ları aynı araştırmacı (U. B.) tarafından dijital panoramik radyografiler üzerinde değerlendirildi. Alveol kemik kreti ile mine-sement sınırı arasındaki mesafenin kökün uzunluğuna oranı hesaplandı.

3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Gönüllüler, tüm ağız klinik periodontal ölçümleri ve radyografik incelemeleri sonucunda 2017 Periodontal ve Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar Sınıflaması (136) esas alınarak aşağıdaki 3 çalışma grubuna dahil edildi;

1. Evre III Derece C Periodontitis (n=24)
2. Gingivitis (n=24)
3. Periodontal sağlık (n=24)

1. Evre III Derece C Periodontitis Grubu (n=24): Bu grubu, dişlerinin % 30'undan fazlasında periodontal hastalık nedeniyle ortaya çıkan 5 mm ve üzerinde interdental KAK olan hastalar oluşturdu. Hastalarda, RKK'nın, köklerin orta üçlüsüne veya ilerisine kadar uzanması, SD'nin 6 mm ve üzerinde olması, periodontal hastalık nedeni ile oluşan diş kaybı sayısının en fazla 4 olması şartı arandı. Periodontitisin derecesi, indirekt yöntem ile belirlendi. Periodontal hastalık nedeniyle en fazla RKK'na sahip olan diş panoramik film üzerinde tespit edildi. Dişin mezyalinde veya distalinde mine-sement sınırından alveol kemik kretine kadar olan mesafe kök boyunun uzunluğuna oranlanarak % RKK belirlendi. Daha sonra % RKK / yaş oranı hesaplandı. Bu değer >1.0'in üzerinde olduğu katılımcılar derece C olarak periodontitis grubuna dahil edildi.

2. Gingivitis Grubu (n=24): Bu grubu, tüm ağızda KAK olmayan, SD'nin en fazla 3 mm olduğu ve SK (%)'nin %30 ve üzeri olduğu bireyler oluşturdu.

3. Periodontal Sağlık Grubu (n=24): Bu kontrol grubunu, tüm ağızda saptanabilir KAK ve RKK olmayan, SD'nin en fazla 3 mm olduğu ve SK (%)'nin %10'un altında olduğu intakt periodonsiyuma sahip bireyler oluşturdu

3.4. DOS Örneklerinin Toplanması

DOS, her bir hastada iki farklı bölgeden toplandı. DOS, periodontitisli bireylerde, ağızdaki en derin cebe sahip tek köklü dişlerin birbirine komşu olmayan mezyobukkal/distobukkal yüzlerinden toplanırken; gingivitisli bireylerde, dişetinde enflamasyon gözlenen tek köklü dişlerin birbirine komşu olmayan mezyobukkal/distobukkal yüzlerinden toplandı. Periodontal sağlıklı bireylerde ise çevre dişetinde enflamasyon ve kanama olmayan tek köklü dişlerin birbirine komşu olmayan mezyobukkal veya distobukkal yüzeylerinden toplandı (54,255). Restoratif ya da protetik tedavi uygulanmış dişlerden örnek alınmadı. Her bir diş bölgesi, rulo pamuk ile izole edildikten sonra supragingival plak küretler yardımı ile dikkatlice uzaklaştırıldı ve bölge hava spreyi ile nazikçe kurutuldu. Tükürük ile kontaminasyondan kaçınmak için dental işlemlerde rutin olarak kullanılan tükürük emicilerden yararlanıldı. Standart steril kağıt şerit (Periopaper, Oraflow Inc., Smitttown, New York, USA) dişeti oluğunun veya periodontal cebin içine hafif bir direnç hissedilinceye kadar yerleştirildi ve burada 30 saniye tutuldu. Kan ve tükürükle temas eden örnekler çalışmaya alınmadı ve böyle bir durumla karşılaşıldığında DOS örneği, benzer özelliğe sahip farklı bölgeden toplandı. Her bir şeritteki DOS'un hacmi, önceden kalibre edilmiş DOS ölçüm cihazında (Periotron 8010, Oraflow, Amityville, NY, USA) tartıldı. DOS emdirilmiş iki şerit her biri ayrı ayrı önceden numaralandırılmış eppendorf tüplerine konuldu ve analiz gününe kadar -40°C dondurucuda saklandı.



Resim 1. 1a ve 1b. DOS örneğinin toplanması

3.5. DOS NLRP3, Kaspaz-1, GSDM-D IL-1 β ve IL-18 Seviyelerinin Tayini

DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin tayininde ticari *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* kitlerinden yararlanıldı. Kitler, üretici firmanın talimatları doğrultusunda işlem basamaklarına uygun olarak kullanıldı. Her bir gönüllüye ait DOS emdirilmiş iki kağıt şerit, %0.05'lik polisorbitat 20 içeren 300 μ L fosfat tamponlu tuz çözeltisi solüsyonunda çözüldü. Ardından oda sıcaklığında, 240 RPM'de 15 dakika süresince orbital çalkalayıcı (marka) üzerinde bekletildi. Mikroplakaların tümüne, elde edilen çözeltiden 40 μ L konuldu. Seyreltme basamaklarının ardından önce 10 μ L antikor daha sonra ise 50 μ L enzim konuldu. 37°C'de 60 dk'lık inkübasyon süresinden sonra, mikroplakalar, 30 kez seyreltilmiş yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Daha sonra 50 μ L kromojen A ve 50 μ L kromojen B solüsyonu eklendi. Örnekler ve standartlarda mavi renk oluşuncaya kadar beklendi ve 50 μ L durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. ELISA okuyucuda (Epoch, BioTek Instruments Inc., Winooski, Vermont, USA) 450 nm dalga boyunda okuma yapılarak absorbans değerleri kaydedildi. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D IL-1 β ve IL-18 seviyeleri total miktar üzerinden hesaplandı ve sunuldu.

3.6. İstatiksel Analizler

Araştırmamızın güç analizi için G*power v 3.1.9.2 programı kullanıldı. Çalışmamızda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile 3 grup arasında 0.40 f-tipi etki büyüklüğündeki bir farklılığı, $\alpha=0.05$ ve %80 güçle anlamlı bulabilmek için her bir grupta en az 22 gönüllünün bulunmasının yeterli olduğu saptandı (256).

Çalışma bulgularımızın istatistiksel analizleri, SPSS Statistics v25.0 (IBM, Chicago, IL.) paket programında gerçekleştirildi. 3 grup arasında NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyeleri, parametrik yöntem varsayımları yerine geldiği takdirde Tek Yönlü Varyans Analizi ile karşılaştırıldı. Aksi durumda, parametrik olmayan yöntem olarak Kruskal Wallis yöntemi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasındaki farkın anlamlı bulunması halinde ikili grup karşılaştırmaları için varyans analizi sonrası, varyans homojenliği testi (Levene Testi) sonucuna göre Bonferroni (varyanslar homojen) ya da Dunnett's T3 (varyanslar homojen değil) yöntemi tercih edildi. Kruskal Wallis sonrası Bonferroni düzeltmesiyle birlikte Dunn Testi uygulandı. NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in klinik periodontal parametrelerle ve birbirleri ile olan doğrusal ilişkisinin varlığı Pearson ve/veya Spearman korelasyon analizi ile incelendi. Tüm hipotez testleri 0,05 önem seviyesinde uygulandı.

4.BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmamıza klinik ve radyografik incelemeler sonucunda periodontitis, gingivitis ve periodontal sağlıklı olmak üzere toplam 72 birey dahil edildi. Çalışma gruplarını oluşturan bireylerin demografik özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Çalışma gruplarında yer alan bireylerin cinsiyet dağılımları birbirine benzer bulundu ($p>0.05$). Periodontitis grubunun yaş ortalaması gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.01$).

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

	Periodontitis (n=24)	Gingivitis (n=24)	Periodontal sağlık (n=24)	P değeri
Demografik veriler				
Yaş (yıl) (ort $\pm$ ss)	42.13 $\pm$ 5.81*	32.88 $\pm$ 4.70	33.75 $\pm$ 5.19	<0.01
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	12/12	13/11	11/13	0.846

*Gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından anlamlı farklılık

4.2. Klinik Periodontal Bulgular

4.2.1 Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler

Çalışma gruplarının tüm ağız klinik periodontal parametreleri Tablo 2’de verilmiştir. Periodontitis grubunun tüm ağız SD ve KAK değerleri, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis grubunun tüm ağız SD değerleri periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Periodontitis grubunun tüm ağız Gİ, SK (%) ve Pİ değerleri gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis grubunun tüm ağız Gİ, SK (%) ve Pİ değerleri periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksekti ($p<0.05$).

Tablo 2. Tüm ağız klinik periodontal parametreler

Parametreler	Periodontitis (n=24)	Gingivitis (n=24)	Periodontal sağlık (n=24)
SD (mm)	3.92 ± 0.66*	2.14 ± 0.20 [†]	1.62 ± 0.31
KAK (mm)	4.62 ± 0.64*	0 ± 0.01	0 ± 0.01
Gİ	2.26 ± 0.37*	1.86 ± 0.14 [†]	0.01 ± 0.01
SK (%)	81.71 ± 10.64*	55.57 ± 14.34 [†]	5.40 ± 3.30
Pİ	2.25 ± 0.24*	2.02 ± 0.19 [†]	0.25 ± 0.24

* p<0.05, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından anlamlı farklılık

[†] p<0.05, periodontal sağlık grubundan anlamlı farklılık

4.2.2. Örnek Alınan Bölgelerin Klinik Periodontal Parametreleri

Çalışma gruplarında DOS alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri Tablo 3’te gösterilmiştir. Periodontitis grubunda DOS alınan bölgelerin SD ve KAK değerleri, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p<0.05). Gingivitis grubunda DOS alınan bölgelerin SD değerleri periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksekti (p<0.05). Periodontitis ve gingivitis gruplarında DOS alınan bölgelerin Gİ ve SK (%) değerleri periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksek bulundu (p<0.05). Periodontitis ve gingivitis gruplarının DOS alınan bölgelerinde Gİ ve SK (%) değerleri birbirlerine benzerdi (p>0.05). Periodontitis grubunda DOS alınan bölgelerin Pİ değeri gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından anlamlı yüksekti (p<0.05). Gingivitis grubunda DOS alınan bölgelerin Pİ değeri periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksekti (p<0.05). Periodontitis grubunda örnekleme bölgelerinin DOS hacmi (µL), gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p<0.05). Gingivitis grubunun DOS hacmi (µL) periodontal sağlık grubundan anlamlı yüksekti (p<0.05).

Tablo 3. Örnek alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri

Parametreler	Periodontitis (n=24)	Gingivitis (n=24)	Periodontal sağlık (n=24)
SD (mm)	6.35 ± 0.63*	2.20 ± 0.48 [†]	1.60 ± 0.30
KAK (mm)	6.62 ± 0.64*	0	0
Gİ	2.29 ± 0.32	2.00 ± 0	0 [§]
SK (%)	100 ± 0	100 ± 0	0 [§]
Pİ	2.37 ± 0.36	2.00 ± 0	0.20 ± 0.25 [§]
DOS (µL)	0.42 ± 0.06*	0.26 ± 0.06 [†]	0.11 ± 0.05

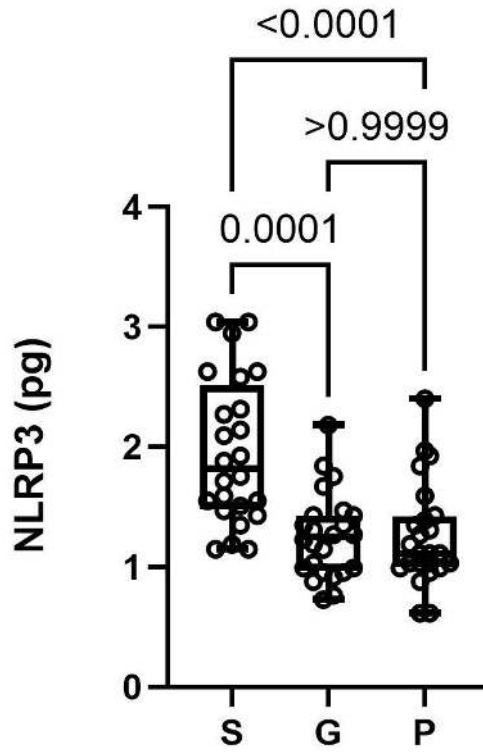
* p<0.05, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarından anlamlı farklılık.

[†] p<0.05, periodontal sağlık grubundan anlamlı farklılık.

[§] p<0.05, periodontitis ve gingivitis gruplarından anlamlı farklılık.

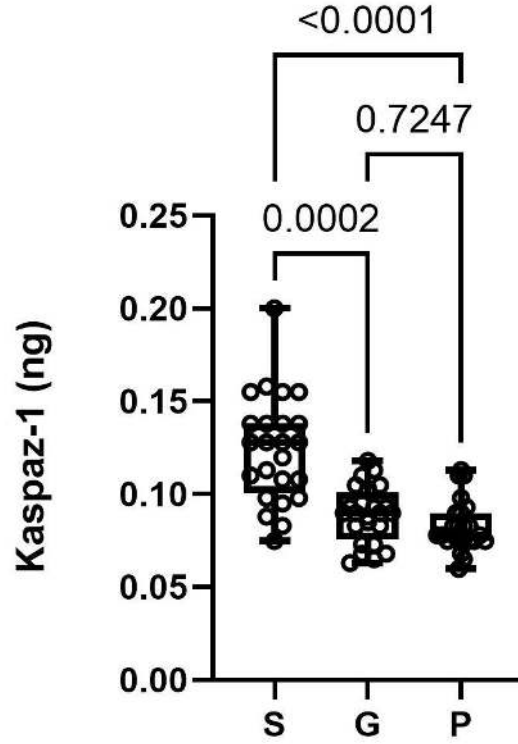
4.3. Biyokimyasal Bulgular

Çalışma gruplarının DOS NLRP3 total miktarı şekil 3'te gösterilmiştir. Periodontal sağlık grubunun DOS NLRP3 total miktarı, gingivitis ve periodontitis gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis ve periodontitis DOS NLRP3 total miktarı birbirine benzerdi ($p>0.05$).



