

PAPER DETAILS

TITLE: Toll Benzeri Reseptörler'in Periodontal Hastalik Patogenezindeki Rolü

AUTHORS: Zeynep AKGÜL,Sadiye GÜNPINAR

PAGES: 357-365

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2423615>

Toll Benzeri Reseptörler'in Periodontal Hastalık Patogenezindeki Rolü

Zeynep AKGÜL ¹, Şadiye GÜNPINAR ²

ÖZ

Bağışıklık sistemi, doğal ve edinilmiş olmak üzere iki ana bölümden meydana gelir. Doğal bağışıklık sistemi, deri ve mukozal epitelyal bariyerler ile humoral ve hücrel elemanlardan oluşur. İlave olarak, konağın kendine yabancı olan patojenle ilgili molekülleri tanıması ve böylece bağışıklık yanıtın oluşturulmasını sağlayan çeşitli reseptörlere sahiptir. Bu reseptörlerden en iyi bilineni toll benzeri reseptör (TBR) ailesidir. Periodonsiyumun önemli bir savunma bileşeni olan dişeti epitel hücreleri oral mikroorganizmalar ile sürekli temas halindedir. Bu durum, dişeti epitelinde bulunan TBR'lerin sürekli olarak uyarılması ve devamında, ağız sağlığının korunmasına yardımcı olan sitokinlerin ve defensinlerin üretilmesi ile sonuçlanır. Diğer taraftan, konak ve mikroorganizma arasındaki bu dengenin mikroorganizma lehine bozulması sonucu periodontal dokulardaki hastalığın ilerlemesi artar. Bu derlemenin amacı doğal bağışıklık sistemin önemli elemanlarından biri olan TBR'lerin özelliklerini, sinyal iletimini, periodontal hastalıktaki rolünü ve epigenetik düzenlenmesini güncel yayınlar ışığında değerlendirmektir.

Anahtar Kelimeler: Toll benzeri reseptörler; periodontal hastalık.

The Role of Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Periodontal Disease

ABSTRACT

Immune system consists of two main parts, named as innate and acquired. The innate immune system consists of skin and mucosal epithelial barriers and humoral and cellular elements. In addition, it has several receptors that allow the host to recognize pathogen related molecules, thereby creating an immune response. The best known of these receptors is the toll-like receptor (TLR) family. Gingival epithelial cells, which are an important defense component of the periodontium, always contact with oral microorganisms. This results in continuous stimulation of TLRs in the gingival epithelium and subsequent production of cytokines and defensins which helps to maintain oral health. On the other hand, as the balance between the host and the microorganism is disrupted in favor of the microorganism, the progression of periodontal breakdown increases. The purpose of this review is to evaluate the characteristics, signal transmission, active role in the pathogenesis of periodontal disease and the epigenetic regulation of TLRs, which are the important elements of the natural immune system, in the light of current publications.

Keywords: Toll like receptor; periodontal disease.

GİRİŞ

Savunma sistemi temel olarak anatomik ve fizyolojik bariyerler, doğal bağışıklık sistemi ve edinilmiş bağışıklık sistemi olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır. Bu sistemlerin her biri birbiriyle yakından ilişkili olup birinde meydana gelen aksaklık diğerlerini de etkileyip enfeksiyona karşı verilen yanıtı değiştirmektedir (1). Patojenlere karşı ilk savunma hattı doğal bağışıklık sistemi tarafından oluşturulmaktadır. Doğal bağışıklık sistemi, edinilmiş bağışıklık sisteminden önce devreye girer ve edinilmiş bağışıklık sistemine göre oldukça hızlıdır. Hatta doğal bağışıklık sisteminin, birçok enfeksiyonu edinilmiş bağışıklık sistemi devreye girmeden kontrol altına aldığı gösterilmiştir (2). Doğal bağışıklık sistemi, patojen mikroorganizmalarda bulunan, konakta bulunmayan ve patojen ilişkili moleküler kalıplar “pathogen associated molecular patterns” (PAMP) olarak adlandırılan bileşenler sayesinde patojenleri tanımaktadır (3).

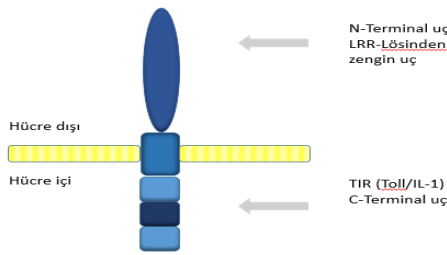
1 Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji ABD, Bolu, Türkiye
2 Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Zeynep Akgül, e-mail: zeyneppakgulakgul@gmail.com
Geliş Tarihi / Received: 25.01.2021, Kabul Tarihi / Accepted: 28.02.2022

Doğal bağışıklık sistemi hücreleri, patojen tanıyan reseptörler “pattern-recognition receptors” (PRR) olarak adlandırılan reseptörleri eksprese eder. PRR’ler, mikrobiyal patojenle ilişkili moleküler kalıpların (PAMP) tanınmasında rol oynar. İlave olarak stres, doku hasarı, metabolik dengenin bozulması ve nekrotik hücre ölümü gibi durumlarda organizmanın kendisi tarafından üretilen endojen molekülleri, hasara bağlı moleküler paternler “danger associated molecular patterns” (DAMP) ile tanıyarak bağışıklık yanıtının oluşmasında kilit rol oynarlar (4). PRR’ler, enfeksiyöz bir ajan olmadan da bağışıklık yanıtı oluşturabilme özellikleri ile araştırmacıların dikkatini çekmiş ve yapılan çalışmalarda PRR’lerin kanser ve diğer otoimmün hastalıklarda etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca apoptoz, DNA onarımı, otofaji ve angiogenez süreçlerinde de önemli rol oynadıkları rapor edilmiştir (5). PRR’ler; Toll benzeri reseptörler (TBR), NOD benzeri reseptörler (NBR), C tip lektin reseptörler (CLR), RIG-I benzeri reseptörler (RBR) ve AIM2 benzeri reseptörler (ALR) olmak üzere beş farklı reseptör ailesinden oluşur. Toll benzeri reseptörler, PRR’ler arasında en çok tanınandır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, memelilerde 13 TBR analoğu tanımlanmış olmakla birlikte TBR 11, TBR 12 ve TBR 13’ün insanlarda eksprese olmadığı, diğer taraftan bu reseptörlerin sadece farelerde fonksiyonel olduğu tespit edilmiştir (6).

