



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

SAĞLIKLI VE HASTALIKLI DİŞ VE İMPLANT ÇEVRESİ  
DOKULARDA UBİKUİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI  
PROTEİNLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan  
Arş. Gör. Damla ÇELİK

Periodontoloji Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi

Danışman  
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE  
Eş Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN

TOKAT-2021





T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

SAĞLIKLI VE HASTALIKLI DİŞ VE İMPLANT ÇEVRESİ  
DOKULARDA UBİKUİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI  
PROTEİNLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan  
Arş. Gör. Damla ÇELİK

Periodontoloji Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi

Danışman  
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE  
Eş Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN

TOKAT-2021

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

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

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Damla ÇELİK

## TEŞEKKÜR

Bu uzmanlık tezinin ortaya çıkmasında en büyük emeği gösteren, klinik ve akademik olarak her türlü bilgiye ulaşmamda yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE'ye,

Uzmanlık eğitimim ve tez dönemim boyunca her konuda yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli eş danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN'a ve değerli jüri hocam Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ'a,

Tez dönemim boyunca hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen, laboratuvar aşamalarında yanımda olan değerli asistan arkadaşlarım Uzm. Dt. Aslı KESKİN'e ve Arş. Gör. Sultan KÜÇÜK'e,

Uzmanlık dönemim boyunca yol göstericim olan, desteğini hep hissettiğim sevgili arkadaşım ve canım kıdemlim Uzm. Dt. Emre LAFCI'ya,

Uzmanlık dönemim ve tez dönemim boyunca en büyük destekçim olan ve her türlü sıkıntıda yanımda olan, iyi ki tanıdım dediğim sevgili dostum Arş. Gör. Onur CANPOLAT'a,

Hayatım boyunca her zaman her koşulda yanımda olan, en sevdiklerim biricik annem, anneannem ve dedeme teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

# SAĞLIKLI VE HASTALIKLI DIŞ VE İMPLANT ÇEVRESİ DOKULARDA UBİKUITİN-PROTEAZOM YOLAĞI PROTEİNLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Ağızdaki enflamatuvar hastalıklardan ikisi olan periodontitis ve peri-implantitiste esas etken bakterilerdir. Bakterilerin başlattığı patogeneze konağın enflamatuvar yanıtı eşlik eder ve hastalık şiddeti artar. Bu enflamatuvar yanıtın kontrolü, vücutta birçok durumda görevli olan ubikuitin proteazom yolağı (UPS) tarafından sağlanır. Enflamatuvar hastalık durumunda UPS proteinlerinin seviyelerinde farklılıklar görülmektedir. Bu çalışmada periodontitisli ve peri-implantitisli bireylerden alınan diş eti oluğu sıvısı ve peri-implant oluk sıvısı örneklerinde UPS proteinlerinin diş ve implant çevresi sağlıklı bireylere göre seviyelerinin ELİSA yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmaya sistemik olarak sağlıklı, hamilelik durumu veya şüphesi olmayan, sigara kullanmayan ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan hastalar dahil edilmiştir. Diş ve implant çevresi sağlıklı 2 grup kontrol grubu olarak periodontitis ve peri-implantitisli 2 grup ise hastalık grubu olarak çalışılmıştır. Gruplar 15'er bireyden oluşup toplam 60 bireyden oluşan çalışmada, diş eti oluğu sıvısı ve peri-implant oluk sıvısı örneklerinde UPS proteinleri olan ubikuitin, E1, E2, E3, A20, UCHL1 seviyelerine ELİSA yöntemi ile bakılmıştır.

**Bulgular:** Gruplar arası E1 seviyeleri değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ubikuitin seviyeleri; peridontitis grubunda sağlıklı diş grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. E2 seviyeleri; peri-implantitis grubunda diğer bütün gruplardan yüksek bulunmuştur. E3 ve UCHL1 seviyeleri değerlendirildiğinde,

peri-implantitis grubunda sağlık diş grubuna gre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. A20 seviyeleri, sağlıklı diş grubunda diğer bütün gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu çalışmada enflamasyonda grevli UPS proteinlerinin (ubikuitin, E2, E3, UCHL1) seviyelerinin periodontitis ve peri-implantitis gibi enflamatuvar hastalıklarda arttığı grlmştur. A20 seviyeleri sağlıklı dokularda daha yüksek grlmştur.

**Anahtar Kelimeler:** A20, ELISA, Periodontitis, Ubikuitin

**Damla ÇELİK, Uzmanlık Tezi**

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi**

**Tokat, 2021**

## ABSTRACT

# INVESTIGATION OF UBICUITIN-PROTEASOMY PATH PROTEINS IN HEALTHY AND DISEASED DENTAL AND IMPLANT ENVIRONMENTAL TISSUES

**Objective:** Bacteria are the main factors in periodontitis and peri-implantitis, two of the inflammatory diseases of the mouth. Pathogenesis initiated by bacteria is accompanied by the inflammatory response of the host and the severity of the disease increases. Control of this inflammatory response is provided by the ubiquitin proteasome pathway (UPS), which is involved in many situations in the body. In the case of inflammatory disease, differences are seen in the levels of UPS proteins. In this study, it was aimed to determine the levels of UPS proteins in gingival and peri-implant crevicular fluid samples taken from individuals with periodontitis and peri-implantitis, by ELISA method compared to healthy individuals around teeth and implants.

**Method:** In the study were included systemically healthy patients who were not pregnant or suspected, non-smokers and volunteered to participate. Two groups with healthy tooth and implant periphery were studied as the control group, and 2 groups with periodontitis and peri-implantitis were studied as the disease group. In the study, which consisted of 15 individuals and consisted of a total of 60 individuals, the levels of ubiquitin, E1, E2, E3, A20, UCHL1 which are UPS proteins in the gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid samples were examined by ELISA method.

**Results:** When the E1 levels between the groups were evaluated, no statistically significant difference was found. Ubiquitin levels; It was found to be significantly higher in the periodontitis group compared to the healthy tooth group. E2 levels; It was found

higher in peri-implantitis group than all other groups. When E3 and UCHL1 levels were evaluated, it was found to be significantly higher in the peri-implantitis group compared to the health tooth group. A20 levels were found to be significantly higher in the healthy tooth group than in all other groups.

**Conclusion:** In this study, it was observed that the levels of UPS proteins (ubiquitin, E2, E3, UCHL1) involved in inflammation increased in inflammatory diseases such as periodontitis and peri-implantitis. A20 levels were higher in healthy tissues.

**Keywords:** A20, ELISA, Periodontitis, Ubiquitin

**Damla ÇELİK, Thesis**

**Tokat Gaziosmanpaşa University, The Faculty of Dentistry**

**Tokat, 2021**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR.....                                                                      | ii  |
| ÖZET .....                                                                         | iii |
| ABSTRACT.....                                                                      | v   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                  | vii |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                              | ix  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                             | x   |
| KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ .....                                              | xi  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                     | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                            | 5   |
| 2.1. PERİODONSİYUM.....                                                            | 5   |
| 2.1.1. Diş Eti .....                                                               | 5   |
| 2.1.2.Periodontal Ligament.....                                                    | 8   |
| 2.1.3.Sement.....                                                                  | 9   |
| 2.1.4.Alveol Kemiği.....                                                           | 9   |
| 2.2.PERİODONTAL HASTALIKLAR.....                                                   | 10  |
| 2.3.PERİ-İMLANT DOKULAR .....                                                      | 16  |
| 2.3.1.Peri-implant Mukoza.....                                                     | 16  |
| 2.3.2.Peri-implant Destekleyici Kemik.....                                         | 18  |
| 2.4.PERİ-İMLANT DOKU HASTALIKLARI .....                                            | 19  |
| 2.5. PERİODONTAL VE PERİ-İMLANT DOKULARIN<br>KARŞILAŞTIRILMASI.....                | 23  |
| 2.6. DİŞ ETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK SIVISI .....                         | 27  |
| 2.7. PROTEİN SENTEZİ, POSTTRANSLASYONEL<br>MODİFİKASYONLAR VE UBİKÜİTİNASYON ..... | 31  |
| 2.8. UBİKÜİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI.....                                               | 34  |
| 2.9. DEUBİKÜİTİNASYON .....                                                        | 41  |
| 2.10. AMAÇ VE HİPOTEZ.....                                                         | 43  |
| 3.MATERYAL VE METOD .....                                                          | 44  |
| 3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ.....                                                   | 44  |
| 3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ BELİRLENMESİ.....                                         | 45  |
| 3.3. KLİNİK PERİODONTAL ÖLÇÜMLER .....                                             | 46  |

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.3.1. Plak İndeksi (Pİ).....                                           | 46  |
| 3.3.2. Gingival İndeks (Gİ) .....                                       | 47  |
| 3.3.3. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS) .....                              | 48  |
| 3.4. DİŞ ETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK SIVISI<br>TOPLANMASI..... | 48  |
| 3.5. ELİSA ANALİZİ .....                                                | 48  |
| 3.6. İSTATİKSEL ANALİZ .....                                            | 49  |
| 4. BULGULAR.....                                                        | 51  |
| 4.1.DEMOGRAFİK BULGULAR .....                                           | 51  |
| 4.2. KLİNİK BULGULAR .....                                              | 51  |
| 4.3. ELİSA SONUÇLARI.....                                               | 53  |
| 5. TARTIŞMA .....                                                       | 60  |
| 6. SONUÇLAR.....                                                        | 71  |
| 7. KAYNAKÇA.....                                                        | 72  |
| EK-1 .....                                                              | 108 |
| EK-2 .....                                                              | 109 |

**TABLÖLAR LİSTESİ**

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.1:</b> Çalışma gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı ..... | 51 |
| <b>Tablo 4. 2:</b> Çalışma gruplarında klinik ölçümler .....         | 51 |
| <b>Tablo 4.3:</b> Çalışma gruplarında ELİSA verileri .....           | 53 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 2.1:</b> Periodonsiyum bileşenlerinin şematik olarak görünümü.....                                                                       | 5  |
| <b>Şekil 2.2:</b> Subgingival mikrobiyata ile enflamatuvar ve immün yanıt arasındaki çift yönlü ilişkinin periodontal hastalık oluşturmaları..... | 12 |
| <b>Şekil 2.3:</b> Bir periodontitis hastasının klinik ve radyografik görünümü.....                                                                | 14 |
| <b>Şekil 2.4:</b> Peri-implant dokularda hastalık gelişiminin şematik olarak görünümü.....                                                        | 19 |
| <b>Şekil 2.5:</b> Bir peri-implantitis hastasının klinik ve radyografik görünümü.....                                                             | 20 |
| <b>Şekil 2.6:</b> Periodontal ve peri-implant dokuların şematik görünümü.....                                                                     | 25 |
| <b>Şekil 2.7:</b> Periodontitis ve peri-implantitisin şematik görünümü.....                                                                       | 27 |
| <b>Şekil 2.8:</b> Ubikuitin-proteazom yolağının ilk aşaması olan ubikuitinasyonun şematik olarak görünümü.....                                    | 36 |
| <b>Şekil 2.9:</b> 26S proteazom yapısının şematik olarak görünümü.....                                                                            | 38 |
| <b>Şekil 2.10:</b> Ubikitin proteazom sisteminin şematik görüntüsü.....                                                                           | 39 |
| <b>Şekil 4.1:</b> Ubikuitin ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.....                                                                 | 54 |
| <b>Şekil 4.2:</b> E1 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.....                                                                        | 55 |
| <b>Şekil 4.3:</b> E2 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.....                                                                        | 56 |
| <b>Şekil 4.4:</b> E3 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.....                                                                        | 57 |
| <b>Şekil 4.5:</b> A20 ELİSA verilerinin dağılım grafiği.....                                                                                      | 58 |
| <b>Şekil 4.6:</b> UCHL1 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.....                                                                     | 59 |

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- ATP: Adenozin Trifosfat
- A20: Tümör Nekroz Faktör alfa kaynaklı protein 3
- BAP 1: Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz benzeri 2
- C5aR: Tamamlayıcı Bileşen 5a Reseptörü
- DNA: Deoksiribonükleik asit
- DOS: Dişeti Oluğu Sıvısı
- DUB: Deubikuitinasyon enzimi
- ELİSA: Enzime bağlı immünosorban deneyi
- E1: Ubikuitin aktive edici enzim
- E2: Ubikuitin konjüge edici enzim
- E3: Ubikuitin ligaz enzimi
- F. nucleatum: Fusobacterium nucleatum
- Gİ: Gingival İndeks
- İκB: Nükleer Faktör Kappa-B İnhibitör
- IFN: İnterferon
- IRF: İnterferon düzenleyici faktör
- İL-1: İnterlökin-1
- İL-1α: İnterlökin-1 alfa
- İL-1β: İnterlökin-1 beta
- İL-4: İnterlökin-4
- İL-6: İnterlökin-6
- İL-8: İnterlökin-8
- İL-10: İnterlökin-10
- İL-17: İnterlökin-17
- K: Lizin
- LPS: Lipopolisakkarit
- M: Metiyonin

MAPK: Mitojenle Aktive Olan Protein Ligaz  
MAPK8: Mitojenle Aktive Olan Protein Ligaz 8  
MHC: Büyük histo-uyumluluk kompleksi  
MMP: Matriks Metalloproteinaz  
MMP-8: Matriks Metalloproteinaz-8  
MyD88: Myeloid Farklılaşma Birincil Yanıt 88  
NF- $\kappa$ B: Nükleer faktör  $\kappa$ B  
OPG: Osteoprotegerin  
PDL: Periodontal Ligament  
PI: Plak indeksi  
PIOS: Peri-implant Oluk Sıvısı  
P. gingivalis: Porphyromonas gingivalis  
PMN: Polimorfonükleosit  
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu  
P53: Tümör Protein 53  
RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Ligandı  
TGF- $\beta$ 1: Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1  
TNF- $\alpha$ : Tümör Nekroz Faktör alfa  
TLR2: Toll benzeri reseptör 2  
TLR4: Toll benzeri reseptör 4  
Ub: Ubikuitin  
UCH: Ubikuitin karboksi terminal hidroliz enzimi  
UCHL1: Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz benzeri 1  
UCHL 3: Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz benzeri 3  
UPS: Ubikuitin Proteazom Sistemi  
mm: Milimetre  
nm: nanometre  
%: Yüzde



## 1. GİRİŞ

Periodonsiyum, basitçe “dişleri saran ve destekleyen dokular” olarak tanımlanır (Agnew, 1965; N. P. Lang & Bartold, 2018) ve alveolar kemik, sement, periodontal ligament ve diş eti dokularından oluşur. Her periodontal bileşen, hücre dışı matris, kolajenler, elastin, fibronektin, laminin, osteopontin, kemik sialoproteini, çeşitli büyüme faktörleri ve diğer kollajen olmayan proteinler, proteoglikanlar, lipidler, mineraller ve su dahil olmak üzere hem lifli hem de lifsiz elementleri içerir. Bu bileşenlerin nasıl etkileşime girdiği yalnızca doku sağlığını belirlemekle kalmaz, aynı zamanda doku hasarı, onarımı ve yenilenmesi ile ilgili olayları da yansıtır (Bartold & Narayanan, 2006).

En basit anlamıyla periodontal hastalık terimi, hem gingivitis hem de periodontitis anlamına gelir. Gingivitis, dişleri çevreleyen yumuşak dokuların (diş eti) enflamatuvar bir durumudur ve dişler üzerinde biriken mikrobiyal plağa doğrudan bir bağışıklık yanıtıdır. Periodontitis, periodontal ligament, kemik ve yumuşak dokular dahil olmak üzere dişlerin destekleyici yapılarının geri dönüşümsüz kaybını içerir. Periodontitisin başlıca patolojik özellikleri, periodontal cebe bitişik dokularda enflamatuvar infiltrat birikimi, kökü gingival bağ dokusuna ve alveol kemiğe sabitleyen bağ dokusu liflerinin yıkımı, epitelyal ataçmanın apikale göçü ve alveol kemiğin rezorpsiyonudur (Kinane, 2001).

Periodontal hastalıkların patojenik süreçleri, büyük ölçüde mikroorganizmaların neden olduğu doku yıkımına konakçı yanıtının bir sonucudur. Bu yıkıcı süreçler bakteriler tarafından başlatılır, ancak konakçı hücreler tarafından yayılır. Bu durum, doku yıkımına neden olan konak savunma yanıtının bir sonucudur (Kinane, 2001).

Periodontal dokularda enflamasyon, enflamatuvar hücre sayısında artış, kollajen lif miktarı ve fibroblast hücre sayısında azalma, proenflamatuvar sitokin salınımında artış, kompleman sisteminin aktivasyonu ve granülasyon dokusu oluşumu gibi yapısal ve biyokimyasal değişikliklere yol açar (Murakami, Mealey, Mariotti, & Chapple, 2018; Offenbacher, 1996; Page & Kornman, 1997). Disbiyotik mikroorganizmaların başlattığı ve konak savunma sisteminin aktivasyonu ile ilerleyen enflamasyon, bazı bireysel ve/veya çevresel modifiye edici faktörlerin varlığı ile daha hızlı ve şiddetli bir yıkım seyri gösterebilir. Disbiyotik mikroorganizmalar ve konak arasındaki etkileşim periodontal enflamasyonun ilerlemesi ve çoğalmasından sorumludur (Lamont, Koo, & Hajishengallis, 2018) ve periodontal dokularda hastalık durumunda meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi periodontal hastalığı önlemek ve tedavisinde uygulanacak yöntemlerin geliştirilmesi açısından önemlidir.

Dişlerin kaybedilmesiyle meydana gelen estetik ve fonksiyonel kaybı telafi etmek için, dental implant tedavisi uygulanılmaktadır. İmplant uygulaması estetik ve fonksiyon kaybını telafi eder ancak diş çevresinde görülen hastalıklar implant çevresinde de görülebilir. İmplantlar ağız içinde varlıklarını uzun süre devam ettirebilseler de büyük bir çoğunluğunda peri-implant hastalıklara rastlanmaktadır (Lindhe, Meyle, & Periodontology, 2008). Periodontal hastalıklarda görüldüğü gibi implant çevresi enflamatuvar hastalıkların da esas nedeni mikrobiyal dental plak birikimidir (Tonetti, Chapple, Jepsen, & Sanz, 2015). Peri-implant hastalıklar 2 şekilde görülmektedir: Peri-implant mukozitis ve peri-implantitis. Peri-implant mukozitis, implantın etrafındaki yumuşak dokuların enflamasyonudur ve geri dönüşlüdür (Rosen ve ark., 2013). Peri-implantitiste ise yumuşak doku enflamasyonunun yanı sıra peri-implant bölgede geri dönüşümsüz bir kemik kaybı görülür (Rosen ve ark., 2013). Peri-implantitiste

sondlamada kanama veya süpürasyon ve derinliği artmış bir periodontal cep görülür (N. P. Lang, Berglundh, & Periodontology, 2011).

Periodontal ve peri-implant dokularda belirli sinyal moleküllerinin aktivasyonu ve/veya inhibisyonu hastalık oluşum ve ilerlemesi açısından büyük öneme sahiptir (Hajishengallis & Lambris, 2016). Hastalık oluşum ve ilerlemesinde enflamasyon artışı ve enflamasyonla ilişkili sinyal moleküllerinin aşırı üretilmesi, apoptoz, çoğalma, farklılaşma ve hücre göçü gibi hücreyel olaylarda değişiklik meydana gelir (Kurgan & Kantarci, 2018).

Ubikütinasyon, bir post-translasyonel modifikasyondur ve organel biyogenezi, hücre döngüsü ve bölünme, DNA transkripsiyonu ve tamiri, hücre farklılaşması, enflamatuvar ve immün yanıt, sinir ve kas dejenerasyonu ve hücre yüzey reseptörlerinin modülasyonu gibi çok farklı durum ve olaylarda rol almaktadır (Rittinger & Ikeda, 2017). Ubikuitin (Ub), hedef proteinlerin lizin veya N-terminal rezidülerindeki translasyon sonrası kovalent modifikasyonu ile çeşitli hücreyel işlemleri düzenleyen, evrimsel olarak korunan 76 amino asitli bir proteindir. Ubikütinasyon işlemi, ubikutin aktive edici (E1), ubikuitin-konjüge edici (E2) ve ubikuitin ligaz (E3) enzimlerinin sıralı aktivasyonu ile katalize edilir (Popovic, Vucic, & Dikic, 2014). Deubikutinazlar (DUB) ubikuitin zincirlerini çıkararak ubikütinasyonu düzenlerler. İnsanlarda, E1, E2, E3 ve DUB'lar çok çeşitli nörolojik, kardiyovasküler, onkolojik ve immünolojik bozukluklarda rol oynamıştır (Hugo ve ark., 2016). Ub ve Ub benzeri moleküller, bağışıklık sinyali iletim yollarının hemen hemen her aşamasında rol almaktadırlar (Hugo ve ark., 2016; Kattah, Malynn, & Ma, 2017; Popovic ve ark., 2014).

Ubikütinasyon, proteinlerin proteazom ve lizozom yoluyla yıkımını düzenleyerek, proteinlerin hücresel lokalizasyonunu koordine ederek, proteinleri aktive ederek ve etkisiz hale getirerek ve protein-protein etkileşimlerini modüle ederek hücresel süreçleri önemli düzeyde etkiler (Rittinger & Ikeda, 2017). Protein yıkımı, hücre içerisindeki proteinlerin normal düzeylerinde fonksiyon görmelerini sağlamak amacıyla işleyen düzenli bir mekanizmadır. Ökaryotlarda protein yıkımı, hem sitoplâzmada hem de çekirdekte ubikuitin proteazom yolağı (UPS) ve onun düzenleyici proteinleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Wei & Deng, 2003). UPS, çeşitli mekanizmalar yoluyla enflamatuvar reaksiyonlara da aracılık eder. UPS ile enflamasyonun en önemli bağlantısı nükleer faktör  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ) aracılığı ile gerçekleşir (Jueqi Chen & Chen, 2013). NF- $\kappa B$  birçok enflamatuvar sitokin geninin ana düzenleyicisidir ve aktivasyonuna UPS aracılık eder (Jueqi Chen & Chen, 2013). Bu nedenle, UPS'deki değişikliklerin, enflamatuvar sitokin düzenlemesi dâhil, immün yanıt üzerinde önemli etkileri olabilir.

Ubikütinasyon sisteminin normal fonksiyon görmesi veya görmemesi, bu sistem özellikle enfeksiyonla yakından ilişkili olduğundan, insan vücudunda birçok patolojik duruma katkıda bulunabilir veya bu durumların tedavisini güçleştirebilir. Bu nedenle, dünya üzerinde en yaygın enfeksiyonlardan biri olan periodontal hastalık oluşum ve ilerlemesinde ubikütinasyon sisteminin önemli bir rolü olabilir.

Tüm bunlara dayanarak, bu diş hekimliği uzmanlık tezi, protein yıkımını organize ettiği için çok farklı hücresel işlevde rol alan ubikütinasyon sisteminin periodontal ve peri-implant dokularda sağlık ve hastalık durumundaki fonksiyonunu belirlemek için bu sistemde rol alan farklı proteinleri tespit etmeyi amaçlamıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. PERİODONSIYUM

Periodonsiyum, diş eti, periodontal ligament, sement ve alveol kemik olmak üzere dört ayrı dokuyu içeren benzersiz bir anatomik bölgedir. Periodonsiyumun temel işlevi, dişleri kemik dokuya bağlamak ve çiğneme mukozasının yüzey bütünlüğünü korumaktır (N. P. Lang & Lindhe, 2015). Periodonsiyum, fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere maruz kalan gelişimsel, biyolojik ve fonksiyonel bir birimdir (Bartold, 1991). Periodontal hastalıkların yaygınlaşması nedeniyle ve kaybedilen dokuların onarılması açısından periodonsiyumu oluşturan yapıları tanımak önemlidir (Nanci & Bosshardt, 2006).



**Şekil 2.1:** Periodonsiyum bileşenlerinin şematik olarak görünümü.

#### 2.1.1. Diş Eti

Diş eti, diş eti epitelinden ve epitelin altındaki bağ dokusundan oluşur ve tüm ağız ağız mukozasının alveol kemiği ve dişin boyun bölgesini örten kısımdır (N. P. Lang & Lindhe, 2015). Yetişkinlerde sağlıklı diş eti, alveolar kemiği ve diş kökünü, mine-sement

sınırında sadece koronal bir seviyeye kadar örter. Diş eti anatomik olarak serbest, yapışık ve interdental alanlara bölünmüştür. Her bir diş eti türü, fonksiyonel gerekliliklere göre farklılaşma, histoloji ve kalınlıkta önemli farklılıklar gösterir ve tüm tipler, mekanik ve mikrobiyal hasara karşı uygun işlev görecektir şekilde özelleşmiştir. (J Ainamo & Talar, 1976).

Serbest diş eti, dişleri yaka benzeri bir şekilde çevreleyen diş etinin uç kenarıdır (Jukka Ainamo & Löe, 1966; N. P. Lang & Lindhe, 2015). Diş eti oluşu, bir tarafta diş ve diğer tarafta diş etinin serbest kenarının arasında kalan sığ V şeklindeki boşluktur. Serbest diş eti ve yapışık diş eti genellikle diş eti oluşu ile ayrılır (Jukka Ainamo & Löe, 1966; N. P. Lang & Lindhe, 2015). Serbest diş eti yaklaşık 1 mm genişliğindedir ve diş eti oluşunun yumuşak doku duvarını oluşturur. Diş yüzeyinden periodontal sond ile ayrılabilir. Apikokoronal ve meziodistal boyutları 0,06 ile 0,96 mm arasında değişmektedir (Mattos & Santana, 2008).

Serbest diş etinin devamında yapışık diş eti bulunur. Sağlam, dirençlidir ve alveol kemiğin altta yatan periosteumuna sıkıca bağlıdır. Yapışık diş eti apikal bölgede mukogingival bileşim ile sınırlıdır ve mukogingival bileşimden sonra ağız mukozası başlar (Newman, Takei, Klokkevold, & Carranza, 2011). Yapışık diş etinin genişliği 4 yaşına kadar ve fazla sürmüş dişlerde artar (A. Ainamo & Ainamo, 1978). Mandibulanın lingual tarafında, yapışık diş eti, ağız tabanını kaplayan mukoza ile sürekli olan lingual mukozanın birleşim yerinde sonlanır. Üst çenede yapışık diş eti sert damağın yüzeyini örten epitel dokusuyla devamlılık gösterir (Newman ve ark., 2011).

Diş eti morfolojik olarak bazı özelliklere sahiptir:

1. Renk: Diş etinin rengi gül kurusudur (MacPhee, Cowley, & Gillette, 1970). Ancak sigara kullanımı, derinin rengi veya pigmentasyona neden olan sistemik bazı hastalıklarda renk değişikliği ortaya çıkmaktadır (Çağlayan, Aşan, & Külekçi, 2010).
2. Matlık: Diş eti kurutulduğunda matlaşır. Periodontal hastalıkların teşhisinde sağlıklı ve hastalıklı diş etini teşhis etmek için matlığın varlığı önemlidir (Çağlayan ve ark., 2010).
3. Stipping: Diş eti, portakal kabuğu görüntüsüne benzer bir yüzey dokusuna sahiptir ve bu yüzey dokusu stippling olarak adlandırılır (Greene, 1962). Stippling en iyi diş etinin kurutulmasıyla görülür. Stippling yapısı serbest dişetinde bulunmazken, yapışık diş etinin bir özelliğidir. İnterdental papillaların merkezi kısmı genellikle stippling yapıda, ancak marjinal sınırlar pürüzsüzdür (Greene, 1962).
4. Sertlik: Diş eti sert ve esnektir ve serbest dişeti haricinde altta yatan kemiğe sıkıca bağlanır (Newman ve ark., 2011).

Diş eti epiteli, bulunduğu bölgeye göre farklı morfolojik varyasyonlara sahiptir (Schroeder 1986). Bunlar oral gingival epitel, oral sulküler epitel ve birleşim epitelini içerir. Diğer çok katlı yassı epitellerde olduğu gibi dişeti epitelinin temel hücre tipi keratinositlerdir. Epitelde bulunan diğer hücreler, Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri ve melanositleri içeren berrak hücreler veya nonkeratinositlerdir. Diş eti epitelinin temel işlevi, epitel altındaki bağ doku ve kemik dokusu gibi dokuları dış ortamın etkilerinden korumaktır. Keratinositlerin çoğalması, bazal tabakada mitozla ve daha seyrek olarak suprabazal tabakalarda meydana gelir (Newman ve ark., 2011).