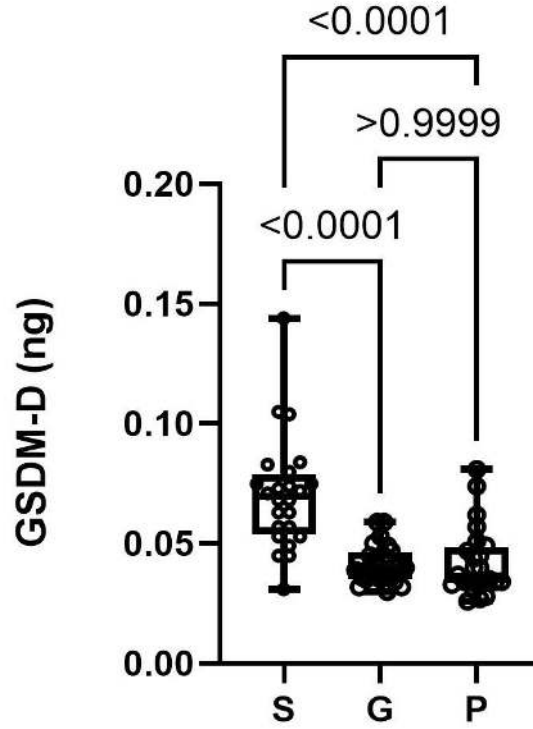
Şekil 3. Çalışma gruplarının DOS NLRP3 total miktarı. Kutuların içerisinde yer alan kalın çizgi medyanı medyanı gösterir. Her bir yuvarlak işaret, bireysel örneklem değerleri ifade eder.

Çalışma gruplarının DOS kaspaz-1 total miktarı şekil 4'te gösterilmiştir. Periodontal sağlık grubunun DOS kaspaz-1 total miktarı, gingivitis ve periodontitis gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis ve periodontitis DOS kaspaz-1 total miktarı birbirine benzerdi ($p>0.05$).



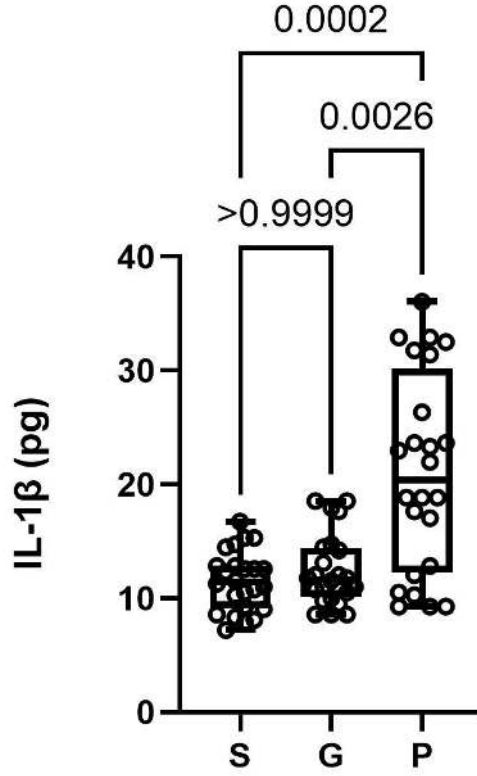
Şekil 4. Çalışma gruplarının DOS kaspaz-1 total miktarı. Kutuların içerisinde yer alan kalın çizgi medyanı gösterir. Her bir yuvarlak işaret, bireysel örneklem değerleri ifade eder.

Çalışma gruplarının DOS GSDM-D total miktarı şekil 5'te gösterilmiştir. Periodontal sağlık grubunun DOS GSDM-D total miktarı, gingivitis ve periodontitis gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis ve periodontitis DOS GSDM-D total miktarı birbirine benzerdi ($p>0.05$).



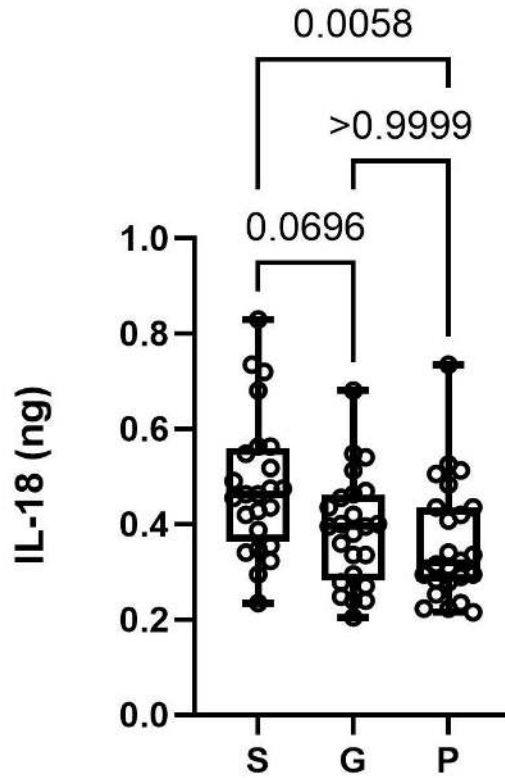
Şekil 5. Çalışma gruplarının DOS GSDM-D total miktarı. Kutuların içerisinde yer alan kalın çizgi medyanı medyanı gösterir. Her bir yuvarlak işaret, bireysel örneklem değerleri ifade eder.

Çalışma gruplarının DOS IL-1 β total miktarı şekil 6’te gösterilmiştir. Periodontitis grubunun DOS IL-1 β total miktarı, periodontal sağlık ve gingivitis grubundan anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Gingivitis grubunun DOS IL-1 β total miktarı, periodontal sağlık grubu ile benzer bulundu ($p>0.05$).



Şekil 6. Çalışma gruplarının DOS IL-1 β total miktarı. Kutuların içerisinde yer alan kalın çizgi medyanı medyanı gösterir. Her bir yuvarlak işaret, bireysel örneklem değerleri ifade eder.

Çalışma gruplarının DOS IL-18 total miktarı şekil 7’te gösterilmiştir. Periodontitis grubunun DOS IL-18 total miktarı, periodontal sağlık grubundan anlamlı daha düşük bulundu ($p<0.05$). Gingivitis grubunun DOS IL-18 total miktarı, sayısal değer olarak periodontal sağlık grubundan daha düşük olmasına karşın fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Gingivitis grubunun DOS IL-18 total miktarı, periodontitis grubu ile benzer bulundu ($p>0.05$).



Şekil 7. Çalışma gruplarının DOS IL-18 total miktarı. Kutuların içerisinde yer alan kalın çizgi medyanı medyanı gösterir. Her bir yuvarlak işaret, bireysel örneklem değerleri ifade eder.

4.4. Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu

DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin, örnek alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri ve birbirleri ile olan korelasyonları Tablo 4'te gösterilmiştir. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D ve IL-18 seviyeleri, tüm klinik periodontal parametrelerle negatif korelasyon göstermiştir ($p<0.05$). DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D ve IL-18 seviyeleri birbirleri ile pozitif korelasyon göstermiştir ($p<0.05$). DOS IL-1 β seviyeleri ise tüm klinik periodontal parametrelerle pozitif korelasyon göstermiştir ($p<0.05$).



Tablo 4. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin, örnek alınan bölgelerin klinik periodontal parametreleri ve birbirleri ile olan korelasyonları

Parametreler	SD (mm)	KAK (mm)	Gİ	Pİ	DOS (μ L)	DOS NLRP3 (pg/örnek)	DOS kaspaz-1 (ng/örnek)	DOS GSDM-D (ng/örnek)	DOS IL-1 β (pg/örnek)	DOS IL-18 (ng/örnek)
DOS NLRP3 (pg/örnek)	-.413**	-.261*	-.496**	-.481**	-.488**	1.000	.752**	.845**	-.149	.567**
DOS kaspaz-1 (ng/örnek)	-.492**	-.405**	-.577**	-.596**	-.607**	.752**	1.000	.853**	-.231	.725**
DOS GSDM-D (ng/örnek)	-.470**	-.348**	-.607**	-.593**	-.545**	.845**	.853**	1.000	-.199	.615**
DOS IL-1 β (pg/örnek)	.420**	.525**	.414**	.443**	.427**	-.149	-.231	-.199	1.000	-.139
DOS IL-18 (ng/örnek)	-.292*	-.239*	-.314**	-.31**	-.410**	.567**	.725**	.615**	-.139	1.000

Veriler, Spearman korelasyon testinin korelasyon katsayı değerleridir.

* p=0.05 düzeyinde anlamlı korelasyon. ** p=0.01 düzeyinde anlamlı korelasyon.

5. TARTIŞMA

Çalışmamız, periodontal hastalıklı bireylerin DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerini araştırmayı amaçlamıştır. Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plağa karşı gelişen konak immunoenflamatuvar yanıtının bir sonucu olarak ortaya çıkan kronik enflamatuvar hastalıklardır (257–259). Periodontal patojenlere karşı gelişen lokal konak cevabı, konak hücrelerinden periodontal doku yıkımı ile ilişkili proteolitik enzimlerin, enflamatuvar mediyatörlerin, sitokinlerin, kemokinlerin, araşidonik asit metabolitlerinin ve büyüme faktörlerinin salımına yol açar (50,260,261). Gerçekleştirilen çok sayıda çalışma, periodontal hastalığı olan bireylerin konak kökenli DOS düzeylerinin, hastalığın klinik periodontal parametreleriyle olan ilişkisini ortaya koymuştur (7–9). Bununla birlikte, literatürden elde edilen bilgiler, günümüzde halen periodontal hastalığın tanısı, prognozu ve tedaviye olan yanıtının izlenmesinde tutarlı sonuçlar veren spesifik ve hassas biyomarkırlara ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir (7,8).

Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür (10). Esas olarak savunma hücrelerinde görülmekle birlikte keratinositlerde ve bazı epitel hücrelerinde de görülebilir (163). Piroptoz, genellikle hücre içi patojen enfeksiyonu ile uyarılır ve konağın savunma sisteminin bir parçası olarak kabul edilir (11). Çalışmamız, kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin patogenezinde, piroptotik yolağın bir parçası olan NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in olası rolünü araştırmayı amaçlamıştır. Çalışma gruplarımız, NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in periodontal enflamasyonun şiddeti ile olan ilişkisini değerlendirebilmek için periodontitis, gingivitis ve periodontal sağlıklı olacak şekilde oluşturulmuştur.

DOS, serum kökenli enflamatuvar bir eksüdadır ve enflamasyonlu periodontal dokulardan geçerek dişeti oluğu/periodontal cebe dökülür (262). DOS'un içeriği, derin periodontal dokularda lokal olarak üretilen enflamatuvar mediyatörleri, subgingival plak bakterilerine karşı oluşan antikorları ve doku yıkım ürünlerini barındırır (263,264). Çok sayıda çalışmada, periodontal hastalıklı bireylerin DOS'unda proteolitik enzimlerin, enflamatuvar sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve doku yıkım ürünlerinin değişen seviyeleri tespit edilmiştir (7,8). DOS'un biyokimyasal analizi, periodontal hastalığın şiddetinin ve periodontal dokulardaki enflamatuvar değişimlerin belirlenmesinde güvenilir bir yaklaşım

olarak kabul edilmektedir. (249,250,265,266). Bu nedenle çalışmamızda peridontal hastalıklı bireylerde NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin değerlendirilmesinde DOS'dan yararlanılmıştır.

Sağlıklı dişetinde çok az miktarda DOS bulunmaktadır (267,268) ve bu sıvının transuda karakterinde olduğu kabul edilir (269,270). Dişetinde enflamasyonun artmasıyla birlikte bu transüda, enflamatuvar bir eksudaya dönüşür; enflamasyonlu bölgelerde cep epitelinin ülserasyonu ve damar geçirgenliğinin artması nedeniyle DOS hacmi artar (271). Çalışmamızda, enflamasyonun önemli göstergelerinden biri olan SK (%) ve Gİ değerleri periodontal sağlık grubundan periodontitis grubuna doğru artış göstermektedir. Periodontal sağlıklı bölgelerde DOS hacminin daha düşük olması, sitokinlerin DOS'taki konsantrasyonlarının olduğundan daha yüksek hesaplanmasına yol açabilir; bu durum, sitokinlerin periodontal hastalıklardaki rolüne dair yanıltıcı değerlendirmelere neden olabilir (272). Bu nedenle çalışmamızda DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in seviyeleri total miktar üzerinden sunulmuş ve tartışılmıştır.

Apoptoz, piroptoz ve nekroptozun dahil olduğu düzenlenmiş hücre ölüm yolları, doğal bağışık yanıtın önemli savunma mekanizmalarıdır. Bir taraftan istilacı hücre içi patojenlerin replikatif nişini ortadan kaldırırken diğer yandan savunma hücrelerinin enfeksiyon bölgesine çekilmesini sağlarlar (12,13). Apoptozda, apoptotik cisimler, fagositler tarafından enflamatuvar olmayan efferositoz yoluyla hızlı bir şekilde temizlenir (273). Buna karşın, litik hücre ölümü olan piroptoz ve nekroptozda, hücrel içeriklerin (proenflamatuvar sitokinler, DAMPs ve PAMPs) hücre dışına salımı söz konusudur. Hücre dışına salınan bu içerikler, proenflamatuvar yanıtı neden olur (274,275). Piroptoz, çeşitli hücre içi sinyaller (oksidatif stres, K⁺ iyon çıkışı, mitokondriyal DNA ve sitolik bakteri LPS'i) ve hücre dışı sinyaller (nükleotidler, ATP, bakteriyel DNA ve flagellin, LPS, ürik asit ve kolesterol) ile uyarılabilir (175,276,277). Piroptoz, tipik olarak piroptotik kaspazlar (kaspaz 1, kaspaz 4, kaspaz 5 ve kaspaz 11) tarafından başlatılır. Kaspaz 4 ve 5 (insanlarda) ve kaspaz 11 (farelerde) doğrudan LPS ligandlarıyla aktiflenir. Aktiflenen kaspaz-4/5/11, GSDM-D-N terminal ucunu serbestleyerek membranda por oluşturur ve klasik olmayan yolla piroptozu açar (44,45,210,278). Kaspaz-1 ise bir inflamazom sensörü (NLRP3 proteini) ve adaptör proteinini (ASC) içeren inflamazomlar (NLRP'ler, NLRC4, AIM2 ve pirin) tarafından aktive edilir. Bir nevi hücre içi sitozolik multiprotein kompleksleri olan bu inflamazomlar, PAMP ve DAMP'ları tanıyarak kaspaz-1'i aktive eder (200). Aktiflenen kaspaz-1, GSDM-D-N terminal ucunu serbestleyerek por oluşturur ve klasik yolla piroptozun gerçekleşmesine neden olur.

