



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ARPC1A GENİNİN PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDEKİ ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Yusuf SELEN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

TOKAT-2022

T.C
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARPC1A GENİNİN PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDEKİ ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

Yusuf SELEN

TOKAT-2022

Bu Çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonları
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2021/72).

Her Hakkı Saklıdır

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresinde bana bilgilerini aktaran hiçbir zaman desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e,

Lisansüstü eğitimim boyunca benim için emek sarfeden bölüm hocalarıma,

Çalışmamın en önemli aşamalarından olan, hasta teşhisi ve doku örneklerinin toplanmasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Esengül ŞEN, Arş. Gör. Yunus BALEL ve Arş. Gör. Gül SARITAŞ'a,

Tezimin istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Osman DEMİR'e,

Çalışmamın tüm aşamalarında yanımda olan ve ihtiyacım olan her anda desteğini benden esirgemeyen yüksek lisans arkadaşlarım Asiye YANCI, İrem YILDIZ, Mustafa KOÇAK, Aso İbrahim KHALEEL, Azize ÖZEN, Sarbast Rahim OTHMAN ve doktora öğrencisi Kübra ŞAHİN'e,

Dostluğunu her zaman hissettiğim, tüm anılarımın dinleyicisi Hamit GÜL'e,

Son olarak tüm hayatım boyunca aldığım her kararda yanımda olan; sevgi, güven, maddi ve manevi olarak destekleyen canım aileme

Sonsuz teşekkürler...

İTHAF



Sevgili anneme ve babama ithaf ediyorum...

ÖZET

ARPCIA GENİNİN PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

SELEN, Yusuf

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Şubat 2022, xi +77 sayfa

Periodontitis konak immün yanıtı sonucunda oluşan; yumuşak ve sert doku yıkımı ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitis, zamanında tedavi edilmediğinde, dişleri destekleyen periodontal bağın bağlanma kaybına, diş kaybına ve birleşme epitelinin apikal göçüne neden olan, kronik yapısı nedeniyle tekrarlama riski yüksek bir hastalıktır. Hücre göçü, gelişim, doku onarımı ve bağışıklık tepkileri gibi temel fizyolojik süreçler için gereklidir. Bağışıklık ve hematolojik hücrelerde aktin hücre iskeletinin koordineli olarak yeniden düzenlenmesinin önemi, bu sürecin bozulduğu insanlarda çeşitli hastalıklarla vurgulanmaktadır. Birçok hastalık hücre iskeleti ve proteinlerdeki anormalliklerle ilişkilendirilmiştir. Periodontitisin böyle bir hücre iskeleti hastalığı olduğu düşünülmektedir. *ARPCIA*, aktin ile ilgili protein ARP2/3 kompleks ailesinin bir üyesidir. *ARPCIA* geni, hücrelerde aktin polimerizasyonunun kontrolünde yer alan insan Arp2/3 kompleksinin p41 alt birimini kodlar. *ARPCIA*'ın hücre göçünde rol aldığına dair bir çok literatür çalışması mevcuttur. Bu çalışmada, *ARPCIA* geni aktin hücre iskeleti düzenleyicisinin, bir inflamatuvar hastalık olan periodontitiste ilişkisi araştırılmıştır. Periodontitis nedeniyle ileri diş destek doku kaybı oluşumuna bağlı diş çekimi için başvuran periodontitis tanısı almış 20 hastanın, diş çekim endikasyonu bulunan dişler çekildikten sonra, yumuşak doku düzeltilmesi gereksinimi olan bölgelerden periodontitisli yapışık diş eti doku örnekleri elde edilmiştir. Kontrol grubu doku örnekleri için aynı hastadan rezektif gingival cerrahi endikasyon varlığında sağlıklı diş eti örneği alınmıştır. Periodontitis dokusunda *ARPCIA* geninin mRNA düzeyinde ekspresyonu için RT-PCR analizi yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre periodontitis dokusunda *ARPCIA* geninin ekspresyon seviyesi normal dokuyla karşılaştırıldığında periodontitis dokusunda artış olduğu fakat bu artışın ($p=0,433$, değeri $p>0.05$), istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Arp2/3, *ARPCIA*, Hücre Göçü, Hücre İskeleti, Periodontitis

ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE ROLE OF ARPC1A GENE IN THE
DEVELOPMENT OF PERIODONTITIS

SELEN, Yusuf

Master's Thesis, Department of Medical Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

February 2022, xi +77 pages

Periodontitis occurs as a result of host immune response; It is an inflammatory disease characterized by soft and hard tissue destruction. Periodontitis is a disease with a high risk of recurrence due to its chronic structure, which, if not treated in a timely manner, causes loss of attachment of the periodontal ligament that supports the teeth, tooth loss and apical migration of the junctional epithelium. It is essential for basic physiological processes such as cell migration, development, tissue repair, and immune responses. The importance of coordinated reorganization of the actin cytoskeleton in immune and hematological cells is emphasized by various diseases in humans in which this process is impaired. Many diseases have been associated with abnormalities in the cytoskeleton and proteins. Periodontitis is thought to be one such cytoskeletal disease. *ARPC1A* is a member of the actin-related protein ARP2/3 complex family. The *ARPC1A* gene encodes the p41 subunit of the human Arp2/3 complex, which is involved in the control of actin polymerization in cells. There are many literature studies showing that *ARPC1A* plays a role in cell migration. In this study, the relationship of *ARPC1A* gene actin cytoskeleton regulator in periodontitis, an inflammatory disease, was investigated. Adherent gingival tissue samples with periodontitis were obtained from 20 patients who were diagnosed with periodontitis, who applied for tooth extraction due to advanced tooth support tissue loss due to periodontitis, after the teeth with an indication for tooth extraction were extracted, from the areas that needed soft tissue correction. For the control group tissue samples, healthy gingival samples were taken from the same patient in the presence of indication for resective gingival surgery. RT-PCR analysis was performed for the expression of *ARPC1A* gene at the mRNA level in periodontitis tissue. According to the data obtained at the end of the study, when the expression level of *ARPC1A* gene in periodontitis tissue was compared with normal tissue, it was determined that there was an increase in periodontitis tissue, but this increase ($p=0.433$, value $p>0.05$) was not statistically significant.

Keywords: Arp2/3, *ARPC1A*, Cell Migration, Cell Skeleton, Periodontitis

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İTHAF.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Periodonsiyum	4
2.1.1. Alveolar Kemik	5
2.1.2. Periodontal Ligament (PDL).....	5
2.1.3. Sementum.....	5
2.1.4. Diş Eti (Gingiva).....	5
2.2. Periodontitis.....	6
2.2.1. Periodontitis Sınıflandırması	7
2.2.2. Periodontitisin Epidemiyolojisi	8
2.2.3. Periodontitis Histopatolojisi	9
2.2.4. Periodontitis Etiyopatogenezi.....	9
2.2.4.1. Nötrofillerin (PMN) Periodontitisteki Rolü.....	12
2.2.4.2. Sitokinlerin Periodontitisteki Rolü	12
2.2.4.3. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ve doku inhibitörleri metalloproteinazlar (TIMP)	13
2.2.4.4. Bağ Dokusu ve Kemik Metabolizması	14
2.2.4.5. Periodontitiste doku yıkımı ve Enflamasyonu	15
2.2.4.6. Hücre Dışı Matris (ECM) Proteinleri.....	17
2.2.4.7. Oksidatif Stres	17
2.2.4.8. Beslenme	18