Oral epitel, diş etinin vestibuler ve oral yüzeylerini örter. Ortalama olarak, oral epitel kalınlığı 0,2 ila 0,3 mm'dir. Oral epitel yaygın olarak parakeratinize yapıda olmakla birlikte keratinize veya bu ikisinin kombinasyonu şeklinde bulunabilir (Biolcati, Carranza Jr, & Cabrini, 1953). Oral epitel dört katmandan oluşur: stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum ve stratum corneum (Newman ve ark., 2011).

Sulküler epitel, dişeti oluşunu kaplar. İnce, nonkeratinize, çok katlı yassı bir epitel olup, birleşim epitelinin koronal sınırından dişeti kenarının tepesine kadar uzanır. Sulküler epitel genellikle keratinizasyon göstermez ve parakeratinizedir (Çağlayan ve ark., 2010). Diğer keratinize olmayan epitellerde olduğu gibi, sulküler epitelde granülozum ve korneum tabakaları yoktur ve Merkel hücrelerini içermezler (Newman ve ark., 2011). Sulküler epitel, mekanik güçlere direnci ve sıvılara geçirgen olmayışı gibi birçok özelliğiyle oral epitele benzer (Çağlayan ve ark., 2010).

Birleşim epiteli, diş etini diş bağlayan dişin çevresini yaka şeklinde saran çok katlı yassı keratinize olmayan bir epitel dokusudur (Newman ve ark., 2011). Erken yaşlarda 3 ila 4 kat kalınlığındadır, ancak yaşla birlikte katman sayısı 10 hatta 20 kat artmaktadır. Birleşim epitelinin hücreleri bağ dokusuna bakan bazal tabaka ve diş yüzeyine uzanan suprabazal tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Birleşim epitelinin uzunluğu 0,25 ile 1,35 mm arasında değişmektedir. Birleşim epitelinin dişi diş etine bağlayan iki yapıdan biridir. Dişi diş etine bağlayan diğer yapı ise diş eti lifleridir. Bu iki yapı dentogingival birim olarak adlandırılır. (Listgarten, 1970).

### **2.1.2.Periodontal Ligament**

Periodontal ligament (PDL), diş kökünü çevreleyen ve onu alveol kemiğin iç duvarına bağlayan özelleşmiş bir bağ dokusudur (McKee, Zalzal, & Nanci, 1996).

Periodontal ligament boşluğunun ortalama genişliğinin yaklaşık 0,2 mm'dir ancak işlevsel olmayan ve sürmemiş dişlerin etrafındaki periodontal boşluk azalır, hiperfonksiyona uğramış dişlerde artar (Newman ve ark., 2011).

Periodontal ligamentin en önemli elemanları, demetler halinde ve uzunlamasına kesitte bakıldığında dalgalı seyir izleyen ve kollajenden oluşan ana liflerdir. PDL liflerinin semente tutunduğu kısım kalsifiye olmuştur ve Sharpey lifleri olarak adlandırılır (Birn, 1966; Newman ve ark., 2011). Ana lif demetleri, diş ve kemik arasında sürekli bir anastomoz ağı oluşturan tek tek liflerden oluşur (Berkovitz, 1990).

### **2.1.3.Sement**

Sement, dişlerin köklerini kaplayan sert, damar içermeyen dokudur. Temel olarak, içindeki hücrelerin varlığına veya yokluğuna ve matrisin kolajen liflerinin kökenine göre ayırt edilen iki sement türü vardır. Birincil sement veya hücresiz sement kökün servikal yarısı ile üçte ikisinde bulunur. İkincil sement veya hücreli sement kökün apikal üçte biri veya yarısı boyunca ve furkasyon alanlarında bulunur. Hücreli sement aynı zamanda, rezorptif kusurları ve kök kırıklarını dolduran bir onarım dokusu olarak üretildiğinden, koronal olarak da bulunabilir (Nanci & Bosshardt, 2006).

### **2.1.4.Alveol Kemiği**

Alveol kemiği, maksilla ve mandibulanın diş yuvalarını oluşturan kısmıdır. Diş oluşumu ve sürmesi ile gelişir (Pashley, 1996). Bu nedenle dişlerin boyutu, şekli, konumu ve işlevi morfolojilerini belirler. Dış kortikal plaka haversian kemiği ve sıkıştırılmış kemik lamelleri tarafından oluşturulur. Alveol kemiğin iç soket duvarı, radyografilerde lamina dura olarak görülür. Histolojik olarak, nörovasküler demetlerin periodontal bağ

ile alveolar kemiğin merkezi bileşeni olan süngerimsi kemiği bağladığı bir dizi açıklık (kribriform plakası) içerir (Newman ve ark., 2011). Alveol kemiği % 23 mineralize dokudan oluşur, % 37'si kolajen olan organik matriks ve % 40'ı sudur. Mineralize doku kısmı büyük oranda kalsiyum ve fosfat minerallerinden oluşmuştur (Monje ve ark., 2015). Organik matriks esas olarak tip I kollajenden oluşmuştur. Kollajenin yanı sıra daha az miktarda osteokalsin, osteonektin, kemik morfojenik protein ve proteoglikanlar gibi proteinleri içerir (Newman ve ark., 2011).

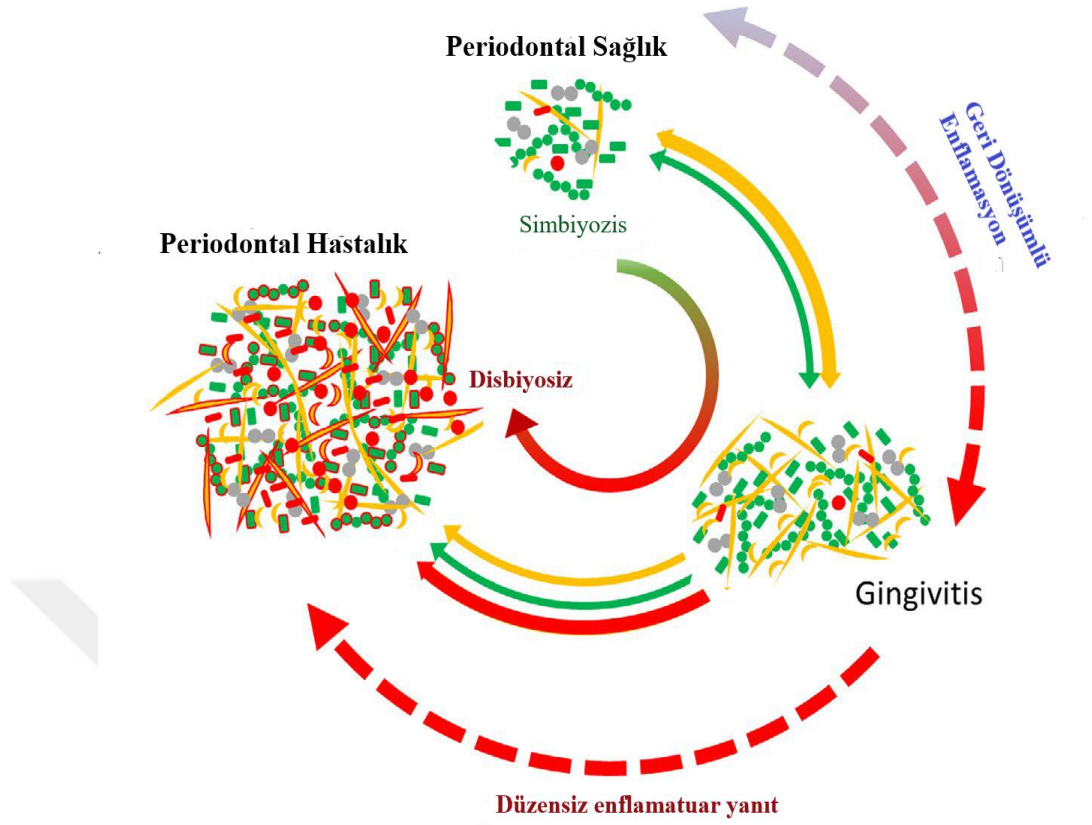
Alveol kemik dokusu sürekli olarak remodelasyona uğrar. Bu remodelasyonu osteoblastlar yeni kemik üretimi, osteoklastlar ise kemik yıkımı gerçekleştirerek dengeli şekilde sağlarlar. Remodelasyon sayesinde dokudaki kalsiyum ve fosfat homeostazı sağlanır (Ogasawara ve ark., 2004; Sodek & Mckee, 2000). Kemik oluşumunu etkileyen büyüme ve farklılaşma faktörleri arasından, kemik morfogenetik proteinleri kemik oluşumunda en önemli etkiye sahiptir (Wozney, 1992). Kemik yıkım ve yapım aşamalarındaki dengesizlik, osteoporoz ve osteopetroz gibi patolojik durumlara neden olur. Aşırı osteoklast aktivasyonundan kaynaklanan patolojik kemik kaybı, kronik veya akut enflamasyon nedeniyle de olabilir (Arron and Choi 2000).

## **2.2.PERİODONTAL HASTALIKLAR**

Periodontal hastalık, periodonsiyumu içeren hastalık süreçleridir (Babay, Alshehri, & Al Rowis, 2019). Gingivitis, periodontal hastalığın en hafif ve en yaygın görülen şeklidir. Diş ile diş eti arasında dental plak birikimine bağlı diş eti enflamasyonu için kullanılan bir terimdir. Steril bir diş yüzeyinde mikroorganizma kontaminasyonu sonrasında, mikroorganizmalar yüzeyde hızla kolonileşir. Birkaç gün içinde, mikroskopik ve klinik gingivitis belirtileri ortaya çıkar. Bu enflamatuvar değişiklikler, biyofilm

uzaklaştırıldığında ortadan kalkar ve diş eti sağlık durumuna kavuşur (Page, Offenbacher, Schroeder, Seymour, & Kornman, 1997). Gingivitiste görülen enflamatuvar değişiklikler, uzun süreli ve şiddetli yerleşik gingivitis lezyonlarında bile büyük ölçüde geri dönüşümlüdür. Periodontitis ise kemik kaybı ve epitel ataçmanının apikale göçünü içerir ve geri dönüşümsüzdür. (Babay ve ark., 2019; Kinane, Stathopoulou, & Papapanou, 2017).

Periodontal hastalıklar tek bir patofizyolojiye bağlı değildir ve oral disbiyotik mikrobiyota yoluyla başlar ve konağın bağışıklık sisteminin etkisiyle enflamasyon gelişir (Kinane ve ark., 2017). Bu patofizyolojik durum, etken ortadan kaldırılana kadar hızlanma ve yavaşlama dönemleriyle devam eder. Periodontal hastalığın ciddiyeti, hem değiştirilebilir (örneğin, sigara) hem de değiştirilemez (örneğin, genetik) çevresel ve konakçı risk faktörlerine bağlıdır (Kinane ve ark., 2017). Periodontal hastalıkta rol aldığı düşünülen patojenik mikroorganizmaların çoğu Gram (-) anaerobik çubuk, Gram (-) fakültatif çubuk ve Gram (+) fakültatif ve anaerobik kok ve çubuklardır. (Nonnenmacher, Mutters, & De Jacoby, 2001; Sanz, Lau, Herrera, Morillo, & Silva, 2004; Van Winkelhoff, 2003).



**Şekil 2.2:** Subgingival mikrobiyaya ile enflamatuvar ve immün yanıt arasındaki çift yönlü ilişkinin periodontal hastalık oluşturmaları (M. A. Curtis, Diaz, & Van Dyke, 2020).

Periodontal hastalıklar 2017 çalıştayında kabul edilen sınıflandırmaya göre sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflamaya göre alveol kemiği etkileyen hastalıklar; nekrotizan periodontitis (Herrera, Retamal-Valdes, Alonso, & Feres, 2018), sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis ve periodontitis olarak 3 kategoride sınıflandırılmıştır (Needleman ve ark., 2018; Papapanou ve ark., 2018; Tonetti, Greenwell, & Kornman, 2018). Nekrotizan periodontitis, çoğunlukla insan immün yetmezlik virüsü gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda görülen, virülan, hızla ilerleyen bir hastalığı ifade eder (Babay ve ark., 2019). Bu periodontal hastalık formunda, interdental papillerde nekroz/ülser, dişeti kanaması, halitozis, ağrı ve hızlı kemik kaybı mevcuttur. (Babay ve

ark., 2019). Sistemik hastalıkların belirtisi olan periodontitiste, sayısız sistemik hastalık ve ilaç periodonsiyumu etkiler, ataçman kaybı ve alveolar kemik kaybına sebep olabilirler. Bunlardan bazıları konakçı immün yanıtını değiştirerek, konağın periodontal enflamasyona yanıtını değiştirir (Tonetti ve ark., 2018).

Periodontitisin en sık formu ise disbiyotik mikroorganizmalarla ilişkili olarak ortaya çıkan peridontitis tablosudur. Periodontitis teşhisinde;  $\geq 2$  komşu olmayan dişte, saptanabilir klinik ataçman kaybı veya  $\geq 2$  dişte,  $> 3$  mm cep derinliğiyle birlikte  $\geq 3$  mm klinik ataçman kaybı saptanması gerekir ve bu ataçman kayıplarının periodontal olmayan sebeplerden kaynaklanmaması gerekir (Caton ve ark., 2018).

Periodontitis, temelinde immün düzensizlik (anormal immün fonksiyon) sergileyen, aynı anda birden fazla nedensel bileşenle etkileşime giren kronik enflamatuvar bir hastalıktır (Te Velde ve ark., 2016). Periodontitiste diş çevresi destek dokularında enflamatuvar yıkım görülür. Diş etinde bağ doku ve kollajen kaybı, PDL ve alveolar kemiğin rezorpsiyonu ile karakterizedir. Ayrıca periodontitiste görülen periodontal enflamasyonun, diğer organlar üzerinde düşük dereceli enflamasyonu indüleyebilecek sistemik etkisi de vardır (Loos & Van Dyke, 2020). Anormal immün yanıt periodontisteki patobiyojinin temel bileşenidir (Bartold & Van Dyke, 2017). Aşırı enflamatuvar reaksiyonlar, periodontal doku ve alveolar kemik yıkımı ile birlikte disbiyotik değişikliklere yol açar. Polimorfonükleer nötrofiller, periodontal dokuların yıkımına önemli ölçüde katkıda bulunan hücrelerdir ve bunların fonksiyonlarının artması, periodontitiste görülmektedir (Bartold & Van Dyke, 2017; Van Dyke, 2008). Nötrofiller, yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri, lizozim, kolajenazlar ve elastaz gibi doku yıkıcı enzimler salgılar. Ek olarak, nötrofiller enflamasyonun kronik olarak devam etmesine katkıda bulunan proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler üretirler ve bu bağışıklık

aracıları dolaşıma katılır ve periodontitisin sistemik proenflamatuvar etkilerine katkıda bulunurlar (Nicu & Loos, 2016). Hiperaktif nötrofiller, özellikle alveolar kemiğe yakın olduklarında, osteoklastik aktivitenin uyarılması yoluyla kemik yıkımına da katkıda bulunabilirler (Pelletier ve ark., 2010). Periodontitiste, B hücreleri ve plazma hücreleri üretiminde de artış görülür (Tord Berglundh, Donati, & Zitzmann, 2007). Sitokinler, kemokinler ve metalloproteinazlar, erken yanıt lipid mediyatörleri, lökotrien B4 ve prostaglandin E2 gibi enflamatuvar araçların periodontitiste belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (M. A. Curtis ve ark., 2020). Siklooksijenaz aktivitesi, özellikle siklooksijenaz 2, periodontitiste periodontal patojenlere yanıt olarak artar (Pouliot, Clish, Petasis, Van Dyke, & Serhan, 2000). Enflamasyonun kontrolü sağlandığında, mikrobiyal disbiyozun çözülmesiyle biyofilm değişikliklerinin tersine çevrildiği görülmüştür (Hasturk ve ark., 2007).



**Şekil 2.3:** Bir periodontitis hastasının klinik ve radyografik görünümü.

Soldaki şekilde sondalamada 6 mm derinliği ve sağdaki şekilde periodontal kemik kaybının radyografik olarak görünümü sunulmuştur (Yakar ve ark., 2019).

Hastalık, yaygınlığı, kompleksliği, şiddetine göre evreleme ve derecelendirme şeklinde tanımlanır (Tonetti ve ark., 2018). Evreleme, hastalığın şiddetini ve kompleksliğini tanımlar. Şiddet; en çok kayıp görülen bölgedeki interdental klinik

ataçman seviyesi; radyografik kemik kaybı ve diş kaybına göre değerlendirilmiştir. Komplekslik; sondlama derinliği, kemik kaybı paterni, furkasyon lezyonları, kalan diş sayısı, diş mobilitesi, kemik defektleri ve çiğneme disfonksiyonlarına göre değerlendirilmiştir. Derecelendirme, hastalığın ilerleme hızı, beklenen tedavi yanıtı ve sistemik sağlık üzerindeki etkilerini tanımlar (Papapanou ve ark., 2018; Tonetti ve ark., 2018). Evreleme dört kategori içerir ve klinik bağlanma kaybı, kemik kaybının miktarı ve yüzdesi, sondalama derinliği, açıl kemik defektlerinin varlığı ve kapsamı, diş hareketliliği ve periodontitis nedeniyle diş kaybı gibi çeşitli değişkenler göz önünde bulundurularak belirlenir. Derecelendirme, periodontitisin ilerlemesi, genel sağlık durumu ve sigara içimi veya diyabette metabolik kontrol seviyesi gibi durumlara ek olarak üç seviyeyi içerir (Caton ve ark., 2018). Buna göre periodontitis şu şekilde sınıflandırılır (Papapanou ve ark., 2018);

Evre 1: Başlangıç düzeyindeki periodontitis: Periodontitis ve gingivitis arasındaki sınırdır. Ataçman kaybının erken aşamasını temsil eder. Sürekli enflamasyon ve biofilm düzensizlikleri sonucu hastalarda evre 1 periodontitis görülmektedir (Papapanou ve ark., 2018).

Evre 2: Orta derecede periodontitis: Periodontitisin diş destek dokularında oluşturduğu hasar karakteristiktir (Papapanou ve ark., 2018).

Evre 3: İlave diş kaybı potansiyeli olan şiddetli periodontitis: Kökün orta üçlüsüne kadar uzanan derin periodontal lezyonlarla karakterizedir. Bu evrede görülen derin kemik içi defektler, furkasyon problemleri, diş kaybı hikayesi, lokalize kemik defektleri sebebiyle hastalığın yönetimi karmaşık hale gelir (Papapanou ve ark., 2018).

Evre 4: Dentisyon kaybı potansiyeli olan şiddetli periodontitis: Bu evre, diş kökünün apikaline kadar uzanabilen derin lezyonlarla ve çoklu diş kaybı anamneziyle karakterizedir (Papapanou ve ark., 2018).

Derece A: Yavaş ilerleme

Derece B: Orta derecede ilerleme

Derece C: Hızlı ilerleme

### **2.3.PERİ-İMLANT DOKULAR**

İmplant çevresi yumuşak dokular, peri-implant mukoza olarak adlandırılır ve implant / abutment yerleştirilmesini takiben yara iyileşme süreci sırasında şekillenir (Belibasakis, 2014). İmplant çevresi sert doku ise, implant yerleştirildikten sonra implant ile temas eden kemik yüzeyinden oluşur (F. Wang ve ark., 2010). Peri-implant dokular histolojik ve anatomik özelliklerinden dolayı iki temel işlevi yerine getirir: mukoza kemiği korurken kemik implantı destekler. Peri-implant dokuların yıkımı, implant başarısını ve sağ kalımını tehlikeye atabilir (Ra'ed Omar, Mahmoud Khalid, & Ahed Mahmoud, 2006). Sağlıklı peri-implant dokuların özelliklerinin anlaşılması, hastalığın tanınmasına olanak sağlar (Belibasakis, 2014).

#### **2.3.1.Peri-implant Mukoza**

Sağlıklı peri-implant mukozası, keratinize veya nonkeratinize epitel ile kaplanmış bir bağ dokusudur. İmplant kemik içine yerleştirildikten sonra mineralize doku kemik iliği ve vasküler yapılar ile temas halindedir (Araujo & Lindhe, 2018).

Peri-implant mukozanın yapısal özellikleriyle ilgili bilgilerin çoğu, köpek modelleri kullanılarak yapılan hayvan çalışmalarından elde edilmiştir (I. Abrahamsson, Berglundh, Wennström, & Lindhe, 1996; Araujo & Lindhe, 2018). Diş etinden farklı olarak peri-implant mukoza sağlıklı durumlarda bile 3-4 mm cep derinliğine sahip olabilir (Araujo & Lindhe, 2018). Ek olarak, bu mukoza, esas olarak kolajen lifleri ve matriks elemanlarından (% 85), nispeten az sayıda fibroblasttan (% 3) ve vasküler birimlerden (% 5) oluşan bir bağ dokusu içerir. Bağ dokusunun dış (oral) yüzeyi, genellikle ortokeratinize bir epitel ile kaplıdır. İmplanta (abutment) bakan peri-implant mukoza üç ayrı parça içerir; ince bir bariyer epitel (diş etinin birleşim epiteline benzer) ve sulküler epitel ile kaplı bir "koronal" kısım ve bir bağ dokusunun implant yüzeyi ile doğrudan temas halinde görüldüğü daha "apikal" kısım. Peri-implant mukozasının apikal kısmı, bağ dokusu ataçmanı olarak adlandırılır. Bariyer ve sulküler epitelin hemen yanındaki bağ dokusunda, dentogingival vasküler pleksusa benzer (Jan Egelberg, 1966), hassas bir vasküler yapı pleksusu sürekli olarak bulunurken (T Berglundh, Lindhe, Jonsson, & Ericsson, 1994), bağ dokusu ataçmanı sınırlı miktarlarda vasküler yapıya sahiptir. İmplantlarda, ana kolajen lif demetleri krestal kemiğe tutunur ve implant yüzeyine paralel marjinal yönde uzanır. Bu tip peri-implant mukozada dairesel liflerin de bulunabileceği varsayılmaktadır (Araujo & Lindhe, 2018).

İmplant çevresi dokuların muayenesinde, periodontal sond sağlıklı peri-implant dokularda epitel bariyerinin apikal kısmına ulaşmaz ancak peri-implant dokularda enflamasyon varlığında epitel bariyeri bozulmuştur ve periodontal sond yumuşak dokulara penetre olabilir (Listgarten, Mao, & Robinson, 1976; Schou ve ark., 2002).

Keratinize mukoza, implant bölgelerinin hepsinde olmasa da çoğunda bulunan çığneme mukozasını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Peri-implant mukozanın

kenarından hareketli mukozaya kadar uzanır. Keratinize mukoza, ortokeratinize yassı epitel ile kaplanmış bir lamina propriadan (fibroblastlar ve eşit miktarlarda tip I ve tip III kolajen içeren fibröz bağ dokusu) oluşur (Chang & Wennström, 2013; Chang, Wennström, Ödman, & Andersson, 1999; Parpaiola ve ark., 2015)

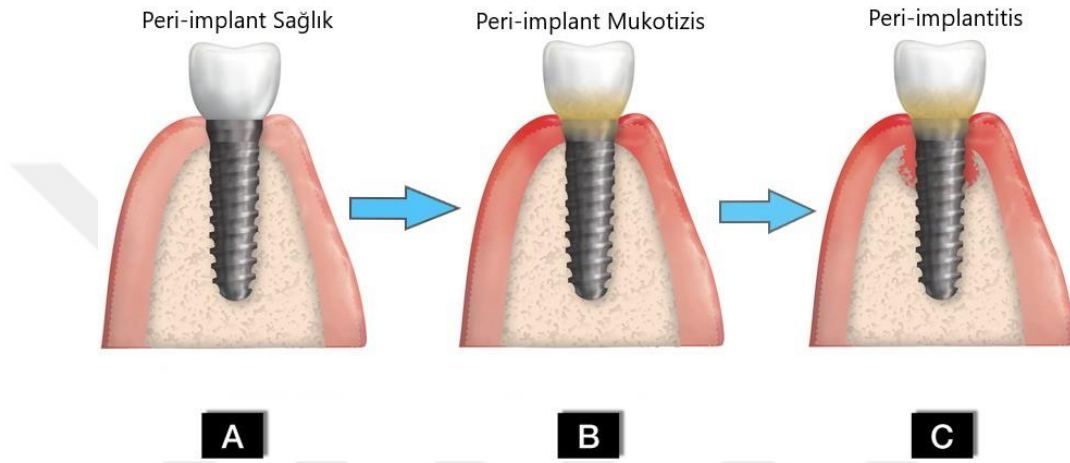
### **2.3.2.Peri-implant Destekleyici Kemik**

İmplant çevresindeki kemik dokusu büyük ölçüde kompakt kemikten ve kemik iliğinden, ve daha az miktarda da fibröz dokudan oluşur (Lindhe ve ark., 2013). Ön maksillada daha çok kemik iliği bulunurken, mandibular ön bölgede kompakt kemik daha yoğun bulunmaktadır (Lindhe ve ark., 2013).

Kemik içine yerleştirilen implantın kemik dokusuyla bağlantısı osteointegrasyon olarak ifade edilir (Brånemark ve ark., 1969). Osteointegrasyon terimi (Albrektsson & Sennerby, 1991), "canlı kemik ile yük taşıyan bir implantın yüzeyi arasında doğrudan işlevsel ve yapısal bir bağlantı" olarak tanımlanmıştır. İmplantın yerleştirilmesi ve yüklenmesinin ardından kemik şekillenmesi gerçekleşir ve bu işlem sırasında bir miktar krestal kemik yüksekliği azalır. İmplant-abutment arayüzünün konumunu bu ilk marjinal kemik kaybının miktarı belirlemektedir (Broggini ve ark., 2006; Cochran ve ark., 2013). Bu ilk dönemden sonra implantların yaklaşık % 75'i ek kemik kaybı yaşamaz. 1 mm'den fazla krestal kemik kaybı gösteren implant bölgesi, yumuşak doku enflamasyonu ile ilişkili bulunmuştur (Derks ve ark., 2016).

## 2.4.PERİ-İMLANT DOKU HASTALIKLARI

Peri-implant doku hastalıkları, implantı çevreleyen dokularda enflamatuvar reaksiyon gösteren hastalıkları tanımlar ve peri-implant mukozitis ve peri-implantitis olarak sınıflandırılır (Lindhe ve ark., 2008; Andrea Mombelli & Lang, 1998).



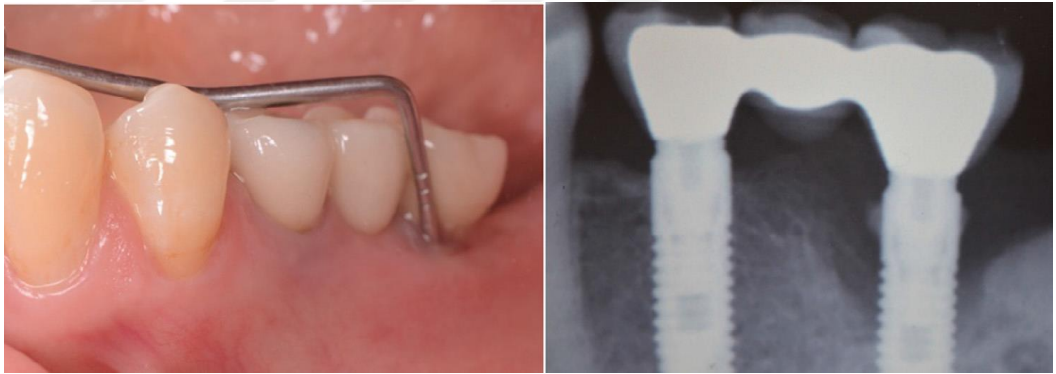
**Şekil 2.4 :** Peri-implant dokularda hastalık gelişiminin şematik olarak görünümü.

A; peri-implant sağlıklı durumda dokularda enflamasyon yoktur. B; peri-implant mukozitiste dokularda bakteriyel biyofilm oluşumunu takiben enflamasyon gelişir. C; peri-implantitiste enflamasyonun ilerlemesi ve bunu takiben alveol kemik kaybı görülür (N. P. Lang ve ark., 2011; Ravidà ve ark., 2020).