Literatürde, periodontal hastalıkların patogeneğinde klasik piroptotik yolağın rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda, periodontitisli bireylerde klasik yolağın başlıca molekülleri olan NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerini değerlendirmeyi amaçladık.

İnflamazomların aktivasyonu, mikrobiyal enfeksiyonlarda hücreyi istila eden patojenlerin yayılımını sınırlar. Ancak, inflamazom aktivasyonunun kontrolsüz ya da uygun olmayan şekilde gerçekleştiği durumlarda, kronik enflamatuvar yanıtla ilişkili doku hasarı oluşabilir (279). İnflamazomların, Crohn hastalığı, ülseratif kolit ve artrit gibi kronik enflamasyonla karakterize hastalıklarda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (280). Dental biyofilm kaynaklı kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin patogeneğinde, piroptozun rolünü araştıran çalışmalar, insan oral epitel hücrelerinde, dişeti ve periodontal ligament fibroblastlarında, makrofajlarda ve osteoblastlarda inflamazom aktivasyonunun ve piroptozun gerçekleştiğini göstermektedir (23,24). NLRP3, inflamazomlar arasında en iyi bilinen ve üzerinde en fazla araştırma yapılan inflamazomdur (175,180). Periodontitisli bireylerin doku, serum ve oral biyolojik sıvılarında kanonik piroptotik yolağın temel bileşenlerinden biri olan NLRP3 proteininin yüksek seviyeleri gösterilmiştir (25–27). Bu yüksek NLRP3 seviyelerinin, periodontal enflamasyonun ilerlemesine yol açarak alveoler kemik rezorpsiyonunu arttırabileceği ve periodontitis için bağımsız bir prediktif faktör olabileceği ileri sürülmüştür(26,28–34).

Literatürde, sistemik sağlıklı periodontitis hastalarının DOS NLRP3 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştıran yalnızca tek bir çalışma vardır (32). Araştırma bulgularımızın aksine, Surlin ve ark (2021) bu çalışmalarında, evre II-III, derece A periodontitis hastalarının DOS NLRP3 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuştur (32). Periodontitisteki polimikrobiyal topluluğun önemli bir parçası olan *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans*'ın LPS'nin, TLR-4 reseptörünün aktivasyonu ile NLRP3 sentezini uyarabileceği ve periodontal enflamasyonun ilerlemesine neden olabileceği bildirilmiştir (281–283). Buna karşın, bazı patojenlerin, hayatta kalmak, replikasyonlarını ve transmisyonlarını devam ettirmek için invaze oldukları hücre içinde inflamazomları, kaspazları ve gasderminleri baskılayarak hücrenin piroptotik süreçlerini önledikleri bilinmektedir. Başka bir deyişle, bazı hücre içi patojenlerin piroptotik mekanizmalardan kaçma stratejileri geliştirdikleri ileri sürülmüştür (284–286). In vitro çalışmalar, *P. gingivalis*'in makrofajların içinde 63 saate kadar kalabildiğini ve dişeti epitel hücrelerinde ise 8 gün canlılığını sürdürebildiğini göstermektedir (287,288). Bu fırsatçı patojen, çeşitli

virölans faktörlerini konak hücre ölümünü baskılamak için kullanabilmektedir. *P. gingivalis*'in de bulunduğu subgingival biyofilm süpernatantlarıyla (289,290). ya da *P. gingivalis*-LPS (291) ile muamale edilmiş insan dişeti fibroblastlarında NLRP3 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Önemli periodontal patojenlerden biri olan *Fusobacterium nucleatum*'un (*F. nucleatum*) dişeti epitel hücrelerinde NLRP3 inflamazomunu uyardığı ancak *P. gingivalis*'in kültür ortamına eklenmesiyle piroptozun baskılandığı gözlenmiştir (292). Ayrıca, *P. gingivalis*'in insan endotel hücrelerinde NLRP3'ün proteolizi yoluyla doğal bağışık yanıtları bozduğu gösterilmiştir (293). *P. gingivalis*'in varlığında NLRP3 inflamozmunun ekspresyon seviyelerinin azalması, konağın, patojeni algılama kapasitesini düşürerek konak-patojen homeostazını bozabilir (294–299). *P. gingivalis* tarafından doğal bağışık yanıtın önemli bir mekanizması olan piroptozun baskılanması, periodontal hastalık sırasındaki kronik enflamatuvar durumun sürmesini kolaylaştırabilir (292). Yamaguchi ve ark (2017) da *P. gingivalis* kolonizasyonun olduğu deneysel periodontitis modelinde, NLRP3 inflamazomundaki azalmayla birlikte proenflamatuvar sitokinlerde ve alveol kemik rezorpsiyonunda azalma gözlemiştir (300). Çalışmamıza katılan gönüllülerde, periodontal patojenlerin düzeyi araştırılmamıştır. Ancak, çalışmamızın periodontitis grubunu oluşturan, yaygın evre III periodontitis hastalarındaki düşük DOS NLRP3 seviyeleri, bu hastaların derin periodontal ceplerindeki artmış *P. gingivalis* düzeyleri ile ilişkili olabilir. Periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde periodontal patojenlerin yoğunluğunu ve bunların DOS NLRP3 düzeyleri ile ilişkisini araştırarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Surlin ve ark (2021) çalışmalarında, periodontal ölçümlerden önce gerekli gördükleri durumda ultrasonik uçlar ile diş taşı ve plağı uzaklaştırdıklarını bildirmişlerdir (32). Ultrasonik uç kullanımı, mekanik stimülasyon yoluyla lokal enflamatuvar yanıtı uyatarak DOS'taki sitokin, kemokin ve proteaz düzeylerini kısa vadeli de olsa değiştirebilir (301, 302). Bu nedenle Surlin ve ark (2021)'nın çalışmasında gözlenen yüksek DOS NLRP3 düzeyleri, mekanik temizlik sonrası ortaya çıkan enflamatuvar aktivasyonla ilişkili olabilir. Çalışmamızda herhangi bir mekanik girişim yapılmaksızın elde edilen DOS bulguları, periodontal ceplerdeki doğal mikrobiyal ve enflamatuvar durumu daha doğru yansıtmış olabilir. Bu nedenle, NLRP3 düzeyleri yalnızca hastalığın şiddetinden değil, aynı zamanda DOS örnekleme yöntemi ve zamanlamasından da etkilenmiş olabilir (301,302). Bu nedenle Surlin ve ark (2021)'nin çalışmasında gözlenen yüksek DOS NLRP3 düzeyleri, mekanik temizlik sonrası ortaya çıkan enflamatuvar aktivasyonla ilişkili olabilir. Çalışmamızda

herhangi bir mekanik girişim yapılmaksızın elde edilen DOS bulguları, periodontal ceplerdeki doğal mikrobiyal ve enflamatuvar durumu daha doğru yansıtmış olabilir. Bu nedenle, NLRP3 düzeyleri yalnızca hastalığın şiddetinden değil, aynı zamanda DOS örnekleme yöntemi ve zamanlamasından da etkilenmiş olabilir.

Kaspaz-1, NLRP3 inflamazomu ile aktive olan ve konikal piroptotik yolağın önemli bir sitokinidir. Makrofajlardaki kaspaz-1 eksikliğinin, enflamatuvar moleküllerin salımını baskıladığı ve periodontitiste kemik rezorpsiyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, kaspaz-1 aktivasyonunun, periodontitiste prorezorptif bir rolünün olduğu ve hastalığın şiddetini arttırabileceği ileri sürülmüştür (40). Ayrıca, kaspaz-1 aktivasyonunun, osteoprogenitör hücrelerin piroptotik yolla ölümüne neden olduğu ve bu nedenle kemik döngüsü ya da enflamatuvar kemik rezorpsiyonunda potansiyel etkiler gösterebileceği düşünülmüştür (303). Kaspaz-1, NLRP3 inflamozumunun, bakteriyel LPS, viral RNA veya hücrel hasar ürünleri ile uyarılmasıyla aktive olur (201,203,204). Önceki çalışmalar, NLRP3 ile kaspaz-1 arasındaki pozitif ilişkiyi göstermiştir (38,39). Araştırmamızda, periodontitisli bireylere düşük DOS kaspaz-1 seviyelerinin, aynı bireylerdeki düşük NLRP3 seviyeleri ile paralellik göstermesi bu mekanistik ilişkiyi destekleyebilir.

In vitro çalışmalar, periodontal hastalıkta kaspaz-1 ekspresyonlarına dair çelişkili sonuçlar bildirmiştir. Periodontal patojen ve ürünlerine yanıt olarak kaspaz-1 seviyelerinin artmış (29,300,304), azalmış (290) ve değişmeyen seviyeleri (38,289) gösterilmiştir. Periodontitisli bireylerde yapılan çalışmalar, kaspaz-1'in doku, serum ve tükürükteki seviyelerinin, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek olduğunu göstermektedir (29,41,243,305,306). Araştırmamızın aksine, Surlin ve ark (2021) ile Aral ve ark. (2017) periodontitis ve gingivitis hastalarının DOS kaspaz-1 seviyelerini, periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulmuştur (30,32). Bununla birlikte, Kırmızıgül ve ark (2023), çalışma bulgularımıza benzer şekilde, gingivitis ve periodontitis hastalarının DOS kaspaz-1 seviyesini, sağlıklı kontrol grubundan düşük bulmuştur (42). Kaspaz-1'in, subklinik enflamasyon veya erken dönem bağışık yanıtta arttığı gösterilmiştir (307,308). Özellikle enflamasyonun henüz klinik olarak belirgin olmadığı, ancak immün sistemin aktive olduğu durumlarda, kaspaz-1'in bazal seviyelerinin arttığı ve olası doku hasarına karşı koruyucu bir yanıt oluşturabileceği ifade edilmektedir (200). Çalışmamızda, klinik olarak sağlıklı dişetine sahip kontrol grubumuzdaki yüksek DOS kaspaz-1 seviyeleri, immün sistemin subklinik düzeyde aktif olduğu durumları yansıtır olabilir. Çünkü klinik olarak sağlıklı dişeti sulkusunda çok az miktarlarda da olsa gözlenen dental plağın, konakta sürekli olarak düşük

düzeyde enflamatuvar yanıtı neden olduğu ve bu fizyolojik yanıtın, periodontal dokuların homeostazının korunmasında önemli olduğu bilinmektedir (160,309). Çalışmamız ve önceki araştırmalar, bu sitokinin periodontal hastalık patogenezinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ancak, kaspaz-1'in periodontitisli bireylerdeki dinamiği, işlevi ve seviyelerine ilişkin daha fazla sayıda çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

GSDM-D, enflamasyonla ilişkili hücre ölüm şekli olan piroptozun efektör proteinidir. Konikal ya da konikal olmayan piroptotik yolların aktive olmuş enflamatuvar kaspazları (kaspaz-1/4/5/11) tarafından bölünür (43). GSDM-D bölündüğünde, N-terminal alanı plazma zarına girmek üzere serbest kalır ve porların oluşmasını sağlar. GSDM-D, membranda oluşturduğu porlar aracılığıyla IL-1 β ve IL-18 gibi enflamatuvar sitokinlerin ve iyonların hücre dışına çıkışını sağlar (21,44,45). Yapılan çalışmalar, NLRP3 ve kaspaz-1'in GSDM-D ile olan pozitif ilişkisini göstermiştir (45,46). Araştırmamızda, periodontitisli bireylerdeki düşük DOS GSDM-D seviyelerinin, aynı bireylerdeki düşük NLRP3 ve kaspaz-1 seviyeleri ile paralellik göstermesi bu mekanistik ilişkiyi destekleyebilir.

Periodontitis hastalarının dişeti dokusunda ve tükürüklerinde GSDM-D seviyelerinin yüksek olduğu ve bunun tanısal bir değerinin olabileceği bildirilmiştir (31,47,48). Araştırmamızda, periodontitisli bireylerin DOS GSDM-D seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden düşük bulunmuştur. Ancak, literatürde DOS GSDM-D seviyelerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmadığı için bu bulgumuzu diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştıramadık. GSDM-D'nin, patojenlere yanıt olarak aktive olduğu ve hücrenin piroptozuna yol açtığı gösterilse de (45,64,200) son yıllarda yapılan çalışmalar, bu proteinin fizyolojik süreçlerde de rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (43,310). Wang ve ark (2022), GSDM-D'nin intestinal goblet hücrelerinde mukus sekresyonunu düzenleyerek epitel bariyer bütünlüğünün korunmasına ve doku homeostazının sürmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir. GSDM-D'nin, akciğer epitel hücrelerinden IL-33 salınımını düzenleyerek immün homeostazla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (310). Araştırmamızda, periodontal sağlıklı bireylerde gözlediğimiz yüksek GSDM-D seviyeleri, bu bireylerde periodontal doku homeostazını korumada önemli bir rol oynayan fizyolojik enflamatuvar yanıtın bir yansıması olabilir (309). Bununla birlikte, GSDM-D'nin enflamatuvar uyarı sonrası çeşitli modifikasyonlara uğradığı ve bu modifikasyonların söz konusu proteinin stabilitesini ve fonksiyonunu değiştirdiği gösterilmiştir (43). Periodontitisli bireylerde kronik enflamasyonun etkisiyle GSDM-D'nin daha hızlı yıkıma uğraması, post-translasyonel modifikasyonlara maruz kalması veya farklı moleküler formlarda (örn. bölünmüş GSDM-D sonucu oluşan N-

terminal alanı) bulunması DOS'taki ölçülebilirlik seviyesini etkilemiş olabilir. Bu nedenle, periodontal hastalıklı bireylerin doku, serum ve oral biyolojik sıvılarında GSDM-D seviyelerini gösteren daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

IL-1 β , başta makrofajlar olmak üzere birçok immün hücre tarafından sentezlenen, periodontal enflamasyon ve doku yıkımı ile ilişkisi oldukça iyi bilinen proenflamatuvar sitokinlerden biridir (49–52). Bu sitokin, periodontitisteki immune-enflamatuvar yanıt ve osteoklastik kemik rezorpsiyonuna neden olan diğer proenflamatuvar sitokinleri, kemokinleri ve ekstrasellüler matrisi parçalayan enzimleri uyararak periodontal doku yıkımının şiddetini arttırmaktadır (51,52,311). Periodontitisli bireylerin enflamasyonlu dişeti dokusunda ve serumlarında IL 1 β ekspresyonun yüksek olduğu gösterilmiştir (56,221–224). Bununla birlikte, periodontitisli bireylerin oral biyolojik sıvılarındaki yüksek IL-1 β seviyeleri de periodontitis ile ilişkilendirilmiş (54–56) ve bu durum IL-1 β 'yı, periodontitis için potansiyel bir biyobelirteç haline getirmiştir (52). Sistemik sağlıklı ve sigara içmeyen SIIIGB ve SIIIGC periodontitis hastalarının DOS ve tükürük IL-1 β seviyeleri, gingivitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuştur (54–56,225). Araştırma bulgularımız, önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur.