2.2.4.9. Diyabet	18
2.2.4.10. Psikolojik Faktörler	19
2.2.4.11. Virülans Faktörler	19
2.2.4.12. Sigara ve Alkol.....	20
2.2.4.13. Kalıtsal Faktörler	21
2.2.4.13.1. Periodontitis Genetiği	21
2.2.4.13.2. Periodontitisin Genetik Temeli	21
2.5. Periodontitisin Diğer Hastalıklarla İlişkisi	22
2.6. Hücre İskeleti.....	23
2.6.1. Aktin Hücre İskeleti	23
2.6.2. Hücre Göçü ve Mikrofilamentlerin Oluşumu	25
2.6.3. Hücre Göçü ve Yapışmasında Aktin Hücre İskeletinin Redoks Düzenlemesi	26
2.6.4. Arp2/3 Kompleksi Çeşitliliği.....	27
2.6.4.1. ARPCIA Geni.....	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Çalışma Grubu	33
3.2. Dokuların Saklanması	34
3.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	34
3.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	34
3.5. YÖNTEM.....	36
3.5.1. Dokudan mRNA İzolasyonu	36
3.5.2. cDNA Sentezi	37
3.5.3. cDNA Konsantrasyon Ölçümü.....	38
3.5.4. qRTPCRAşamı.....	38
4. BULGULAR.....	41
4.1. ARPCIA mRNA İfade Analiz Sonuçları	42
4.2. İstatistiksel Analiz	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
KAYNAKLAR	60

TABLULAR LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Revers Transkriptaz Reaksiyon Hacmi	37
Tablo 3.2. cDNA Sentezi İçin Uygulanan PZR Programı	37
Tablo 3.3. PZR Reaksiyonu Bileşenleri.....	39
Tablo 3.4. <i>Beta-Actin</i> ve <i>ARPC1A</i> Genlerinin Primer Dizileri.....	40
Tablo 4.1. $2^{-\Delta\Delta CT}$ Metodu	45
Tablo 4.2. Periodontitis ve Kontrol Dokularına Ait <i>ARPC1A</i> ve β - <i>Aktin</i> Ct Değerleri .	45
Tablo 4.3. Nitel Değişkenler Dağılımı.....	46
Tablo 4.4. Nicel Değişkenler Dağılımı	46
Tablo 4.5. Gruplara Göre Nitel Değişkenler Dağılımı.	47
Tablo 4.6. Nitel Değişkenlerin Cinsiyete Göre Dağılımı	47
Tablo 4.7. Yaşın Nitel Değişkenlere Göre Dağılımı	48
Tablo 4.8. $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değerlerinin Nitel Değişkenlerin Gruba Göre Dağılımı.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Periodonsiyum	4
Şekil 2.2. Periodontitis Oluşumu	7
Şekil 2.3. Mikrobiyal Kompleksler	11
Şekil 2.4. Periodontitis Patogenezinde Konakçı-Mikrop Etkileşimleri	11
Şekil 2.5. Periodontitiste İnflamasyon Önleyici ve Pro-İnflamasyon Mekanizmaları ...	15
Şekil 2.6. Periodontitiste Doku Yıkımı ve Enflamasyonu	16
Şekil 2.7. Subgingival Mikrobiyom ile İnflamatuar ve İmmün Yanıt Arasındaki İlişki	16
Şekil 2.8. Diyabet Hastalığı ile Periodontitis İlişkisi	19
Şekil 2.9. Periodontitis ve Kanser Risk Faktörleri	21
Şekil 2.10. Mikrofilamentlerin Oluşumu	26
Şekil 2.11. Hücre Aktivasyonu ve Göçü ile İlgili Proteinlerin Redoks Düzenlemesi ...	26
Şekil 2.12. <i>Arp2/3</i> Komplekslerinin Çeşitliliği	29
Şekil 2.13. <i>ARPC1A</i> Geninin Kromozom Üzerindeki Lokasyonu	29
Şekil 2.14. <i>ARPC1A</i> Geninin Farklı Dokulardaki Ekspresyonu	32
Şekil 3.1. Gerçek Zamanlı RT-PCR Cihazı ve Plate İçindeki Numuneler	40
Şekil 4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Cinsiyet Dağılımı	41
Şekil 4.2. β -Aktin Amplifikasyon Eğrisi	42
Şekil 4.3. <i>ARPC1A</i> 'nın Amplifikasyon Eğrisi	43
Şekil 4.4. β -Aktin'in Erime Eğrisi	43
Şekil 4.5. <i>ARPC1A</i> 'ın Erime Eğrisi	44
Şekil 4.6. <i>ARPC1A</i> Gen Ekspresyonu	44
Şekil 4.7. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Ortalama $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Değerleri	49
Şekil 4.8. <i>ARPC1A</i> 'nın $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Değeri ile Kontrol Doku Grubu Gen Ekspresyonu	49

