PERİODONTAL HASTALIĞIN PATOGENEZİNDE MİTOKONDRİ-ENDOPLAZMİK RETİKULUM KONTAKT PROTEİNLERİNİN İNCELENMESİ

Ekin Ezgi DOĞAN

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Cüneyt Asım ARAL

Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi - 2025

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

PERİODONTAL HASTALIĞIN PATOGENEZİNDE MİTOKONDRİ-ENDOPLAZMİK RETİKULUM KONTAKT PROTEİNLERİNİN İNCELENMESİ

Ekin Ezgi DOĞAN

Periodontoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Cüneyt Asım ARAL

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri BirimiTarafından TDH-2024-3464 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2025

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Cüneyt Asım ARAL danışmanlığında hazırlayıp sunduğum "Periodontal Hastalığın Patogenezinde Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Proteinlerinin İncelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. …../……/20…

Ekin Ezgi DOĞAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET viii
ABSTRACT ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xii
TABLOLAR DİZİNİ xv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Periodonsiyum 3
2.1.1. Dişeti (Gingiva) 3
2.1.2. Periodontal Ligament (PDL) 3
2.1.3. Alveol Kemik 4
2.1.4. Sement 4
2.2. Periodontal Hastalık 4
2.3. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması 4
2.3.1. 2017 Periodontal ve Periimplant Hastalıklar ve Durumların Sınıflaması 4
2.4. Periodontal Hastalığın Etyopatogenezi 12
2.5. Periodontal Hastalığın Histopatolojisi 13
2.5.1. Başlangıç Lezyonu 13
2.5.2. Erken Lezyon 14
2.5.3. Yerleşik Lezyon 14
2.5.4. İlerlemiş Lezyon 15
2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) ve Periodontal Hastalık İlişkisi 15
2.7. DOS Toplama Yöntemleri 16
2.7.1. Kağıt Şeritlere Emdirme Yöntemi 16
2.7.2. Mikrotüp ya da Mikropipet ile Toplama Yöntemi 16
2.7.3. Dişeti Oluğu Yıkama Yöntemi 16
2.8. Tükürük ve Periodontal Hastalık İlişkisi 17
2.9. Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Noktası (MERK) 17
2.10. MERK Proteinleri 20
2.10.1. VAPB- PTPIP51 Kompleksi 20
2.10.2. IP3R-GRP75-VDAC Kompleksi 21

2.11. Kaspaz-3 (CASP3) 22
2.12. Kalsiyum (Ca) ve MERK İlişkisi 23
2.13. ATP2B1 Geni ve Hücresel Kalsiyum Homeostazındaki Rolü 24
2.14. HSP-70 Ailesi ve GRP75'nin Hücresel Fonksiyonları 25
2.15. ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve MERK İlişkisi 26
2.15.1. Oksidatif Stres ile Doku Hasarı İlişkisi 28
2.16. MERK'in ve Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Proteinlerinin Metabolik Hastalıklardaki Rolü 29
2.17. MERK'in ve MERK Proteinlerinin Periodontal Hastalığın Patogenezindeki Rolü 31
3. MATERYAL VE METOT 33
3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri 33
3.1.1. Sağlıklı Kontrol Grubu İçin Dahil Edilme Kriterleri: 33
3.1.2. Gingivitis Hastaları İçin Dahil Edilme Kriterleri: 33
3.1.3. Evre 3 Periodontitis Hastaları İçin Dahil Edilme Kriterleri: 33
3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri 34
3.3. Hastaların Klinik Parametrelerinin Değerlendirilmesi 34
3.3.1. Plak İndeksi (Pİ) 34
3.3.2. Gingival İndex (Gİ) 35
3.3.3. Sondalanan Cep Derinliği (SCD) 35
3.3.4. Sondalamada Kanama (SK) 36
3.3.5. Klinik Ataşman Seviyesi (KAS) 36
3.4. Çalışma Planı 36
3.4.1. DOS ve Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi 37
3.4.2. Dişeti Dokusu Örneklerinin Elde Edilmesi 40
3.5. Biyokimyasal Analizler 40
3.5.1. DOS ve Tükürük Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması 40
3.5.2. Dişeti Dokusu Örneklerinin Homojenizasyonu ve RT-qPCR Analizi İçin Hazırlanması 41
3.6. DOS ve Tükürük Örneklerindeki Biyobelirteçlerin ELISA ile Tayini 41
3.7. Dişeti Dokusu Örneklerinde RNA İzolasyonu ve RT-qPCR Analizleri 44
3.6. İstatistiksel Analiz 45
3.6.1. Araştırmacı Kalibrasyonu ve Periodontal Ölçümlerin Tutarlılığının Belirlenmesi 45

3.6.2. İstatistiksel Yöntemler 45
4. BULGULAR 47
4.1 Demografik Bulgular 47
4.2 Klinik Bulgular 48
4.2.1 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Tüm Ağız Klinik Periodontal Bulguları 48
4.2.2 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Örnek Alınan Dişlerine Ait Klinik Periodontal Bulguları 49
4.3 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Biyokimyasal Bulguları .. 49
4.4 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcılara ait Korelasyonlar 54
4.4.1 DOS ve Tükürükte İncelenen Proteinlerin Birbiriyle Olan Korelasyonları 54
4.4.2 DOS ve Tükürükte İncelenen Proteinlerin ve Klinik Periodontal indekslerin Korelasyonları 63
4.5 ROC Eğrisi Analizi 67
4.6 Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Demografik Bulguları 75
4.7 Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Tüm Ağız Klinik Periodontal Bulguları 76
4.8 Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Örnek Alınan Dişlere Ait Klinik Periodontal Bulguları 77
4.9 Dişeti Örneklerinde Değerlendirilen Biyobelirteçlerin Gen Ekspresyon Düzeyleri 78
4.10 Dişeti Örneklerinde İncelenen Genlerin Birbiriyle Korelasyonları 82
4.11 Dişeti Örneklerinde İncelenen Genlerin Klinik Parametrelerle Korelasyonları 84
5. TARTIŞMA 87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 92
KAYNAKÇA 93
EKLER 122
EK-1. Özgeçmiş 122
EK 2. Etik Kurul Onay Belgesi 123
EK 3. Etik Kurul Revizyon Onay Belgesi 126

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca vizyonuyla bana ışık tutan ve yol gösteren, klinik ve akademik tecrübelerini benden esirgemeyen, tez çalışmamda büyük katkısı bulunan değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Cüneyt Asım ARAL'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca tez konumun belirlenmesi sırasında görüş ve önerileri ile destek olan tezimin bilimsel araştırmalar projesi kısmında, laboratuvar aşamalarında ve istatistiksel analizlerimde bana büyük katkıları olan, uzmanlık eğitimim boyunca her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Kübra ARAL'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi, tecrübe ve deneyimlerini paylaşan kıymetli hocalarım, Dr. Öğr. Üyesi Arife SABANCI, Dr. Öğr. Üyesi Vesile Elif TOY ve Dr. Öğr. Üyesi Ömer Alperen KIRMIZIGÜL'e,

Tez projemin laboratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde büyük emekleri olan değerli hocamız Prof. Dr. Ahmet KOÇ, Dr. Öğr. Üyesi. Muhammed DÜNDAR ve Öğr. Gör. Nazmi ÖZGEN'e,

Asistanlık sürecinde birbirimize destek olduğumuz saygıdeğer asistan hekim arkadaşlarıma ve uzmanlık sürecimde dostluğuyla her zaman destek olan kıymetli arkadaşım Beyhan AKALIN'a,

Bugünlere gelebilmemde büyük emekleri olan, her zaman yanımda olan, desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen annem Sakine DOĞAN, babam Mustafa DOĞAN ve tüm aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Periodontal Hastalığın Patogenezinde Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Proteinlerinin İncelenmesi

Amaç: Mitokondri ile endoplazmik retikulum arasındaki kontakt (MERK) kalsiyum sinyalizasyonu ve apoptozun düzenlenmesi gibi birçok önemli olayda görev alır. Bu çalışmanın amacı MERK proteinleri VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75 ve VDAC'ın farklı periodontal duruma sahip bireylerde DOS, tükürük ve dişeti düzeylerini araştırmaktır. Aynı zamanda ROS, Ca ve CASP3 düzeylerini de inceleyerek MERK proteinlerin apoptoz, kalsiyum metabolizması ve oksidatif stres ile ilişkisini de araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Sistemik açıdan sağlıklı 48 birey periodontal durumlarına göre (periodontal sağlıklı (n=16), gingivitis (n=16) ve periodontitis (n=16)) 3 gruba ayrılmıştır. MERK ile ilişkili yapılardan VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75 ve VDAC ile inflamasyon ile ilişkili yapılar CASP3, kalsiyum ve ROS'un tükürük ve DOS düzeyleri ELISA ile incelenmiştir. Gen ekspresyon analizleri için ise 60 adet farklı katılımcı eşit sayıda ve aynı periodontal hastalık gruplarına ayrılmış ve gen ekspresyon düzeyleri dişeti örneklerinde RT-qPCR ile incelenmiştir.

Bulgular: Periodontitisli hastalarda VAPB, GRP75, VDAC, CASP3 ve ROS DOS toplam miktarı artmışken PTPIP51 toplam miktarı azalmış olarak bulundu ($p<0.05$). VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, VDAC, CASP3, Ca ve ROS DOS konsantrasyonlarının ise periodontitisli hastalarda azaldığı saptandı ($p<0.05$). Dişetinde ise perioodontitisin varlığının PTPIP51, IP3R, GRP75, CASP3, ROS ve ATP2B1 gen ekspresyon seviyelerini yukarı yönlü regüle ettiği, VAPB ve VDAC gen ekspresyon seviyelerini ise aşağı yönlü regüle ettiği saptandı ($p<0.05$). CASP3, Ca ve ROS ile PTPIP51 arasında negatif ve GRP75 ile de pozitif korelasyon gözlendi ($p<0.05$).

Sonuç: MERK proteinleri VAPB, GRP75, VDAC ve PTPIP51 periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayabilir. Periodontal hastalığın patogenezinde apoptoz, oksidatif stres ve kalsiyum mekanizması ile PTPIP51 ve GRP75 proteinleri ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: MERK, Periodontitis, Gingivitis, Mitokondri, ER

ABSTRACT

Investigation of Mitochondria-Endoplasmic Reticulum Contact Proteins in the Pathogenesis of Periodontal Disease

Objective: Mitochondria–endoplasmic reticulum contact sites (MERCs) are involved in essential cellular processes such as calcium signaling and apoptosis regulation. This study aimed to investigate the levels of MERC-related proteins (VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, and VDAC) in saliva, gingival crevicular fluid (GCF), and gingival tissue of individuals with varying periodontal conditions. Additionally, it evaluated levels of reactive oxygen species (ROS), calcium, and caspase-3 (CASP3) to explore the relationship between MERC proteins and oxidative stress, calcium metabolism, and apoptosis.

Materials and Methods: Forty-eight systemically healthy participants were divided into three groups: periodontally healthy (n=16), gingivitis (n=16), and periodontitis (n=16). Protein levels in saliva and GCF were measured using ELISA. Gingival tissue samples were obtained from 60 individuals across the same groups for gene expression analysis using RT-qPCR.

Results: In periodontitis patients, total levels of VAPB, GRP75, VDAC, CASP3, and ROS in GCF were elevated, whereas PTPIP51 was decreased ($p<0.05$). However, the concentrations of all measured markers in GCF were significantly reduced ($p<0.05$). In gingival tissue, gene expressions of PTPIP51, IP3R, GRP75, CASP3, ROS, and ATP2B1 were upregulated, while VAPB and VDAC were downregulated ($p<0.05$). GCF CASP3, calcium, and ROS levels were negatively correlated with PTPIP51 but positively correlated with GRP75 ($p<0.05$).

Conclusion: MERC-related proteins VAPB, GRP75, VDAC, and PTPIP51 may play a role in the pathogenesis of periodontititis. PTPIP51 and GRP75 may be associated with apoptosis, oxidative stress, and calcium mechanisms in the progression of periodontal disease.

Keywords: MERC, Periodontitis, Gingivitis, Mitochondria, ER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

% : Yüzde
°C : Derece, Celsius
Ca : Kalsiyum
DM : Diabetes Mellitus
DNA : Deoksiribonükleik Asit
DOS : Dişeti Oluğu Sıvısı
ELISA : Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi
F. Nucleatum : Fusobacterium Nucleatum
Gİ : Gingival İndeks
GRP75 : Glikozla Düzenlenen Protein 75
HbA1c : Glikozile Hemoglobin
IG : İmmünglobülin
IL-1β : İnterlökin-1 beta
IL-6 : İnterlökin-6
IP3R : Inositol 1,4,5-Trifosfat Reseptörü
KAK : Klinik Ataşman Kaybı
KAS : Klinik Ataşman Seviyesi
LPS : Lipopolisakkarit
MFN1 : Mitofusin 1
MFN2 : Mitofusin 2
MAM : Mitokondri İlişkili Membranlar
MDP : Mikrobiyal Dental Plak
MERK : Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Bölgeleri
ml : Mikrolitre
ATP2B1 : Plazma Membranı Kalsiyum Taşıyan ATPaz 1
Ml : Mililitre
mm : Milimetre
MMP : Matris Metalloproteinaz
MOM : Mitokondri Dış Membranı
ng : Nanogram
nm : Nanometre

P. Gingivalis *: Porphyromonas Gingivalis*

PBS : Fosfat Tamponlu Solüsyonu

PCR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Pİ : Plak İndeksi

PINK1 **:** PTEN Tarafından İndüklenen Kinaz 1

PMNL : Polimorfonükleer Lökosit

PTPIP51 : Protein Tirozin Fosfataz Etkileşimli Protein 51

RNA : Ribonükleik Asit

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

RT-Qpcr **:** Ters Transkripsiyon Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SCD : Sondalanan Cep Derinliği

SIGMAR1 : Sigma-1 Reseptörü

SK **:** Sondalamada Kanama

TMB **:** Tetrametilbenzidin

TNF-α : Tümör Nekroz Faktörü-Alfa

UPR : Katlanmamış Protein Yanıtı

VAPB : Vezikül-İlişkili Membran Proteini-İlişkili Protein B

VDAC : Voltaj Bağımlı Anyon Kanalı

WB **:** Western Blot Analizi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No ..... **Sayfa No**

Şekil 2.1. Gingivitis klinik görünümü 7

Şekil 2.2. Sağlık durumundan gingivitise ve nihayetinde periodontitise geçişi takiben ortaya çıkabilecek çeşitli senaryolar 7

Şekil 2.3. Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Noktası (MERK) 20

Şekil 2.4. MERK'te, VAPB- PTPIP51 ve IP3R-GRP75-VDAC Kompleksi 22

Şekil 2.5. ATP2B1 geni ile PMCA1 ilişkisi 25

Şekil 2.6. MERK disfonksiyonu 28

Şekil 3.1. Çalışma planı 37

Şekil 3.2. Kağıt şerit ile DOS örneği toplanması 39

Şekil 3.3. Kağıt şeritlerle toplanan DOS'un hacimsel analizi için kliniğimizde kullandığımız periotron cihazı 39

Şekil 3.4. IP3R için Standart Çözeltilerin Hazırlanışı 41

Şekil 3.5. ELISA plate okuyucu 42

Şekil 3.6. GRP75, CASP3, VAPB, PTPIP51, VDAC, IP3R, ROS Absorbans-Konsantrasyon Grafikleri 43

Şekil 3.7. Ca^{2+} konsantrasyonunu (mM) belirlemek için kullanılan formül 43

Şekil 3.8. RT-qPCR (StepOnePlus™, Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, ABD) cihazı 45

Şekil 4.1. VAPB, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 50

Şekil 4.2. PTPIP51, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 50

Şekil 4.3. IP3R, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 51

Şekil 4.4. GRP75, DOS toplam miktar, konsantrasyon ve tükürük toplam miktar değerleri ile dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmaları 51

Şekil 4.5. VDAC, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 52

Şekil 4.6. CASP3, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 53
Şekil 4.7. Ca, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 53
Şekil 4.8. ROS, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları 54
Şekil 4.9. Gingivitis Ca ROC Eğrisi Analizi 69
Şekil 4.10. Gingivitis ROS ROC Eğrisi Analizi 69
Şekil 4.11. Gingivitis IP3R ROC Eğrisi Analizi 70
Şekil 4.12. Gingivitis VDAC ROC Eğrisi Analizi 70
Şekil 4.13. Gingivitis PTPIP51 ROC Eğrisi Analizi 70
Şekil 4.14. Gingivitis VAPB ROC Eğrisi Analizi 71
Şekil 4.15. Gingivitis CASP3 ROC Eğrisi Analizi 71
Şekil 4.16. Gingivitis GRP75 ROC Eğrisi Analizi 71
Şekil 4.17. Periodontitis Ca ROC Eğrisi Analizi 73
Şekil 4.18. Periodontitis ROS ROC Eğrisi Analizi 73
Şekil 4.19. Periodontitis IP3R ROC Eğrisi Analizi 74
Şekil 4.20. Periodontitis VDAC ROC Eğrisi Analizi 74
Şekil 4.21. Periodontitis PTPIP51 ROC Eğrisi Analizi 74
Şekil 4.22. Periodontitis VAPB ROC Eğrisi Analizi 74
Şekil 4.23. Periodontitis CASP3 ROC Eğrisi Analizi 75
Şekil 4.24. Periodontitis GRP75 ROC Eğrisi Analizi 75
Şekil 4.25. VAPB'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 78
Şekil 4.26. PTPIP51'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 79
Şekil 4.27. IP3R'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 79
Şekil 4.28. GRP75'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 80
Şekil 4.29. VDAC'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 80
Şekil 4.30. CASP3'ün dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 81

Şekil 4.31. ROS'un dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması. 81
Şekil 4.32. ATP2B1'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 82

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No.....Sayfa No

Tablo 2.1. Periodontal ve Periimplant Hastalıklar ve Durumlar Sınıflaması (2017)..... 5

Tablo 2.2. Periodontitisin evreleme ve derecelendirme sistemi 8

Tablo 2.3. Periodontitisin evreleri..... 9

Tablo 2.4. Periodontitisin dereceleri 11

Tablo 3.1. RT-qPCR Primer Sekansları 44

Tablo 4.1. DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların demografik verileri..... 47

Tablo 4.2. DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların tüm ağız ortalama klinik periodontal parametreleri ve DOS hacmi değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. 48

Tablo 4.3. DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların örneklem bölgesi klinik periodontal parametreleri ve bu değerlerin gruplar arası karşılaştırılması..... 49

Tablo 4.4. DOS örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin toplam miktar açısından korelasyonu 55

Tablo 4.5. DOS örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin konsantrasyon açısından korelasyonu 56

Tablo 4.6. Tükürük örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin toplam miktar açısından korelasyonu 59

Tablo 4.7. DOS örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin toplam miktar ve konsantrasyonu ile tükürük örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin toplam miktarının korelasyonu..... 60

Tablo 4.8. Çalışma geneli klinik parametrelerle DOS ve tükürük biyobelirteçlerinin korelasyonu 63

Tablo 4.9. Gingivitis grubunun ROC eğrisi analiz sonuçları..... 67

Tablo 4.10. Periodontitis grubunun ROC eğrisi analiz sonuçları 72

Tablo 4.11. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların demografik verileri..... 76

Tablo 4.12. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların tüm ağız ortalama klinik periodontal parametre değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması..... 76

Tablo 4.13. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların örneklem bölgesi klinik periodontal parametreleri ve bu değerlerin gruplar arası karşılaştırılması..... 77

Tablo 4.14. Dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları..... 82
Tablo 4.15. Dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin, çalışma geneli klinik parametrelerle korelasyonları 84

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, patogenezinde mikrobiyal dental plak içeriside bulunan bakterilerin primer rol oynadığı kronik enflamatuar bir durumdur(1). Mikrobiyal dental plaktaki bakterilerin çoğalmasına karşı konak immün yanıtı oluşur. *Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi periodontal patojenler, konak yanıtını manipüle ederek inflamasyonun şiddetini artırır ve periodontal doku yıkımına neden olur(2). Konak yanıtı, makrofaj ve nötrofil gibi hücreler aracılığıyla İnterlökin-1β (IL-1β) ve Tümör nekroz faktörü-α (TNF- α) gibi proinflamatuar sitokinlerin yanı sıra matriks metalloproteinazların (MMP) salgılanmasını tetikleyerek periodontal dokularda ve alveolar kemikte yıkıma neden olur(3).

Periodontal hastalıklar birçok alt gruba ayrılmakla birlikte en yaygın görülen formları gingivitis ve periodontitistir(4). Gingivitis, dişetiyle sınırlı kalan ve ataçman kaybı veya alveolar kemik kaybına yol açmayan bir inflamasyondur. Geri dönüşümlü inflamatuar değişikliklerle karakterize olup, dişeti oluğu sıvısında (DOS) artış ve sondalamada kanama, gingivitisin klinik bulguları arasında yer almaktadır. (5). Eğer tedavi edilmezse periodontal ligament ile alveolar kemikte geri dönüşü olmayan hasarın görüldüğü periodontitis gelişir(6). Periodontitis yetişkinlerde diş kaybının başlıca nedenlerinden olup (7), periodontal cep oluşumu, bağ dokusu yıkımı ve alveolar kemik kaybı periodontitisin temel bulguları arasındadır(8). Ayrıca, periodontitisin sistemik sağlık üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve solunum yolu hastalıkları gibi çeşitli sistemik durumlarla ilişkili olduğu bilinmektedir.(6).

Mitokondri ve endoplazmik retikulum (ER), hücresel homeostazın korunmasında kritik rol oynayan organeller olup, mitokondri ATP üretimi ve enerji metabolizmasını düzenlerken, ER ise protein sentezi ve katlanması ve hücresel kalsiyum depolama gibi önemli işlevleri yerine getirir(9). Bu iki organel arasındaki iletişim, hücresel işlevlerin sürdürülebilmesi için hayati önem taşımakta olup, bu bağlantı mitokondri-endoplazmik retikulum kontak bölgeleri (MERK) aracılığıyla sağlanmaktadır(10). MERK, mitokondri ve ER arasında fiziksel bağlantılar oluşturarak hücresel kalsiyum homeostazı, lipit metabolizması, oksidatif stres yanıtı ve apoptozun düzenlenmesinde önemli rol oynar (11). Bu temas noktalarında yer alan mitofusin-1 (MFN1), mitofusin-2 (MFN2), vezikül-ilişkili membran proteini-ilişkili protein b (VAPB), protein tirozin fosfataz etkileşimli protein 51 (PTPIP51), glikozla düzenlenen protein-75 (GRP75), inositol 1,4,5-trifosfat

reseptörü (IP3R) ve voltaj bağımlı anyon kanalı (VDAC) gibi spesifik proteinler, organeller arası kalsiyum transferini ve sinyal iletimini koordine ederek hücresel fonksiyonları düzenler (12). MERK'lerin dengesinin bozulması, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres ile ilişkilendirilmekte olup, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik sendrom ve periodontal hastalık gibi durumlarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir(10).

Periodontal hastalık ile MERK ilişkisi, literatürde sınırlı sayıda *in vitro* ve klinik çalışmada incelenmiştir (13, 14). Periodontal patojenlerden olan *P.gingivalis* ve *F.nucleatum* ile muamele edilen insan gingival fibrast hücrelerinde, MERK ilişkili proteinlerinden MFN1, IP3R, GPR75, PINK1, SIGMAR1'in gen ekspresyonlarında disregülasyon olduğu rapor edilmiştir (13). MERK ile periodontal hastalık ilişkisini inceleyen klinik bir çalışmada ise MERK proteinlerinden MFN1'in DOS düzeylerinin gingivitis ve periodontitisli hastalarda anlamlı oranda arttığı ve bu proteinin periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir(14). Fakat literatürdeki hiçbir çalışmada VAPB, PTPIP51, IPR3, GRP75 ve VDAC gibi önemli MERK proteinlerinin periodontal hastalığın patogenezindeki olası rolü araştırılmamıştır. Dolayısıyla bu mevcut çalışmanın amacı MERK proteinlerinden VAPB, PTPIP51, IPR3, CASP-3, GRP75, VDAC ile ve hücresel süreçlerde önemli rol oynayan Kaspaz-3 (CASP3), reaktif oksijen türleri (ROS) ve kalsiyumun DOS, tükürük ve dişeti düzeylerinin farklı periodontal durumlara sahip katılımcılarda incelenmesiydi. Böylelikle, MERK proteinlerinin periodontal hastalığın patogenezindeki olası rolüne dair mevcut bilgiler genişletilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum terimi, dişlerin çevresindeki dokuları tanımlamak için kullanılır ve dişeti, periodontal ligament, alveolar kemik ve sement olmak üzere 4 ana yapıdan oluşur(15).

2.1.1. Dişeti (Gingiva)

Sağlıklı dişeti, periodonsiyumun öğelerini ve diş kökünü mine-sement birleşim yerinin hemen koronaline kadar kaplayan bir yapıdır ve histolojik olarak üstte epitel yapısı altta ise bağ dokusu bulunmaktadır(16). Epitel hücreleri, patojenlere karşı fiziksel bir bariyer görevi görerek periodontal dokuların korunmasına katkıda bulunmaktadır(17). Epitel yapı, doğası gereği ağırlıklı olarak hücresel komponentlerden oluşurken, lamina propia daha az hücresel komponentler içermekte olup, temel olarak fibröz ve fibröz olmayan proteinler, büyüme faktörleri, mineraller, lipitler ve sudan oluşan kompleks bir ağ yapısı şeklindedir(16). Bu iki bileşen, gingivitis ve periodontitisin başlangıcı ile ilişkilendirilen en erken tepkilerin düzenlenmesinden sorumludur(18, 19).

Dişetini serbest (marjinal) dişeti, yapışık dişeti ve interdental dişeti olarak üç farklı şekilde görülebilir (20). Dişeti marjininden cep tabanına kadar olan mesafeye serbest dişeti adı verilir. Genişliği yaklaşık 1 mm kabul edilen bu bölüm diş yüzeyinden bir periodontal prob yardımı ile ayrılabilir. Serbest dişeti ile mukogingival birleşim arasında kalan bölge yapışık dişeti bölgesidir. Birbirlerine komşu iki dişin arasında kalan dişeti ise interdental dişeti olarak adlandırılır. Yapışık dişetinden apikale doğru gidildiğinde ise mukogingival birleşim tarafından ayrılan daha mobil ve vaskülarizasyonu yüksek bir yapı olan alveoler mukoza ile karşılaşılır(21).

2.1.2. Periodontal Ligament (PDL)

Periodontal ligament, diş kökünün sement tabakasını çevreleyerek alveolar kemiğin iç duvarına bağlayan, kompleks vasküleritede hücresel yapıya sahip bir bağ dokusudur(22). Bu yapı, kemik içinde yer alan vasküler kanallar aracılığıyla kemik iliği boşlukları ile bağlantıdadır(23). Yaklaşık olarak 0,2 mm kabul edilen periodontal ligament boşluğunun genişliği fizyolojik ya da patolojik durumlara göre değişiklik gösterebilir. Periodontal ligamentin kapladığı alan, henüz sürmemiş veya fonksiyonda

olmayan dişlerde azalma gösterirken, hiperfonksiyona maruz kalmış dişlerde artış göstermektedir(24).

2.1.3. Alveol Kemik

Alveolar proses, maksilla ve mandibulanın bazal kemiğinden özelleşmiş bir uzantı olup diş soketini oluşturan ve destekleyen yapıdır(25). Periodontal membran, sement ve bunlarla beraber alveolar kemik, dişlerin tutunma mekanizmasını oluşturur ve ana işlevi çiğnemede ve diğer fonksiyonlarda oluşan diş temasları sonucu ortaya çıkan kuvvetleri dağıtmaktır(26).

2.1.4. Sement

Sement, dişin anatomik kök bölgesinin dış yüzünü çepeçevre saran avasküler ve mineralize bir dokudur(27). Primer (asellüler) ve sekonder (sellüler) olmak üzere temel olarak iki tip sement bulunmaktadır. (28) Sementin oluşumu, kök gelişimi ve periodonsiyum açısından önemli bir süreçtir. Sement yapısı, inert kök yüzeyi ile periodontal ligamentin kollajenöz ve hücresel ağı arasındaki yapısal ve biyolojik bağlantıyı sağlamaktadır(29).

2.2. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalıklar, yetişkinlerde diş kaybının ana nedenini oluşturmakla birlikte dişleri çevreleyen dokulardaki inflamatuar hastalıklarının %95'inden fazlasını oluşturur (30). Periodontal hastalığın başlangıcı ve yayılması, konakçının savunma mekanizmalarıyla etkileşime girerek inflamasyona ve hastalığa yol açan kommensal oral mikrobiyotanın disbiyozu yoluyla gerçekleşir (20, 31).

2.3. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıkların etiyolojisi ve patogenezi hakkında tanımlama yapabilmek adına periodontal hastalıklar sınıflandırılmıştır (32).

2.3.1. 2017 Periodontal ve Periimplant Hastalıklar ve Durumların Sınıflaması

1999 sınıflaması, American Academy of Periodontology (AAP) ve European Federation of Periodontology (EFP)'nin yürütmüş oldukları çalışma ile "Periodontal ve Periimplant Hastalıklar ve Durumların Sınıflaması 2017" olarak değiştirilmiştir(33, 34).

2017 Periodontal Hastalık Sınıflaması periodontal sağlık-dişeti hastalıkları ve durumları, periodontitis ve periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar olmak üzere üç ana başlık altında toplanmıştır (35).

Tablo 2.1. Periodontal ve Periimplant Hastalıklar ve Durumlar Sınıflaması (2017)

PERİODONTAL VE PERİİMPLANT HASTALIKLAR VE DURUMLAR SINIFLAMASI (2017)
1) PERİODONTAL SAGLIK-DİŞETİ HASTALIKLARI VE DURUMLARI
Periodontal Sağlık ve Dişeti Sağlığı
Biyofilm Tarafından İndüklenen Gingivitis
Biyofilm Varlığından Bağımsız Gingivitis
2)PERİODONTİTİS
Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
Sistemik Hastalıkların Bulgusu Olarak Periodontitis
Periodontitis (Evrelendirme-Derecelendirme)
3) PERİODONSİYUMU ETKİLEYEN DİĞER DURUMLAR (GELİŞİMSEL VE EDİNİLMİŞ DURUMLAR)
Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Hastalıklar ve Durumlar
Diğer Periodontal Durumlar (Periodontal ve Endodontik Apseler)
Mukogingival Deformiteler ve Diş Çevresi Anormal Durumlar
Travmatik Okluzal Kuvvetler
Diş veya Protez İlişkili Predispozan Faktörler
4) PERİİMPLANT HASTALIKLAR VE DURUMLAR
Periimplant Sağlık
Periimplant Mukositis
Periimplantitis
Periimplant Yumuşak ve Sert Doku Yetersizlikleri

Gingivitis

Dental plağın sebep olduğu gingivitis, bölge düzeyinde dental plak biyofilmi ve konağın immün-inflamatuar tepkisi arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan, dişeti içinde

kalan ve periodontal ataşmanlara henüz ulaşmamış inflamatuar bir lezyon olarak tanımlanmaktadır. Bu enflamasyon dişetiyle sınırlı kalır ve mukogingival bileşkenin ötesine uzanmaz ve bölgedeki dental plak seviyelerinin azaltılmasıyla geri döndürülebilir(36).

Dişeti enflamasyonu spesifik olmayan iltihabi bir durumdur ve bu nedenle dişeti sınırında ve apikalinde sürekli plak biyofilmi birikiminin bir sonucudur(37). Uzun dönemli çalışmalar, ataşman kaybına ilerlemeyen bölgelerin zaman içinde daha az dişeti enflamasyonu ile karakterize olduğunu, ilerleyen bölgelerde ise sürekli olarak daha yüksek dişeti enflamasyonu seviyeleri olduğunu göstermiştir(38). Dişeti enflamasyonu için primer etiyolojik faktör mikrobiyal dental plak olmasına karşın genetik, çevresel etkenler ve yaş, cinsiyet, sistemik durum, oral hijyen alışkanlığı, sigara kullanımı gibi risk faktörleri gingivitisin periodontitis tablosuna geçişini etkilemektedir. Sonuç olarak gingivitis, periodontitis gelişimi açısından önemli bir risk unsurudur ve periodontitis başlangıcı için gereken bir ön koşul olarak kabul edilmektedir(39).

Gingivitis tablosunda klinik olarak dişetinde kızarıklık ve büyüme, bıçak sırtı kenarlı dişeti marjininin kaybı, sondalamada kanama ve rahatsızlık olarak görülmektir(40). Hastaların semptomları ise dişeti kanaması, metalik/değişmiş tat ve ağız kokusu, ağrı, şişmiş kırmızı dişeti görünümü, yemek yemede zorluk, ağız sağlığı kaynaklı kalitesinde azalma olarak saptanmıştır(41).

En erken gözlenen klinik bulgulardan biri de dişeti oluğu sıvısında gözlenen hacim artışıdır; bu sıvının hacmi etkilenen bölgedeki inflamasyon düzeyini değerlendirmek için klinik çalışmalarda ayrıntılı şekilde incelenmiştir(42, 43) Histopatolojik olarak görülen değişiklikler ise; birleşim epiteliyle ilişkili kan damarlarının enflamasyonu, kollajen liflerindeki demet yapısında değişiklikler, normalde epitelde bulunan retepeglerin dişeti bağ dokusuna uzanması, fibroblastların sitopatolojik değişiklikleri ve ilerleyici bir enflamatuvar hücre infiltrasyonu yer almaktadır(44).

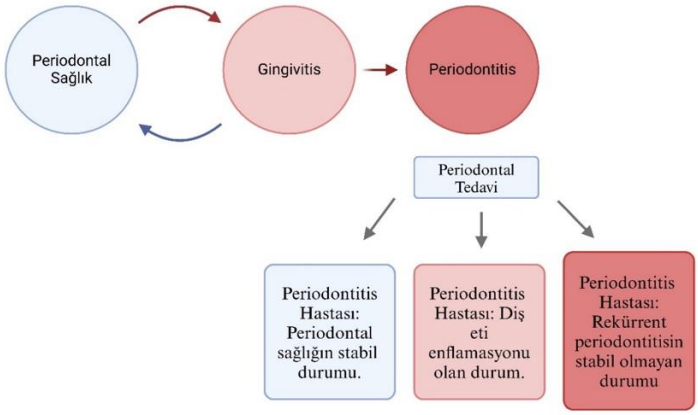
Kronik gingivitisi olan hastalar için tedavi, esas olarak ağız içi bakterilerin ve bunlarla ilişkili kalsifiye ve kalsifiye olmayan birikintilerin azaltılmasına yöneliktir (1, 45). Kronik dişeti enflamasyonu olan, ancak belirgin kalsifikasyon, dişeti morfolojisinde değişiklikler veya ağız sağlığını etkileyen sistemik hastalıkları olmayan hastalar, yalnızca kişisel plak kontrolünün iyileştirilmesinden oluşan bir tedavi rejimine de yanıt verebilir sonuç olarak gingivitis geriye dönebilen bir hastalıktır(46, 47). Tedavisi etyolojik faktörün (plak/diş taşı) ortadan kaldırılmasıdır(48).



Şekil 2.1. Gingivitis klinik görünümü

Periodontitis

Periodontitis; mikrobiyal dental floranın bozulmasıyla karakterize, dental plak biyofilmleri ile ilişkili, diş destek yapılarının ilerleyici yıkımı ile devam eden kronik, multifaktöriyel ve inflamatuar bir hastalıktır(49). Temel olarak klinik özellikleri dişeti kanaması ve periodontal cep oluşumunu takiben ataçman kaybına bağlı olarak ortaya çıkan destekleyici periodontal doku kaybı olmakla beraber radyografik olarak doğrulanan alveolar kemik yıkımı ile karakterizedir(33).



Şekil 2.2. Sağlık durumundan gingivitise ve nihayetinde periodontitise geçişi takiben ortaya çıkabilecek çeşitli senaryolar

2017 Dünya Periodontoloji Çalıştayı bağlamında bir hasta aşağıdaki koşulları sağladığı durumlarda periodontitis vakası olarak kabul edilir (50). Bunlar interdental

klinik ataşman kaybının (KAK) komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte tespit edilmesi; bukkal veya lingual KAK'nın 3 mm ve daha fazla olması ile periodontal cep derinliğinin 3 mm'den fazla olması durumunun 2 veya daha fazla dişte tespit edilebilir olması fakat gözlenen KAK periodontal olmayan nedenler (travma kaynaklı dişeti çekilmeleri, dişin servikal bölgesinde kadar uzanan diş çürükleri, üçüncü büyük azı dişinin malpozisyonu veya çekimi ile ilişkili ikinci büyük azı dişinin distal bölgesinde kak varlığı, marjinal periodonsiyum boyunca drene olan bir endodontik lezyon, vertikal bir kök kırığının oluşması) kaynaklı olmamasıdır (35).

Tablo 2.2. Periodontitisin evreleme ve derecelendirme sistemi

		Hastalık Şiddeti ve Hastalığın Yönetimin Karmaşıklığı			
		Evre I: Başlangıç düzeyde periodontitis	Evre II: Orta şiddetli periodontitis	Evre III: Şiddetli periodontitis ve potansiyel olarak diş kaybetme riski	Evre IV: Yaygın diş kaybının mevcut olduğu ve dentisyon kaybı riski olan ileri periodontitis
İlerleme hızı, öngörülen tedavi yanıtı ve sistemik sağlık üzerine etkileri ya da riskleri	Derece A	Bireysel Evre ve Derece Tayini			
	Derece B				
	Derece C				

Evreleme Sistemi

Evrelemede sondalama cep derinliği miktarı, klinik ataşman kaybı, alveoler kemik kaybı miktarı, kemik defekti varlığı ve varsa yıkım paterni ve şiddeti, furkasyon tutulumu, mobilite ve periodontitis kaynaklı diş kaybı yaşanması gibi birçok faktör birlikte değerlendirilerek periodontal hastalığın şiddeti belirlenmektedir (35).