Hücre içinde, inaktif prekürsör formda sentezlenen pro-IL-1 β , enflamatuvar bir sinyal sonrasında kaspaz-1 tarafından aktif forma dönüştürülerek salınır (237). Bu dönüşüm, genellikle NLRP3 inflamazom kompleksinin aktivasyonu sonucunda gerçekleşir (11,20,148,161). Aktive olan kaspaz-1, bir yandan GSDM-D'nin aktivasyonuna ve membranda por oluşumuna yol açarken diğer yandan IL-1 β 'yı aktif hale getirerek bu sitokinin porlardan salımına neden olmaktadır (45,64). Yapılan çalışmalar, piroptozda artan NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D seviyelerinin artan IL-1 β ile ilişkili olduğunu göstermektedir (48,65–68). Bununla birlikte, GSDM-D ile IL-1 β arasındaki ilişkinin zayıf ya da negatif yönde olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (228,229). Çalışmamızda DOS IL-1 β total miktarı, NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D ile ilişkili bulunmamıştır. Yapılan çalışmalar, IL-1 β 'nın, kaspaz-1 bağımlı konikal piroptotik yolak ya da kaspaz 4/5/11 bağımlı konikal olmayan piroptotik yolak dışında kaspaz-8 aktivasyonu ile doğrudan üretilebildiğini göstermiştir (312–314). Bu bulgular, enflamasyon sırasında IL-1 β üretiminin farklı moleküler mekanizmalarla şekillenebileceğini ve dolayısıyla çalışmamızın periodontitis grubunda saptadığımız yüksek DOS IL-1 β seviyelerine kaynaklık edebileceğini düşündürmektedir.

IL-18'in, antimikrobiyal savunmada yer alan önemli bir proenflamatuvar sitokin olduğu kabul edilmektedir. Doğal öldürücü hücreleri, T hücrelerini ve makrofajları aktive etmeye

yardımcı olur (232,233). IL-12 ile birlikte sinerjik etki oluşturarak IFN- γ üretimini önemli ölçüde artırır ve patojenlere karşı güçlü bir bağışık yanıt oluşturur (220). Sistemik olarak sağlıklı bireylerde, IL-18 seviyeleri antimikrobiyal savunmaya aracılık etmeye ve bağışıklık dengesini korumaya yardımcı olur (233,235). Bu nedenle, çalışmamızda yer alan periodontal sağlıklı bireylerdeki yüksek DOS IL-18 total miktarı, IL-18'in antimikrobiyal savunmadaki etkinliğinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü sağlıklı dişetine komşu sulkusta her zaman çoğunluğunu kommensal bakterilerin oluşturduğu az miktarda da olsa dental plak bulunur. Konağın savunma mekanizmaları (dişeti oluğu sıvısı, nötrofiller ve antimikrobiyal peptitler vb.) sürekli olarak bu bakterilerin kontrol altında tutulmasını sağlar. Böylece, mikrobiyal yük ile konak immün yanıtı arasında fizyolojik denge sürdürülmüş olur.

Periodontal hastalıklı bireylerde DOS IL-18 seviyelerini gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Araştırma bulgularımızın aksine, literatürde, periodontitisli ve gingivitisli bireylerin DOS IL-18 seviyelerini periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulan çalışmalar bulunmaktadır (58,59,61). Bununla birlikte, Türkoğlu ve ark (2009) yapmış oldukları çalışmada, periodontitisli bireylerin DOS IL-18 seviyelerini periodontal sağlıklı bireylerle benzer bulmuştur (57). Keleş ve ark (2020) da gingivitisli çocukların DOS IL-18 seviyelerini, periodontal sağlıklı çocuklardan düşük bulmuştur (62).

Piroptotik yolakla ilgili moleküler mekanizmalar göz önüne alındığında, IL-18'in inaktif formda (pro-IL-18) sentezlendiği ve NLRP3 inflamazomunun uyarılması sonucunda aktiflenen kaspaz-1 tarafından olgun formuna dönüştürüldüğü bilinmektedir (63). Kaspaz-1'in aynı zamanda GSDM-D aracılığıyla membranda por oluşturması, IL-18'in hücre dışına geçişine neden olmaktadır (45,64). Bu nedenle, çalışmamızda DOS IL-18 seviyelerinin NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D ile pozitif ilişki göstermesi piroptotik yolakta gözlenen moleküller arasındaki ilişkilerin DOS'ta gözlenebileceğini düşündürmektedir.

Araştırmamızın bazı limitasyonları bulunmaktadır. Kesitsel çalışmaların doğası gereği, periodontal hastalık ile incelenen biyomarkır seviyeleri arasında kesin bir sebep-sonuç ilişkisi kurulamamaktadır. NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in doku, serum ve tükürükteki seviyelerinin analiz edilmemesi çalışmanın bir diğer limitasyonu olabilir. DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin doku, serum ve tükürükteki seviyeleri ile olan korelasyonları, bu moleküllerin periodontal hastalığın patogenezindeki rollerine ilişkin daha detaylı bilgi verebilir

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Piroptoz, enflamatuvar yanıtla ilişkili apoptotik olmayan programlanmış hücre ölümüdür. Kanonik piroptotik yolak genellikle hücre içi patojen enfeksiyonu ile uyarılır ve konağın hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemi ile ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, periodontal patojenlerin neden olduğu kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste, kanonik piroptotik yolun başlıca bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1, gasdermin-D (GSDM-D), interlökin-1beta (IL-1 β) ve IL-18'in dış eti oluşu sıvısı (DOS) seviyelerinin araştırılmasıdır.

Yaygın evre 3 derece C periodontitis, gingivitis ve periodontal sağlık gruplarında DOS NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18 seviyelerini değerlendirdiğimiz çalışmamızdan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Araştırmamız, periodontal hastalıklı bireylerde kanonik piroptotik yolağın başlıca bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in DOS'taki seviyelerini eş zamanlı olarak gösteren ilk çalışmadır. Ayrıca, araştırmamızda, periodontal hastalıklı bireylerde DOS GSDM-D seviyeleri ilk kez gösterilmiştir.
2. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerin DOS NLRP3 seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden düşük bulunmuştur. Bazı patojenlerin, hayatta kalmak, replikasyonlarını ve transmisyonlarını devam ettirmek için invaze oldukları hücre içinde inflamazom, kaspaz ve gasdermin ekspresyonlarını azalttıkları ve bu yolla piroptotik süreçleri baskıladıkları bilinmektedir. Özellikle *P. gingivalis*-LPS'nin insan diş eti fibroblastlarında NLRP3 ekspresyonunu azalttığı ve insan endotel hücrelerinde NLRP3'ün proteolizi yoluyla doğal bağışık yanıtları bozduğu gösterilmiştir. *P. gingivalis*'in doğal bağışık yanıtın önemli bir mekanizması olan piroptozu baskılaması, periodontal hastalıklarda kronik enflamasyonun sürmesini kolaylaştırabilir. Çalışmamıza katılan gönüllülerde, periodontal patojenlerin düzeyi araştırılmamıştır. Ancak, çalışmamızın periodontitis grubunu oluşturan, yaygın evre III periodontitis hastalarındaki düşük DOS NLRP3 seviyeleri, bu hastaların derin periodontal ceplerindeki artmış *P. gingivalis* düzeyleri ile ilişkili olabilir. Periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde periodontal patojenlerin yoğunluğunu ve bunların DOS NLRP3 düzeyleri ile ilişkisini araştırarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

3. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerin DOS kaspaz-1 seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden düşük bulunmuştur. Kaspaz-1, kanonik piroptotik yolağın NLRP3 inflamazomu ile aktive olan önemli bir sitokinidir. Önceki çalışmalar, NLRP3 ile kaspaz-1 arasındaki pozitif ilişki göstermektedir. Araştırmamızda, periodontitisli bireylereki düşük DOS kaspaz-1 seviyelerinin, aynı bireylerdeki düşük NLRP3 seviyeleri ile paralellik göstermesi bu mekanistik ilişkiyi destekleyebilir.
4. Çalışmamızda, klinik olarak sağlıklı diş etine sahip kontrol grubumuzdaki yüksek DOS kaspaz-1 seviyeleri, immün sistemin subklinik düzeyde aktif olduğu durumları yansıtır olabilir. Çünkü enflamasyonun henüz klinik olarak belirgin olmadığı ancak immün sistemin aktive olduğu durumlarda, kaspaz-1'in bazal seviyelerinin arttığı ve olası doku hasarına karşı koruyucu bir yanıt oluşturabileceği öne sürülmüştür. Araştırma bulgularımız, bu sitokinin periodontal hastalık patogenezinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.
5. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerin DOS GSDM-D seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden düşük bulunmuştur. GSDM-D, kanonik ya da kanonik olmayan piroptotik yolakların aktive olmuş enflamatuvar kaspazları (kaspaz-1/4/5/11) tarafından bölünür. Yapılan çalışmalar, NLRP3 ve kaspaz-1'in GSDM-D ile olan pozitif ilişkisini göstermiştir. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerdeki düşük DOS GSDM-D seviyelerinin, aynı bireylerdeki düşük NLRP3 ve kaspaz-1 seviyeleri ile paralellik göstermesi bu mekanistik ilişkiyi destekleyebilir.
6. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerdeki düşük DOS GSDM-D seviyeleri, bu molekülün, kronik enflamasyonun etkisiyle daha hızlı yıkıma uğraması, post-translasyonel modifikasyonlar göstermesi ve farklı moleküler formlarda bulunmasından kaynaklanmış olabilir. Bu nedenle, periodontal hastalıklı bireylerin doku, serum ve oral biyolojik sıvılarında GSDM-D seviyelerini gösteren daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.
7. Araştırmamızda periodontitisli bireylerin DOS IL-1 β seviyeleri, gingivitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuştur. Çalışma bulgularımız, sistemik sağlıklı ve sigara içmeyen evre 3 periodontitis hastalarında DOS IL-1 β seviyelerini gösteren önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur.
8. Hücre içinde, inaktif prekürsör formda sentezlenen pro-IL-1 β , enflamatuvar bir sinyal sonrasında kaspaz-1 tarafından aktif IL-1 β formuna dönüştürülür ve porlardan salınır.

Piroptozda NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D seviyeleri, IL-1 β ile pozitif ilişkili bulunmuştur. Ancak, çalışmamızda DOS IL-1 β total miktarı, NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D ile ilişkili bulunmamıştır. Bu bulgular, enflamasyon sırasında IL-1 β üretiminin kaspaz-1 bağımlı kanonik piroptotik yolak dışında farklı moleküler mekanizmalarla şekillenebileceğini ve dolayısıyla çalışmamızın periodontitis grubunda saptadığımız yüksek DOS IL-1 β seviyelerine kaynaklık edebileceğini düşündürmektedir.

9. Araştırmamızda, periodontitisli bireylerin DOS IL-18 seviyeleri, periodontal sağlıklı bireylerden düşük bulunmuştur. IL-18, antimikrobiyal savunmada yer alan önemli bir proenflamatuvar sitokindir. Çalışmamızda yer alan periodontal sağlıklı bireylerdeki yüksek DOS IL-18 seviyeleri, IL-18'in homeostatik antimikrobiyal savunmadaki etkinliğinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü sağlıklı diş eti sulkusunda çoğunluğunu kommensal bakterilerin oluşturduğu az miktarda dental plağa karşı konağın savunma mekanizmaları sürekli aktiftir ve bu bakterilerin kontrol altında tutulmasını sağlar. IL-18'in periodontal hastalıklardaki rolünün aydınlatılabilmesi için daha fazla sayıda araştırmaya ihtiyaç vardır.
10. Hücre içinde, inaktif prekürsör formda sentezlenen pro-IL-18, enflamatuvar bir sinyal sonrasında kaspaz-1 tarafından aktif IL-18 formuna dönüştürülür ve porlardan salınır. Piroptozda NLRP3, kaspaz-1 veya GSDM-D seviyeleri, IL-18 ile pozitif ilişkili bulunmuştur. Çalışmamızda da DOS IL-18 seviyelerinin NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri ile pozitif ilişki göstermesi kanonik piroptotik yolda gözlenen moleküller arası ilişkilerin DOS'ta gözlenebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, araştırmamız, periodontal hastalıkta ve sağlıklı kanonik piroptotik yolağın başlıca bileşenleri olan NLRP3, kaspaz-1, GSDM-D, IL-1 β ve IL-18'in DOS'taki seviyelerini eş zamanlı olarak gösteren ilk çalışmadır. Ayrıca, araştırmamızda, periodontal hastalıklı bireylerde DOS GSDM-D seviyeleri ilk kez gösterilmiştir. Bu çalışmanın sınırlamaları içinde, periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında, periodontitisli bireylerin DOS'unda saptanan düşük NLRP3, kaspaz-1 ve GSDM-D seviyeleri bu moleküllerin periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ancak bulgularımızın, daha geniş örneklem büyüklüğüne sahip ileri çalışmalarla doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000*. 2017 Oct 31;75(1):7–23.
2. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun 21;89(S1).
3. Kulkarni C, Kinane DF. Host response in aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun 17;65(1):79–91.
4. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 22;3(1):17038.
5. Han N, Liu Y, Du J, Xu J, Guo L, Liu Y. Regulation of the Host Immune Microenvironment in Periodontitis and Periodontal Bone Remodeling. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 5;24(4):3158.
6. Ma Z, Wang J, Hu L, Wang S. Function of Innate Lymphoid Cells in Periodontal Tissue Homeostasis: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 23;24(7):6099.
7. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar 16;38(s11):85–105.
8. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch Oral Biol*. 2018 Mar 1;87:115–24.
9. Almeahmadi AH, Alghamdi F. Biomarkers of alveolar bone resorption in gingival crevicular fluid: A systematic review. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2018 Sep 1;93:12–21.
10. Kowalski S, Karska J, Łapińska Z, Hetnał B, Saczko J, Kulbacka J. An overview of programmed cell death: Apoptosis and pyroptosis—Mechanisms, differences, and significance in organism physiology and pathophysiology. *J Cell Biochem*. 2023 Jun 3;124(6):765–84.
11. Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens. *Immunol Rev*. 2015 May 16;265(1):130–42.
12. Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao EA. Programmed cell death as a defence against infection. *Nat Rev Immunol*. 2017 Mar 31;17(3):151–64.
13. Nozaki K, Li L, Miao EA. Innate Sensors Trigger Regulated Cell Death to Combat Intracellular Infection. *Annu Rev Immunol*. 2022 Apr 26;40(1):469–98.