Peri-implant mukozitis, peri-implant mukozasındaki enflamasyon olarak tanımlanır ve marjinal kemik kaybı yoktur (Meyer ve ark., 2017). Enflamasyonun klinik belirtisi, sondalama sırasında kanamadır, ek belirtiler arasında eritem, şişme ve süpürasyon olabilir. Peri-implant mukozitis, implantların çevresinde bakteriyel biyofilmlerin birikmesini takiben sağlıklı peri-implant mukozasında gelişir (Meyer ve ark., 2017; Pontoriero ve ark., 1994). Kötü ağız hijyeni peri-implant mukozitis gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (Salvi ve ark., 2012) ve buna bağlı olarak ağız hijyeninin sağlanması ve oral antiseptiklerin kullanımı ile peri-implant mukotizis tedavi edilebilir

(Ciancio, Lauciello, Shibly, Vitello, & Mather, 1995; Ji ve ark., 2014; Porras, Anderson, Caffesse, Narendran, & Trejo, 2002).

Peri-implantitis, dental implantların etrafındaki dokularda meydana gelen, peri-implant mukozasında enflamasyon ve ilerleyen kemik kaybı ile karakterize patolojik bir durumdur (N. P. Lang ve ark., 2011). Peri-implantitis lezyonları genellikle asemptomatiktir ve rutin kontrol randevularında sondalamada kanama varlığıyla tespit edilir. Hastalığın diğer klinik belirtileri arasında süpürasyon, artan sondalama derinliği, diş eti çekilmesi ve peri-implant mukozal şişlik bulunurken radyografik olarak da kemik kaybı görülür. Tanı konmazsa ve tedavi edilmezse, peri-implantitis osteointegrasyonun tamamen kaybolmasına ve implantın kaybına neden olabilir (Klinge, Hultin, & Berglundh, 2005).



**Şekil 2.5:** Bir peri-implantitis hastasının klinik ve radyografik görünümü.

Soldaki şekilde sondalamada 6 mm cep derinliği ve sağdaki şekilde peri-implant kemik kaybının radyografik görünümü sunulmuştur(Yakar ve ark., 2019).

Berglundh ve arkadaşları (Tord Berglundh, Gislason, Lekholm, Sennerby, & Lindhe, 2004; Daubert, Weinstein, Bordin, Leroux, & Flemmig, 2015), peri-implantitis lezyonunda, implant çevresi bağ dokusunda makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan enflamatuvar infiltratın bulunduğunu ve infiltratın cep epitelinin apikeline

uzandığını ve kemiğe ulaştığını bildirmişlerdir (Tord Berglundh ve ark., 2004). Peri-implant mukozitis ile karşılaştırıldığında, peri-implantitis lezyonlarında daha fazla nötrofil ve B hücresi bulunmaktadır (Tord Berglundh ve ark., 2004). Peri-implantitis lezyonlarında IL-1 $\alpha$  gibi osteoklast aktive edici sitokinler de bulunmuştur (Schwarz, Derks, Monje, & Wang, 2018).

İmplant yüzeyinde biyofilm gelişmesi implant çevresi hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Peri-implantitis görülen implantın çevresindeki biyofilm, ileri periodontitisli dişlerin etrafındakine benzer şekilde gram (-) anaerobik bakterilerden oluşmaktadır (Andrea Mombelli & Décaillet, 2011). Bununla birlikte, sağlıklı implant bölgeleri ile karşılaştırıldığında, peri-implantitis bölgelerinde Porphyromonas gingivalis ve Tannerella forsythia dahil olmak üzere 19 bakteri türü daha fazla bulunmuştur (Persson & Renvert, 2014). Ayrıca, peri-implantitis lezyonları Pseudomonas aeruginosa ve Staphylococcus aureus, mantarlar ve virüsler, gibi oldukça heterojen bir biyofilmi içerebilen lezyonlardır (Schwarz ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada peri-implant mukozitis prevalansı popülasyonun % 79-90'ında ve implantların % 50'sinde bulunurken, peri-implantitis prevalansı popülasyonun % 28-56'sında ve implantların % 12-43'ünde bulunmuştur (Zitzmann & Berglundh, 2008).

Peri-implant hastalıkların teşhisinde süpürasyon, sondalamada kanama, sondalama derinliği, klinik ataşman seviyesi, mobilite gibi klinik değerlendirmeler ve radyografik değerlendirmeler kullanılır (Warreth, Boggs, Ibieyou, El-Helali, & Hwang, 2015). Süpürasyon, peri-implant hastalıkları için teşhis kriterlerinden biridir ancak tek başına varlığı veya yokluğu peri-implant mukozitis ve peri-implantitis için ayırt edici

değildir (Zitzmann & Berglundh, 2008). Sondalamada kanamanın olmaması o bölgede enflamasyonun olmadığını düşündürebilir, fakat sigara sondalamada kanamayı baskılayan bir faktördür (Warreth ve ark., 2015). Bu nedenle sondalamada kanamanın varlığı ya da yokluğu kesin tanı kriteri değildir. Ayrıca, sondalamada kanamanın olmadığı bölgelerde dahi, uzun dönemde ataçman kaybı olduğu bulunmuştur (Schätzle ve ark., 2003). Peri-implant mukozitisin en önemli bulgusu sondalamada kanama iken (Lindhe ve ark., 2008), peri-implantitis olgularının %90'ından çoğunda sondalamada kanama görülür (N. Lang, Wetzel, Stich, & Caffesse, 1994). Peri-implantitis varlığında sondalama derinliği peri-implant mukozitis ya da sağlıklı dişetine sahip implanta göre daha fazladır (N. Lang ve ark., 1994; Andrea Mombelli & Lang, 1998).

Kötü ağız hijeni, periodontitis geçmişi ve sigara kullanımı peri-implant hastalık gelişimi için bir risk oluşturur (Lindhe ve ark., 2008). Periodontitisli hastaların periodontal hastalığı olmayanlara göre daha fazla peri-implantitis riski taşıdığı bildirilmiştir (Eick ve ark., 2016; Ramanauskaite, Baseviciene, Wang, & Tözüm, 2014). Ayrıca kemik fizyolojisini ve immün sistemi etkileyen sistemik hastalıkların implant sağ kalımında risk oluşturduğu da gösterilmiştir (Alani & Bishop, 2014). İmplant sağ kalımı, diyabeti kontrol altında olan bireylerle sistemik olarak sağlıklı bireyler arasında benzer olduğu, fakat diyabeti kontrol altında olmayan bireylerde peri-implantitis gelişme riskinin daha fazla olabileceği bildirilmiştir (Ferreira, Silva, Cortelli, Costa, & Costa, 2006). Laine ve arkadaşları, IL-1beta polimorfizminin peri-implantitis ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Laine ve ark., 2006). Feloutsiz ve arkadaşları (Feloutzis ve ark., 2003), sigara kullanımının IL-1beta polimorfizmi ile birlikte bulunduğu durumlarda peri-implantitis riskini arttığını bildirmişlerdir.

## 2.5. PERİODONTAL VE PERİ-İMLANT DOKULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

İmplantı çevreleyen yumuşak dokulara peri-implant mukoza, dişi çevreleyen yumuşak dokulara ise diş eti denir. Bu dokular arasında benzerlikler olmasına rağmen, histolojik, patolojik ve morfolojik olarak farklılıklar mevcuttur (Bryant & Zarb, 2002).

Peri-implant oluk, diş eti oluşuyla benzer yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. İmplantları çevreleyen epitelle diş eti epitelinin özellikleri ve yapısı benzerdir (Liljenberg, Gualini, Berglundh, Tonetti, & Lindhe, 1996). Ancak implant çevresinde titanyum ve yumuşak doku arasındaki etkileşim nedeniyle implant çevresindeki epitelin apikale göçü gerçekleşmez. (T. y. Berglundh ve ark., 1991). Dişlerde, birleşim epiteli, birleşim epitelinin tüm uzunluğu boyunca iç bazal lamina ve desmozomlar yoluyla mine yüzeyine bağlanır; bununla birlikte, peri-implant epitelin implant yüzeyine bağlanması, yalnızca cep tabanı ile sınırlıdır (Hermann ve ark., 2001).

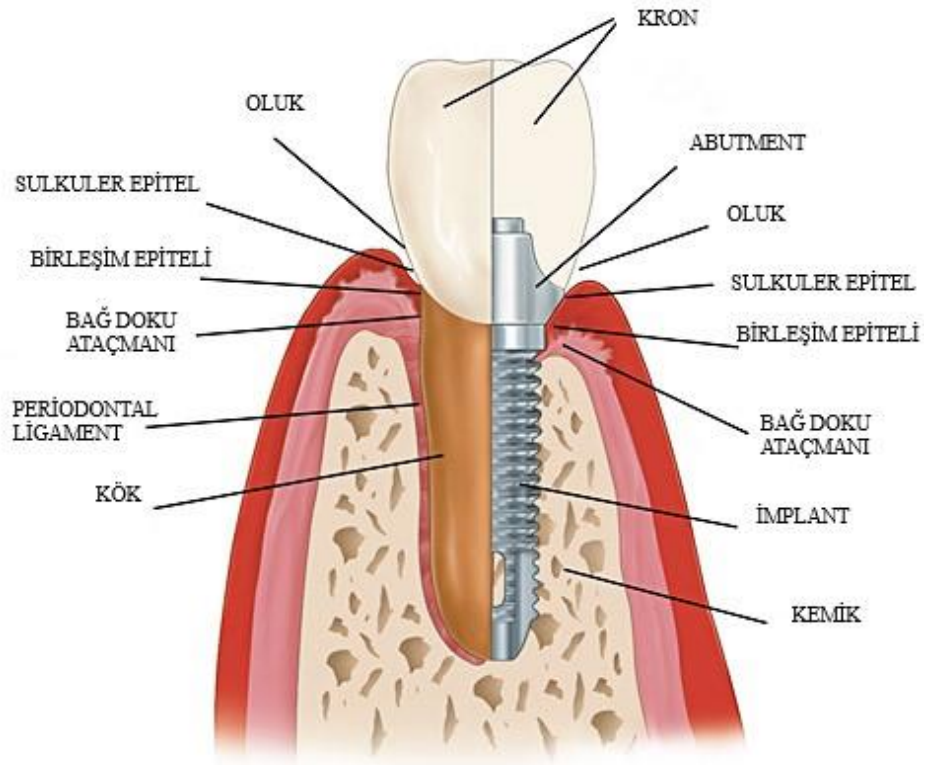
İmplant çevresindeki lifler, implant yüzeyine paralel seyrederken (Ingvar Ericsson & Lindhe, 1993), diş çevresindeki lifler, semente dik olarak tutunur. Dentogingival liflerin dik tutunması epitelin göçüne ve bakteri istilasına engel olur. Bu durum implantlarda görülmediği için implant çevresi, doğal dişe kıyasla zayıf bir mekanik dirence sahiptir (Hermann ve ark., 2001). Liflerin oryantasyonunun yanı sıra, diş çevresindeki bağ doku ile implant çevresindeki bağ doku arasında önemli farklılıklar vardır. İmplantlardaki supra-alveolar bağ dokusunun uzunluğu dişlerinkinden önemli ölçüde daha büyüktür (Stern, 1981).

Histomorfometrik çalışmalarda, implantların ve dişlerin benzer oranda kollajen, damar ve plazma hücrelerine sahip olduğu, ancak implantların daha düşük lenfosit, makrofaj ve polimorfonükleosit (PMN) oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu

nedenle implantlar, enflamatuvar hücrelerin apikal göçünü dişlere kıyasla önlemek için zayıf bir biyolojik bariyer oluşturur (I Ericsson, Berglundh, Marinello, Liljenberg, & Lindhe, 1992).

Diş çevresinde kemik, PDL ve sement arasında esnek bir bağlantı bulunurken, implant çevresinde PDL'nin olmaması nedeniyle fonksiyonel ankiloz / osseointegrasyon şeklinde sert bir bağlantı vardır. İmplant çevresinde esnekliğin yokluğu, yüklerin doğrudan kemik-implant arayüzüne aktarılmasına yol açar. Diş çevresindeki proprioseptif reseptörler PDL içinde bulunduğu için, implant çevresinde dokunma hissi ve refleks fonksiyon dişlere göre daha azdır (Jacobs & van Steenberghe, 1994). PDL'nin olmaması, büyüme ve gelişimi devam bireylerde implant uygulanmasını engellemektedir. PDL'nin adaptif kapasitesi diş hareketlerine izin verir, bu nedenle implantlar hareket ettiremez (Dhir, Mahesh, Kurtzman, & Vandana, 2013).

Periodontal sondalama, yapışık diş etinin klinik ataçman seviyesini, cep derinliğini ve genişliğini ölçmek için kullanılan temel tanı araçlarından biridir. Sond ile ölçüm derinliği, serbest diş etinin en koronal kısmı ile sondun ucunun cebe girme derinliği arasındaki mesafedir. Artan sondalama derinliği ve klinik ataçman kaybı, periodontal hastalığın belirtisidir. Peri-implant sondlama, peri-implant dokularda, süpürasyon ve eksüdasyonda kanama gibi farklı parametrelerin bir değerlendirmesini sağlar (Armitage, Svanberg, & Löe, 1977). Klinik sondalama derinliği dişlere göre implantlar çevresinde daha yüksektir (Andrea Mombelli & Lang, 1994). İmplantların etrafında 2,5 mm ile 4 mm arasında iken dişlerin etrafındaki sondalama derinliği penetrasyonunun 3 mm'den az olduğu bulunmuştur (Dhir ve ark., 2013). Sondalama sırasında kanama, diş çevresindeki enflamasyonun daha güvenilir bir işaretidir ve implantlar çevresinde daha az güvenilirdir.



**Şekil 2.6:** Periodontal ve peri-implant dokuların şematik görünümü.

Dişler ve implantlar arasında sağlık ve hastalıkla ilişkili mikrobiyotalarda farklılıklar bulunmuştur (Agerbaek, Lang, & Persson, 2006; Quirynen & Listgarten, 1990). Buna örnek olarak peri-implant dokularda *Staphylococcus aureus* tespit edilebilirken, diş çevresinde sık görülen bir bakteri değildir (Renvert, Lindahl, Renvert, & Persson, 2008). Tamamen dişsiz ve periodontal hastalık öyküsü olan hastalarda, *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* elimine edildiği için, tamamen dişsiz bölgelere yapılan implantlar üzerindeki mikrobiyota dişlerden farklılık gösterir (Danser, van Winkelhoff, & van der Velden, 1997). Ancak kısmen dişsizlik durumunda implantların etrafında gelişen mikrobiyota, dişlerinkine benzerdir (A Mombelli, Buser, & Lang, 1988) ve bu durum periodontitis öyküsü olan bireylerde peri-implantitis gelişme ihtimalinin artmasına neden olur (Karoussis, Kotsovilis, & Fourmoussis, 2007; Leonhardt,

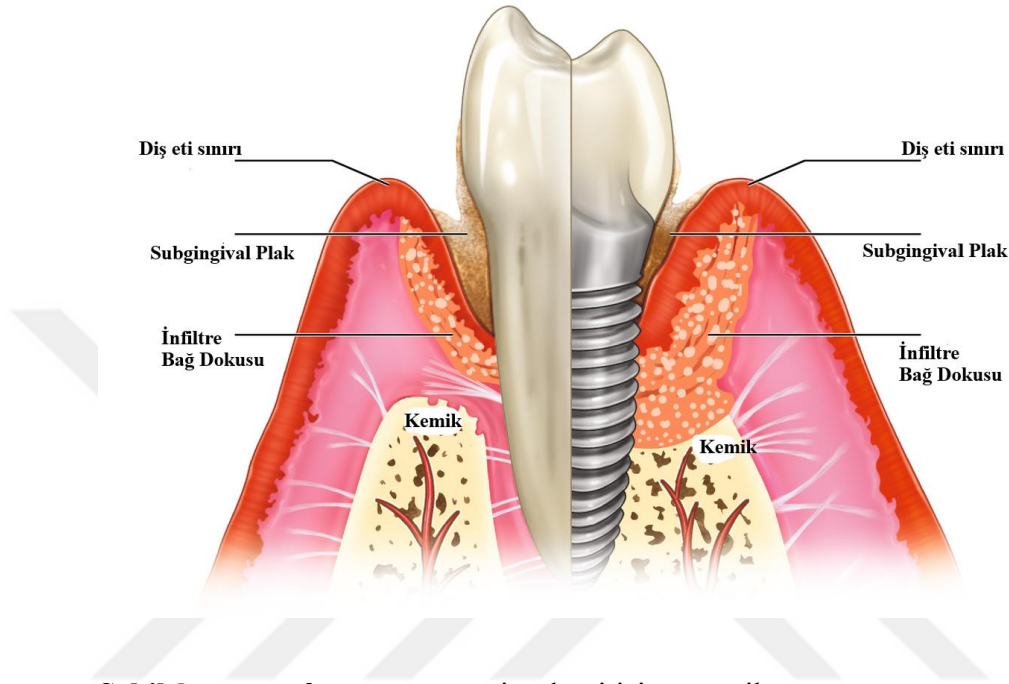
Renvert, & Dahlén, 1999; Andrea Mombelli, Marxer, Gaberthüel, Grander, & Lang, 1995).

Peri-implant mukozasındaki bakteriyel infiltrasyona karşı ilk konakçı yanıtı, diş etine benzerdir (L. Abrahamsson, Berglundh, & Lindhe, 1998). Bununla birlikte, uzun süredir devam eden enflamasyon peri-implant dokularda diş etinekinden daha belirgin yanıtı sahiptir, bu da peri-implant mukozadaki enflamasyonun apikal yönde daha fazla ilerlemesine ve diş eti ile karşılaştırıldığında lezyonun boyutunun daha büyük olmasına neden olur (Shibli ve ark., 2008). Peri-implantitis ve periodontitis enflamatuvar lezyonlarında B hücreleri ve plazma hücreleri ortak olarak bulunur, ancak peri-implantitis lezyonlarında daha büyük oranlarda PMN ve makrofaj görülür (Tord Berglundh ve ark., 2004; Gualini & Berglundh, 2003). Peri-implantitis ve periodontitis lezyonları benzer şekilde gelişmesine rağmen, dinamikleri farklıdır. Peri-implantitis lezyonu, periodontitis lezyonundan farklı olarak, bağ doku kompartmanı olmadan ilerlediği için, infiltratların kemiğe yayılması peri-implantitis lezyonlarında periodontitise göre daha fazla görülür (Seymour, Powell, & Davies, 1979; Tözüm ve ark., 2007).

Peri-implant dokular diş çevresi dokulara göre daha zayıf damar ağına sahiptir. Bu nedenle implant dokuların iyileşme potansiyeli, diş çevresi dokulardan farklıdır (T. y. Berglundh ve ark., 1991; Etter, Håkanson, Lang, Trejo, & Caffesse, 2002).

Periodontitis ve peri-implant enfeksiyonları için benzer etiyolojiler nedeniyle, terapötik yaklaşım da benzerdir (Lindhe & Nyman, 1984). Mevcut periodontal lezyonlar, implant yüzeyini kolonize etmek için bir patojen rezervuarı haline gelebileceğinden, implant yerleştirilmeden önce periodontitisin başarılı bir şekilde tedavi edilmesi gerekir. Periodontal tedavi, kontamine olmuş kök yüzeylerinin debridmanını içerir. İmplantta

yüzey pürüzlü olduğu için debridman tek başına yeterli değildir, peri-implantitis tedavisi implant yüzeyinin dekontaminasyonu da gerçekleştirilmelidir (Schou ve ark., 2003).



**Şekil 2.7:** Periodontitis ve peri-implantitisin şematik görünümü

Periodontitis ve peri-implantitis lezyonlarının her ikisinde de infiltrat bağ dokusu mevcuttur ve kemik rezorpsiyonu görülür. Ancak peri-implantitis lezyonu, periodontitis lezyonunundan farklı olarak, bağ doku kompartmanı olmadan ilerlediği için, infiltratların kemiğe yayılması peri-implantitis lezyonlarında periodontitise göre daha fazla görülür (Ogata ve ark., 2017).

## 2.6. DIŞ ETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK SIVISI

Diş eti oluğu sıvısı (DOS) bileşim epitelinden kaynaklanan serum benzeri bir sıvıdır (Waddington & Embery, 2001). Periodontal sağlık durumunda çok az miktarda bulunurken enflamasyonla birlikte sıvı akışı artar ve içeriği enflamatuvar eksudaya benzer (Embery & Waddington, 1994). DOS sıvı akışı sayesinde diş eti oluğunu temizler,

antimikrobiyal özelliklere sahiptir, içeriğindeki antikorlar sayesinde dişeti savunmasına katkıda bulunur (Newman ve ark., 2011).

DOS bileşenleri periodontal hastalık tanı ve prognozu açısından öneme sahiptir. DOS'ta 40'tan fazla bileşen bulunmaktadır (Page, 1992). DOS hem konakçı hem bakteri kaynaklı ürünleri içerir. İçerisinde çeşitli enzimler (kollojenazlar, fosfolipazlar gibi), karbonhidratlar, hücresel elementler, organik ürünler ve inorganik iyonlar ve doku artıkları bulunur (Genco, Zambon, & Murray, 1985; Newman ve ark., 2011).

DOS'ta bulunan hücresel elementler, sulküler epitelden geçen bakteriler, deskuamatif epitel hücreleri ve lökositleri (yani PMN'ler, lenfositler ve monositler / makrofajlar) içerir (Barros, Williams, Offenbacher, & Morelli, 2016; Jan Egelberg, 1963; J Egelberg & Attström, 1969). DOS'ta bulunan organik ürünler albüminler, gamaglobülinler ve immünoglobülinlerdir, inorganik iyonlar ise potasyum, sodyum, kalsiyum, magnezyum, fosfat gibi minerallerdir (Barros ve ark., 2016). Karbonhidratlardan glikoz heksosamin ve heksuronik asit, DOS'ta bulunan bileşiklerden ikisidir (Hara & Löe, 1969). DOS'un toplam protein içeriği, serumunkinden çok daha azdır (Tsuchida, Satoh, Takiwaki, & Nomura, 2019). DOS'ta tanımlanan metabolik ve bakteriyel ürünler arasında laktik asit, üre, hidroksiprolin, endotoksin, sitotoksik madde, hidrojen sülfid (Solis-Gaffar, Rustogi, & Gaffar, 1980) ve antibakteriyel faktörler bulunur (Taubman, Haffajee, Socransky, Smith, & Ebersole, 1992; Tsuchida ve ark., 2019). Periodontal hastalık durumunda DOS'ta bazı immün sistem elemanlarının seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Periodontitiste, bazı sitokinler, kemokinler ve metalloproteinazlar, erken yanıt lipid mediyatörleri, lökotrien B4 ve prostaglandin E2 gibi enflamatuvar araçların DOS'ta belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (M. A. Curtis ve ark., 2020).

DOS miktarı; çiğneme, diş fırçalama, diş eti masajı, ovulasyon, hormonal kontraseptifler, protezler ve sigara içilmesi durumlarından etkilenir (Lindhe, Attström, & Björn, 1968; Lindhe & Bjorn, 1967; Martin, LP, & WH, 1974; McLaughlin, Lovat, Macgregor, & Kelly, 1993). DOS miktarını etkileyen diğer faktörler ise sirkadiyen periyod ve periodontal tedavidir (Newman ve ark., 2011).

Peri-implant oluk sıvısı (PİOS), implant yüzeyi ile peri-implant mukozası arasında oluşturulan peri-implant oluğun enflamatuvar eksüdasıdır (Wennström, Ekestubbe, Gröndahl, Karlsson, & Lindhe, 2004). PİOS submukozal biyofilmi içerir ve peri-implant bölgede enflamasyon ilerledikçe peri-implant cebe dönüşür. DOS'a benzer şekilde, PİOS, biyofilme enflamatuvar bir yanıt olarak bağ dokudaki damarların geçirgenliğinin artmasıyla oluşur. PİOS'un içeriğinde, doku artıkları, konakçı enzimleri ve bunların inhibitörleri, enflamatuvar araçlar ve antikörler gibi moleküller bulunur. (Adonogianaki, Mooney, Wennström, Lekholm, & Kinane, 1995; Wennström ve ark., 2004). Bu nedenle, PİOS analizi, peri-implant dokuların enflamatuvar durumunu kantitatif bir şekilde değerlendirmek için uygundur (Belibasakis, 2014; Kaklamanos & Tsalikis, 2002).

Sağlıklı peri-implant dokularda, PİOS'nin difüzyonu oldukça pasif ve yavaştır. Bununla birlikte, peri-implant mukozitis durumunda, hacim ve miktarı önemli ölçüde artar. İnsanlarda deneysel olarak indüklenen peri-implant mukozitis çalışmaları, 3 haftalık plak birikimi protokolünün sonunda hem PİOS hacminin hem de protein içeriğinin arttığını göstermiştir (Salvi ve ark., 2012).

Sağlıklı peri-implant dokulardan toplanan PİOS örneklerine kıyasla peri-implantitisli bölgelerden toplanan PİOS'ta daha yüksek TNF- $\alpha$ , IL-17 ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonları bulunmuştur (Ataoglu ve ark., 2002; D. A. Curtis, Kao, Plesh, Finzen,

& Franz, 1997; Darabi, Kadkhoda, & Amirzargar, 2013; Severino, Napimoga, & de Lima Pereira, 2011; Vieira, Moura, de Souza, Zanetta-Barbosa, & Dechichi, 2013), anti-enflamatuvar sitokin IL-10 için ise tersi durum söz konusudur (Casado & Canullo, 2013). Diğer çalışmalar ayrıca peri-implantitis tedavisinin IL-1 $\beta$  (Basseti ve ark., 2014) ve TNF- $\alpha$ 'nın (de Mendonça, Santos, César-Neto, & Duarte, 2009; Duarte ve ark., 2009) PİOS'taki seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir. Başka bir çalışma, peri-implantitisli bölgelerden toplanan PİOS'taki matriks metalloproteinaz (MMP) düzeylerinin sağlıklı bölgelere göre yüksek olduğunu ve MMP enzimatik aktivitelerinin hastalık şiddeti ile arttığını göstermiştir (Kivelä-Rajamäki ve ark., 2003; Özçakır-Tomruk, Chiquet, & Mericske-Stern, 2012; Teronen ve ark., 1997; L. Xu ve ark., 2008), ve tedavi sonrası MMP seviyelerinde azalma görülmüştür. (Salvi ve ark., 2012; Wohlfahrt, Aass, Granfeldt, Lyngstadaas, & Reseland, 2014). Kemik rezorpsiyonu periimplantitisin ayırt edici özelliği olduğundan, osteoklastogenezin düzenlenmesi ve osteogenez ile ilişkili belirteçler de PİOS'ta incelenmiştir. Periodontitisli bölgelerden elde edilen DOS'taki bulgulara benzer şekilde (Belibasakis & Bostanci, 2012), nükleer faktör kappaB ligand (RANKL) - osteoprotegerin (OPG) sisteminin reseptör aktivatörü ile periimplantitis oluşumu ve şiddeti arasında ilişki bulunmuştur (Arıkan, Buduneli, & Kütükçüler, 2008; Arıkan, Buduneli, & Lappin, 2011; Duarte ve ark., 2009; Güncü, Akman, Günday, Yamalık, & Berker, 2012; Rakic ve ark., 2013; Sarlati, Sattari, Ghorbani Gazar, & Nabavizadeh Rafsenjani, 2010).

DOS, Uitto tarafından 'periodonsiyuma açılan pencere' olarak tanımlanan biyolojik bir sıvıdır (Uitto, 2003). DOS ve PİOS, periodontal veya peri-implant dokuların fizyolojik durumu hakkında bilgi verir. Bu nedenle DOS ve PİOS, toplama kolaylığı ve aynı anda ağız boşluğu içindeki birden fazla bölgeden örnek alınmasına izin vermesi

nedeniyle periodontal ve peri-implant hastalıkların biyobelirteçlerinin araştırılmasında çok sık kullanılır. Kağıt şeritler, kapiler tüpler, kağıt koniler gibi birçok DOS/PİOS toplama yöntemi vardır ve en sık kullanılan yöntem kağıt şeritler yardımıyla DOS/PİOS toplama yöntemidir (Tsuchida ve ark., 2019).