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ABP: Aktin Bağlayıcı Proteinler

AGE: İleri Glikasyon Son Ürünleri

Akt: Protein Kinaz B

AP1: Aktivatör Protein 1

ARP2/3: Aktin İlişkili Protein 2/3 Kompleksi

ARPC1A: Aktin İle İlgili Protein 2/3 Kompleks Alt Birim 1A

BETA-ACTN: Aktin

CAL: Klinik Ataşman Kaybı

Cdc42: Hücre Bölünmesi Kontrolü 42

cDNA: Tamamlayıcı DNA

DC: Diş Sementi

DNA: Deoksiribonükleik Asit

ECM: Hücre Dışı Matriks

FH2: Formin Homolog Domain 2

GAP: Generalize Agresif Priodontitis

GCF: Dişeti Sıvısı

GPCR: G Proteini Kenetli Reseptörler

GTP: Guanozin-5'-Trifosfat

GTPaz: Guanozin trifosfataz

H2O2: Hidrojen Peroksit

IL: İnterlökin

Kb: Kilobaz

kDa:+ Kilo Dalton

LAP: Lokalize Agresif Priodontitis

LPL: L-plastin

LPS: Lipopolisakkarit

M1: Pro-Enflamatuar

MAPK: Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz

MMP: Matriks Metalloproteinazlar

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

Mφs: Magrofaj

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NF-KB: Nükleer Faktör-KappaB

N-WASP: Nöronal Wiskott-Aldrich Sendromu proteini

OSM: Oncostatin M

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PD: Cep Derinliği

PDL: Periodontal Ligament

PI3K: Fosfoinositid 3-Kinaz

PMN: Polimorfonükleer Nötrofil

PTM: Translasyon Sonrası Modifikasyonlar

qRT-PCR: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Rac: Ras İlişkili C3 Botulinum Toksin Substratı

RANK: Nükleer Faktör Kappaβ

RANKL: Nükleer Faktör Kappaβ Ligand

RBL: Radyografik Kemik Kaybı Miktarı

Rho: Ras Homolog Gen Ailesi

RNA: Ribonükleik Asit

ROCK: Rho-kinaz

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RT-PCR: Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu

SPM: Pro-Çözücü Mediatorler

TIMP: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör-Alfa

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontitis, diş destekli dokuların işlevsel ve yapısal bütünlüğünü bozan ağız sağlığı ile genel yaşam kalitesi üzerinde önemli etkisi olan kronik inflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Tang ve ark., 2017). Periodontitis terimi iki kelimeden oluşur, dişleri çevreleyen yapı anlamına gelen “periodont” ve iltihap anlamına gelen “itis” (Petersen ve Baehni, 2012).

Periodontitis, tedavi edilmemiş diş eti iltihabı, yani diş plağının ürettiği toksinlerin neden olduğu tahriş diş etlerinde başlayan iltihaplanmadan dolayı periodonsiyum olarak bilinen diş destekleyen yapılarda oluşmaktadır (Jamil ve ark., 2021). Periodontitis, başlangıçta dişeti dokusundan kaynaklanan bir hastalıktır ve tedavi edilmezse, iltihaplanma daha derin dokulara nüfuz ederek kemik homeostazını değiştirerek diş kaybına yol açmaktadır (Petersen ve Baehni, 2012).