14. Man SM, Karki R, Kanneganti T. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev.* 2017 May 30;277(1):61–75.
15. Fu J, Wu H. Structural Mechanisms of NLRP3 Inflammasome Assembly and Activation. *Annu Rev Immunol.* 2023 Apr 26;41(1):301–16.
16. Xu J, Núñez G. The NLRP3 inflammasome: activation and regulation. *Trends Biochem Sci.* 2023 Apr;48(4):331–44.
17. Wang M, Yu F, Zhang Y, Li P. Programmed cell death in tumor immunity: mechanistic insights and clinical implications. *Front Immunol.* 2024 Jan 12;14.
18. Wang K, Sun Q, Zhong X, Zeng M, Zeng H, Shi X, et al. Structural Mechanism for GSDMD Targeting by Autoprocessed Caspases in Pyroptosis. *Cell.* 2020 Mar;180(5):941-955.e20.
19. Devant P, Kagan JC. Molecular mechanisms of gasdermin D pore-forming activity. *Nat Immunol.* 2023 Jul 5;24(7):1064–75.
20. Yu P, Zhang X, Liu N, Tang L, Peng C, Chen X. Pyroptosis: mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Mar 29;6(1):128.
21. Karmakar M, Minns M, Greenberg EN, Diaz-Aponte J, Pestonjamas K, Johnson JL, et al. N-GSDMD trafficking to neutrophil organelles facilitates IL-1 β release independently of plasma membrane pores and pyroptosis. *Nat Commun.* 2020 May 5;11(1):2212.
22. Burdette BE, Esparza AN, Zhu H, Wang S. Gasdermin D in pyroptosis. *Acta Pharm Sin B.* 2021 Sep;11(9):2768–82.
23. Zhuang J, Wang Y, Qu F, Wu Y, Zhao D, Xu C. Gasdermin-d Played a Critical Role in the Cyclic Stretch-Induced Inflammatory Reaction in Human Periodontal Ligament Cells. *Inflammation.* 2019 Apr 3;42(2):548–58.
24. Chen Q, Liu X, Wang D, Zheng J, Chen L, Xie Q, et al. Periodontal Inflammation-Triggered by Periodontal Ligament Stem Cell Pyroptosis Exacerbates Periodontitis. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Apr 1;9.
25. Zhao Y, Quan Y, Lei T, Fan L, Ge X, Hu S. The Role of Inflammasome NLRP3 in the Development and Therapy of Periodontitis. *Int J Med Sci.* 2022;19(10):1603–14.
26. Isola G, Polizzi A, Santonocito S, Alibrandi A, Williams RC. Periodontitis activates the NLRP3 inflammasome in serum and saliva. *J Periodontol.* 2022 Jan 2;93(1):135–45.
27. Shahbeik S, Taleghani F, Sattari M, Mohammadi MM, Moravej M. Evaluation of NLRP3 and IL-18 Levels after Periodontal Therapy. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2021 Dec 12;

28. Bostanci N, Emingil G, Saygan B, Turkoglu O, Atilla G, Curtis MA, et al. Expression and regulation of the NALP3 inflammasome complex in periodontal diseases. *Clin Exp Immunol*. 2009 Sep;157(3):415–22
29. Park E, Na HS, Song YR, Shin SY, Kim YM, Chung J. Activation of NLRP3 and AIM2 Inflammasomes by *Porphyromonas gingivalis* Infection. *Infect Immun*. 2014 Jan;82(1):112–23.
30. Aral K, Berdeli E, Aral CA, Berdeli A, Atan M. Effects of bodybuilding and protein supplements in saliva, gingival crevicular fluid, and serum. *J Oral Sci*. 2017;59(1):121–30.
31. Xia Y, Zhou K, Sun M, Shu R, Qian J, Xie Y. The miR-223-3p Regulates Pyroptosis Through NLRP3-Caspase 1-GSDMD Signal Axis in Periodontitis. *Inflammation*. 2021 Dec 12;44(6):2531–42.
32. Surlin P, Lazar L, Sincar C, Gheorghe DN, Popescu DM, Boldeanu VM, et al. NLRP3 Inflammasome Expression in Gingival Crevicular Fluid of Patients with Periodontitis and Chronic Hepatitis C. *Mediators Inflamm*. 2021 Nov 19;2021:1–8.
33. Isaza-Guzmán DM, Medina-Piedrahíta VM, Gutiérrez-Henao C, Tobón-Arroyave SI. Salivary Levels of NLRP3 Inflammasome-Related Proteins as Potential Biomarkers of Periodontal Clinical Status. *J Periodontol*. 2017 Dec;88(12):1329–38.
34. Abraham D, Singh A, Goyal A. Symptomatic Irreversible Pulpitis Induces Increased Levels of Human NLRP3 in Gingival Crevicular Fluid Compared to Saliva: A Case Control Observational Study. *J Endod*. 2023 Nov;49(11):1480–6.
35. Sun Q, Scott MJ. Caspase-1 as a multifunctional inflammatory mediator: noncytokine maturation roles. *J Leukoc Biol*. 2016 Nov 1;100(5):961–7.
36. Rathinam VAK, Fitzgerald KA. Inflammasomes and Anti-Viral Immunity. *J Clin Immunol*. 2010 Sep 28;30(5):632–7.
37. Thul PJ, Åkesson L, Wiking M, Mahdessian D, Geladaki A, Ait Blal H, et al. A subcellular map of the human proteome. *Science (1979)*. 2017 May 26;356(6340).
38. Guo H, Callaway JB, Ting JPY. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*. 2015 Jul 29;21(7):677–87.
39. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*. 2010 Apr 29;464(7293):1357–61.
40. Rocha FRG, Delitto AE, de Souza JAC, González-Maldonado LA, Wallet SM, Rossa Junior C. Relevance of Caspase-1 and Nlrp3 Inflammasome on Inflammatory Bone Resorption in A Murine Model of Periodontitis. *Sci Rep*. 2020 May 8;10(1):7823.
41. García-Hernández AL, Muñoz-Saavedra ÁE, González-Alva P, Moreno-Fierros L, Llamosas-Hernández FE, Cifuentes-Mendiola SE, et al. Upregulation of proteins of the

- NLRP3 inflammasome in patients with periodontitis and uncontrolled type 2 diabetes. *Oral Dis.* 2019 Mar 16;25(2):596–608.
42. Kırmızıgül ÖA, Sabancı A, Dişli F, Yıldız S, Milward MR, Aral K. Evaluation of the role of mitofusin-1 and mitofusin-2 in periodontal disease. *J Periodontol.* 2023 Jul 24;
 43. Dai Z, Liu WC, Chen XY, Wang X, Li JL, Zhang X. Gasdermin D-mediated pyroptosis: mechanisms, diseases, and inhibitors. *Front Immunol.* 2023;14.
 44. Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Walle L Vande, Louie S, Dong J, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature.* 2011 Nov 16;479(7371):117–21.
 45. Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature.* 2015 Oct 29;526(7575):660–5.
 46. He W ting, Wan H, Hu L, Chen P, Wang X, Huang Z, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Res.* 2015 Dec 27;25(12):1285–98.
 47. Daily ZA, Al-Ghurabi BH. Accuracy of salivary biomarkers in the diagnosis of periodontal status and coronary heart disease. *J Med Life.* 2024 Apr;17(4):442–8.
 48. Arunachalam LT, Suresh S, Lavu V, Vedamanickam S, Ebinezer J, Balachandran B. Estimation of noncanonical pyroptosis biomarkers gasdermin D and caspase 4 in gingiva of periodontitis and diabetes patients: An observational cross-sectional study. *J Indian Soc Periodontol.* 2024 May;28(3):297–303.
 49. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011 Apr 7;117(14):3720–32.
 50. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2014 Feb 9;64(1):57–80.
 51. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci.* 2020 Dec 2;12(1):2.
 52. Papathanasiou E, Conti P, Carinci F, Lauritano D, Theoharides TC. IL-1 Superfamily Members and Periodontal Diseases. *J Dent Res.* 2020 Dec 6;99(13):1425–34.
 53. Gürsoy UK, Kantarci A. Molecular biomarker research in periodontology: A roadmap for translation of science to clinical assay validation. *J Clin Periodontol.* 2022 Jun 3;49(6):556–61.
 54. Afacan B, İlhan HA, Köse T, Emingil G. Gingival crevicular fluid galectin-3 and interleukin-1 beta levels in stage 3 periodontitis with grade B and C. *Clin Oral Investig.* 2023 Apr 5;27(7):3749–58.

55. Özden C, Afacan B, İlhan HA, Köse T, Emingil G. Oral biofluid levels of Activin-A and interleukin-1 β in stage III periodontitis. *Clin Oral Investig*. 2024 Dec 10;29(1):7.
56. Keles Yucel ZP, Afacan B, Atmaca İlhan H, Kose T, Emingil G. The trefoil factor family 1 (TFF-1) and 3 (TFF-3) are upregulated in the saliva, gingival crevicular fluid and serum of periodontitis patients. *Oral Dis*. 2022 May 12;28(4):1240–9.
57. Türkoğlu O, Emingil G, Kütükçüler N, Atilla G. Gingival Crevicular Fluid Levels of Cathelicidin LL-37 and Interleukin-18 in Patients With Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2009 Jun;80(6):969–76.
58. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1 β , interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Aug 6;21(4):256–60.
59. Pradeep AR, Daisy H, Hadge P, Garg G, Thorat M. Correlation of gingival crevicular fluid interleukin-18 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in periodontal health and disease. *J Periodontol*. 2009 Sep;80(9):1454–61.
60. Nair V, Bandyopadhyay P, Kundu D, Das S. Estimation of interleukin-18 in the gingival crevicular fluid and serum of Bengali population with periodontal health and disease. *J Indian Soc Periodontol*. 2016;20(3):260.
61. Mahajani MJ, Jadhao VA, Wankhade PS, Samson E, Acharya VD, Tekale PD. Effect of Periodontal Therapy on Crevicular Fluid Interleukin-18 Level in Periodontal Health and Disease in Central Maharashtra (India) Population. *J Contemp Dent Pract*. 2017 Nov;18(11):1085–9.
62. Keles S, Anik A, Cevik O, Abas BI, Anik A. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-18 and tumor necrosis factor- α in type 1 diabetic children with gingivitis. *Clin Oral Investig*. 2020 Oct;24(10):3623–31.
63. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 Binding Protein. *Front Immunol*. 2013;4.
64. Evavold CL, Ruan J, Tan Y, Xia S, Wu H, Kagan JC. The Pore-Forming Protein Gasdermin D Regulates Interleukin-1 Secretion from Living Macrophages. *Immunity*. 2018 Jan;48(1):35-44.e6.
65. He W, Long T, Pan Q, Zhang S, Zhang Y, Zhang D, et al. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β release and contributes to central sensitization in a recurrent nitroglycerin-induced migraine model. *J Neuroinflammation*. 2019 Dec 10;16(1):78.
66. Brough D, Rothwell NJ. Caspase-1-dependent processing of pro-interleukin-1 β is cytosolic and precedes cell death. *J Cell Sci*. 2007 Mar 1;120(5):772–81.

67. Zito G, Buscetta M, Cimino M, Dino P, Bucchieri F, Cipollina C. Cellular Models and Assays to Study NLRP3 Inflammasome Biology. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 16;21(12):4294.
68. Zuo X, Ju C, Zhang Z, Wei X, Ma Y, Song Z, et al. Photobiomodulation regulates inflammation and autophagy in spinal cord injury through NLRP3/Caspase-1/IL-1 β pathway by targeting TLR2. *Mol Immunol.* 2025 Jun;182:1–10.
69. Yıldırımtepe Çaldıran F ÇŞÇEDK. IL-1 β , IL-18 and Caspase-1 Levels in Serum as an Early Marker in Familial Mediterranean Fever Patients with Attack and Attack-free Period. *J Contemp Med.* 2021 Jul;11(4):494–9.
70. Demirel KJ, Neves Guimaraes A, Demirel I. The Role of Caspase-1 and Caspase-4 in Modulating Gingival Epithelial Cell Responses to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Infection. *Pathogens.* 2025; 14(3):295
71. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 1997 Jun 23;14(1):33–53.
72. Raitapuro-Murray T, Molleson TI, Hughes FJ. The prevalence of periodontal disease in a Romano-British population c. 200–400 AD. *Br Dent J.* 2014 Oct 24;217(8):459–66.
73. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim).* 2017;11(2):72–80.
74. Trindade D, Carvalho R, Machado V, Chambrone L, Mendes JJ, Botelho J. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J Clin Periodontol.* 2023 May 20;50(5):604–26.
75. Borrell LN, Crawford ND. Socioeconomic position indicators and periodontitis: examining the evidence. *Periodontol 2000.* 2012 Feb;58(1):69–83.
76. Li A, Zhang T, Liu Q, Yu X, Zeng X. Socioeconomic Inequalities in Oral Health among Adults in Guangxi, China. *Oral Health Prev Dent.* 2024 Jan 15;22:31–8.
77. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2002 Apr 28;29(1):177–206.
78. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012 Dec 3;27(6):409–19.
79. Lamont RJ, Hajishengallis G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med.* 2015 Mar;21(3):172–83.
80. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998 Feb 21;25(2):134–44.
81. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000.* 2005 Jun 21;38(1):135–87.