## **2.7. PROTEİN SENTEZİ, POSTTRANSLASYONEL MODİFİKASYONLAR VE UBİKÜİTİNASYON**

Proteinler; enzimler, yapısal proteinler veya hormonlar gibi değişik işlevleri yerine getiren moleküllerdir (Alberts ve ark., 2015). Protein sentezi, yeni proteinlerin üretimi amacıyla gerçekleşen hücrel protein kaybını dengeleyen temel biyolojik bir süreçtir (Alberts ve ark., 2015). Protein sentezi genel olarak transkripsiyon ve translasyon olmak üzere iki aşamada gerçekleşir. Transkripsiyon sırasında, proteini kodlayan DNA bölümü, haberci RNA (mRNA) adı verilen bir şablon moleküle dönüştürülür (Mordani, 2019). mRNA, translasyonun gerçekleşmesi için hücre çekirdeğinden sitoplazmasına aktarılır. Translasyon sırasında, mRNA, amino asitlerin dizisini belirlemek için mRNA'nın nükleotid dizisini kullanan ribozomlar tarafından okunur ve polipeptid zincirleri oluşturulur. Translasyonu takiben polipeptit zincirleri, fonksiyonel bir protein oluşturmak için katlanır. Polipeptid zincirlerinin fonksiyonel üç boyutlu bir yapıya dönüşmeden önce, ikincil yapılar adı verilen daha küçük yapıları oluşturması gerekir. Bu ikincil yapılardaki polipeptit zinciri daha sonra katlanarak genel üç boyutlu yapıyı oluşturur (Mordani, 2019).

Üç boyutlu yapıya ulaşan proteinler, farklı translasyon sonrası modifikasyonlarla daha farklı işlevlerde kullanılmak üzere olgunlaşırlar. Post-translasyonel modifikasyonlar, proteinin hücre aktivitesini ve proteinin diğer proteinlerle etkileşime

girme yeteneğini belirler ve post-translasyonel modifikasyonlar yoluyla proteinlerin çeşitliliği artar (Y.-C. Wang, Peterson, & Loring, 2014). 200'den fazla bilinen post-translasyonel modifikasyon türü vardır (Y.-C. Wang ve ark., 2014).

Post-translasyonel modifikasyonlardan biri olan ubiquitinasyon, bir ub proteininin bir substrat proteinine eklendiği enzimatik bir reaksiyondur. Ubiquitinasyon işlemi en sık ubiquitin son amino asidinin (glisin 76) substrat üzerindeki lizin kalıntısına bağlanmasıyla gerçekleşir. 76 amino asitten oluşan küçük bir protein olan ubiquitin, ökaryotik organizmaların tüm dokularında bulunur. Memeliler, maya ve bitkiler arasında yalnızca üç aminoasit farklılığı olan ubiquitin, olağanüstü bir evrimsel korumaya sahiptir (Hershko & Ciechanover, 1998). Ubiquitin, E1 (aktivasyon), E2 (konjugasyon) ve E3 (ligasyon) olarak adlandırılan üç farklı enzimi içeren bir enzimatik kaskad yoluyla hücrel proteinlere kovalent olarak bağlanır (Hershko & Ciechanover, 1998). Ubiquitin glisinin karboksil grubu ( $\text{COO}^-$ ) ile substratın lizininin epsilon-amino grubu ( $\epsilon\text{-NH} + 3$ ) arasında bir izopeptit bağı oluşur (Breitschopf, Bengal, Ziv, Admon, & Ciechanover, 1998). Ubikutinasyon kademesinde, E1, yüzlerce E3 ile bağlanabilirken birçok E2 ile de bağlanabilir. Kaskad içinde farklı bağlanma şekillerinin olması, ubiquitinasyon mekanizmasının sıkı bir şekilde düzenlenmesini sağlar (Pickart & Eddins, 2004). Diğer ubiquitin benzeri proteinler de E1 – E2 – E3 kaskadıyla modifiye edilir, ancak bu sistemlerde varyasyonlar mevcuttur (Grossman ve ark., 2003). E4 enzimleri veya ubiquitin zincir uzatma faktörleri, substrat proteinlerine önceden oluşturulmuş poliubiquitin zincirleri ekleyebilir (Shi ve ark., 2009). Ubiquitin, elektron açısından zengin nükleofiller içeren bir proteindeki diğer bölgelere de bağlanabilir ve buna kanonik olmayan ubiquitinasyon adı verilir (van Wijk & Timmers, 2010).

Monoubikuitinasyon, bir ubikuitin molekülünün bir substrat protein parçasına eklenmesidir. Çoklu monoubikuitinasyon, bir ubikuitin molekülünün çoklu substrat kalıntısına eklenmesidir (Hicke, 2001). Monoubikuitinasyon, membran trafiği, endositoz ve viral tomurcuklanma gibi hücrel süreçleri etkiler (Laxman & Beavo, 2007; Lecker, Goldberg, & Mitch, 2006).

Poliubikuitinasyon, substrat proteinin bir lizin kalıntısı üzerinde bir ubikuitin zincirinin oluşmasıdır. Bir protein substratına tek bir ubikuitin parçasının eklenmesinin ardından, ilkinde başka ubikuitin molekülleri eklenerek bir poliubikuitin zinciri elde edilir (Hicke, 2001). Bu zincirler, ubikuitin molekülünün glisin kalıntısının, substrata bağlı ubikitin lizinine bağlanmasıyla oluşur. Ubikuitin yedi lizin (K) kalıntısına ve ubikuitinasyon noktaları olarak hizmet eden bir N-terminaline sahiptir; bunlar sırasıyla K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63 ve M1'dir (Hicke, 2001). (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002; Scaglione ve ark., 2013). K48 bağlantılı poliubikuitin zincirleri, proteoliz olarak bilinen bir işlemle yok edilmek üzere proteinleri işaretler ve proteinler küçük peptitlere (genellikle 3–25 amino asit kalıntısı uzunluğunda) parçalanır (Bache, 2003). K63'e bağlı zincirler, proteinlerin parçalanması ile ilişkili değildir. Bunun yerine, endositik trafik, enflamasyon, translasyon ve DNA onarımı gibi diğer süreçlerin koordinasyonunu sağlarlar (Laxman & Beavo, 2007).

Ubikuitinasyon, proteinleri proteazom aracılığıyla parçalamak için işaretleyerek, hücrel konumlarını ve aktivitelerini değiştirerek, protein etkileşimlerini artırıp azaltarak birçok yönden etkileyebilir (M. Glickman & Ciechanover; Mukhopadhyay & Riezman, 2007; Schnell & Hicke, 2003).

## 2.8. UBİKÜİTİN-PROTEAZOM YOLAĞI

Tüm hücre içi ve bazı hücre dışı proteinler, hücre homeostazı için sürekli olarak turn overa uğrarlar. Hücrelerde proteolitik işlemlerin gerçekleşmesi için birden fazla proteolitik sistem mevcuttur. Hücre içi proteinlerin çoğu UPS tarafından parçalanır (Rock ve ark., 1994). UPS, proteinlerin yıkımı için ubiquitin zincirlerini işaretleyen bir dizi enzim eylemlerinden oluşur (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002; Pickart, 2004). Öncelikle ubiquitin parçalanacak proteinlere bağlanır, bu aşama ubiquitinasyondur. Daha sonra ubiquitinlenmiş proteinler, proteinleri küçük peptitlere ayıran büyük bir multikatalitik proteaz kompleksi olan 26S proteazomu tarafından tanınır (Baumeister, Walz, Zühl, & Seemüller, 1998).

UPS'nin ana işlevleri;

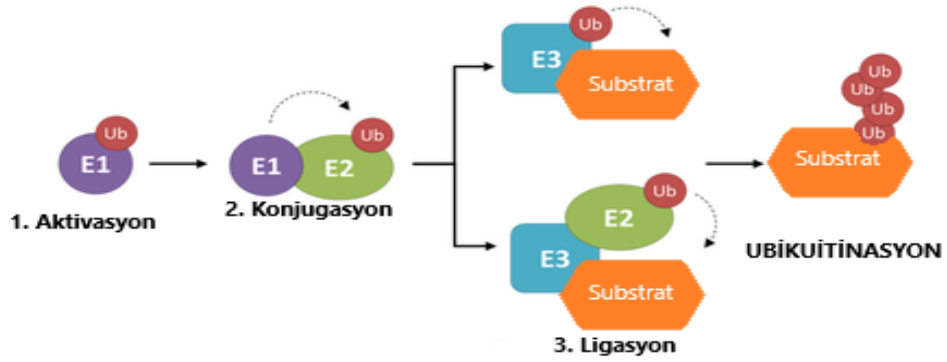
1. Proteinlerin parçalanması
2. Gen transkripsiyonunun düzenlenmesi
3. Kalite kontrol mekanizması (hatalı veya anlamsız mutasyonlar, biyosentetik hatalar veya oksijen radikalleri veya denatürasyon nedeniyle ortaya çıkan anormal şekilde katlanmış veya hasar görmüş proteinleri olarak ortadan kaldırır)
4. Bağışıklık sisteminin işleyişi (MHC sınıf I moleküllerinde antijen sunumu proteazomal fonksiyona bağlıdır) (Lecker ve ark., 2006)

Ub zincirlerini parçalanacak proteinlere bağlamak için üç enzim gereklidir. Bu enzimler, E1 (Ub-aktive edici enzim), E2 (Ub-taşıyıcı veya konjüge enzim) ve E3'tür (Ub-ligaz) (Lecker, Goldberg et al. 2006). Ubikuitinasyon üç adımdan oluşur:

1. Aktivasyon: Ubikuitin, ATP'ye bağlı E1 enzimi tarafından iki aşamalı bir reaksiyonla aktive edilir. İlk aşama, bir ubiquitin-adenilat ara ürününün

üretilmesini içerir. E1, hem ATP'yi hem de ubikuitini bağlar ve ubikuitin molekülünün C-terminalinin açıl-adenilasyonunu katalize eder. İkinci adımda E1, ubikuitini AMP'nin salınmasıyla birlikte aktif sistein kalıntısına aktarır. Bu adım, ubikuitinin C-terminal karboksil grubu ile E1 sistein sülfhidril grubu arasında bir tiolester bağlantısı ile sonuçlanır (Breitschopf ve ark., 1998; Metzger, Hristova, & Weissman, 2012).

2. Konjugasyon: E2 enzimi, ubikitin hedef proteinlere kovalent bağlanmasını veya aktive edilmiş ubikuitinin E3 ubikuitin ara ürününe transferini sağlar. Bu reaksiyonu gerçekleştirmek için, E2, hem aktive edilmiş ubikuitin hem de E1 enzimine bağlanır. E2 enzimleri, ubikitinasyon sisteminin özgüllüğünü oluşturmaya yardımcı olur, çünkü spesifik E2'ler çeşitli tipteki substratların parçalanmasında işlev görür ve çeşitli E3'lerle birleşebilirler (Jentsch, 1992). Genel olarak, her E2 enzimi, bir dizi ligaz ile etkileşime girer, bu nedenle çok sayıda substratın hedeflenmesine neden olur (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002).
3. Ligasyon: E3 ubikuitin ligazları, ubikitinasyon kaskadının son adımını oluşturur. Hedef proteinin lizini ile ubikitin C-terminal glisini arasında bir izopeptit bağı oluştururlar. E3 enzimleri, sistemin substrat tanıma modülleri olarak işlev görür ve hem E2 hem de substrat ile etkileşime girebilirler. Bazı E3 enzimleri ayrıca E2 enzimlerini de aktive ederler.

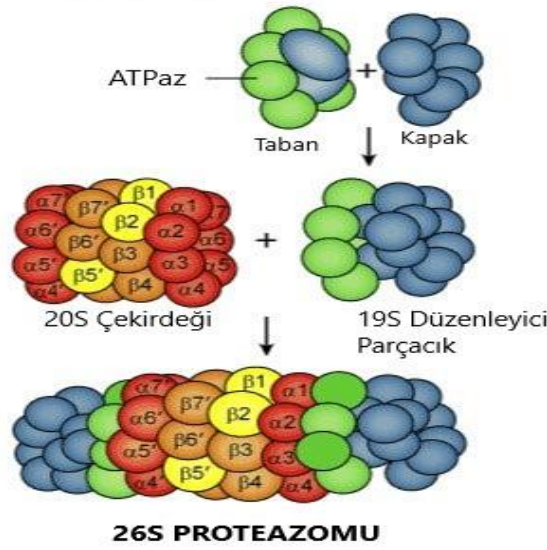


**Şekil 2.8:** Ubikuitin-proteazom yolağının ilk aşaması olan ubikuitinasyonun şematik olarak görünümü. (Şekil, <https://www2.helsinki.fi/en/researchgroups/plant-phenomics/research> sitesinden alınmış ve Türkçeleştirilerek kullanılmıştır.)

UPS'deki ana özgüllük faktörü E3 enzimidir. Ub'i proteinlere bağlayan hücrelerde 1000'den fazla E3 vardır. Genel olarak, E3'ler HECT (E6-AP karboksi-terminaline homolog) alanı proteinleri ve RING alanı proteinleri (Jackson ve ark., 2000) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. HECT alanı proteinleri, fonksiyonel olarak iki farklı bölgeden oluşan büyük monomerik E3'lerdir (Ingham, Gish, & Pawson, 2004). HECT alanı proteinleri, Ub ile bir tiol ester bağı oluşturarak E2'lerden aktive edilmiş Ub'yi alır ve substrata aktarır (Scheffner, Nuber, & Huibregtse, 1995). E3'lerin büyük çoğunluğu RING alanı proteinleridir (Jackson ve ark., 2000; Petroski & Deshaies, 2005). RING alanı proteinleri, Ub konjugasyonu için en uygun koşulu sağlayarak bir yapı iskelesi görevi görürler (Petroski & Deshaies, 2005; Seol ve ark., 1999). Cullin-RING Ub ligazları, E3'lerin en büyük grubunu oluşturur (Petroski & Deshaies, 2005). Cullin-RING Ub ligazlarının en çok bilinen grubu Skp1 – Cul1 – F-box kompleksleridir. F-box proteini, substrat bağlanmasını sağlayan alt birimdir. Skp1 – Cul1 – F-box kompleks E3'ler, enflamasyonu ve hücre büyümesini ve hücre döngüsünü sağlayan proteinleri kontrol eden birçok anahtar

molekölü içerir. E3'leri içeren diğer protein modifikasyonları arasında glikozilasyon, nitrozilasyon, fosforilasyon ve deasetilasyon yer alır (Lecker ve ark., 2006).

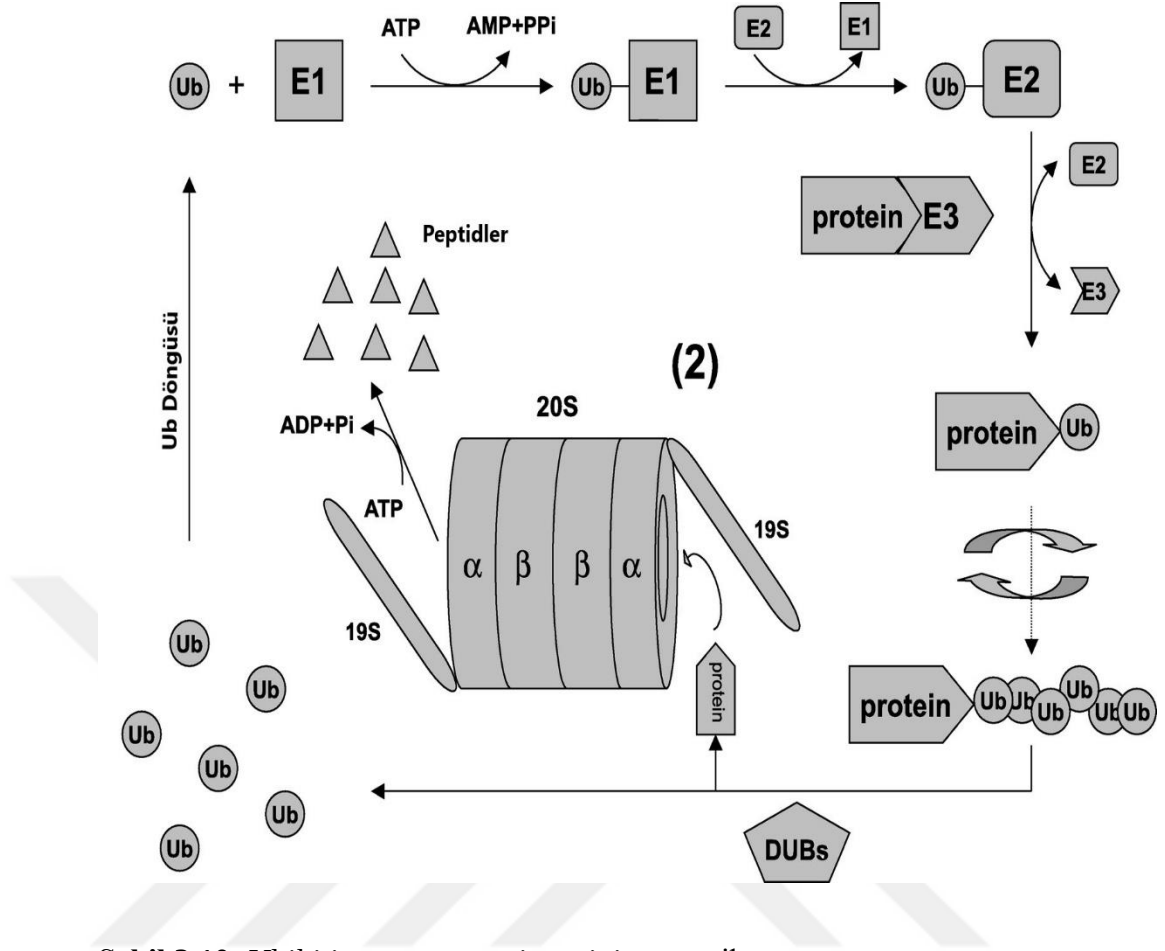
Ubikuitinasyona uğrayan proteinlerin parçalanması, 26S proteazomu tarafından gerçekleştirilir. 26S proteazomu tüm hücrelerin çekirdeğinde ve sitoplazmasında bulunur ve hücre kütlelerinin yaklaşık olarak % 1-2'sini oluşturur (Voges, Zwickl, & Baumeister, 1999). 26S proteazomu yaklaşık 60 alt birimden oluşur ve hücre dışı ortamda farklı şekillerde işlev gören tipik proteazlardan yaklaşık 50 ila 100 kat daha büyüktür. 26S proteazomu, uçlarından birinde veya her ikisinde 19S düzenleyici parçacık ve merkezinde 20S çekirdeğinden oluşur (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002; Kisselev & Goldberg, 2001; Voges ve ark., 1999). 20S çekirdeği, protein parçalanması için mekanizmalar içeren dört adet yığılmış içi boş halkadan oluşur (Voges ve ark., 1999). İki dış  $\beta$  halkası ve iki iç  $\beta$  halkası birbirinin aynısıdır.  $\beta$  halkalarındaki üç alt birim, silindirin iç yüzünde konumlandırılan proteolitik aktif bölgeleri içerir (Groll ve ark., 2000). 20S çekirdeğinin uçlarındaki 19S parçacıkları en az 18 alt birimden oluşur (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002; Voges ve ark., 1999). Tabanı, altı homolog ATPaz içerir ve 20S parçacığının dış halkasına bitişiktir. Bu ATPazlar, parçalanacak proteinleri 20S parçacığına bağlamak için ATP'yi hidrolize ederler (Benaroudj, Zwickl, Seemüller, Baumeister, & Goldberg, 2003). 19S'nin dış kapağı, poliubikuitin zincirlerini bağlayan alt birimler ve Ub zincirini parçalayan iki deubikitin enzimi (isopeptidazlar) içerir, böylece Ub diğer proteinlerin parçalanmasında yeniden kullanılabilir (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002). 19S bileşenine bağlandıktan sonra poliubikuitin zinciri, substrattan ayrılır ve parçalanır.



**Şekil 2.9:** 26S proteazom yapısının şematik olarak görünümü.

26S proteazomu, uçlarından birinde veya her ikisinde 19S düzenleyici parçacık ve merkezinde 20S çekirdeğinden oluşur. 20S çekirdeği, dört adet yığılmış içi boş halkadan oluşur ve proteolizden sorumlu katalitik bölgeleri içerir. 20S çekirdeğinin uçlarındaki 19S parçacıkları en az 18 alt birimden oluşur. 19S parçacığının tabanı, altı homolog ATPaz içerir ve 20S parçacığının dış halkasına bitişiktir. 19S parçacığı, hedeflenen substratlar üzerindeki poliubikuitin etiketini tanır ve proteolitik odaya girmek için substratı açar (M. H. Glickman & Ciechanover, 2002).

26S proteazomu, ubikuitinasyona uğramış proteinlerin parçalanmasını sağlamasına rağmen, bazı proteinleri -özellikle hasarlı proteinleri- ubikuitinasyon olmadan parçalayabilir (Goldberg, 2003). Bir proteini bir kez bölen diğer proteazların aksine, proteazom, substratları küçük peptitlere kadar tamamen parçalar. Proteazom tarafından salınan peptitler endopeptidazlar ve aminopeptidazlar tarafından hızlı bir şekilde amino asitlere parçalanırlar. Amino asitler, yeni proteinleri sentezlemek için yeniden kullanılabilir veya enerji vermek için metabolize edilebilirler (Reits ve ark., 2004; Saric, Graef, & Goldberg, 2004).



**Şekil 2.10:** Ubikitin proteazom sisteminin şematik görüntüsü.

Ubikitin (Ub), E1, E2 ve E3 enzimlerinin sıralı etkisiyle substrat proteinlerine bağlanır. Substrat proteinleri 26S proteazomu tarafından tanınır ve parçalanır. Deubikuitinasyon enzimleri (DUBs), monoubikuitinleri veya poliubikuitin zincirlerini ayırarak ubikuitinleri substrat proteinlerinden uzaklaştırır ve böylece ub tekrar kullanılabilir (Gao & Luo, 2006).

UPS geniş işlev yelpazesi sayesinde, sinyal iletimi, protein homeostazı ve MHC sınıf I antijen sunumu dahil olmak üzere hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığın düzenlenmesinde görevlidir. Miyeloid hücreler, bağışıklık sisteminin kritik bileşenleridir ve monositler, makrofajlar ve granüositleri içerir (Laios, Stadtfeld, & Graf, 2006; Owens ve ark., 2020). Miyeloid hücreler tarafından mikrobiyal ürünlerin tanınması, patojenle ilişkili moleküler modellerin patern tanıma reseptörlerine bağlanması yoluyla gerçekleşir. Bu bağlanma ile nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) ve interferon düzenleyici

faktörler (IRF) 3 ve 7'nin aktivasyonu gerçekleşir (Hiscott, 2007; Hiscott ve ark., 2003). NF- $\kappa$ B ve IRF3 / IRF7 aktivasyonunu takiben, istilacı patojenlere karşı koymak için proinflamatuvar sitokinler (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6) ve interferonların (IFN) transkripsiyonu gerçekleşir. Bu enflamasyona karşı hücre içi sinyal yollarının, UPS tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (Heaton, Borg, & Dixit, 2016; Karin & Ben-Neriah, 2000; Wertz & Dixit, 2008; Wu & Karin, 2015).

UPS, hücrelerin sitoplazmasındaki bakteriyel patojenlerin tanınmasında da önemli bir rol oynar (Cox, Haas, & Wilkinson, 1986; Perrin, Jiang, Birmingham, So, & Brumell, 2004). Kieffer ve diğerleri, ubiquitin N- ve C-terminalinden üretilmiş peptitlerin antimikrobiyal aktivite için önemli olduğunu göstermiştir (Kieffer ve ark., 2003). Ubikuitinasyon ve periodontal hastalığa etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, poliubikuitinli proteinlerin birkaç hücre tipinde, bakteri yüzeyinde biriktiği bulunmuştur (Perrin ve ark., 2004). Periodontal patojenler dokuyu proteolitik enzimlerin üretimi yoluyla tahrip eder. Bu proteolitik enzimler, periodonsiyumun yapısal bileşenlerinin yanı sıra antikorlar, sitokinler, tamamlayıcı bileşenler ve reseptörler gibi bağışıklık sistemi elemanlarının yıkımına neden olur. Periodontal patojenlerden biri olan *P. gingivalis*, gingival epitel hücrelerini istila edebilir ve epitel hücrelerinin içinde yaşayabilir (Lamont & Yilmaz, 2002) ve bu *P. gingivalis*li epitel hücreleri apoptotik ölüme dirençlidir (Yilmaz, 2008). *P. gingivalis* patojenitesi, sistein proteaz ve lipopolisakkarit (LPS) gibi potansiyel virülans faktörlerine bağlıdır. Periodontal patojenlerden elde edilen LPS, konakçı hücreleri IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve prostaglandin E2 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır ve bu da bir osteoklast reseptör aktivatörü olan RANKL'ı uyarır (Cullinan & Seymour, 2013; Hajishengallis, 2009; Mättö ve ark., 1996) ve sonuç olarak konakçının doğal immün yanıtını aktive eder. Ayrıca periodontal patojenlerden olan *F.*

nucleatum ve *P. gingivalis*'e maruz kalan oral epitel hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu görülmektedir (J. Xu ve ark., 2009). *F. nucleatum* hücre duvarı ekstraktları, proteaz inhibitörlerinin ekspresyonunu artırır ve NF- $\kappa$ B fonksiyonunu ve ubiquitin-proteazom sistemini baskılar. NF- $\kappa$ B, enflamasyon, bağışıklık ve hayatta kalma dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde yer alan geniş bir gen dizisini düzenler. NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu için, hem proteazoma bağımlı hem de bağımsız mekanizmalar yoluyla hücre sinyallemesini düzenleyebilen, çok yönlü bir modifikasyon olan ubiquitinasyon gereklidir (Jueqi Chen & Chen, 2013).

## 2.9. DEUBİKUITİNASYON

Deubikuitinasyon, ubiquitini deubikuitinasyon enzimleri (DUB) yardımıyla protein substratlarından ayırarak ubiquitinasyon işleminin tersine çevrildiği bir süreçtir (Amerik & Hochstrasser, 2004; Nijman ve ark., 2005). DUB'ler, ubiquitin üretimi, ubiquitin geri dönüşümü, poliubikuitin zincirlerinin düzenlenmesi ve proteazoma bağlı protein parçalanmasına yardım edilmesi gibi rollerde görev alırlar (Chung & Baek, 1999; D'Andrea & Pellman, 1998). Bugüne kadar, insan genomunda yaklaşık 100 DUB tanımlanmış ve bunlar: UCH (ubikitin karboksi terminal hidrolazları), UBP/USP (ubikitine özgü proteazlar), JAMM (Jad1/Pad/MPN alanı - metalo enzimleri içeren), OTU (Otu-alanı ubiquitin-aldehit bağlayıcı proteinler) ve Ataxin-3/Josephin olmak üzere beş ana gruba ayrılmıştır (Nijman ve ark., 2005).

UCH'ler, genellikle ubiquitin COOH terminalinden kısa peptit zincirlerini çıkaran küçük enzimlerdir. UCH'ler, tüm sistein proteazları gibi, aktif bölgelerinde sistein, histidin ve aspartik asit kalıntılarının yanı sıra glutamik asit kalıntısından (Chung & Baek, 1999; D'Andrea & Pellman, 1998) oluşur. UCH ailesi UCHL1, UCHL3, UCH37

ve BAP1 olmak üzere dört üyeden oluşur (Nijman ve ark., 2005). UCHL1 ilk olarak "beyne özgü bir protein" olarak tespit edilmiştir. UCHL1, nöronlarda ve nöroendokrin hücrelerde lokalize olup, sitoplazmik proteinin yaklaşık % 5-10'unu oluşturur. UCHL1'in işlevi, monoubikuitini nöronlar içinde bağlamak ve stabilize etmektir (Osaka ve ark., 2003). Bir çalışmada, UCHL1'in dimerik bir formda olduğunda, ligaz fonksiyonuna sahip olduğu bulunmuştur (Y. Liu, Fallon, Lashuel, Liu, & Lansbury Jr, 2002). UCHL1, UCHL3'e benzer şekilde ubiquitin C-terminal eklentilerini hidrolize eder. Her iki protein de, yüksek derecede düğümlü bir yapıdadır, ancak substrat özgüllüğü, amino asit dizisi ve bulundukları doku dağılımında farklılıklar vardır.