Tablo 2.3. Periodontitisin evreleri

Periodontitis Evreleri		Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV
Şiddet	Yıkımın en fazla olduğu bölgedeki interdental ataşman kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı	Koronal 1/3 (<%15)	Koronal 1/3 (%15-%33)	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanan	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanan
	Diş kaybı	Periodontitis sebebiyle kaybedilen diş yok		Periodontitis sebebiyle ≤ 4 diş kaybı	Periodontitis sebebiyle ≥ 5 diş kaybı
Komplekslik	Lokal	Maksimum sondlama derinliği ≤4mm. Genellikle horizontal kemik kaybı	Maksimum sondlama derinliği ≤5mm. Generalize horizontal kemik kaybı	Evre II'ye ek olarak: -Sondlama derinliği ≥6 mm -Vertikal kemik kaybı ≥3 mm -Sınıf II ya da III furkasyon defektleri -Orta şiddette kret defekti	Evre III'e ek olarak: -Çiğnemede fonksiyon kaybı -Sekonder oklüzal travma (diş mobilite derecesi ≥2) -Şiddetli alveoler kret defekti -Okluzyon kaybı ya da bozulması -Diş sayısının 20'den az olması
Boyut ve Dağılım	Tanımlayıcı	Her evre için tutulumun; lokalize (%30'undan az tutulmuş), generalize veya molar/kesici patern olarak belirtilmesi.			

Evre I Periodontitis

Gingivitis hastasındaki mevcut dişeti iltihabı ve biyofilm yığılımının uzun süreli devam etmesine yanıt olarak enflamasyon ilerlemiş ve hasta artık evre I periodontitis olarak adlandırılmıştır. Bu evre başlangıç periodontitis olarak tanımlandığı için erken tanı ve duyarlı bireylerden oluşan bir popülasyonun oluşturulması, daha uygun maliyetli olabilecek erken müdahale ve takip imkanları sunar(35). Evre I periodontitis hastalarında sondalama derinliği 4 veya 4 mm'den daha az olmakla beraber 1-2 mm klinik ataşman kaybı veya radyografik olarak kökün koronal 1/3'ünden daha az kemik kaybı mevcuttur. Kemik kayıpları varsa çoğunlukla horizontal paternde görülmektedir ve periodontitis kaynaklı diş kaybı henüz yaşanmamıştır. (35).

Evre II Periodontitis

Evre II periodontitis, yerleşik periodontitis olarak tanımlanır ve dişi destekleyen yapıların karakteristik hasarlarını içerir. Evre I periodontitiste olduğu gibi periodontitis kaynaklı diş kaybı bu evrede de henüz yaşanmamıştır. Radyografik olarak kökün koronal 1/3'ünden daha fazla bir kemik kaybı mevcuttur ya da klinik ataşman kaybının en fazla olduğu bölgede KAK 3-4 mm olarak izlenir. Periodontal sondalama derinliği ise 5 veya 5 mm'den daha azdır. Kemik kayıpları çoğunlukla horizontal izlenir(35).

Evre III Periodontitis

Evre III periodontitiste, diş çevresi ataşman yapısında önemli hasarlar bulunmaktadır ve ileri tedaviler uygulanmadığı takdirde diş kaybı meydana gelebilir. Bu evrede 5 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı, 6 mm ya da daha fazla sondalama derinliği, 3 mm ya da daha fazla vertikal kemik kaybı ve kökün orta ya da apikal üçlüsüne uzanan radyografik kemik kayıpları görülür. Periodontitis sebebiyle diş kaybı görülebilir ancak bu kayıp sayısı en fazla 4'tür. Sıklıkla II. ya da III. derece furkasyon tutulumları ve alveol krette orta şiddette defektler mevcuttur(35). Diş kaybı olması durumuna rağmen çiğneme fonksiyonu korunmaktadır ve periodontitis tedavisi karmaşık fonksiyon rehabilitasyonu gerektirmez(35).

Evre IV Periodontitis

Daha ileri evre olan IV. evre periodontitiste, periodontal destek yapılarında ciddi miktarda diş kaybına neden olabilecek ölçüde hasar bulunmaktadır bu da çiğneme fonksiyonunun kaybı anlamına gelir. Periodontitisin doğru şekilde şekilde kontrol altına alınmaması ve doğru tedavi yapılmaması halinde dişlerin kaybedilme riski çok yüksektir.

Bu evre, kökün apikal kısmına kadar uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ve/veya çoklu diş kaybı hikayesi ile karakterize edilmektedir. İnterdental KAK 5 mm veya daha fazladır, kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan radyografik kemik kaybı mevcuttur ve periodontitis sebebiyle en az 5 diş kaybedilmiştir(35).

Dereceleme Sistemi

Periodontitis 2017 sınıflamasında A, B ve C olarak sınıflandırılmıştır. Kontrolsüz diyabet veya sigara kullanımı gibi bilinen risk faktörleri, periodontitisin ilerleme hızını etkiler ve sonuç olarak bir aşamadan diğerine geçişi kolaylaştırabilir. Obezite, fiziksel aktivite, beslenme veya spesifik genetik faktörler gibi risk faktörlerinin de yapılacak çalışmalarla değerlendirmeye katkıları bulunabilir(35) bu nedenle derecelendirme yapılırken bu faktörler de dikkate alınmıştır. (35).

Tablo 2.4. Periodontitisin dereceleri

Periodontitis Dereceleri			Derece A: Yavaş Hızda İlerleme	Derece B: Orta Hızda İlerleme	Derece C: Hızlı İlerleme
Primer Kriter	İlerleme hızına ait doğrudan kanıtlar	Radyografik Kemik Kaybı veya KAK	Son 5 yılda herhangi bir kayıp bulgusu yok	Son 5 yılda <2mm kayıp var	Son 5 yılda ≥2mm kayıp var
	İlerleme hızına ait dolaylı kanıtlar	%Kemik Kaybı/Yaş	<0.25	0.25- 1.0 arası	>1.0
		Vaka Fenotipi	Fazla miktarda biyofilm birikimine rağmen düşük derecede yıkım	Biyofilm birikim miktarıyla uyumlu yıkım	Biyofilm miktarına göre fazla derecede yıkım. Hızlı ilerleyen ve/veya erken başlangıçlı hastalık dönemlerini düşündüren spesifik klinik modeller
Derecede Modifikasyon Yapan Faktörler	Risk Faktörleri	Sigara	-	Günde 10'dan daha az sigara kullanıyor.	Günde 10 ya da daha fazla sigara kullanıyor
		DM	-	HbA1c< 7 olan DM hastası	HbA1c≥7 olan DM hastası
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	Enflamatuar Yük	hsCRP	<1 mg/L	1-3mg/L	> 3 mg/L

DM: Diabetes Mellitus, hsCRP: Yüksek duyarlı C reaktif protein

Derece A Periodontitis

Hastalık yavaş seyirli ilerlemektedir ve 5 yıldan daha uzun süreli takipte KAK ve radyografik kemik kaybı(RKK) görülmemektedir. Mevcut yıkıma oranla daha fazla dental biyofilm birikimi görülmektedir. Kaybedilen kemik miktarı yüzdesinin yaşa oranı 0.25'ten daha azdır. Bireyler sigara kullanmamaktadırlar ve DM tanısı almamışlardır (35).

Derece B Periodontitis

Hastalık orta derecede yıkımla ilerlemektedir. Son 5 yıllık hasta kayıtlarının olduğu durumlarda KAK ve radyografik kemik kaybı 2 mm'den az izlenmektedir. Hastanın geçmişine dair verilerin olmadığı durumda ise kaybedilen kemik miktarı yüzdesinin yaşa oranının 0.25-1.0 arasında olması gereklidir. Mevcut yıkım ile uyumlu dental biyofilm birikimi izlenmektedir. Bu faktörler hastayı Derece B olarak nitelendirmemiz için gerekli primer kriterler olarak kabul edilir. Günde 10 adetten az sigara kullanımı ve DM tanısı almış hastalarda HbA1c değerinin ise 7'den az olması gibi faktörler ise modifiye edici faktörler olarak kabul edilir (35).

Derece C Periodontitis

Hastalık ileri derecede yıkımla ilerlemektedir. Son 5 yıllık hasta kayıtlarının olduğu durumlarda KAK ve radyografik kemik kaybı 2 mm veya daha fazla izlenmektedir. Hastanın geçmişine dair verilerin olmadığı durumda ise kaybedilen kemik miktarı yüzdesinin yaşa oranının 1.0' den büyük olması gereklidir. Dental biyofilm birikimine göre beklenen yıkımdan çok daha fazla bir yıkım görülmektedir. Standart periodontal tedavi planlarının uygulanmasına rağmen beklenen yanıtın alınamaması, hastalığın beklenilenden daha hızlı ilerlemesi ya da erken başladığını düşündüren belirli klinik belirteçler; molar-keser tipi yıkım ile karakterizedir. Günde 10 adetten fazla sigara kullanımı ve DM tanısı almış hastalarda HbA1c değerinin 7 veya daha fazla olması gibi faktörler ise modifiye edici faktörler olarak kabul edilir (35).

2.4. Periodontal Hastalığın Etyopatogenezi

Dental plağın dişetinde enflamasyon gelişimi için primer faktör olduğu bildirilmiş olup (1) Bu dental plağa karşı oluşan yanıt hastalara göre çeşitlilik oluşturmaktadır (51, 52). Bazı bireylerin diğerlerine kıyasla daha fazla veya daha az derecede hatta farklı zaman dilimlerinde enflamasyon yanıtı gösterebildiği görülmüştür (53). Periodontitis, periodontal dokuların yaşa bağlı olmayan ancak yaşla ilişkili kompleks kronik

enflamasyonu olarak tanımlansa da sistemik ve çevresel faktörler konak immün yanıtını değiştirerek periodontal yıkımın daha ilerleyici hale gelmesine sebep olabildiği bildirilmiştir (54). Dental plakta bulunan bakteriler indirekt veya direkt olarak dokuda yıkıma sebep olabildiği saptanmıştır. İndirekt olarak gerçekleştirdikleri mekanizmada konak yanıtını uyardıkları, direkt olarak gerçekleştirdikleri mekanizmada ise patojenlerini periodontal dokulara invaze ederek hücrede nekroz meydana getirdikleri gözlenmiştir (55). Dental plak içerdiği bakterilerin yaşam koşulları sebebiyle subgingival ve supragingival alanlarda farklı karakterde oldığı gösterilmiştir (56). Subgingival bölgede yaşamını sürdürebilen gram negatif anaerob ve spiroket miktarındaki artış hastalığın ilerlemesini arttırdığı bildirilmiştir (57). Periodontitisin patogenezinde anahtar rolü oynayan mikroorganizmaların çoğu hayatta kalabilecekleri anaerobik, nemli ve sıcak ortam olan derin subgingival periodontal ceplerde baskındır (58). Özellikle kronik periodontitiste, biyofilm içinde bulunan endojen gram negatif patojen bakteriler (*Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcommitans, Tannerella forsythia, Treponema denticola*) konakta güçlü enflamatuar yanıt oluşturur (59). Örneğin bu bakterilerden *P. gingivalis* salgıladığı enzimleriyle (kollajenaz, proteaz, fibrinolizin, fosfalipaz A) periodonsiyumun yüzeyel tabakalarında direkt nekroz oluşturarak yıkıma sebep olur (60).

2.5. Periodontal Hastalığın Histopatolojisi

Periodontal hastalığın etiyopatogenezinde bahsedilen konak ve bakteri arasındaki dengenin bozulması sonucu periodontal sağlığın sekteye uğradığı ve oluşan enflamasyon sonucu nötrofillerin, makrofajların, plazma hücrelerinin ve lenfositlerin bağ dokusuna infiltre olduğu görülmüştür (61). Dental plağa karşı konak yanıtını tanımlanırken dört lezyon grubu saptanmıştır. Bu gruplardan ilk üçü ‘başlangıç’, ‘erken’ ve ‘yerleşik’ lezyonlar; ataçman ve kemik kaybının olmadığı gingivitis dönemini temsil ederken, ‘ilerlemiş’ lezyonda ataçman ve kemik kaybı klinik ve radyolojik olarak görülebilir hale geldiği için bu aşama periodontitisi temsil etmektedir (62).

2.5.1. Başlangıç Lezyonu

Sadece histolojik olarak tespit edilebilen ve subklinik olarak görülebilen bu lezyon, dental plak birikimini takiben 2-4 gün sonra izlenir (63). Plak birikimini takiben kolonize olan ilk mikroorganizmalar streptokoklardır ve bu mikroorganizmalar çeşitli enzimleri ve metabolik ürünleri ile birleşim epitelinin geçirgenliğini arttırarak daha fazla

bakteriyel ürünün girişine izin verir(64). Bu düşük dereceli enflamasyon sonucunda damarsal geçirgenlik artarak vasküler dilatasyon meydana gelir ve bu da hidrostatik basıncı arttırarak ödem oluşumuna sebep olur. Bu aşamada kollajen kaybı ve bağ dokusunda en fazla %5-10'luk bir yıkım görülebilir (63). Polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) adhezyon mekanizmaları ile endotele bağlanarak hücre içi migrasyonu izlenir (65). Nötrofillerin infiltrasyonu sonucunda ise konakta akut inflamatuar bir yanıt başlamış olur (66).

2.5.2. Erken Lezyon

Plak birikiminden 4-7 gün sonra gelişen, gingivitisin erken klinik belirtilerinin görülmeye başlandığı evredir (67). Post-kapiller venüllerin oluşumu ile vasküler geçirgenliğin daha da artması ve perivasküler inflamatuar infiltratların gelişmesiyle vasküler değişiklikler daha belirgin hale gelir bu sebeple dişeti eritemli bir görünüm alır ve sondalamada kanama görülebilir (68). Sonuç olarak, etkilenen dokularda sıvı akışında net bir artış meydana gelir. Bunu takiben DOS akışı daha da artar. Bu aşamada DOS'un doğası interstisyel sıvıdan enflamatuar eksüdaya dönüşür (69). Bu evrede enflamatuar infiltratta baskın olan hücre türleri nötrofil ve lenfositlerdir. Lenfositlerin %75'i T hücrelerinden oluşur. Fibroblastlarda dejenerasyon ve etkilenen bölgedeki bağ dokusu kollajeninde %60-70 oranında yıkım gözlenir (70).

2.5.3. Yerleşik Lezyon

Yerleşik lezyon plak birikimini takiben 14-21 gün civarında ortaya çıkmaktadır ve bu dönemi kronik gingivitis olarak tanımlanır. Tablonun erken lezyondan yerleşik lezyona ilerlemesinde biyofilmin bileşimi ve miktarı, konakçı duyarlılık faktörleri, yerel ve sistemik risk faktörleri rol oynar (71). Bu lezyonun belirleyici özelliği plazma hücreleri tarafından domine edilmesidir. Lezyonda bulunan lenfositlerin yaklaşık %30 kadarı T lenfosit olabilirken çoğunluğunu immünoglobulin taşıyan B hücreleri oluşturur. Lezyon ile sınırlı T hücreleri nispeten stabil kalabilirken, B hücreleri lezyonda ilerleyerek periodontal cep gelişimine sebep olabilir (72). Periodontal cebin epitel yapısında dejenerasyonlar ve ülserasyonlar olabilir. Periodontal sondalama esnasında cep epiteli, sondanın penetrasyonuna daha az direnç gösterebilir bu sebeple bu evrede kanama yaygın bir bulgu olarak yer alır. Alveol kemik yıkımı gözlenmediği için plak kontrolünün tekrar sağlanması durumunda bu enflamatuar değişiklikler tamamen kaybolabilir (73).

2.5.4. İlerlemiş Lezyon

İlerlemiş lezyon gingivitis tablosunun periodontitise geçiş yaptığı yıkım aşamasını temsil eder. Bu geçiş biyofilmin bileşimi, çevresel ve genetik risk faktörleri, konak yanıtı ve duyarlılık faktörleri tarafından belirlenir. İlerlemiş lezyon esasında yerleşik lezyonla aynı hücresel yapıya ve özelliklere sahiptir. Temel farkları klinik ve histolojik olarak görülen bağlantı epitelinin apikale göçü sonucu ataşman kaybı ve kemik kaybıdır (31). İnflamatuar süreç devam ettikçe periodontal cep derinleşir ve periodontal patajenler için elverişli olan bu ortamda bakteriler prolifere olmaya devam eder, yıkımın derecesi ve şiddeti artacağı için konak cevabı da dramatik şekilde artar. Bağ dokusunda plazma hücreleri baskındır, osteoklastik kemik rezorbsiyonu başlar böylece kronik enflamasyon ve buna bağlı doku hasarının devam ettiği bir döngü gelişir. Bu durum plak kontrolü teknikleriyle biyofilmin bozulmasını ve bakterileirn uzaklaştırılmasını daha da zorlaştır ve bu döngü böylece devam eder (74).

2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) ve Periodontal Hastalık İlişkisi

DOS, gingival pleksustaki kan damarlarından kaynaklanan inflamatuar bir eksuda olabileceği gibi aynı zamanda fizyolojik bir sıvıdır. Bu sıvı kolayca toplanabildiği gibi lokal ya da sistemik kaynaklı biyobelirteçler içerebilir (75). Periodontal hastalık varlığında bu hastalıkla ilişkili birçok konak yıkım ürünü, elektrolitler, sitokinler, enzimler, enflamatuar medyatörler ve bakterilere karşı üretilmiş antikorlar DOS'tan salınabilir (76-78). Sağlıklı dişetinde DOS az miktarda olsa da transüda şekliyle bulunmaktadır (79). Bağ dokudaki kapillerlerin genişlemesi ve geçirgenliğinin artışı DOS'un artışı ile doğrudan ilişkili bulunmuştur. Enflame olmuş dişetlerindeki dentogingival boşluktan sızan DOS ise transüdadan eksüda haline geçiş yapmıştır ve hacminde artış görülmüştür (32). DOS akışındaki artış, cebin yıkanması ile fiziksel olarak koruyucu bir etki yaratılmasının yanı sıra immünoglobulinlerin geçişini de kolaylaştırır (80). DOS akışını uyaran faktörler olarak dişetinde eflamasyon, dişeti oluğunun sondla ya da kağıt striple mekanik stimulasyonu, dişetine yapılan periodontal cerrahi ya da küretaj işlemi, vücut ısısında artış, periodontal cep derinliği artışı, sert gıda çiğnenmesi, cinsiyet hormonları, oral hormonal kontraseptifler, ovulasyon, sirkadyen ritim, hamilelik ve topikal histamin uygulanması sayılabilir (77).

2.7. DOS Toplama Yöntemleri

DOS toplama yöntemleri başlıca 3 başlıkta incelebilir ve bunlar kağıt şeritlere emdirme yöntemi, mikrotüp ya da mikropipet ile toplama yöntemi ve dişeti oluğu yıkama yöntemidir (81).

2.7.1. Kağıt Şeritlere Emdirme Yöntemi

Bu tekniğin diğer tekniklere göre avantajı doğru kullanımda en az travmatik yöntem olması, istenilen bölgeye tek tek uygulanabilir olması ve pratik uygulama imkanı sunmasıdır (80). Örnek alınacak bölgeyi izole edip kuruttuktan sonra şeritler dişeti oluğuna 1 mm girecek şekilde yerleştirebilir veya cep tabanında basınç hissedene kadar da ilerletilebilir (80, 82, 83).

2.7.2. Mikrotüp ya da Mikropipet ile Toplama Yöntemi

Örnek alınacak bölge izole edilip kurutulduktan sonra, iç boşluk çapını bildiğimiz mikrotüpler dişeti oluğunun girişine yerleştirilir ve dişeti oluğundan gelen DOS, kılcallık etkisi ile tüpe göç eder (84). Tüpün iç boşluk çapı bilindiği için DOS'un dolduğu mesafeden toplanan sıvı hacmini ölçülebilir ve bu teknik bize seyreltilmemiş saf bir DOS örneği verir. Özellikle sağlıklı diş etlerinde az miktarda DOS elde edilebileceği için örnek toplama süresi çok fazla olmaktadır ve bu durum örnek alınan bölgenin travmatize edilmesine sebep olabilir bu da tekniğin en büyük dezavantajıdır. Diğer bir dezavantajı ise tüpe alınan örneklerin incelenmek için tüpten çıkarılma zorluğudur (85).

2.7.3. Dişeti Oluğu Yıkama Yöntemi

Bu yöntemde iki farklı teknik tercih edilebilir. İlk teknikte, örnek alınacak bölge pamuklarla izole edildikten sonra mikroenjektörle ve içeriği bilinen solüsyonla yıkanır sonrasında solüsyonla beraber DOS da toplanır. Bu tekniğin dezavantajı yıkamak için kullanılan solüsyonun tamamının geri toplanmasının güçlüğü ve bu sebeple de seyreltme miktarının tam olarak bilinememesidir (86). İkinci teknik ise kişiye özel yapılan ve dişetini diğer dokulardan ayıran bir akrilik stent yapılmasına dayanır ve akrilik stentlerin içerisinde tüpler bulunmaktadır. Diğer teknikte olduğu gibi dişeti içeriği bilinen bir solüsyonla yıkanır ve bu solüsyonla beraber DOS da toplanır ancak bu tekniğin dezavantajı bireysel stent hazırlanmasıdır. İlk tekniğin, ikinci tekniğe göre avantajı ise bireysel bölgeler seçilerek uygulanabilmesidir (87).

2.8. Tükürük ve Periodontal Hastalık İlişkisi

Tükürük ağız sağlığının korunmasında ve oral mikrobiyotanın bileşiminin ve aktivitesini belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (88-91). Antibakteriyel ajanlar, sitokinler ve sindirim enzimleri de dahil olmak üzere ağız ortamının sağlığının sürdürülebilmesi için çeşitli fizyolojik olarak aktif maddeler tükürükte bulunur. İnsan tükürüğü; müsin, amilaz, prolinden zengin proteinler, histatinler ve sistatinler dahil olmak üzere yaklaşık 50 protein içerir (92). Tükürüğün içeriğindeki anormal durumlar oral sağlık bütünlüğünü etkilemekle birlikte işlevindeki veya kalitesindeki anormal durumlar da ağız mukozasının, periodontal dokuların, dişlerin, yutma refleksinin ve sindirimin bozulmasına sebep olabilir (93). İnsan tükürüğü, DOS da dahil olmak üzere büyük salgı bezleri (parotis, submandibular, sublingual) ve küçük salgı bezleri ile birlikte birçok salgının karışımını içeren berrak, hafif asidik (pH:6.0-7.0) bir biyolojik sıvıdır. Bu çok yönlü oral sıvı tatma, yutma, sindirim, diş bütünlüğünün korunması, antibakteriyel ve antiviral koruma gibi birden fazla fizyolojik işlevin yürütülmesine hizmet eder (94). Tükürük, oral boşluk sisteminin homeostazını koruma rolüne ek olarak, sağlık ve hastalık gözetimi için araştırmalarda kullanılan ideal bir ortamdır (95). Tükürük, tıpkı kan gibi çeşitli enzimler, hormonlar, antimikrobiyal bileşenler, antikorlar ve sitokinler içeren karmaşık fizyolojik bir sıvıdır (96). Bu bileşenler dişeti oluğundan parasellüler yolla, tükürük bezlerinden hücre dışı ultrafiltrasyonla ve hücrelerden transsellüler, hücre içi pasif difüzyon ya da aktif taşıma ile kandan tükürüğe geçebilir (97, 98). Tükürük plazmanın ultrafiltratı olarak kabul edilir, serumda bulunan çoğu bileşeni içermesinin yanı sıra moleküler düzeydeki tanıların geliştirilebilmesi için benzersiz bir vücut sıvısıdır. Tükürük örneklerinin toplanmasının, serum örneklerinin elde edilmesine göre birçok avantajı bulunmaktadır ve bunlar invaziv olmaması, örneklerin elde edilmesinde daha az uyum sorunu olması, gerekirse tekrar tekrar elde edilebilmesi, ucuz olması ve güvenli ve kolay elde edilebilmesidir (95, 99). Hastalığın aktivitesi hakkında bilgi sahibi olmak özellikle erken müdahelede önemlidir. Periodontal hastalığın aktivitesinin ve şiddetinin tespitinde geçmişte yapılan birçok çalışma tükürüğün önemli bir biomarker olduğu göstermiştir (95, 100).

2.9. Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Noktası (MERK)

Mitokondri ve endoplazmik retikulum (ER), hücrenin iki temel organelidir ve aynı zamanda hücrenin doğru ve düzenli çalışması için birbirleriyle sürekli etkileşim

halindedir (101, 102). Mitokondri, hücresel solunumun gerçekleştiği organeldir. Oksidatif fosforilasyon yoluyla hücrenin enerji üretim merkezidir aynı zamanda kalsiyum sinyalizasyonunda, apoptozda, hücre içi sinyal kaskadlarının çalışmasının düzenlenmesinde, reaktif oksijen türlerinin üretilmesinde, yağ asitlerinin β-oksidasyonunun yürütülmesinde ve aminoasit metabolizmasında rol alır (103, 104).

Endoplazmik retikulum ise protein sentezi, lipid metabolizması, insülin yanıtı, glikojen sentezi ve parçalanması, glukoneogenez, apoptoz ve otofaji gibi birçok önemli süreçte rol alır (105, 106). Özellikle, protein katlanması ve hücresel homeostazda çok önemli bir rol oynar. Yanlış katlanmış proteinlerin birikmesinden kaynaklanan ER stresi, dengeyi yeniden sağlamak veya stres devam ederse apoptozu tetiklemek için katlanmamış protein tepkisini (UPR) tetikler (107). UPR üç ana yolağı içerir ve bunlar PERK, ATF6 ve IRE1'dir (108). ER stresi otofaji, oksidatif stres ve enflamasyon gibi çeşitli hücresel süreçlerle bağlantılıdır (109). Kanser hücrelerinde kronik UPR aktivasyonu, tümör ilerlemesi ve ilaç direncinin bir mekanizması olarak kabul edilir (110). UPR, otofaji ve mitokondriyal fonksiyon arasındaki etkileşim, karmaşık ER stres yanıtının temelini oluşturur (111).

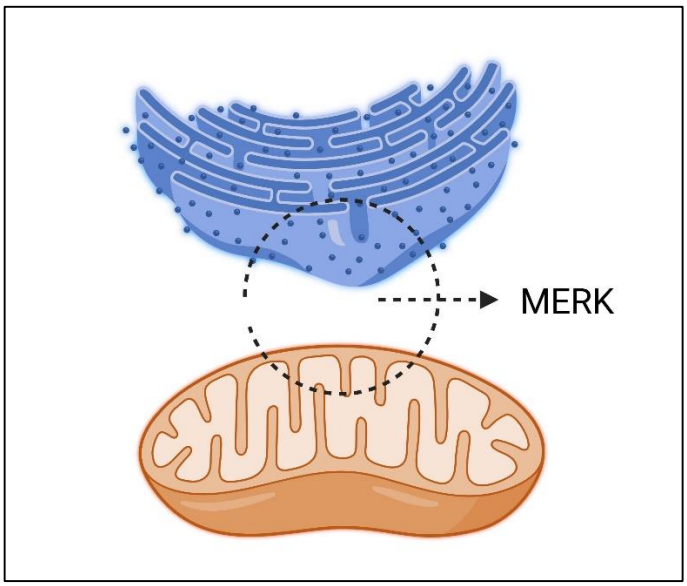
Mitokondri ve endoplazmik retikulum birbirlerine sıkı bir şekilde MERK (mitokondri-endoplazmik retikulum kontağı) adı verilen bir yüzey ile bağlıdır. MERK, kalsiyum ve lipid metabolizması, mitokondriyal füzyon, apoptoz ve inflamazom formasyonu gibi birçok hayati olayda görev yapmaktadır (112). Mitokondri ilişkili zarlar (MAM) ve mitokondri dış membranı (MOM) MERK'i oluşturan yapısal ve işlevsel bileşenlerdir. Bu yapılar arasındaki etkileşim, MERK'lerin biyolojik fonksiyonlarının temelidir ve bu etkileşimde bozulma, çeşitli metabolik ve inflamatuvar hastalıklara yol açabilir (113). Bu bölgeler, MERK'lerin temel yapısal birimleri olup, iki organel arasında metabolitlerin ve sinyallerin taşınmasında rol oynar (113, 114).

MAM, ER'nin mitokondri ile temas eden kısmıdır ve MERK'lerin protein yoğunluğunu belirleyerek iki organel arasında dinamik etkileşim bölgeleri oluşturur (115-117). Fosfolipidlerin mitokondriye taşınmasını sağlayarak lipid metabolizmasında rol alır. IP3R, GRP75 ve VDAC gibi protein komplekslerini barındırarak Ca^{2+} transferi ve homeostazında, hücresel sinyalizasyon mekanizmasında, hücresel enerji homeostazında ve apoptozun düzenlenmesinde rol alır (118).

MOM, mitokondrinin hücre sitoplazmasıyla etkileşiminde önemli bir rol oynayan yapıdır. Mitokondrinin hareketini, şekil değişimini ve füzyon/fisyon süreçlerini düzenleyen Mitofusin-2 gibi proteinlere ev sahipliği yapar. MOM'ın üzerinde yer alan VDAC (Voltaj Bağımlı Anyon Kanalı), metabolitlerin ve iyonların mitokondriye girişini kontrol eder. Apoptoz mekanizmasıyla ve hücresel sinyalizasyonla da ilişkili görevleri bulunmaktadır (119).

ER zarı ile bu temasların varlığı 1960'larda keşfedilmiştir (120). Modern elektron mikroskobu (EM) gözlemleri ile bu temasın sürekliliği ve mitokondrilerin 200 nm mesafedeki ER tübülleri ile çevrili olduğunu ortaya koymaktadır (121). Buna karşın geniş alanlı dijital 3B dekonvolüsyon mikroskobu, mitokondriyal yüzeyin sadece %20'sinin ER ile doğrudan temas halinde olduğunu göstermektedir (122). Son olarak, yüksek çözünürlüklü üç boyutlu elektron tomografisi (ET) ile bu iki organel arasındaki fiziksel köprülerin uzunluğunun 10-25 nm arasında değiştiği tespit edilmiştir (123, 124). Temas bölgeleri farklı yapısal özelliklere sahip olabilir. Bazı temas bölgeleri yakınken diğerleri daha uzak olabilir. Örneğin, bazı durumlarda ER tübülleri mitokondriyal membranın etrafını neredeyse tamamen sarar (125).

Mitokondri ve ER'nin hücrede kendilerine özgü belirgin işlevleri olmasına rağmen bu temaslar ile birbirleriyle iletişim sağlarlar (115, 126). ER ile mitokondri arasındaki kararlı temas noktaları, iki organelin işlevlerini sinerji haline getirme fırsatı sunar ve hücrenin biyolojik süreçlerinin koordineli olarak düzenlenmesine olanak sağlar (118). ER ile mitokondri arasındaki temas noktalarında meydana gelen en önemli iki fonksiyon ise lipid sentezi ve Ca^{2+} sinyalizasyonudur. Apoptotik düzenlemede, Ca^{2+} sinyalizasyonu kritik rolde olduğu için çok önemlidir (115, 127).



Şekil 2.3. Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Noktası (MERK)

2.10. MERK Proteinleri

Hücredeki, enerji merkezi ve üretim hattı arasındaki etkileşimi sağlayan ve bu süreçlerin koordinasyonunu sağlayan proteinler ise mitokondri-endoplazmik retikulum kontakt proteinleri olarak adlandırılır. Bu proteinler, mitokondri ve ER membranlarının yakınlaştığı özel bölgelerde bulunur ve bu iki organel arasında iletişime ve molekül alışverişine izin verir (128, 129). Ayrıca birçok genin de bu kontakt bölgesinde görev aldığı bildirilmiştir (10). Örneğin Mitofusin-2 hem MAM hem de MOM bölgesinde bulunur ve MOM da bulunan Mitofusin-1 ile bağ kurarak mitokondri ve endoplazmik retikulum arasındaki kalsiyum transferini düzenler (14).

2.10.1. VAPB- PTPIP51 Kompleksi

VAPB (vezikül ilişkili membran proteini-ilişkili protein B) ve PTPIP51 (protein tirozin fosfataz etkileşimli protein 51) proteinleri, MERK'te ER ile mitokondri arasında fiziksel bağlantı oluşturarak kalsiyum homeostazını düzenler ve otofaji ve sinaptik aktivite de dahil olmak üzere birçok hücresel işlevi düzenleyen MAM'ları oluştururlar (119, 130, 131). Bu kompleks, ER'den mitokondriye kalsiyum transferini düzenleyerek, mitokondriyal ATP üretimini ve enerji metabolizmasını da destekler. Sonuç olarak, kalsiyum akışının ve enerji metabolizmasının korunmasında kritik öneme sahip bir kompleks oluştururlar (132).

VAPB, ER membranında yer alırken, PTPIP51 mitokondri dış zarında bulunur ve bu proteinler MERK bölgelerindeki bağlantıları düzenler (133). PTPIP51'de bulunan

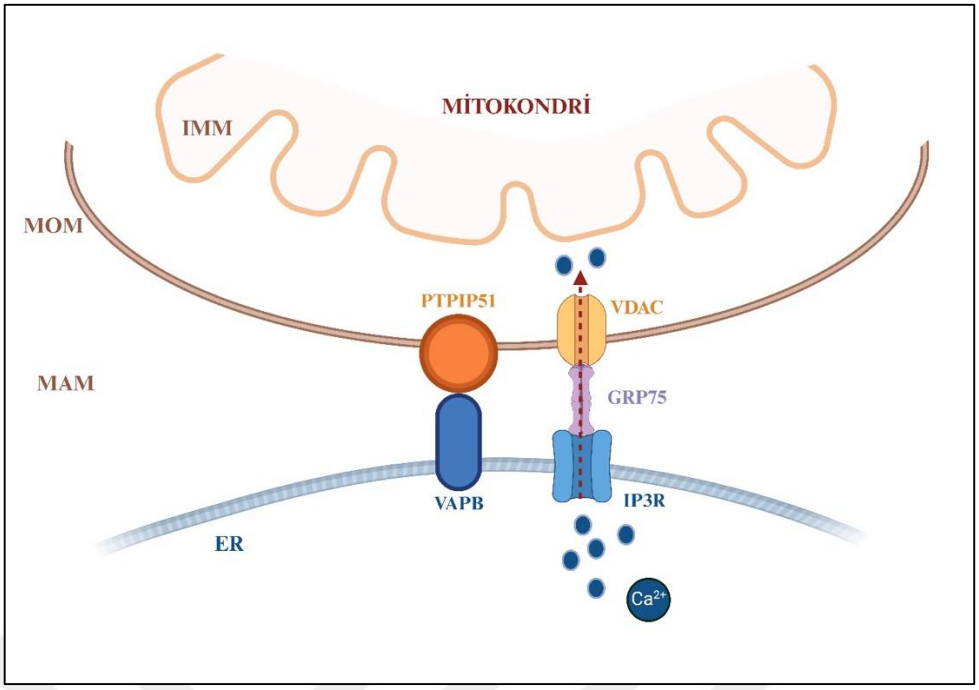
sarmal-bobin alanı, VAPB'nin bağlanması ve ER-mitokondri sinyali için gereklidir (134).

Bu bağlantıdaki bozulmalar ER stresini artırabilir ve hücresel enerji üretimini olumsuz etkiler dolayısıyla oksidatif stresi artırır (127). Bu bağlanma kompleksinin bozulması Alzheimer, Parkinson ve Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (134, 135). VAPB-PTPIP51 kompleksinin modüle edilmesi ise yaşlanmayla ilişkili hastalıklar için terapötik potansiyel sunabilir (135).

2.10.2. IP3R-GRP75-VDAC Kompleksi

IP3R-GRP75-VDAC kompleksi, ER'den mitokondriye kalsiyum transferinin ana düzenleyicilerindendir. IP3R (inositol 1,4,5-trifosfat reseptörü), ER'den mitokondriye kalsiyum salınımını başlatan proteindir. VDAC (Voltaj Bağımlı Anyon Kanalı), mitokondriyal kalsiyum ve diğer metabolitlerin taşınmasında görev alır (136). GRP75 (Glikozla Düzenlenen Protein 75) ise IP3R ve VDAC arasında fiziksel bir köprü kurar. Sonuç olarak, IP3R (ER'de) ve VDAC (mitokondri dış zarında), GRP75 aracılığıyla kalsiyum transferini sağlar (122).

MERK'deki disfonksiyon ve devamında IP3R-GRP75-VDAC kompleksindeki bozulma kalsiyumun mitokondriye düzgün taşınmamasına ve enerji üretim süreçlerinin aksamasına neden olur (137). Bu kompleksin bozulması sonucu, oksidatif stresin artması ve hücresel ölüm mekanizmalarının aktive olması ile karşılaşılabilir (138).



Şekil 2.4. MERK'te, VAPB- PTPIP51 ve IP3R-GRP75-VDAC Kompleksi

2.11. Kaspaz-3 (CASP3)

CASP3, hücresel stres durumlarında apoptoz sürecini gerçekleştiren temel efektör kaspazlardan biridir. Pro-apoptotik sinyallerle aktive olan CASP3, hücresel proteinleri parçalayarak apoptozun morfolojik ve biyokimyasal özelliklerini ortaya çıkarır. Bu nedenle, CASP3, hücresel ölüm mekanizmasında hayati bir rol oynar (139). MERK'deki işlev bozukluğu sonucunda, protein etkileşimlerinin bozulmasıyla birlikte CASP3 aktive olarak sinyal yolaklarını etkileyebilir. Bu durum, hücresel ölüm mekanizmalarını tetikleyerek doku hasarına katkıda bulunabilir (140).