Periodontitis, dünya nüfusunun %11,2'sini etkileyen, genel olarak %45-50 gibi yüksek bir prevalansa sahip kronik bulaşıcı olmayan bir hastalıktır (Kassebaum ve ark.,2014). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre dünya nüfusunun %35-50'si periodontitisten etkilenmektedir (Petersen ve Ogawa, 2012).

Periodontitis tedavisi, diş kaybı riskini azaltmak için hastalığın daha da gelişmesini önlemeyi, hastalık semptomlarını ve algısını en aza indirmeyi, kaybedilen periodontal dokuyu geri kazandırmayı, sağlıklı periodontal dokunun korunması hakkında bilgi vermeyi amaçlar (Graziani ve ark., 2017).

Periodontitise neden olan faktörler uzun yıllardır bilinmesine ve bu konuda önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen hastalığın oluşumu engellenememiştir. Bu engellerden biri konak duyarlılığıdır (Socransky ve Haffajee, 1994). Konak yanıtı hastalığın ilerlemesini belirlerken plak, diş taşı gibi lokal faktörler, genetik, çevresel faktörler hastanın sistemik sağlığı, yaşam tarzı alışkanlıkları ve çeşitli sosyal belirleyiciler gibi faktörler de rol oynar (Bartold ve Van Dyke, 2013).

Etnik kökene göre değişen ve çevresel faktörlerden etkilenebilen birçok genetik lokus, periodontitisin başlangıç sürecinde yer almaktadır. Birbirleriyle ve konakçı ile mikrobiyal etkileşimler, periodontal hastalığın ortaya çıkmasında, gelişmesinde önemli bir rol oynar (Becerra-Ruiz ve ark., 2021).

Karmaşık bir polimikrobiyal inflamatuvar hastalık olan periodontitis, 100 milyondan fazla insanı etkileyen ve diş kaybından kısmen sorumlu olan bir halk sağlığı yüküdür. İlginç bir şekilde, periodontitis, hastalık patogenezinde olası bir cinsiyet karışıklığına işaret eden, kadınlara kıyasla erkeklerde belgelenmiş daha yüksek bir prevalansa sahiptir (Ioannidou, 2017).

Periodontal patojenlerin zararlı etkileri sadece periodontal hastalıkla sınırlı olmayıp, olumsuz etkileri hastanın genel sağlığına yayar. (Kim ve Amar, 2006). Literatürdeki çalışmalar, kötü ağız ve periodontal sağlığın sistemik hastalıklar için potansiyel bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Bu, ağız sağlığı ile genel sağlık arasındaki iki yönlü ilişkiyi açıkça göstermektedir (Dave ve Van Dyke, 2008; Papapanou, 2015).

Otoimmün hastalıkların toplumda görülme sıklığı %3-5 olmakla beraber, morbidite ve mortalite üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir (Eaton ve ark., 2007; Jacobson ve ark., 1997). Romatoid artrit, psoriatik artrit, ankilozan spondilit, sedef hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi otoimmün inflamatuvar hastalıkların tedavisinde, biyolojik tedavilerin kullanılması bir devrim yaratmıştır (Baker ve Isaacs, 2018; Katsanos ve ark., 2019).

Hücrelerin normal ve hastalıklı koşulları, mekanik ortamlarına bağlı olarak düzenlenir. Hücrelerin deformasyon özellikleri, biyolojik, yapısal işlevleri hakkında önemli bilgiler sağlar. Bir hücrenin içi, hem yapısal destek olarak hizmet eden, hücrenin belirli bir şekli ve polariteyi korumasını sağlayan hem de dış çevre ile mekanik etkileşimleri dönüştürmek için çok önemli bir mekanizma olarak hizmet eden karmaşık şekilde organize edilmiş hücre iskeleti ağları içerir. Hücrelerdeki biyokimyasal yollar her zaman bilimsel ilgi çekmiş olsada, son yıllarda ökaryotik hücrelerin mekanik özelliklerine, hücrelerin mekanik kuvvetleri nasıl algıladığına ve hücrelerin bunlara nasıl tepki verdiğine ışık tutulmuştur (Binderman ve ark., 2014).