DUB aktivitesine sahip bir diğer enzim olan A20 (TNF- $\alpha$  ile indüklenen protein 3), ayrıca proteinlerin K48'e bağlı ubiquitinasyonuna neden olan ubiquitin E3 ligaz aktivitesine sahip ubiquitin düzenleyici bir enzimdir (Ma & Malynn, 2012; Wertz ve ark., 2004). A20'nin ubiquitinasyonu önlemek için E2-E3 etkileşimini bloke ettiği gösterilmiştir (Shembade, Ma, & Harhaj, 2010). A20, nükleer faktör  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) sinyalinin güçlü bir inhibitörüdür (Wertz ve ark., 2004) Ubiquitin düzenleyici protein A20'nin, enflamatuvar moleküller olan TNF- $\alpha$ , IL-1, LPS, CD40 ve IL-17'nin hücre yüzey reseptörlerine bağlanması gibi birçok mekanizma ile NF- $\kappa$ B sinyalini negatif olarak düzenlediği gösterilmiştir. A20'nin ayrıca LPS reseptörü Toll benzeri reseptör 4 (TLR-4) tarafından tetiklenen otofajiyi düzenlediği de gösterilmiştir (Abbasi, Forsberg, & Bischof, 2015). A20'nin DUB aktivitesi olarak apoptoz ve nekroz inhibisyonu için gerekli olduğu bilinmektedir (Lee ve ark., 2000; Onizawa ve ark., 2015).

DUB'ler, hücre döngüsü ve kromozom ayrılmasının düzenlenmesi, proteinlerin parçalanması, gen ekspresyonu, proteazom veya lizozomdan bağımsız protein parçalanmasının engellenmesi, DNA onarımı, kinaz aktivasyonu, apoptoz, sinyalleme ara

ürünlerinin parçalanması ve mikrobiyal patogeneze gibi birçok işlevde görev alır (Ramakrishna, Suresh, & Baek, 2011). Bu nedenle deubikuitinasyon olaylarındaki aksaklıklar tümör gelişimi ve çeşitli sistemik veya nörodejeneratif bozukluklara yol açmaktadır (Hussain, Zhang, & Galardy, 2009).

## **2.10. AMAÇ VE HİPOTEZ**

Bu çalışmanın hipotezi, protein yıkımında görevli UPS proteinlerinin şiddetli doku yıkımının olduğu periodontal ve peri-implant hastalıklarında, sağlıklı dokulardan daha yüksek seviyelerde bulunabileceği yönünde kurulmuştur.

Bu araştırmanın amacı; UPS proteinlerinin sağlıklı ve hastalıklı durumlarda DOS ve PİOS seviyelerini tespit etmek ve karşılaştırmaktır. Literatürde bu proteinlerin seviyeleri DOS ve PİOS'ta bu hasta gruplarında daha önce çalışılmadığı için bu çalışma özgün bir çalışmadır.

### 3.MATERYAL VE METOD

Bu araştırmaya, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim dalına muayene ve tedavi amacıyla başvuran hastalardan çalışma kriterlerine uygun hastalar dâhil edilmiştir. Çalışmaya Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun, 20-KAEK-025 kayıt numaralı, 06.02.2020 tarihli onayı ve Bilimsel Araştırma Projeleri destekli 2020-68 kayıt numaralı proje olarak başlanmıştır.

#### 3.1. HASTA SEÇİM KRİTERLERİ

Çalışmamız; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı kliniğine başvurmuş, 18-65 yaş aralığında:

1. Periodontal açıdan sağlıklı 8 kadın 7 erkek olmak üzere toplam 15 birey (kontrol grubu hastaları)
2. Periodontitisli 9 kadın 6 erkek olmak üzere toplam 15 birey (çalışma grubu hastaları)
3. Peri-implant açıdan sağlıklı 7 kadın ve 8 erkek olmak üzere toplam 15 birey (kontrol grubu hastaları)
4. Peri-implantitisli 9 kadın 6 erkek olmak üzere toplam 15 birey (çalışma grubu hastaları) üzerinde yapılmıştır.

Bireylerinin seçiminde aşağıdaki kriterlere uygunluk aranmıştır:

Dahil edilme kriterleri:

- 1-Sistemik olarak sağlıklı

2-Son 6 ay içerisinde herhangi bir medikasyon ve ileri periodontal tedavi almamış

3-18-65 yaş aralığında bireyler

4- İmplant grupları için, 2 yıldan uzun süredir fonksiyon gören implantlar

5- Fonksiyonda olan en az 20 dişi bulunan hastalar

Dahil edilmeme kriterleri:

1-Sigara, tütün, alkol kullanma alışkanlığı bulunanlar

2-Kooperasyonu iyi olmayanlar

3-Hamileler ve laktasyon döneminde olanlar

4-Çalışmaya katılma onamı vermeyenler

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan ‘bilgilendirilmiş gönüllü olur formu’ alınmıştır.

### 3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ BELİRLENMESİ

Kriterlere uyan ve çalışmaya katılmayı kabul eden bireylerin implant veya dişlerinden DOS veya PİOS örnekleri alındı ve dişler veya implantların klinik muayenesi yapılarak indeks değerleri kayıt edildi. Bu ölçümlere göre çalışma grupları şu şekilde oluşturuldu:

**I. Periodontal açıdan sağlıklı grup:** Klinik ve radyolojik muayene sonucunda enflamasyonun klinik veya radyografik bulgularının görülmediği, tüm dişlere yapılan sondlamada hiçbir yüzeyde 3 mm’yi aşan sondlama derinliği olmayan, gingival indeks ve plak indeksi değerleri düşük olan hastalardan oluşturulan grup (Chapple ve ark., 2018).

**II. Periodontitis grubu (Evre 3 Derece B):** Klinik ve radyolojik muayene sonucunda,  $\geq 2$  komşu olmayan dişte, saptanabilir klinik ataçman kaybı veya  $\geq 2$  dişte,  $> 3$  mm cep derinliğiyle birlikte  $\geq 3$  mm klinik ataçman kaybı ve bu ataçman kayıpları periodontal olmayan sebeplerden kaynaklanmayan hastalardan oluşturulan grup (Caton ve ark., 2018).

**III. Peri-implant sağlıklı grup:** Klinik muayene sonucunda gingival enflamasyonun ve sondalama sırasında kanamanın olmadığı hastalardan oluşturulan grup (Tord Berglundh ve ark., 2018).

**IV. Peri-implantitis grubu:** Klinik ve radyolojik muayene sonucunda peri-implant bölgede, implantın en az bir yüzünde 5 mm'ye eşit veya 5mm'yi geçen klinik ataçman kaybı bulunan ve sondalamada kanama veya gingival enflamasyonun diğer klinik bulgularının eşlik ettiği hastalardan oluşturulan grup (Schwarz ve ark., 2018).

### 3.3. KLİNİK PERİODONTAL ÖLÇÜMLER

Klinik periodontal ölçümler diş çevresinden ve peri-implant bölgenin 6 yerinden (mezio-bukkal, bukkal, disto-bukkal, mezio-palatinal/lingual, mid- palatinal/lingual, ve disto-palatinal/lingual) Williams sondu (Hu-Friedy Co., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmış ve kaydedilmiştir. Ölçümler tüm gruplarda tek seansta aynı kişi tarafından yapılmıştır.

#### 3.3.1. Plak İndeksi (PI)

Ağızdaki plak oluşumu ve birikim derecesini ölçmek için Loe plak indeksi (PI) kullanılmıştır. Bu indeks alınırken, periodontal sond dişeti kenarına yakın bölgede diş

veya implant yüzeyine paralel olarak diş eti oluğu bölgesinde gezdirilerek biriken plak miktarı skorlanır.

0 = Diş eti bölgesinde plak yok.

1 = Serbest dişeti kenarına ve dişin bitişiğindeki alana yapışan, yalnızca diş yüzeyinde bir sond yardımıyla tanınabilen plak varlığı.

2 = Dişeti cebi içinde, dişeti kenarında ve / veya komşu diş yüzeyinde çıplak gözle görülebilen orta derecede yumuşak plak birikimi.

3 = Diş eti cebi içinde ve / veya dişeti kenarı ve komşu diş yüzeyinde bol miktarda yumuşak plak birikimi. (Löe, 1967)

### 3.3.2. Gingival İndeks (Gİ)

Diş eti enflamasyonunun teşhisi için Löe gingival indeksi (Gİ) kullanılmıştır. Bu indeks alınırken, periodontal sond dişin veya implantın uzun aksına dik gelecek şekilde dişeti kenarına temas ettirilip diş yüzeyinde gezdirilerek oluşan kanama ve diş eti yüzey özelliklerine göre skarlama yapılır.

0 = Normal diş eti

1 = Hafif enflamasyon - hafif renk değişikliği, hafif ödem. Sondalamada kanama yok

2 = Orta derecede enflamasyon - kızarıklık, ödem. Sondalamada kanama var.

3 = Şiddetli enflamasyon - belirgin kızarıklık ve ödem, ülserasyon. Spontan kanamaya eğilim (Löe, 1967).

### 3.3.3. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)

KAS ölçümü için klinikte rutin olarak kullanılan periodontal sond diş eti içinde dişin uzun aksına paralel olarak itilip ilk direnç görülen yerde durularak dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülür (Chapple ve ark., 2018).

### 3.4. DIŞ ETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK SIVISI TOPLANMASI

Her hastanın ilgili diş bölgesinden 3 adet DOS örneği (Periopaper strips, OraFlow, Amityville, NY) (mezio-bukkal, mid-bukkal ve disto bukkal) ve peri-implant bölgesinden 3 adet PİOS örneği (Periopaper strips, OraFlow, Amityville, NY) (mezio-bukkal, mid-bukkal ve disto bukkal) alınmıştır.

DOS veya PİOS toplamadan önce diş yüzeylerinden supragingival plak uzaklaştırılmış ve bu yüzeyler hava spreyiyle kurutulmuştur, rulo pamuklarla izole edilmiştir. İzolasyon sağlandıktan sonra DOS ve PİOS örnekleri kağıt bantlarla toplanmıştır. Özel kağıt bantlar diş etine yerleştirilerek 30 saniye bekletilmiştir. Kan veya tükürüğe temas eden kağıt bantlar değerlendirilme dışı bırakılmıştır. Kağıt bantlar eppendorf tüplerine yerleştirilerek -20 derecelik ortamda biyokimyasal analiz için muhafaza edilmiştir.

### 3.5. ELİSA ANALİZİ

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

Sensivite değerleri sırasıyla; Ub 5.13 pg/ml, E1 0.047 ng/ml, E2 0.037 ng/ml, E3 0.042 ng/ml, UCHL1 0.056 ng/ml, A20 7.48 ng/L şeklindedir.

ELISA analizleri üretici firmanın kullanım talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Analizin gerçekleştirileceği gün 1 saat önceden örneklerin bulunduğu eppendorp tüpleri buzdolabı -20 °C ‘den oda sıcaklığına çıkarılmıştır. Her tüpe her bir peripaper 125 µL olmak üzere toplamda 375 µL Fosfat Tampon Solüsyonu eklenmiştir. Peripaperların içindeki örneklerin ekstraksiyonu için tüpler vorteks cihazında birer dakika süre ile çalkalanmıştır. ELISA kitinin üretici firmasının tarif ettiği kullanım talimatları doğrultusunda tüm aşamalar uygulanarak, tüpler içindeki sıvı örneklerin ELISA analizi gerçekleştirilmiştir. Numuneler 450 nm dalga boyundaki optik okuyucuda okutulmuştur. Standart çözeltilerin absorbans-konsantrasyon eğrisi çizilerek her bir örneğin, absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyonu belirlenmiştir.

### 3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmamızda G\*Power programı 3.1.9.2 versiyonu kullanılarak yapılan güç analizi sonuçlarına göre; 0,50 etki büyüklüğü, % 80 güç ve %5 hata miktarı ile örneklem sayısı 60 olarak belirlenmiştir (Ketabi, Friese, & Weber, 2017).

Tüm istatistiksel analizler, SPSS 20.0 programı kullanılarak yapılmıştır (SPSS inc, Chicago, IL.).

Klinik ve laboratuvar bulgularına ilişkin korelasyon verileri Spearman korelasyon analizi yapılarak elde edilmiştir.

Verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov Smirnov testi ile belirlenmiştir. Normal dağılıma uymayan Ub, E1 E2, E3, UCHL1 verileri Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uyan yaş, cinsiyet, klinik ataçman seviyesi, plak indeksi, gingival indeks, A20 verileri One Way Anova ve

Tukey testleri ile değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirmesinde  $p<0,05$  anlamlı kabul edilmiştir.



#### 4. BULGULAR

Araştırmaya katılan tüm deneklerin ölçümleri dikkatli bir şekilde yapılmış ve örnekler alınmıştır. Çalışma verilerinin istatistiksel analiz sonuçları aşağıda gösterilmiştir. Çalışmanın demografik bulguları Tablo 4.1’de ve klinik bulguları Tablo 4.2’de verilmiştir.

##### 4.1.DEMOGRAFİK BULGULAR

**Tablo 4.1:** Çalışma gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı

| GRUPLAR         | Sağlıklı Diş       | Periodontitis      | Sağlıklı İmplant   | Periimplantitis    |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Yaş</b>      | 43,07±15,54        | 41,80±11,47        | 52,93±12,49        | 49,13±10,26        |
| <b>Cinsiyet</b> | 8 Kadın<br>7 Erkek | 9 Kadın<br>6 Erkek | 7 Kadın<br>8 Erkek | 9 Kadın<br>6 Erkek |

Gruplar arası yaş ve cinsiyet değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

##### 4.2.KLİNİK BULGULAR

**Tablo 4. 2:** Çalışma gruplarında klinik ölçümler

| GRUPLAR                        | Sağlıklı Diş | Periodontitis          | Sağlıklı İmplant       | Periimplantitis          |
|--------------------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Klinik Ataçman Seviyesi</b> | 1,27±0,46    | 6,73±1,53 <sup>a</sup> | 1,67±0,62              | 6,53±1,36 <sup>a</sup>   |
| <b>Gingival İndeks</b>         | 0,60±0,51    | 2,13±0,74 <sup>a</sup> | 0,67±0,49 <sup>b</sup> | 1,73±0,46 <sup>a,c</sup> |
| <b>Plak İndeksi</b>            | 0,67±0,62    | 2,13±0,74 <sup>a</sup> | 0,80±0,56 <sup>b</sup> | 1,33±0,62 <sup>a,b</sup> |

<sup>a</sup>p<0,05 sağlıklı diş grubundan farklılığı ifade etmektedir. <sup>b</sup>p<0,05 periodontitisten farklılığı ifade etmektedir. <sup>c</sup>p<0,05 sağlıklı implant grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Gruplar arası klinik ataçman seviyeleri değerlendirildiğinde sağlıklı diş grubu ile periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı diş grubu verileri, periodontitis ve peri-implantitis grubu verilerinden daha düşüktür. Sağlıklı implant grubu, periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05).

Gruplar arası gingival indeks değerlendirildiğinde, sağlıklı diş grubu ile periodontitis ve periimplantitis grupları arasında ve sağlıklı implant grubu ile periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı diş ve sağlıklı implant grubu verileri periodontitis ve perimplantitis grubu verilerinden düşük bulunmuştur, ancak sağlıklı diş ve sağlıklı implant grupları arasında ve periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05).

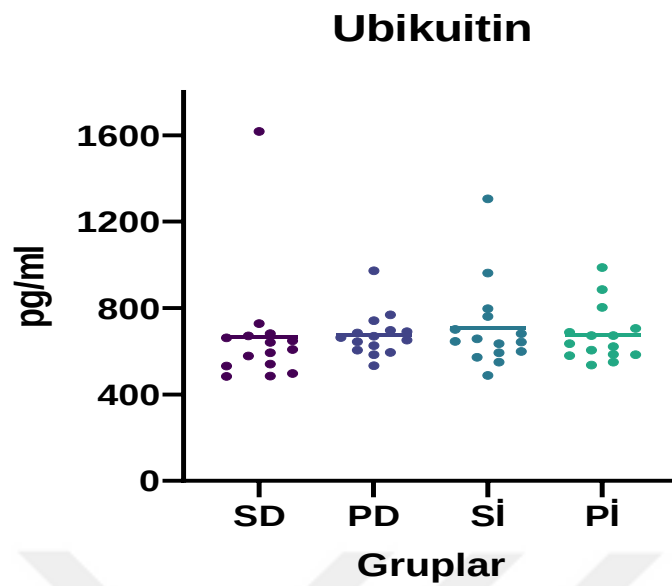
Gruplar arası plak indeksi değerlendirildiğinde, sağlıklı diş grubu ile periodontitis ve periimplantitis grupları arasında ve periodontitis grubu ile sağlıklı implant ve periimplantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı diş grubu verileri, periodontitis ve peri-implantitis grubu verilerinden düşük ve ayrıca periodontitis grubu verileri diğer bütün grup verilerinden yüksek bulunmuştur. Sağlıklı diş grubu ve sağlıklı implant grubu verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05).

### 4.3. ELİSA SONUÇLARI

**Tablo 4.3:** Çalışma gruplarında ELİSA verileri

| Gruplar          | Sağlıklı Diş                                               | Periodontitis                                                            | Sağlıklı İmplant                                             | Periimplantitis                                                    |
|------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Ubikuitin</b> | 596,85±76,56<br>Min: 484,16<br>Maks: 1617,7<br>Ort: 566,59 | 675,28±102,14 <sup>a</sup><br>Min: 533,06<br>Maks: 972,44<br>Ort: 664,01 | 706,08±201,02<br>Min: 488,10<br>Maks: 1305,33<br>Ort: 645,08 | 674,32±127,95<br>Min: 536,22<br>Maks: 987,43<br>Ort: 635,61        |
| <b>E1</b>        | 4,48±1,16<br>Min: 2,64<br>Maks: 6,6<br>Ort: 3,25           | 5,49±3,21<br>Min: 2,72<br>Maks: 14,38<br>Ort: 4,39                       | 3,96±0,84<br>Min: 2,9<br>Maks: 5,21<br>Ort: 3,87             | 4,40±0,71<br>Min: 2,95<br>Maks: 5,72<br>Ort: 4,3                   |
| <b>E2</b>        | 5,14±1,47<br>Min: 4,31<br>Maks: 10,15<br>Ort: 4,74         | 4,89±0,55<br>Min: 3,42<br>Maks: 5,58<br>Ort: 5,41                        | 4,98±0,71<br>Min: 3,78<br>Maks: 6,37<br>Ort: 4,89            | 5,58±0,73 <sup>a,b,c</sup><br>Min: 4,67<br>Maks: 7,36<br>Ort: 6,29 |
| <b>E3</b>        | 6,40±0,64<br>Min: 5,25<br>Maks: 8,08<br>Ort: 6,40          | 6,44±1,04<br>Min: 3,93<br>Maks: 7,92<br>Ort: 6,56                        | 6,55±0,48<br>Min: 5,65<br>Maks: 7,66<br>Ort: 6,59            | 6,80±0,52 <sup>a</sup><br>Min: 5,6<br>Maks: 7,61<br>Ort: 6,83      |
| <b>A20</b>       | 895,06±293,17                                              | 511,05±219,28 <sup>a</sup>                                               | 641,49±122,92 <sup>a,b</sup>                                 | 574,86±257,41 <sup>a</sup>                                         |
| <b>UHL1</b>      | 5,21±1,42<br>Min: 1,26<br>Maks: 6,51<br>Ort: 5,47          | 6,32±1,39<br>Min: 5,15<br>Maks: 10,72<br>Ort: 6,18                       | 6,03±0,81<br>Min: 5,02<br>Maks: 7,92<br>Ort: 5,11            | 6,11±0,57 <sup>a</sup><br>Min: 5,22<br>Maks: 6,87<br>Ort: 6,325    |

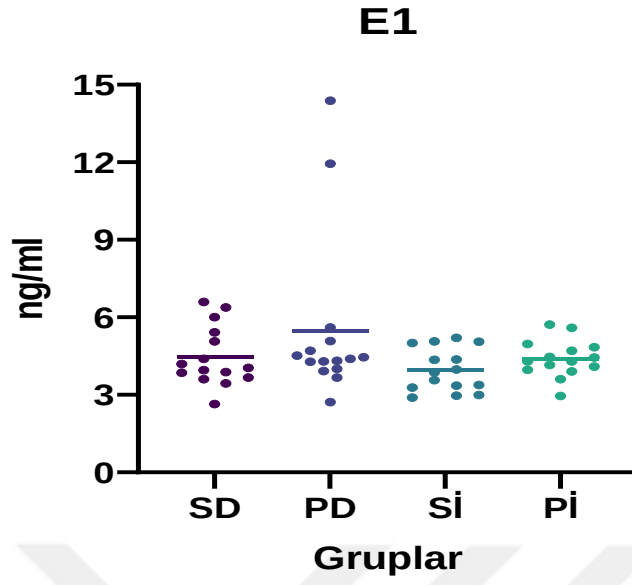
<sup>a</sup>p<0,05 sağlıklı diş grubundan farklılığı ifade etmektedir. <sup>b</sup>p<0,05 periodontitisten farklılığı ifade etmektedir. <sup>c</sup>p<0,05 sağlıklı implant grubundan farklılığı ifade etmektedir. Ub, E1, E2, E3, UHL1 ELİSA verileri, non-parametrik olduğu için minimum, maksimum ve ortanca verileri de eklenmiştir.



**Şekil 4.1:** Ubikuitin ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, Sİ: Sağlıklı İmplant Grubu, Pİ: Peri-implantitis Grubu

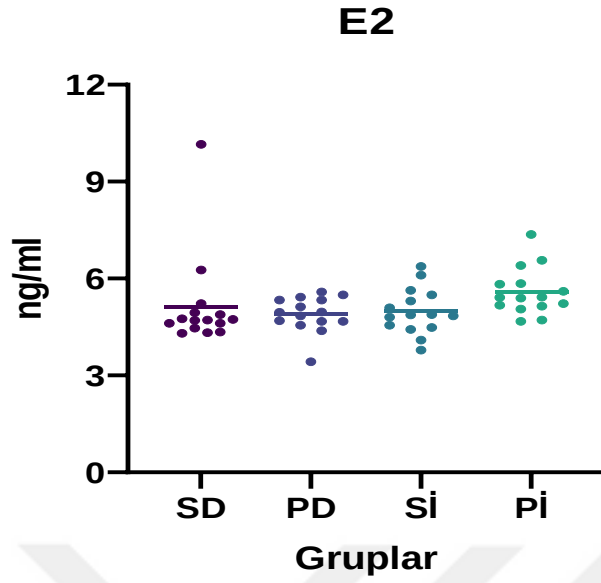
Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası ubikuitin seviyeleri karşılaştırıldığında, sağlıklı diş grubu periodontitis grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sağlıklı implant grubu, periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Korelasyon analizi sonucunda, ubikuitin ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,022$ ).



**Şekil 4.2:** E1 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, SI: Sağlıklı İmplant Grubu, PI: Peri-implantitis Grubu

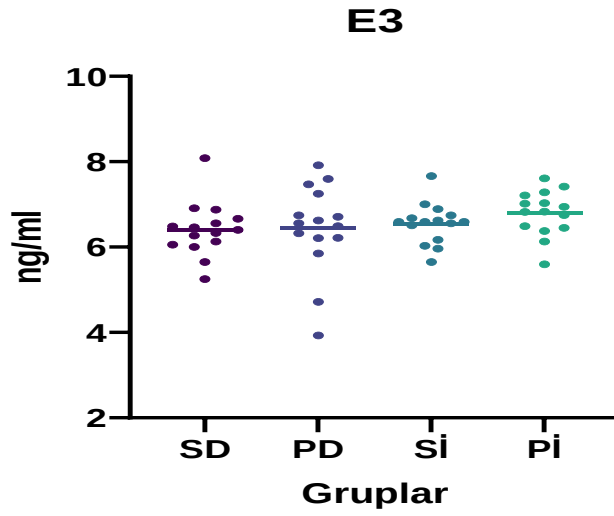
Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası E1 seviyeleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.3:** E2 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, Sİ: Sağlıklı İmplant Grubu, Pİ: Peri-implantitis Grubu

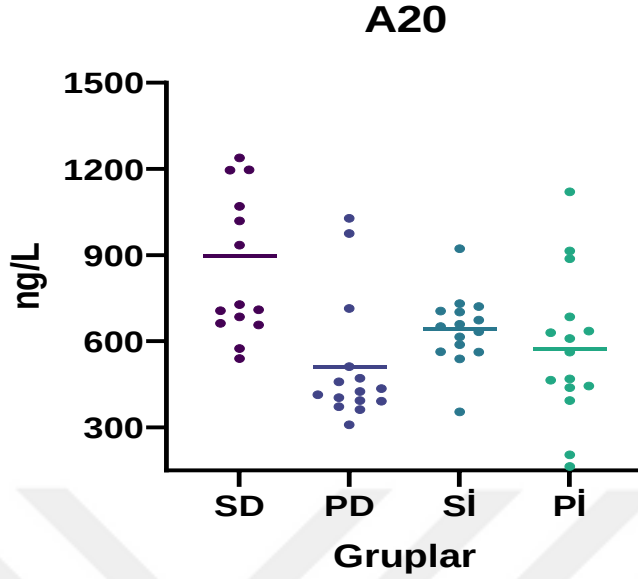
Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası E2 seviyeleri karşılaştırıldığında, peri-implantitis grubu verileri, sağlıklı diş grubu, periodontitis ve sağlıklı implant gruplarının verilerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Sağlıklı diş grubu, periodontitis ve sağlıklı implant grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Korelasyon analizi sonucunda, E2 ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p = 0,031$ ). Klinik ataçman seviyesi ile E2 arasında orta düzeyde pozitif ilişki tespit edilmiştir ( $p = 0,015$ ).



**Şekil 4.4:** E3 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, Sİ: Sağlıklı İmplant Grubu, Pİ: Peri-implantitis Grubu

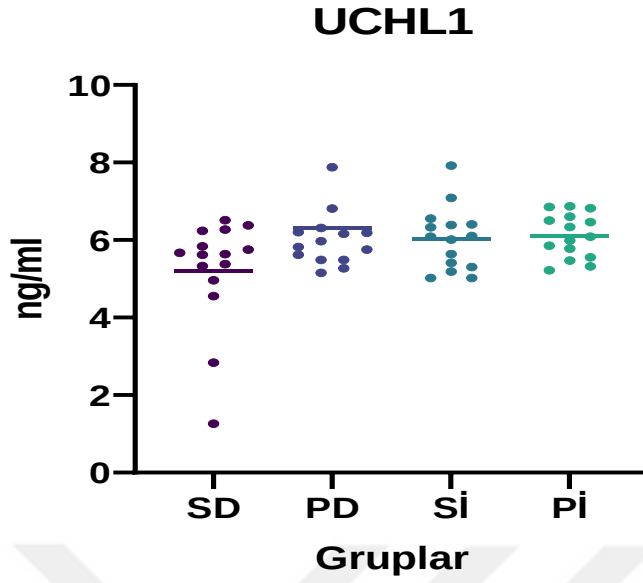
Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası E3 seviyeleri karşılaştırıldığında, sağlıklı diş grubu verileri, periimplantitis grubu verilerinden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Periodontitis ve sağlıklı implant grubu ile sağlıklı diş grubu arasında ve periodontitis ve sağlıklı implant grubu ile peri-implantitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 4.5:** A20 ELİSA verilerinin dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, Sİ: Sağlıklı İmplant Grubu, Pİ: Peri-implantitis Grubu

Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası A20 seviyeleri karşılaştırıldığında sağlıklı diş grubunun verileri, sağlıklı implant, periodontitis ve peri-implantitis gruplarının verilerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Periodontitis grubu verileri, sağlıklı implant grubu verilerinden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sağlıklı implant grubu ile peri-implantitis grubu arasında ve periodontitis grubu ile peri-implantitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Korelasyon analizi sonucunda, gingival indeks ile A20 arasında orta düzeyde negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir ( $p= 0,006$ ). Klinik ataçman seviyesi ile A20 arasında kuvvetli düzeyde negatif ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,000$ ).