MERK, ER'den mitokondriye kalsiyum transferini düzenleyen kritik bir yapıdır. Ancak, aşırı kalsiyum transferi, mitokondriyal permeabilite geçiş gözeneklerinin (mPTP) uzun süre açık kalmasına neden olarak mitokondri iç membranının (IMM) geçirgenlik potansiyelinin bozulmasına yol açar. Bu gözeneklerin uzun süreli açılması mitokondriyal şişmeye ve dış mitokondriyal membranın (MOM) yırtılmasına sebep olur (141, 142). Bu durum, kaspaz aktive edici faktörlerin (sitokrom C) sitozole salınmasına sebep olur. Sitokrom c, apoptotik uyarılar sonucunda mitokondriden sitozole salındıktan sonra APAF-1 (Apoptotik Proteaz Aktivasyon Faktörü-1) ve prokaspaz-9 ile birleşerek apoptozom adı verilen protein kompleksini oluşturur. Bu kompleks, prokaspaz-9'u aktif kaspaz-9'a dönüştürerek apoptozun başlamasını sağlar. Aktif kaspaz-9 ise, prokaspaz-3'ü

parçalayarak hücresel ölüm mekanizmasının gerçekleştirilmesinden sorumlu olan aktif CASP3'ü üretir (143). Ayrıca, MERK'deki aşırı kalsiyum transferi, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırarak hücresel stres ve apoptoz sinyallemesini daha da güçlendirebilir (141).

MERK'in ana proteinlerinden biri olan GRP75 (Glucose-Regulated Protein 75), ER ile mitokondri arasındaki kalsiyum transferini düzenleyen kritik bir moleküldür (117). CASP3'ün aktivasyonu, GRP75 gibi proteinlerin apoptotik süreçlerde etkilenmesine yol açabilir. Aktif CASP3, GRP75'i doğrudan hedef alarak bu proteinin yapısını bozabilir veya parçalayabilir. GRP75'in parçalanması, MERK'nin işlevlerinde bozulmaya neden olur, kalsiyum transferinde aksamalara yol açar ve ROS üretimini artırarak CASP3 aktivasyonunu daha da hızlandırır (144). Bu süreç, hücresel ölüm mekanizmalarını güçlendiren ve apoptozu tetikleyen bir geri bildirim döngüsü oluşturur (145).

2.12. Kalsiyum (Ca) ve MERK İlişkisi

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, çok sıkı bir şekilde düzenlenir. Bu düzenlemede en önemli organellerden biri endoplazmik retikulumdur (146-148). MERK, hücre içindeki kalsiyum iyonlarının homeostazının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar(149). Bu bölgeler, ER'den mitokondriye kalsiyum iyonlarının geçişini sağlayarak enerji metabolizması, hücresel sinyal iletimi, apoptoz, hücre büyümesi ve farklılaşması gibi süreçleri düzenler. Kalsiyum iyonları, hücre içindeki birçok önemli sürecin (kasılma, nörotransmitter salınımı, hücre bölünmesi, apoptoz) düzenlenmesinde görev alır (150).

ER, hücre içindeki kalsiyumun büyük bir kısmını depolar ve gerektiğinde IP3R aracılığıyla sitoplazmaya serbest bırakır (148, 151). Mitokondri dış zarında bulunan VDAC GRP75 aracılığıyla bu kalsiyumu alır (138, 152). Bu mekanizma, hücre enerjisi üretiminde kritik rol oynar ve ATP üretimi için gerekli olan sitrik asit döngüsünü destekler (153, 154).

MERK bölgelerindeki bu kalsiyum geçişi, kalsiyum seviyelerinin hücre içinde dengelenmesini sağlar (148). Dengesizlik durumunda oksidatif stres artar ve bu durum nörodejeneratif hastalıklar ve metabolik bozukluklarla ilişkilendirilebilir (112). Fazla miktarda kalsiyum alımı mitokondriyal ROS üretimini artırabilir. Bu durum, MERK bölgelerindeki yapısal veya işlevsel bozulmalara bağlı olarak hücre ölümünü tetikleyebilir (149).

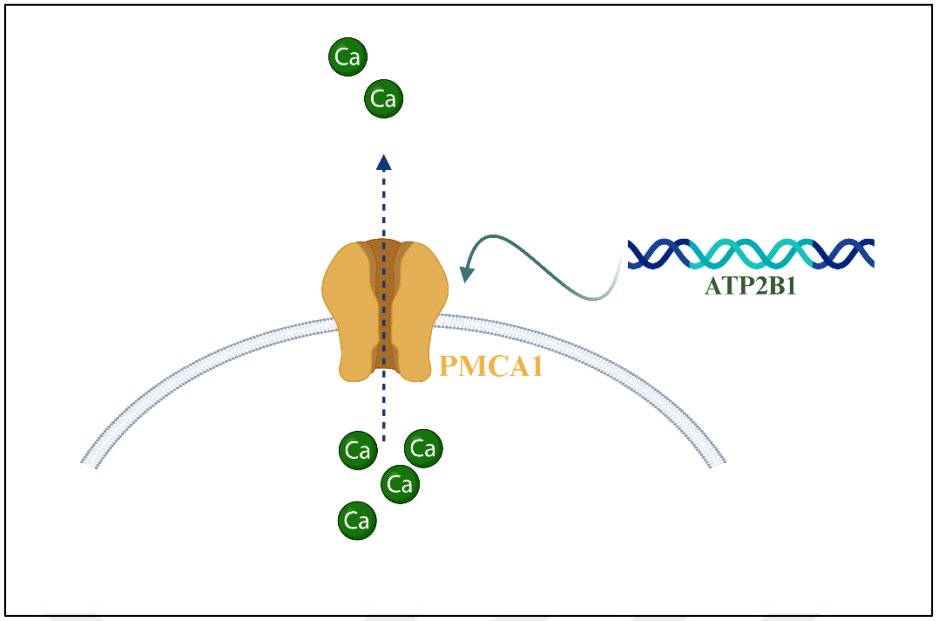
Bazı durumlarda ise, kalsiyum iyonları mitokondriden ER'ye doğru taşınır. Bu durum, hücresel stres durumlarında ER'deki kalsiyum seviyesini yükselterek, hücrenin hayatta kalma mekanizmalarını aktive edebilir (155, 156).

2.13. ATP2B1 Geni ve Hücresel Kalsiyum Homeostazındaki Rolü

ATP2B1 geni, hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan PMCA1 (plazma membran kalsiyum ATPaz 1) proteininin kodlanmasından sorumludur (157). PMCA1, hücre içindeki fazla kalsiyum iyonlarını (Ca^{2+}) hücre dışına pompalayarak hücresel işlevlerin sağlıklı bir şekilde devam etmesine yardımcı olur (158). Bu düzenleme, hücreler arası sinyal iletimi, hücresel enerji üretimi ve fizyolojik süreçlerin sürdürülebilmesi açısından hayati önem taşır. Hücre içi kalsiyum seviyelerindeki dengesizlik, oksidatif stres, apoptoz ve inflamatuar yanıtların artmasına yol açabilir(159). ATP2B1, hücre içi kalsiyum seviyesini düşük tutarak bu stres faktörlerini dengeleyici bir rol üstlenir ve hücrelerin hayatta kalmasını destekler (160).

ATP2B1, doğrudan MERK'te yer almamakla birlikte, hücre içi kalsiyum seviyelerinin düzenlenmesi açısından dolaylı bir role sahiptir (144, 161). MERK, endoplazmik retikulumdan mitokondriye kalsiyum transferini IP3 reseptörü (IP3R) ve voltaj bağımlı anyon kanalı (VDAC) aracılığıyla düzenlerken, ATP2B1 bu kalsiyumun hücre genelindeki dağılımını kontrol eder (162). Böylece, mitokondriye aşırı kalsiyum yüklenmesini önleyerek mitokondriyal permeabilite geçiş gözeneklerinin (mPTP) açılmasını ve dolayısıyla hücresel disfonksiyon ve apoptozu engellemeye yardımcı olur (163, 164).

ATP2B1'in sağladığı kalsiyum homeostazı, mitokondriyal metabolizma ve ATP üretimi ile doğrudan ilişkilidir (165). Bu denge sayesinde, hücresel enerji üretimi korunur, oksidatif stres seviyeleri kontrol altında tutulur ve apoptotik mekanizmalar düzenlenmiş olur (159, 166).



Şekil 2.5. ATP2B1 geni ile PMCA1 ilişkisi

2.14. HSP-70 Ailesi ve GRP75'nin Hücresel Fonksiyonları

HSP-70 (Heat Shock Protein 70) ailesi, hücresel stres durumlarına yanıt olarak sentezlenen ve protein homeostazını düzenleyen önemli bir şaperon protein grubudur(167, 168). Bu proteinler, hücreleri termal stres, oksidatif stres, enfeksiyonlar ve toksik bileşikler gibi zararlı uyaranlara karşı korur (167). Yeni sentezlenen veya hasar görmüş proteinlerin doğru katlanmasını sağlar ve yanlış katlanmış proteinlerin ubiquitin-proteazom sistemi yoluyla yıkımında görev alır (169-171). HSP-70 ailesi üyeleri, hücrenin farklı bölümlerine lokalize olarak sitozol, çekirdek, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi organellerde işlev görür (168) bunlardan HSP70 (HSPA1A/HSPA1B) Sitozol ve çekirdekte bulunur; GRP78 (HSPA5) Endoplazmik retikulumda bulunur ve GRP75 (HSPA9) Mitokondri ve mitokondri-endoplazmik retikulum kontakt bölgelerinde görev alır (167, 172).

GRP-75, HSP-70 ailesine ait özel bir protein olup, aynı zamanda Mortalin (mtHSP70) veya HSPA9 olarak da bilinir (173). Bu protein, hücresel stres yanıtlarında ve apoptozun düzenlenmesinde önemli roller üstlenir. Özellikle MERK'te, ER üzerindeki inositol trifosfat reseptörü (IP3R) ile mitokondri üzerindeki voltaj bağımlı anyon kanalı (VDAC1) arasında fiziksel bir köprü kurarak ER'den mitokondriye kalsiyum transferini düzenler (138, 161). Dengeli kalsiyum transferi, mitokondriyal enerji üretimi ve hücresel hayatta kalma için kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, GRP-75, mitokondriyal proteinlerin katlanmasını ve proteostazı desteklerken, ROS üretimini kontrol altında

tutarak oksidatif stresin azalmasına katkıda bulunur (117, 174). GRP-75'deki işlev bozukluğu, nörodejeneratif hastalıklar (ör. Alzheimer hastalığı), kanser ve metabolik hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlarla da ilişkilendirilmiştir (174, 175).

2.15. ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve MERK İlişkisi

ROS'lar, moleküler oksijenden türeyen ve hücre içinde çeşitli biyokimyasal süreçlerin yan ürünü olarak oluşan, yüksek derecede reaktif kimyasal moleküllerdir (176, 177). ROS'lar, moleküler oksijenin ardışık kademeli indirgenmesinin ürünleridir ve yüksek derecedeki reaktifliklerinin sebebi ise elektron eksikliğidir. Örnek olarak: süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH\cdot$) verilebilir (178).

- **Süperoksit Anyonu (O_2^-)**: Oksijen molekülünden elektron alımıyla oluşur.

$$O_2 + (e^-) \rightarrow O_2^-$$

Sitokrom P450 enzimleri, NADPH oksidazlar, peroksizomlar ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyon gibi hücresel süreçler ROS'un başlıca kaynaklarıdır (179). Mitokondriler, hücresel enerji üretiminde temel organeldir ve oksijenin suya indirgenmesi sırasında elektron taşıma zincirinde ROS üretilebilir. Bunun sebepleri; hipoksi, mitokondriyal disfonksiyon veya elektron taşıma zincirinin kompleks I ve III'ünde elektron sızıntısı olabilir (177, 180, 181).

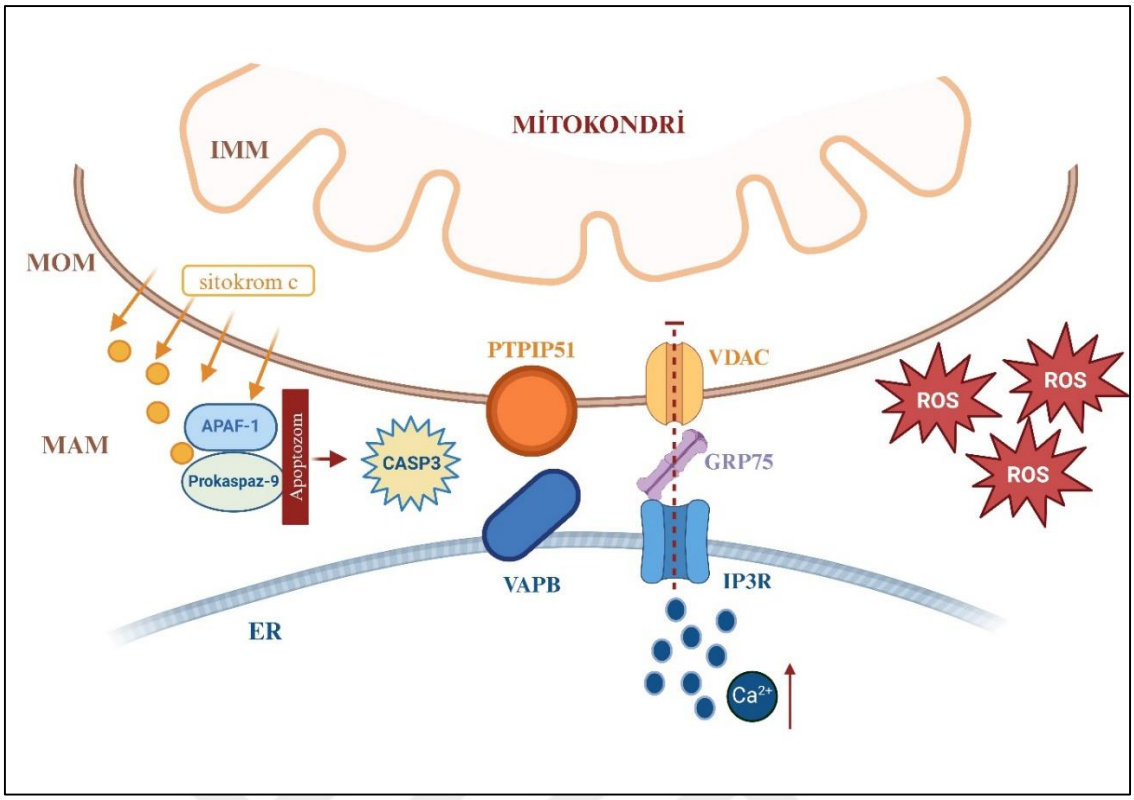
Hücreler ise ROS seviyelerini dengelemek için çeşitli antioksidan mekanizmalar geliştirmiştir (182). Bunlar Enzimatik Antioksidanlar Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz ve Non-enzimatik Antioksidanlar C vitamini, E vitamini, glutatyon, koenzim Q10'dur.

ROS'un, hücre metabolizmasında önemli fizyolojik rolleri vardır (182). Hücre sinyal iletiminde ve adaptasyonunda kritik bir ikinci mesajcı olarak görev alır. Apoptoz, otofaji ve enflamasyon gibi süreçlerde düzenleyici görev üstlenir (183). Ancak kontrolsüz üretildiğinde oksidatif stres yoluyla protein, lipit ve DNA (Deoksiribonükleik Asit) hasarına neden olabilir (184-186). Bu hasarlar, birçok kronik hastalıkla ilişkilendirilebilir. Artmış ROS, nöronlarda protein agregasyonuna ve hücre ölümüne neden olarak nörodejeneratif hastalıklara sebep olabilir (184). Oksidatif stres, endotel hücre disfonksiyonunu ve aterosklerozu tetikleyerek kardiyovasküler hastalıklara sebep olabilir

(187). ROS, hücre büyüme sinyalini artırarak tümör oluşumunu destekleyebilirken, DNA hasarını da tetikleyebilir. Bu da kanserin oluşumu ve ilerlemesi sürecinde rol alabileceğini gösterir (188). Sonuç olarak; ROS, hücre sinyalizasyonunda ve bağışıklık sisteminde faydalı roller oynasa da; aşırı üretimi hastalık patogenezine katkıda bulunabilir (177). Özellikle oksidatif stres, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, diyabet ve periodontal hastalık gibi birçok duruma katkıda bulunur (184, 189, 190).

MERK, ROS üretiminde ve sinyal mekanizmalarının düzenlenmesinde fizyolojik olarak kritik bir rol oynar. MERK ve ROS ilişkisi, hem hücresel homeostazın korunmasında hem de patolojik süreçlerle bağlantılı olabilir (191). MERK, ER ve mitokondri arasında kalsiyum transferini kolaylaştırır (192, 193). Bu süreç, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji üretimini desteklerken doğal olarak ROS oluşumuna neden olur (183). ROS'lar, hücresel adaptasyon ve homeostaza yardımcı olan sinyal molekülleri olarak görev yapmakla beraber, işlevsiz MERK'lerden kaynaklanan aşırı ROS oksidatif strese yol açarak hücre içindeki proteinlere, lipidlere ve DNA'ya zarar verebilir(194). Aşırı ROS üretimi, inflamatuar yanıtı tetikleyerek oluşturduğu hücresel hasara ek olarak mitokondriyal disfonksiyona da neden olabilir (195). Bu durum, MERK'in yapısını ve işlevini bozarak hücresel süreçleri olumsuz etkileyebilir. MERK'teki işlev bozukluğu, inflamatuar yanıtı tetikleyerek oksidatif strese yol açar, aşırı ROS üretimi de devamında hücresel hasara neden olur (196). Yani MERK ve ROS ilişkisi çift yönlü olarak çok yakın bir etkileşim içerisindedir (193, 197).

MERK, ROS kaynaklı hasarı önlemek için otofajiyi (özellikle ER-fajiyi) tetikleyebilir (198). Sig1R gibi proteinler, IP_3 reseptörlerini stabilize ederek etkili kalsiyum sinyallemesini korur ve oksidatif hasarı azaltır (197, 199, 200).



Şekil 2.6. MERK disfonksiyonu

2.15.1. Oksidatif Stres ile Doku Hasarı İlişkisi

Oksidatif stres, hücresel antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikmesi sonucu ortaya çıkar (201). ROS, mitokondriyal solunum, fagositik hücre aktivasyonu ve çeşitli enzimatik reaksiyonlar gibi endojen kaynaklardan üretilebileceği gibi, sigara dumanı, radyasyon ve toksinler gibi eksojen faktörler tarafından da tetiklenebilir (202). Aşırı ROS üretimi, hücresel bileşenler olan proteinler, lipitler ve DNA üzerinde ciddi hasarlara yol açarak hücre işlevlerini bozabilir ve hücresel ölüm süreçlerini (apoptoz/nekroz) tetikleyebilir. Periodontal hastalık gibi inflamatuvar durumlarda ROS, pro-enflamatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1β) aşırı salınımını tetikleyerek kronik enflamasyon sürecini başlatır ve bu durum bağ dokusunun yıkımı ile alveolar kemik kaybına neden olur (203).

Proteinler, hücresel fonksiyonların sürdürülmesi açısından kritik moleküller olup oksidatif stres sonucunda yapısal ve işlevsel kayıplara uğrayabilir (201). ROS, proteinlerin oksidatif modifikasyonlarına neden olarak karbonil gruplarının oluşmasını, yanlış katlanmasını ve proteazlar tarafından hızla yıkılmasını sağlar. Bu süreçler hücresel işlevlerde bozulmaya, metabolik enzimlerin inaktivasyonuna ve ATP üretiminin azalmasına yol açar (204). DNA da oksidatif strese karşı hassastır ve ROS, DNA

bazlarında değişikliklere, tek veya çift sarmal kırıklarına neden olabilir. Bu durum, genetik bilgiyi bozarak hücresel fonksiyon kaybına ve mutasyonlara sebep olur. Ayrıca oksidatif stres, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi epigenetik değişiklikleri tetikleyerek gen ekspresyonunu düzensizleştirebilir (205).

Sonuç olarak, oksidatif stresin protein ve DNA üzerindeki zararlı etkileri, hücresel proliferasyonun bozulmasına, inflamatuar yanıtın şiddetlenmesine ve doku rejenerasyonunun engellenmesine neden olur (206). Periodontal hastalıklarda oksidatif stresin yönetimi, ROS seviyelerinin kontrolü ve hücresel hasarın en aza indirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (207, 208).

2.16. MERK'in ve Mitokondri-Endoplazmik Retikulum Kontakt Proteinlerinin Metabolik Hastalıklardaki Rolü

Mitokondri-endoplazmik retikulum kontakt proteinleri kalsiyum sinyalizasyonu, protein katlanması, lipid metabolizması, apoptoz, hücresel homeostazın korunması ve hem mitokondri hem de ER'nin normal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için çok önemlidir (209, 210). MERK bölgeleri, hücresel kalsiyum akışının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu için MERK'in disfonksiyonu, ER'den mitokondriye kalsiyum transferinin azalmasına neden olur. Mitokondrinin, düşük kalsiyum seviyelerinde enerji üretimi sırasında daha fazla reaktif oksijen türü (ROS) ürettiği bilinmektedir (211). Tüm bunların sonucunda, mitokondriyal enerji üretimi (ATP sentezi) azalır ve oksidatif stres artar. MERK'te disfonksiyon ve devamında ROS artışı; hücresel hasarın ve enflamatuar yanıtın artışını sağlar ve kronik enflamasyonun gelişmesine katkıda bulunur (210). IP3R-VDAC1-GRP75 kompleksindeki bozulma nedeniyle kalsiyum sinyalizasyonunun değişmesi, CASP-3 gibi apoptotik proteinlerin aktivasyonuna yol açar ve apoptozun tetiklenmesini beraberinde getirir (212). MERK, protein katlanmasında da önemli bir rol oynar ve MERK'in disfonksiyonu durumunda protein katlanma hataları oluşabilir. Bunun sonucunda da hücresel stres ve devamında apoptoz gelişebilir (213).

Son çalışmalarda, bu kontakt noktalarının bozulması veya mitokondri-ER kontakt proteinlerinin ekspresyonundaki ya da işlevindeki hataların hücresel işlev bozukluğuna sebep olup, çeşitli metabolik hastalıkları tetikleyebileceği görülmüştür (214). Ayrıca, iki organel ve bağışıklık sinyali arasındaki güçlü etkileşim, metabolik hastalıklara doğru

ilerlemedeki rollerini daha da vurgulamaktadır. Bu nedenle, mitokondri ve ER metabolik homeostazda önemli bir rol oynar (215, 216).

Sonuç olarak, MERK disfonksiyonu, hücresel homeostazı etkileyerek çeşitli metabolik hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir. MERK disfonksiyonunun tetiklediği bazı metabolik hastalıklara birçok örnek verilebilir. Bunlardan ilki diyabet ve insülin direncidir. Pankreatik β hücrelerinde enerji üretiminin azalmasına sebep olacağı için insülin salınımını tetikleyebilir. İskelet kası ve yağ dokusunda insülin sinyalizasyonunu bozarak insülin direncine yol açabilir (217). MERK ile ilişkili VDAC1-IP3R kompleksinin bozulmasının, diyabetik hastalarda glikoz metabolizmasını da etkilediği görülmüştür (218, 219).

MERK'deki bozulma, adipoz dokularda enerji dengesizliğine ve enflamasyona yol açabilir. Leptin sinyalizasyonunu etkileyerek iştah kontrolünün bozulmasına neden olabilir. Yağ asidi metabolizmasında bozulmalara ve yağ dokusunda birikime neden olarak obeziteye yol açabilir (220).

Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD)'nda MERK'in işlevselliğinin azalması, lipid damlacıklarının ER'de birikmesine ve hepatositlerde oksidatif strese neden olur. Bu süreç karaciğer hücrelerinde yağ birikimi ve inflamasyonu artırarak NAFLD gelişimini hızlandırabilir ve karaciğer fibrozu riskini artırabilir (221).

Kardiyovasküler hastalıklarda da MERK'in rolü olabileceği düşünülmektedir. MERK, kardiyomiyositlerin enerji üretimini düzenler. MERK disfonksiyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresi artırarak ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların riskini artırabilir (222). Mitokondriyal kalsiyum dengesizliğine ve ROS artışına yol açarak miyokardiyal hücre ölümünü tetikleyebilir. Hipertansiyon ve kalp yetmezliği riskini artırabilir (223).

Nörodejeneratif hastalıklarda MERK disfonksiyonu, mitokondriyal disfonksiyona ve oksidatif strese yol açarak sinir hücrelerinde hasara neden olabilir, nöronal hasarı ve hücre ölümünü hızlandırarak hastalığın ilerlemesini tetikleyebilir(224). Alzheimer Hastalığı'nda, MERK proteinlerinden VAPB-PTPIP51 kompleksinin kaybı, hücresel enerji üretimini ve kalsiyum sinyalizasyonunu etkileyerek amiloid-β birikimini artırabilir (225). Parkinson Hastalığı'nda PINK1 ve Parkin gibi mitokondriyal proteinlerin bozulması, MERK işlevselliğini etkileyerek dopaminerjik nöron kaybına neden olabilir (226).

Kanserlerde de MERK'in rolü olduğu düşünülmektedir. MERK, hücresel metabolizmayı ve kalsiyum homeostazını düzenler. MERK'in bozulması, kanser hücrelerinde enerji metabolizmasının değişmesine (Warburg etkisi) ve apoptozun inhibe olmasına yol açabilir. MERK proteinlerinin aşırı ekspresyonu ise bazı kanser türlerinde hücrelerin kontrolsüz proliferasyonuna neden olabilir (227).

MERK'teki işlev bozukluğunun, periodontitisin patogeneziyle de ilişkilendirilen sistemik rahatsızlıklar ile bağlantılı bir patolojik mekanizmada olduğunu günümüzde artan kanıtlara görmekteyiz. Sonuç olarak, periodontitis ile ilişkili sistemik hastalıkların patogenezinde MERK disfonksiyonun rolünün anlaşılması da, hem ağız hem de sistemik sağlığı hedef alan yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için değerli bilgiler sağlayabilir.

2.17. MERK'in ve MERK Proteinlerinin Periodontal Hastalığın Patogenezindeki Rolü

MERK, enflamatuar süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir rol üstlenir. Bu yapılarda işlev kaybı, hücresel kalsiyum sinyalizasyonun bozulması ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi yoluyla enflamasyonu artırır (228, 229). MERK disfonksiyonu, mitokondriyal stresin artışına, inflamatuar sitokinlerin (IL-1β, TNF-α) aşırı salınımına ve kronik inflamasyona neden olur. Bu durum, periodontal dokularda bağışıklık yanıtının daha da bozulmasına yol açar (193).

Alveolar kemik kaybı, periodontal hastalıkların ana patolojik özelliklerinden biridir. MERK, hücresel enerji metabolizması ve kalsiyum homeostazını düzenleyerek osteoklast aktivitesini de kontrol eder (230). MERK disfonksiyonu, osteoklastların aşırı aktivasyonu ve osteoblastların fonksiyon kaybıyla sonuçlanır (231).

Periodontal patojenler, özellikle *P. gingivalis* ve *F. nucleatum*, oksidatif fosforilasyonu ve ER-stres yanıtlarını bozar. Bu durum, enflamasyonun şiddetlenmesi ve doku yıkımının hızlanması ile doğrudan ilişkilidir (232). *P. gingivalis* ve *F. nucleatum'*un bakteriyel toksinleri, bağışıklık düzenleme mekanizmalarını baskılayarak inflamatuar yanıtların artmasına ve hücresel metabolizmanın bozulmasına neden olur. Ayrıca, bu bakterilerin salgıladığı dış membran vezikülleri de oksidatif stresin artışına katkıda bulunur (233). *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* gibi periodontal patojenlerin, ROS'un aşırı üretimi ile bağlantılı olduğu, bu durumun oksidatif stres ve inflamasyona neden olduğu bilinmektedir. Özellikle, bu bakterilerle ilişkili inflamatuar yanıtlar ve bağışıklık sistemi

düzenlemesi, periodontal dokularda doku yıkımını ve hastalığın ilerlemesini teşvik eder. (234, 235). Yapılan çalışmalar, *P. gingivalis*'in bağışıklık düzenleyici genleri değiştirebildiğini ve hem inflamasyona hem de metabolik bozukluklara sebep olduğunu göstermektedir (236). Bu periodontal patojenin, periodonsiyum hücrelerinin mitokondri ve endoplazmik retikulumunda değişiklikler meydana getirdiği görülmüştür (237). *P. gingivalis* lipopolisakkaritlerinin, insan gingival fibroblast hücrelerinde ATP üretimini azalttığı ve mitokondrilerinde ROS salınımına sebep olduğu gösterilmiştir(238). Periodontitis hastalarından alınan dişeti biyopsilerinde ve deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda, *P. gingivalis* varlığına cevap olarak, periodontal ligament hücrelerinde ER stresinin olduğu saptanmıştır (239).

Diyabetli bireylerde, MERK'nin işlev bozukluğu nedeniyle ortaya çıkan mitokondriyal disfonksiyon, enerji metabolizmasının bozulmasına, inflamasyonun kontrol edilememesine ve oksidatif stresin artışına neden olur (155). Bu süreçler, periodontal hastalıkların daha agresif bir şekilde ilerlemesine katkıda bulunur ve hastalığın yönetimini zorlaştırır. MERK, bu bağlamda, hücresel metabolizma ve inflamasyon süreçlerinin birleştiği bir düğüm noktası olarak değerlendirilmelidir (240). MERK disfonksiyonu, periodontal hastalıklar ile diyabet gibi sistemik hastalıklar arasındaki ilişkiye ışık tutabilir (241-243). Bu bağlamda, MERK'in düzenlenmesi ve patojenlerin etkilerinin azaltılması, periodontal hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde potansiyel bir hedef olarak değerlendirilebilir. Fizyolojik koşullar altında, periodontal doku hücreleri farklılaşma, mineralizasyon ve rejenerasyon gibi dinamik süreçlere katılır. Bu süreçler, düzgün çalışan mitokondrilerin biyoenerjetik dinamikleri, mitofajiyi ve kalite kontrolünü sağladığı sürece gerçekleşir. Ancak, periodontitisin başlangıcı ve ilerlemesi sırasında, bakteri-konak etkileşimleri, enflamasyon ve oksidatif stres gibi bir dizi zorluk nedeniyle mitokondriyal kalite kontrolü tehlikeye girer (243). Periodontitis, kardiyovasküler hastalıklar, Tip II diyabet ve bilişsel bozukluk gibi çeşitli sistemik hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde potansiyel bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, periodontitis ile bu hastalıklar arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir (244, 245). MERK disfonksiyonu, artmış oksidatif stres, enflamasyon ve enerji metabolizması bozukluğu gibi hem periodontitisin hem de bu sistemik hastalıkların temel patolojik özelliklerine katkıda bulunabilir (246). Bu ilişkilerin altında yatan kesin mekanizmalar henüz net olmasa da, ortaya çıkan kanıtlar MERK disfonksiyonun önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (233, 246-249).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için, 10.01.2024 tarihinde İnönü Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar No: 2024/06). Araştırmamızın çalışma grubunu Ocak-2024 ile Aralık-2024 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na muayene ve tedavi amacıyla başvuran katılımcılardan çalışma kriterlerine uygun olan 108 bireyden oluşturmaktadır. Tüm katılımcılara yapılacak işlemler detaylı bir şekilde yazılı ve sözlü olarak bildirilmiştir. Hastaların onayı yazılı ve sözlü olarak alınmış ve aydınlatılmış onam formları imzalatılmıştır.

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

2017 Uluslararası Dünya Çalıştay'ında tanımlanan klinik ve radyografik kriterlere göre değerlendirilen 108 hasta; sağlıklı (36), gingivitis(36) ve periodontitis(36) olarak 3 gruba ayrılmıştır (35, 250). Her bir gruptan 20 hasta dişeti gen ekspresyon düzeylerinin ölçülmesinde 16 hasta ise DOS ve tükürük analizleri için dahil edilmiştir.

3.1.1. Sağlıklı Kontrol Grubu İçin Dahil Edilme Kriterleri:

- Geçirilmiş periodontal hastalık hikayesinin bulunmaması ve ≥ 20 diş bulunması
- Sondalama cep derinliğinin (SD) ≤ 3mm olması
- Tüm ağız için kanamalı bölge sayısının < %10 olması
- Radyografik incelemede tüm dişlerin % 95' inde mine-sement sınırı ile alveol kemik kreti arasındaki mesafenin ≤ 3 mm olması.

3.1.2. Gingivitis Hastaları İçin Dahil Edilme Kriterleri:

- Geçirilmiş periodontal hastalık hikayesinin bulunmaması ve ≥ 20 diş bulunması
- Sondalama cep derinliğinin (SD) ≤ 3mm olması
- Tüm ağız için kanamalı bölge sayısının ≥ %30 olması
- Radyografik incelemede tüm dişlerin % 95' inde mine-sement sınırı ile alveol kemik kreti arasındaki mesafenin ≤ 3 mm olması.

3.1.3. Evre 3 Periodontitis Hastaları İçin Dahil Edilme Kriterleri:

- Ağızda ≥ 15 diş bulunması
- Dişlerin %30 dan fazlasının periodontal hastalıktan etkilenmiş olması

- Etkilenen dişlerde 6 mm ve daha fazla cep derinliği ve ≥5 mm ve daha fazla klinik ataşman kaybı olması
- 3mm ve daha fazla vertikal kemik kaybı olması, sınıf 2 veya 3 furkasyon tutulumu bulunması
- Radyografide ilgili dişlerde orta üçlü ve ilerisine kadar (%33) alveol kemik kayıplarının olması

3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 18-65 yaş çerçevesinin dışında olan
- Herhangi bir sistemik rahatsızlığı olan
- Sigara kullanan
- İmmün sistem hastalıkları olan ve immunosupresan kullanan
- İşlem öncesi antibiyotik proflaksisi gerekliliği olan
- Düzenli olarak herhangi bir ilaç kullanımı olan
- Alkol kullanımı olan
- Hamilelik veya laktasyon döneminde olan
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş olan
- Son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmış olan
- Örneklenecek dişlerde protetik restorasyon bulunan hastalar çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır.

3.3. Hastaların Klinik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamıza katılan 108 hastanın periodontal durumlarının teşhisi ve periodontal hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için standart klinik parametreler kullanılmıştır. Her hastada doğal dişlerin 6 yüzeyinden ve tedavi öncesi olmak şartıyla; Plak İndeksi (Pİ), Gingival İndeks (Gİ), Sondalanan Cep Derinliği (SCD), Sondalamada Kanama Yüzdesi (SK) ve Klinik Ataşman Seviyesi (KAS) ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler için Williams (Hu-Friedy®, Japonya) periodontal sondu kullanılmıştır.

3.3.1. Plak İndeksi (Pİ)

Plak, periodontal hastalığın başlıca etiyolojik faktörlerinden biridir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastaların ağız hijyen düzeylerinin belirlenmesi için 3. Molarlar hariç, oral kavitedeki dişlerin 6 yüzeyinden (mesiobukkal, midbukkal, distobukkal,

mesiolingual/palatinal, midlingual/palatinal, distolingual/palatinal) Silness ve Löe tarafından tanımlanan skorlar kullanılarak plak ölçümleri yapılmıştır;

0- Gözle ve sondla muayenede, dişeti kenarında bakteri plağı yok.

1- Gözle muayenede bakteri plağı görülmemekte ancak periodontal sond dişeti sulkusunda gezdirildiğinde film şeklinde bakteri plağı bulunmaktadır.

2- Gözle ve periodontal sondla tespit edilebilen orta derece plak bulunmaktadır.

3- Diş ve dişeti bölgesinde interdental bölgeyi de dolduran yoğun miktarda yumuşak plak bulunmaktadır(251).

3.3.2. Gingival İndex (Gİ)

Gingival enflamasyon, periodontal hastalığın en önemli göstergelerinden biridir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastaların gingival enflamasyon seviyesinin belirlenmesi için 3. Molarlar hariç, oral kavitedeki dişlerin 6 yüzeyinden Löe ve Silness tarafından tanımlanan skorlar kullanılarak gingival index ölçümleri yapılmıştır. Değerlendirme yapılırken periodontal sond dişeti kenarına hafifçe temas ettirilerek gezdirilmiş, kanama ve enflamasyon belirtilerine göre 0-3 arasında skorlama yapılmıştır;

0- Sağlıklı dişeti, enflamasyon belirtisi bulunmamaktadır.

1- Dişetinde hafif enflamasyon belirtileri bulunmaktadır; hafif ödem ve dişeti marjininde renk değişikliği. Sondlamada kanama yoktur.

2- Dişetinde orta düzeyde enflamasyon belirtileri görülmektedir; kırmızı renkte, ödemli ve parlak dişeti görünümü. Sondlamada kanama vardır.

3- Dişetinde ileri düzeyde enflamasyon belirtileri görülmektedir: belirgin kızarıklık, ödem ve ülserasyon. Dişetinde spontan kanamaya eğilim gözlenebilir(252).

3.3.3. Sondalanan Cep Derinliği (SCD)

Sondalanan cep derinliği; serbest dişeti kenarından, dişeti sulkusu/periodontal cebin tabanına kadar olan mesafenin ölçümüdür. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastalardan, 3. Molarlar hariç, oral kavitedeki dişlerin 6 yüzeyinden yapılan ölçümler mm cinsinden kaydedilmişir. Ölçüm yapılırken periodontal sond dişin uzun aksına paralel tutulmuş ve sulkus/cepte hafif basınç hissedilene kadar (20-25 gr) ilerlenmiştir.

3.3.4. Sondalamada Kanama (SK)

Kanama, dişetindeki enflamasyonun önemli bir göstergesidir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastaların dişlerinin 6 yüzeyi hafifçe sondlanarak 10 sn beklenmiştir. Bu işlem sonrası; kanama olması durumunda pozitif (+), olmaması durumunda (-) şeklinde skorlar kaydedilmiştir.