Toll Benzeri Reseptörlerin Yapısı

Toll benzeri reseptörler tip 1 trans membran proteinidir ve ligandları tanımak için bir hücre dışı bölüm, transmembran heliks bölümü ve hücre içi IL-1 reseptörüne benzer TIR (toll like/interleukin 1) alanından oluşur. TBR’lerin aminoterminal hücre dışı alanları, lösinden zengin tekrar motiflerini içerir ve lösinden-zengin tekrarlar “leucine-rich repeats” (LRRs) olarak adlandırılır. Bu motifler tek bir transmembran alanı ile devam eder ve sonrasında TIR alanı olarak adlandırılan globüler bir sitoplazmik alan ile sonlanır (7,8). TBR’lerin yapısı Şekil 1’de gösterilmiştir (8).



Şekil 1. Toll benzeri reseptörlerin yapısı (8)

TBR’ler hücre dışı ve hücre içi bölümlerden oluşan bir transmembran proteinidir. Hücre dışında lösinden zengin tekrar motiflerinden “LRR”, hücre içinde IL-1 reseptörüne benzer Toll/IL-1 (TIR) alanından oluşur.

Toll benzeri reseptörler hücredeki yerleşimine göre; hücre içinde ve hücre dışında yerleşim gösterenler olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir. TBR 1, 2, 4, 5, 6 ve 10 hücre dışı yerleşim gösterir ve lipid, lipoprotein ve protein gibi mikrobiyal membran bileşenlerini tanır. TBR 3, 7, 8 ve 9 ise hücre içi (endosome, endolizozom ve lizozom) yerleşim gösterir.

Toll Benzeri Reseptörler ve Ligandları

Toll benzeri reseptörlerin çok çeşitli mikrobiyal bileşenler için sinyalleri tanıyabildiği ve aynı zamanda bu bileşenlerin konak tarafından tanınmasına aracılık ettiği gösterilmiştir (1). Bu konuda ilk olarak TBR 4’ün gram negatif bakterilerin önemli bir hücre duvarı bileşeni olan lipopolisakkarit’i (LPS) tanıyabildiği bildirilmiş ve LPS, TBR 4 için bir ligand olarak tanımlanmıştır (9). Mikrobiyal ligandlara ek olarak, ısı-şok proteinleri (HSP) (HSP60 ve HSP70), hiyaluronan oligosakkaritleri, sürfektan protein A ve heparan sülfat, fibronektin, endoplazmin gibi farklı hücre dışı matriks ürünleri ve bunların fragmanları gibi pek çok endojen ligandın da TBR’leri uyardığı gösterilmiştir (10).

Toll benzeri reseptörler tanıdıkları ligandlara göre gruplara ayrılırlar. TBR 1, 2, 4 ve 6 lipitleri ve lipoprotein türevi ligandları tanır (11). TBR 4, miyeloid farklılaşma faktörü 2 (MD)-2 ve CD14 gibi hücre dışı bileşenler ile birlikte, gram negatif bakterilerin LPS’sini tanır. Ayrıca, fareler üzerinde yapılan çalışmalarda TBR 4’ün sadece bakteri motiflerini değil, aynı zamanda viral motifleri de tanıdığı gösterilmiştir (12). TBR 2, TBR 1 veya TBR 6 ile heterodimerler oluşturarak peptidoglikanları, lipopeptitleri, gram + bakterilerin lipoproteinlerini, mikoplazma lipopeptitleri ve zimosan dahil çok çeşitli PAMP’leri tanır. TBR 5, protein ligandlarını ve bakteriyel flagellini algılar. TBR 3, 7, 8 ve 9 ise nükleik asitleri tanıyan TBR grubunu oluşturur. TBR 3’ün çift sarmallı RNA’yı, TBR 7 ve TBR 8’in tek sarmallı RNA’yı, TBR 9’ un da bakteriyel ve viral genomlarda yaygın olarak bulunan metillenmemiş deoksisisitil-fosfat-deoksiguanozin (CpG) motiflerini tanıdığı tespit edilmiştir (8). TBR 10’un ise spesifik ligandı ve fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. TBR 10’un hücrede daha çok TBR 1 ve TBR 2 ile heterodimer oluşturarak bulunduğu gösterilmiştir (13,14). İnsan için her bir TBR ve ligandı Tablo 1’de özetlenmiştir (8).

Toll Benzeri Reseptörler ve Sinyal İletim Yolları

Toll benzeri reseptörler lösinden zengin tekrar motifleriyle (LRR) ligandları tanır. Ligandların TBR’leri dimerize etmesiyle TBR’lerin konfigürasyonu hemen değişime uğrar. Bunu takiben sinyal iletim yollarının aktive edilmesi için TBR’lerin TIR alanına MyD88 (miyeloid farklılaşma faktörü 2), TIRAP (TIR-bölgesi içeren protein)/MAL (MyD88 adaptör benzeri protein), TRIF (TIR bölgesi içeren adaptör-indükleyici interferon-β), TRAM (TRIF ile ilişkili adaptör molekül) ve SARM (Steril alfa HEAT/Armadillo motifi içeren protein) gibi adaptör proteinler bağlanır. TBR 3 hariç tüm TBR’ler sinyal iletimi için MyD88’in TIR alanına bağlanmasına ihtiyaç duyarlar. MyD88 sinyal iletiminde önemli bir adaptör proteindir. Farelerde yapılan bir çalışmada MyD88 eksikliği bulunan farelerin TBR 3 dışında ligandlara yanıt veremediği ve inflamatuvar sitokinlerin üretiminde dengesizlikler olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden TBR’lerin sinyal iletiminde, MyD88 kullanımına bağlı olarak MyD88 bağımlı yolak ve MyD88 bağımsız yolak olmak üzere iki yolak tarif edilmiştir. MyD88 bağımsız yolak, TRIF bağımlı yolak olarak da adlandırılmaktadır. TBR 1, TBR 2, TBR 5, TBR 6, TBR 7, TBR 8 ve TBR 9, sinyal iletiminde MyD88’e bağımlı yolağı kullanırken, TBR 3 MyD88 bağımsız yolağı kullanır. TBR 4’ün ise sinyal iletiminde her iki tür yolağı da kullandığı bildirilmiştir (15,16).