**Şekil 4.6:** UCHL1 ELİSA verilerinin non-parametrik dağılım grafiği.

SD: Sağlıklı Diş Grubu, PD: Periodontitis Grubu, SI: Sağlıklı İmplant Grubu, PI: Peri-implantitis Grubu

Yapılan ELİSA analizi sonucunda gruplar arası UCHL1 seviyeleri karşılaştırıldığında sağlıklı diş grubu verileri, peri-implantitis grubu verilerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Periodontitis grubu ve sağlıklı implant grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Korelasyon analizi sonucunda, UCHL1 ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p = 0,035$ ).

## 5. TARTIŞMA

Posttranslasyonel modifikasyonlar enzim düzenlenmesi, proteinlerin hücre içi lokalizasyonu, protein-protein etkileşimi, hücre içi sinyal iletimi, hücre bölünmesi gibi farklı hücresel işlevler için gereklidir ve fosforilasyon, glikolizasyon, metilasyon, ubiquitinasyon gibi 200'den fazla posttranslasyonel modifikasyon çeşidi vardır (Reinders & Sickmann, 2007). Bir çok hastalığın oluşumunda ve ilerlemesinde fosforilasyon ve ubiquitinasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonlar görev almaktadır (J. Liu, Qian, & Cao, 2016). Bu posttranslasyonel modifikasyonlar arasında ubiquitinasyon, proteinlerin parçalanması, gen transkripsiyonunun düzenlenmesi, hatalı veya anlamsız mutasyonlar, biyosentetik hatalar veya oksijen radikalleri nedeniyle ortaya çıkan anormal ve hasarlı proteinleri ortadan kaldırılması, bağışıklık sisteminin işleyişi gibi mekanizmalarda görev alan önemli bir modifikasyon çeşididir (Lecker ve ark., 2006).

Ubiquitinasyon E1-E2-E3 enzim kaskadının sıralı tepkimeleriyle gerçekleşir ve protein parçalanması sürecinin ilk basamağıdır. Bu sürecin devamlılığı, ubiquitini proteinden serbestleştiren ve yeniden kullanılmasını sağlayan deubiquitinasyon enzimleriyle sağlanır. UPS'nin vücutta bir çok işlevi vardır ve UPS düzensizliği, kanser, diyabet, Alzheimer hastalığı, amiyotropik lateral skleroz, multipl skleroz, astım, enflamatuvar bağırsak hastalığı, otoimmün tiroidit, enflamatuvar artrit gibi bir dizi kalıtsal ve edinilmiş hastalıkla bağlantılıdır (J. Wang & Maldonado, 2006). UPS'nin normal fonksiyon görmesi veya görmemesi, bu sistem enfeksiyonla ve enflamasyonla yakından ilişkili olduğundan, birçok patolojik duruma katkıda bulunabilir veya bu durumların tedavisini güçleştirebilir. Bu nedenle, en yaygın enflamatuvar hastalıklardan biri olan oral doku enflamatuvar hastalıkları oluşum ve ilerlemesinde UPS'nin ve bu sistemde görev alan proteinlerin rolü dikkate alınmalıdır.

UPS ile enflamasyon arasındaki en önemli bağlantı NF- $\kappa$ B yoluyla iletilir. NF- $\kappa$ B, enflamasyon, bağışıklık ve hayatta kalma dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde yer alan geniş bir gen dizisini düzenler. NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu için, ubiquitinasyon gereklidir (Jueqi Chen & Chen, 2013). Enflamasyonun NF- $\kappa$ B sinyal yoluyla başlatılması ve ardından proenflamatuvar sitokinlerin salınması, mikrobiyal tehditlere karşı koruyucu iken, immün yanıtın zamanında sonlandırılmaması, enflamasyonun ilerlemesine, doku homeostazının bozulmasına ve sonuçta oral dokularda hastalığa yol açar. NF- $\kappa$ B, RANKL aktivasyonuna neden olur ve RANKL ise osteoklastların çoğalma ve matürasyonunu sağlar (J. Xu ve ark., 2009). Osteoklastik aktivite artışı, periodontitis ve peri-implantitiste görülen kemik yıkımı için gerekli bir durumdur.

Ubikuitin proteazom yolunun ilk enzimi olan ubikitin aktive edici enzim E1, protein yıkımında ve patolojik süreçlerde kritik bir rol oynar. Qin ve arkadaşları, E1 inhibisyonunun, vasküler düz kas hücrelerinde NF- $\kappa$ B inhibitörü I $\kappa$ B'nin yıkımını azaltarak TNF-a ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu düzenlediğini bulmuşlardır (Qin ve ark., 2016). E1 inhibisyonu ayrıca p53, p21 ve c-jun gibi kısa ömürlü proteinlerin birikimine yol açarak hücre döngüsünde E1 enziminin önemini vurgulamıştır (Qin ve ark., 2016). Ubikuitinasyon sisteminin düzensizliği diyabet gibi enflamatuvar hastalıklarda da gözlemlenmiştir. Reddy ve arkadaşları, diyabetik farelerde kas hücrelerinde, ubikuitin ve E1 seviyelerinde artış gözlemlemişlerdir (Reddy, Shruthi, Prabhakar, Sailaja, & Reddy, 2018) Shruthi ve arkadaşları diyabetik farelerle yaptıkları çalışmada, beyin dokusunda diyabetik farelerde kontrol farelerine göre daha yüksek ubikuitin ve E1 seviyeleri olduğunu bildirmişlerdir (Shruthi, Reddy, Chitra, & Reddy, 2019). Bir diğer çalışmada ise diyabetik farelerde retina hücrelerinde E1 ve ubikuitin seviyeleri araştırılmış, diyabetik farelerde kontrol farelerine göre E1 ve ubikuitin

seviyeleri daha düşük bulunmuştur (Shruthi, Reddy, & Reddy, 2017). E1' SMA ve Huntington dahil olmak üzere çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı da bilinmektedir (Groen & Gillingwater, 2015). Groen ve arkadaşları, azalmış E1 ifadesinin, SMA hastalığında UPS homeostazında bozulmalara, anormal protein birikimine ve nöromusküler dejenerasyona neden olduğunu bulmuşlardır (Groen & Gillingwater, 2015). E1'in enflamatuvar ve dejeneratif hastalıklardaki rolünü gösteren bu çalışmalardan farklı olarak, bu tez çalışmasının bulgularında, sağlıklı ve hastalıklı diş ve implant çevresi DOS ve PİOS örneklerinde E1 seviyeleri benzer bulunmuştur. Ancak E1'den farklı olarak, ubikuitin seviyeleri periodontitis grubunda sağlıklı diş grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. Periimplantitis ve sağlıklı implant çevresi gruplar arasında farklılık bulunmamıştır. Korelasyon analizi sonucunda, ubikuitin ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,022$ ).

Ubikuitinasyon enzim kaskadının ikinci enzimi, ubikuitin konjugasyon enzimi E2'dir. E2 enzimi, ubikitin hedef proteinlere kovalent bağlanmasını veya aktive edilmiş ubikuitinin E3 ubikuitin ara ürününe transferini sağlar. E2 enzimleri, ubikitinasyon sisteminin özgülüğünü oluşturmaya yardımcı olur (Jentsch, 1992). Huyan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, makrofaj hücrelerinin RANKL ile uyarımı sonrasında hücre bölünmesinde görevli genlerle birlikte ubikuitin E2 enziminin ekspresyonunun da arttığı gösterilmiştir (Huyan ve ark., 2020). RANKL uyarımı sonrası, E2 enziminin ekspresyonunun artışı E2'nin enflamatuvar hastalıklarla ilişkisini vurgulamaktadır. Benzer şekilde E2 ekspresyonunun artışı, enflamatuvar belirteçler olan IL-6 ve MAPK8 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Jishizhan Chen, Chen, Hua, & Song, 2021). Ek olarak E2, IL6 ve MAPK8 geninin kıkırdak doku yapımında rol alabileceği öne sürülmüştür (Jishizhan Chen ve ark., 2021). Ayrıca Zhang ve arkadaşları tarafından, transkripsiyon

düzenleyici STAT3'ün E2 enziminin ekspresyonunu kısıtlayarak, NF- $\kappa$ B aracılı enflamasyonu baskıladığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2014). Ubikuitin konjugasyon enzimi E2, hücre döngüsü ve ilerlemesi için gerekli bir enzimdir (Townsend, Arastarkhov, Beck, Herskho, & Ruderman, 1997) Okamoto ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, böbreküstü bezi, meme, kolon, karaciğer, akciğer ve yumurtalık kanserlerinde E2 enzimi seviyeleri ile tümör derecesi / kötü prognoz arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Hao, Zhang, & Cowell, 2012; Okamoto ve ark., 2003). Van Ree ve arkadaşları tarafından, E2 transgenik farelerle yapılan çalışmada, hücre döngüsünün bozulmasıyla birlikte fareler kanserojen akciğer tümörü geliştirmeye eğilimli bulunmuştur (Van Ree, Jegathan, Malureanu, & Van Deursen, 2010). Wang ve arkadaşları yaptıkları in vivo çalışmada, E2'nin baskılanmasıyla, kanser hücrelerinin istilasının azaldığını bulmuşlardır (H. Wang ve ark., 2011). Bu sonuçlar E2 enziminin enflamasyon ve kanser gelişimi ve ilerlemesinde yer aldığını göstermektedir. Bu tez çalışmasında, peri-implantitis grubunda E2 seviyeleri, sağlıklı gruplar ve periodontitis grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Enflamasyon ve kemik yıkımı mekanizmalarını düzenleyen E2 enziminin peri-implantitiste yüksek bulunması, RANKL uyarımı ile E2 enziminin ekspresyonunun artışı gösteren Huan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayı desteklemektedir (Huan ve ark., 2020). Peri-implantitis periodontitise benzer hastalık oluşum sürecine sahip olmakla birlikte, peri-implantitiste enflamasyon şiddeti ve doku yıkımı daha fazla gözlenmektedir (Tözüm ve ark., 2007). E2 enziminin enflamasyonla ilişkisi dikkate alındığında, daha yüksek enflamasyon durumunda daha yüksek seviyede E2 miktarlarının tespit edilmesi olası bir durumdur. Korelasyon analizi sonucunda, E2 ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,031$ ). Klinik ataçman seviyesi ile E2 arasında orta düzeyde pozitif ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,015$ ).

Ubikuitinasyon kaskadının üçüncü enzimi olan E3 ligaz, NF- $\kappa$ B ile ilişkili olan bir diğer enzimdir. E3 ligazlar enflamasyonu, hücre büyümesini ve hücre döngüsünü sağlayan proteinleri kontrol eden birçok rolde anahtar görevi görür. Uematsu ve arkadaşları tarafından, E3 ligaz enziminin artışının, TNF- $\alpha$  aracılığıyla NF- $\kappa$ B sinyalinin uyarılması ve ubikuitin kompleksinin artışı ve buna bağlı olarak enflamasyonun artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Uematsu ve ark., 2019). E3 ubikuitin ligaz, Tip 2 yardımcı T hücreleri aracılığıyla gerçekleşen bağışıklık sisteminin korunmasında da kritik bir rol oynar (Uematsu, McIntire, Akbari, Macaubas, & DeKruyff, 2002). Perry ve arkadaşları E3 eksikliği bulunan hayvanlarda, farklı bağışıklık sistemi hastalıklarının geliştiğini bildirmişlerdir (Perry ve ark., 1998). Bu hastalıklar arasında, kalın bağırsak enflamasyonu, pulmoner interstisyel enflamasyon, alveolar proteinoz, mide ve deri bezlerinin enflamasyonu ve lenfoid ve hematopoietik hücrelerin hiperplazisi gibi durumlar da yer almaktadır (Perry ve ark., 1998). Benzer şekilde Venuprasad ve arkadaşları E3 eksikliğunun, hava yolu enflamasyonuna yol açtığını göstermiştir (Venuprasad ve ark., 2006). Bazı E3 ligazları, spesifik olarak onkojen ürünlerini hedefleyen tümör baskılayıcı olarak rol oynar. Bu E3 ligazlarının düzensizliği, onkojenik sinyal ve tümör baskılayıcı yol arasındaki dengesizliğe neden olur ve baş, boyun ve ağız kanserleri dahil olmak üzere çeşitli insan malignitelerinde hücrel transformasyona, tümör büyümesine ve metastaza yol açar. Masumoto ve Kitagawa, bazı E3 ligazlarının siklin bağımlı kinaz inhibitörü p27'nin bozulmasına neden olduğunu ve bunun sonucunda oral, baş ve boyun kanserlerinin geliştiği bildirmiştir, ek olarak bu E3 ligazların aşırı ekspresyonu malignitelerde prognozun kötüleşmesiyle de ilişkilendirilmiştir (Masumoto & Kitagawa, 2016). Maekawa ve arkadaşları, E3 ligazların, P. gingivalisin neden olduğu konakçı antimikrobiyal yanıtını bloke ettiğini göstermişlerdir (Maekawa ve ark., 2014).

Çalışmaları, *P.gingivalis*in nötrofillerde Toll benzeri reseptör 2 (TLR2) ve C5aR'yi birlikte aktive ettiğini ve ortaya çıkan bu çapraz aktivasyonun, E3 ubiquitin ligaza bağlı ubiquitinasyona ve MyD88'in proteazomal bozunmasına yol açtığını göstermiştir (Maekawa ve ark., 2014). Bu çalışmanın bulguları ise Uematsu ve Maekawa'nın çalışmalarına benzer şekilde (Maekawa ve ark., 2014; Uematsu ve ark., 2019), E3'ün şiddetli bir enflamatuvar hastalık olan peri-implantitiste sağlıklı dokulara oranla daha yüksek seviyelerde olduğunu göstermiştir. Diğer gruplar arasında farklılık bulunmamıştır.

DUB'ler ubiquitin döngüsünün devamlılığını sağlar. DUB aktivitesine sahip bir enzim olan A20, son zamanlarda, NF- $\kappa$ B aktivasyonunun sonlandırılması yoluyla enflamasyonun kritik bir negatif düzenleyicisi olarak ortaya çıkmaktadır (Boone ve ark., 2004). A20, NF- $\kappa$ B sinyalinin güçlü bir inhibitörüdür (Wertz ve ark., 2004). Abbasi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, A20'nin, enflamatuvar moleküller TNF- $\alpha$ , IL-1, LPS, CD40 ve IL-17'nin ilgili hücre yüzey reseptörlerine bağlanması gibi birçok mekanizma ile NF- $\kappa$ B sinyalini negatif olarak düzenlediği bulunmuştur (Abbasi ve ark., 2015). A20'nin enflamasyondaki rolü, daha çok hücre A20 eksikliği olan modellerde çalışılmıştır. Li ve arkadaşlarının deneysel periodontitis çalışmasında, A20 eksikliğinin oral mukozada enflamatuvar sitokin salınımını ve enflamatuvar yanıtı artırdığı ve şiddetli kemik kaybına neden olduğu bildirilmiştir, ayrıca *P. gingivalis* ile enfekte olmuş insan ve fare makrofajlarında A20'nin, proenflamatuvar sitokin üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Li ve ark., 2019). Kanayama ve arkadaşları, A20'nin otofajik proteinler ile etkileşerek otofaji, enflamatuvar ve hücre ölümü yanıtını düzenlediğini bildirmişlerdir (Kanayama ve ark., 2015). Otofaji, oral doku homeostazının ve periodonsiyum bütünlüğünün korunmasında yer alan gereksiz veya fonsiyonsuz hücre bileşenlerini

uzaklaştıran bir kritik hücre içi yoldur (Meghil & Cutler, 2020). Yan ve arkadaşlarının periodontitiste görülen hipoksik koşulları taklit eden bir ortamda ve insan PDL hücrelerinde yapılan çalışmasında, A20'nin, otofajinin inhibisyonu yoluyla antiosteoklastojenik etki gösterdiği bulunmuştur (Yan ve ark., 2020). Vereecke ve arkadaşları, A20'nin epitel hücre fizyolojisinin önemli bir düzenleyici molekülü olarak da hizmet ettiğini bildirmişlerdir (Vereecke ve ark., 2014). Li ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada, diş eti keratinositlerinde A20 eksikliğinin, bakteriyel yüklemeye yanıt olarak NF- $\kappa$ B aktivitesini ve enflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Ek olarak diş eti keratinositleri bakteriyel enfeksiyona, A20 seviyelerinde hızlı bir artış göstererek yanıt vermiştir (Li, Mooney, Xia, Gupta, & Sahingur, 2020). Hong YJ ve arkadaşları, A20 aşırı ekspresyonunun periodontitisli hastalarda enflamatuvar yanıt üzerindeki etkilerini değerlendirmiş ve A20'nin diş eti dokularında ve nötrofillerde ve LPS'ye maruz kalan insan PDL hücrelerinde arttığını bulmuşlardır. Bu da periodontal hastalık gibi enflamatuvar kemik kaybı hastalıklarında, A20'nin aşırı ekspresyonunun terapötik potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir (Hong, Bae, Yi, Kim, & Kim, 2016). Tüm bu çalışmalar A20'nin enflamasyondaki rolünü vurgulamaktadır. Bu çalışmanın bulguları da benzer şekilde, diş ve implant çevresi sağlıklı dokularda A20 miktarının daha yüksek olduğunu göstermiştir. A20 seviyeleri periodontitis ve peri-implantitis gruplarında benzer bulunmuştur. Korelasyon analizi sonucunda, gingival indeks ile A20 arasında orta düzeyde negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,006$ ). Klinik ataçman seviyesi ile A20 arasında kuvvetli düzeyde negatif ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,000$ ).

Bir diğer NF- $\kappa$ B ile ilişkili DUB UCHL1'dir. UCHL1, protein yıkımının devamlılığı için, ubiquitinlenmiş peptitlerden ubiquitini serbestleştiren nöronal bir

deubikitinasyon enzimidir (Osaka ve ark., 2003). Liu ve arkadaşları UCHL1'in, A20'ye benzer şekilde nöronal proteazomal protein yıkımında kritik bir rolü olan ubikitin ligaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Y. Liu ve ark., 2002). UCHL1 nöronal yapının işlev ve sağlığının korunmasında büyük bir rol oynar (Choi ve ark., 2004). Anormal UCHL1 aktivitesi, çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Choi ve arkadaşları, UCHL1 mutasyonları ve proteinlerinin aktivitesindeki değişikliklerin, çeşitli nörodejeneratif bozukluklarla ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Choi ve ark., 2004). Enflamasyon, nörodejeneratif bozukluklardaki önemli nöropatolojik değişikliklerden biridir ve NF- $\kappa$ B sinyal yolunun aktivasyonu ile indüklenir. NF- $\kappa$ B aktivasyonu, gen regülasyonunda önemli bir rol oynar. Moriya ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, UCHL1 seviyelerinin enflamasyon tarafından düzenlendiğini ve enflamasyonun azalmasıyla UCHL1 seviyelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (Moriya, Tan, Yee, & Parhar, 2019). Wang ve arkadaşları, LPS ve TNF- $\alpha$  tarafından indüklenen NF- $\kappa$ B sinyal yolağının aktivasyonunun, UCHL1 gen transkripsiyonunu ve ekspresyonunu negatif olarak düzenlediğini bulmuşlardır (R. Wang ve ark., 2011). Takami ve arkadaşları vasküler düz kas hücrelerinde yaptıkları çalışmada, UCHL1'in aterosklerotik lezyonda eksprese edildiğini ve NF- $\kappa$ B aktivitesinin inhibisyonu yoluyla vasküler yeniden şekillenmeye katıldığını bulmuşlardır (Takami ve ark., 2007). Ichikawa ve arkadaşları, UCHL1'in TNF- $\alpha$  aracılı enflamasyonda vasküler düz kas hücre proliferasyonunu negatif olarak düzenlediğini bulmuşlardır (Ichikawa ve ark., 2010). Zheng ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, normal kemik dokusuna kıyasla osteosarkomda UCHL1'in daha yüksek seviyelerde olduğunu bulmuşlardır (Zheng ve ark., 2015). Mrozik ve arkadaşlarının PDL, diş pulpası ve kemik iliği kök hücrelerinde UCHL1 seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında, diş pulpası kök hücrelerinde PDL kök hücrelerine ve kemik

iliği kök hücrelerine kıyasla UCHL1 daha yüksek seviyede bulunmuştur (Mrozik ve ark., 2010). Bu çalışmanın bulguları ise, enflamasyon durumunda UCHL1'in sağlıklı gruba oranla daha yüksek seviyelerde olduğunu göstermiştir. Enflamasyonun düzenleyicisi olan UCHL1'in, Moriya ve arkadaşlarının çalışmasına (Moriya ve ark., 2019) benzer şekilde enflamasyon durumunda arttığı ve peri-implantitiste daha yüksek bulunduğu görülmüştür. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Korelasyon analizi sonucunda, UCHL1 ile gingival indeks arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir ( $p= 0,035$ ).

Bu tez çalışmasında hastalıklı ve sağlıklı diş ve implant çevresi dokulardan elde edilen DOS ve PİOS örnekleri Ub, E1, E2, E3, A20, UCHL1 enzimlerinin seviyeleri açısından ELİSA yöntemi ile incelenmiştir. ELİSA yöntemi uygulama kolaylığı, yüksek güvenilirlik, hızlı ve çok sayıda örnek ile çalışılabilmesinden dolayı sıkça tercih edilen bir yöntemdir (Shah & Maghsoudlou, 2016).

Bu çalışmada ELİSA yöntemi olarak sandviç ELİSA yöntemi kullanılmıştır. Sandviç ELISA'nın avantajı, analit tespiti için özgüllüğünün daha yüksek olmasıdır. Yakalama antikor, örnek numunedeki antijeni hareketsiz hale getirir, bu nedenle doğrudan ve dolaylı ELISA'ların aksine numunenin önceden saflaştırılmasına gerek yoktur. İki antikor tanıma basamağı kullanılarak antijen, birincil ve ikincil antikorlar arasında sıkıştırılır. Sandviç ELISA'nın dezavantajı ise, belirli birincil ve ikincil antikorların kullanılmasını gerektirmesidir. Bir diğer dezavantajı ise, doğrudan ve dolaylı ELISA'lardan daha fazla zaman alması ve daha pahalı olmasıdır (Shah & Maghsoudlou, 2016).

Tüm bireylerin periodontal sağlık durumunu gösteren klinik periodontal parametreleri (CD, Pİ, Gİ) ölçülmüştür. Yapılan çalışmalarda, DOS ve PİOS'ta enflamatuvar kemokinler, sitokinler ve biyolojik mediyatörlerin hastalıklı periodontal ve peri-implant

dokularda sağlıklı dokulara göre daha yüksek seviyelerde olduğu bulunmuştur (Basegmez, Yalcin, Yalcin, Ersanli, & Mijiritsky, 2012; Fonseca, Junior, Lourenço, de Moraes Teles, & Figueredo, 2014). Tözüm ve arkadaşları, DOS ve PİOS numunelerindeki nitrit ve miyeloperoksidaz seviyelerini karşılaştırmış ve bu belirteçlerin seviyeleri ile klinik enflamasyon belirtileri arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu bildirmiştir (Tözüm ve ark., 2007). Rakic ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, IL-1 $\beta$  ve MMP-8, prostoglandin E2 ve diğer kemik yıkımı belirteçlerinin hastalık durumunda DOS ve PİOS'ta daha yüksek seviyede bulunmuştur (Rakic ve ark., 2013). Javed ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, peri-implantitis bölgelerinden alınan PİOS'ta, sağlıklı bölgelere kıyasla daha yüksek IL-1 $\beta$ , IL-4, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve OPG seviyeleri bulunmuştur (Javed, Al-Hezaimi, Salameh, Almas, & Romanos, 2011). DOS ve PİOS'ta bulunan sitokinlerin seviyelerindeki farklılığı karşılaştıran çalışmalar da mevcuttur. Nowzari ve arkadaşları, 24 katılımcıda DOS örneklerine karşı PİOS'taki bazı enflamatuvar aracılardan (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- $\alpha$ ) karşılaştırmış ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin farklı olduğunu bildirmişlerdir (Nowzari, Phamduong, Botero, Villacres, & Rich, 2012). PİOS'taki enflamatuvar sitokinlerin profilinin, doğal bağışıklık yanıtından kaynaklı DOS'tan daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu sonucuna varmışlardır (Nowzari ve ark., 2012). Recker ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, PİOS'ta proinflamatuvar bir sitokin olan IL-17A'nın DOS örneklerine kıyasla daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (Recker ve ark., 2015). Bu tez çalışmasında da, sağlıklı implant dokularından alınan PİOS örnekleri, incelenen tüm enzimler açısından diş çevresi DOS örnekleriyle benzer bulunmuştur. Peri-implantitisli dokulardan alınan PİOS örnekleri ise E2 enzimi açısından periodontitis grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca peri-implantitisli dokulardan alınan PİOS örnekleri, sağlıklı diş çevresi DOS örnekleriyle karşılaştırıldığında E3 ve UCHL1 seviyeleri daha yüksek bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında, gruplar arasında Ub, E2, E3, A20 ve UCHL1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Ancak bu bulgular bazı limitasyonlar göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir.

Bu tez çalışmasında DOS ve PİOS numuneleri ELİSA ile incelenmiştir. DOS ve PİOS örneklerinde ELİSA yöntemiyle inceleme yapılması, diş ve implant çevresi dokulara özgü lokal birçok enzimin tespiti için kullanılan önemli yöntemlerdendir. Fakat diş eti biyopsisi, serum, tükürük gibi farklı numunelerle Western Blot, gerçek zamanlı PZR gibi farklı yöntemlerin kullanılması ve ayrıca farklı hasta gruplarında daha fazla örneklem sayısı ile çalışılması UPS’de görevli proteinlerin periodontal ve peri-implant dokulardaki seviyelerinin ve rollerinin detaylı olarak anlaşılması için faydalı olacaktır.

## 6. SONUÇLAR

Sağlıklı ve hastalıklı diş ve implant dokularında DOS ve PİOS'ta Ub, E1, E2, E3, A20, UCHL1 seviyelerini belirlemek ve bu seviyeleri gruplar arası karşılaştırarak periodontitis ve peri-implantitis hastalıklarında ubikuitin proteazom yolağı proteinlerinin seviyelerinin sağlıklı dokulardan farklarının anlaşılabilmesinin hedeflendiği bu çalışmanın sonuçları aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

1. Bu çalışmadan alınan DOS ve PİOS örneklerinde, sağlıklı ve hastalıklı gruplar arasında E1 seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.
2. Bu çalışmada periodontitis grubundaki bireylerde, ubikuitin seviyeleri sağlıklı diş grubuna göre yüksek bulunmuştur.
3. Bu çalışmada peri-implantitis grubundaki bireylerde, E2 seviyeleri diğer bütün gruplardan yüksek bulunmuştur.
4. Bu çalışmada peri-implantitis grubundaki bireylerde, E3 ve UCHL1 seviyeleri sağlıklı diş grubuna göre yüksek bulunmuştur.
5. Bu çalışmada sağlıklı diş grubundaki bireylerde, A20 seviyeleri diğer bütün gruplardan yüksek bulunmuştur.

## 7. KAYNAKÇA

- Abbasi, A., Forsberg, K., & Bischof, F. (2015). The role of the ubiquitin-editing enzyme A20 in diseases of the central nervous system and other pathological processes. *Frontiers in molecular neuroscience*, 8, 21.
- Abrahamsson, I., Berglundh, T., Wennström, J., & Lindhe, J. (1996). The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clinical oral implants research*, 7(3), 212-219.
- Abrahamsson, L., Berglundh, T., & Lindhe, J. (1998). Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clinical oral implants research*, 9(2), 73-79.
- Adonogianaki, E., Mooney, J., Wennström, J., Lekholm, U., & Kinane, D. (1995). Acute-phase proteins and immunoglobulin G against *Porphyromonas gingivalis* in peri-implant crevicular fluid: a comparison with gingival crevicular fluid. *Clinical Oral Implants Research*, 6(1), 14-23.
- Agerbaek, M. R., Lang, N. P., & Persson, G. R. (2006). Comparisons of bacterial patterns present at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy: I. Impact of clinical variables, gender and smoking. *Clinical oral implants research*, 17(1), 18-24.
- Agnew, L. (1965). *Dorland's illustrated medical dictionary*: Saunders.
- Ainamo, A., & Ainamo, J. (1978). The width of attached gingiva on supraerupted teeth. *Journal of periodontal research*, 13(3), 194-198.
- Ainamo, J., & Löe, H. (1966). Anatomical characteristics of gingiva. A clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. *The Journal of Periodontology*, 37(1), 5-13.