3.3.5. Klinik Ataşman Seviyesi (KAS)

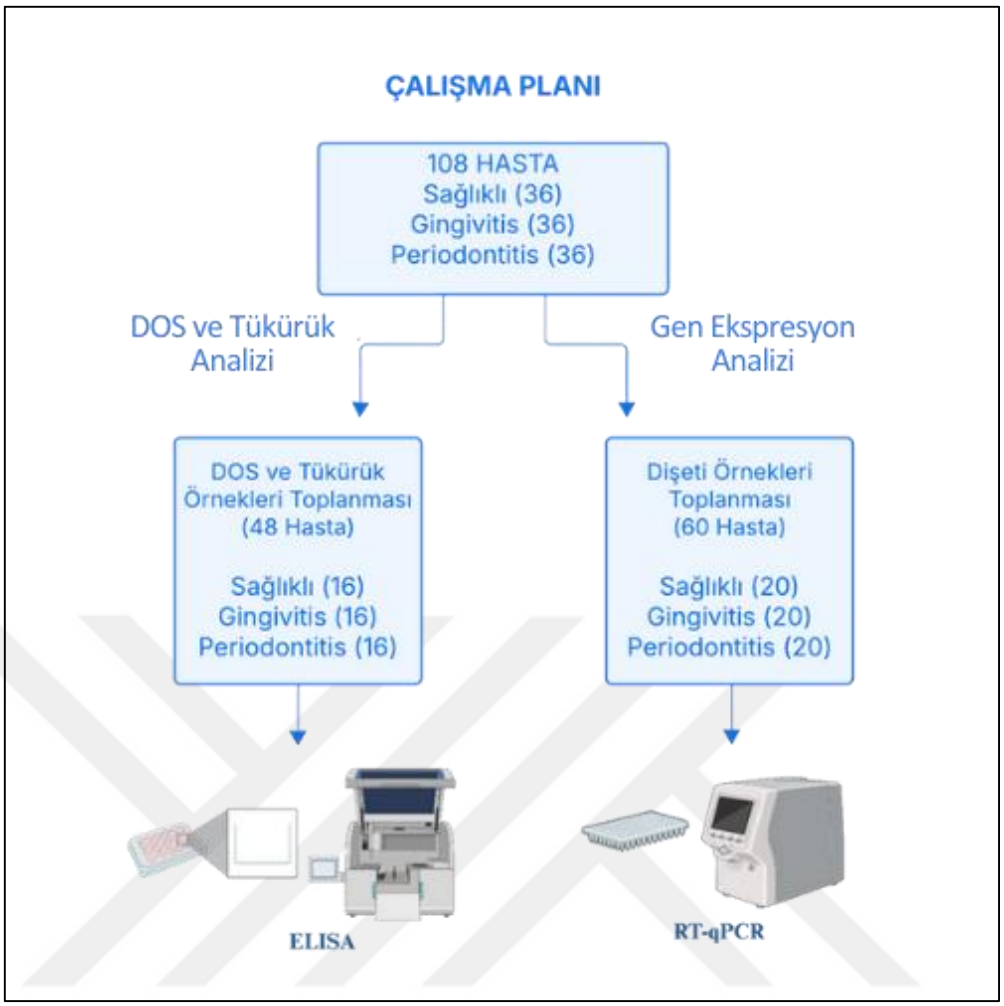
Periodontal dokuların yıkımını değerlendirmek için kullanılan bir parametredir. Klinik ataşman seviyesi, mine-sement birleşiminden periodontal cebin tabanına kadar olan mesafenin periodontal sondla ölçümüdür. Dişeti çekilmesi olan dişlerde, sondalanan cep derinliği ve dişeti çekilmesi miktarının toplamı bize KAS'ı verir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastaların dişlerinin 6 yüzeyinden yapılan KAS değerleri mm cinsinden kaydedilmiştir.

3.4. Çalışma Planı

Çalışmamızdaki 108 hasta biyokimyasal analiz çeşidine göre 2'ye ayrılmıştır.

DOS ve tükürük örnekleri; sağlıklı(16), gingivitis(16) ve periodontitis(16) olmak üzere toplam 48 hastadan alınmıştır. Bu hasta grubundan alınan örnekler ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) prosedürü gerçekleştirilene kadar -80C°'de saklanmıştır.

Dişeti dokusu örnekleri; sağlıklı(20), gingivitis(20) ve periodontitis(20) olmak üzere toplam 60 hastadan alınmıştır. Bu hasta grubundan alınan örnekler RT-qPCR (Ters Transkripsiyon Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu) prosedürü gerçekleştirilene kadar -80C°'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Çalışma planı

3.4.1. DOS ve Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi

Tükürük toplama yöntemleri, uyarılmış ve uyarılmamış olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Yapılan çalışmalar, tükürük akış hızının uyarılmasıyla analiz edilen maddelerin konsantrasyonunun azaldığını, iyonik içeriğin ve pH'sinin değişebileceğini göstermektedir (253, 254). Uyarılmamış tükürük örneği toplanmasında en güvenilir yöntemlerden biri, hastanın başının hafif öne eğildiği pozisyonda, tükürük akışının serbest bırakılarak test tüpünde biriktirilmesini esas alan drenaj metodudur. Bu yöntemle, uyarılmamış tükürük doğal akış sürecinde toplanarak örnekleme sırasında dış etkenlerden minimum düzeyde etkilenmesi sağlanmaktadır (255). Çalışmamızda da biyokimyasal analizlerin güvenilirliğini artırmak amacıyla, katılımcılardan drenaj yöntemi kullanılarak uyarılmamış tükürük örnekleri elde edilmiştir. Tükürük örneği alınacak hastaların son 1 saatte herhangi bir yeme, içme ve diş fırçalama davranışı yapmamış olmasına dikkat edildi. Öncelikle hastalardan 5dk dik oturarak dinlenmeleri

talep edildi. Daha sonra, hastalara petri kabı verilerek, rahat hissettikleri bir ortamda dik pozisyondayken ağızda biriken tükürüklerini 5 dakika boyunca tükürerek bu kaba aktarmaları istenmiştir (256).

DOS alınacak hastaların son 1 saatte herhangi bir yeme, içme ve diş fırçalama davranışı yapmamış olmasına dikkat edildi. DOS örneği alımı için öncelikle örnek alınacak dişler tespit edildi. Değerlendirmeler her hasta grubuna özel olarak belirlendi. Sağlıklı gruptan alınacak örneklerde, herhangi bir enflamasyon belirtisi gözlenmeyen 3'er diş seçildi. Gingivitis grubundan alınacak örneklerde, ataşman kaybı olmayan ancak enflamasyon belirtilerinin net olarak gözlendiği 3'er diş seçildi. Periodontitis grubundan alınacak örneklerde ise ataşman kaybının en fazla olduğu ve enflamasyon belirtilerinin net olarak gözlendiği 3'er diş seçildi.

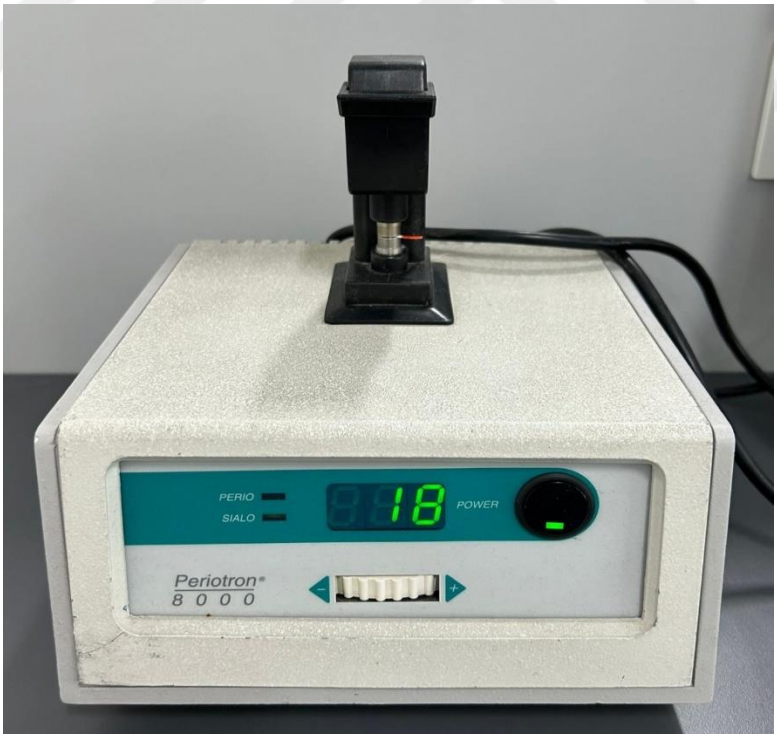
Örnek alınacak diş bölgesi, steril rulo pamuklar ve tükürük emici yardımıyla izole edildikten sonra steril gazlı bez tamponlarla kurutulmuştur. Örnek alınacak bölgede plak varlığı durumunda, steril gracey küretler (NORDENT, Duralite) yardımıyla supragingival plak nazikçe uzaklaştırılmıştır. DOS toplanmasında kağıt şeritlere emdirme yöntemi tercih edilmiş olup, boyut ve emicilik miktarı standardizasyonu için 2x14 mm boyutundaki kağıt şeritler (Periopaper, Oraflow Inc., Smithtown, New York, USA) kullanılmıştır. Kağıt şeritler örnek alınacak bölgedeki sulkus/cep derinliğinden bağımsız olarak 1mm ilerleyecek şekilde yerleştirilmiştir ve 30sn beklenmiştir (257). Bu işlem esnasında, kağıt şeritlerin kan veya tükürük ile teması gerçekleşmişse bu kağıt şeritler değerlendirmeye dahil edilmemiştir. Örnek alma sırasında, sulkus/cepten kanama gerçekleşmesi durumunda benzer özellikteki başka bir bölgeden örnek alınmıştır. Kağıt şeritlerin topladığı sıvının µl cinsinden hacimsel analizi, daha önceden kalibre edilmiş hacim ölçüm aracı (Peritron® 8000; Pro Flow Inc., Amityville, NY, USA) ile bekletilmeden yapılmıştır ve numaralandırılmış ependorf tüplerine (Microcult) yerleştirilmiştir. Hacimsel analizler her hasta ve her diş için ayrı ayrı kaydedilmiştir. Bir hastanın 3 farklı dişinden ve her bir dişten 3'er tane kağıt şeritle alınan örnekler, ELISA prosedürüne kadar -80C°'de saklanmıştır.

Elde edilen tüm örnekler tek köklü dişlerin interproksimal bölgelerinden elde edildi. Sağlıklı gruptaki örnekler Gİ < 1, CD ≤ 3 mm, KAS=0 ve SK (-) ve radyografik kemik kaybı (-) bölgelerden, gingivitis grubundaki örnekler Gİ ≤ 2, CD ≤ 3 mm, KAK=0, SK + ve radyolojik kemik kaybı (-) alanlardan, periodontitis grubundaki örnekler CD ≥ 6

mm, KAK ≥ 5 mm, SK (+) ve radyografik kemik kaybının olduğu alanlardan toplandı. Hastaların ilk gün periodontal muayeneleri yapıldı ve sonraki gün ise DOS ve tükürük örnekleri toplandı.



Şekil 3.2. Kağıt şerit ile DOS örneği toplanması



Şekil 3.3. Kağıt şeritlerle toplanan DOS'un hacimsel analizi için kliniğimizde kullandığımız periotron cihazı

3.4.2. Dişeti Dokusu Örneklerinin Elde Edilmesi

Sağlıklı gruptaki dişeti örnekleri, protetik/restoratif olarak kron boyu uzatma ya da gingivektomi endikasyonu konulmuş hastalardan elde edilmiştir. Gingivitis grubuna ise kronik gingivitis hastası olup, dişeti büyümeleri için gingivektomi endikasyonu konulmuş katılımcılar dahil edilmiştir. Periodontitis grubuna ise evre 3 kronik periodontitis hastası olup, periodontal flep cerrahisine ihtiyaç duyan hastalar dahil edilmiştir. Dişeti parçaları, incelenmeleri amacıyla 0,5ml RNA Saver (A.B.T.™) içeren mikrosantrifüj tüpüne konularak laboratuvarda inceleme yapılana kadar -80C°'de saklanmıştır.

3.5. Biyokimyasal Analizler

Çalışmamızdaki DOS ve tükürüğün ELISA yöntemiyle analizi, dişeti dokusunun RT-qPCR ile analizi İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

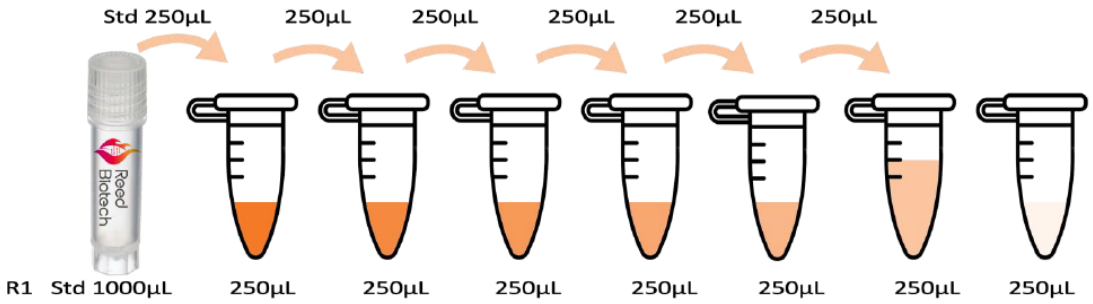
DOS ve tükürük analizleri için; VAPB (Reed Biotech, Catalog No:RE3591H,), PTPIP51 (Sunred Biological Technology, Catalog No:201-12-6234), IP3R (Reed Biotech, Catalog No:RE10079), GRP75 (Reed Biotech, Catalog No:RE3092H), VDAC (ELK Biotechnology, Catalog No: ELK4500), CASP3 (ELK Biotechnology, Catalog No:ELK1527), Ca (ELK Biotechnology, Catalog No:BC019), ROS (ELK Biotechnology, Catalog No:BC043) ticari ELISA kitleri kullanılmıştır. Analizler için üretici firmanın talimatları takip edilmiş ve çalışma steril bir ortamda yapılmıştır.

3.5.1. DOS ve Tükürük Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması

Tükürük örnekleri, analiz günü -80C°'den çıkarılarak oda sıcaklığında çözünmeye bırakılmıştır. Tam çözünme gerçekleşmeden, buz dolu kap içinde bekletilerek santrifüj sürecine geçilmiştir. Her bir örnek sırayla ikişer kere olmak üzere, 30 sn vortex ile iyice karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler sırayla santrifüj cihazına (SIGMA 1-14k, Germany) alınmıştır. Cihazın maksimum değeri olan 16162 xg'a ulaştıktan sonra 1 dk daha santrifüj prosedürüne devam edilmiştir. Sonuçta elde edilen süpernatantlar ELISA kitindeki 96 kuyucuklu plakaya daha önceden planlanan sırayla yerleştirilmiştir.

DOS örnekleri, analiz günü -80C°'den çıkarılarak buz dolu kap içine alınmıştır. Daha sonra 300 mikrolitre (µl) PBS (Phosphate-Buffered Saline) ve %1 oranda Proteaz İnhibitör Kokteyli (Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-Free, Cat. No:GK10014, GLPBIO, Montclair, CA, USA) eklenmiş karışım, her birinde üç tane kağıt şerit bulunan

ependorflara eklenmiştir. Ependorfların kapakları kapatılarak, her bir örnek ikişer kere olmak üzere, 30sn vortex ile iyice karıştırılmıştır. Sonuçta elde edilen örnekler ELISA kitindeki 96 kuyucuklu plakaya daha önceden planlanan sırayla yerleştirilmiştir.



10000	5000	2500	1250	625	312.5	156.25	0
pg/mL	pg/mL	pg/mL	pg/mL	pg/mL	pg/mL	pg/mL	pg/mL

Şekil 3.4. IP3R için Standart Çözeltilerin Hazırlanışı

3.5.2. Dişeti Dokusu Örneklerinin Homojenizasyonu ve RT-qPCR Analizi İçin Hazırlanması

Dişeti dokusu örneklerinin her birine, 300 µl PBS eklenmiştir ve bir boncuk öğütücü (Mini-Beadbeater-24, BioSpec Products Inc., Bartlesville, ABD) yardımıyla dişeti dokusu homojenize edilmiştir.

3.6. DOS ve Tükürük Örneklerindeki Biyobelirteçlerin ELISA ile Tayini

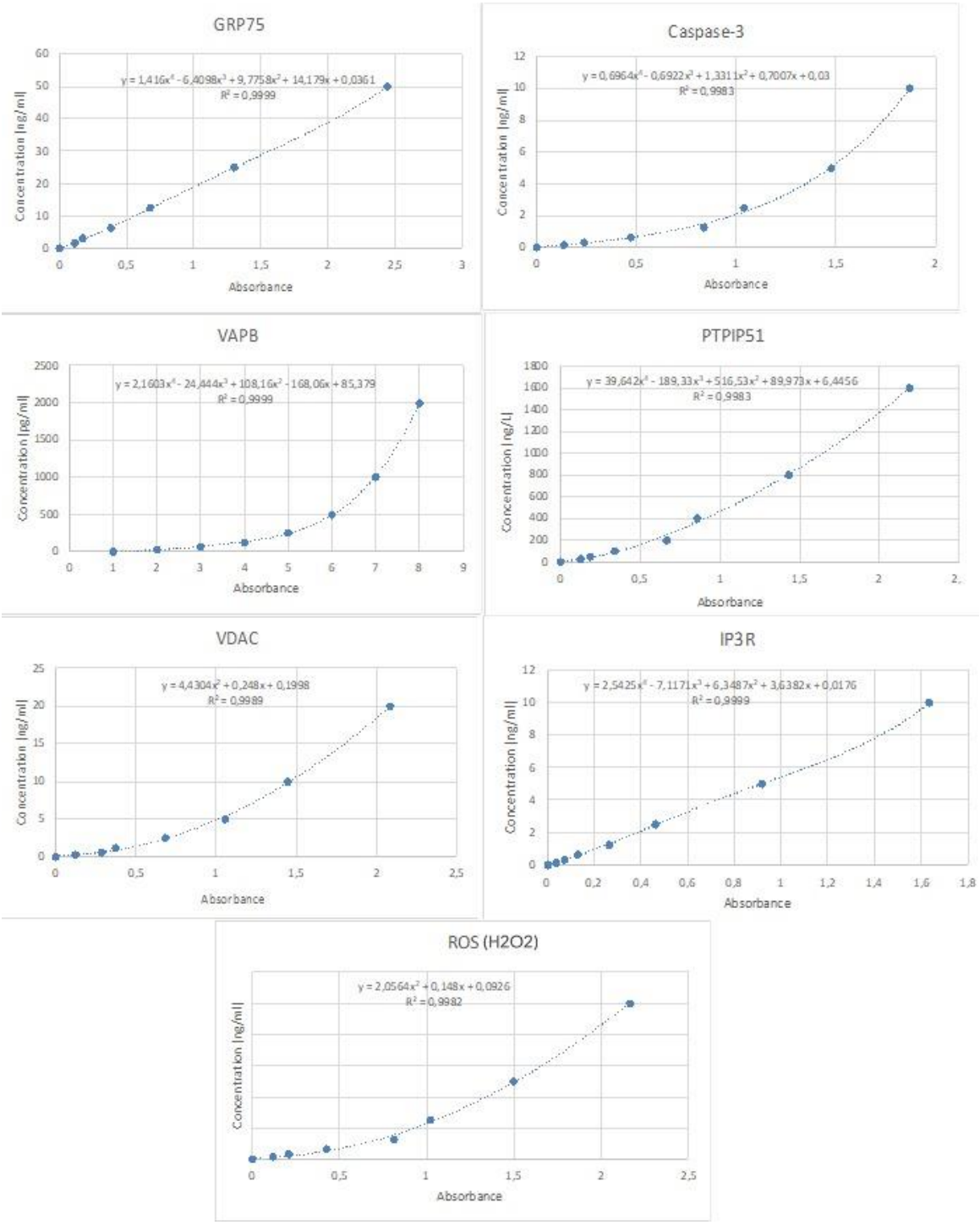
Çalışmamızda, DOS ve tükürük örneklerindeki biyobelirteçlerin (VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, VDAC, CASP3, Ca, ROS) tayini için sandviç ELISA yöntemi kullanılmıştır. Her birinde 96 kuyucuk bulunan plakalardan oluşan ELISA kitlerinin analizinde üretici firmanın talimatları izlendi. Analizde kullanılacak çözeltiler taze olarak hazırlandı ve kullanımdan hemen önce talimatlara uygun olarak oda sıcaklığında (18-25^0 C) bekletildi. Örneklerin ve çözeltilerin pipetlenmesi esnasında çapraz kontaminasyondan kaçınmak amacıyla her adımda pipet uçları yenilendi. TMB (tetrametilbenzidin) çözeltisi ışığa duyarlı olduğundan karanlıkta muhafaza edildi.

Öncelikle, kullanılacak reaktif çözeltiler talimatlara uygun olarak hazırlandı. Bunlar; standart stok çözeltiler, biyotinli antikor çalışma çözeltisi, HRP (Horseradish Peroxidase) çalışma çözeltisi ve yıkama tamponudur. Önceden antikorla kaplanmış

mikrotitre plakalarında blank, örnekler ve standart çözeltiler için kuyucuklar belirlendi. Analiz için hazırlanan, DOS ve tükürük örnekleri, 100 µL olacak şekilde uygun kuyucuklara sırasıyla yerleştirildi. Talimatlara uygun olarak seyreltilmiş standart çözeltiler de 100 µL olacak şekilde uygun kuyucuklara sırasıyla yerleştirildi. Plaka 37°C'de talimatlarda belirtilen süre boyunca (genellikle 60-90 dakika) inkübe edildi. Daha sonra, kuyucuklardaki solüsyon boşaltılarak, yıkama tamponu ile 3-5 kez yıkandı ve bağlanmayan antikorlar uzaklaştırıldı. Mikrotitre plakaları emici kağıt üzerine ters şekilde konulup iyice kurutulduktan sonra, 100 µL biyotinli antikor çalışma çözeltisi eklenerek 37°C'de 50 dakika tekrar inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra 100 µL Streptavidin-HRP çözeltisi eklendi ve 37°C'de 30-50 dakika tekrar inkübe edildi. 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi ve 37°C'de 20 dakika karanlıkta inkübe edildi. Son olarak, 50 µL durdurma (stop) çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu ve kuyucuklardaki sıvıda renk değişimi gözlemlendi. Mikrotitre plaka kapatıcıyla kapatıldı ve parmak izi, su damlası ya da su kabarcığı oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Zaman kaybedilmeden ELISA plate okuyucusuna (Agilent BioTek Synergy H1 Multi-Mode Microplate Reader, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA) yerleştirildi ve 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümleri yapıldı. Daha önceden konsantrasyonu belirlenen standartlar ile oluşturulan standart absorbans eğrisine göre, DOS ve tükürük örneklerindeki konsantrasyon değerleri hesaplandı.



Şekil 3.5 ELISA plate okuyucu



Şekil 3.6. GRP75, CASP3, VAPB, PTPIP51, VDAC, IP3R, ROS Absorbans-Konsantrasyon Grafikleri

$$\underset{mM}{Ca^{2+}Conc.} = \frac{OD_{Sample} - OD_{Blank}}{OD_{Standard} - OD_{Blank}} \times \underset{1\,mM}{C_{Standard}} \times CoD$$

Şekil 3.7. Ca^{2+} konsantrasyonunu (mM) belirlemek için kullanılan formül

3.7. Dişeti Dokusu Örneklerinde RNA İzolasyonu ve RT-qPCR Analizleri

RNA İzolasyon Kiti (A.B.T. RNA Purification Kit, Ankara, TÜRKİYE) üretici talimatlarına uygun şekilde kullanılarak, tüm çalışma gruplarına ait homojenize edilmiş dişeti dokusu örneklerinden, total RNA (Ribonükleik Asit) izole edilmiştir. Ekstrakte edilen RNA'lardan, cDNA sentez kiti (A.B.T. cDNA Synthesis Kit with RNase Inh., High Capacity, Ankara, TÜRKİYE) kullanılarak ters transkripsiyonla cDNA'lar elde edilmiştir.

Primerler (VAPB, PTPIP51, IP3R, CASP3, GRP75, VDAC, ATP2B1, ROS), kullanım klavuzunda belirtilen miktarda nükleaz içermeyen su (nuclease free water) ile sulandırıldı. Primerlerin çözülmesi esnasında, vortex kullanılmadı yalnızca pipetaj yapıldı. Primerlerlerin Tm sıcaklığı PCR verimliliğini doğrudan etkilediği için bir pilot çalışma yapılarak kullanım klavuzundaki Tm sıcaklıkları kontrol edildi. Sonuçlar doğrultusunda, her primer için ideal Tm sıcaklığı 61,5°C olarak belirlendi.

Tablo 3.1. RT-qPCR Primer Sekansları

GEN	İLERİ PRİMER (3'-5')	GERİ PRİMER (5'-3')	GENBANK NUMARASI
VAPB	AGGTTATGGAAGAATGTAAGAGGC	GTTGCTCTGCACTGTCTTCCTC	NM_004738
PTPIP51	TCACTGAGGAGGTGAGCGAGAA	CAGGTGACAGTCAGCACTCTCA	NM_018145
IP3R	GTGACAGGAAACATGCAGACTCG	CAGCAGTTGCACAAAGACAGGC	NM_002222
CASP3	GGAAGCGAATCAATGGACTCTGG	GCATCGACATCTGTACCAGACC	NM_004346
GRP75	GCCTTGCTACGGCACATTGTGA	CTGCACAGATGAGGAGAGTTCAC	NM_004134
VDAC	CTTTGCAGTGGGCTACAGGACT	CGAGTGCAGTTGGTACCTGATG	NM_003375
ATP2B1	TTAGTGGTCGCAGTGCCAGAAG	GGTTTCACAAGCATCCAGATGCC	NM_001682
ROS (NOX2)	CTCTGAACTTGGAGACAGGCAAA	CACAGCGTGATGACAACTCCAG	NM_000397

96 kuyucuklu PCR platelerin, primer dizilim tasarımları önceden çizilerek belirlendi. Öncelikle her kuyucuğa önceden hazırlanmış qPCR master mix eklendi. Önceden yapılmış dizilim tasarımına uygun olarak 2 tekrarlı olacak şekilde, pipetler her aşamada değiştirilerek cDNA'lar uygun kuyucuklara yerleştirildi. Negatif kontroller ve pozitif kontroller daha önce belirlendiği gibi uygun kuyucuklara yerleştirildi. Son olarak,

gen ekspresyon seviyelerinin normalize edilmesi için her kuyucuğa referans (housekeeping) gen olarak β-actin eklendi. PCR plate, kapatıcı ile kapatıldıktan sonra hafifçe yere vurularak kabarcık oluşması engellendi ve 1000 rpm'de 11sn santrifüje (Nüve NF 800R, Nüve Inc., Ankara, Türkiye) edildi.

PCR öncesi, bir spektrofotometre (Denovix DS-11 FX+, Denovix Inc., Wilmington, ABD) ile kantitatif olarak miktarları belirlenen örnekler, cDNA amplifikasyonu ve analizi için RT-qPCR (StepOnePlus™, Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, ABD) cihazına alındı.



Şekil 3.8. RT-qPCR (StepOnePlus™, Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, ABD) cihazı

3.6. İstatistiksel Analiz

3.6.1. Araştırmacı Kalibrasyonu ve Periodontal Ölçümlerin Tutarlılığının Belirlenmesi

Aynı değerlendirici tarafından yapılan testlerdeki tekrarlanabilirlik değerlendirildi ve sonuç >%98 olarak bulundu.

3.6.2. İstatistiksel Yöntemler

Çalışma için gerekli örneklem büyüklüğü bir yazılım kullanılarak hesaplanmıştır (G*power, Germany). Hesaplama, literatürdeki önceki bir çalışmaya

dayandırılmıştır(14). Kalsiyum seviyelerinde anlamlı bir fark bulabilmek için toplamda 18 bireyin (her grupta 6) yeterli olacağı gösterilmiştir (0.83 etki büyüklüğü, α = 0.05 anlamlılık seviyesi, gerçek güç = %82.57, merkeziyetsiz parametre = 12.62, kritik F = 3.68, numerator df = 2, dominator df = 15). Çalışmanın gücünü artırmak için her bir grupta 16 katılımcının dahil edilmesine karar verilmiştir. Daha önce GRP75 ve VAPB gibi proteinlerin periodontal hastalıktaki rolü hiç incelenmediği için posthoc bir güç analizi ile sonuçlar doğrulanmıştır. GRP75 toplam miktar veya konsantrasyon değerleri için 48 örnek dahil edildiğinde güç yeterli olarak saptanmıştır (%99.9 ve %99.9 sırasıyla)(toplam miktar: 1.67 etki büyüklüğü, α = 0.05 anlamlılık seviyesi, gerçek güç = %99.9, merkeziyetsiz parametre = 134,43, kritik F = 3.20, numerator df = 2, dominator df = 45; konsantrasyon: 1.00 etki büyüklüğü, α = 0.05 anlamlılık seviyesi, gerçek güç = %99.9, merkeziyetsiz parametre = 48,25, kritik F = 3.20, numerator df = 2, dominator df = 45). VAPB için de toplam miktar veya konsantrasyon değerleri için 48 örnek dahil edildiğinde güç yeterli olarak saptanmıştır (%98.56 ve %99.9 sırasıyla)(toplam miktar: 0.66 etki büyüklüğü, α = 0.05 anlamlılık seviyesi, gerçek güç = %98.56, merkeziyetsiz parametre = 21.53, kritik F = 3.20, numerator df = 2, dominator df = 45; konsantrasyon: 1.99 etki büyüklüğü, α = 0.05 anlamlılık seviyesi, gerçek güç = %99.9, merkeziyetsiz parametre = 191.17, kritik F = 3. 20, numerator df =2, dominator df =45).

Veriler, ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk test testi ile belirlenmiştir. Normal dağılıma sahip verilerin karşılaştırmaları, parametrik (ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma) ve parametrik olmayan (Kruskal-Wallis ve Mann-whitney U testi ve Bonferoni düzeltmesi) istatistiksel testler kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler bir istatistiksel paket programı kullanılarak yapılmıştır (SPSS v20.0, IBM, Chicago, USA). P değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ayrıca parametrelerin birbiriyle ve klinik indeksler ile korelasyonu Spearman ve Pearson korelasyon analizi kullanılarak yapılmıştır. Her proteinin doğruluğu, ROC eğrisi oluşturularak ve eğri altındaki alan (AUC) hesaplanarak incelenmiştir. Her bir protein değeri aralığındaki noktalar için duyarlılık ve özgüllük, negatif ve pozitif prediktif değer yüzdesi, eşik değeri ve güven aralığı hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, sağlıklı(16), gingivitis(16) ve periodontitis(16) olmak üzere toplam 48 hastadan DOS ve tükürük örnekleri alınmıştır.

Araştırmamız sonucu elde ettiğimiz bulgular hem klinik hem de biyokimyasal olarak incelenmiştir. Ayrıca bulgularımız gruplar arasındaki korelasyon durumuna göre de değerlendirilmiştir.

4.1 Demografik Bulgular

Çalışmamızda yer alan katılımcıların sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların demografik verileri

ÇALIŞMA GRUPLARI	KATILIMCI SAYISI	YAŞ ORTALAMASI (±standart sapma)	CİNSİYET	
			KADIN	ERKEK
SAĞLIKLI (S)	16	39,6±11,9	8	8
GİNGİVİTİS (G)	16	38,8±8,8	8	8
PERİODONTİTİS (P)	16	40,7±8,6	8	8

Çalışmamız, DOS ve tükürük örnekleri alınan üç farklı grup üzerinde yürütülmüştür. Bunlar; yaş ortalamaları 39,6(±11,9) olan 8 kadın, 8 erkekten oluşan S grubu, yaş ortalamaları 38,8(±8,8) olan 8 kadın,8 erkekten oluşan G grubu ve yaş ortalamaları 40,7(±8,6) olan 8 kadın, 8 erkekten oluşan P grubudur. Çalışmamızda yer alan katılımcıların yaşları ve cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

4.2 Klinik Bulgular

4.2.1 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Tüm Ağız Klinik Periodontal Bulguları

DOS ve tükürük örneği alınan katılımcılara ait tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, SKİ, KAS ve DOS hacmi değerleri ile bu değerlerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmaları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların tüm ağız ortalama klinik periodontal parametreleri ve DOS hacmi değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

TÜM AĞIZ	SAĞLIKLI (S)	GİNGİVİTİS (G)	PERİODONTİTİS (P)
Pİ	0,25±0,23*,#	1,66±0,36*,†	2,17±0,50†,#
Gİ	0,16±0,21*,#	1,58±0,41*,†	1,93±0,33†,#
SCD (mm)	1,39±0,17#	2,04±0,25*	4,04±0,53*,#
SKİ(%)	5,38±2,16*,#	80,19±14,51*	89,63±8,95#
KAS(mm)	0,00±0,00#	0,00±0,00*	4,82±0,73*,#
DOS HACMİ(µL)	0,21±0,06*,#	0,84±0,34*,†	1,70±0,47†,#

Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SKİ:Sondalamada kanama indeksi, KAS:Klinik ataşman seviyesi

* Aynı simgeler gruplar arası anlamlı farklılığı simgeler (p<0,016). Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda; Tüm ağız Pİ ve Gİ değerlerinin; P grubunda S ve G gruplarına göre, G grubunda S grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016). Tüm ağız SCD ve KAS değerlerinin; P grubunda S ve G gruplarına göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016). Tüm ağız SKİ değerinin; G ve P grubunda S grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016). DOS hacmi değerinin; P grubunda S ve G gruplarına göre, G grubunda S grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016).

4.2.2 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Örnek Alınan Dişlerine Ait Klinik Periodontal Bulguları

DOS ve tükürük örneği alınan katılımcılara ait örneklem bölgesi Pİ, Gİ, SCD, SK ve KAS değerleri ile bu değerlerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmaları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3 DOS ve tükürük örneği alınan katılımcıların örneklem bölgesi klinik periodontal parametreleri ve bu değerlerin gruplar arası karşılaştırılması.

ÖRNEK ALINAN DİŞLER	SAĞLIKLI (S)	GİNGİVİTİS (G)	PERİODONTİTİS (P)
Pİ	0,00±0,00$^{*,\#}$	2,10±0,39*	2,42±0,46$^{\#}$
Gİ	0,00±0,00$^{*,\#}$	1,93±0,25*	2,04±0,40$^{\#}$
SCD (mm)	1,28±0,15$^{\#}$	2,29±0,38*	6,36±0,54$^{*,\#}$
SK (%)	0,00±0,00$^{*,\#}$	99,25±3,00*	100,00±0,00$^{\#}$
KAS (mm)	0,00±0,00$^{\#}$	0,00±0,00*	6,83±0,71$^{*,\#}$

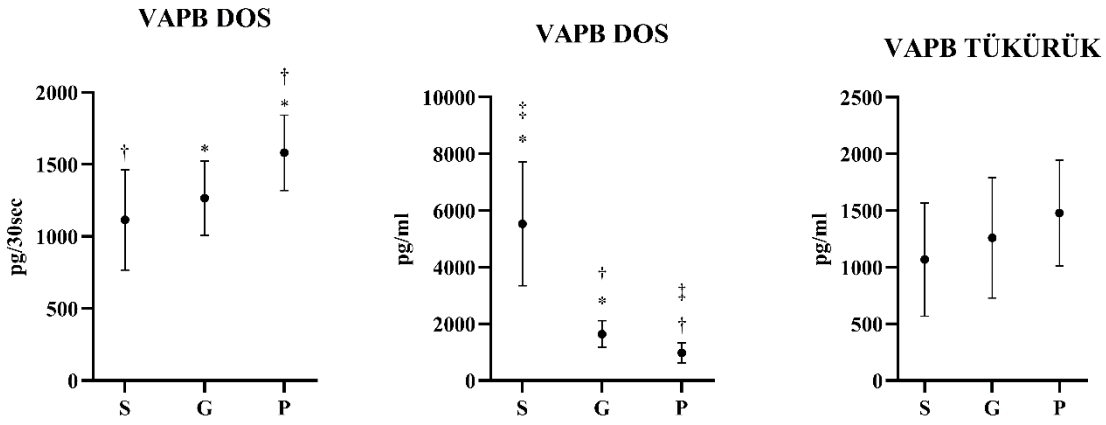
Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SKİ:Sondalamada kanama indeksi, KAS:Klinik ataşman seviyesi

* Aynı simgeler gruplar arası anlamlı farklılığı simgeler ($p<0,016$). Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda; Örneklem bölgesi Pİ, Gİ, SKİ değerlerinin; P ve G gruplarında S grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,016$). Örneklem bölgesi SCD ve KAS değerlerinin; P grubunda S ve G gruplarına göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,016$).

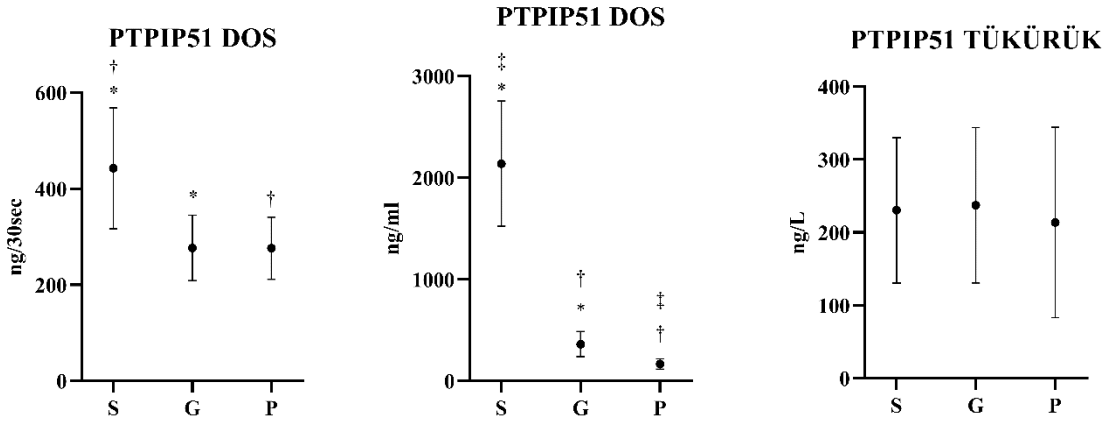
4.3 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcıların Biyokimyasal Bulguları

Çalışma gruplarından alınan tükürük ve DOS örneklerinin; VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, VDAC, CASP3, Ca, ROS toplam miktarları ve konsantrasyon değerleri ve bu değerlerin gruplar arası istatistiksel olarak karşılaştırması yapılmış ve Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. VAPB, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

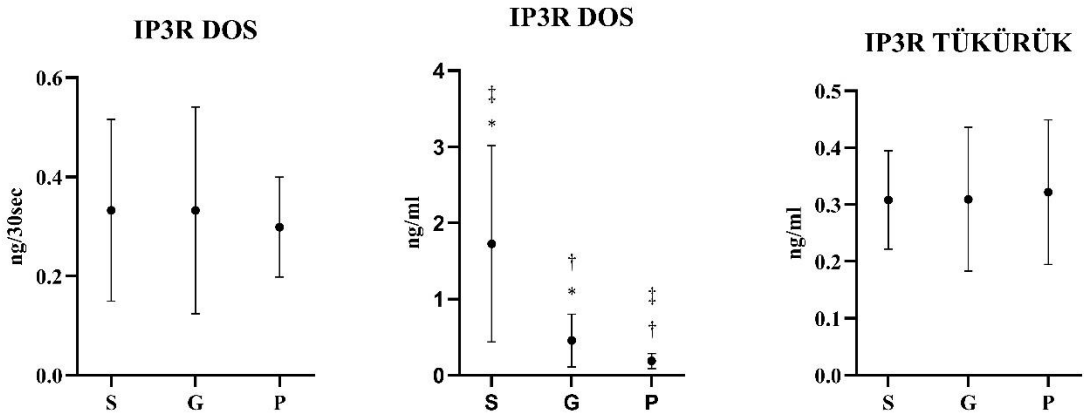
VAPB'nin DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$). VAPB'nin DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük ($p<0,016$), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$). VAPB'nin tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir ($p>0,016$).