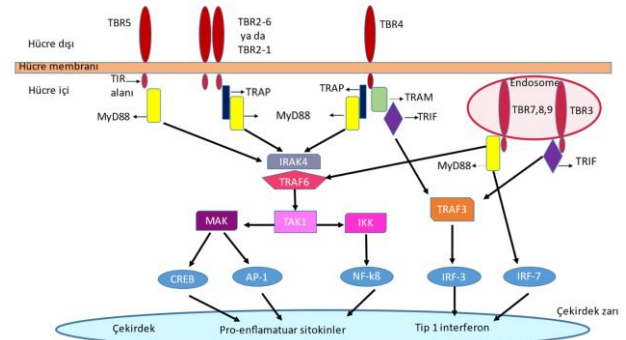
Tablo 1. Toll benzeri reseptörler ve ligandları (8)

TBR'ler ve ligandları		
Reseptör	Ligand	Ligand kaynağı
TBR1	Triaçil lipopeptid Soluble faktörler	Bakteri ve mikobakteri Neisseria meningitidis
TBR2	Lipoprotein / lipopeptid Peptidoglikan Lipoteikoik asit Lipoarabinomannan Fenol-soluble modulin Glikoinositolfosfolipidler Glikolipidler Porinler Atipikal lipopolisakkarit Zimosan Fungi Isı şok protein 70	Çeşitli patojenler Gram pozitif bakteri Gram pozitif bakteri Mikobakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Treponema maltophilum</i> <i>Neisseria</i> <i>Leptospira interrogans</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> Fungi Konak
TBR3	Çift zincirli RNA	Virüs
TBR4	Lipopolisakkarit Taksol Füzyon Protein Zafer protein Isı şok protein 60 Isı şok protein 70 Fibronektin Tip 3 Tekrarlı Ekstra Domain A Hyaluronik asit oligosakkaritleri Heparan sülfat polisakkarit fragmentleri Fibrinojen	Gram negatif bakteri Bitkiler Respiratory Syncytial virus Fare tümör virüsü Chlamydia pneumoniae Konak Konak Konak Konak Konak
TBR5	Flagellin	Bakteri
TBR6	Diaçil lipopeptidler	Mikoplazma
TBR7	Lipoteikoik asit Zimosan İmidazokuinolin Laksoribin Bropirimin Tek iplikli RNA	Gram pozitif bakteri Fungi Sentetik bileşikler Sentetik bileşikler Sentetik bileşikler Virüsler
TBR8	Midazokuinolin Tek iplikli RNA	Sentetik bileşikler
TBR9	CpG -içeren DNA	Bakteri ve Virüsler
TBR10	Tanımlanmamış	Tanımlanmamış

TBR: Toll benzeri reseptör

MyD88 bağımlı yolak, MyD88'in, ortamda TIRAP varlığında, spesifik ligandlar tarafından etkinleştirilen TBR'lerin TIR alanına bağlanması ile aktive olur. Devamında, MyD88 IL-1 reseptör bağlantılı kinaz kompleksi (IRAK) ile birleşir. IRAK, otofosforilasyon sonucu bu kompleksten ayrılarak TRAF 6'yı (TNF reseptör ilişkili faktör 6) bağlar ve böylece TRAF 6 aktive olur. Daha sonra, TRAF6 TGF-beta aktive kinaz (TAK)1'e bağlanır ve bu şekilde TAK1 aktiflenmiş olur. TAK1, TAK1 bağlanma proteini (TAB)1 ve TAB2 ile bir sinyal kompleksi oluşturur ve bu kompleksin NF-κB inhibitör protein [IκB] kinaz (IKK) kompleksini uyarması sonucu NF-κB aktive olur. NF-κB sitoplazmadan nükleusa geçer ve TNF-alfa, IL-6, IL-12, IL-1 ve adezyon molekülleri gibi sitokinlerin ve kemokinlerin transkripsiyonunu başlatır. İlave olarak, TRAF6/IKK "inhibitor of nuclear factor kappa-B" kompleksi MAPKK'leri de uyarır ve böylece ERK, JNK ve p38 gibi MAP kinazlar ile AP-1 aktiflenmiş olur (16).

MyD88 bağımsız yolak ise sinyal iletiminde MyD88 molekülü yerine TRIF molekülünü kullanır. TRIF molekülü, MyD88 bağımsız yolağın aktive olabilmesi için temeldir. Bu sinyal yolağında TBR 3, TRIF üzerinden TRAF6'yı uyarır. Devamında, NF-κB ve IRF3 aktive olur ve bu durum tip 1 interferon salınımına neden olur. TBR 4 ise TRAM üzerinden TRIF'ı uyarır. Devamında, IRF3'ün aktive olmasıyla tip 1 interferon cevabı oluşur (15). İlave olarak, TBR 7, 8 ve 9'un TRAF3 ve IRF7 üzerinden tip 1 interferon cevabı geliştirdiği bildirilmiştir (17). MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız yolaklar Şekil 2 'de şematize edilmiştir (16,18).

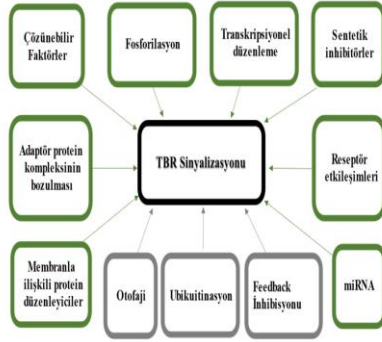
**Şekil 2.** TBR'lerin sinyal yolakları (16, 18)

AP-1: Aktivatör proteini-1, CREB :cAMP bağlayan protein, IKK: Nükleer faktör-KB kinaz inhibitörü, IRAK: İnterlökin (IL) -1-reseptör ilişkili kinaz, IRF-3: İnterferon (IFN) -düzenleyici faktör-3, LPS: Lipopolisakkarit, MAK: Mitojenle aktive edilen protein kinaz, MyD88: Miyeloid farklılaşma proteini 88, NF-κB: Nükleer faktör-κB, TAK1: Dönüştürücü büyüme faktörü -β-aktif kinaz 1, TIRAP: Toll-IL-1 reseptör alanını içeren adaptör proteini, TBR: Toll benzeri reseptör, TRAF6: Tümör nekroz faktörü-reseptöre bağlı faktör 6, TRAM: TRIF ile ilişkili adaptör molekülleri, TRIF: TIR bölgesi içeren adaptör-indükleyici interferon-β.

Toll Benzeri Reseptörler ve Negatif Düzenleyicileri

Toll benzeri reseptör sinyalizasyon yolaklarının aktivasyon ve inhibisyonun düzenlenmesinde karmaşık denge mekanizmaları mevcuttur. Aktivasyon ve inhibisyonun dengelenmesi, aşırı enflamatuvar yanıt oluşmasını engellemekte ayrıca, bireylerin enfeksiyöz

hastalıklara yatkınlıklarını azaltmaktadır. TBR'lerin inhibisyon mekanizmaları çeşitli kategorilere ayrılarak değerlendirilebilir. TBR'lerin aktivasyonu hücre dışı inhibitörlerle (sTBR2/4) TBR ligand etkileşiminin önlenmesi şeklinde olabileceği gibi, hücre içi inhibitörler yoluyla sinyal yollarlarının ve membran proteinlerinin baskılanması, TBR'lerin degrade olması, apoptoz, otofaji transkripsiyonel düzenleme, miRNA'lar vb mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. TBR'lerin düzenlenme mekanizmaları Şekil 3'te şematize edilmiştir (19).