82. Dashper SG, Seers CA, Tan KH, Reynolds EC. Virulence factors of the oral spirochete *Treponema denticola*. *J Dent Res*. 2011 Jun;90(6):691–703.
83. Gasner NS, Schure RS. Periodontal Disease. 2024.
84. Lertpimonchai A, Rattanasiri S, Arj-Ong Vallibhakara S, Attia J, Thakkestian A. The association between oral hygiene and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Dent J*. 2017 Dec;67(6):332–43.
85. Liu X, Xu J, Li S, Wang X, Liu J, Li X. The prevalence of gingivitis and related risk factors in schoolchildren aged 6–12 years old. *BMC Oral Health*. 2022 Dec 21;22(1):623.
86. Persson GR. Periodontal complications with age. *Periodontol 2000*. 2018 Oct 9;78(1):185–94.
87. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to Periodontal Therapy in Diabetics and Smokers. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10S):1094–102.
88. Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL. Association Between Smoking Different Tobacco Products and Periodontal Disease Indexes. *J Periodontol*. 1983 Aug;54(8):481–7.
89. Hilgers K, Kinane D. Smoking, periodontal disease and the role of the dental profession. *Int J Dent Hyg*. 2004 May 24;2(2):56–63.
90. Douglass CW. Risk assessment and management of periodontal disease. *The Journal of the American Dental Association*. 2006 Nov;137:S27–32.
91. Ranbhise JS, Ju S, Singh MK, Han S, Akter S, Ha J, et al. Chronic Inflammation and Glycemic Control: Exploring the Bidirectional Link Between Periodontitis and Diabetes. *Dent J (Basel)*. 2025 Feb 26;13(3):100.
92. Mealey BL, Oates TW. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *J Periodontol*. 2006 Aug;77(8):1289–303.
93. Chopra A, Jayasinghe TN, Eberhard J. Are Inflamed Periodontal Tissues Endogenous Source of Advanced Glycation End-Products (AGEs) in Individuals with and without Diabetes Mellitus? A Systematic Review. *Biomolecules*. 2022 Apr 27;12(5):642.
94. Buranasin P, Kominato H, Mizutani K, Mikami R, Saito N, Takeda K, et al. Influence of Reactive Oxygen Species on Wound Healing and Tissue Regeneration in Periodontal and Peri-Implant Tissues in Diabetic Patients. *Antioxidants*. 2023 Sep 21;12(9):1787.
95. Daalderop LA, Wieland BV, Tomsin K, Reyes L, Kramer BW, Vanterpool SF, et al. Periodontal Disease and Pregnancy Outcomes: Overview of Systematic Reviews. *JDR Clin Trans Res*. 2018 Jan 25;3(1):10–27.
96. Wu M, Chen SW, Jiang SY. Relationship between Gingival Inflammation and Pregnancy. *Mediators Inflamm*. 2015 Jan 22;2015(1).

97. Uwitonze AM, Uwambaye P, Isyagi M, Mumena CH, Hudder A, Haq A, et al. Periodontal diseases and adverse pregnancy outcomes: Is there a role for vitamin D? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018 Jun;180:65–72.
98. Carrillo-de-Albornoz A, Figuero E, Herrera D, Bascones-Martínez A. Gingival changes during pregnancy: II. Influence of hormonal variations on the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol*. 2010 Mar;37(3):230–40.
99. GRODSTEIN F, COLDITZ GA, STAMPFER MJ. POST-MENOPAUSAL HORMONE USE AND TOOTH LOSS: A PROSPECTIVE STUDY. *The Journal of the American Dental Association*. 1996 Mar;127(3):370–7.
100. Rheu GB, Ji S, Ryu JJ, Lee JB, Shin C, Lee JY, et al. Risk assessment for clinical attachment loss of periodontal tissue in Korean adults. *J Adv Prosthodont*. 2011;3(1):25.
101. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005 Nov;366(9499):1809–20.
102. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021 Dec;71(6):462–76.
103. Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar 16;38(s11):44–8.
104. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*. 2014 Jan;35(1):3–11.
105. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol*. 2011 Jan 17;3.
106. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012 Jan 6;55(1):21–31.
107. Nociti FH, Casati MZ, Duarte PM. Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015 Feb 12;67(1):187–210.
108. Graves DT, Cochran D. The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol*. 2003 Mar;74(3):391–401.
109. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee H, et al. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*. 2006 Jan 8;38(5):306–21.
110. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976 Mar;34(3):235–49.

111. Gillett IR, Johnson NW, Curtis MA, Griffiths GS, Sterne JAC, Carman RJ, et al. The role of histopathology in the diagnosis and prognosis of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1990 Nov 13;17(10):673–84.
112. Cavalla F, Bigueti CC, Garlet TP, Trombone APF, Garlet GP. Inflammatory Pathways of Bone Resorption in Periodontitis. In: *Pathogenesis of Periodontal Diseases*. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 59–85.
113. Noguchi S, Ukai T, Kuramoto A, Yoshinaga Y, Nakamura H, Takamori Y, et al. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium. *J Periodontal Res*. 2017 Feb 9;52(1):74–82.
114. Cavalla F, Osorio C, Paredes R, Valenzuela MA, García-Sesnich J, Sorsa T, et al. Matrix metalloproteinases regulate extracellular levels of SDF-1/CXCL12, IL-6 and VEGF in hydrogen peroxide-stimulated human periodontal ligament fibroblasts. *Cytokine*. 2015 May;73(1):114–21.
115. Song B, Zhang Y, Chen L, Zhou T, Huang W, Zhou X, et al. The role of Toll-like receptors in periodontitis. *Oral Dis*. 2017 Mar 28;23(2):168–80.
116. Kang W, Hu Z, Ge S. Healthy and Inflamed Gingival Fibroblasts Differ in Their Inflammatory Response to *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide. *Inflammation*. 2016 Oct 15;39(5):1842–52.
117. Pöllänen MT, Laine MA, Ihalin R, Uitto VJ. Host-Bacteria Crosstalk at the Dentogingival Junction. *Int J Dent*. 2012;2012:1–14.
118. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000*. 2017 Oct 31;75(1):116–51.
119. Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor- β during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009 May 15;36(5):396–403.
120. Kim JH, Kim N. Regulation of NFATc1 in Osteoclast Differentiation. *J Bone Metab*. 2014;21(4):233.
121. Nakashima T, Hayashi M, Takayanagi H. New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2012 Nov;23(11):582–90.
122. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*. 2012 Mar 24;39(3):239–48.
123. Lee JW, Kobayashi Y, Nakamichi Y, Udagawa N, Takahashi N, Im NK, et al. Alisol-B, a novel phyto-steroid, suppresses the RANKL-induced osteoclast formation and prevents bone loss in mice. *Biochem Pharmacol*. 2010 Aug;80(3):352–61.

124. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin. *Cancer*. 2001 Aug 1;92(3):460–70.
125. Menezes R, Garlet TP, Letra A, Bramante CM, Campanelli AP, Figueira R de C, et al. Differential Patterns of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Expression in Human Periapical Granulomas: Possible Association with Progressive or Stable Nature of the Lesions. *J Endod*. 2008 Aug;34(8):932–8.
126. Gaffen SL, Hajishengallis G. 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*. 2008 Sep 1;87(9):817–28.
127. Garlet GP. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J Dent Res*. 2010 Dec 25;89(12):1349–63.
128. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007 Oct;13:3–10.
129. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun 20;45(S20).
130. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun 1;89:S74–84.
131. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2004 Apr 9;31(4):239–52.
132. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun 20;45(S20).
133. Oh T, Eber R, Wang H. Periodontal diseases in the child and adolescent. *J Clin Periodontol*. 2002 May 23;29(5):400–10.
134. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun 20;45(S20).
135. Page RC, Eke PI. Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7S):1387–99.

136. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018 Jun 21;89(S1).
137. Libretti S, Puckett Y. Physiology, Homeostasis. 2024.
138. Nirmala JG, Lopus M. Cell death mechanisms in eukaryotes. *Cell Biol Toxicol*. 2020 Apr 9;36(2):145–64.
139. Kulkarni M, Hardwick JM. Programmed Cell Death in Unicellular Versus Multicellular Organisms. *Annu Rev Genet*. 2023 Nov 27;57(1):435–59.
140. Tang D, Kang R, Berghe T Vanden, Vandenabeele P, Kroemer G. The molecular machinery of regulated cell death. *Cell Res*. 2019 May 4;29(5):347–64.
141. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018 Mar 23;25(3):486–541.
142. Nano M, Montell DJ. Apoptotic signaling: Beyond cell death. *Semin Cell Dev Biol*. 2024 Mar;156:22–34.
143. Lee YG, Yang N, Chun I, Porazzi P, Carturan A, Paruzzo L, et al. Apoptosis: a *Janus bifrons* in T-cell immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2023 Apr 13;11(4):e005967.
144. Yan G, Elbadawi M, Efferth T. Multiple cell death modalities and their key features (Review). *World Acad Sci J*. 2020 Mar 11;
145. Vitale I, Pietrocola F, Guilbaud E, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, et al. Apoptotic cell death in disease—Current understanding of the NCCD 2023. *Cell Death Differ*. 2023 May 26;30(5):1097–154.
146. Figueredo CM, Alves JC, de Souza Breves Beiler TFC, Fischer RG. Anti-apoptotic traits in gingival tissue from patients with severe generalized chronic periodontitis. *J Investig Clin Dent*. 2019 Aug 13;10(3).
147. Lucas H, Bartold PM, Dharmapatni AASSK, Holding CA, Haynes DR. Inhibition of Apoptosis in Periodontitis. 2009 Nov 30;89(1):29–33.
148. Wei Y, Yang L, Pandeya A, Cui J, Zhang Y, Li Z. Pyroptosis-Induced Inflammation and Tissue Damage. *J Mol Biol*. 2022 Feb;434(4):167301.
149. Bui FQ, Johnson L, Roberts J, Hung SC, Lee J, Atanasova KR, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection of gingival epithelial cells leads to NLRP3 inflammasome-dependent secretion of IL-1 β and the danger signals ASC and HMGB1. *Cell Microbiol*. 2016 Jul;18(7):970–81.
150. Xue F, Shu R, Xie Y. The expression of NLRP3, NLRP1 and AIM2 in the gingival tissue of periodontitis patients: RT-PCR study and immunohistochemistry. *Arch Oral Biol*. 2015 Jun;60(6):948–58.

151. Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*. 2015 Jan 15;517(7534):311–20.
152. Weinlich R, Oberst A, Beere HM, Green DR. Necroptosis in development, inflammation and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017 Feb 21;18(2):127–36.
153. Zhang K, Chen X, Zhou R, Chen Z, Wu B, Qiu W, et al. Inhibition of gingival fibroblast necroptosis mediated by RIPK3/MLKL attenuates periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2023 Sep 27;50(9):1264–79.
154. Yang Y, Wang L, Zhang H, Luo L. Mixed lineage kinase domain-like pseudokinase-mediated necroptosis aggravates periodontitis progression. *J Mol Med*. 2022 Jan 13;100(1):77–86.
155. Vanden Berghe T, Hassannia B, Vandenabeele P. An outline of necrosome triggers. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016 Jun 6;73(11–12):2137–52.
156. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol*. 2010 Dec 19;10(12):826–37.
157. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med*. 2011 Nov 7;17(11):1391–401.
158. Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019 Mar 17;20(3):175–93.
159. Sahingur SE, Yeudall WA. Chemokine Function in Periodontal Disease and Oral Cavity Cancer. *Front Immunol*. 2015 May 5;6.
160. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*. 2013 Jun 11;62(1):203–17.
161. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*. 2009 Feb;7(2):99–109.
162. Wang B, Han D, Li F, Hou W, Wang L, Meng L, et al. Elevated IL-22 in psoriasis plays an anti-apoptotic role in keratinocytes through mediating Bcl-xL/Bax. *Apoptosis*. 2020 Oct 6;25(9–10):663–73.
163. Lian N, Chen Y, Chen S, Zhang Y, Chen H, Yang Y, et al. Gasdermin D-mediated keratinocyte pyroptosis as a key step in psoriasis pathogenesis. *Cell Death Dis*. 2023 Sep 7;14(9):595.
164. Huang X, Deng Y, Xiao J, Wang H, Yang Q, Cao Z. Genetically engineered M2-like macrophage-derived exosomes for *P. gingivalis*-suppressed cementum regeneration: From mechanism to therapy. *Bioact Mater*. 2024 Feb;32:473–87.
165. Downs KP, Nguyen H, Dorfleutner A, Stehlik C. An overview of the non-canonical inflammasome. *Mol Aspects Med*. 2020 Dec;76:100924.