Şekil 4.2. PTPIP51, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

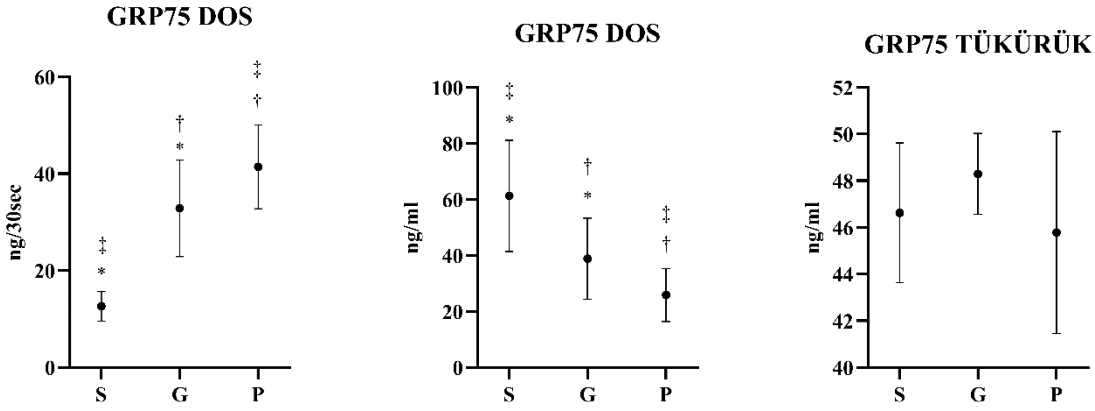
PTPIP51'in DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, S grubunda G ve P gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$). PTPIP51'in DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük

(p<0,016), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). PTPIP51'in tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir (p>0,016).



Şekil 4.3. IP3R, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

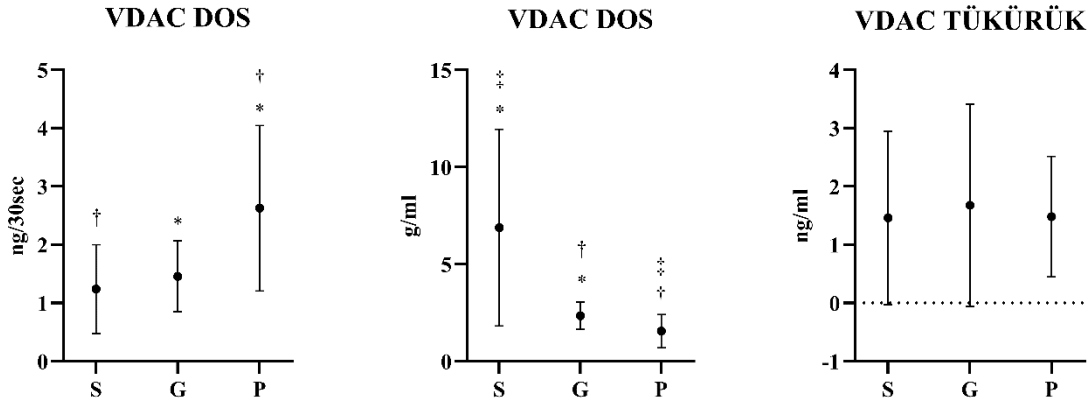
IP3R'nin DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük (p<0,016), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). IP3R'nin DOS ve tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir (p>0,016).



Şekil 4.4. GRP75, DOS toplam miktar, konsantrasyon ve tükürük toplam miktar değerleri ile dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmaları

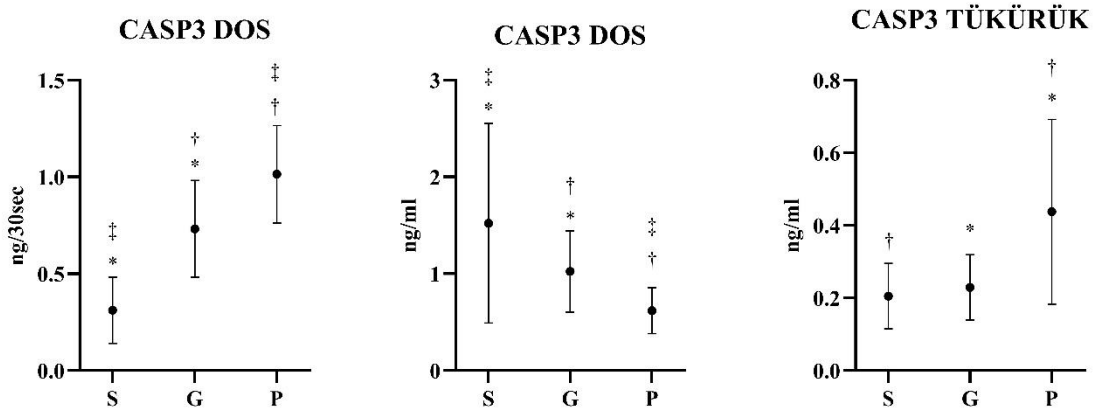
GRP75'in DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede yüksek (p<0,016), G

grubunda S grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). GRP75'in DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük (p<0,016), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). GRP75'in tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir (p>0,016).



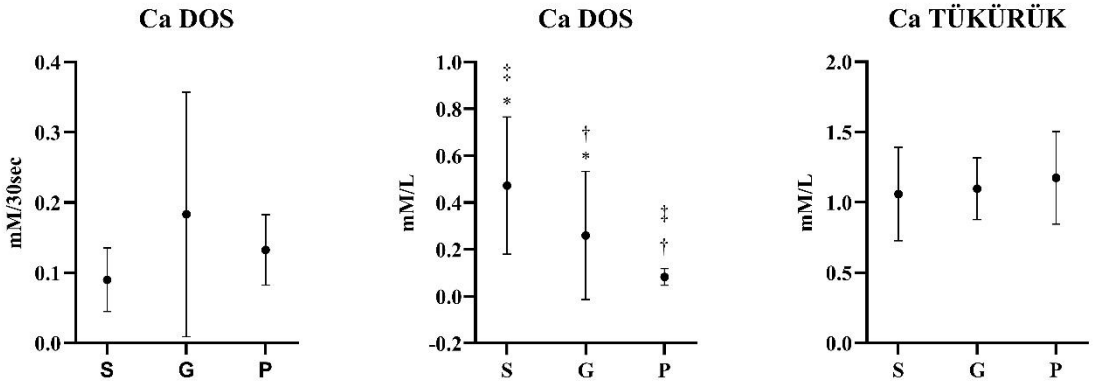
Şekil 4.5. VDAC, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

VDAC'nin DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). VDAC'nin DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük (p<0,016), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). VDAC'nin tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir (p>0,016).



Şekil 4.6. CASP3, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

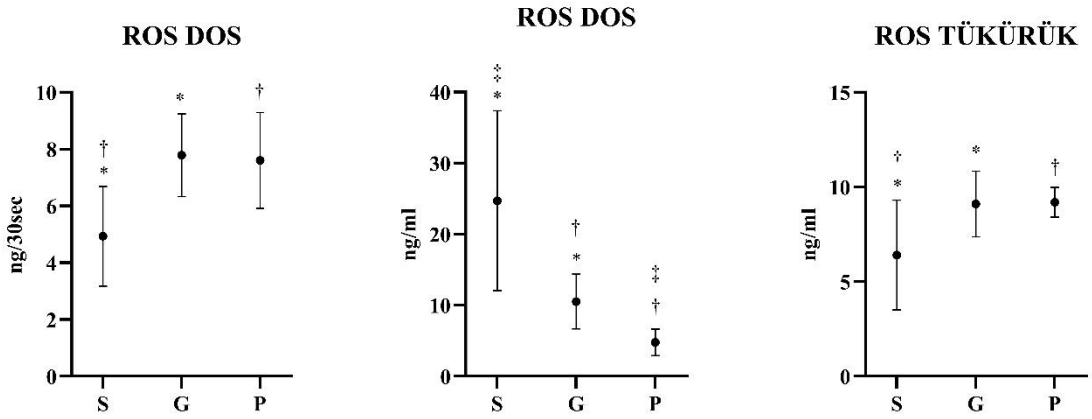
CASP3'ün DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$). CASP3'ün DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük ($p<0,016$), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$). CASP3'ün tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,016$).



Şekil 4.7. Ca, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

Ca'nın DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük ($p<0,016$), G

grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). Ca'nın DOS ve tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, gruplar arası anlamlı fark tespit edilememiştir (p>0,016).



Şekil 4.8. ROS, DOS toplam miktar, konsantrasyon, tükürük toplam miktar değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları

ROS'un DOS'taki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; S grubunda G ve P gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). ROS'un DOS'taki konsantrasyonu açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; P grubunda S ve G gruplarından anlamlı derecede düşük (p<0,016), G grubunda S grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016). ROS'un tükürükteki toplam miktarı açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubunda G ve P gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,016).

4.4 DOS ve Tükürük Analizi Yapılan Katılımcılara ait Korelasyonlar

4.4.1 DOS ve Tükürükte İncelenen Proteinlerin Birbiriyle Olan Korelasyonları

Katılımcılardan alınan DOS örneklerinde incelenen proteinlerin, toplam miktar açısından korelasyonu Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. DOS örneklerinde incelenen proteinlerin toplam miktar açısından korelasyonu

	Ca DOS TM	**ROS DOS TM**	**IP3R DOS TM**	**VDAC DOS TM**	**PTPIP51 DOS TM**	**VAPB DOS TM**	**CASP3 DOS TM**	**GRP75 DOS TM**
Ca DOS TM	rho=1	rho=0,404**	rho=0,086	rho=-0,092	rho= -0,338*	rho=-0,007	rho=0,333*	rho=0,349*
ROS DOS TM	rho=0,404**	rho=1	rho=0,208	rho=0,178	rho=-0,523**	r=0,245	rho=0,648**	rho=0,462**
IP3R DOS TM	rho=0,086	rho=0,208	rho=1	rho=-0,046	rho=-0,087	rho=-0,236	rho=0,117	rho=-0,08
VDAC DOS TM	rho=-0,092	rho=0,178	rho=-0,046	rho=1	rho=-0,218	rho=0,363*	rho=0,362**	rho=0,440**
PTPIP51 DOS TM	rho=-0,338*	rho=-0,523**	rho=-0,087	rho=-0,218	rho=1	rho=-0,248	rho=-0,445**	rho=-0,597**
VAPB DOS TM	rho=-0,007	rho=0,15	rho=-0,236	rho=0,363*	rho=-0,248	rho=1	rho=0,469**	rho=0,524**
CASP3 DOS TM	rho=0,333*	rho=0,648**	rho=0,117	rho=0,362**	rho=-0,445**	rho=0,469**	rho=1	rho=0,687**
GRP75 DOS TM	rho=0,349*	rho=0,462**	rho=-0,08	rho=0,440**	rho=-0,597**	rho=0,524**	rho=0,687**	rho=1

TM: Toplam miktar, rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

DOS Ca toplam miktarı ile DOS ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,404, p<0.01). DOS Ca toplam miktarı ile DOS PTPIP51 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho= -0,338, p<0.05). DOS Ca toplam miktarı ile DOS CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,333, p<0.05). DOS Ca toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,349, p<0.05).

DOS ROS toplam miktarı ile DOS PTPIP51 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,523, p<0.01). DOS ROS toplam miktarı ile DOS CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,648, p<0.01). DOS ROS toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,462, p<0.01).

DOS VDAC toplam miktarı ile DOS VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,363, p<0.05). DOS VDAC toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,440, p<0.01).

DOS PTPIP51 toplam miktarı ile DOS CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,445, p<0.01). DOS PTPIP51 toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,597, p<0.01).

DOS VAPB toplam miktarı ile DOS CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,524, p<0.01). DOS VAPB toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,459, p<0.01).

DOS CASP3 toplam miktarı ile DOS GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,687, p<0.01).

Katılımcılardan alınan DOS örneklerinde incelenen biyobelirteçlerin, konsantrasyon açısından korelasyonu Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5 DOS örneklerinde incelenen proteinlerin konsantrasyon açısından korelasyonu

	Ca DOS K	**ROS DOS K**	**IP3R DOS K**	**VDAC DOS K**	**PTPIP51 DOS K**	**VAPB DOS K**	**CASP3 DOS K**	**GRP75 DOS K**
Ca DOS K	rho=1	rho=0,770**	rho=0,771**	rho=0,546**	rho=0,718**	rho=0,746**	rho=0,650**	rho=0,620**

ROS DOS K	rho=0,770**	rho=1	rho=0,916**	rho=0,764**	rho=0,866**	rho=0,926**	rho=0,821**	rho=0,733**
IP3R DOS K	rho=0,771**	rho=0,916**	rho=1	rho=0,676**	rho=0,898**	rho=0,890**	rho=0,745**	rho=0,735**
VDAC DOS K	rho=0,546**	rho=0,764**	rho=0,676**	rho=1	rho=0,714**	rho=0,782**	rho=0,595**	rho=0,725**
PTPIP51 DOS K	rho=0,718**	rho=0,866**	rho=0,898**	rho=0,714**	rho=1	rho=0,898**	rho=0,604**	rho=0,774**
VAPB DOS K	rho=0,746**	rho=0,926**	rho=0,890**	rho=0,782**	rho=0,898**	rho=1	rho=0,742**	rho=0,770**
CASP3 DOS K	rho=0,650**	rho=0,821**	rho=0,745**	rho=0,595**	rho=0,604**	rho=0,742**	rho=1	rho=0,607**
GRP75 DOS K	rho=0,620**	rho=0,733**	rho=0,735**	rho=0,725**	rho=0,774**	rho=0,770**	rho=0,607**	rho=1

K: Konsantrasyon, rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

DOS Ca konsantrasyonu ile DOS ROS konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,770, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS IP3R konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,771, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS VDAC konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,546, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS PTPIP51 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,718, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS VAPB konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,746, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,650, p<0.01). DOS Ca konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,620, p<0.01).

DOS ROS konsantrasyonu ile DOS IP3R konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,916, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile DOS VDAC konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı

ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,764, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile DOS PTPIP51 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,866, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile DOS VAPB konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,926, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,821, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,733, p<0.01).

DOS IP3R konsantrasyonu ile DOS VDAC konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,676, p<0.01). DOS IP3R konsantrasyonu ile DOS PTPIP51 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,898, p<0.01). DOS IP3R konsantrasyonu ile DOS VAPB konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,890, p<0.01). DOS IP3R konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,745, p<0.01). DOS IP3R konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,735, p<0.01).

DOS VDAC konsantrasyonu ile DOS PTPIP51 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,714, p<0.01). DOS VDAC konsantrasyonu ile DOS VAPB konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,782, p<0.01). DOS VDAC konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,595, p<0.01). DOS VDAC konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,725, p<0.01).

DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile DOS VAPB konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,898, p<0.01). DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,604,

p<0.01). DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,774, p<0.01).

DOS VAPB konsantrasyonu ile DOS CASP3 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,742, p<0.01). DOS VAPB konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,770, p<0.01).

DOS CASP3 konsantrasyonu ile DOS GRP75 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,607, p<0.01).

Katılımcılardan alınan tükürük örneklerinde incelenen proteinlerin, toplam miktar açısından korelasyonu Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Tükürük örneklerinde incelenen proteinlerin toplam miktar açısından korelasyonu

	Ca TÜKÜRÜK	**ROS TÜKÜRÜK**	**IP3R TÜKÜRÜK**	**VDAC TÜKÜRÜK**	**PTPIP51 TÜKÜRÜK**	**VAPB TÜKÜRÜK**	**CASP3 TÜKÜRÜK**	**GRP75 TÜKÜRÜK**
Ca TÜKÜRÜK	rho=1	rho=0,326*	rho=0,361*	rho=0,057	rho=-0,119	rho=0,014	rho=0,308*	rho=0,116
ROS TÜKÜRÜK	rho=0,326*	rho=1	rho=0,133	rho=0,092	rho=-0,152	rho=0,181	rho=0,638**	rho=0,184
IP3R TÜKÜRÜK	rho=0,361*	rho=0,133	rho=1	rho=0,178	rho=-0,142	rho=-0,008	rho=0,101	rho=0,049
VDAC TÜKÜRÜK	rho=0,057	rho=0,092	rho=0,178	rho=1	rho=0,228	rho=0,245	rho=0,119	rho=0,254
PTPIP51 TÜKÜRÜK	rho=-0,119	rho=-0,152	rho=-0,142	rho=0,228	rho=1	rho=0,063	rho=-0,17	rho=0,22
VAPB TÜKÜRÜK	rho=0,014	rho=0,181	rho=-0,008	rho=0,245	rho=0,063	rho=1	rho=0,058	rho=0,357*
CASP3 TÜKÜRÜK	rho=0,308*	rho=0,638**	rho=0,101	rho=0,119	rho=-0,17	rho=0,058	rho=1	rho=-0,001
GRP75 TÜKÜRÜK	rho=0,116	rho=0,184	rho=0,049	rho=0,254	rho=0,22	rho=0,357*	rho=-0,001	rho=1

rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

Tükürük Ca toplam miktarı ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,326, p<0.05). Tükürük Ca toplam miktarı ile tükürük IP3R toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,361, p<0.05). Tükürük Ca toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,308, p<0.05).

Tükürük ROS toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,638, p<0.01).

Tükürük VAPB toplam miktarı ile tükürük GRP75 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,357, p<0.05).

Katılımcılardan alınan DOS ve tükürük örneklerinde incelenen proteinlerin, toplam miktar açısından korelasyonu Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7 DOS örneklerinde incelenen proteinlerin toplam miktar ve konsantrasyonu ile tükürük örneklerinde incelenen proteinlerin toplam miktarının korelasyonu

	Ca TÜKÜRÜK	**ROS TÜKÜRÜK**	**IP3R TÜKÜRÜK**	**VDAC TÜKÜRÜK**	**PTPIP51 TÜKÜRÜK**	**VAPB TÜKÜRÜK**	**CASP3 TÜKÜRÜK**	**GRP75 TÜKÜRÜK**
Ca DOS TM	rho=0,15	rho=-0,032	rho=0,119	rho=-0,109	rho=-0,071	rho=0,262	rho=-0,08	rho=-0,054
ROS DOS TM	rho=0,184	rho=0,133	rho=-0,044	rho=0,076	rho=0,039	r=0,089	rho=0,059	rho=0,004
IP3R DOS TM	rho=0,07	rho=-0,007	rho=-0,122	rho=-0,042	rho=0,106	rho=-0,038	rho=-0,066	rho=0,047
VDAC DOS TM	rho=0,352*	rho=0,185	rho=0,132	rho=0,285*	rho=-0,075	rho=0,193	rho=0,416**	rho=0,023
PTPIP51 DOS TM	rho=-0,178	rho=-0,403**	rho=-0,253	rho=0,047	rho=-0,093	rho=-0,171	rho=-0,229	rho=-0,091
VAPB DOS TM	rho=0,156	rho=0,141	rho=0,114	rho=0,174	rho=-0,083	r=0,227	rho=0,417**	rho=0,073
CASP3 DOS TM	rho=0,2	rho=0,18	rho=0,143	rho=0,193	rho=-0,006	rho=0,221	rho=0,309*	rho=0,026

GRP75 DOS TM	rho=0,352*	rho=0,445**	rho=0,117	rho=0,141	rho=-0,06	rho=0,367*	rho=0,456**	rho=0,166
Ca DOS K	rho=-0,019	rho=-0,267	rho=0,106	rho=-0,216	rho=0,059	rho=-0,211	rho=-0,517**	rho=0,076
ROS DOS K	rho=-0,119	rho=-0,365*	rho=0,094	rho=-0,08	rho=0,158	rho=-0,401**	rho=-0,538**	rho=0,025
IP3R DOS K	rho=-0,184	rho=-0,344*	rho=-0,042	rho=-0,141	rho=0,157	rho=-0,338*	rho=-0,541**	rho=0,05
VDAC DOS K	rho=0,138	rho=-0,196	rho=0,223	rho=0,008	rho=0,174	rho=-0,157	rho=-0,269	rho=0,183
PTPIP51 DOS K	rho=-0,231	rho=-0,347*	rho=-0,101	rho=-0,164	rho=0,073	rho=-0,292*	rho=-0,514**	rho=0,04
VAPB DOS K	rho=-0,147	rho=-0,332*	rho=0,103	rho=-0,126	rho=0,155	rho=-0,318*	rho=-0,465**	rho=0,102
CASP3 DOS K	rho=-0,067	rho=-0,330*	rho=0,139	rho=0,019	rho=0,274	rho=-0,271	rho=-0,473**	rho=0,183
GRP75 DOS K	rho=0,042	rho=-0,125	rho=0,096	rho=-0,012	rho=0,152	rho=-0,17	rho=-0,387**	rho=0,154

TM: Toplam miktar, K: Konsantrasyon, rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

DOS VDAC toplam miktarı ile tükürük Ca toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,352, p<0.05). DOS VDAC toplam miktarı ile tükürük VDAC toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,285, p<0.05). DOS VDAC toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,416, p<0.01).

DOS PTPIP51 toplam miktarı ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,403, p<0.01).

DOS VAPB toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,417, p<0.01).

DOS CASP3 toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,309, p<0.05).

DOS GRP75 toplam miktarı ile tükürük Ca toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,352, p<0.05). DOS GRP75 toplam miktarı ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,445, p<0.01). DOS GRP75 toplam miktarı ile tükürük VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,367, p<0.05). DOS GRP75 toplam miktarı ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=0,456, p<0.01).

DOS Ca konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,517, p<0.01).

DOS ROS konsantrasyonu ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,365, p<0.05). DOS ROS konsantrasyonu ile tükürük VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,401, p<0.01). DOS ROS konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,538, p<0.01).

DOS IP3R konsantrasyonu ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,344, p<0.05). DOS IP3R konsantrasyonu ile tükürük VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,338, p<0.05). DOS IP3R konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,541, p<0.01).

DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,347, p<0.05). DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile tükürük VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,292, p<0.05). DOS PTPIP51 konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,514, p<0.01).

DOS VAPB konsantrasyonu ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,332, p<0.05). DOS VAPB konsantrasyonu ile tükürük VAPB toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,318, p<0.05). DOS VAPB konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,465, p<0.01).

DOS CASP3 konsantrasyonu ile tükürük ROS toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,330, p<0.05). DOS CASP3 konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,473, p<0.01).

DOS GRP75 konsantrasyonu ile tükürük CASP3 toplam miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,387, p<0.01).

4.4.2 DOS ve Tükürükte İncelenen Proteinlerin ve Klinik Periodontal indekslerin Korelasyonları

Çalışma geneli klinik parametrelerle DOS ve tükürük proteinlerinin korelasyonları Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8 Çalışma geneli klinik parametrelerle DOS ve tükürük biyobelirteçlerinin korelasyonu

	Pİ	**Gİ**	**SCD**	**SKİ**	**KAS**
Ca DOS TM	rho=0,337*	rho=0,297*	rho=0,236	rho=0,351*	rho=0,191
ROS DOS TM	rho=0,466**	rho=0,514**	rho=0,488**	rho=0,526**	rho=0,320*
IP3R DOS TM	rho=0,031	rho=0,122	rho=-0,057	rho=-0, 096	rho=0,048
VDAC DOS TM	rho=0,367*	rho=0,420**	rho=0,465**	rho=0,423**	rho=0,457**
PTPIP51 DOS TM	rho=-0,605**	rho=-0,652**	rho=-0,575**	rho=-0,460**	rho=-0,332*
VAPB DOS TM	rho=0,489**	rho=0,349*	rho=0,528**	rho=0,538**	rho=0,508**

CASP3 DOS TM	rho=0,503**	rho=0,487**	rho=0,439**	rho=0,700**	rho=0,590**
GRP75 DOS TM	rho=0,787**	rho=0,745**	rho=0,798**	rho=0,805**	rho=0,580**
Ca DOS K	rho=-0,577**	rho=-0,479**	rho=-0,661**	rho=-0,627**	rho=-0,613**
ROS DOS K	rho=-0,783**	rho=-0,647**	rho=-0,806**	rho=-0,836**	rho=-0,724**
IP3R DOS K	rho=-0,747**	rho=-0,642**	rho=-0,813**	rho=-0,846**	rho=-0,668**
VDAC DOS K	rho=-0,694**	rho=-0,552**	rho=-0,609**	rho=-0,659**	rho=-0,559**
PTPIP51 DOS K	rho=-0,816**	rho=-0,733**	rho=-0,868**	rho=-0,853**	rho=-0,745**
VAPB DOS K	rho=-0,780**	rho=-0,692**	rho=-0,791**	rho=-0,817**	rho=-0,684**
CASP3 DOS K	rho=-0,533**	rho=-0,438**	rho=-0,584**	rho=-0,629**	rho=-0,560**
GRP75 DOS K	rho=-0,592**	rho=-0,482**	rho=-0,610**	rho=-0,642**	rho=-0,584**
Ca TÜKÜRÜK	rho=0,217	rho=0,368**	rho=0,275	rho=0,231	rho=0,171
ROS TÜKÜRÜK	rho=0,318*	rho=0,467**	rho=0,482**	rho=0,367*	rho=0,209
IP3R TÜKÜRÜK	rho=0,01	rho=0,097	rho=0,009	rho=0,009	rho=-0,038
VDAC TÜKÜRÜK	rho=0,044	rho=0,138	rho=0,195	rho=0,102	rho=0,02
PTPIP51 TÜKÜRÜK	rho=-0,029	rho=0,02	rho=0,013	rho=-0,109	rho=-0,049
VAPB TÜKÜRÜK	rho=0,286*	rho=0,360*	rho=0,391**	rho=0,363*	rho=0,321*
CASP3 TÜKÜRÜK	rho=0,419**	rho=0,413**	rho=0,539**	rho=0,535**	rho=0,511**

GRP75 TÜKÜRÜK	rho=0,094	rho=0,22	rho=0,087	rho=0,012	rho=-0,159

Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SKİ:Sondalamada kanama indeksi, KAS:Klinik ataşman seviyesi, TM: Toplam miktar, K: Konsantrasyon, rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

Tüm ağız Pİ ile;

DOS Ca toplam miktarı (rho=0,337, p<0.05), DOS VDAC toplam miktarı (rho=0,367, p<0.05), tükürük ROS toplam miktarı (rho=0,318, p<0.05) ve tükürük VAPB toplam miktarı (rho=0,286, p<0.05) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS ROS toplam miktarı (rho=0,466, p<0.01), DOS VAPB toplam miktarı (rho=0, 489, p<0.01), DOS CASP3 toplam miktarı (rho=0, 503, p<0.01), DOS GRP75 toplam miktarı (rho=0, 787, p<0.01) ve tükürük CASP3 toplam miktarı (rho=0, 419, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS PTPIP51 toplam miktarı (rho=-0,605, p<0.01), DOS Ca konsantrasyonu (rho=-0,577, p<0.01), DOS ROS konsantrasyonu (rho=-0,783, p<0.01), DOS IP3R konsantrasyonu (rho=-0,747, p<0.01), DOS VDAC konsantrasyonu (rho=-0,694, p<0.01), DOS PTPIP51 konsantrasyonu (rho=-0,816, p<0.01), DOS VAPB konsantrasyonu (rho=-0,780, p<0.01), DOS CASP3 konsantrasyonu (rho=-0,533, p<0.01) ve DOS GRP75 konsantrasyonu (rho=-0,592, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır.

Tüm ağız Gİ ile;

DOS Ca toplam miktarı (rho=0,297, p<0.05), DOS VAPB toplam miktarı (rho=0,349, p<0.05) ve tükürük VAPB toplam miktarı (rho=0,360, p<0.05) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS ROS toplam miktarı (rho=0,514, p<0.01), DOS VDAC toplam miktarı (rho=0,420, p<0.01), DOS CASP3 toplam miktarı (rho=0,487, p<0.01), DOS GRP75 toplam miktarı (rho=0,745, p<0.01), tükürük Ca toplam miktarı (rho=0,368, p<0.01), tükürük ROS toplam miktarı (rho=0,467, p<0.01) ve tükürük CASP3 toplam miktarı (rho=0,413, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS PTPIP51 toplam miktarı (rho=-0,652, p<0.01), DOS Ca konsantrasyonu (rho=-0,479, p<0.01), DOS ROS konsantrasyonu (rho=-0,647, p<0.01), DOS IP3R konsantrasyonu (rho=-0,642, p<0.01), DOS VDAC konsantrasyonu (rho=-0,552, p<0.01), DOS PTPIP51

konsantrasyonu (rho=-0,733, p<0.01), DOS VAPB konsantrasyonu (rho=-0,692, p<0.01), DOS CASP3 konsantrasyonu (rho=-0,438, p<0.01) ve DOS GRP75 konsantrasyonu (rho=-0,482, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır.

Tüm ağız SCD ile;

DOS ROS toplam miktarı (rho=0,488, p<0.01), DOS VDAC toplam miktarı (rho=0,465, p<0.01), DOS VAPB toplam miktarı (rho=0,528, p<0.01), DOS CASP3 toplam miktarı (rho=0,439, p<0.01), DOS GRP75 toplam miktarı (rho=0,498, p<0.01), tükürük ROS toplam miktarı (rho=0,482, p<0.01), tükürük VAPB toplam miktarı (rho=0,391, p<0.01) ve tükürük CASP3 toplam miktarı (rho=0,539, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS PTPIP51 toplam miktarı (rho=-0,575, p<0.01), DOS Ca konsantrasyonu (rho=-0,661, p<0.01), DOS ROS konsantrasyonu (rho=-0,806, p<0.01), DOS IP3R konsantrasyonu (rho=-0,813, p<0.01), DOS VDAC konsantrasyonu (rho=-0,609, p<0.01), DOS PTPIP51 konsantrasyonu (rho=-0,868, p<0.01), DOS VAPB konsantrasyonu (rho=-0,791, p<0.01), DOS CASP3 konsantrasyonu (rho=-0,584, p<0.01) ve DOS GRP75 konsantrasyonu (rho=-0,610, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır.

Tüm ağız SK ile;

DOS Ca toplam miktarı (rho=0,351, p<0.05), tükürük ROS toplam miktarı (rho=0,367, p<0.05) ve tükürük VAPB toplam miktarı (rho=0,363, p<0.05) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS ROS toplam miktarı (rho=0,526, p<0.01), DOS VDAC toplam miktarı (rho=0,423, p<0.01), DOS VAPB toplam miktarı (rho=0,538, p<0.01) DOS CASP3 toplam miktarı (rho=0,700, p<0.01), DOS GRP75 toplam miktarı (rho=0,805, p<0.01) ve tükürük CASP3 toplam miktarı (rho=0,535, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS PTPIP51 toplam miktarı (rho=-0,460, p<0.01), DOS Ca konsantrasyonu (rho=-0,627, p<0.01), DOS ROS konsantrasyonu (rho=-0,836, p<0.01), DOS IP3R konsantrasyonu (rho=-0,846, p<0.01), DOS VDAC konsantrasyonu (rho=-0,659, p<0.01), DOS PTPIP51 konsantrasyonu (rho=-0,853, p<0.01), DOS VAPB konsantrasyonu (rho=-0,817, p<0.01), DOS CASP3 konsantrasyonu (rho=-0,629,

p<0.01) ve DOS GRP75 konsantrasyonu (rho=-0,642, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır.

Tüm ağız KAK ile;

DOS ROS toplam miktarı (rho=0,320, p<0.05) ve tükürük VAPB toplam miktarı (rho=0,321, p<0.05) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS VDAC toplam miktarı (rho=0,457, p<0.01), DOS VAPB toplam miktarı (rho=0,508, p<0.01), DOS CASP3 toplam miktarı (rho=0,590, p<0.01), DOS GRP75 toplam miktarı (rho=0,580, p<0.01) ve tükürük CASP3 toplam miktarı (rho=0,511, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS PTPIP51 toplam miktarı (rho=-0,332, p<0.05) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır. DOS Ca konsantrasyonu (rho=-0,613, p<0.01), DOS ROS konsantrasyonu (rho=-0,724, p<0.01), DOS IP3R konsantrasyonu (rho=-0,668, p<0.01), DOS VDAC konsantrasyonu (rho=-0,559, p<0.01), DOS PTPIP51 konsantrasyonu (rho=-0,745, p<0.01), DOS VAPB konsantrasyonu (rho=-0,684, p<0.01), DOS CASP3 konsantrasyonu (rho=-0,560, p<0.01) ve DOS GRP75 konsantrasyonu (rho=-0,584, p<0.01) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır.

4.5. ROC Eğrisi Analizi

Çalışmanın performansını değerlendirmek için ROC eğrisi analizi yapıldı. Gingivitis grubunun ROC eğrisi analiz sonuçları tablo 4.9'da, periodontitis grubunun ROC eğrisi analizi sonuçları tablo 4.10'da verilmiştir.