Ökaryotik hücrelerin aktin hücre iskeleti, aktin bağlayıcı proteinlerin (ABP'ler) uyumlu eylemi tarafından düzenlenen dinamik, lifli bir ağdır. Özellikle iç, dış uyaranlara yanıt olarak hücrelerin hızlı polarizasyonu, hücre göçü ve istilası için esastır. ABP'lerin farklı dokulardaki çeşitli izoformları, hücreleri değişken derecelerde göç ve yapışkan kapasitelerle donatır. ABP'lerin translayon sonrası modifikasyonlar (PTM) tarafından düzenlenmesi, hücrelerin hızlı tepki vermesi için çok önemlidir (Balta ve ark., 2021).

Tüm ökaryotik hücrelerin, hayatta kalmak, şekil değiştirmek, hareket etmek ve besinleri almak için aktin hücre iskeletini yeniden düzenlemesi gerekir. *ARPC1A* aktin ile ilgili protein ARP2/3 kompleks alt birimi 1A geni, insan Arp2/3 protein kompleksinin yedi alt biriminden birini kodlar. Bu alt birim, SOP2 protein ailesinin bir üyesidir. *ARPC1A* proteini, hücrelerde aktin polimerizasyonunun kontrolünde yer alan insan Arp2/3 kompleksinin p41 alt birimi olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (Abella ve ark., 2016). P41 alt biriminin Arp2/3 kompleksinin yapısına ve korunmasına dahil olması mümkündür. P41 alt biriminin çoklu versiyonları, kompleksin işlevlerini farklı hücre tiplerine veya gelişim aşamalarına uyarlayabildiğini göstermiştir. Bu gen için farklı izoformları kodlayan alternatif olarak eklenmiş transkript varyantları bulunmuştur. 7q21-q22 amplikonunun karakterizasyonu, Arp2/3 kompleksinin bir alt birimi olan *ARPC1A*'yı, pankreas kanserinde hücre göçü ve istilasının bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Laurila ve ark., 2009).

Son çalışmalar, Arp2/3 kompleksinin bağışıklık hücresi sinapslarının oluşumu için kritik olduğunu ve Arp2/3 karmaşık bileşen kaybının inflamatuvar hastalığa yatkınlığa neden olduğunu göstermiştir (Ma ve ark., 2019).

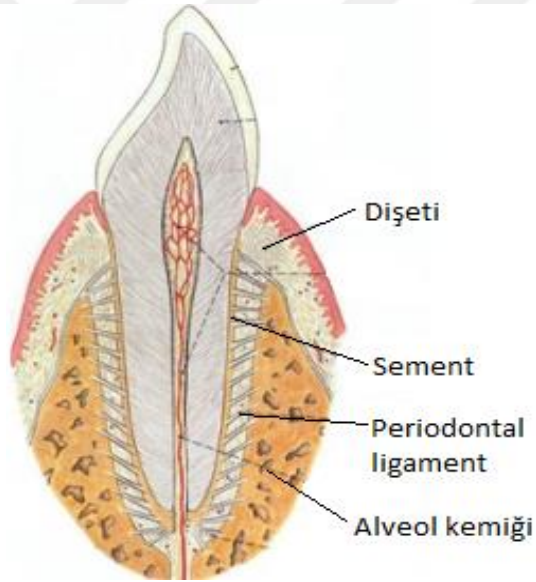
Bu çalışmada amacımız, *ARPC1A* aktin hücre iskeleti düzenleyicisinin, periodontitis gibi inflamatuvar otoimmün hastalıklarda inflamatuvar tepkiler üzerindeki etkisini anlayarak, diğer otoimmün /inflamatuvar hastalıkların teşhis ve tedavisi için yeni terapötiklerin geliştirilmesine fayda sağlayabilmektir. Çalışmamızda periodontitis tanısı almış hasta ve kontrol gruplarında *ARPC1A* geninin ekspresyonu yapıldı ve kontrol grupları arasındaki farklılıklar değerlendirilip hastalıkla ilişkilendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum, diş yapısını çevreleyen tüm kolajen aparatıdır. Uygun estetik ve fonksiyon için dişin alttaki alveolar kemiğe sabitlenmesi ve yerinde sürdürülmesi gerekir. Dört ana bileşenden oluşur;