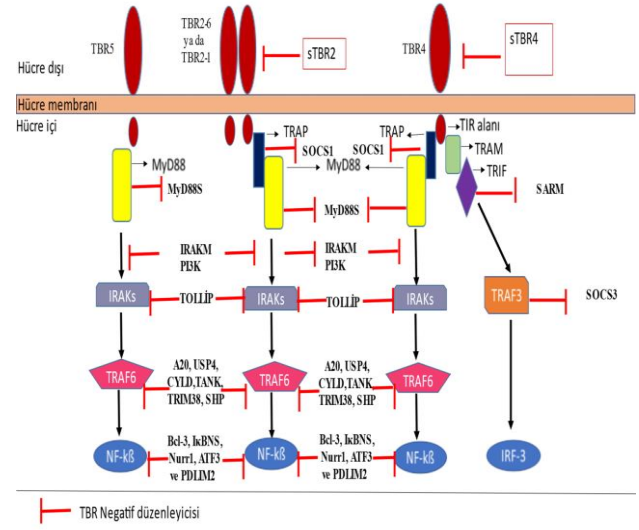
Şekil 3. TBR'lerin negatif düzenlenme mekanizmalarının şematik gösterimi (19).

Hücre dışı çözünür sTBR2/4 formları şimdiye kadar tanımlanan çözünür TBR formlarıdır ve hücre dışı alanda TBR ligandlarıyla yarışarak TBR sinyalizasyonunu inhibe eder. Çözünür negatif düzenleyicilerin yanında TBR sinyal iletim yollarlarının baskılanmasında yer alan SIGIRR, ST2 ve TRAILR hücre membranında yer alan transmembran proteinleridir..

Hücre içi inhibitör mekanizmalar ise adaptör proteinleri hedef alarak sinyal iletimini herhangi bir adımda inhibe edebilir. TBR sinyalizasyonunda MyD88 bağımlı yolda sMyD88 (MyD88'in kısa formu) IRAK1 ve IRAK4 etkileşimini önleyerek IKK kompleksinin oluşumunu engeller. MyD88 bağımlı yolda ST2825, SOCS1 ve Cbl-b tarafından, MyD88-bağımsız yolda ise SARM ve TAG tarafından adaptör proteinlerin TBR'lere bağlanması engellenir. Sinyalizasyon aşamalarında oluşan IRAK kompleksi, IRAKM ve TOLLIP molekülleri tarafından inhibe edilirken, TRAF6 A20, USP4, CYLD, TANK, TRIM38 molekülleri tarafından inhibe edilir. MyD88 bağımsız yolda TRAF3, SOCS3 ve DUBA tarafından inhibe edilerek sinyal iletimi engellenir. Sinyal iletiminin son basamağını oluşturan NF-κB transkripsiyon faktörü ise Bcl-3, IκBNS, Nurr1, ATF3 ve PDLIM2 tarafından inhibe edilir (20).

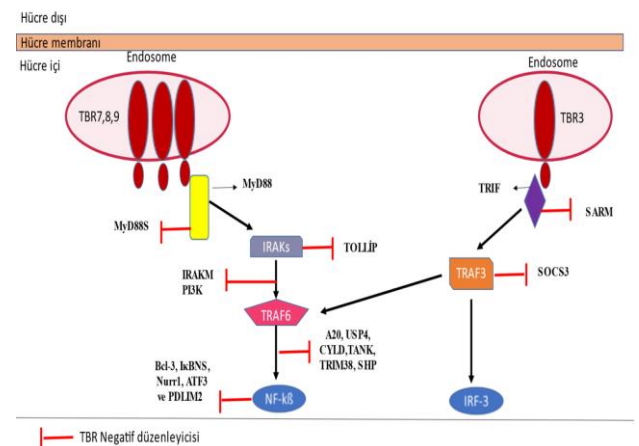
Toll benzeri reseptörlerin düzenlenmesinde görev alan başka bir molekül miRNA'lardır. Sinyal moleküllerini kodlayan mRNA'lar üzerinden etki gösteren miR-146a, miR-199a, miR-155, miR-126, miR-21, miR-29, miR-148/152 ve miR-461 gibi miRNA'lar TBR inhibisyonuna neden olmaktadır (21). Hücre dışı yerleşimli TBR'lere ait negatif düzenleyiciler Şekil 4'te,

hücre içi endozom yerleşimli TBR'ler Şekil 5'de gösterilmiştir (20, 22).



Şekil 4. Hücre dışı yerleşim gösteren TBR'lerin negatif düzenleyicileri (20, 22)

IRAK: İnterlökin (IL) -1-reseptör ilişkili kinaz, IRF-3: İnterferon (IFN) -düzenleyici faktör-3, MAK: Mitojenle aktive edilen protein kinaz, MyD88: Miyeloid farklılaşma proteini 88, NF-κB: Nükleer faktör-κB, TIRAP: Toll-IL-1 reseptör alanını içeren adaptör proteini, TBR: Toll benzeri reseptör, TRAF6: Tümör nekroz faktörü-reseptöre bağlı faktör 6, TRAM: TRIF ile ilişkili adaptör molekülleri, TRIF: TIR bölgesi içeren adaptör-indükleyici interferon-β, MyD88S:MyD88 kısa formu, sTBR2:çözünür TBR2, sTBR4:Çözünür TBR4, SOCS1: Sitokin Sinyali 1'in Baskılayıcısı, SOCS-3: Sitokin Sinyali 3'in Baskılayıcısı, SARM: Steril alfa HEAT/Armadillo motifi içeren protein, IRAKM: interlökin-1 (IL-1) reseptörle ilişkili kinaz M, TOLLIP: Toll ile etkileşen protein, PI3K: Fosfatidilinositol 3-kinaz, A20 (TNFAIP3): TNF alfa kaynaklı protein 3, USP4: Ubiquitin'e özgü peptidaz 4, CYLD: silindirindromitoz, TANK: TRIM 38: E3 Ubikitin Ligaz Üçlü Motifi 38, SHP: Küçük heterodimer ortağı, Bcl-3:,Nurr1: Nükleer reseptör ile ilişkili protein-1, ATF3:Siklik AMP'ye bağımlı transkripsiyon faktörü, PDLIM2: PDZ ve LIM domain proteini 2.