- Ainamo, J., & Talari, A. (1976). The increase with age of the width of attached gingiva. *Journal of Periodontal research*, 11(4), 182-188.
- Alani, A., & Bishop, K. (2014). Peri-implantitis. Part 2: Prevention and maintenance of peri-implant health. *British dental journal*, 217(6), 289-297.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015). *Molecular biology of the cell*, edn. Garland Science: Taylor and Francis Group.
- Albrektsson, T., & Sennerby, L. (1991). State of the art in oral implants. *Journal of clinical periodontology*, 18(6), 474-481.
- Amerik, A. Y., & Hochstrasser, M. (2004). Mechanism and function of deubiquitinating enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1695(1-3), 189-207.
- Araujo, M. G., & Lindhe, J. (2018). Peri-implant health. *Journal of periodontology*, 89, S249-S256.
- Arıkan, F., Buduneli, N., & Kütükçüler, N. (2008). Osteoprotegerin levels in peri-implant crevicular fluid. *Clinical oral implants research*, 19(3), 283-288.
- Arıkan, F., Buduneli, N., & Lappin, D. F. (2011). C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 26(2).
- Armitage, G. C., Svanberg, G. K., & Löe, H. (1977). Microscopic evaluation of clinical measurements of connective tissue attachment levels. *Journal of clinical periodontology*, 4(3), 173-190.

- Ataoglu, H., Alptekin, N. O., Haliloglu, S., Gursel, M., Ataoglu, T., Serpek, B., & Durmus, E. (2002). Interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid: Correlation with clinical parameters and effect of smoking. *Clinical oral implants research*, 13(5), 470-476.
- Babay, N., Alshehri, F., & Al Rowis, R. (2019). Majors highlights of the new 2017 classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *The Saudi dental journal*, 31(3), 303.
- Bache, K. (2003). Raiborg C, Mehlum A, and Stenmark H. *STAM and Hrs are subunits of a multivalent ubiquitin-binding complex on early endosomes. J Biol Chem*, 278, 12513-12521.
- Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., & Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*, 70(1), 53-64.
- Bartold, P. M. (1991). Connective tissues of the periodontium. Research and clinical implications. *Australian dental journal*, 36(4), 255-268.
- Bartold, P. M., & Narayanan, A. S. (2006). Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology 2000*, 40(1), 29-49.
- Bartold, P. M., & Van Dyke, T. E. (2017). Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. *Periodontology 2000*, 75(1), 317-329.
- Basegmez, C., Yalcin, S., Yalcin, F., Ersanli, S., & Mijiritsky, E. (2012). Evaluation of periimplant crevicular fluid prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-8 levels from health to periimplant disease status: a prospective study. *Implant dentistry*, 21(4), 306-310.

- Bassetti, M., Schär, D., Wicki, B., Eick, S., Ramseier, C. A., Arweiler, N. B., . . . Salvi, G. E. (2014). Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral implants research*, 25(3), 279-287.
- Baumeister, W., Walz, J., Zühl, F., & Seemüller, E. (1998). The proteasome: paradigm of a self-compartmentalizing protease. *Cell*, 92(3), 367-380.
- Belibasakis, G. N. (2014). Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Archives of oral biology*, 59(1), 66-72.
- Belibasakis, G. N., & Bostanci, N. (2012). The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 39(3), 239-248.
- Benaroudj, N., Zwickl, P., Seemüller, E., Baumeister, W., & Goldberg, A. L. (2003). ATP hydrolysis by the proteasome regulatory complex PAN serves multiple functions in protein degradation. *Molecular cell*, 11(1), 69-78.
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., . . . Figuero, E. (2018). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S313-S318.
- Berglundh, T., Donati, M., & Zitzmann, N. (2007). B cells in periodontitis—friends or enemies? *Periodontology 2000*, 45(1), 51-66.
- Berglundh, T., Gislason, Ö., Lekholm, U., Sennerby, L., & Lindhe, J. (2004). Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *Journal of clinical periodontology*, 31(5), 341-347.

- Berglundh, T., Lindhe, J., Jonsson, K., & Ericsson, I. (1994). The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 21(3), 189-193.
- Berglundh, T. y., Lindhe, J., Ericsson, I., Marinello, C., Liljenberg, B., & Thorsen, P. (1991). The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical oral implants research*, 2(2), 81-90.
- Berkovitz, B. (1990). The structure of the periodontal ligament: an update. *The European Journal of Orthodontics*, 12(1), 51-76.
- Biolcati, E., Carranza Jr, F., & Cabrini, R. (1953). Variaciones y Alterciones De La Queratinizacion En Encias Humanas Clinicamente Sana. *Rev. odontol.*, 41, 446.
- Birn, H. (1966). The vascular supply of the periodontal membrane: An investigation of the number and size of perforations in the alveolar wall. *Journal of periodontal research*, 1(1), 51-68.
- Boone, D. L., Turer, E. E., Lee, E. G., Ahmad, R.-C., Wheeler, M. T., Tsui, C., . . . Hitotsumatsu, O. (2004). The ubiquitin-modifying enzyme A20 is required for termination of Toll-like receptor responses. *Nature immunology*, 5(10), 1052-1060.
- Brånemark, P.-I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B., Lindström, J., & Ohlsson, Å. (1969). Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery*, 3(2), 81-100.
- Breitschopf, K., Bengal, E., Ziv, T., Admon, A., & Ciechanover, A. (1998). A novel site for ubiquitination: the N-terminal residue, and not internal lysines of MyoD, is essential for conjugation and degradation of the protein. *The EMBO Journal*, 17(20), 5964-5973.

- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R., Schenk, R. K., Buser, D., & Cochran, D. L. (2006). Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *Journal of dental research*, 85(5), 473-478.
- Bryant, S. R., & Zarb, G. A. (2002). Outcomes of implant prosthodontic treatment in older adults. *Journal-Canadian Dental Association*, 68(2), 97-102.
- Casado, P., & Canullo, L. (2013). de Almeida Filardy A., Granjeiro J., Barboza E., Leite Duarte M. Interleukins 1 $\beta$  and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant. Dent*, 22(2), 143.
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., . . . Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*, 89, S1-S8.
- Chang, M., & Wennström, J. L. (2013). Soft tissue topography and dimensions lateral to single implant-supported restorations. A cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research*, 24(5), 556-562.
- Chang, M., Wennström, J. L., Ödman, P., & Andersson, B. (1999). Implant supported single-tooth replacements compared to contralateral natural teeth. Crown and soft tissue dimensions. *Clinical Oral Implants Research*, 10(3), 185-194.
- Chapple, I. L., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., . . . Goldstein, M. (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S74-S84.

- Chen, J., Chen, L., Hua, J., & Song, W. (2021). Long-term dynamic compression enhancement TGF- $\beta$ 3-induced chondrogenesis in bovine stem cells: a gene expression analysis. *BMC Genomic Data*, 22(1), 1-12.
- Chen, J., & Chen, Z. J. (2013). Regulation of NF- $\kappa$ B by ubiquitination. *Current opinion in immunology*, 25(1), 4-12.
- Choi, J., Levey, A. I., Weintraub, S. T., Rees, H. D., Gearing, M., Chin, L.-S., & Li, L. (2004). Oxidative modifications and down-regulation of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 associated with idiopathic Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Journal of Biological Chemistry*, 279(13), 13256-13264.
- Chung, C. H., & Baek, S. H. (1999). Deubiquitinating enzymes: their diversity and emerging roles. *Biochemical and biophysical research communications*, 266(3), 633-640.
- Ciancio, S., Lauciello, F., Shibly, O., Vitello, M., & Mather, M. (1995). The effect of an antiseptic mouthrinse on implant maintenance: plaque and peri-implant gingival tissues. *Journal of Periodontology*, 66(11), 962-965.
- Cochran, D. L., Mau, L. P., Higginbottom, F. L., Wilson, T. G., Bosshardt, D. D., Schoolfield, J., & Jones, A. A. (2013). Soft and Hard Tissue Histologic Dimensions Around Dental Implants in the Canine Restored with Smaller-Diameter Abutments: A Paradigm Shift in Peri-implant Biology. *International journal of oral & maxillofacial implants*, 28(2).
- Cox, M. J., Haas, A. L., & Wilkinson, K. D. (1986). Role of ubiquitin conformations in the specificity of protein degradation: Iodinated derivatives with altered conformations and activities. *Archives of biochemistry and biophysics*, 250(2), 400-409.

- Cullinan, M. P., & Seymour, G. J. (2013). Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? *Periodontology 2000*, 62(1), 271-286.
- Curtis, D. A., Kao, R., Plesh, O., Finzen, F., & Franz, L. (1997). Crevicular fluid analysis around two failing dental implants: a clinical report. *Journal of prosthodontics*, 6(3), 210-214.
- Curtis, M. A., Diaz, P. I., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 14-25.
- Çağlayan, G., Aşan, E., & Külekçi, G. (2010). Periodontoloji.
- D'Andrea, A., & Pellman, D. (1998). Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 33(5), 337-352.
- Danser, M. M., van Winkelhoff, A. J., & van der Velden, U. (1997). Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. *Journal of periodontology*, 68(3), 209-216.
- Darabi, E., Kadkhoda, Z., & Amirzargar, A. (2013). Comparison of the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-17 in gingival crevicular fluid of patients with peri-implantitis and a control group with healthy implants. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 75-80.
- Daubert, D. M., Weinstein, B. F., Bordin, S., Leroux, B. G., & Flemmig, T. F. (2015). Prevalence and predictive factors for peri-implant disease and implant failure: a cross-sectional analysis. *Journal of periodontology*, 86(3), 337-347.
- de Mendonça, A. C., Santos, V. R., César-Neto, J. B., & Duarte, P. M. (2009). Tumor necrosis factor-alpha levels after surgical anti-infective mechanical therapy for

- peri-implantitis: A 12-month follow-up. *Journal of periodontology*, 80(4), 693-699.
- Derks, J., Schaller, D., Håkansson, J., Wennström, J., Tomasi, C., & Berglundh, T. (2016). Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: prevalence of peri-implantitis. *Journal of dental research*, 95(1), 43-49.
- Dhir, S., Mahesh, L., Kurtzman, G. M., & Vandana, K. (2013). Peri-implant and periodontal tissues: a review of differences and similarities. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)*, 34(7), e69-75.
- Duarte, P. M., de Mendonça, A. C., Máximo, M. B. B., Santos, V. R., Bastos, M. F., & Nociti Jr, F. H. (2009). Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *Journal of periodontology*, 80(2), 234-243.
- Egelberg, J. (1963). Cellular elements in gingival pocket fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*, 21(4), 283-287.
- Egelberg, J. (1966). The blood vessels of the dento-gingival junction. *Journal of periodontal research*, 1(3), 163-179.
- Egelberg, J., & Attström, R. (1969). Presence of leukocytes within crevices of health and inflamed gingiva and their immigration from the blood. *Journal of periodontal research. Supplement*(4), 23.
- Eick, S., Ramseier, C. A., Rothenberger, K., Brägger, U., Buser, D., & Salvi, G. E. (2016). Microbiota at teeth and implants in partially edentulous patients. A 10-year retrospective study. *Clinical oral implants research*, 27(2), 218-225.
- Embery, G., & Waddington, R. (1994). Gingival crevicular fluid: biomarkers of periodontal tissue activity. *Advances in dental research*, 8(2), 329-336.

- Ericsson, I., Berglundh, T., Marinello, C., Liljenberg, B., & Lindhe, J. (1992). Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clinical oral implants research*, 3(3), 99-103.
- Ericsson, I., & Lindhe, J. (1993). Probing depth at implants and teeth: an experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 20(9), 623-627.
- Etter, T. H., Håkanson, I., Lang, N. P., Trejo, P. M., & Caffesse, R. G. (2002). Healing after standardized clinical probing of the perimplant soft tissue seal: a histomorphometric study in dogs. *Clinical oral implants research*, 13(6), 571-580.
- Feloutzis, A., Lang, N. P., Tonetti, M. S., Bürgin, W., Brägger, U., Buser, D., . . . Kornman, K. S. (2003). IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clinical Oral Implants Research*, 14(1), 10-17.
- Ferreira, S., Silva, G. M., Cortelli, J. R., Costa, J., & Costa, F. O. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of clinical periodontology*, 33(12), 929-935.
- Fonseca, F. J. P. O., Junior, M. M., Lourenço, E. J. V., de Moraes Teles, D., & Figueredo, C. M. (2014). Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. *Clinical oral implants research*, 25(2), e68-e72.
- Gao, G., & Luo, H. (2006). The ubiquitin–proteasome pathway in viral infections. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 84(1), 5-14.

- Genco, R. J., Zambon, J. J., & Murray, P. A. (1985). Serum and gingival fluid antibodies as adjuncts in the diagnosis of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontal disease. *Journal of periodontology*, 56, 41-50.
- Glickman, M., & Ciechanover, A. April 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev*, 82(2), 373-428.
- Glickman, M. H., & Ciechanover, A. (2002). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiological reviews*.
- Goldberg, A. L. (2003). Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature*, 426(6968), 895-899.
- Greene, A. H. (1962). A study of the characteristics of stippling and its relation to gingival health. *The Journal of Periodontology*, 33(2), 176-182.
- Groen, E. J., & Gillingwater, T. H. (2015). UBA1: at the crossroads of ubiquitin homeostasis and neurodegeneration. *Trends in molecular medicine*, 21(10), 622-632.
- Groll, M., Bajorek, M., Köhler, A., Moroder, L., Rubin, D. M., Huber, R., . . . Finley, D. (2000). A gated channel into the proteasome core particle. *Nature structural biology*, 7(11), 1062-1067.
- Grossman, S. R., Deato, M. E., Brignone, C., Chan, H. M., Kung, A. L., Tagami, H., . . . Livingston, D. M. (2003). Polyubiquitination of p53 by a ubiquitin ligase activity of p300. *Science*, 300(5617), 342-344.
- Gualini, F., & Berglundh, T. (2003). Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *Journal of clinical periodontology*, 30(1), 14-18.

- Güncü, G. N., Akman, A. C., Günday, S., Yamalık, N., & Berker, E. (2012). Effect of inflammation on cytokine levels and bone remodelling markers in peri-implant sulcus fluid: a preliminary report. *Cytokine*, 59(2), 313-316.
- Hajishengallis, G. (2009). Porphyromonas gingivalis–host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? *Microbes and infection*, 11(6-7), 637-645.
- Hajishengallis, G., & Lambris, J. D. (2016). More than complementing Tolls: complement–Toll-like receptor synergy and crosstalk in innate immunity and inflammation. *Immunological reviews*, 274(1), 233-244.
- Hao, Z., Zhang, H., & Cowell, J. (2012). Ubiquitin-conjugating enzyme UBE2C: molecular biology, role in tumorigenesis, and potential as a biomarker. *Tumor Biology*, 33(3), 723-730.
- Hara, K., & Löe, H. (1969). Carbohydrate components of the gingival exudate. *Journal of periodontal research*, 4(3), 202-207.
- Hasturk, H., Kantarci, A., Goguet-Surmenian, E., Blackwood, A., Andry, C., Serhan, C. N., & Van Dyke, T. E. (2007). Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *The Journal of Immunology*, 179(10), 7021-7029.
- Heaton, S. M., Borg, N. A., & Dixit, V. M. (2016). Ubiquitin in the activation and attenuation of innate antiviral immunity. *Journal of Experimental Medicine*, 213(1), 1-13.
- Hermann, J. S., Cochran, D. L., Hermann, J. S., Buser, D., Schenk, R. K., & Schoolfield, J. D. (2001). Biologic Width around one-and two-piece titanium implants: A histometric evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Clinical oral implants research*, 12(6), 559-571.

- Herrera, D., Retamal-Valdes, B., Alonso, B., & Feres, M. (2018). Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions. *Journal of clinical periodontology*, 45, S78-S94.
- Hershko, A., & Ciechanover, A. (1998). The ubiquitin system. *Annual review of biochemistry*, 67(1), 425-479.
- Hicke, L. (2001). Protein regulation by monoubiquitin. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2(3), 195-201.
- Hiscott, J. (2007). Convergence of the NF- $\kappa$ B and IRF pathways in the regulation of the innate antiviral response. *Cytokine & growth factor reviews*, 18(5-6), 483-490.
- Hiscott, J., Grandvaux, N., Sharma, S., Tenoever, B. R., Servant, M. J., & Lin, R. (2003). Convergence of the NF- $\kappa$ B and Interferon Signaling Pathways in the Regulation of Antiviral Defense and Apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1010(1), 237-248.
- Hong, J. Y., Bae, W. J., Yi, J. K., Kim, G. T., & Kim, E. C. (2016). Anti-inflammatory and anti-osteoclastogenic effects of zinc finger protein A 20 overexpression in human periodontal ligament cells. *Journal of periodontal research*, 51(4), 529-539.
- Hugo, W., Zaretsky, J. M., Sun, L., Song, C., Moreno, B. H., Hu-Lieskovan, S., . . . Cherry, G. (2016). Genomic and transcriptomic features of response to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma. *Cell*, 165(1), 35-44.
- Hussain, S., Zhang, Y., & Galardy, P. (2009). DUBs and cancer: the role of deubiquitinating enzymes as oncogenes, non-oncogenes and tumor suppressors. *Cell cycle*, 8(11), 1688-1697.

- Huyan, T., Peng, H., Cai, S., Li, Q., Dong, D., Yang, Z., & Shang, P. (2020). Transcriptome Analysis Reveals the Negative Effect of 16 T High Static Magnetic Field on Osteoclastogenesis of RAW264. 7 Cells. *BioMed research international*, 2020.
- Ichikawa, T., Li, J., Dong, X., Potts, J. D., Tang, D.-Q., Li, D.-S., & Cui, T. (2010). Ubiquitin carboxyl terminal hydrolase L1 negatively regulates TNF $\alpha$ -mediated vascular smooth muscle cell proliferation via suppressing ERK activation. *Biochemical and biophysical research communications*, 391(1), 852-856.
- Ingham, R. J., Gish, G., & Pawson, T. (2004). The Nedd4 family of E3 ubiquitin ligases: functional diversity within a common modular architecture. *Oncogene*, 23(11), 1972-1984.
- Jackson, P. K., Eldridge, A. G., Freed, E., Furstenthal, L., Hsu, J. Y., Kaiser, B. K., & Reimann, J. D. (2000). The lore of the RINGs: substrate recognition and catalysis by ubiquitin ligases. *Trends in cell biology*, 10(10), 429-439.
- Jacobs, R., & van Steenberghe, D. (1994). Role of periodontal ligament receptors in the tactile function of teeth: a review. *Journal of periodontal research*, 29(3), 153-167.
- Javed, F., Al-Hezaimi, K., Salameh, Z., Almas, K., & Romanos, G. E. (2011). Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*, 53(1), 8-12.
- Jentsch, S. (1992). The ubiquitin-conjugation system. *Annual review of genetics*, 26(1), 179-207.

- Ji, Y. J., Tang, Z. H., Wang, R., Cao, J., Cao, C. F., & Jin, L. J. (2014). Effect of glycine powder air-polishing as an adjunct in the treatment of peri-implant mucositis: a pilot clinical trial. *Clinical oral implants research*, 25(6), 683-689.
- Kaklamanos, E., & Tsalikis, L. (2002). A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 4(2), 49-59.
- Kanayama, M., Inoue, M., Danzaki, K., Hammer, G., He, Y.-W., & Shinohara, M. L. (2015). Autophagy enhances NF $\kappa$ B activity in specific tissue macrophages by sequestering A20 to boost antifungal immunity. *Nature communications*, 6(1), 1-14.
- Karin, M., & Ben-Neriah, Y. (2000). Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- $\kappa$ B activity. *Annual review of immunology*, 18(1), 621-663.
- Karoussis, I. K., Kotsovilis, S., & Fourmoussis, I. (2007). A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clinical oral implants research*, 18(6), 669-679.
- Kattah, M. G., Malynn, B. A., & Ma, A. (2017). Ubiquitin-modifying enzymes and regulation of the inflammasome. *Journal of molecular biology*, 429(22), 3471-3485.
- Ketabi, A., Friese, H., & Weber, H. (2017). A Comparison Of Il-1 $\beta$ , E2 (Pge2), Pai-2 and Tnf-A Levels in Gingival Crevicular Fluid (Gcf) and Peri-Implant Crevicular Fluid (Picf) from Groups of Patients with Healthy Teeth, Healthy Implants, Periodontitis and Peri-Implantitis. *Dentistry*, 7(445), 2161-1122.1000445.

- Kieffer, A. E., Goumon, Y., Ruh, O., Chasserot-Golaz, S., Nullans, G., Gasnier, C., . . . Metz-Boutigue, M. H. (2003). The N-and C-terminal fragments of ubiquitin are important for the antimicrobial activities. *The FASEB Journal*, 17(6), 776-778.
- Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 25(1), 8-20.
- Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 1-14.
- Kisselev, A. F., & Goldberg, A. L. (2001). Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates. *Chemistry & biology*, 8(8), 739-758.
- Kivelä-Rajamäki, M., Maisi, P., Srinivas, R., Tervahartiala, T., Teronen, O., Husa, V., . . . Sorsa, T. (2003). Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *Journal of periodontal research*, 38(6), 583-590.
- Klinge, B., Hultin, M., & Berglundh, T. (2005). Peri-implantitis. *Dental Clinics*, 49(3), 661-676.
- Kurgan, S., & Kantarci, A. (2018). Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontology* 2000, 76(1), 51-67.
- Laine, M. L., Leonhardt, Å., Roos-Jansåker, A. M., Peña, A. S., Van Winkelhoff, A. J., Winkel, E. G., & Renvert, S. (2006). IL-1RN gene polymorphism is associated with peri-implantitis. *Clinical oral implants research*, 17(4), 380-385.
- Laiosa, C. V., Stadtfeld, M., & Graf, T. (2006). Determinants of lymphoid-myeloid lineage diversification. *Annu. Rev. Immunol.*, 24, 705-738.

- Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745-759.
- Lamont, R. J., & Yilmaz, O. (2002). In or out: the invasiveness of oral bacteria. *Periodontology 2000*, 30(1), 61-69.
- Lang, N., Wetzel, A., Stich, H., & Caffesse, R. (1994). Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. *Clinical oral implants research*, 5(4), 191-201.
- Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. *Journal of periodontology*, 89, S9-S16.
- Lang, N. P., Berglundh, T., & Periodontology, W. G. o. t. S. E. W. o. (2011). Periimplant diseases: where are we now?—Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 38, 178-181.
- Lang, N. P., & Lindhe, J. (2015). *Clinical periodontology and implant dentistry, 2 Volume Set*: John Wiley & Sons.
- Laxman, S., & Beavo, J. A. (2007). Cyclic nucleotide signaling mechanisms in trypanosomes: possible targets for therapeutic agents. *Molecular interventions*, 7(4), 203.
- Lecker, S. H., Goldberg, A. L., & Mitch, W. E. (2006). Protein degradation by the ubiquitin–proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(7), 1807-1819.
- Lee, E. G., Boone, D. L., Chai, S., Libby, S. L., Chien, M., Lodolce, J. P., & Ma, A. (2000). Failure to regulate TNF-induced NF- $\kappa$ B and cell death responses in A20-deficient mice. *Science*, 289(5488), 2350-2354.

- Leonhardt, Å., Renvert, S., & Dahlén, G. (1999). Microbial findings at failing implants. *Clinical oral implants research*, 10(5), 339-345.
- Li, Y., Mooney, E. C., Holden, S. E., Xia, X.-J., Cohen, D. J., Walsh, S. W., . . . Sahingur, S. E. (2019). A20 orchestrates inflammatory response in the oral mucosa through restraining NF- $\kappa$ B activity. *The Journal of Immunology*, 202(7), 2044-2056.
- Li, Y., Mooney, E. C., Xia, X.-J., Gupta, N., & Sahingur, S. E. (2020). A20 restricts inflammatory response and desensitizes gingival keratinocytes to apoptosis. *Frontiers in immunology*, 11, 365.
- Liljenberg, B., Gualini, F., Berglundh, T., Tonetti, M., & Lindhe, J. (1996). Some characteristics of the ridge mucosa before and after implant installation A prospective study in humans. *Journal of clinical periodontology*, 23(11), 1008-1013.
- Lindhe, J., Attström, R., & Björn, A. L. (1968). Influence of sex hormones on gingival exudation in dogs with chronic gingivitis. *Journal of Periodontal Research*, 3(4), 279-283.
- Lindhe, J., & Bjorn, A. L. (1967). Influence of hormonal contraceptives on the gingiva of women. *Journal of Periodontal Research*, 2(1), 1-6.
- Lindhe, J., Bressan, E., Cecchinato, D., Corrá, E., Toia, M., & Liljenberg, B. (2013). Bone tissue in different parts of the edentulous maxilla and mandible. *Clinical oral implants research*, 24(4), 372-377.
- Lindhe, J., Meyle, J., & Periodontology, G. D. o. t. E. W. o. (2008). Peri-implant diseases: consensus report of the sixth European workshop on periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 35, 282-285.

- Lindhe, J., & Nyman, S. (1984). Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 11(8), 504-514.
- Listgarten, M. (1970). Changing concepts about the dento-epithelial junction. *Journal of the Canadian Dental Association*, 36(2), 70-75.
- Listgarten, M., Mao, R., & Robinson, P. (1976). Periodontal probing and the relationship of the probe tip to periodontal tissues. *Journal of periodontology*, 47(9), 511-513.
- Liu, J., Qian, C., & Cao, X. (2016). Post-translational modification control of innate immunity. *Immunity*, 45(1), 15-30.
- Liu, Y., Fallon, L., Lashuel, H. A., Liu, Z., & Lansbury Jr, P. T. (2002). The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect  $\alpha$ -synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility. *Cell*, 111(2), 209-218.
- Loos, B. G., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 26-39.
- Löe, H. (1967). The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *The Journal of Periodontology*, 38(6), 610-616.
- Ma, A., & Malynn, B. A. (2012). A20: linking a complex regulator of ubiquitylation to immunity and human disease. *Nature Reviews Immunology*, 12(11), 774-785.
- MacPhee, T., Cowley, G., & Gillette, W. B. (1970). Book Review: Essentials of Periodontology and Periodontics: Wiley Online Library.
- Maekawa, T., Krauss, J. L., Abe, T., Jotwani, R., Triantafilou, M., Triantafilou, K., . . . Nussbaum, G. (2014). Porphyromonas gingivalis manipulates complement and TLR signaling to uncouple bacterial clearance from inflammation and promote dysbiosis. *Cell host & microbe*, 15(6), 768-778.

- Martin, L. P., LP, M., & WH, N. (1974). Gingival fluid in relation to tooth mobility and occlusal interferences.
- Masumoto, K., & Kitagawa, M. (2016). E3 ubiquitin ligases as molecular targets in human oral cancers. *Current cancer drug targets*, 16(2), 130-135.
- Mattos, C. M., & Santana, R. B. (2008). A quantitative evaluation of the spatial displacement of the gingival zenith in the maxillary anterior dentition. *Journal of periodontology*, 79(10), 1880-1885.
- Mättö, J., Saarela, M., von Troil-Lindén, B., Alaluusua, S., Jousimies-Somer, H., & Asikainen, S. (1996). Similarity of salivary and subgingival *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Oral microbiology and immunology*, 11(6), 395-401.
- McKee, M., Zalzal, S., & Nanci, A. (1996). Extracellular matrix in tooth cementum and mantle dentin: localization of osteopontin and other noncollagenous proteins, plasma proteins, and glycoconjugates by electron microscopy. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 245(2), 293-312.
- McLaughlin, W., Lovat, F., Macgregor, I., & Kelly, P. (1993). The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *Journal of clinical periodontology*, 20(6), 448-451.
- Meghil, M. M., & Cutler, C. W. (2020). Oral microbes and mucosal dendritic cells, “spark and flame” of local and distant inflammatory diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1643.