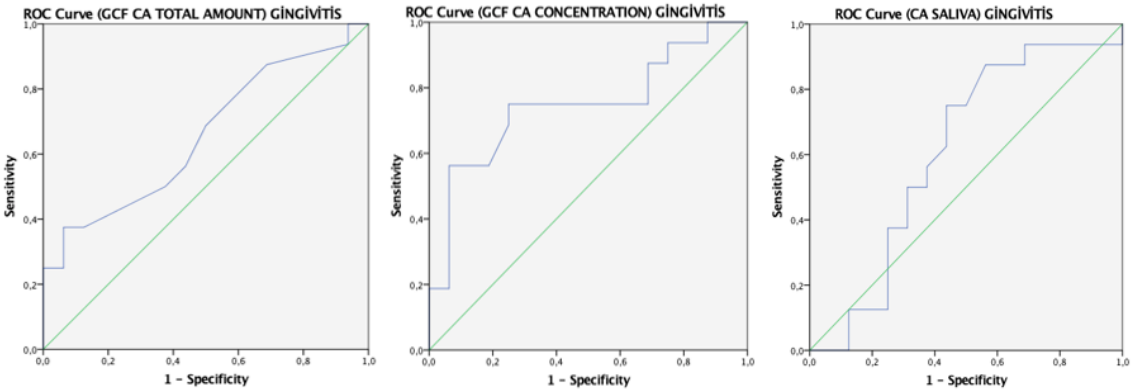
Tablo 4.9 Gingivitis grubunun ROC eğrisi analiz sonuçları

MARKER		KN	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)	PPD (%)	NPD (%)	EAA	GA	p
Ca	TM	0.16	37.5	93.75	85.7	60	0.656	0.465 - 0.847	0.132
	K	0,31	75,0	75	75	75	0.75	0.569 - 0.924	0.018*
	T	1	75,0	56,25	63,16	69.23	0.607	0.402 - 0.413	0.300

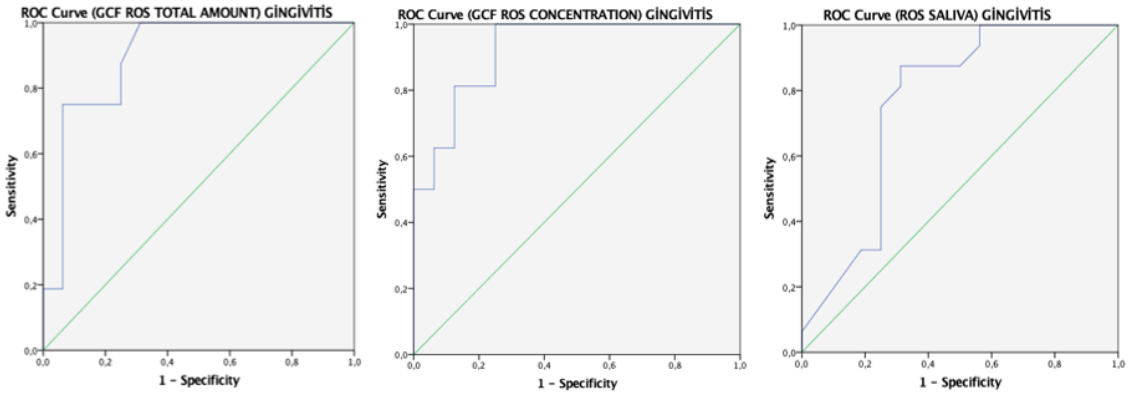
ROS	**TM**	6.9	75,00	93.75	92.81	78.95	0.898	0.783-1	0.000**
	K	16.64	100,0	100	100	66.67	0.922	0.831-1	0.000**
	T	8	87,5	68.75	73.7	84.6	0.76	0.585-0.938	0.012*
IP3R	**TM**	0.3	56.25	68.75	64.29	61.11	0.537	0.327-0.747	0.720
	K	0.81	75,00	75	78.95	92.31	0.951	0.866-1	0.000**
	T	0.56	12,5	100	53.33	60.53	0.434	0.229-0.638	0.522
VDAC	**TM**	1,,06	81,25	62,5	68,42	76,92	0.631	0.427-0.835	0.207
	K	4.08	93,75	93,75	83,33	57,69	0.891	0.775-1	0.000**
	T	0.78	81.25	43.75	59.1	70	0.568	0.336-0.771	0.510
PTPIP51	**TM**	342.58	93.75	94.75	90.91	71.43	0.916	0,808-1	0.000**
	K	1185.14	100	100	100	100	1.000	1.000-1	0.000**
	T	209.29	56.25	62.5	60	58.8	0.545	0.339-0.750	0.665
VAPB	**TM**	1325.21	43.75	75	63.64	57.14	0.590	0.390-0.790	0.386
	K	2595,87	100	100	100	61.54	0.988	0.963-1	0.000**
	T	866.45	87.5	43.75	60.87	77.78	0.623	0.427-0.823	0.228

CASP3	**TM**	0.36	87.5	75	77.78	85.71	0.812	0.657 - 0.968	0.003**
	K	0.99	62.5	62.5	71.43	90.91	0.930	0.847 -1	0.015*
	T	0.18	68.75	56.25	61.11	64.29	0.605	0.406 - 0.805	0.309
GRP75	**TM**	17.7	93.75	100	100	94.12	0.977	0.928 -1	0.000**
	K	47.84	62.50	62.50	66.67	71.43	0,824	0,683 - 0,965	0.002**
	T	48.79	56.25	84.62	81.82	61.11	0.705	0.521 - 0.889	0.048*

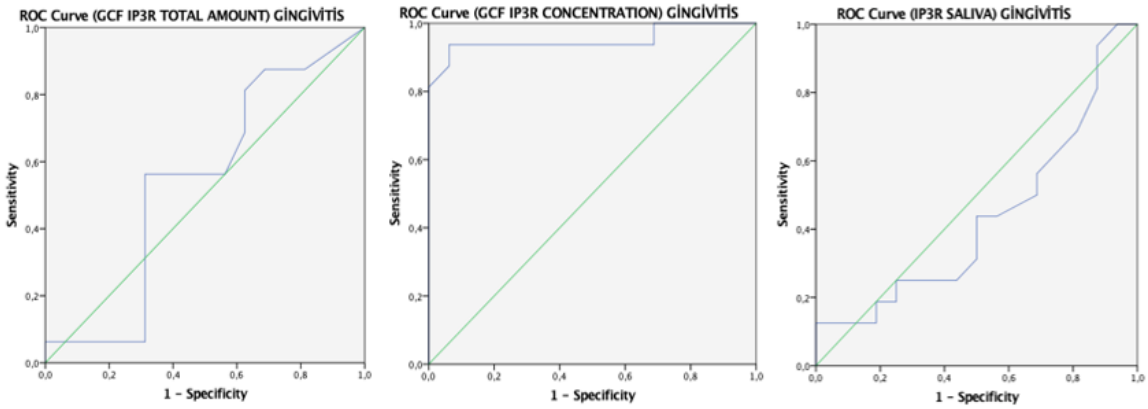
TM: Toplam miktar, K:Konsantrasyon, T: Tükürük, KN:Kesim Noktası, PPD:Pozitif Prediktif Değer, NPD:Negatif Prediktif Değer, EAA:Eğri Altındaki Alan GA:Güven Aralığı, *p<0,05, ** p<0.01



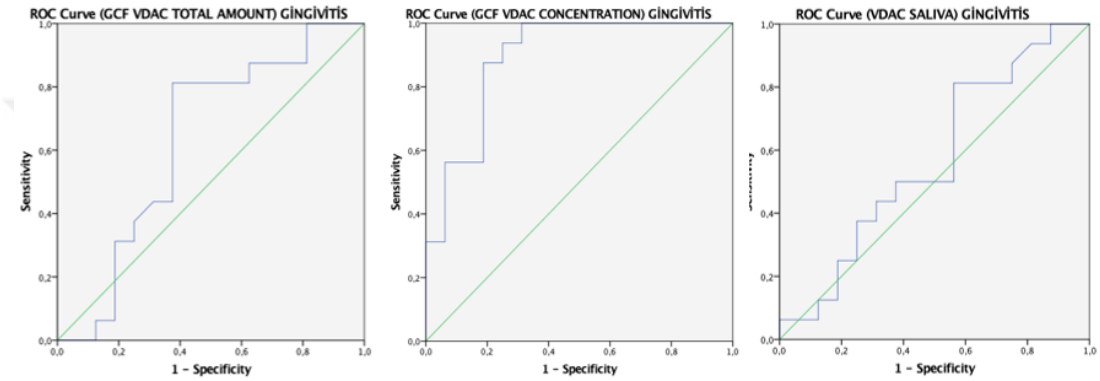
Şekil 4.9. Gingivitis Ca ROC Eğrisi Analizi



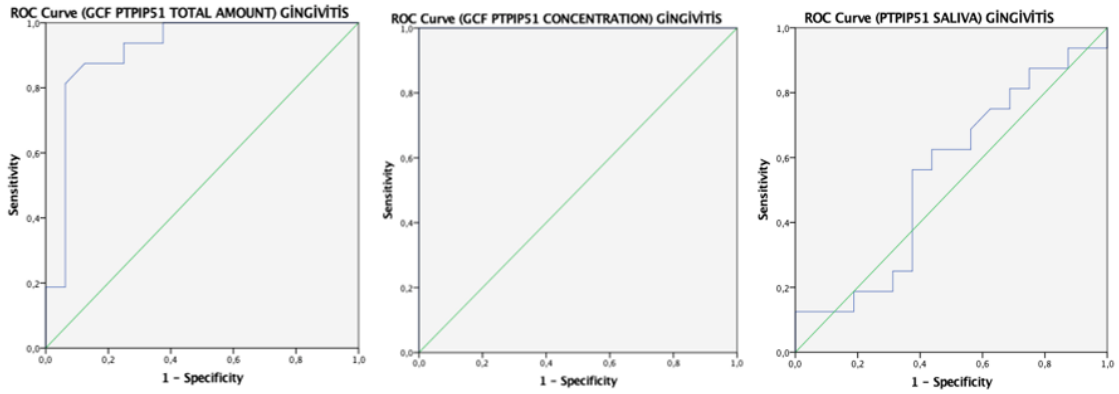
Şekil 4.10. Gingivitis ROS ROC Eğrisi Analizi



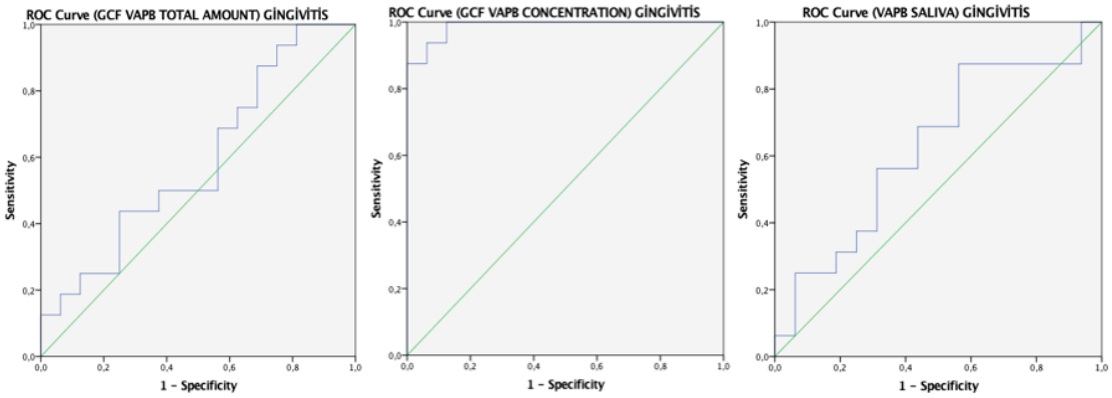
Şekil 4.11. Gingivitis IP3R ROC Eğrisi Analizi



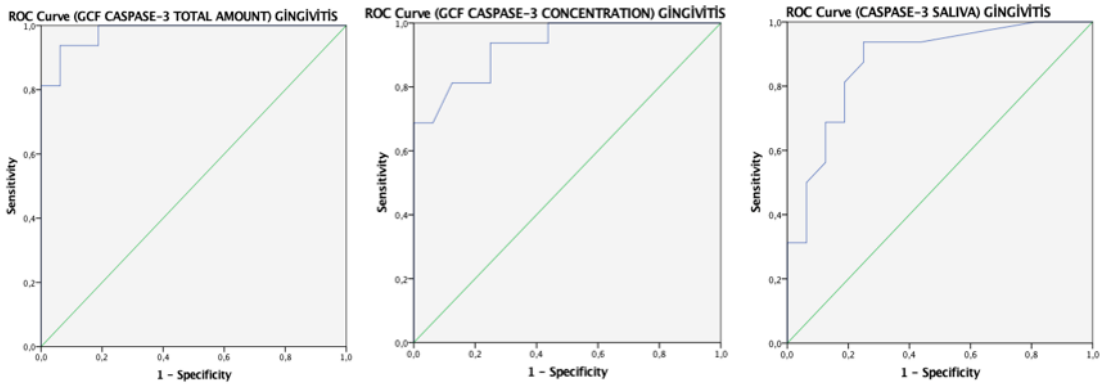
Şekil 4.12. Gingivitis VDAC ROC Eğrisi Analizi



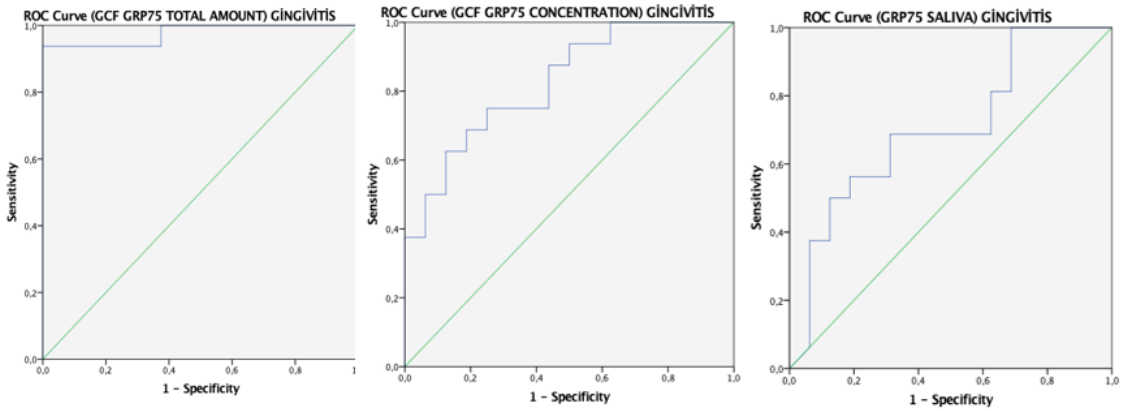
Şekil 4.13. Gingivitis PTPIP51 ROC Eğrisi Analizi



Şekil 4.14. Gingivitis VAPB ROC Eğrisi Analizi



Şekil 4.15. Gingivitis CASP3 ROC Eğrisi Analizi



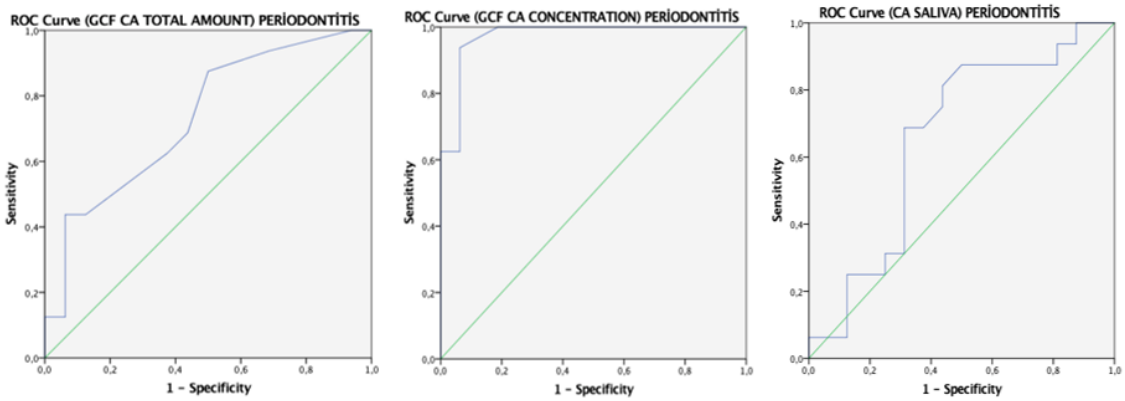
Şekil 4.16. Gingivitis GRP75 ROC Eğrisi Analizi

Tablo 4.10. Periodontitis grubunun ROC eğrisi analiz sonuçları

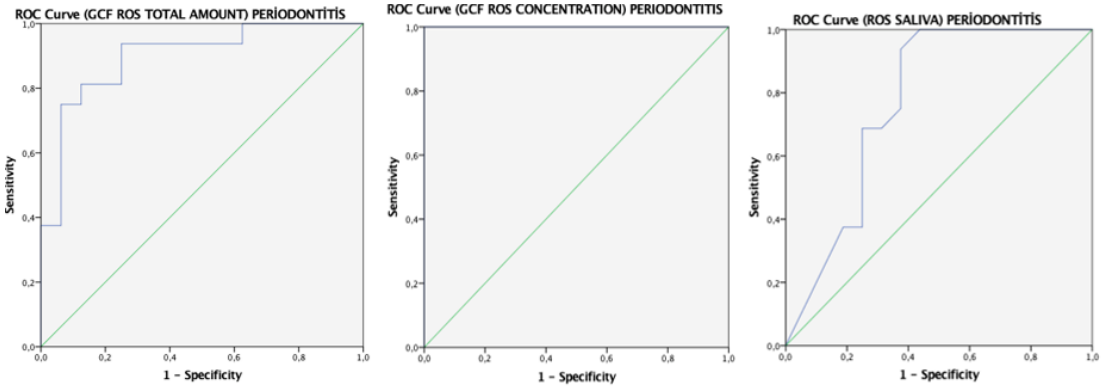
MARKER		KN	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)	PPD (%)	NPD (%)	EAA	GA	p
Ca	TM	0.15	43.75	93.75	87.5	62.5	0,732	0,558 - 0.907	0,025*
	K	0.16	93.75	93.75	92.31	78.95	0,976	0,922 -1.	0.000**
	T	1.06	68.75	68.75	68.75	68.75	0,656	0,458 - 0.855	0,132
ROS	TM	6.6	75,00	93.75	92.31	78.95	0,898	0,788 -1	0.000**
	K	10.22	100,0	100	100	69.57	1	1-1	0.000**
	T	8.00	93.75	62.5	71.43	90.91	0,77	0,595 - 0.944	0.009**
IP3R	TM	0.31	43.75	68.75	58.33	55	0,504	0,297 - 0.711	0,97
	K	0.6	100,0	100	100	76.19	1	1-1	0.000**
	T	0.54	12,5	100	100	53.33	0,498	0,292 - 0.704	0,985
VDAC	TM	1.24	93.75	62.5	71.43	90.91	0,83	0,690 - 0.907	0,001**
	K	3.06	100	100	100	59.26	0.941	0.868 -1	0.000**
	T	1.11	50	68.75	61.54	57.89	0,547	0,343 - 0.751	0,651
PTPIP51	TM	200	100,0	100	100	55.17	0.918	0.807 -1	0.000**
	K	199	100	100	100	84.21	1	1-1	0.000**
	T	202.52	50	62.5	57.1	55.6	0,457	0,252 - 0.662	0.678
VAPB	TM	1502.02	75,0	93.75	92.3	78.9	0,879	0,758 -1	0.000**

	K	1000	100	100	100	64	1	1-1	0.000**
	T	1673.75	50	93.75	88.9	65.2	0,734	0,561 - 0.908	0.024*
CASP3	**TM**	0.65	56.25	93.75	90	68.2	0,838	0,703 - 0.973	0,001**
	K	0.5	87.5	87.5	83.33	70	0.928	0.843 -1	0.000**
	T	0.21	87.5	75	77.8	85.7	0,834	0,686 - 0.982	0,001**
GRP75	**TM**	22.9	100,0	100	100	100	1.000	1-1	0.000**
	K	25	100	100	100	66.25	0.961	0.899 -1	0.000**
	T	46.26	31.25	31.25	42.11	38.46	0,469	0,257 - 0.681	0,763

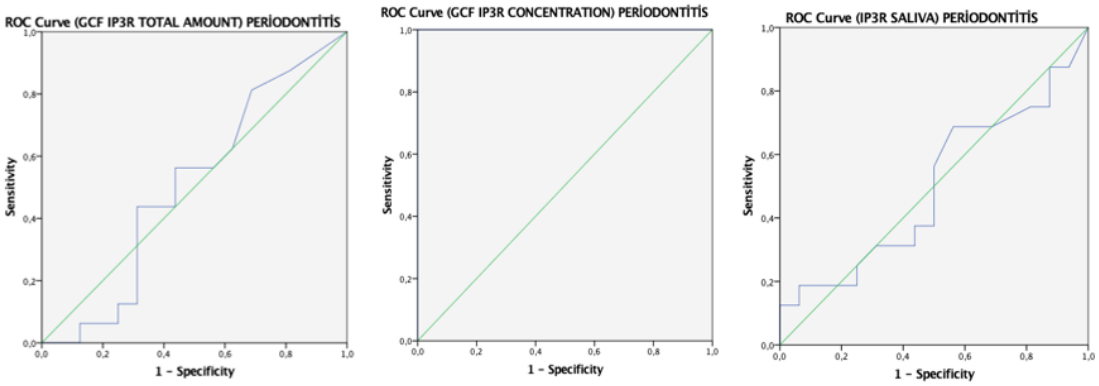
TM: Toplam miktar, K:Konsantrasyon, T: Tükürük, KN:Kesim Noktası, PPD:Pozitif Prediktif Değer, NPD:Negatif Prediktif Değer, EAA:Eğri Altındaki Alan GA:Güven Aralığı, *p<0,05, ** p<0.01



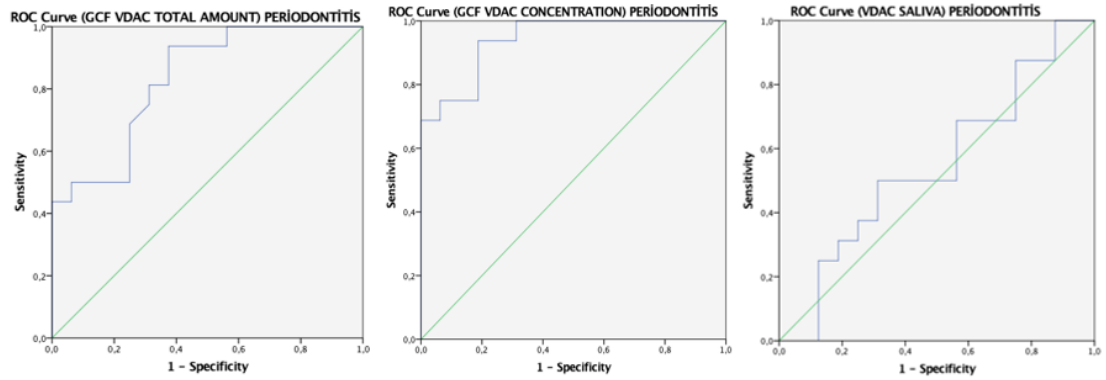
Şekil 4.17. Periodontitis Ca ROC Eğrisi Analizi



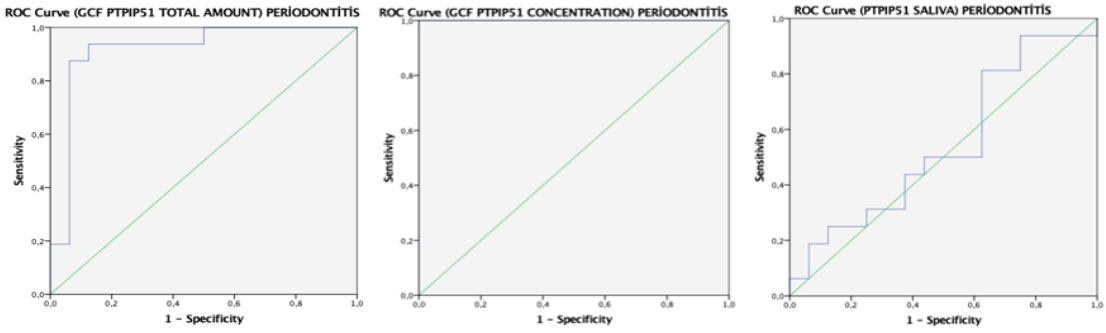
Şekil 4.18. Periodontitis ROS ROC Eğrisi Analizi



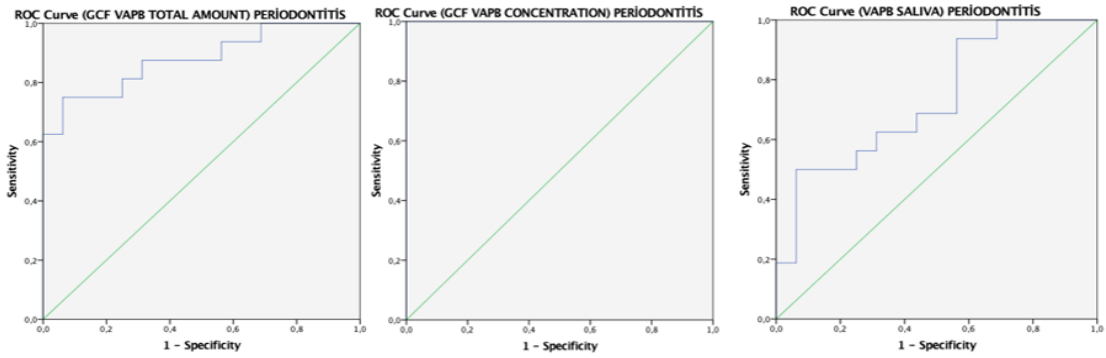
Şekil 4.19. Periodontitis IP3R ROC Eğrisi Analizi



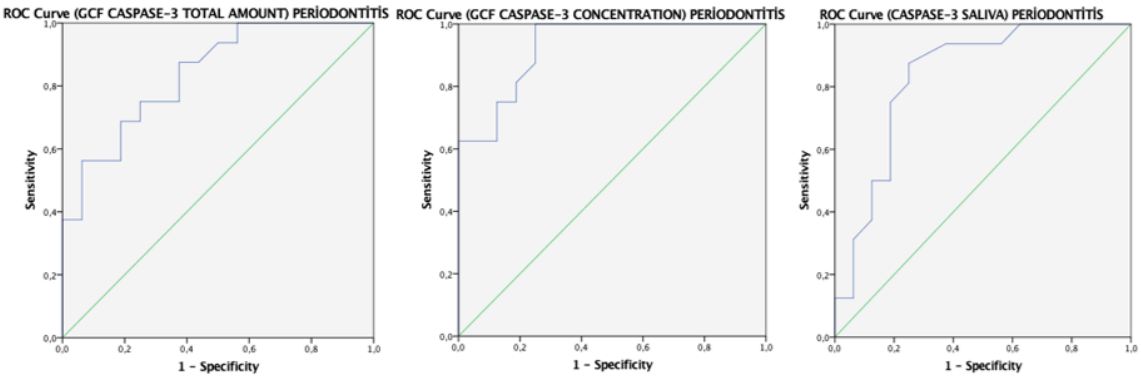
Şekil 4.20. Periodontitis VDAC ROC Eğrisi Analizi



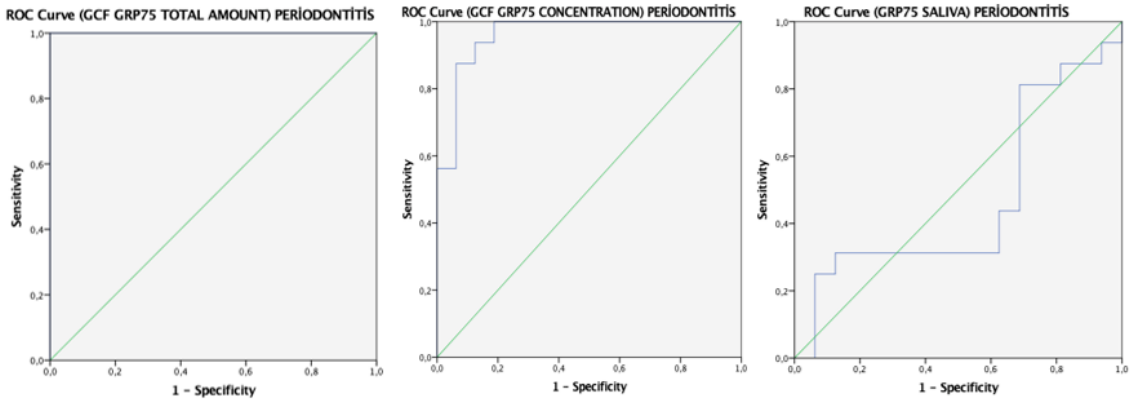
Şekil 4.21. Periodontitis PTPIP51 ROC Eğrisi Analizi



Şekil 4.22 Periodontitis VAPB ROC Eğrisi Analizi



Şekil 4.23. Periodontitis CASP3 ROC Eğrisi Analizi



Şekil 4.24. Periodontitis GRP75 ROC Eğrisi Analizi

Çalışmamızda ek olarak, sağlıklı(20), gingivitis(20) ve periodontitis(20) olmak üzere toplam 60 hastadan dişeti dokusu örnekleri alınmıştır.

Araştırmamız sonucu elde ettiğimiz bulgular hem klinik hem de biyokimyasal olarak incelenmiştir. Ayrıca bulgularımız gruplar arasındaki korelasyon durumuna göre de değerlendirilmiştir.

4.6. Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Demografik Bulguları

Çalışmamızda dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların demografik verileri

ÇALIŞMA GRUPLARI	KATILIMCI SAYISI	YAŞ ORTALAMASI (±standart sapma)	CİNSİYET	
			KADIN	ERKEK
SAĞLIKLI (S-D)	20	33,5±3,9	10	10
GİNGİVİTİS (G-D)	20	34±4,1	10	10
PERİODONTİTİS (P-D)	20	36,75±5,08	10	10

Çalışmamızın periodontal cerrahi ihtiyacı olan grubu, dişeti örnekleri alınan üç farklı grup üzerinde yürütülmüştür. Bunlar; yaş ortalamaları 33,5(±3,9) olan 10 kadın, 10 erkekten oluşan S-D grubu, yaş ortalamaları (34±4,1) olan 10 kadın, 10 erkekten oluşan G-D grubu, yaş ortalamaları (36,75±5,08) olan 10 kadın, 10 erkekten oluşan P-D grubudur. Çalışmamızda yer alan katılımcıların yaşları ve cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

4.7. Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Tüm Ağız Klinik Periodontal Bulguları

Dişeti dokusu örneği alınan katılımcılara ait tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, SK ve KAS değerleri ile bu değerlerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmaları Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların tüm ağız ortalama klinik periodontal parametre değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

TÜM AĞIZ	SAĞLIKLI (S-D)	GİNGİVİTİS (G-D)	PERİODONTİTİS (P-D)
Pİ	0,26±0,38$^{*,\#}$	1,73±0,36*,†	2,11±0,43$^{\dagger,\#}$
Gİ	0,18±0,23$^{*,\#}$	1,55±0,41*,†	2,08±0,33$^{\dagger,\#}$
SCD (mm)	1,42±0,24$^{*,\#}$	2,14±0,5*,†	4,09±0,49$^{\dagger,\#}$

SK(%)	6,35±13,6*,†	75,90±10,87*	81,3±8,18†
KAS(mm)	0,0±0,0*	0,0±0,0†	4,81±0,7*,†

Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SK:Sondalamada kanama yüzdesi, KAS:Klinik ataşman seviyesi
* Aynı simgeler gruplar arası anlamlı farklılığı simgeler (p<0,016). Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda; Tüm ağız Pİ, Gİ ve SCD değerlerinin; P-D grubunda S-D ve G-D gruplarına göre, G-D grubunda S-D grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016). Tüm ağız SK değerinin; G-D ve P-D grubunda S-D grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016). Tüm ağız KAS değerinin; P-D grubunda S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir (p<0,016).

4.8. Dişeti Dokusu Örneği Alınan Katılımcıların Örnek Alınan Dişlere Ait Klinik Periodontal Bulguları

Dişeti dokusu örneği alınan katılımcılara ait örneklem bölgesi Pİ, Gİ, SCD, SK ve KAS değerleri ile bu değerlerin gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırılmaları Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Dişeti dokusu örneği alınan katılımcıların örneklem bölgesi klinik periodontal parametreleri ve bu değerlerin gruplar arası karşılaştırılması.

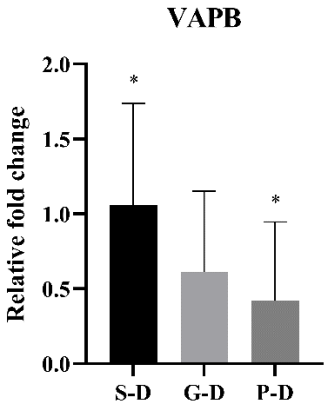
ÖRNEK ALINAN DİŞLER	SAĞLIKLI (S-D)	GİNGİVİTİS (G-D)	PERİODONTİTİS (P-D)
Pİ	0,0±0,0*,†	2,05±0,38*	2,39±0,41†
Gİ	0,1±0,45*,†	2,04±0,12*	2,2±0,36†
SCD (mm)	1,36±0,31*,#	2,5±0,99*,†	6,6±0,41†,#
SK(%)	5±22,36*,†	100±0,0*	100±0,0†
KAS(mm)	0,00±0,00#	0,00±0,00*	6,83±0,71*,#

Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SK:Sondalamada kanama yüzdesi, KAS:Klinik ataşman seviyesi
* Aynı simgeler gruplar arası anlamlı farklılığı simgeler (p<0,016). Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda; Örneklem bölgesi Pİ, Gİ, SK değerlerinin; P-D ve G-D gruplarında S-D grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,016$). Örneklem bölgesi SCD değerinin; P-D grubunda S-D ve G-D gruplarına göre, G-D grubunda S-D grubuna göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,016$). Örneklem bölgesi KAS değerinin; P-D grubunda S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,016$).

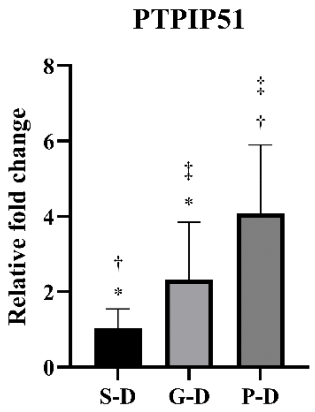
4.9. Dişeti Örneklerinde Değerlendirilen Biyobelirteçlerin Gen Ekspresyon Düzeyleri

Çalışma gruplarından alınan dişeti örneklerinin VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, VDAC, CASP3, ATP2B1, ROS gen ekspresyon düzeyleri ve bu değerlerin gruplar arası istatistiksel olarak karşılaştırması yapılarak Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32'de gösterilmiştir.



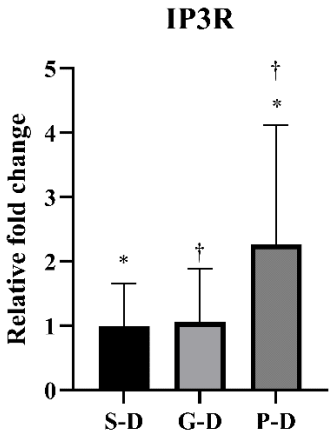
Şekil 4.25. VAPB'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

VAPB'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, S-D grubunda gen ekspresyon düzeylerinin P-D grubuna göre anlımlı derecede yüksek olduğu görülmüştür($p<0,016$).



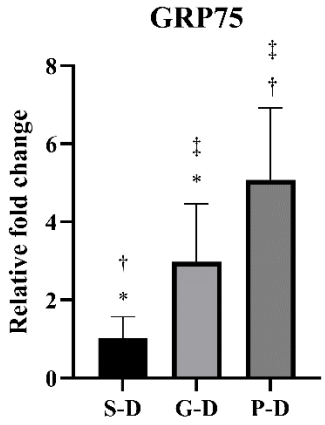
Şekil 4.26. PTPIP51'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

PTPIP51'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



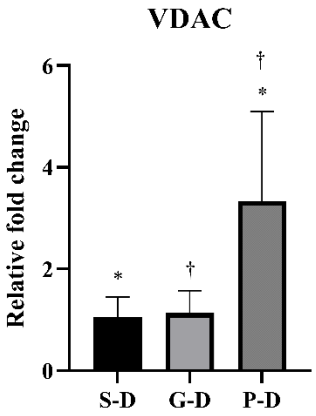
Şekil 4.27. IP3R'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

IP3R'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



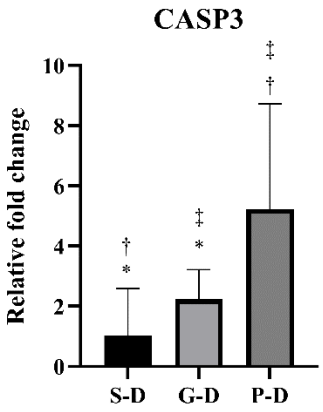
Şekil 4.28. GRP75'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

GRP75'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



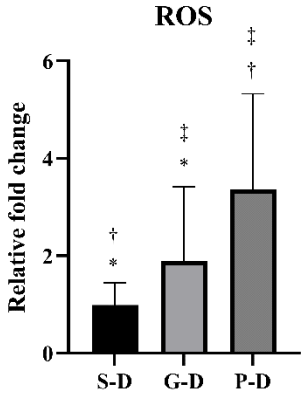
Şekil 4.29. VDAC'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

VDAC'nin dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



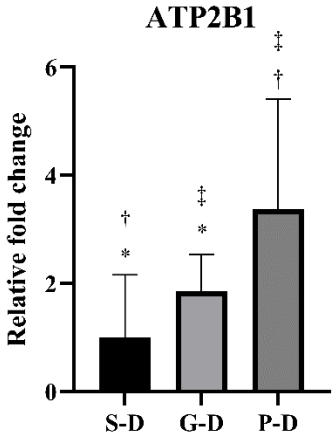
Şekil 4.30. CASP3'ün dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

CASP3'ün dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



Şekil 4.31. ROS'un dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

ROS'un dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).



Şekil 4.32. ATP2B1'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

ATP2B1'in dişeti gen ekspresyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldığında, P-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D ve G-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,016$), G-D grubunda gen ekspresyon düzeyinin S-D grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,016$).

4.10. Dişeti Örneklerinde İncelenen Genlerin Birbiriyle Korelasyonları

Katılımcılardan alınan dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin, kendi aralarındaki korelasyonu Tablo 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.14. Dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları

	ATP2B1	ROS	IP3R	VDAC	PTPIP51	VAPB	CASP3	GRP75
ATP2B1	rho=1	rho=0,330*	rho=0,192	rho=0,370**	rho=0,484**	rho=-0,347**	rho=0,608*	rho=0,631**
ROS	rho=0,330*	rho=1	rho=0,165	rho=0,452**	rho=0,462**	rho=-0,392**	rho=0,398**	rho=0,431**
IP3R	rho=0,192	rho=0,165	rho=1	r=0,546**	r=0,467**	r=-0,049	rho=0,467**	rho=0,392**
VDAC	rho=0,370**	rho=0,452**	r=0,546**	rho=1	r=0,605**	r=-0,165	rho=0,552**	rho=0,516**
PTPIP51	rho=0,484**	rho=0,462**	r=0,467**	r=0,605**	rho=1	r=-0,214	rho=0,590**	rho=0,561**
VAPB	rho=-0,347**	rho=-0,392**	r=-0,049	r=-0,165	r=-0,214	rho=1	rho=-0,299*	rho=-0,254*

CASP3	rho=0,608*	rho=0,398**	rho=0,467**	rho=0,552**	rho=0,590**	rho=-0,299*	rho=1	rho=0,685**
GRP75	rho=0,631**	rho=0,431**	rho=0,392**	rho=0,516**	rho=0,561**	rho=-0,254*	rho=0,685**	rho=1

rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

ATP2B1 ve ROS gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,330, p<0.05). ATP2B1 ve VDAC gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,370, p<0.01). ATP2B1 ve PTPIP51 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,484, p<0.01). ATP2B1 ve VAPB gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=-0,347, p<0.01). ATP2B1 ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,608, p<0.05). ATP2B1 ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,631, p<0.01).

ROS ve VDAC gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,452, p<0.01). ROS ve PTPIP51 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,462, p<0.01). ROS ve VAPB gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=-0,392, p<0.01). ROS ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,398, p<0.01). ROS ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,431, p<0.01).

IP3R ve VDAC gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(r=0,546, p<0.01). IP3R ve PTPIP51 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(r=0,467, p<0.01). IP3R ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,467, p<0.01). IP3R ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,392, p<0.01).

VDAC ve PTPIP51 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(r=0,605, p<0.01). VDAC ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,552, p<0.01). VDAC ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,516, p<0.01).

PTPIP51 ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,590, p<0.01). PTPIP51 ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,561, p<0.01).

VAPB ve CASP3 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=-0,299, p<0.05). VAPB ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=-0,254, p<0.05).

CASP3 ve GRP75 gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,685, p<0.01).

4.11. Dişeti Örneklerinde İncelenen Genlerin Klinik Parametrelerle Korelasyonları

Katılımcılardan alınan dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin, çalışma geneli klinik parametrelerle korelasyonları Tablo 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.15. Dişeti örneklerinde gen ekspresyonu açısından değerlendirilen biyobelirteçlerin, çalışma geneli klinik parametrelerle korelasyonları

	Pİ	**Gİ**	**SCD(mm)**	**SK(%)**	**KAS(mm)**
ATP2B1	rho=0,522**	rho=0,474**	rho=0,597**	rho=0,576**	rho=0,513**
ROS	rho=0,604**	rho=0,393**	rho=0,458**	rho=0,515**	rho=0,468**
IP3R	rho=0,310*	rho=0,281*	rho=0,409**	r=0,266*	rho=0,466**
VDAC	rho=0,391**	rho=0,330*	rho=0,475**	r=0,318*	rho=0,609**

PTPIP51	rho=0,631**	rho=0,497**	rho=0,652**	r=0,571**	rho=0,585**
VAPB	rho=-0,482**	rho=-0,404**	rho=-0,352**	r=-0,436**	rho=-0,350**
CASP3	rho=0,585**	rho=0,629**	rho=0,654**	rho=0,654**	rho=0,568**
GRP75	rho=0,584**	rho=0,600**	rho=0,762**	rho=0,690**	rho=0,628**

Pİ:Plak indeksi, Gİ:Gingival indeks, SCD:Sondalanan cep derinliği, SK:Sondalamada kanama yüzdesi, KAS:Klinik ataşman seviyesi, rho: Spearman korelasyon katsayısı, r: Pearson korelasyon katsayısı
*p<0.05, ** p<0.01

Tüm ağız Pİ ile;

IP3R gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır(rho=0,310, p<0.05). ATP2B1 (rho=0,522, p<0.01), ROS (rho=0,604, p<0.01), VDAC (rho=0,391, p<0.01), PTPIP51 (rho=0,631, p<0.01), CASP3 (rho=0,585, p<0.01) ve GRP75 (rho=0,584, p<0.01) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. VAPB gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0, 482, p<0.01).