Şekil 5. Hücre içi yerleşim gösteren TBR'lerin negatif düzenleyicileri (20, 22)

IRAK: İnterlökin (IL) -1-reseptör ilişkili kinaz, IRF-3: İnterferon (IFN) -düzenleyici faktör-3, MAK: Mitojenle aktive edilen protein kinaz, MyD88: Miyeloid farklılaşma proteini 88, NF-κB: Nükleer faktör-κB, TIRAP: Toll-IL-1 reseptör alanını içeren adaptör proteini, TBR: Toll benzeri reseptör, TRAF6: Tümör nekroz faktörü-reseptöre bağlı faktör 6, TRAM: TRIF ile ilişkili adaptör molekülleri, TRIF: TIR bölgesi içeren adaptör-indükleyici interferon-β ,SOCS-3: Sitokin Sinyali 3'in Baskılayıcısı, SOCS-3: Sitokin Sinyali 3'in Baskılayıcısı, SARM: Steril alfa HEAT/Armadillo motifi içeren protein, IRAKM: interlökin-1 (IL-1) reseptörle ilişkili kinaz M, TOLLİP: Toll ile etkileşen protein, PI3K: Fosfatidilinositol 3-kinaz, A20 (TNFAIP3): TNF alfa kaynaklı protein 3, USP4: Ubiquitin'e özgü peptidaz 4, CYDL: silindirindromitoz, TANK: TRIM 38: E3 Ubikitin Ligaz Üçlü Motifi 38, SHP: Küçük heterodimer ortağı, Bcl-3;Nurr1: Nükleer reseptör ile ilişkili protein-1, ATF3: Siklik AMP'ye bağımlı transkripsiyon faktörü, PDLIM2: PDZ ve LIM domain proteini 2 .

Periodontal Hastalık ve Toll Benzeri Reseptörler

Toll Benzeri Reseptörler ve Enflamasyon/Enflamatuvar Cevap

Periodonsiyum sürekli olarak kommensal ve patojenik oral mikroorganizmaları içeren dental plağa maruz kalır. Bunun neticesinde, periodontal dokular farklı tipte TBR'leri eksprese ederek oral mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturur (23). Periodontal dokular tarafından eksprese edilen TBR'ler Tablo 2 ' de özetlenmiştir. Son çalışmalar kommensal bakteriler tarafından uyarılan TBR'lerin periodontal dokuların sağlığının korunmasında önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir (24).

Diş eti epitel hücreleri TBR 2, 3, 4, 5, 6 ve 9'u eksprese ederek diş yüzeyinde biofilm oluşturan mikroorganizmaları tanıır. Devamında, B-defensin, kathelisin, kalprotektinin ve IL-8 salınımını uyararak doğal bağışıklık yanıtın oluşmasını sağlar. Böylece dişetindeki mikrobiyal saldırılar sınırlandırılır ve kommensal mikroorganizmaların diş eti bariyerini geçmesi engellenir.

Diğer taraftan, dental plakta bulunan patojen mikroorganizmaların diş eti bariyerini geçip periodontal dokularda bulunan TBR'leri kronik olarak uyarması, pro-enflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimine sebep olabilir ve bu durum doku tahribatını artırabilir (25) .

İlk savunma hattını oluşturan dişeti, patojen mikroorganizmalar ve ürünleri tarafından aşıldığında PAMP'ler bağ dokusundaki hücreleri aktive eder. Diş eti fibroblastlarının PAMP'leri ile uyarılması sonucu proenflamatuvar sitokinlerin üretimi artarken, periodontal ligament fibroblastlarının PAMP'leri ile uyarılması proteinazların üretimine sebep olur . Diğer taraftan hem epitel hem de bağ dokusuna yerleşik halde bulunan ve antijen sunumundan ve T hücre aktivasyonundan sorumlu olan dentritik hücrelerin olgunlaşması TBR'lerin uyarılmasıyla aktiflenir (26). Dentritik hücreler T hücre farklılaşmasını indükleyebilmek için doğrudan TBR'lere ihtiyaç duyar ve TBR'lerin uyarılmasıyla aktive olduklarında T hücre farklılaşmasını indükleyen sitokinleri salgılar. T hücreleri, TBR ligandlarının türüne

göre yardımcı T hücresi Th1 ve Th2 hücrelerine farklılaşır . B lenfositleri ise bakteriyel antijenlere karşı antikor üretmek için plazma hücrelerine dönüşür. Böylece hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık sistemi aktiflenmiş olur (27).

Tablo 2. Periodontal dokular tarafından eksprese edilen TBR 'ler (24).

Periodontal Hücreler	Toll benzeri reseptörler	Görevleri
Diş eti epitel hücresi	TBR 2, 3, 4, 5, 6, 9	IL-8 ve MMP üretiminin indüklenmesi. Lökosit kemotaksisinde artış.
Diş eti fibroblastı	TBR 2, 4, 9	IL-8 ve diğer pro-enflamatuvar sitokinlerin üretimin artması .
Endotel	TBR 1, 3, 4, 5,	Pro-enflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimi .
Osteoblast	TBR 1,4, 5, 6, 9	Nükleer faktör lig B ligandının (RANKL) reseptör aktivatörünün artan ekspresyonu
Osteoklast	TBR 2, 4	Osteoklastik aktivitelerin artması.
Sementoblast	TBR 2, 4	RANKL seviyelerinin azalması
Periodontal ligament fibroblastları	TBR 2, 4	Pro-enflamatuvar sitokinlerin üretiminin artışı , proteazların salınması.

Toll benzeri reseptörler periodontitiste proinflamatuvar ve inflamatuvar sitokin üretimi, doğal ve edinilmiş bağışıklık yanıtının aktivasyonu, alveolar kemik kaybı, endotoksin üretim aşamalarında rol oynamaktadır. Periodontitis hastaları üzerinde TBR'lerin etkilerinin incelendiği ana klinik çalışmalar Tablo 3' te özetlenmiştir.

Tablo 3. Periodontitis hastalarında TBR'ler hakkında yapılan ana klinik çalışmalar (24).

Yazar	İncelenen Doku	Bulgular ve çıkarılan sonuç
SE Şahingur ve ark. (2013)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında artmış TBR 8 ve TBR 9 düzeyleri.
Öztürk ve Yıldız (2011)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında artan TBR 4 ekspresyonu.
Becerik ve ark. (2011), Ribeiro ve ark. (2012), Li ve ark. (2014), Beklen ve ark. (2014), Duarte ve ark. (2012)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre artmış TBR 2 ve TBR 4 düzeyleri.
Scheres ve ark. (2011)	hPDLF ve HGF	Periodontitis hastalarında TBR 1, TBR 4 ve TBR 7 artışı.
Chen ve ark. (2014)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre artmış TBR 9 düzeyleri.
Wara-aswapati ve ark. (2013)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında TBR4 düzeylerinde değişiklik yokken; TBR 2 ve TBR 9 seviyelerinde artış.
Prakasam ve Srinivasan (2014)	Tükürük	Periodontitis hastalarında tükürükte azaltılmış sTBR 2.
Buduneli ve ark. (2011)	Tükürük	Periodontitis hastalarında tükürükte tükürük TBR 4 düzeylerinin artışı.
Banu ve ark. (2015)	Tükürük	Periodontitis hastalarında plazma ve tükürükte TBR4 ve IL-8 artışı.
Lappin ve ark. (2011)	Tükürük	Periodontitis hastalarında tükürükte TBR2 ve TBR4 artışı
Swaminathan ve ark. (2013)	Tükürük epitel hücresi	Periodontitis hastalarında tükürük epitel hücrelerinde TBR2 ve TBR4, gen seviyesinde artış, protein seviyesinde değişiklik yok.
Fatemi ve ark. (2013)	Dişeti dokusu	Periodontitis hastalarında TBR2 ve TBR4 artışı.
Hawra AlQallaf ve ark. (2018)	Tükürük	Periodontitis hastalarında tükürükte sTLR2 ve sTLR4 artışı.