1. Alveolar Kemik
2. Periodontal Ligament (PDL)
3. Dental Sement
4. Diş Eti (Gingiva) (Palumbo, 2011).



Şekil 2.1. Periodonsiyum (Palumbo, 2011)

2.1.1. Alveolar Kemik

Maksillofasial iskeletin önemli bir parçası olan alveolar kemik, dişleri destekleyen, mekanik darbelere maruz kalan ve sürekli kemik rejenerasyonuna uğrayan bağ dokusudur (Huang ve ark., 2020).

2.1.2. Periodontal Ligament (PDL)

Periodontal ligament (PDL), alveolar kemiğe ve semente yakından bağlıdır. Bu da diş kemik soketine bağlar. Heterojen hücre popülasyonlarından (fibroblastlar, sementoblastlar, osteoklastlar, osteoblastlar, osteositler, endotelyal hücreler) ve hücre olmayan bileşenlerden (çoğunlukla kollajen liflerinden ve kollajen olmayan hücre dışı matris [ECM] proteinlerinden ve polisakkaritlerden oluşan) fibröz bir dokudur. Hepsinin sinir lifleri ve kan damarları ile iç içedir. Çiğneme sırasında oluşan mekanik uyarılara yastık görevi görür ve ağız boşluğundaki mikroorganizmalara karşı koruyucu bir bariyer sağlar (Meikle, 2006; Krishnan ve Davidovitch, 2006).

2.1.3. Sementum

Diş sementi (DC), dişleri çevreleyen alveolar kemiğe sabitlemek için gerekli olan oldukça özel bir bağ dokusudur (Foster ve ark., 2013). Sement, periodontal ligament (PDL) kemik kompleksi diş alveolar sokette esneklik verir. Oklüzyondan gelen kuvvetleri dağıtır ve yeniden şekillenme ve onarım yeteneği sağlar (Foster ve ark., 2018).

2.1.4. Diş Eti (Gingiva)

Diş eti (Gingiva), onu çevreleyen ve koruyan pembe keratinize bir mukozadır. Diş eti, diş eti dokusunun bir parçasıdır. Dişlerin yatırım ve destek yapılarını içerir (Clark ve Clark, 2018). Diş eti bağ dokusunda fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar ve inflamatuvar hücreler dahil olmak üzere farklı hücre türleri bulunur (Chavrier, 1990).

2.2. Periodontitis

Periodontitis, bakteriyel biyofilmlerin neden olduğu çok yaygın bir hastalıktır. Dişleri çevreleyen ve destekleyen yumuşak (diş eti ve periodontal bağ), sert (yani alveolar kemik sement) dokulardan oluşan periodonsiyumun geri dönüşümsüz yıkımıyla sonuçlanan kronik bir enflamasyon olarak tanımlanır (Carter ve ark., 2017).

Periodontitisin başlama ve ilerleme nedenleri yüzlerce yıldır araştırılmaktadır. Periodontitis olarak adlandırılan hastalıkla ilgili ilk kayıtlar, Arap hekimlerin hastalığı dişlerdeki yumuşak plaklara attedikleri MS dokuzuncu ve onuncu yüzyıllara kadar uzanmaktadır. Dental plağın önemli etiyolojik faktörlerden biri olduğu varsayımı 1960'larda doğrulanmıştır (Bartova ve ark., 2014).