Tüm ağız Gİ ile;

IP3R (rho=0,281, p<0.05) ve VDAC (rho=0,330, p<0.05) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. ATP2B1 (rho=0,474, p<0.01), ROS (rho=0,393, p<0.01), PTPIP51 (rho=0,497, p<0.01), CASP3 (rho=0,629, p<0.01) ve GRP75 (rho=0,600, p<0.01) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. VAPB gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0, 404, p<0.01).

Tüm ağız SCD ile;

ATP2B1 (rho=0,597, p<0.01), ROS (rho=0,458, p<0.01), IP3R (rho=0,409, p<0.01), VDAC (rho=0,475, p<0.01), PTPIP51 (rho=0,652, p<0.01), CASP3 (rho=0,654, p<0.01) ve GRP75 (rho=0,762, p<0.01) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. VAPB gen ekspresyon

seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,352, p<0.01).

Tüm ağız SK ile;

IP3R (r=0,266, p<0.05) ve VDAC (r=0,318, p<0.05) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır. ATP2B1 (rho=0,576, p<0.01), ROS (rho=0,515, p<0.01), PTPIP51 (r=0,571, p<0.01), CASP3 (rho=0,654, p<0.01) ve GRP75 (rho=0,690, p<0.01) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. VAPB gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (r=-0,436, p<0.01).

Tüm ağız KAS ile;

ATP2B1 (rho=0,513, p<0.01), ROS (rho=0,468, p<0.01), IP3R (rho=0,466, p<0.01), VDAC (rho=0,609, p<0.01), PTPIP51 (rho=0,585, p<0.01), CASP3 (rho=0,568, p<0.01) ve GRP75 (rho=0,628, p<0.01) gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır. VAPB gen ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (rho=-0,350, p<0.01).

5. TARTIŞMA

Mitokondri ve endoplazmik retikulum (ER) protein sentezi ve enerji metabolizması sırasında önemli rol oynayan temel organeller olup birbirlerine sıkı bir şekilde MERK adı verilen bir yüzey ile bağlıdırlar(112). Bu kontak kalsiyum homeostazı, lipit transferi, mitofaji, otofaji ve apoptoz gibi çeşitli hücresel süreçlerde görev almakta olup, işlevlerini yerine getirmelerini sağlayan spesifik proteinlerle zenginleştirilmiştir (258-260). MERK'lerin bozulmasının nörodejeneratif bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (261-263). Son yıllarda yapılan araştırmalar, MERK disfonksiyonu ile periodontal hastalık arasında kuvvetli bağlantılar olduğunu ortaya koymaktadır (13, 14). MERK ile ilişkili MFN1, MFN2, IP3R, GRP75, SIGMAR1 ve PINK1 genlerinin ekspresyonunun *F. nucleatum* ve *P. gingivalis* gibi periodontal patojenlere maruz kalan insan dişeti fibroblastlarında disregüle olduğu saptanmştır (13). İlave olarak, MERK proteinlerinden MFN1 ve MFN2'in DOS total miktarının periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bildirilmiş ve MERK'in periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği iddia edilmiştir (14). Bu mevcut çalışmada ise daha önce periodontal hastalığın patogenezinde rolü hiçbir klinik çalışmada araştırılmamış olan VAPB, PTPIP51, IP3R, GRP75, VDAC'ın tükürük, DOS ve dişeti düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca bu yapıların oksidatif stres, kalsiyum metabolizması ve apoptoz ile de ilişkilerini analiz etmek adına CASP3, Ca ve ROS'un düzeyleri DOS, tükürük ve dişetinde incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre VAPB, GRP75, VDAC DOS total miktar düzeyleri periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda artmış fakat PTPIP51 düzeyleri ise anlamlı oranda azalmış olarak saptanmıştır. Dolayısıyla bu proteinlerin periodontitisin patogenezinde rol oynayabileceği düşünülebilir.

IP3R, VDAC ve GRP75 ER ve mitokondri arasındaki kalsiyum transferini düzenleyen bir kompleks oluşturarak hücre içi Ca^{2+} sinyali iletiminde kritik bir rol oynamaktadır. IP3R, ER membranında yer alarak IP3 aracılığıyla aktive edildiğinde ER'den sitozole Ca^{2+} salınımını sağlar. GRP75, IP3R ve mitokondri dış membranında bulunan VDAC arasında fiziksel bir köprü görevi görerek Ca^{2+} transferini kolaylaştırır (209). Bu süreç, mitokondriyal ATP üretimini destekleyerek hücresel enerji dengesine katkıda bulunur. Ancak, aşırı kalsiyum yüklenmesinin mitokondriyal disfonksiyona, oksidatif stres artışına ve apoptoza yol açabildiği bildirilmiştir(209). Literatürde IP3R ve

GPR75 gen ekspresyon düzeylerinin majör periodontal patojenler olan *F. nucleatum* ve *P.gingivalis'e* maruz kalan insan gingival fibroblastlarında önemli ölçüde arttığını bildirilmiştir(13). Bu mevcut çalışmada periodontitisli hastalarda VDAC ve GRP75 seviyelerinin DOS toplam miktarı sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ve konsantrasyon seviyeleri ise anlamlı oranda daha düşük bulunmuştur. Ca, CASP3 ve ROS DOS düzeyleri ile GRP75 DOS toplam miktar düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Periodontitisin DOS GRP75 düzeylerini etkileyerek apoptoz, oksidatif stres ve kalsiyum metabolizması üzerinde olumsuz bir etki oluşturabileceği iddia edilebilir. Çalışmamızda periodontitisli hastalarda GRP75, IP3R ve VDAC gen ekspresyon düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre yukarı yönlü regüle olduğu saptanmıştır. Ayrıca CASP3, ROS ve ATP2B1 gen ekspresyon düzeyleri ile hem VDAC hem de GRP75 gen ekspresyon düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Dolayısıyla periodontitisin dişetindeki VDAC ve GRP75 gen ekspresyonunu disregüle ederek apoptoz, oksidatif stres ve kalsiyum metabolizması bozukluğuna neden olabileceği iddia edilebilir.

VAPB ve PTPIP51, MERK'te yer alan ve hücresel homeostazın korunmasında kritik rol oynayan iki proteindir (130). VAPB-PTPIP51 kompleksinin ER'den mitokondriye kalsiyum transferini düzenleyerek ATP üretimi, oksidatif stres dengesi, kalsiyum homeostazı, otofaji ve sinaptik aktiviteyi düzenlediği belirtilmiştir (119, 134, 264, 265). Ayrıca, bu kompleksin bozulmasının Amiyotrofik Lateral Skleroz ve FTD Frontotemporal Demans gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu da bildirilmiş olsa da (130, 266, 267), periodontitisteki rolü hiçbir klinik çalışamada incelenmemiştir. Bu mevcut çalışmada periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere göre VAPB DOS toplam miktar seviyesi artmış fakat PTPIP51 seviyesi ise anlamlı oranda azalmış olarak saptanmıştır. VAPB konsantrasyon seviyesi, DOS toplam miktarın tam tersi bulgular vermiştir. PTPPIP51 konsantrasyon seviyesi ise anlamlı oranda azalmış olarak saptanmıştır. Böylelikle bu iki proteinin periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği iddia edilebilir. Ayrıca, DOS kalsiyum ve ROS seviyeleri ile PTPIP51 arasında negatif bir korelasyon da gözlenmiştir. PTPIP51'nin periodontal hastalığın patogenezinde oksidatif stres ve kalsiyum ile ilişkili olabileceği iddia edilebilir. Çalışmamızdaki dişeti gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise periodontitiste VAPB gen ekspresyonunun aşağı yönlü regülasyonu görülürken, PTPIP51'in ise yukarı yönlü

regülasyonu saptanmıştır. Bu durum DOS ve dişetindeki hastalık patogenez mekanizmalarının farklı olabileceği ile açıklanabilir.

Mitokondri ve endoplazmik retikulum, hücresel homeostazın dinamik olarak sürdürülmesinde merkezi organeller olup, aynı zamanda apoptoz mekanizmalarının başlatılması ve düzenlenmesinde kritik roller üstlenmektedir. Mitokondri, hücresel stres faktörlerine yanıt olarak intrinsik apoptoz yolunu tetiklerken, benzer şekilde endoplazmik retikulumda ortaya çıkan dengesiz stres yanıtları da hücre ölümüne aracılık eden sinyal yolaklarını aktive edebilir (268-272). Kalsiyum bağımlı apoptozda, MERK'in de önemli bir rol oynadığı düşülmüştür. ATP sentezinin ve apoptotik süreçlerin düzensizleşmesinde, endoplazmik retikulumdan mitokondriye ve sitozole kalsiyum akışındaki bozulmaların önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (209, 273, 274). ER'den mitokondriye kalsiyum aktarımı, sitokrom C ve diğer apoptotik faktörlerin salınımını kontrol eden mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mPTP) açılmasını tetikleyerek apoptoz sürecini başlatmaktadır (209). Literatürde periodontal hastalık, apoptoz ve enflamasyon ilişkisi oldukça fazla çalışılmıştır (275-277). P. gingivalis kaynaklı lipopolisakkaridlere yanıt olarak sitokrom C salınımının artmasıyla CASP3 aktivasyonunun tetiklendiği, periodontal hastalıklarda hem ekstrinsik (CASP8) hem de intrinsik (CASP9) apoptotik yolakların rol oynadığı ve özellikle mitokondri aracılı CASP9'un bu süreçte önemli bir düzenleyici olarak arttığı gösterilmiştir (269, 278). CASP3 DOS seviyelerinin, kronik periodontitisli hastalarda yükseldiği de saptanmıştır (279). Bu mevcut çalışmada da literatürü destekler nitelikte DOS toplam miktar ve tükürük CASP3 seviyeleri periodontitis hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır. Çalışmamızdaki dişeti gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise periodontitiste CASP3 gen ekspresyonunun yukarı yönlü regülasyonu saptanmıştır. İlave olarak DOS CASP3 ile MERK proteinlerinden VDAC, IP3R, PTPIP51, VAPB ve GRP75 arasında da pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Böylelikle periodontal hastalığın patogenezinde de MERK proteinleri ile apoptozun ilişkili olabileceği iddia edilebilir.

ROS, çift yönlü etkilere sahip olup, antibakteriyel savunma, bağışıklık düzenlemesi ve periodontal dokularda sinyal iletimi gibi fizyolojik süreçlerde önemli roller oynar. Bu süreçlerde, vücudun normal fizyolojik aktivitelerinin sürdürülebilmesi için belirli seviyelerde ROS üretimi gereklidir (280). Artan ROS seviyeleri, TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımını tetikleyerek enflamatuar yanıtı şiddetlendirmekte ve hücresel hasar ile doku yıkımına neden olan bir döngü

oluşturmaktadır (281). Periodontal hastalıklar ROS üretimindeki artış ve buna bağlı oksidatif stres ile karakterize edilen enflamatuar süreçleri içermekte olup (228, 282) ROS'un aynı zamanda hücresel sinyal iletimi, farklılaşma ve apoptoz gibi fizyolojik süreçlerde önemli bir düzenleyici olduğu bildirilmiştir(207, 283-285). Bunun yanı sıra, ROS bağışıklık sisteminin patojenlere karşı savunma mekanizmalarından biri olup, patojen eliminasyonunda oksidatif mekanizmalara katkıda bulunmaktadır (286). Xue Li ve ark. (287) mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin (mtROS) *P. gingivalis* LPS ile uyarılan insan gingival fibroblastlarında NF-κB ve MAPK sinyal yolaklarını aktive ettiğini ve inflamatuar sitokinlerden IL-1β, IL-6 ve TNF-α üretimini artırdığını göstermiştir. Liu ve ark. (288) ROS'un mitokondriyal ve endoplazmik retikulum stresini indükleyerek hücresel homeostazı bozduğunu ve periodontal hastalığın patogenezinde kritik bir rol oynadığını ifade etmiştir. *P. gingivalis*'in ayrıca periodontal hücrelerin mitokondrileri ile etkileşime girerek, mitokondriyal metabolizmayı değiştirdiği, mitokondriyal kalite kontrolünü bozduğu, mitokondriyal ROS üretimini artırdığı ve mitokondri aracılı apoptozu düzenleyerek periodontal enflamasyona katkıda bulunduğu ifade edilmiştir (289). *P. gingivalis* lipopolisakkaritlerinin insan dişeti fibroblastlarında ROS üretiminde artışa neden olduğu ortaya konmuştur (238). Klinik çalşmalarda ise periodontitisli hastaların serum, DOS ve tükürüğünde, sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek seviyelerde ROS ve TOS (toplam oksidan durumu) gözlemlendiğini ortaya koymuştur (290-293). Bizim çalışmamızda da literatüre paralel şekilde, periodontal hastalıkla beraber DOS'ta ve tükürükte ROS toplam miktarında artış gözlenirken; DOS'ta ROS konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Dişetinde de periodontal hastalıkla beraber ROS gen ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.

MERK, mitokondri ve ER arasında kalsiyum iyonları ve diğer metabolitlerin değişimini düzenleyerek hücresel bütünlüğü ve biyoenerjetik dengeyi sağlamaktadır (209). Mitokondrinin dış zarı aracılığıyla ER'den mitokondriye gerçekleşen kalsiyum transferi, ATP sentezinde önemli bir rol oynamaktadır (294). Periodontal dokularda enflamasyon ve hücresel stres mekanizmaları, büyük çoğunlukla kalsiyum homeostazındaki değişikliklerle ilişkilidir (295). MERK ile ilişkili proteinlerden MFN1 ve MFN2'nin de kalsiyum metabolizmasını etkilediği bilinmektedir. Özellikle MFN2'nin susturulmasının MERK bağlanmasını ve mitokondriye kalsiyum akışını artırdığı gösterilmiştir (296). Periodontitisli hastalarda DOS total miktar açısından sağlıklı kontrollere göre kalsiyum seviyeleri açısından fark saptanmamışken (297), (14), DOS

konsantrasyon seviyeleri açısından periodontitis grubu sağlıklı kontrollere göre daha düşük değerlere sahip olduğu bildirilmiştir (14). Bizim çalışmamızdaki bulgular da literatürdeki bulguları destekler niteliktedir.

ATP2B1, plazma membran kalsiyum ATPaz 1 (PMCA1) proteininin kodlanmasından sorumlu olan bir gendir ve hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar(298). PMCA1, hücre içindeki fazla Ca^{2+} iyonlarını hücre dışına pompalayarak kalsiyum dengesini korur ve sinyal iletimi, kas kasılması, nörotransmitter salınımı ve hücresel enerji metabolizması gibi birçok biyolojik süreçte önemli görevler üstlenir (157). ATP2B1'in ekspresyonunun azalması veya fonksiyonunun bozulması, hücre içi kalsiyum seviyelerinin artmasına ve buna bağlı olarak hücresel stres ve apoptoz süreçlerinin tetiklenmesine neden olabilir. Bu genin fonksiyonundaki değişiklikler, çeşitli hastalıkların patogenezine katkıda bulunabilir (299). Literatürde, ATP2B1 geninin çeşitli dokularda farklı ekspresyon seviyeleri sergilediği ve özellikle vasküler düz kas hücrelerinde önemli bir düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir (300). Bu genin ekspresyonunun, kan basıncının homeostazında etkili olduğu, susturulmasının ise vazokonstriksiyonu artırarak hipertansiyona yol açabileceği belirtilmiştir (301, 302). Bu bulgular, ATP2B1'in vasküler fonksiyonlar ve kan basıncı kontrolündeki önemli rolünü desteklemektedir. Ayrıca**,** bu genin endotel hücrelerinde anjiyogenezi ve hücresel canlılığı düzenleyerek dolaşım sisteminin bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (299). ATP2B1 geninin susturulmasının, hücre içi kalsiyum seviyelerinin artmasına ve Ca^{2+} /kalmodulin sinyal yolunun modülasyonuna yol açarak endotel hücrelerinde insülin duyarlılığını artırdığı belirtilmiştir. Ayrıca, ATP2B1 ekspresyonunun azalması, endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesini destekleyerek insülin sinyal iletim mekanizmalarını iyileştirmektedir. Bu bulgular, ATP2B1'in hem vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde hem de metabolik süreçlerin modülasyonunda kritik bir rol oynadığını göstermektedir (299). Ancak, periodontal hastalık patogenezinde ATP2B1'in rolü literatürde henüz araştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda, periodontal hastalıkla beraber dişetinde ATP2B1 gen ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Bu bulgu, periodontal hastalık sırasında ATP2B1'in kalsiyum homeostazı, enflamasyon ve vasküler yanıtlar üzerindeki potansiyel etkilerini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Periodontitisli hastalarda MERK proteinlerinden VAPB, GRP75 ve VDAC'ın DOS seviyelerinin artmış, buna karşın PTPIP51 seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre azalmış olarak saptanması, bu proteinlerin periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. MERK proteinleri ile DOS'taki CASP3, ROS ve Ca seviyeleri arasında saptanan korelasyonlar neticesinde, bu proteinlerin periodontal hastalığın patogenezinde apoptoz, kalsiyum sinyalizasyonu ve oksidatif stres ile ilişkili olabileceği iddia edilebilir. Literatürde mitokondri-ER temas noktalarının periodontal hastalıklarla ilişkisini ele alan çalışmalar sınırlı olup, bu araştırmanın, hücresel düzeyde yeni bakış açıları sunarak periodontal hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik gelecekteki çalışmalara öncülük edebileceği düşünülmektedir. İlerleyen çalışmalarda bu proteinlerin periodontal tedaviye cevabının da incelenmesiyle, bu proteinlerin olası terapötik hedefler olarak değerlendirilmesi düşünülebilir.

KAYNAKÇA

1. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. The Journal of periodontology. 1965;36:177-87. Epub 1965/05/01.
2. Socransky SS, Haffajee AD. The Bacterial Etiology of Destructive Periodontal Disease: Current Concepts. Journal of periodontology. 1992;63 Suppl 4S:322-31. Epub 1992/04/01.
3. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. Journal of periodontal research. 1991;26(3 Pt 2):230-42. Epub 1991/05/01.
4. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. Periodontology 2000. 2004;34:9-21. Epub 2004/01/14.
5. Huang S, Li Z, He T, Bo C, Chang J, Li L, et al. Microbiota-based Signature of Gingivitis Treatments: A Randomized Study. Scientific reports. 2016;6:24705. Epub 2016/04/21.
6. Bhuyan R, Bhuyan SK, Mohanty JN, Das S, Juliana N, Juliana IF. Periodontitis and Its Inflammatory Changes Linked to Various Systemic Diseases: A Review of Its Underlying Mechanisms. Biomedicines. 2022;10(10). Epub 2022/10/28.
7. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S159-S72. Epub 2018/06/22.
8. Kononen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. Journal of clinical medicine. 2019;8(8). Epub 2019/08/03.
9. Lee KU, Harris RA. Mitochondria and endoplasmic reticulum in diabetes and its complications. Experimental diabetes research. 2012;2012:985075. Epub 2012/04/05.
10. Lee S, Min KT. The Interface Between ER and Mitochondria: Molecular Compositions and Functions. Molecules and cells. 2018;41(12):1000-7. Epub 2018/12/29.
11. Lim D, Dematteis G, Tapella L, Genazzani AA, Cali T, Brini M, et al. Ca(2+) handling at the mitochondria-ER contact sites in neurodegeneration. Cell calcium. 2021;98:102453. Epub 2021/08/17.

12. Vallese F, Barazzuol L, Maso L, Brini M, Cali T. ER-Mitochondria Calcium Transfer, Organelle Contacts and Neurodegenerative Diseases. Advances in experimental medicine and biology. 2020;1131:719-46. Epub 2019/10/28.
13. Aral K, Milward MR, Cooper PR. Gene expression profiles of mitochondria-endoplasmic reticulum tethering in human gingival fibroblasts in response to periodontal pathogens. Archives of oral biology. 2021;128:105173. Epub 2021/06/01.
14. Kirmizigul OA, Sabanci A, Disli F, Yildiz S, Milward MR, Aral K. Evaluation of the role of mitofusin-1 and mitofusin-2 in periodontal disease. Journal of periodontology. 2024;95(1):64-73. Epub 2023/07/12.
15. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. Periodontology 2000. 2013;61(1):16-53. Epub 2012/12/18.
16. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. Periodontology 2000. 2000;24:28-55. Epub 2001/03/30.
17. Benakanakere M, Kinane DF. Innate cellular responses to the periodontal biofilm. Frontiers of oral biology. 2012;15:41-55. Epub 2011/12/07.
18. Fiorellini JP, and G. Stathopoulou, P.G. Anatomy of the periodontium. In: Newman MG TH, Klokkevold PR, Carranza FA, editor. Carranza's Clinical Periodontology Expert Consult. Twelfth edition ed. Maryland Heights: Elsevier; 2014. p. 10.
19. Cohen B. Morphological factors in the pathogenesis of periodontal disease. British Dental Journel. 1959;107(7):31-9.
20. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nature reviews Disease primers. 2017;3:17038. Epub 2017/08/15.
21. Ainamo J, Loe H. Anatomical characteristics of gingiva. A clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. Journal of periodontology. 1966;37(1):5-13. Epub 1966/01/01.
22. McKee MD, Zalzal S, Nanci A. 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. 1996;245(2):293-312. Epub 1996/06/01.
23. Liu HW, Yacobi R, Savion N, Narayanan AS, Pitaru S. A collagenous cementum-derived attachment protein is a marker for progenitors of the mineralized tissue-forming cell lineage of the periodontal ligament. Journal of

bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 1997;12(10):1691-9. Epub 1997/10/23.

24. Newman K, Elangovan & Kapila. Newman and Carranza's Clinical Periodontology and Implantology. Fermin A. Carranza HT, editor. 3251 riverport lane st. louis missouri 63043: Elsevier; 2023. 46 p.
25. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. Periodontology 2000. 1997;13:76-90. Epub 1997/02/01.
26. Jan Lindhe TK, and Maurício Araújo. Bone of the alveolar process. In: Niklaus P. Lang JL, editor. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. UK: Wiley; 2015. p. 34.
27. D. BGM. Biology of the Cementum. The Journal of periodontology. 1942;13(1):13-7.
28. Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. Periodontology 2000. 2006;40:11-28. Epub 2006/01/10.
29. MacNeil RL, Somerman MJ. Development and regeneration of the periodontium: parallels and contrasts. Periodontology 2000. 1999;19:8-20. Epub 1999/05/13.
30. Page RC, Engel LD, Narayanan AS, Clagett JA. Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. Jama. 1978;240(6):545-50. Epub 1978/08/11.
31. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1976;34(3):235-49. Epub 1976/03/01.
32. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Annals of periodontology. 1999;4(1):1-6. Epub 2000/06/23.
33. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S173-S82. Epub 2018/06/22.
34. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and

Conditions. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S74-S84. Epub 2018/06/22.

35. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S149-S61. Epub 2018/06/22.
36. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S68-S77. Epub 2018/06/22.
37. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S17-S27. Epub 2018/06/22.
38. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. Journal of clinical periodontology. 1986;13(5):431-45. Epub 1986/05/01.
39. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. Periodontology 2000. 2013;62(1):59-94. Epub 2013/04/12.
40. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S46-S73. Epub 2018/06/22.
41. Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. Dental clinics of North America. 2019;63(1):69-81. Epub 2018/11/19.
42. Lang NP, Schatzle MA, Loe H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. Journal of clinical periodontology. 2009;36 Suppl 10:3-8. Epub 2009/05/13.
43. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S44-S67. Epub 2018/06/22.
44. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. Periodontology 2000. 2014;64(1):57-80. Epub 2013/12/11.

45. Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years. Journal of clinical periodontology. 1981;8(3):239-48. Epub 1981/06/01.
46. De la Rosa M, Zacarias Guerra J, Johnston DA, Radike AW. Plaque growth and removal with daily toothbrushing. Journal of periodontology. 1979;50(12):661-4. Epub 1979/12/01.
47. Research S, Therapy Committee of the American Academy of P. Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. Journal of periodontology. 2001;72(12):1790-800. Epub 2002/01/29.
48. Lang NP, Cumming BR, Loe H. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. Journal of periodontology. 1973;44(7):396-405. Epub 1973/07/01.
49. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. Periodontology 2000. 2013;62(1):7-19. Epub 2013/04/12.
50. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S1-S8. Epub 2018/06/22.
51. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of "high-responder" and "low-responder" subjects. Journal of clinical periodontology. 2004;31(4):239-52. Epub 2004/03/16.
52. Trombelli L, Farina R, Minenna L, Carrieri A, Scapoli C, Tatakis DN. Experimental gingivitis: reproducibility of plaque accumulation and gingival inflammation parameters in selected populations during a repeat trial. Journal of clinical periodontology. 2008;35(11):955-60. Epub 2008/09/20.
53. Gregory J. Seymour LT, Tord Berglundh. Pathogenesis of Gingivitis. In: Niklaus P. Lang JL, editor. Clinical Periodontology and Implant Dentistry: Wiley; 2015. p. 241.
54. Michael G. Newman PRK, Satheesh Elangovan, Yvonne L. Hernandez-Kapila. Periodontitis. Clinical Periodontology and Implantology. 14th ed: Elsevier; 2024. p. 296.
55. Bascones-Martinez A, Munoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial

aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal. 2009;14(12):e680-5. Epub 2009/08/15.

56. Schenkein HA, Burmeister JA, Koertge TE, Brooks CN, Best AM, Moore LV, et al. The influence of race and gender on periodontal microflora. Journal of periodontology. 1993;64(4):292-6. Epub 1993/04/01.
57. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. Journal of clinical periodontology. 1998;25(2):134-44. Epub 1998/03/12.
58. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. Periodontology 2000. 2020;83(1):14-25. Epub 2020/05/10.
59. Ishikawa I, Nakashima K, Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S, et al. Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. Periodontology 2000. 1997;14:79-111. Epub 1997/06/01.
60. Hausmann E, Raisz LG, Miller WA. Endotoxin: stimulation of bone resorption in tissue culture. Science. 1970;168(3933):862-4. Epub 1970/05/15.
61. Preshaw PM. Periodontal pathogenesis. In: In Newman MG, editor. Carranza's Clinical Periodontology Expert Consult. Twelfth ed. Maryland Heights: Elsevier; 2014. p. 76.
62. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. Periodontology 2000. 2017;75(1):116-51. Epub 2017/08/02.
63. Lindhe NPLaJ. Pathogenesis of Gingivitis. In: Gregory J. Seymour LT, Tord Berglundh, editor. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Sixth ed: John Wiley & Sons; 2015. p. 243.
64. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. Periodontology 2000. 1994;5:66-77. Epub 1994/06/01.
65. Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. Periodontology 2000. 2004;35:53-74. Epub 2004/04/27.
66. Attstrom R, Egelberg J. Emigration of blood neutrophils and monocytes into the gingival crevices. Journal of periodontal research. 1970;5(1):48-55. Epub 1970/01/01.

67. Tan PMPaKS. Periodontal Disease Pathogenesis. In: Carranza Na, editor. Clinical Periodontology and Implantology. 14th ed. Riverport Lane: Elsevier; 2024. p. 96.
68. Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. Scandinavian journal of dental research. 1975;83(6):314-26. Epub 1975/11/01.
69. Domnish H. KM. Chronic periodontitis. In: Newman MG TH, Klokkevold PR, Carranza FA, editor. Carranza's Clinical Periodontology. 15th ed. China: Elsevier; 2015. p. 309-17.
70. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, et al. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. Journal of dental research. 2004;83(2):156-60. Epub 2004/01/27.
71. Hugoson A, Norderyd O. Has the prevalence of periodontitis changed during the last 30 years? Journal of clinical periodontology. 2008;35(8 Suppl):338-45. Epub 2008/09/09.
72. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists. 2002;13(1):17-34. Epub 2002/07/05.
73. Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. Dental clinics of North America. 2005;49(3):491-516, v. Epub 2005/06/28.
74. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. Periodontology 2000. 2001;25:8-20. Epub 2001/01/13.
75. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. Periodontology 2000. 2016;70(1):53-64. Epub 2015/12/15.
76. Bostanci N, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. Periodontology 2000. 2018;76(1):68-84. Epub 2017/12/02.
77. Subbarao KC, Nattuthurai GS, Sundararajan SK, Sujith I, Joseph J, Syedshah YP. Gingival Crevicular Fluid: An Overview. Journal of pharmacy & bioallied sciences. 2019;11(Suppl 2):S135-S9. Epub 2019/06/15.
78. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Sulcular polymorphonuclear leucocytes and gingival exudate during experimental gingivitis in man. Journal of periodontal research. 1980;15(2):151-8. Epub 1980/03/01.

79. Beltermann R, Stegner HE. [Electron microscope studies on theovaries of newborn mice following treatment with human hypophyseal gonadotropin (HHG)]. Acta endocrinologica. 1968;57(2):279-88. Epub 1968/02/01. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Ovarien neugeborener Mause nach Behandlung mit Humanem Hypophysarem gonadotropin (HHG).
80. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. Periodontology 2000. 2003;31:32-42. Epub 2003/03/27.
81. Kumar AA, Saravanan K, Kohila K, Kumar SS. Biomarkers in orthodontic tooth movement. Journal of pharmacy & bioallied sciences. 2015;7(Suppl 2):S325-30. Epub 2015/11/06.
82. Friedman SA, Mandel ID, Herrera MS. Lysozyme and lactoferrin quantitation in the crevicular fluid. Journal of periodontology. 1983;54(6):347-50. Epub 1983/06/01.
83. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. Periodontology 2000. 2003;31:43-54. Epub 2003/03/27.
84. Sueda T, Bang J, Cimasoni G. Collection of gingival fluid for quantitative analysis. Journal of dental research. 1969;48(1):159. Epub 1969/01/01.
85. Cecil A, Sambashivaiah S, Bilichodmath S, John RS. mRNA Expression of Ezrin in Gingival Crevicular Fluid and Whole Blood of Gingivitis and Chronic Periodontitis Patients - A Polymerase Chain Reaction Study. Contemporary clinical dentistry. 2022;13(3):267-73. Epub 2022/10/11.
86. Skapski H, Lehner T. A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. Journal of periodontal research. 1976;11(1):19-24. Epub 1976/02/01.
87. Pashley DH. A mechanistic analysis of gingival fluid production. Journal of periodontal research. 1976;11(2):121-34. Epub 1976/04/01.
88. Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. Periodontology 2000. 2016;70(1):80-92. Epub 2015/12/15.
89. Gibson G, Barrett E. The role of salivary function on oropharyngeal colonization. Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry. 1992;12(4):153-6. Epub 1992/07/01.

90. Gibbons RJ. Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. Journal of dental research. 1989;68(5):750-60. Epub 1989/05/01.
91. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva--the defender of the oral cavity. Oral diseases. 2002;8(1):12-22. Epub 2002/04/09.
92. Dawes C, Wong DTW. Role of Saliva and Salivary Diagnostics in the Advancement of Oral Health. Journal of dental research. 2019;98(2):133-41. Epub 2019/02/21.
93. Ito T, Komiya-Ito A, Arataki T, Furuya Y, Yajima Y, Yamada S, et al. Relationship between antimicrobial protein levels in whole saliva and periodontitis. Journal of periodontology. 2008;79(2):316-22. Epub 2008/02/07.
94. Mandel ID. The functions of saliva. Journal of dental research. 1987;66 Spec No:623-7. Epub 1987/02/01.
95. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. Oral diseases. 2011;17(4):345-54. Epub 2010/12/03.
96. Zelles T, Purushotham KR, Macauley SP, Oxford GE, Humphreys-Beher MG. Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. Journal of dental research. 1995;74(12):1826-32. Epub 1995/12/01.
97. Drobitch RK, Svensson CK. Therapeutic drug monitoring in saliva. An update. Clinical pharmacokinetics. 1992;23(5):365-79. Epub 1992/11/01.
98. Haeckel R, Hanecke P. The application of saliva, sweat and tear fluid for diagnostic purposes. Annales de biologie clinique. 1993;51(10-11):903-10. Epub 1993/01/01.
99. Kalburgi V, Leburu S, Warad S. Saliva as a surrogate to explore the association between lipid profiles and chronic periodontitis: A case-control study. Dental research journal. 2014;11(6):619-23. Epub 2014/12/30.
100. AlMoharib HS, AlMubarak A, AlRowis R, Geevarghese A, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid based biomarkers in periodontal disease: part 1. Saliva. Journal of international oral health : JIOH. 2014;6(4):95-103. Epub 2014/09/13.
101. Zhao Z, Li L, Liu Y, Shi L, Yuan M, Shi H, et al. Prognostic value and immunomodulatory role of DNM1L in gastric adenocarcinoma. Frontiers in oncology. 2024;14:1453795. Epub 2024/11/10.
102. Sun L, Suo C, Li ST, Zhang H, Gao P. Metabolic reprogramming for cancer cells and their microenvironment: Beyond the Warburg Effect. Biochimica et biophysica acta Reviews on cancer. 2018;1870(1):51-66. Epub 2018/07/01.

103. Popov LD. Mitochondrial biogenesis: An update. Journal of cellular and molecular medicine. 2020;24(9):4892-9. Epub 2020/04/13.
104. Gao AW, Canto C, Houtkooper RH. Mitochondrial response to nutrient availability and its role in metabolic disease. EMBO molecular medicine. 2014;6(5):580-9. Epub 2014/03/14.
105. Kim JY, Cho JH, Kim EM, Shin HJ, Hwang SG, Song JY, et al. beta-Apopicropodophyllin functions as a radiosensitizer targeting ER stress in non-small cell lung cancer. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. 2019;113:108769. Epub 2019/03/15.
106. Mandl J, Meszaros T, Banhegyi G, Hunyady L, Csala M. Endoplasmic reticulum: nutrient sensor in physiology and pathology. Trends in endocrinology and metabolism: TEM. 2009;20(4):194-201. Epub 2009/04/08.
107. Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? Antioxidants & redox signaling. 2007;9(12):2277-93. Epub 2007/11/06.
108. Zhang L, Wang A. Virus-induced ER stress and the unfolded protein response. Frontiers in plant science. 2012;3:293. Epub 2013/01/08.
109. Lin Y, Jiang M, Chen W, Zhao T, Wei Y. Cancer and ER stress: Mutual crosstalk between autophagy, oxidative stress and inflammatory response. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. 2019;118:109249. Epub 2019/07/28.
110. Sisinni L, Pietrafesa M, Lepore S, Maddalena F, Condelli V, Esposito F, et al. Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Breast Cancer: The Balance between Apoptosis and Autophagy and Its Role in Drug Resistance. International journal of molecular sciences. 2019;20(4). Epub 2019/02/20.
111. Senft D, Ronai ZA. UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response. Trends in biochemical sciences. 2015;40(3):141-8. Epub 2015/02/07.
112. Liu Y, Zhu X. Endoplasmic reticulum-mitochondria tethering in neurodegenerative diseases. Translational neurodegeneration. 2017;6:21. Epub 2017/08/31.
113. Friedman JR, Voeltz GK. The ER in 3D: a multifunctional dynamic membrane network. Trends in cell biology. 2011;21(12):709-17. Epub 2011/09/09.

114. Giorgi C, De Stefani D, Bononi A, Rizzuto R, Pinton P. Structural and functional link between the mitochondrial network and the endoplasmic reticulum. The international journal of biochemistry & cell biology. 2009;41(10):1817-27. Epub 2009/04/25.
115. de Brito OM, Scorrano L. An intimate liaison: spatial organization of the endoplasmic reticulum-mitochondria relationship. The EMBO journal. 2010;29(16):2715-23. Epub 2010/08/19.
116. Vance JE. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. The Journal of biological chemistry. 1990;265(13):7248-56. Epub 1990/05/05.
117. Honrath B, Metz I, Bendridi N, Rieusset J, Culmsee C, Dolga AM. Glucose-regulated protein 75 determines ER-mitochondrial coupling and sensitivity to oxidative stress in neuronal cells. Cell death discovery. 2017;3:17076. Epub 2018/01/26.
118. Rowland AA, Voeltz GK. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: function of the junction. Nature reviews Molecular cell biology. 2012;13(10):607-25. Epub 2012/09/21.
119. Gomez-Suaga P, Perez-Nievas BG, Glennon EB, Lau DHW, Paillusson S, Morotz GM, et al. The VAPB-PTPIP51 endoplasmic reticulum-mitochondria tethering proteins are present in neuronal synapses and regulate synaptic activity. Acta neuropathologica communications. 2019;7(1):35. Epub 2019/03/08.
120. Ruby JR, Dyer RF, Skalko RG. Continuities between mitochondria and endoplasmic reticulum in the mammalian ovary. Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie. 1969;97(1):30-7. Epub 1969/01/01.
121. Wang HJ, Guay G, Pogan L, Sauve R, Nabi IR. Calcium regulates the association between mitochondria and a smooth subdomain of the endoplasmic reticulum. The Journal of cell biology. 2000;150(6):1489-98. Epub 2000/09/20.
122. Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, Fay FS, Fogarty KE, Lifshitz LM, et al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca2+ responses. Science. 1998;280(5370):1763-6. Epub 1998/06/20.
123. Perkins G, Renken C, Martone ME, Young SJ, Ellisman M, Frey T. Electron tomography of neuronal mitochondria: three-dimensional structure and organization of cristae and membrane contacts. Journal of structural biology. 1997;119(3):260-72. Epub 1997/08/01.