- Metzger, M. B., Hristova, V. A., & Weissman, A. M. (2012). HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance. *Journal of cell science*, 125(3), 531-537.
- Meyer, S., Giannopoulou, C., Courvoisier, D., Schimmel, M., Müller, F., & Mombelli, A. (2017). Experimental mucositis and experimental gingivitis in persons aged 70 or over. Clinical and biological responses. *Clinical oral implants research*, 28(8), 1005-1012.
- Mombelli, A., Buser, D., & Lang, N. (1988). Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiology and Immunology*, 3(3), 113-120.
- Mombelli, A., & Décaillet, F. (2011). The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *Journal of clinical periodontology*, 38, 203-213.
- Mombelli, A., & Lang, N. P. (1994). Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontology 2000*, 4(1), 81-86.
- Mombelli, A., & Lang, N. P. (1998). The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontology 2000*, 17(1), 63-76.
- Mombelli, A., Marxer, M., Gaberthüel, T., Grander, U., & Lang, N. P. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 22(2), 124-130.
- Monje, A., Chan, H. L., Galindo-Moreno, P., Elnayef, B., Suarez-Lopez del Amo, F., Wang, F., & Wang, H. L. (2015). Alveolar bone architecture: A systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology*, 86(11), 1231-1248.
- Mordani, N. (2019). *Regular and Phylogenetic Hidden Markov Models for Identifying Cell Type Specific Regulatory Regions*: McGill University (Canada).

- Moriya, S., Tan, V. P., Yee, A. K., & Parhar, I. S. (2019). pink1, atp13a2 and uch11 expressions are affected by inflammation in the brain. *Neuroscience letters*, 708, 134330.
- Mrozik, K. M., Zilm, P. S., Bagley, C. J., Hack, S., Hoffmann, P., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2010). Proteomic characterization of mesenchymal stem cell-like populations derived from ovine periodontal ligament, dental pulp, and bone marrow: analysis of differentially expressed proteins. *Stem Cells and Development*, 19(10), 1485-1499.
- Mukhopadhyay, D., & Riezman, H. (2007). Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, 315(5809), 201-205.
- Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. L. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *Journal of clinical periodontology*, 45, S17-S27.
- Nanci, A., & Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 40(1), 11-28.
- Needleman, I., Garcia, R., Gkraniyas, N., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Iorio, A. D., . . . Petrie, A. (2018). Mean annual attachment, bone level, and tooth loss: A systematic review. *Journal of clinical periodontology*, 45, S112-S129.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2011). *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier health sciences.
- Nicu, E. A., & Loos, B. G. (2016). Polymorphonuclear neutrophils in periodontitis and their possible modulation as a therapeutic approach. *Periodontology 2000*, 71(1), 140-163.

- Nijman, S. M., Luna-Vargas, M. P., Velds, A., Brummelkamp, T. R., Dirac, A. M., Sixma, T. K., & Bernards, R. (2005). A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes. *Cell*, 123(5), 773-786.
- Nonnenmacher, C., Mutters, R., & De Jacoby, L. F. (2001). Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. *Clinical Microbiology and Infection*, 7(4), 213-217.
- Nowzari, H., Phamduong, S., Botero, J. E., Villacres, M. C., & Rich, S. K. (2012). The profile of inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid around healthy osseointegrated implants. *Clinical implant dentistry and related research*, 14(4), 546-552.
- Offenbacher, S. (1996). Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology*, 1(1), 821-878.
- Ogasawara, T., Yoshimine, Y., Kiyoshima, T., Kobayashi, I., Matsuo, K., Akamine, A., & Sakai, H. (2004). In situ expression of RANKL, RANK, osteoprotegerin and cytokines in osteoclasts of rat periodontal tissue. *Journal of periodontal research*, 39(1), 42-49.
- Ogata, Y., Nakayama, Y., Tatsumi, J., Kubota, T., Sato, S., Nishida, T., . . . Nozaki, T. (2017). Prevalence and risk factors for peri-implant diseases in Japanese adult dental patients. *Journal of oral science*, 59(1), 1-11.
- Okamoto, Y., Ozaki, T., Miyazaki, K., Aoyama, M., Miyazaki, M., & Nakagawara, A. (2003). UbcH10 is the cancer-related E2 ubiquitin-conjugating enzyme. *Cancer research*, 63(14), 4167-4173.

- Onizawa, M., Oshima, S., Schulze-Topphoff, U., Osés-Prieto, J. A., Lu, T., Tavares, R., . . . Advincula, R. (2015). The ubiquitin-modifying enzyme A20 restricts ubiquitination of the kinase RIPK3 and protects cells from necroptosis. *Nature immunology*, 16(6), 618-627.
- Osaka, H., Wang, Y.-L., Takada, K., Takizawa, S., Setsuie, R., Li, H., . . . Sakurai, M. (2003). Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. *Human molecular genetics*, 12(16), 1945-1958.
- Owens, T., Benmamar-Badel, A., Włodarczyk, A., Marczyńska, J., Mørch, M. T., Dubik, M., . . . Khorrooshi, R. (2020). Protective roles for myeloid cells in neuroinflammation. *Scandinavian Journal of Immunology*, 92(5), e12963.
- Özçakır-Tomruk, C., Chiquet, M., & Mericske-Stern, R. (2012). Tenascin-C and matrix metalloproteinase-9 levels in crevicular fluid of teeth and implants. *Clinical implant dentistry and related research*, 14(5), 672-681.
- Page, R. C. (1992). Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 63, 356-366.
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9-11.
- Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., & Kornman, K. S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14(1), 216-248.
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., . . . Graziani, F. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S173-S182.

- Parpaiola, A., Cecchinato, D., Toia, M., Bressan, E., Speroni, S., & Lindhe, J. (2015). Dimensions of the healthy gingiva and peri-implant mucosa. *Clinical Oral Implants Research*, 26(6), 657-662.
- Pashley, D. H. (1996). Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 7(2), 104-133.
- Pelletier, M., Maggi, L., Micheletti, A., Lazzeri, E., Tamassia, N., Costantini, C., . . . Romagnani, S. (2010). Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells. *Blood*, 115(2), 335-343.
- Perrin, A. J., Jiang, X., Birmingham, C. L., So, N. S., & Brumell, J. H. (2004). Recognition of bacteria in the cytosol of mammalian cells by the ubiquitin system. *Current Biology*, 14(9), 806-811.
- Perry, W. L., Hustad, C. M., Swing, D. A., O'Sullivan, T. N., Jenkins, N. A., & Copeland, N. G. (1998). The itchy locus encodes a novel ubiquitin protein ligase that is disrupted in a 18H mice. *Nature genetics*, 18(2), 143-146.
- Persson, G. R., & Renvert, S. (2014). Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. *Clinical implant dentistry and related research*, 16(6), 783-793.
- Petroski, M. D., & Deshaies, R. J. (2005). Function and regulation of cullin–RING ubiquitin ligases. *Nature reviews Molecular cell biology*, 6(1), 9-20.
- Pickart, C. M. (2004). Back to the future with ubiquitin. *Cell*, 116(2), 181-190.
- Pickart, C. M., & Eddins, M. J. (2004). Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1695(1-3), 55-72.

- Pontoriero, R., Tonelli, M., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S., & Lang, N. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clinical oral implants research*, 5(4), 254-259.
- Popovic, D., Vucic, D., & Dikic, I. (2014). Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. *Nature medicine*, 20(11), 1242-1253.
- Porras, R., Anderson, G. B., Caffesse, R., Narendran, S., & Trejo, P. M. (2002). Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *Journal of periodontology*, 73(10), 1118-1125.
- Pouliot, M., Clish, C. B., Petasis, N. A., Van Dyke, T. E., & Serhan, C. N. (2000). Lipoxin A4 analogues inhibit leukocyte recruitment to *Porphyromonas gingivalis*: a role for cyclooxygenase-2 and lipoxins in periodontal disease. *Biochemistry*, 39(16), 4761-4768.
- Qin, Z., Cui, B., Jin, J., Song, M., Zhou, B., Guo, H., . . . Huang, L. (2016). The ubiquitin-activating enzyme E1 as a novel therapeutic target for the treatment of restenosis. *Atherosclerosis*, 247, 142-153.
- Quirynen, M., & Listgarten, M. (1990). The distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Brånemark. *Clinical Oral Implants Research*, 1(1), 8-12.
- Ra'ed Omar, A. H., Mahmoud Khalid, A. O., & Ahed Mahmoud, A. W. (2006). Psychological impact on implant patients' oral health-related quality of life. *Clinical oral implants research*, 17(2), 116-123.
- Rakic, M., Lekovic, V., Nikolic-Jakoba, N., Vojvodic, D., Petkovic-Curcin, A., & Sanz, M. (2013). Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. *Clinical oral implants research*, 24(10), 1110-1116.

- Ramakrishna, S., Suresh, B., & Baek, K.-H. (2011). The role of deubiquitinating enzymes in apoptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(1), 15-26.
- Ramanauskaite, A., Baseviciene, N., Wang, H.-L., & Tözüm, T. F. (2014). Effect of history of periodontitis on implant success: meta-analysis and systematic review. *Implant dentistry*, 23(6), 687-696.
- Ravidà, A., Galli, M., Siqueira, R., Saleh, M. H., Galindo-Moreno, P., & Wang, H. L. (2020). Diagnosis of peri-implant status after peri-implantitis surgical treatment: Proposal of a new classification. *Journal of Periodontology*, 91(12), 1553-1561.
- Recker, E. N., Avila-Ortiz, G., Fischer, C. L., Pagan-Rivera, K., Brogden, K. A., Dawson, D. V., & Elangovan, S. (2015). A cross-sectional assessment of biomarker levels around implants versus natural teeth in periodontal maintenance patients. *Journal of periodontology*, 86(2), 264-272.
- Reddy, S. S., Shruthi, K., Prabhakar, Y. K., Sailaja, G., & Reddy, G. B. (2018). Implication of altered ubiquitin-proteasome system and ER stress in the muscle atrophy of diabetic rats. *Archives of biochemistry and biophysics*, 639, 16-25.
- Reinders, J., & Sickmann, A. (2007). Modificomics: posttranslational modifications beyond protein phosphorylation and glycosylation. *Biomolecular engineering*, 24(2), 169-177.
- Reits, E., Neijssen, J., Herberts, C., Benckhuijsen, W., Janssen, L., Drijfhout, J. W., & Neefjes, J. (2004). A major role for TPPII in trimming proteasomal degradation products for MHC class I antigen presentation. *Immunity*, 20(4), 495-506.
- Renvert, S., Lindahl, C., Renvert, H., & Persson, G. R. (2008). Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Brånemark or AstraTech

- implants: a 7-year follow-up study. *Clinical oral implants research*, 19(4), 342-347.
- Rittinger, K., & Ikeda, F. (2017). Linear ubiquitin chains: enzymes, mechanisms and biology. *Open biology*, 7(4), 170026.
- Rock, K. L., Gramm, C., Rothstein, L., Clark, K., Stein, R., Dick, L., . . . Goldberg, A. L. (1994). Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell*, 78(5), 761-771.
- Rosen, P., Clem, D., Cochran, D., Froum, S., McAllister, B., Renvert, S., & Wang, H. L. (2013). Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications. *Journal of periodontology*, 84(4), 436-443.
- Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P., & Ramseier, C. A. (2012). Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clinical oral implants research*, 23(2), 182-190.
- Sanz, M., Lau, L., Herrera, D., Morillo, J. M., & Silva, A. (2004). Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *Journal of clinical periodontology*, 31(12), 1034-1047.
- Saric, T., Graef, C. I., & Goldberg, A. L. (2004). Pathway for degradation of peptides generated by proteasomes: a key role for thimet oligopeptidase and other metallopeptidases. *Journal of Biological Chemistry*, 279(45), 46723-46732.

- Sarlati, F., Sattari, M., Ghorbani Gazar, A., & Nabavizadeh Rafsenjani, A. (2010). Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) levels in peri-implant crevicular fluid. *Iranian Journal of Immunology*, 7(4), 226-233.
- Scaglione, K. M., Basrur, V., Ashraf, N. S., Konen, J. R., Elenitoba-Johnson, K. S., Todi, S. V., & Paulson, H. L. (2013). The ubiquitin-conjugating enzyme (E2) Ube2w ubiquitinates the N terminus of substrates. *Journal of Biological Chemistry*, 288(26), 18784-18788.
- Schätzle, M., Löe, H., Bürgin, W., Ånerud, Å., Boysen, H., & Lang, N. P. (2003). Clinical course of chronic periodontitis: I. Role of gingivitis. *Journal of clinical periodontology*, 30(10), 887-901.
- Scheffner, M., Nuber, U., & Huibregtse, J. M. (1995). Protein ubiquitination involving an E1–E2–E3 enzyme ubiquitin thioester cascade. *Nature*, 373(6509), 81-83.
- Schnell, J. D., & Hicke, L. (2003). Non-traditional functions of ubiquitin and ubiquitin-binding proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 278(38), 35857-35860.
- Schou, S., Holmstrup, P., Jørgensen, T., Skovgaard, L. T., Stoltze, K., Hjørting-Hansen, E., & Wenzel, A. (2003). Implant surface preparation in the surgical treatment of experimental peri-implantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research*, 14(4), 412-422.
- Schou, S., Holmstrup, P., Stoltze, K., Hjørting-Hansen, E., Fiehn, N. E., & Skovgaard, L. T. (2002). Probing around implants and teeth with healthy or inflamed peri-implant mucosa/gingiva: a histologic comparison in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Clinical oral implants research*, 13(2), 113-126.
- Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H. L. (2018). Peri-implantitis. *Journal of clinical periodontology*, 45, S246-S266.

- Seol, J. H., Feldman, R. R., Zachariae, W., Shevchenko, A., Correll, C. C., Lyapina, S., . . . Sandmeyer, S. (1999). Cdc53/cullin and the essential Hrt1 RING–H2 subunit of SCF define a ubiquitin ligase module that activates the E2 enzyme Cdc34. *Genes & development*, 13(12), 1614-1626.
- Severino, V. O., Napimoga, M. H., & de Lima Pereira, S. A. (2011). Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Archives of oral biology*, 56(8), 823-828.
- Seymour, G. J., Powell, R., & Davies, W. (1979). The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 8(5), 249-265.
- Shah, K., & Maghsoudlou, P. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British journal of hospital medicine*, 77(7), C98-C101.
- Shembade, N., Ma, A., & Harhaj, E. W. (2010). Inhibition of NF- $\kappa$ B signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science*, 327(5969), 1135-1139.
- Shi, D., Pop, M. S., Kulikov, R., Love, I. M., Kung, A. L., & Grossman, S. R. (2009). CBP and p300 are cytoplasmic E4 polyubiquitin ligases for p53. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(38), 16275-16280.
- Shibli, J. A., Melo, L., Ferrari, D. S., Figueiredo, L. C., Faveri, M., & Feres, M. (2008). Composition of supra-and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clinical oral implants research*, 19(10), 975-982.
- Shruthi, K., Reddy, S. S., Chitra, P. S., & Reddy, G. B. (2019). Ubiquitin-proteasome system and ER stress in the brain of diabetic rats. *Journal of cellular biochemistry*, 120(4), 5962-5973.

- Shruthi, K., Reddy, S. S., & Reddy, G. B. (2017). Ubiquitin-proteasome system and ER stress in the retina of diabetic rats. *Archives of biochemistry and biophysics*, 627, 10-20.
- Sodek, J., & Mckee, M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000*, 24(1), 99-126.
- Solis-Gaffar, M., Rustogi, K., & Gaffar, A. (1980). Hydrogen sulfide production from gingival crevicular fluid. *Journal of periodontology*, 51(10), 603-606.
- Stern, I. B. (1981). Current concepts of the dentogingival junction: the epithelial and connective tissue attachments to the tooth. *Journal of periodontology*, 52(9), 465-476.
- Takami, Y., Nakagami, H., Morishita, R., Katsuya, T., Cui, T.-X., Ichikawa, T., . . . Nishikawa, T. (2007). Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1, a novel deubiquitinating enzyme in the vasculature, attenuates NF- $\kappa$ B activation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 27(10), 2184-2190.
- Taubman, M., Haffajee, A., Socransky, S., Smith, D., & Ebersole, J. (1992). Longitudinal monitoring of humoral antibody in subjects with destructive periodontal diseases. *Journal of periodontal research*, 27(5), 511-521.
- Te Velde, A. A., Bezema, T., Van Kampen, A. H., Kraneveld, A. D., t Hart, B. A., Van Middendorp, H., . . . Jans-Beken, L. (2016). Embracing complexity beyond systems medicine: a new approach to chronic immune disorders. *Frontiers in immunology*, 7, 587.
- Teronen, O., Konttinen, Y. T., Lindqvist, C., Salo, T., Ingman, T., Lauhio, A., . . . Sorsa, T. (1997). Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate. *Journal of dental research*, 76(9), 1529-1537.

- Tonetti, M. S., Chapple, I. L., Jepsen, S., & Sanz, M. (2015). Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *Journal of clinical periodontology*, 42, S1-S4.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89, S159-S172.
- Townsley, F. M., Aristarkhov, A., Beck, S., Hershko, A., & Ruderman, J. V. (1997). Dominant-negative cyclin-selective ubiquitin carrier protein E2-C/UbcH10 blocks cells in metaphase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(6), 2362-2367.
- Tözüm, T. F., Akman, A. C., Yamalik, N., Tulunoglu, I., Turkyilmaz, I., Karabulut, E., . . . Cehreli, M. C. (2007). Analysis of the inflammatory process around endosseous dental implants and natural teeth: myeloperoxidase level and nitric oxide metabolism. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22(6).
- Tsuchida, S., Satoh, M., Takiwaki, M., & Nomura, F. (2019). Current status of proteomic technologies for discovering and identifying gingival crevicular fluid biomarkers for periodontal disease. *International journal of molecular sciences*, 20(1), 86.
- Uematsu, A., Kido, K., Takahashi, H., Takahashi, C., Yanagihara, Y., Saeki, N., . . . Kai, T. (2019). The E3 ubiquitin ligase MIB2 enhances inflammation by degrading the deubiquitinating enzyme CYLD. *Journal of Biological Chemistry*, 294(38), 14135-14148.
- Uitto, V. J. (2003). Gingival crevice fluid—an introduction. *Periodontology 2000*, 31(1), 9-11.

- Umetsu, D. T., McIntire, J. J., Akbari, O., Macaubas, C., & DeKruyff, R. H. (2002). Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nature immunology*, 3(8), 715-720.
- Van Dyke, T. E. (2008). Inflammation and periodontal diseases: a reappraisal. *Journal of periodontology*, 79(8S), 1501-1502.
- Van Ree, J. H., Jeganathan, K. B., Malureanu, L., & Van Deursen, J. M. (2010). Overexpression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme UbcH10 causes chromosome missegregation and tumor formation. *Journal of Cell Biology*, 188(1), 83-100.
- van Wijk, S. J., & Timmers, H. M. (2010). The family of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s): deciding between life and death of proteins. *The FASEB Journal*, 24(4), 981-993.
- Van Winkelhoff, A. (2003). Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontics. *International journal of dental hygiene*, 1(3), 131-137.
- Venuprasad, K., Elly, C., Gao, M., Salek-Ardakani, S., Harada, Y., Luo, J.-L., . . . Karin, M. (2006). Convergence of Itch-induced ubiquitination with MEKK1-JNK signaling in Th2 tolerance and airway inflammation. *The Journal of clinical investigation*, 116(4), 1117-1126.
- Vereecke, L., Vieira-Silva, S., Billiet, T., Van Es, J. H., Mc Guire, C., Slowicka, K., . . . Clevers, H. (2014). A20 controls intestinal homeostasis through cell-specific activities. *Nature communications*, 5(1), 1-12.
- Vieira, A. E., Moura, C. C. G., de Souza, M. A., Zanetta-Barbosa, D., & Dechichi, P. (2013). Would nitric oxide be an effective marker for earlier stages of peri-implant

- disease? An analysis in human peri-implant sulcular fluid. *Journal of Oral Implantology*, 39(1), 37-43.
- Voges, D., Zwickl, P., & Baumeister, W. (1999). The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annual review of biochemistry*, 68(1), 1015-1068.
- Waddington, R., & Embery, G. (2001). Proteoglycans and orthodontic tooth movement. *Journal of orthodontics*, 28(4), 281-290.
- Wang, F., Song, Y.-l., Li, D.-h., Li, C.-x., Wang, Y., Zhang, N., & Wang, B.-g. (2010). Type 2 diabetes mellitus impairs bone healing of dental implants in GK rats. *Diabetes research and clinical practice*, 88(1), e7-e9.
- Wang, H., Zhang, C., Rorick, A., Wu, D., Chiu, M., Thomas-Ahner, J., . . . Chan, K. K. (2011). CCI-779 Inhibits Cell-Cycle G2-M Progression and Invasion of Castration-Resistant Prostate Cancer via Attenuation of UBE2C Transcription and mRNA Stability. *Cancer research*, 71(14), 4866-4876.
- Wang, J., & Maldonado, M. A. (2006). The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol*, 3(4), 255-261.
- Wang, R., Zhang, M., Zhou, W., Ly, P. T., Cai, F., & Song, W. (2011). NF- $\kappa$ B signaling inhibits ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 gene expression. *Journal of neurochemistry*, 116(6), 1160-1170.
- Wang, Y.-C., Peterson, S. E., & Loring, J. F. (2014). Protein post-translational modifications and regulation of pluripotency in human stem cells. *Cell research*, 24(2), 143-160.
- Warreth, A., Boggs, S., Ibieyou, N., El-Helali, R., & Hwang, S. (2015). Peri-implant diseases: an overview. *Dental update*, 42(2), 166-184.

- Wei, N., & Deng, X. W. (2003). The COP9 signalosome. *Annual review of cell and developmental biology*, 19(1), 261-286.
- Wennström, J. L., Ekestubbe, A., Gröndahl, K., Karlsson, S., & Lindhe, J. (2004). Oral rehabilitation with implant-supported fixed partial dentures in periodontitis-susceptible subjects: a 5-year prospective study. *Journal of clinical periodontology*, 31(9), 713-724.
- Wertz, I. E., & Dixit, V. M. (2008). Ubiquitin-mediated regulation of TNFR1 signaling. *Cytokine & growth factor reviews*, 19(3-4), 313-324.
- Wertz, I. E., O'rourke, K. M., Zhou, H., Eby, M., Aravind, L., Seshagiri, S., . . . Boone, D. L. (2004). De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF- $\kappa$ B signalling. *Nature*, 430(7000), 694-699.
- Wohlfahrt, J. C., Aass, A. M., Granfeldt, F., Lyngstadaas, S. P., & Reseland, J. E. (2014). Sulcus fluid bone marker levels and the outcome of surgical treatment of peri-implantitis. *Journal of clinical periodontology*, 41(4), 424-431.
- Wozney, J. M. (1992). The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Molecular reproduction and development*, 32(2), 160-167.
- Wu, X., & Karin, M. (2015). Emerging roles of Lys63-linked polyubiquitylation in immune responses. *Immunological reviews*, 266(1), 161-174.
- Xu, J., Wu, H. F., Ang, E. S., Yip, K., Woloszyn, M., Zheng, M. H., & Tan, R. X. (2009). NF- $\kappa$ B modulators in osteolytic bone diseases. *Cytokine & growth factor reviews*, 20(1), 7-17.
- Xu, L., Yu, Z., Lee, H.-M., Wolff, M. S., Golub, L. M., Sorsa, T., & Kuula, H. (2008). Characteristics of collagenase-2 from gingival crevicular fluid and peri-implant

- sulcular fluid in periodontitis and peri-implantitis patients: pilot study. *Acta Odontologica Scandinavica*, 66(4), 219-224.
- Yakar, N., Guncu, G. N., Akman, A. C., Pinar, A., Karabulut, E., & Nohutcu, R. M. (2019). Evaluation of gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG. *Cytokine*, 113, 433-439.
- Yan, K., Wu, C., Ye, Y., Li, L., Wang, X., He, W., . . . Xu, Y. (2020). A20 inhibits osteoclastogenesis via TRAF6-dependent autophagy in human periodontal ligament cells under hypoxia. *Cell proliferation*, 53(3), e12778.
- Yilmaz, Ö. (2008). The chronicles of Porphyromonas gingivalis: the microbium, the human oral epithelium and their interplay. *Microbiology (Reading, England)*, 154(Pt 10), 2897.
- Zhang, H., Hu, H., Greeley, N., Jin, J., Matthews, A. J., Ohashi, E., . . . Mandal, P. K. (2014). STAT3 restrains RANK-and TLR4-mediated signalling by suppressing expression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13. *Nature communications*, 5(1), 1-10.
- Zheng, S., Qiao, G., Min, D., Zhang, Z., Lin, F., Yang, Q., . . . Zhao, H. (2015). Heterogeneous expression and biological function of ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 in osteosarcoma. *Cancer letters*, 359(1), 36-46.
- Zitzmann, N. U., & Berglundh, T. (2008). Definition and prevalence of peri-implant diseases. *Journal of clinical periodontology*, 35, 286-291.

## EK-1



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

Sayı : 83116987 - 052  
Konu : Etik Kurul Kararı  
Toplantı Tarihi : 06.02.2020  
Toplantı No : 2020/02  
Proje No : 20-KAEK-025

07.02.2020

Sayın, Doç.Dr. Hatice BALCI YÜCE

Etik Kurulumuzun 06.02.2020 tarihli toplantısında görüşülen 20-KAEK-025 kayıt numaralı **“Sağlıklı ve Hastalıklı Diş ve İmplant Çevresi Dokularda Ubikuitin-Proteazom Yolağı Proteinlerinin Araştırılması”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

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

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk KUTLUTÜRK  
Baskan

**EK-2****BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**  
**(Periodontitis ve Peri-implantitis Hastaları)****Araştırmacının/Hekimin Açıklaması**

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

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

*Araştırmanın adı:*

*Araştırma sorumlusu:*

*Tarih:*

*İmza:*

Dental implantlar, hastaların diş eksikliklerinde günümüzde sıkça uygulanan tedavi prosedürlerindendir. Dental implant cerrahisini tercih eden hasta sayısı artmaya devam ettikçe, implant tedavisi ve devamındaki idame sürecini yönetmenin zorlukları giderek artan bir önem kazanmaktadır.

Dişeti oluğu sıvısının implant bölgelerindeki karşılığı İmplant Çevresi Oluğu Sıvısıdır. Dişeti oluğu sıvısının ve implant çevresi oluğu sıvısı içeriğindeki biyolojik moleküller, ilgili bölgede hastalık varlığını ve sürecini anlamamıza yardımcı olmaktadır. Peri-implantitis, yapılmış olan implant çevresinde cerrahi, protez yapımı ya da implant çevresi dokularına bağlı olarak oluşan ve çevre dokularda kemik kaybına yol açan bir enfeksiyondur. Bakterilerin birikimi ile dokular kendini koruma amaçlı kemik kaybına sebep olan bir enfeksiyon oluştururlar. Bu durumun da implant kaybına sebep olan ana etken olduğu söylenebilir.

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

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

*Araştırmamanın adı:*

*Araştırma sorumlusu:*

*Tarih:*

*İmza:*

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

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

*Bilimsel çalışma hakkında bilgiler*

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

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

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

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

*Araştırmanın adı:*

*Araştırma sorumlusu:*

*Tarih:*

*İmza:*

**Çalışma kapsamında bilinmesi gereken durumlar ve araştırmacılar ile gönüllülerin uyması gereken kurallar**

Araştırmaya katılmanız durumunda;

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

**Katılımcının (Gönüllü) / Hastanın Beyanı**

Sayın Doç. Dr. Hatice Balcı Yüce tarafından, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

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

**Araştırmanın adı:**

**Araştırma sorumlusu:**

**Tarih:**

**İmza:**

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

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

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

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

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

**Katılımcı (Gönüllü)**

*Adı, Soyadı:*

*Adres:*

***Araştırmanın adı:***

***Araştırma sorumlusu:***

***Tarih:***

***İmza:***

Telefon:

İmza:

**Görüşme Tanığı**

Adı, Soyadı:

Adres:

**Araştırma sorumlusu:**

Tarih:

İmza:

Telefon:

İmza:

**Katılımcı (Gönüllü) ile Görüşen Araştırmacı**

Adı, Soyadı, Ünvanı:

Adres:

Telefon:

İmza:

**(Tüm sayfaları imzalı bu formun bir kopyası katılımcıya verilecektir)**

**Araştırmanın adı:**

**Araştırma sorumlusu:**

**Tarih:**

**İmza:**