166. Rathinam VAK, Fitzgerald KA. Inflammasome Complexes: Emerging Mechanisms and Effector Functions. *Cell*. 2016 May;165(4):792–800.
167. Mathews RJ, Robinson JI, Battellino M, Wong C, Taylor JC, Eyre S, et al. Evidence of NLRP3-inflammasome activation in rheumatoid arthritis (RA); genetic variants within the NLRP3-inflammasome complex in relation to susceptibility to RA and response to anti-TNF treatment. *Ann Rheum Dis*. 2014 Jun;73(6):1202–10.
168. Guo C, Fu R, Wang S, Huang Y, Li X, Zhou M, et al. NLRP3 inflammasome activation contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2018 Oct 19;194(2):231–43.
169. Zaki MdH, Boyd KL, Vogel P, Kastan MB, Lamkanfi M, Kanneganti TD. The NLRP3 Inflammasome Protects against Loss of Epithelial Integrity and Mortality during Experimental Colitis. *Immunity*. 2010 Mar;32(3):379–91.
170. Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadharm J, Smith MF, Foley E, et al. IL-18, a Novel Immunoregulatory Cytokine, Is Up-Regulated in Crohn's Disease: Expression and Localization in Intestinal Mucosal Cells. *The Journal of Immunology*. 1999 Jun 1;162(11):6829–35.
171. Carlos D, Costa FRC, Pereira CA, Rocha FA, Yaochite JNU, Oliveira GG, et al. Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome and Predisposes to Type 1 Diabetes in Murine Model. *Front Immunol*. 2017 Feb 27;8.
172. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*. 2011 Feb 9;17(2):179–88.
173. Wen H, Gris D, Lei Y, Jha S, Zhang L, Huang MTH, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol*. 2011 May 10;12(5):408–15.
174. Kursawe R, Dixit VD, Scherer PE, Santoro N, Narayan D, Gordillo R, et al. A Role of the Inflammasome in the Low Storage Capacity of the Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue in Obese Adolescents. *Diabetes*. 2016 Mar 1;65(3):610–8.
175. Swanson K V., Deng M, Ting JPY. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol*. 2019 Aug 29;19(8):477–89.
176. Şaker D, Polat S. NLRP3 İnflamazom Aktivasyon ve Düzenleme Mekanizmalarına Genel Bir Bakış. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2022 Mar 31;31(1):52–9.
177. Porritt RA, Zemmour D, Abe M, Lee Y, Narayanan M, Carvalho TT, et al. NLRP3 Inflammasome Mediates Immune-Stromal Interactions in Vasculitis. *Circ Res*. 2021 Oct 15;129(9).
178. Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, Seidel HM, Glick GD, Latz E. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Aug 20;17(8):588–606.

179. Şahin C, Arıcıoğlu F. Depresyon ve sitokin hipotezinde yeni bir boyut: 'NLRP3 inflamazomu.' *Clinical and Experimental Health Sciences*. 2014;3(2):65–8.
180. Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 6;20(13):3328.
181. O'Neill LAJ, Golenbock D, Bowie AG. The history of Toll-like receptors redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013 Jun 17;13(6):453–60.
182. Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, Alnemri ES, MacDonald K, Speert D, et al. Cutting Edge: NF- κ B Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptors License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulating NLRP3 Expression. *The Journal of Immunology*. 2009 Jul 15;183(2):787–91.
183. Takeda K. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*. 2004 Nov 22;17(1):1–14.
184. Franchi L, Eigenbrod T, Núñez G. Cutting Edge: TNF- α Mediates Sensitization to ATP and Silica via the NLRP3 Inflammasome in the Absence of Microbial Stimulation. *The Journal of Immunology*. 2009 Jul 15;183(2):792–6.
185. Schroder K, Tschopp J. The Inflammasomes. *Cell*. 2010 Mar;140(6):821–32.
186. Muñoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colón G, Smith BL, Rajendiran TM, Núñez G. K⁺ Efflux Is the Common Trigger of NLRP3 Inflammasome Activation by Bacterial Toxins and Particulate Matter. *Immunity*. 2013 Jun;38(6):1142–53.
187. Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2011 Jan 13;469(7329):221–5.
188. Tschopp J, Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: the convergence of multiple signalling pathways on ROS production? *Nat Rev Immunol*. 2010 Mar 19;10(3):210–5.
189. Zhou R, Tardivel A, Thorens B, Choi I, Tschopp J. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol*. 2010 Feb 20;11(2):136–40.
190. Zhou R, Tardivel A, Thorens B, Choi I, Tschopp J. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol*. 2010 Feb 20;11(2):136–40.
191. Ding S, Xu S, Ma Y, Liu G, Jang H, Fang J. Modulatory Mechanisms of the NLRP3 Inflammasomes in Diabetes. *Biomolecules*. 2019 Dec 9;9(12):850.
192. Lee HM, Kim JJ, Kim HJ, Shong M, Ku BJ, Jo EK. Upregulated NLRP3 Inflammasome Activation in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2013 Jan 1;62(1):194–204.
193. Pellegrini C, Martelli A, Antonioli L, Fornai M, Blandizzi C, Calderone V. NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases: Pathophysiological and pharmacological implications. *Med Res Rev*. 2021 Jul 18;41(4):1890–926.

194. Fan Z, Huang Y, Wu J, Yang C, Guo X, Du L, et al. Negative Correlation between Serum NLRP3 and the Ratio of Treg/Th17 in Patients with Obstructive Coronary Artery Disease. *Rev Cardiovasc Med*. 2022 Dec;23(12):403.
195. Choulaki C, Papadaki G, Repa A, Kampouraki E, Kambas K, Ritis K, et al. Enhanced activity of NLRP3 inflammasome in peripheral blood cells of patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2015 Dec 19;17(1):257.
196. Ruscitti P, Cipriani P, Di Benedetto P, Liakouli V, Berardicurti O, Carubbi F, et al. Monocytes from patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes mellitus display an increased production of interleukin (IL)-1 β via the nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing family pyrin 3(NLRP3)-inflammasome activation: a possible implication for therapeutic decision in these patients. *Clin Exp Immunol*. 2015 Sep 11;182(1):35–44.
197. Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, et al. Molecular Cloning of the Interleukin-1 β Converting Enzyme. *Science* (1979). 1992 Apr 3;256(5053):97–100.
198. Saleh M, Vaillancourt JP, Graham RK, Huyck M, Srinivasula SM, Alnemri ES, et al. Differential modulation of endotoxin responsiveness by human caspase-12 polymorphisms. *Nature*. 2004 May;429(6987):75–9.
199. Man SM, Kanneganti T. Regulation of inflammasome activation. *Immunol Rev*. 2015 May 16;265(1):6–21.
200. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*. 2016 Jul 13;16(7):407–20.
201. Yazdi AS, Drexler SK, Tschopp J. The Role of the Inflammasome in Nonmyeloid Cells. *J Clin Immunol*. 2010 Sep 27;30(5):623–7.
202. Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology*. 2011 Jul;54(1):133–44.
203. Sun Q, Gao W, Loughran P, Shapiro R, Fan J, Billiar TR, et al. Caspase 1 Activation Is Protective against Hepatocyte Cell Death by Up-regulating Beclin 1 Protein and Mitochondrial Autophagy in the Setting of Redox Stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2013 May;288(22):15947–58.
204. Keller M, Rüegg A, Werner S, Beer HD. Active Caspase-1 Is a Regulator of Unconventional Protein Secretion. *Cell*. 2008 Mar;132(5):818–31.
205. Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV. Necroptosis: The Release of Damage-Associated Molecular Patterns and Its Physiological Relevance. *Immunity*. 2013 Feb;38(2):209–23.

206. Blankenberg S, Godefroy T, Poirier O, Rupprecht HJ, Barbaux S, Bickel C, et al. Haplotypes of the Caspase-1 Gene, Plasma Caspase-1 Levels, and Cardiovascular Risk. *Circ Res*. 2006 Jul 7;99(1):102–8.
207. Sharma BR, Kanneganti TD. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases. *Nat Immunol*. 2021 May 11;22(5):550–9.
208. Al-Shukaili A, AL-Ghafri S, Al-Marhoobi S, Al-Abri S, Al-Lawati J, Al-Maskari M. Analysis of Inflammatory Mediators in Type 2 Diabetes Patients. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:1–7.
209. Orning P, Lien E, Fitzgerald KA. Gasdermins and their role in immunity and inflammation. *Journal of Experimental Medicine*. 2019 Nov 4;216(11):2453–65.
210. Liu X, Zhang Z, Ruan J, Pan Y, Magupalli VG, Wu H, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*. 2016 Jul 7;535(7610):153–8.
211. Wang Y, Zhu X, Yuan S, Wen S, Liu X, Wang C, et al. TLR4/NF- κ B Signaling Induces GSDMD-Related Pyroptosis in Tubular Cells in Diabetic Kidney Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Sep 19;10.
212. Yuan YY, Xie KX, Wang SL, Yuan LW. Inflammatory caspase-related pyroptosis: mechanism, regulation and therapeutic potential for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2018 Aug 1;6(3):167–76.
213. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996 Mar 15;87(6):2095–147.
214. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 β processing in monocytes. *Nature*. 1992 Apr;356(6372):768–74.
215. Joosten LAB, Netea MG, Dinarello CA. Interleukin-1 β in innate inflammation, autophagy and immunity. *Semin Immunol*. 2013 Dec;25(6):416–24.
216. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011 Feb 14;11(2):98–107.
217. Punzi L. Pro-inflammatory interleukins in the synovial fluid of rheumatoid arthritis associated with joint hypermobility. *Rheumatology*. 2001 Feb 1;40(2):202–4.
218. Dayer JM, Oliviero F, Punzi L. A Brief History of IL-1 and IL-1 Ra in Rheumatology. *Front Pharmacol*. 2017 May 23;8.
219. Libby P. Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Oct;70(18):2278–89.
220. Al-Qahtani AA, Alhamlan FS, Al-Qahtani AA. Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Interleukins in Infectious Diseases: A Comprehensive Review. *Trop Med Infect Dis*. 2024 Jan 4;9(1):13.

221. Preshaw PM, Taylor JJ, Jaedicke KM, De Jager M, Bikker JW, Selten W, et al. Treatment of periodontitis reduces systemic inflammation in type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*. 2020 Jun 12;47(6):737–46.
222. Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2018 Feb 26;45(2):138–49.
223. Aral K, Berdeli E, Cooper PR, Milward MR, Kapila Y, Karadede Ünal B, et al. Differential expression of inflammasome regulatory transcripts in periodontal disease. *J Periodontol*. 2020 May 17;91(5):606–16.
224. Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Front Immunol*. 2024 Aug 26;15.
225. Relvas M, Mendes-Frias A, Gonçalves M, Salazar F, López-Jarana P, Silvestre R, et al. Salivary IL-1 β , IL-6, and IL-10 Are Key Biomarkers of Periodontitis Severity. *Int J Mol Sci*. 2024 Aug 1;25(15):8401.
226. Fujimura K, Karasawa T, Komada T, Yamada N, Mizushina Y, Baatarjav C, et al. NLRP3 inflammasome-driven IL-1 β and IL-18 contribute to lipopolysaccharide-induced septic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol*. 2023 Jul;180:58–68.
227. Grebe A, Hoss F, Latz E. NLRP3 Inflammasome and the IL-1 Pathway in Atherosclerosis. *Circ Res*. 2018 Jun 8;122(12):1722–40.
228. Takeuchi Y, Ohara D, Watanabe H, Sakaguchi N, Sakaguchi S, Kondoh G, et al. Dispensable roles of Gsdmd and Ripk3 in sustaining IL-1 β production and chronic inflammation in Th17-mediated autoimmune arthritis. *Sci Rep*. 2021 Sep 21;11(1):18679.
229. Saeki A, Tsuchiya K, Suda T, Into T, Hasebe A, Suzuki T, et al. Gasdermin D-independent release of interleukin-1 β by living macrophages in response to mycoplasmal lipoproteins and lipopeptides. *Immunology*. 2020 Oct 23;161(2):114–22.
230. Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 2;20(3):649.
231. Brydges SD, Broderick L, McGeough MD, Pena CA, Mueller JL, Hoffman HM. Divergence of IL-1, IL-18, and cell death in NLRP3 inflammasomopathies. *Journal of Clinical Investigation*. 2013 Nov 1;123(11):4695–705.
232. Nakanishi K. Unique Action of Interleukin-18 on T Cells and Other Immune Cells. *Front Immunol*. 2018 Apr 20;9.
233. Ihim SA, Abubakar SD, Zian Z, Sasaki T, Saffarioun M, Maleknia S, et al. Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: Biological role in induction, regulation, and treatment. *Front Immunol*. 2022;13:919973.

234. Yasin S, Fall N, Brown RA, Henderlight M, Canna SW, Girard-Guyonvarc'h C, et al. IL-18 as a biomarker linking systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome. *Rheumatology*. 2020 Feb 1;59(2):361–6.
235. Baggio C, Bindoli S, Guidea I, Doria A, Oliviero F, Sfriso P. IL-18 in Autoinflammatory Diseases: Focus on Adult Onset Still Disease and Macrophages Activation Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 5;24(13):11125.
236. Nold-Petry CA, Lo CY, Rudloff I, Elgass KD, Li S, Gantier MP, et al. IL-37 requires the receptors IL-18R α and IL-1R8 (SIGIRR) to carry out its multifaceted anti-inflammatory program upon innate signal transduction. *Nat Immunol*. 2015 Apr 2;16(4):354–65.
237. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity*. 2013 Dec;39(6):1003–18.
238. Techatanawat S, Surarit R, Chairatvit K, Khovidhunkit W, Roytrakul S, Thanakun S, et al. Salivary and serum interleukin-17A and interleukin-18 levels in patients with type 2 diabetes mellitus with and without periodontitis. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228921.
239. Sánchez-Hernández P, Zamora-Perez A, Fuentes-Lerma M, Robles-Gómez C, Mariaud-Schmidt R, Guerrero-Velázquez C. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2011 Jul 18;17(5):522–9.
240. Özçaka Ö, Nalbantsoy A, Buduneli N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2011 Jun;no-no.
241. Han XD, Chen HM, Li C. Effect of Human Periodontal Ligament Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles on Macrophage Pyroptosis and Periodontal Inflammatory Injury in Periodontitis. *Cells Tissues Organs*. 2022;211(1):57–72.
242. Chitrapriya MN, Rao SR, Lavu V. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in different stages of inflammatory periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19(1):14–7.
243. Kabacaoğlu B, Öztürk Özener H. Evaluation of inflammasomes as biomarker following non-surgical periodontal treatment. *Arch Oral Biol*. 2024 Aug;164:105987.
244. Durgapal S, Shetty DrM. Effect of non-surgical periodontal therapy on the salivary levels of IL-18 and IL-35 in patients with periodontitis. *Dent Med Probl*. 2025 Jan 30;(1):41–8.
245. Lalor SJ, Dungan LS, Sutton CE, Basdeo SA, Fletcher JM, Mills KHG. Caspase-1–Processed Cytokines IL-1 β and IL-18 Promote IL-17 Production by $\gamma\delta$ and CD4 T Cells That Mediate Autoimmunity. *The Journal of Immunology*. 2011 May 15;186(10):5738–48.
246. Huang H, Chen HW, Evankovich J, Yan W, Rosborough BR, Nace GW, et al. Histones Activate the NLRP3 Inflammasome in Kupffer Cells during Sterile Inflammatory Liver Injury. *The Journal of Immunology*. 2013 Sep 1;191(5):2665–79.