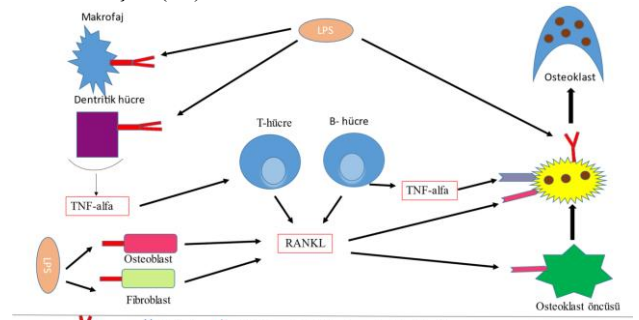
TBR: Toll benzeri reseptör, hPDLF'ler, İnsan Periodontal Ligament Fibroblastları; HGF'ler, İnsan Dişeti Fibroblastları, sTBR: çözünebilir toll benzeri reseptör.

Toll Benzeri Reseptörler ve Alveolar Kemik Kaybı

Periodontal enflamasyonun en önemli sonuçlarından biri dişlerin etrafındaki alveolar kemiğin geri dönüşümsüz olarak rezorbe olmasıdır. Patojenik mikroorganizmalar ve ürünlerinin, özellikle LPS'lerinin periodontal dokular ve immün sistem hücreleriyle etkileşimi, osteoklastların farklılaşmasını uyarak patolojik kemik kaybına neden olur. Bu patolojik kemik kaybı için gerekli fonksiyonel hücreler osteoklastlardır. Osteoklastlar hematopoetik sistemden köken alırlar ve humoral faktörlere bağlı olarak osteoklast öncü hücrelerinden olgun osteoklastlara farklılaşırlar. Devamında füzyona uğrayarak aktif kemik yıkımından sorumlu olgun osteoklastları oluştururlar. Nükleer faktör kappa B reseptör aktivatörü “receptor activator of nuclear factor-kappa B” (RANK) ve RANK ligandı (RANKL)’nın etkileşimi osteoklast farklılaşmasında kilit rol oynamaktadır. Bu durum, RANK/RANKL etkileşimi ile ilişkili birçok transkripsiyon faktörleri ve sinyal yolları tarafından düzenlenir.

Periodontal enflamasyon sırasında osteoklastlardaki olgunlaşma farklı mekanizmalarla ortaya çıkar. Bu mekanizmalar LPS/TBR sinyal yolağının aktiflenmesi ile başlatılan tam RANKL bağımlı osteoklastogenez ve LPS/TBR sinyal yolağının aktiflenmesi sonrası diğer proenflamatuvar sitokinler tarafından sürdürülen kısmi RANKL-bağımlı osteoklastogenez olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir.

Periodontal enflamasyon sırasında kısmi RANKL-bağımlı osteoklastogenez bir örnek Şekil 6 'da özetlenmiştir (28).



Şekil 6. Periodontal hastalıklarda inflamasyona bağlı osteoklast farklılaşmasının şematik gösterimi (28).

Buna göre, periodontal hastalık sırasında gram negatif bakteriler tarafından salınan LPS makrofajlar, dendritik hücreler ve doğal bağışıklık sistemi hücrelerinin eksprese ettiği TBR 4 ile etkileşime girer. Dendritik hücreler ve makrofajların TBR aracılı aktivasyonu sonucu TNF-a, IL-1 ve IL-6 gibi pro-enflamatuvar sitokinler salgılanır. Pro-enflamatuvar sitokinlerin salgılanması osteoblastlardaki RANKL ekspresyonunu uyarır. Diğer taraftan LPS, osteoblastlar ve periodontal ligament fibroblastları üzerindeki TBR 4 ile etkileşime girerek de RANKL ekspresyonunu arttırabilir. Ayrıca, diğer TBR'lerin periodontal patojenlerin ligandlarıyla uyarılması sonucu IL-6, TNF-a, IL-1 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin, CXCL8/IL-8, CCL2, CCL3 ve CCL5 gibi kemokinlerin, Prostaglandin E-2 ve lökotrien A-4 ve devamında RANKL seviyelerinin artmasına neden olarak kemik rezorbsiyonuna neden olur (28).

Toll benzeri reseptörlerin osteoklast farklılaşmasındaki rolleri farklı araştırmacılar tarafından birçok in vitro ve in vivo modellerde çalışılmıştır. Fare osteoblastları kullanılarak yapılan bir çalışmada, TBR 2 ve TBR 4'ün inhibe edildiği grupta, LPS ile indüklenen osteoblastlarda RANKL seviyelerinin önemli oranda azaldığı bildirilmiştir (29). Başka bir in vivo çalışmada sıçanlarda ligatüre bağlı periodontitis modeli oluşturulmuş ve P. gingivalis'in TBR 2 ve TBR 4 aracılığıyla alveolar kemik kaybını arttırdığı tespit edilmiştir (30). Deneysel periodontitis oluşturulmuş TBR 9 ekspresyone edemeyen fareler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise, periodontitis oluşturulan grupta P. gingivalis ile muamele edilmesi sonrası alveolar kemik kaybının periodontitis oluşturulmayan kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı saptanmıştır (31). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada, alveol kemik kaybının TBR 9 eksikliği olan periodontitis grubunda, periodontal olarak sağlıklı kontrol grubuna göre daha az olduğu ve NF- κ B ile TBR 9' un negatif regülatörü olan deubikitenaz A20 seviyelerinin daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar, TBR 9' un hem hücre hem de moleküler düzeyde periodontal hastalık ilerlemesini düzenlediğini bildirmişlerdir (32). Fare osteoblastları kullanılarak yürütülen bir hücre kültürü çalışmasında, osteoblastların TBR2/6 ve TBR2/1 heterodimerlerinin agonistleriyle inkübe edilmesi sonucu, RANKL gen ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde artış gösterdiği rapor edilmiştir (32). P. gingivalis'in osteoklast farklılaşması üzerindeki doğrudan etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise P. gingivalis'in TBR2/MyD88 etkileşiminin düzenlenmesi yoluyla RANKL ile indüklenen osteoklast oluşumunu farklı şekilde uyardığı gösterilmiştir (29). İlave olarak, TBR'lerin sinyal iletiminde etkin rol oynayan MyD88'nin periodontal hastalıkta alveolar kemik kaybı oluşumunda önemli olduğu bildirilmiş ve MyD88 ekspresyone edemeyen farelerde alveolar kemik kaybının olmadığı rapor edilmiştir (33).