124. Marsh BJ, Mastronarde DN, Buttle KF, Howell KE, McIntosh JR. Organellar relationships in the Golgi region of the pancreatic beta cell line, HIT-T15, visualized by high resolution electron tomography. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2001;98(5):2399-406. Epub 2001/02/28.
125. Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. Science. 2011;334(6054):358-62. Epub 2011/09/03.
126. Lewis SC, Uchiyama LF, Nunnari J. ER-mitochondria contacts couple mtDNA synthesis with mitochondrial division in human cells. Science. 2016;353(6296):aaf5549. Epub 2016/07/16.
127. Csordas G, Renken C, Varnai P, Walter L, Weaver D, Buttle KF, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. The Journal of cell biology. 2006;174(7):915-21. Epub 2006/09/20.
128. Matsumoto S, Ono S, Endo T. Analysis of protein trafficking between mitochondria and the endoplasmic reticulum by fluorescence microscopy. Methods in enzymology. 2024;707:153-71. Epub 2024/11/03.
129. Koch C, Lenhard S, Raschle M, Prescianotto-Baschong C, Spang A, Herrmann JM. The ER-SURF pathway uses ER-mitochondria contact sites for protein targeting to mitochondria. EMBO reports. 2024;25(4):2071-96. Epub 2024/04/03.
130. De Vos KJ, Morotz GM, Stoica R, Tudor EL, Lau KF, Ackerley S, et al. VAPB interacts with the mitochondrial protein PTPIP51 to regulate calcium homeostasis. Human molecular genetics. 2012;21(6):1299-311. Epub 2011/12/02.
131. Gomez-Suaga P, Paillusson S, Stoica R, Noble W, Hanger DP, Miller CCJ. The ER-Mitochondria Tethering Complex VAPB-PTPIP51 Regulates Autophagy. Current biology : CB. 2017;27(3):371-85. Epub 2017/01/31.
132. Han S, Zhao F, Hsia J, Ma X, Liu Y, Torres S, et al. The role of Mfn2 in the structure and function of endoplasmic reticulum-mitochondrial tethering in vivo. Journal of cell science. 2021;134(13). Epub 2021/06/11.
133. Lv BF, Yu CF, Chen YY, Lu Y, Guo JH, Song QS, et al. Protein tyrosine phosphatase interacting protein 51 (PTPIP51) is a novel mitochondria protein

with an N-terminal mitochondrial targeting sequence and induces apoptosis. Apoptosis : an international journal on programmed cell death. 2006;11(9):1489-501. Epub 2006/07/06.

134. Hartopp N, Lau DHW, Martin-Guerrero SM, Markovinovic A, Morotz GM, Greig J, et al. Disruption of the VAPB-PTPIP51 ER-mitochondria tethering proteins in post-mortem human amyotrophic lateral sclerosis. Frontiers in cell and developmental biology. 2022;10:950767. Epub 2022/09/03.
135. Jiang T, Ruan N, Luo P, Wang Q, Wei X, Li Y, et al. Modulation of ER-mitochondria tethering complex VAPB-PTPIP51: Novel therapeutic targets for aging-associated diseases. Ageing research reviews. 2024;98:102320. Epub 2024/05/09.
136. Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival. Cell. 2007;131(3):596-610. Epub 2007/11/06.
137. Bononi A, Missiroli S, Poletti F, Suski JM, Agnoletto C, Bonora M, et al. Mitochondria-associated membranes (MAMs) as hotspot Ca(2+) signaling units. Advances in experimental medicine and biology. 2012;740:411-37. Epub 2012/03/29.
138. Szabadkai G, Bianchi K, Varnai P, De Stefani D, Wieckowski MR, Cavagna D, et al. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca2+ channels. The Journal of cell biology. 2006;175(6):901-11. Epub 2006/12/21.
139. Pazarci P, Kaplan HM. In Vitro Apoptotic and Antiproliferative Activity of Hypericum Perforatum Extract on Human Osteosarcoma Cell Line. Journal of medicinal food. 2024. Epub 2024/11/25.
140. Grimm S. The ER-mitochondria interface: the social network of cell death. Biochimica et biophysica acta. 2012;1823(2):327-34. Epub 2011/12/21.
141. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. Physiological reviews. 2007;87(1):99-163. Epub 2007/01/24.
142. van Vliet AR, Verfaillie T, Agostinis P. New functions of mitochondria associated membranes in cellular signaling. Biochimica et biophysica acta. 2014;1843(10):2253-62. Epub 2014/03/20.
143. Chandra D, Choy G, Deng X, Bhatia B, Daniel P, Tang DG. Association of active caspase 8 with the mitochondrial membrane during apoptosis: potential

roles in cleaving BAP31 and caspase 3 and mediating mitochondrion-endoplasmic reticulum cross talk in etoposide-induced cell death. Molecular and cellular biology. 2004;24(15):6592-607. Epub 2004/07/16.

144. Kaufman RJ, Malhotra JD. Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics. Biochimica et biophysica acta. 2014;1843(10):2233-9. Epub 2014/04/03.

145. Yu Z, Luo H, Fu W, Mattson MP. The endoplasmic reticulum stress-responsive protein GRP78 protects neurons against excitotoxicity and apoptosis: suppression of oxidative stress and stabilization of calcium homeostasis. Experimental neurology. 1999;155(2):302-14. Epub 1999/03/11.

146. Clapham DE. Calcium signaling. Cell. 2007;131(6):1047-58. Epub 2007/12/18.

147. Berridge MJ. The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle. Cell calcium. 2002;32(5-6):235-49. Epub 2003/01/25.

148. Ahumada-Castro U, Bustos G, Silva-Pavez E, Puebla-Huerta A, Lovy A, Cardenas C. In the Right Place at the Right Time: Regulation of Cell Metabolism by IP3R-Mediated Inter-Organelle Ca(2+) Fluxes. Frontiers in cell and developmental biology. 2021;9:629522. Epub 2021/03/20.

149. Csordas G, Hajnoczky G. SR/ER-mitochondrial local communication: calcium and ROS. Biochimica et biophysica acta. 2009;1787(11):1352-62. Epub 2009/06/17.

150. Bonneau B, Ando H, Kawaai K, Hirose M, Takahashi-Iwanaga H, Mikoshiba K. IRBIT controls apoptosis by interacting with the Bcl-2 homolog, Bcl2l10, and by promoting ER-mitochondria contact. eLife. 2016;5. Epub 2016/12/21.

151. Foskett JK, White C, Cheung KH, Mak DO. Inositol trisphosphate receptor Ca2+ release channels. Physiological reviews. 2007;87(2):593-658. Epub 2007/04/13.

152. Neher E. Vesicle pools and Ca2+ microdomains: new tools for understanding their roles in neurotransmitter release. Neuron. 1998;20(3):389-99. Epub 1998/04/16.

153. Hom JR, Gewandter JS, Michael L, Sheu SS, Yoon Y. Thapsigargin induces biphasic fragmentation of mitochondria through calcium-mediated mitochondrial fission and apoptosis. Journal of cellular physiology. 2007;212(2):498-508. Epub 2007/04/20.

154. Gellerich FN, Gizatullina Z, Trumbeckaite S, Nguyen HP, Pallas T, Arandarcikaite O, et al. The regulation of OXPHOS by extramitochondrial calcium. Biochimica et biophysica acta. 2010;1797(6-7):1018-27. Epub 2010/02/11.
155. Csordas G, Weaver D, Hajnoczky G. Endoplasmic Reticulum-Mitochondrial Contactology: Structure and Signaling Functions. Trends in cell biology. 2018;28(7):523-40. Epub 2018/03/29.
156. Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. Physiological reviews. 1999;79(4):1127-55. Epub 1999/10/03.
157. Garcia ML, Strehler EE. Plasma membrane calcium ATPases as critical regulators of calcium homeostasis during neuronal cell function. Frontiers in bioscience : a journal and virtual library. 1999;4:D869-82. Epub 1999/11/30.
158. Di Leva F, Domi T, Fedrizzi L, Lim D, Carafoli E. The plasma membrane Ca2+ ATPase of animal cells: structure, function and regulation. Archives of biochemistry and biophysics. 2008;476(1):65-74. Epub 2008/03/11.
159. Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. American journal of physiology Cell physiology. 2004;287(4):C817-33. Epub 2004/09/10.
160. Ehara Y, Hirawa N, Sumida K, Fujiwara A, Kagimoto M, Ooki-Okuyama Y, et al. Reduced secretion of parathyroid hormone and hypocalcemia in systemic heterozygous ATP2B1-null hypertensive mice. Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension. 2018;41(9):699-707. Epub 2018/06/29.
161. de Ridder I, Kerkhofs M, Lemos FO, Loncke J, Bultynck G, Parys JB. The ER-mitochondria interface, where Ca(2+) and cell death meet. Cell calcium. 2023;112:102743. Epub 2023/05/02.
162. Akl H, Bultynck G. Altered Ca(2+) signaling in cancer cells: proto-oncogenes and tumor suppressors targeting IP3 receptors. Biochimica et biophysica acta. 2013;1835(2):180-93. Epub 2012/12/13.
163. Ahumada-Castro U, Puebla-Huerta A, Cuevas-Espinoza V, Lovy A, Cardenas JC. Keeping zombies alive: The ER-mitochondria Ca(2+) transfer in cellular senescence. Biochimica et biophysica acta Molecular cell research. 2021;1868(11):119099. Epub 2021/07/19.

164. Tsujimoto Y, Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. Apoptosis : an international journal on programmed cell death. 2007;12(5):835-40. Epub 2006/12/01.
165. Balaban RS. The role of Ca(2+) signaling in the coordination of mitochondrial ATP production with cardiac work. Biochimica et biophysica acta. 2009;1787(11):1334-41. Epub 2009/06/02.
166. Godoy JA, Rios JA, Picon-Pages P, Herrera-Fernandez V, Swaby B, Crepin G, et al. Mitostasis, Calcium and Free Radicals in Health, Aging and Neurodegeneration. Biomolecules. 2021;11(7). Epub 2021/08/07.
167. Evans CG, Chang L, Gestwicki JE. Heat shock protein 70 (hsp70) as an emerging drug target. Journal of medicinal chemistry. 2010;53(12):4585-602. Epub 2010/03/26.
168. Murphy ME. The HSP70 family and cancer. Carcinogenesis. 2013;34(6):1181-8. Epub 2013/04/09.
169. Mallouk Y, Vayssier-Taussat M, Bonventre JV, Polla BS. Heat shock protein 70 and ATP as partners in cell homeostasis (Review). International journal of molecular medicine. 1999;4(5):463-74. Epub 1999/10/27.
170. Yu A, Li P, Tang T, Wang J, Chen Y, Liu L. Roles of Hsp70s in Stress Responses of Microorganisms, Plants, and Animals. BioMed research international. 2015;2015:510319. Epub 2015/12/10.
171. Radons J. The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? Cell stress & chaperones. 2016;21(3):379-404. Epub 2016/02/13.
172. Albakova Z, Mangasarova Y, Albakov A, Gorenkova L. HSP70 and HSP90 in Cancer: Cytosolic, Endoplasmic Reticulum and Mitochondrial Chaperones of Tumorigenesis. Frontiers in oncology. 2022;12:829520. Epub 2022/02/08.
173. Flachbartova Z, Kovacech B. Mortalin - a multipotent chaperone regulating cellular processes ranging from viral infection to neurodegeneration. Acta virologica. 2013;57(1):3-15. Epub 2013/03/28.
174. Yaguchi T, Aida S, Kaul SC, Wadhwa R. Involvement of mortalin in cellular senescence from the perspective of its mitochondrial import, chaperone, and oxidative stress management functions. Annals of the New York Academy of Sciences. 2007;1100:306-11. Epub 2007/04/27.
175. Casas C. GRP78 at the Centre of the Stage in Cancer and Neuroprotection. Frontiers in neuroscience. 2017;11:177. Epub 2017/04/21.

176. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology. 2000;279(6):L1005-28. Epub 2000/11/15.
177. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. Physiological reviews. 2014;94(3):909-50. Epub 2014/07/06.
178. Deby C, Goutier R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. Biochemical pharmacology. 1990;39(3):399-405. Epub 1990/02/01.
179. Kobayashi M, Ohura I, Kawakita K, Yokota N, Fujiwara M, Shimamoto K, et al. Calcium-dependent protein kinases regulate the production of reactive oxygen species by potato NADPH oxidase. The Plant cell. 2007;19(3):1065-80. Epub 2007/04/03.
180. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1982;47(5):412-26. Epub 1982/11/01.
181. Handy DE, Loscalzo J. Redox regulation of mitochondrial function. Antioxidants & redox signaling. 2012;16(11):1323-67. Epub 2011/12/08.
182. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual review of plant biology. 2004;55:373-99. Epub 2004/09/21.
183. Banki K, Hutter E, Gonchoroff NJ, Perl A. Elevation of mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate levels are early events and occur independently from activation of caspases in Fas signaling. Journal of immunology. 1999;162(3):1466-79. Epub 1999/02/11.
184. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. Antioxidants & redox signaling. 2014;20(7):1126-67. Epub 2013/09/03.
185. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiological reviews. 2002;82(1):47-95. Epub 2002/01/05.
186. Pryor WA, Godber SS. Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. Free radical biology & medicine. 1991;10(3-4):177-84. Epub 1991/01/01.

187. Zhou B, Wang X, Li F, Wang Y, Yang L, Zhen X, et al. Mitochondrial activity and oxidative stress functions are influenced by the activation of AhR-induced CYP1A1 overexpression in cardiomyocytes. Molecular medicine reports. 2017;16(1):174-80. Epub 2017/05/13.
188. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. Journal of gerontology. 1956;11(3):298-300. Epub 1956/07/01.
189. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. Annals of internal medicine. 1987;107(4):526-45. Epub 1987/10/01.
190. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. Diabetes. 2004;53 Suppl 1:S110-8. Epub 2004/01/30.
191. Cantoni O, Zito E, Guidarelli A, Fiorani M, Ghezzi P. Mitochondrial ROS, ER Stress, and Nrf2 Crosstalk in the Regulation of Mitochondrial Apoptosis Induced by Arsenite. Antioxidants. 2022;11(5). Epub 2022/05/29.
192. Perrone M, Caroccia N, Genovese I, Missiroli S, Modesti L, Pedriali G, et al. The role of mitochondria-associated membranes in cellular homeostasis and diseases. International review of cell and molecular biology. 2020;350:119-96. Epub 2020/03/07.
193. Missiroli S, Patergnani S, Caroccia N, Pedriali G, Perrone M, Previati M, et al. Mitochondria-associated membranes (MAMs) and inflammation. Cell death & disease. 2018;9(3):329. Epub 2018/03/02.
194. Amchenkova AA, Bakeeva LE, Chentsov YS, Skulachev VP, Zorov DB. Coupling membranes as energy-transmitting cables. I. Filamentous mitochondria in fibroblasts and mitochondrial clusters in cardiomyocytes. The Journal of cell biology. 1988;107(2):481-95. Epub 1988/08/01.
195. de Mello AH, Costa AB, Engel JDG, Rezin GT. Mitochondrial dysfunction in obesity. Life sciences. 2018;192:26-32. Epub 2017/11/21.
196. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. Biochimica et biophysica acta. 2006;1757(5-6):509-17. Epub 2006/07/11.
197. Csordas G, Thomas AP, Hajnoczky G. Quasi-synaptic calcium signal transmission between endoplasmic reticulum and mitochondria. The EMBO journal. 1999;18(1):96-108. Epub 1999/01/07.

198. Lee J, Giordano S, Zhang J. Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. The Biochemical journal. 2012;441(2):523-40. Epub 2011/12/23.
199. Shi M, Chen F, Chen Z, Yang W, Yue S, Zhang J, et al. Sigma-1 Receptor: A Potential Therapeutic Target for Traumatic Brain Injury. Frontiers in cellular neuroscience. 2021;15:685201. Epub 2021/10/19.
200. Pontisso I, Combettes L. Role of Sigma-1 Receptor in Calcium Modulation: Possible Involvement in Cancer. Genes. 2021;12(2). Epub 2021/01/28.
201. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. The World Allergy Organization journal. 2012;5(1):9-19. Epub 2012/12/27.
202. Kanzaki H, Wada S, Narimiya T, Yamaguchi Y, Katsumata Y, Itohiya K, et al. Pathways that Regulate ROS Scavenging Enzymes, and Their Role in Defense Against Tissue Destruction in Periodontitis. Frontiers in physiology. 2017;8:351. Epub 2017/06/15.
203. Dahiya P, Kamal R, Gupta R, Bhardwaj R, Chaudhary K, Kaur S. Reactive oxygen species in periodontitis. Journal of Indian Society of Periodontology. 2013;17(4):411-6. Epub 2013/11/01.
204. Avery SV. Molecular targets of oxidative stress. The Biochemical journal. 2011;434(2):201-10. Epub 2011/02/12.
205. Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, Jiang J, et al. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. Environmental health perspectives. 1998;106 Suppl 1(Suppl 1):289-95. Epub 1998/03/31.
206. Juan CA, Perez de la Lastra JM, Plou FJ, Perez-Lebena E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. International journal of molecular sciences. 2021;22(9). Epub 2021/05/01.
207. Nibali L, Donos N. Periodontitis and redox status: a review. Current pharmaceutical design. 2013;19(15):2687-97. Epub 2012/10/25.
208. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. Frontiers in physiology. 2017;8:910. Epub 2017/11/29.
209. Marchi S, Patergnani S, Pinton P. The endoplasmic reticulum-mitochondria connection: one touch, multiple functions. Biochimica et biophysica acta. 2014;1837(4):461-9. Epub 2013/11/12.

210. Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. Nature cell biology. 2011;13(3):184-90. Epub 2011/03/03.
211. Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. Nature reviews Molecular cell biology. 2012;13(12):780-8. Epub 2012/11/24.
212. De Stefani D, Bononi A, Romagnoli A, Messina A, De Pinto V, Pinton P, et al. VDAC1 selectively transfers apoptotic Ca2+ signals to mitochondria. Cell death and differentiation. 2012;19(2):267-73. Epub 2011/07/02.
213. Wiley SE, Andreyev AY, Divakaruni AS, Karisch R, Perkins G, Wall EA, et al. Wolfram Syndrome protein, Miner1, regulates sulphydryl redox status, the unfolded protein response, and Ca2+ homeostasis. EMBO molecular medicine. 2013;5(6):904-18. Epub 2013/05/25.
214. Tubbs E, Rieusset J. Metabolic signaling functions of ER-mitochondria contact sites: role in metabolic diseases. Journal of molecular endocrinology. 2017;58(2):R87-R106. Epub 2016/12/15.
215. Hummasti S, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes. Circulation research. 2010;107(5):579-91. Epub 2010/09/04.
216. Chaudhari N, Talwar P, Parimisetty A, Lefebvre d'Hellencourt C, Ravanan P. A molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. Frontiers in cellular neuroscience. 2014;8:213. Epub 2014/08/15.
217. Choi H, Ha K, Kim JT, Moon MK, Joung H, Lee HK, et al. Relationships among Dioxin-like Mitochondria Inhibitor Substances (MIS)-Mediated Mitochondria Dysfunction, Obesity, and Lung Function in a Korean Cohort. Toxics. 2024;12(10). Epub 2024/10/25.
218. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. Science. 2004;306(5695):457-61. Epub 2004/10/16.
219. Yuan M, Gong M, He J, Xie B, Zhang Z, Meng L, et al. IP3R1/GRP75/VDAC1 complex mediates endoplasmic reticulum stress-mitochondrial oxidative stress in diabetic atrial remodeling. Redox biology. 2022;52:102289. Epub 2022/03/29.

220. Gan KX, Wang C, Chen JH, Zhu CJ, Song GY. Mitofusin-2 ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance in liver of rats. World journal of gastroenterology. 2013;19(10):1572-81. Epub 2013/03/30.
221. Durand M, Coue M, Croyal M, Moyon T, Tesse A, Atger F, et al. Changes in Key Mitochondrial Lipids Accompany Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in NAFLD. Oxidative medicine and cellular longevity. 2021;2021:9986299. Epub 2021/07/15.
222. Huang Q, Zhou HJ, Zhang H, Huang Y, Hinojosa-Kirschenbaum F, Fan P, et al. Thioredoxin-2 inhibits mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis stress kinase-1 activity to maintain cardiac function. Circulation. 2015;131(12):1082-97. Epub 2015/01/30.
223. Peoples JN, Saraf A, Ghazal N, Pham TT, Kwong JQ. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. Experimental & molecular medicine. 2019;51(12):1-13. Epub 2019/12/21.
224. Schon EA, Area-Gomez E. Is Alzheimer's disease a disorder of mitochondria-associated membranes? Journal of Alzheimer's disease : JAD. 2010;20 Suppl 2:S281-92. Epub 2010/04/28.
225. Garrido-Maraver J, Loh SHY, Martins LM. Forcing contacts between mitochondria and the endoplasmic reticulum extends lifespan in a Drosophila model of Alzheimer's disease. Biology open. 2020;9(1). Epub 2019/12/12.
226. Paillusson S, Stoica R, Gomez-Suaga P, Lau DHW, Mueller S, Miller T, et al. There's Something Wrong with my MAM; the ER-Mitochondria Axis and Neurodegenerative Diseases. Trends in neurosciences. 2016;39(3):146-57. Epub 2016/02/24.
227. Pham L, Arroum T, Wan J, Pavelich L, Bell J, Morse PT, et al. Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through tight control of cytochrome c oxidase in health and disease - Implications for ischemia/reperfusion injury, inflammatory diseases, diabetes, and cancer. Redox biology. 2024;78:103426. Epub 2024/11/20.
228. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. Oral diseases. 2000;6(3):138-51. Epub 2000/05/24.
229. Kalra RS, Kumar S, Tomar D. Editorial: Oxidative stress link associated with mitochondrial bioenergetics: relevance in cell aging and age-related pathologies.

Frontiers in cell and developmental biology. 2023;11:1273420. Epub 2023/09/22.

230. Kawahara I, Koide M, Tadokoro O, Udagawa N, Nakamura H, Takahashi N, et al. The relationship between calcium accumulation in osteoclast mitochondrial granules and bone resorption. Bone. 2009;45(5):980-6. Epub 2009/07/28.

231. Acharya TK, Pal S, Ghosh A, Kumar S, Kumar S, Chattopadhyay N, et al. TRPV4 regulates osteoblast differentiation and mitochondrial function that are relevant for channelopathy. Frontiers in cell and developmental biology. 2023;11:1066788. Epub 2023/06/28.

232. de Andrade KQ, Almeida-da-Silva CLC, Coutinho-Silva R. Immunological Pathways Triggered by Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum: Therapeutic Possibilities? Mediators of inflammation. 2019;2019:7241312. Epub 2019/07/26.

233. Xu T, Dong Q, Luo Y, Liu Y, Gao L, Pan Y, et al. Porphyromonas gingivalis infection promotes mitochondrial dysfunction through Drp1-dependent mitochondrial fission in endothelial cells. International journal of oral science. 2021;13(1):28. Epub 2021/09/04.

234. Shi T, Wang J, Dong J, Hu P, Guo Q. Periodontopathogens Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum and Their Roles in the Progression of Respiratory Diseases. Pathogens. 2023;12(9). Epub 2023/09/28.

235. Wang B, Deng J, Donati V, Merali N, Frampton AE, Giovannetti E, et al. The Roles and Interactions of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum in Oral and Gastrointestinal Carcinogenesis: A Narrative Review. Pathogens. 2024;13(1). Epub 2024/01/26.

236. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. Nature reviews Microbiology. 2012;10(10):717-25. Epub 2012/09/04.

237. Bai Y, Wei Y, Wu L, Wei J, Wang X, Bai Y. C/EBP beta Mediates Endoplasmic Reticulum Stress Regulated Inflammatory Response and Extracellular Matrix Degradation in LPS-Stimulated Human Periodontal Ligament Cells. International journal of molecular sciences. 2016;17(3):385. Epub 2016/03/25.

238. Napa K, Baeder AC, Witt JE, Rayburn ST, Miller MG, Dallon BW, et al. LPS from P. gingivalis Negatively Alters Gingival Cell Mitochondrial Bioenergetics. International journal of dentistry. 2017;2017:2697210. Epub 2017/06/09.

239. Domon H, Takahashi N, Honda T, Nakajima T, Tabeta K, Abiko Y, et al. Up-regulation of the endoplasmic reticulum stress-response in periodontal disease. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2009;401(1-2):134-40. Epub 2008/12/27.
240. Okeke E, Dingsdale H, Parker T, Voronina S, Tepikin AV. Endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions: structure, function and dynamics. The Journal of physiology. 2016;594(11):2837-47. Epub 2016/03/05.
241. Paunica I, Giurgiu M, Dumitriu AS, Paunica S, Pantea Stoian AM, Martu MA, et al. The Bidirectional Relationship between Periodontal Disease and Diabetes Mellitus-A Review. Diagnostics. 2023;13(4). Epub 2023/02/26.
242. Mirnic J, Djuric M, Brkic S, Gusic I, Stojilkovic M, Tadic A, et al. Pathogenic Mechanisms That May Link Periodontal Disease and Type 2 Diabetes Mellitus-The Role of Oxidative Stress. International journal of molecular sciences. 2024;25(18). Epub 2024/09/28 22:43.
243. Deng Y, Xiao J, Ma L, Wang C, Wang X, Huang X, et al. Mitochondrial Dysfunction in Periodontitis and Associated Systemic Diseases: Implications for Pathomechanisms and Therapeutic Strategies. International journal of molecular sciences. 2024;25(2). Epub 2024/01/23.
244. Zheng M, Wang C, Ali A, Shih YA, Xie Q, Guo C. Prevalence of periodontitis in people clinically diagnosed with diabetes mellitus: a meta-analysis of epidemiologic studies. Acta diabetologica. 2021;58(10):1307-27. Epub 2021/05/25.
245. Guo H, Chang S, Pi X, Hua F, Jiang H, Liu C, et al. The Effect of Periodontitis on Dementia and Cognitive Impairment: A Meta-Analysis. International journal of environmental research and public health. 2021;18(13). Epub 2021/07/03.
246. Bullon P, Newman HN, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? Periodontology 2000. 2014;64(1):139-53. Epub 2013/12/11.
247. Ferreira IL, Costa S, Moraes BJ, Costa A, Fokt O, Marinho D, et al. Mitochondrial and Redox Changes in Periodontitis and Type 2 Diabetes Human Blood Mononuclear Cells. Antioxidants. 2023;12(2). Epub 2023/02/26.

248. Li A, Du M, Chen Y, Marks LAM, Visser A, Xu S, et al. Periodontitis and cognitive impairment in older adults: The mediating role of mitochondrial dysfunction. Journal of periodontology. 2022;93(9):1302-13. Epub 2022/04/02.
249. Atabay VE, Lutfioglu M, Avci B, Sakallioglu EE, Aydogdu A. Obesity and oxidative stress in patients with different periodontal status: a case-control study. Journal of periodontal research. 2017;52(1):51-60. Epub 2016/03/05.
250. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S9-S16. Epub 2018/06/22.
251. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. Ii. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condtion. Acta odontologica Scandinavica. 1964;22:121-35. Epub 1964/02/01.
252. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. Acta odontologica Scandinavica. 1963;21:533-51. Epub 1963/12/01.
253. Mohamed R, Campbell JL, Cooper-White J, Dimeski G, Punyadeera C. The impact of saliva collection and processing methods on CRP, IgE, and Myoglobin immunoassays. Clinical and translational medicine. 2012;1(1):19. Epub 2013/02/02.
254. Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Effects of sucking acidic candy on whole-mouth saliva composition. Caries research. 2005;39(6):468-74. Epub 2005/10/28.
255. Ueno M, Takeuchi S, Takehara S, Kawaguchi Y. Saliva viscosity as a potential risk factor for oral malodor. Acta odontologica Scandinavica. 2014;72(8):1005-9. Epub 2014/08/15.
256. Sanchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1beta and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. Journal of clinical periodontology. 2013;40(12):1112-7. Epub 2013/10/15.
257. Rudin HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. Helvetica odontologica acta. 1970;14(1):21-6. Epub 1970/04/01.
258. Aoyama-Ishiwatari S, Hirabayashi Y. Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Contact Sites-Emerging Intracellular Signaling Hubs. Frontiers in cell and developmental biology. 2021;9:653828. Epub 2021/06/08.
259. Ruhmkorf A, Harbauer AB. Role of Mitochondria-ER Contact Sites in Mitophagy. Biomolecules. 2023;13(8). Epub 2023/08/26.

260. Ilacqua N, Sanchez-Alvarez M, Bachmann M, Costiniti V, Del Pozo MA, Giacomello M. Protein Localization at Mitochondria-ER Contact Sites in Basal and Stress Conditions. Frontiers in cell and developmental biology. 2017;5:107. Epub 2018/01/10.
261. Serangeli I, Diamanti T, De Jaco A, Miranda E. Role of mitochondria-endoplasmic reticulum contacts in neurodegenerative, neurodevelopmental and neuropsychiatric conditions. The European journal of neuroscience. 2024;60(5):5040-68. Epub 2024/08/05.
262. Moltedo O, Remondelli P, Amodio G. The Mitochondria-Endoplasmic Reticulum Contacts and Their Critical Role in Aging and Age-Associated Diseases. Frontiers in cell and developmental biology. 2019;7:172. Epub 2019/09/10.
263. Barrera MJ, Aguilera S, Castro I, Carvajal P, Jara D, Molina C, et al. Dysfunctional mitochondria as critical players in the inflammation of autoimmune diseases: Potential role in Sjogren's syndrome. Autoimmunity reviews. 2021;20(8):102867. Epub 2021/06/13.
264. Paillusson S, Gomez-Suaga P, Stoica R, Little D, Gissen P, Devine MJ, et al. alpha-Synuclein binds to the ER-mitochondria tethering protein VAPB to disrupt Ca(2+) homeostasis and mitochondrial ATP production. Acta neuropathologica. 2017;134(1):129-49. Epub 2017/03/25.
265. Stoica R, De Vos KJ, Paillusson S, Mueller S, Sancho RM, Lau KF, et al. ER-mitochondria associations are regulated by the VAPB-PTPIP51 interaction and are disrupted by ALS/FTD-associated TDP-43. Nature communications. 2014;5:3996. Epub 2014/06/04.
266. Gkogkas C, Middleton S, Kremer AM, Wardrope C, Hannah M, Gillingwater TH, et al. VAPB interacts with and modulates the activity of ATF6. Human molecular genetics. 2008;17(11):1517-26. Epub 2008/02/12.
267. Mao D, Lin G, Tepe B, Zuo Z, Tan KL, Senturk M, et al. VAMP associated proteins are required for autophagic and lysosomal degradation by promoting a PtdIns4P-mediated endosomal pathway. Autophagy. 2019;15(7):1214-33. Epub 2019/02/12.
268. Pihan P, Carreras-Sureda A, Hetz C. BCL-2 family: integrating stress responses at the ER to control cell demise. Cell death and differentiation. 2017;24(9):1478-87. Epub 2017/06/18.

269. Aral K, Aral CA, Kapila Y. The role of caspase-8, caspase-9, and apoptosis inducing factor in periodontal disease. Journal of periodontology. 2019;90(3):288-94. Epub 2018/10/13.
270. Vakifahmetoglu-Norberg H, Ouchida AT, Norberg E. The role of mitochondria in metabolism and cell death. Biochemical and biophysical research communications. 2017;482(3):426-31. Epub 2017/02/19.
271. Pizzo P, Pozzan T. Mitochondria-endoplasmic reticulum choreography: structure and signaling dynamics. Trends in cell biology. 2007;17(10):511-7. Epub 2007/09/14.
272. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. EMBO reports. 2006;7(9):880-5. Epub 2006/09/06.
273. Bonora M, Patergnani S, Rimessi A, De Marchi E, Suski JM, Bononi A, et al. ATP synthesis and storage. Purinergic signalling. 2012;8(3):343-57. Epub 2012/04/25.
274. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. Nature reviews Molecular cell biology. 2003;4(7):552-65. Epub 2003/07/03.
275. Gamonal J, Bascones A, Acevedo A, Blanco E, Silva A. Apoptosis in chronic adult periodontitis analyzed by in situ DNA breaks, electron microscopy, and immunohistochemistry. Journal of periodontology. 2001;72(4):517-25. Epub 2001/05/08.
276. Tsuda H, Ning Z, Yamaguchi Y, Suzuki N. Programmed cell death and its possible relationship with periodontal disease. Journal of oral science. 2012;54(2):137-49. Epub 2012/07/14.
277. Listyarifah D, Al-Samadi A, Salem A, Syaify A, Salo T, Tervahartiala T, et al. Infection and apoptosis associated with inflammation in periodontitis: An immunohistologic study. Oral diseases. 2017;23(8):1144-54. Epub 2017/07/08.
278. Seo T, Cha S, Kim TI, Lee JS, Woo KM. Porphyromonas gingivalis-derived lipopolysaccharide-mediated activation of MAPK signaling regulates inflammatory response and differentiation in human periodontal ligament fibroblasts. Journal of microbiology. 2012;50(2):311-9. Epub 2012/04/28.
279. Pradeep AR, Suke DK, Prasad MV, Singh SP, Martande SS, Nagpal K, et al. Expression of key executioner of apoptosis caspase-3 in periodontal health and

disease. Journal of investigative and clinical dentistry. 2016;7(2):174-9. Epub 2014/11/13.

280. Huang MZ, Li JY. Physiological regulation of reactive oxygen species in organisms based on their physicochemical properties. Acta physiologica. 2020;228(1):e13351. Epub 2019/07/26.

281. Sczepanik FSC, Grossi ML, Casati M, Goldberg M, Glogauer M, Fine N, et al. Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. Periodontology 2000. 2020;84(1):45-68. Epub 2020/08/28.

282. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. Journal of clinical periodontology. 1997;24(5):287-96. Epub 1997/05/01.

283. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. Periodontology 2000. 2007;43:160-232. Epub 2007/01/12.

284. Shapira L, Borinski R, Sela MN, Soskolne A. Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients. Journal of clinical periodontology. 1991;18(1):44-8. Epub 1991/01/01.

285. Marquis RE. Oxygen metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms. Journal of industrial microbiology. 1995;15(3):198-207. Epub 1995/09/01.

286. Roos D, van Bruggen R, Meischl C. Oxidative killing of microbes by neutrophils. Microbes and infection. 2003;5(14):1307-15. Epub 2003/11/14.

287. Li X, Wang X, Zheng M, Luan QX. Mitochondrial reactive oxygen species mediate the lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory response in human gingival fibroblasts. Experimental cell research. 2016;347(1):212-21. Epub 2016/08/16.

288. Liu C, Mo L, Niu Y, Li X, Zhou X, Xu X. The Role of Reactive Oxygen Species and Autophagy in Periodontitis and Their Potential Linkage. Frontiers in physiology. 2017;8:439. Epub 2017/07/12.

289. Luo S, Xu T, Zheng Q, Jiang A, Zhao J, Ying Y, et al. Mitochondria: An Emerging Unavoidable Link in the Pathogenesis of Periodontitis Caused by Porphyromonas gingivalis. International journal of molecular sciences. 2024;25(2). Epub 2024/01/23.

290. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2007;34(7):558-65. Epub 2007/06/09.
291. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. Journal of dental research. 2010;89(11):1241-6. Epub 2010/08/27.
292. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. Australian dental journal. 2010;55(1):70-8. Epub 2010/04/27.
293. Baltacioglu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagun OS, Karabulut E, et al. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. Journal of periodontology. 2014;85(2):317-26. Epub 2013/05/25.
294. Thoudam T, Jeon JH, Ha CM, Lee IK. Role of Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane in Inflammation-Mediated Metabolic Diseases. Mediators of inflammation. 2016;2016:1851420. Epub 2017/01/12.
295. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. Journal of applied oral science : revista FOB. 2015;23(3):329-55. Epub 2015/07/30.
296. Leal NS, Schreiner B, Pinho CM, Filadi R, Wiehager B, Karlstrom H, et al. Mitofusin-2 knockdown increases ER-mitochondria contact and decreases amyloid beta-peptide production. Journal of cellular and molecular medicine. 2016;20(9):1686-95. Epub 2016/05/21.
297. Romano F, Iaderosa G, Corana M, Perotto S, Baima G, Di Scipio F, et al. Comparing Ionic Profile of Gingival Crevicular Fluid and Saliva as Distinctive Signature of Severe Periodontitis. Biomedicines. 2022;10(3). Epub 2022/03/26.
298. Strehler EE. Plasma membrane calcium ATPases: From generic Ca(2+) sump pumps to versatile systems for fine-tuning cellular Ca(2.). Biochemical and biophysical research communications. 2015;460(1):26-33. Epub 2015/05/23.
299. Long Y, Xia JY, Chen SW, Gao CL, Liang GN, He XM, et al. ATP2B1 gene Silencing Increases Insulin Sensitivity through Facilitating Akt Activation via the Ca(2+)/calmodulin Signaling Pathway and Ca(2+)-associated eNOS

Activation in Endothelial Cells. International journal of biological sciences. 2017;13(9):1203-12. Epub 2017/11/07.

300. Kobayashi Y, Hirawa N, Tabara Y, Muraoka H, Fujita M, Miyazaki N, et al. Mice lacking hypertension candidate gene ATP2B1 in vascular smooth muscle cells show significant blood pressure elevation. Hypertension. 2012;59(4):854-60. Epub 2012/02/09.

301. Shin YB, Lim JE, Ji SM, Lee HJ, Park SY, Hong KW, et al. Silencing of Atp2b1 increases blood pressure through vasoconstriction. Journal of hypertension. 2013;31(8):1575-83. Epub 2013/05/15.

302. Okuyama Y, Hirawa N, Fujita M, Fujiwara A, Ehara Y, Yatsu K, et al. The effects of anti-hypertensive drugs and the mechanism of hypertension in vascular smooth muscle cell-specific ATP2B1 knockout mice. Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension. 2018;41(2):80-7. Epub 2017/10/20.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

EK 2. Etik Kurul Onay Belgesi

EK 3. Etik Kurul Revizyon Onay Belgesi