247. Onódi Z, Szabó PL, Kucsera D, Pokreisz P, Dostal C, Hilber K, et al. Inflammasome Activity in the Skeletal Muscle and Heart of Rodent Models for Duchenne Muscular Dystrophy. *Int J Mol Sci.* 2023 May 9;24(10):8497.
248. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2020 Jun 8;83(1):14–25.
249. Bostanci N, Belibasakis GN. Precision periodontal care: from omics discoveries to chairside diagnostics. *Clin Oral Investig.* 2023 Feb 1;27(3):971–8.
250. Nazar Majeed Z, Philip K, Alabsi AM, Pushparajan S, Swaminathan D. 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;2016:1–23.
251. Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival Crevicular Fluid and Plasma Acute-Phase Cytokine Levels in Different Periodontal Diseases. *J Periodontol.* 2012 Oct;83(10):1304–13.
252. Nair V, Grover V, Arora S, Das G, Ahmad I, Ohri A, et al. Comparative Evaluation of Gingival Crevicular Fluid Interleukin-17, 18 and 21 in Different Stages of Periodontal Health and Disease. *Medicina (B Aires).* 2022 Aug 3;58(8):1042.
253. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand.* 1963 Jan 2;21(6):533–51.
254. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy II. Correlation Between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta Odontol Scand.* 1964 Jan 2;22(1):121–35.
255. Gür B, Afacan B, Çevik Ö, Köse T, Emingil G. Gingival crevicular fluid periodontal ligament-associated protein-1, sclerostin, and tumor necrosis factor-alpha levels in periodontitis. *J Periodontol.* 2023 Oct 19;94(10):1166–75.
256. Ellis PD. *The Essential Guide to Effect Sizes.* Cambridge University Press; 2010.
257. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005 ;32 Suppl 6(SUPPL. 6):57–71.
258. Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2006 Feb 1;40(1):77–93.
259. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1560–8.
260. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998;9(3):248–66.
261. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol.* 2011 Mar;38 Suppl 11(SUPPL. 11):60–84.

262. Giannobile W V. Crevicular fluid biomarkers of oral bone loss. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:11–20.
263. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016 Feb 1;70(1):53–64.
264. Kinney JS, Morelli T, Oh M, Braun TM, Ramseier CA, Sugai J V., et al. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol*. 2014 Feb;41(2):113–20.
265. Akdeniz C, Doğru AG. The use of gingival crevicular fluid as a potential biomarker for periodontal disease. *Dicle Dental Journal* . 2024 Mar 28;25(1):19–24.
266. Bibi T, Khurshid Z, Rehman A, Imran E, Srivastava KC, Shrivastava D. Gingival Crevicular Fluid (GCF): A Diagnostic Tool for the Detection of Periodontal Health and Diseases. *Molecules*. 2021 Mar;26(5):1208.
267. Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2003 Feb;31(1):167–80.
268. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000*. 2003 Feb;31(1):12–31.
269. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol*. 1997;2(1):123–37.
270. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol 2000*. 2003 Feb;31(1):135–66.
271. Curtis MA, Griffiths GS, Price SJ, Coulthurst SK, Johnson NW. The total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol*. 1988;15(10):628–32.
272. Emingil G, Çoker I, Atilla G, Hüseyinov A. Levels of Leukotriene B₄ and Platelet Activating Factor in Gingival Crevicular Fluid in Renal Transplant Patients Receiving Cyclosporine A. *J Periodontol*. 2000 Jan;71(1):50–7.
273. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 2007 Jun 1;35(4):495–516.
274. Abele TJ, Billman ZP, Li L, Harvest CK, Bryan AK, Magalski GR, et al. Apoptotic signaling clears engineered Salmonella in an organ-specific manner. *Elife*. 2023 Dec 6;12.
275. Doerflinger M, Deng Y, Whitney P, Salvamoser R, Engel S, Kueh AJ, et al. Flexible Usage and Interconnectivity of Diverse Cell Death Pathways Protect against Intracellular Infection. *Immunity*. 2020 Sep;53(3):533-547.e7.

276. Netea MG, Joosten LAB, Latz E, Mills KHG, Natoli G, Stunnenberg HG, et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* (1979). 2016 Apr 22;352(6284).
277. Bauernfeind F, Ablasser A, Bartok E, Kim S, Schmid-Burgk J, Cavlar T, et al. Inflammasomes: current understanding and open questions. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2011 Mar 31;68(5):765–83.
278. Ding J, Wang K, Liu W, She Y, Sun Q, Shi J, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*. 2016 Jul 7;535(7610):111–6.
279. Kim JJ, Jo EK. NLRP3 Inflammasome and Host Protection against Bacterial Infection. *J Korean Med Sci*. 2013;28(10):1415.
280. Chilton PM, Embry CA, Mitchell TC. Effects of Differences in Lipid A Structure on TLR4 Pro-Inflammatory Signaling and Inflammasome Activation. *Front Immunol*. 2012;3.
281. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskandari MA, et al. Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe*. 2011 Nov;10(5):497–506.
282. Belibasakis GN, Johansson A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* targets NLRP3 and NLRP6 inflammasome expression in human mononuclear leukocytes. *Cytokine*. 2012 Jul;59(1):124–30.
283. Park E, Na HS, Kim SM, Wallet S, Cha S, Chung J. Xylitol, an Anticaries Agent, Exhibits Potent Inhibition of Inflammatory Responses in Human THP-1-Derived Macrophages Infected With *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol*. 2014 Jun;85(6).
284. Wanford JJ, Hachani A, Odendall C. Reprogramming of Cell Death Pathways by Bacterial Effectors as a Widespread Virulence Strategy. *Infect Immun*. 2022 May 19;90(5).
285. Li L, Dickinson MS, Coers J, Miao EA. Pyroptosis in defense against intracellular bacteria. *Semin Immunol*. 2023 Sep;69:101805.
286. Brokatzky D, Mostowy S. Pyroptosis in host defence against bacterial infection. *Dis Model Mech*. 2022 Jul 1;15(7).
287. Li L, Michel R, Cohen J, DeCarlo A, Kozarov E. Intracellular survival and vascular cell-to-cell transmission of *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Microbiol*. 2008 Dec 6;8(1):26.
288. Mao S, Park Y, Hasegawa Y, Tribble GD, James CE, Handfield M, et al. Intrinsic apoptotic pathways of gingival epithelial cells modulated by *Porphyromonas gingivalis*. *Cell Microbiol*. 2007 Aug;9(8):1997–2007.

289. Belibasakis GN, Guggenheim B, Bostanci N. Down-regulation of NLRP3 inflammasome in gingival fibroblasts by subgingival biofilms: Involvement of *Porphyromonas gingivalis*. *Innate Immun*. 2013 Feb 20;19(1):3–9.
290. Bostanci N, Meier A, Guggenheim B, Belibasakis GN. Regulation of NLRP3 and AIM2 inflammasome gene expression levels in gingival fibroblasts by oral biofilms. *Cell Immunol*. 2011 Jan;270(1):88–93.
291. Cheng R, Liu W, Zhang R, Feng Y, Bhowmick NA, Hu T. Porphyromonas gingivalis-Derived Lipopolysaccharide Combines Hypoxia to Induce Caspase-1 Activation in Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017 Nov 14;7.
292. Taxman DJ, Swanson K V, Broglie PM, Wen H, Holley-Guthrie E, Huang MTH, et al. Porphyromonas gingivalis Mediates Inflammasome Repression in Polymicrobial Cultures through a Novel Mechanism Involving Reduced Endocytosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2012 Sep;287(39):32791–9.
293. Huck O, Elkaim R, Davideau JL, Tenenbaum H. *Porphyromonas gingivalis* -impaired innate immune response via NLRP3 proteolysis in endothelial cells. *Innate Immun*. 2015 Jan 28;21(1):65–72.
294. Dixon DR, Reife RA, Cebra JJ, Darveau RP. Commensal Bacteria Influence Innate Status Within Gingival Tissues: A Pilot Study. *J Periodontol [Internet]*. 2004 Nov 1 ;75(11):1486–92.
295. Hajishengallis G. Porphyromonas gingivalis–host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? *Microbes Infect*. 2009 May;11(6–7):637–45.
296. Pathirana RD, O’Brien-Simpson NM, Reynolds EC. Host immune responses to Porphyromonas gingivalis antigens. *Periodontol 2000*. 2010 Feb;52(1):218–37.
297. Krauss JL, Potempa J, Lambris JD, Hajishengallis G. Complementary Tolls in the periodontium: how periodontal bacteria modify complement and Toll-like receptor responses to prevail in the host. *Periodontol 2000*. 2010 Feb;52(1):141–62.
298. Abdul-Sater AA, Saïd-Sadier N, Padilla E V., Ojcius DM. Chlamydial infection of monocytes stimulates IL-1 β secretion through activation of the NLRP3 inflammasome. *Microbes Infect*. 2010 Aug;12(8–9):652–61.
299. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskin MA, et al. Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe*. 2011 Nov;10(5):497–506.
300. Yamaguchi Y, Kurita-Ochiai T, Kobayashi R, Suzuki T, Ando T. Regulation of the NLRP3 inflammasome in Porphyromonas gingivalis-accelerated periodontal disease. *Inflammation Research*. 2017 Jan 24;66(1):59–65.

301. Konopka Ł, Pietrzak A, Brzezińska-Błaszczyk E. Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res*. 2012 Dec 18;47(6):681–8.
302. Villafuerte KR V., Dantas FT, Taba M, Messori M, Candido dos Reis FJ, Carrara HHA, et al. Effects of non-surgical periodontal therapy on the cytokine profile in gingival crevicular fluid of breast cancer patients with periodontitis undergoing chemotherapy. *Supportive Care in Cancer*. 2021 Dec 8;29(12):7505–13.
303. Taxman DJ, Zhang J, Champagne C, Bergstralh DT, Iocca HA, Lich JD, et al. Cutting Edge: ASC Mediates the Induction of Multiple Cytokines by *Porphyromonas gingivalis* via Caspase-1-Dependent and -Independent Pathways. *The Journal of Immunology*. 2006 Oct 1;177(7):4252–6.
304. Shenker BJ, Ojcius DM, Walker LP, Zekavat A, Scuron MD, Boesze-Battaglia K. Aggregatibacter actinomycetemcomitans Cytolethal Distending Toxin Activates the NLRP3 Inflammasome in Human Macrophages, Leading to the Release of Proinflammatory Cytokines. *Infect Immun*. 2015 Apr;83(4):1487–96.
305. Mahmood AA, Abbas RF. Association between Caspase-1, TNF- α Salivary Level and Their Diagnostic Potential to Discriminate Periodontitis from Healthy Control. *Oral Health Prev Dent*. 2023 Feb 16;21:61–8.
306. Hassan ZM, Akram HM. Salivary Biomarkers of Inflammasome Activation in Unstable Periodontitis: A Case-Control Study. *Eur J Dent*. 2025 Apr 23;
307. Molla MD, Akalu Y, Geto Z, Dagnew B, Ayelign B, Shibabaw T. Role of Caspase-1 in the Pathogenesis of Inflammatory-Associated Chronic Noncommunicable Diseases. *J Inflamm Res [Internet]*. 2020 [cited 2024 Dec 25];13:749–64.
308. Talley S, Kalinina O, Winek M, Paik W, Cannon AR, Alonzo F, et al. A Caspase-1 Biosensor to Monitor the Progression of Inflammation In Vivo. *J Immunol [Internet]*. 2019 Nov 1 [cited 2024 Dec 25];203(9):2497–507.
309. Bostanci N, Heywood W, Mills K, Parkar M, Nibali L, Donos N. Application of Label-Free Absolute Quantitative Proteomics in Human Gingival Crevicular Fluid by LC/MS^E (Gingival Exudatome). *J Proteome Res*. 2010 May 7;9(5):2191–9.
310. Wang S, Moreau F, Chadee K. Gasdermins in Innate Host Defense Against Entamoeba histolytica and Other Protozoan Parasites. *Front Immunol*. 2022 Jun 20;13.
311. AlQranei MS, Chellaiah MA. Osteoclastogenesis in periodontal diseases: Possible mediators and mechanisms. *J Oral Biosci*. 2020 Jun;62(2):123–30.
312. Gurung P, Anand PK, Malireddi RKS, Vande Walle L, Van Opdenbosch N, Dillon CP, et al. FADD and Caspase-8 Mediate Priming and Activation of the Canonical and Noncanonical Nlrp3 Inflammasomes. *The Journal of Immunology*. 2014 Feb 15;192(4):1835–46.

313. Antonopoulos C, El Sanadi C, Kaiser WJ, Mocarski ES, Dubyak GR. Proapoptotic Chemotherapeutic Drugs Induce Noncanonical Processing and Release of IL-1 β via Caspase-8 in Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*. 2013 Nov 1;191(9):4789–803.
314. Bossaller L, Chiang PI, Schmidt-Lauber C, Ganesan S, Kaiser WJ, Rathinam VAK, et al. Cutting Edge: FAS (CD95) Mediates Noncanonical IL-1 β and IL-18 Maturation via Caspase-8 in an RIP3-Independent Manner. *The Journal of Immunology*. 2012 Dec 15;189(12):5508–12.