Literatürdeki birçok çalışma, TBR ligandları ile osteoklast farklılaşmasının arttığını ortaya koymuştur. Diğer taraftan, TBR'lerin uyarılmasının osteoklast farklılaşmasının aşamasına göre, osteoklast öncü hücreleri üzerinde inhibe edici etkileri olabileceği de rapor edilmiştir (28). Örneğin, farelerden izole edilen kemik iliği makrofajlarının LPS ile muamele edilmesi sonucu sadece TBR 4 aktiflendiğinde osteoklast farklılaşmasının olmadığı, diğer taraftan, TBR 4 aktivasyonundan önce RANKL uygulaması sonucu makrofajların osteoklastlara farklılaştığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak, TBR 4 ile uyarılan osteoklast farklılaşmasının olabilmesi için RANKL'ın gerekli olduğu gösterilmiştir (34). Benzer şekilde osteoklast öncüleri üzerinde ekspresyone edilen TBR 2, TBR 3 ve TBR 9'un kendi mikrobiyal ligandları ile uyarıldığında, RANKL ile indüklenen osteoklast farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (35).

Toll Benzeri Reseptörlerin Epigenetik Düzenlenmesi

Epigenetik, DNA' nın nükleotit dizisindeki değişim veya farklılıklardan bağımsız olarak ortaya çıkan gen ekspresyonundaki kalıtsal fenotipik değişiklikler olarak tanımlanır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu, histon asetilasyonu ve RNA ile indüklenen sessizleşme

“RNA-induced silencing” epigenetik mekanizmalar başlığı altında incelenir. Epigenetik değişimler sonucu belirli genlerin ifadesi artarken belirli genlerin ifadesi baskılanmakta ve bu durum genlerin ifadesini değiştirerek epigenetik kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, epigenetik mekanizmalar ve birçok kronik hastalık arasındaki ilişkiyi göstermiştir (36). Aynı zamanda periodontal hastalık patogenezinde epigenetik mekanizmaların etkilerinin olduğu bildirilmiştir (37).

Literatürde DNA metilasyonu periodontal hastalıkta en çok incelenen epigenetik mekanizma olmuştur. İnsan diş eti epitel hücrelerinde yapılan bir çalışmada, epitel hücrelerinin P. gingivalis ile uzun süreli uyarılmasının TBR 2 geninde DNA metilasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Devamında TBR 2 ekspresyon seviyelerinin azaldığı ve bu durumun endotoksin toleransının gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, aynı epitel hücreleri DNA metiltransferans inhibitörüyle tedavi edildiğinde ise TBR 2 mRNA ve sitokin ekspresyonunun artış gösterdiği rapor edilmiştir (38). Periodontal hastalık varlığında, dişeti doku örneklerinde TBR 2 metilasyon düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, periodontitis hastalarında TBR 2 metilasyon seviyelerinin arttığı diğer taraftan, TBR 2 mRNA ekspresyon seviyelerinin ise azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, araştırmacılar aynı çalışmada TBR 2 metilasyonu ile sondalama cep derinliği ve enflamatuvar hücre sayısı arasında pozitif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir (39). Shaddox ve arkadaşları periodontitis hastalarında TBR aktivasyon yolları üzerinde yer alan genlerin metilasyon paternlerini periferik kan örnekleri üzerinde incelemişler ve orta derecede yıkım görülen periodontitis hastalarında bu genlerin hipermetile olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, şiddetli yıkım görülen periodontitis hastalarında ise araştırılan genlerin sağlıklı kontrollere kıyasla hipometile olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar periodontal hastalıkta metilasyon paternlerinin hastalığın yıkım aşamalarına göre farklılık gösterebileceğini bildirmişlerdir (39).

Epigenetik mekanizmalardan bir diğeri olan histon modifikasyonlarının periodontal hastalık ile olan olası ilişkisi yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda değerlendirilmiştir. Farelerde ligatüre bağlı periodontitis oluşturulan bir çalışmada histon modifikasyon varlığı araştırılmış ve araştırmacılar elde edilen oral epitel hücrelerinde histon asetilasyon düzeylerinin artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, histon asetilasyon düzeyleri artış gösterirken, DNA metiltransferans 1 (DNMT 1) düzeylerinin ise azaldığı rapor edilmiştir. Aynı araştırmacılar, çalışmanın sonuçlarını desteklemek amacıyla insan oral epitel hücrelerini in vitro ortamda LPS ile muamele etmişler ve epitel hücrelerinde histon asetilasyon düzeylerinde ve p300 / CBP ve NF- κ B seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. İlave olarak, oral epitel hücreleri TBR 1, 2 ve 4 agonistleri ile muamele edildiğinde, bu TBR'lerin aktivasyonlarının artışı ile birlikte histon asetilasyon düzeylerinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir (40).

Toll benzeri reseptörler ile ilgili yapılan epigenetik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte periodontal hastalıkta değişen TBR ekspresyon seviyeleri ve epigenetik modifikasyonlar arasında ilişki ortaya

koyulmuştur. Farklı popülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalar TBR'lerin epigenetik modifikasyonlarla düzenlenmesinin periodontal hastalık patogenezinde rol oynadığını göstermektedir (37).

SONUÇ VE ÖNERİLER

TBR'ler konağın patojenleri tanıyarak doğal bağışıklık yanıtının oluşmasında önemli rol oynarlar. Konak cevabının oluşmasında TBR'lerin aktive olması istenirken, diğer taraftan, TBR'lerin aşırı aktive olması da doku yıkımına neden olan proenflamatuvar sitokinlerin aşırı artışıyla sonuçlanmaktadır. TBR'ler ve bunların sinyal iletim yollarındaki modifikasyonlar konağın patojenlere vereceği yanıtı değiştirerek hastalık gelişiminde etkin rol oynar. İlave olarak, TBR'ler endotoksin tolerans gelişimi için de hedef niteliğindedir. Yapılan çalışmalar, periodontal hastalık gelişiminde, ilerlemesinde ve mevcut doku yıkımının şiddetinin belirlenmesinde TBR'lerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu nedenle periodontal hastalıkların patogenezinin anlaşılabilmesi ve TBR hedefli terapötik ajanların geliştirilebilmesi için TBR aracılı sinyal yollarının ve bu yolların negatif düzenleyicilerinin aydınlatılmasının önemli olacağı düşünülmektedir.

Yazarların Katkıları: Fikir/Kavram: Z.A., Ş.G.; Tasarım: Z.A.; Literatür Taraması: Z.A., Ş.G.; Makale Yazımı: Z.A.; Eleştirel İnceleme: Ş.G.

KAYNAKLAR

1. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; 125(2): 24-32.
2. Patel P, Chatterjee S. Innate and Adaptive Immunity: Barriers and Receptor-Based Recognition. *Immunity and Inflammation in Health and Disease*: Elsevier; 2018. p. 3-13.
3. Medzhitov R, Janeway CA. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997; 91(3): 295-8.
4. Bauernfeind F, Hornung V. Of inflammasomes and pathogens—sensing of microbes by the inflammasome. *EMBO molecular medicine*. 2013; 5(6): 814-26.
5. Kutikhin AG, Yuzhalin AE. Pattern recognition receptors and cancer. *Frontiers in immunology*. 2015; 6: 481.
6. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *International reviews of immunology*. 2011; 30(1): 16-34.
7. Botos I, Segal DM, Davies DR. The structural biology of Toll-like receptors. *Structure*. 2011; 19(4): 447-59.
8. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nature reviews immunology*. 2004; 4(7): 499-511.
9. Lien E, Ingalls RR. Toll-like receptors. *Critical care medicine*. 2002; 30(1): 1-11.
10. Ahmed A, Redmond HP, Wang JH. Links between Toll-like receptor 4 and breast cancer. *Oncoimmunology*. 2013; 2(2): e22945.
11. Chang Z. Important aspects of Toll-like receptors, ligands and their signaling pathways. *Inflammation Research*. 2010; 59(10): 791-808.
12. Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L, Haynes LM, Jones LP, Tripp RA, et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nature immunology*. 2000; 1(5): 398-401.
13. Hasan U, Chaffois C, Gaillard C, Saulnier V, Merck E, Tancredi S, et al. Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. *The Journal of Immunology*. 2005; 174(5): 2942-50.
14. Godfroy III JI, Roostan M, Moroz YS, Korendovych IV, Yin H. Isolated Toll-like receptor transmembrane domains are capable of oligomerization. *PloS one*. 2012; 7(11): e48875.
15. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Hoshino K, Kaisho T, Sanjo H, et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science*. 2003; 301(5633): 640-3.
16. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death & Differentiation*. 2006; 13(5): 816-25.
17. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Uematsu S, Hoshino K, Kaisho T, et al. TRAM is specifically involved in the Toll-like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nature immunology*. 2003; 4(11): 1144-50.
18. Kawai T, Akira S, editors. *TLR signaling*. *Seminars in immunology*; 2007: Elsevier.
19. Anwar MA, Basith S, Choi S. Negative regulatory approaches to the attenuation of Toll-like receptor signaling. *Experimental & molecular medicine*. 2013; 45(2): e11-e.
20. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Frontiers in immunology*. 2014; 5: 461.
21. He X, Jing Z, Cheng G. MicroRNAs: new regulators of Toll-like receptor signalling pathways. *BioMed research international*. 2014; 2014.
22. Liew FY, Xu D, Brint EK, O'Neill LA. Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5(6): 446-58.
23. Muthukuru M, Jotwani R, Cutler CW. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis. *Infection and immunity*. 2005; 73(2): 687-94.
24. Song B, Zhang Y, Chen L, Zhou T, Huang W, Zhou X, et al. The role of Toll-like receptors in periodontitis. *Oral Diseases*. 2017; 23(2): 168-80.
25. Kusumoto Y, Hirano H, Saitoh K, Yamada S, Takedachi M, Nozaki T, et al. Human gingival epithelial cells produce chemotactic factors interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 after stimulation with *Porphyromonas gingivalis* via toll-like receptor 2. *Journal of periodontology*. 2004; 75(3): 370-9.
26. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology*. 2000. 1997; 14(1): 216-48.
27. Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annual review of immunology*. 2002; 20(1): 709-60.
28. AlQranei MS, Chellaiah MA. Osteoclastogenesis in periodontal diseases: Possible mediators and mechanisms. *Journal of Oral Biosciences*. 2020.

29. Lin J, Bi L, Yu X, Kawai T, Taubman MA, Shen B, et al. Porphyromonas gingivalis exacerbates ligature-induced, RANKL-dependent alveolar bone resorption via differential regulation of Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4. Infection and immunity. 2014; 82(10): 4127-34.
30. Lin M, Hu Y, Wang Y, Kawai T, Wang Z, Han X. Different engagement of TLR2 and TLR4 in Porphyromonas gingivalis vs. ligature-induced periodontal bone loss. Brazilian oral research. 2017; 31.
31. Kim PD, Xia-Juan X, Crump KE, Abe T, Hajishengallis G, Sahingur SE. Toll-like receptor 9-mediated inflammation triggers alveolar bone loss in experimental murine periodontitis. Infection and Immunity. 2015; 83(7): 2992-3002.
32. Crump KE, Oakley JC, Xia-Juan X, Madu TC, Devaki S, Mooney EC, et al. Interplay of toll-like receptor 9, myeloid cells, and deubiquitinase A20 in periodontal inflammation. Infection and immunity. 2017; 85(1).
33. Madeira M, Queiroz-Junior C, Cisalpino D, Werneck S, Kikuchi H, Fujise O, et al. My D 88 is essential for alveolar bone loss induced by Aggregatibacter actinomycetemcomitans lipopolysaccharide in mice. Molecular oral microbiology. 2013; 28(6): 415-24.
34. Itoh K, Udagawa N, Kobayashi K, Suda K, Li X, Takami M, et al. Lipopolysaccharide promotes the survival of osteoclasts via Toll-like receptor 4, but cytokine production of osteoclasts in response to lipopolysaccharide is different from that of macrophages. The Journal of Immunology. 2003; 170(7): 3688-95.
35. Takami M, Kim N, Rho J, Choi Y. Stimulation by toll-like receptors inhibits osteoclast differentiation. The Journal of Immunology. 2002; 169(3): 1516-23.
36. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T, Low FM, Beedle AS. Epigenetic mechanisms that underpin metabolic and cardiovascular diseases. Nature Reviews Endocrinology. 2009; 5(7): 401.
37. Larsson L, Castilho RM, Giannobile WV. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. Journal of periodontology. 2015; 86(4): 556-68.
38. Benakanakere M, Abdolhosseini M, Hosur K, Finoti L, Kinane D. TLR2 promoter hypermethylation creates innate immune dysbiosis. Journal of dental research. 2015; 94(1): 183-91.
39. de Faria Amormino SA, Arao TC, Saraiva AM, Gomez RS, Dutra WO, da Costa JE, et al. Hypermethylation and low transcription of TLR2 gene in chronic periodontitis. Human Immunology. 2013; 74(9): 1231-6.
40. Martins M, Jiao Y, Larsson L, Almeida L, Garaicoa-Pazmino C, Le J, et al. Epigenetic modifications of histones in periodontal disease. Journal of dental research. 2016; 95(2): 215-22.