Etken ajanlar periodontal bakteriler olsada, sonraki hastalık ilerlemesi ve şiddeti, birçok hücre tipinin, özellikle nötrofilik polimorfonükleer lökositlerin (nötrofiller), makrofajların, lenfositlerin ve fibroblastların dahil olduğu konakçı immün yanıtı tarafından belirlenir (Genco ark.,1974; Page, 1991). İmmün yanıtındaki fonksiyonel kusurlar veya farklı hücre alt kümelerinin yetersiz sayıda olması, konağın periodontitis duyarlılığı üzerinde derin etkilere sahiptir (Hart ve ark., 1994).

Periodontitis çok faktörlü bir hastalıktır bu nedenle önemli unsurlar sadece patojenik bakterilerin varlığı ve bağışıklık mekanizması değil, aynı zamanda hastanın genetik yatkınlığıdır (Bartova ve ark., 2014).

Periodontitis, yaşamın ilerleyen dönemlerinde kronik yavaş ilerleyen bir biçimde veya daha nadiren, yaşamın erken dönemlerinde hızlı doku bozulmasıyla birlikte agresif bir biçimde ortaya çıkabilir. Periodontitisin bu farklı biçimlerinin arkasındaki nedensel ve patojenik farklılıklar belirsizliğini koruyor, ancak ortak bir payda, diş yüzeylerinin bakteri kolonizasyonu tarafından başlatılan enflamatuar süreçlerin neden olduğuna inanılan periodontal dokuların yok edilmesidir (Enevold ve ark., 2019).



Şekil 2.2. Periodontitis Oluşumu (Joshi ve ark., 2016)

2.2.1. Periodontitis Sınıflandırması

20. yüzyılda diş hekimleri periodontal hastalıkları büyük ölçüde başlangıç yaşı, ilerleme hızı ve patolojiye göre sınıflandırmıştır. Buna göre periodontitisin ana kavramları “yetişkin”, “erken başlangıçlı” ve “dirençli” olduğu görülmüştür; ancak bu isimler, bu gibi durumlarda bakteriyolojik yaklaşımlar kullanılarak tanımlanan spesifik bakteri türlerine karşılık gelmemiş bu nedenle, 1999'da Amerikan Periodontoloji Akademisi bu üçlü sınıflandırmayı 2 geniş grupta yeniden düzenlemiştir (Armitage, 1999). İlk grup “agresif periodontitis” olarak kabul edilirken, ikincisi hematolojik veya genetik bozukluklarla ilişkili periodontitis altında gruplandırılmıştır; Ancak araştırmacılar, bu sınıflardan herhangi birine özgü spesifik bakteri veya patolojileri tanımlayamamıştır (Yamamoto ve Aizawa, 2021). Periodontitis, kronik, agresif (lokalize ve genelleştirilmiş), nekrotizan ve sistemik hastalığın bir belirtisi olarak sınıflandırılmıştır. 1999 çalıştayından sonra nüfus çalışmaları, temel bilim araştırmaları, çevresel ve sistemik risk faktörlerini değerlendiren ileriye dönük çalışmalar değerlendirilerek elde edilen kanıtlardan önemli yeni bilgiler ortaya çıkmıştır (Papapanou ve ark., 2018).

2017 çalıştayında periodontitis teşhisi için yeni bir sınıflandırma çerçevesi geliştirilmiştir (Caton ve ark., 2018). Çalıştay katılımcıları sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis, nekrotizan periodontitis ve periodontitis dahil olmak üzere üç farklı periodontitis formu tanımlamıştır (Albandar ve ark., 2018). Daha önce “kronik” veya “agresif” olarak tanımlanan hastalık formları, şimdi hastalık patofizyolojisi ve patogenezi hakkındaki güncel bilgilerle uyumlu olarak tek bir “periodontitis” başlığı altında gruplandırılmıştır. Bu sınıflandırmaları revize ederken, çalıştaydaki katılımcılar, yeni kanıtlar ortaya çıktıkça zamanla uyarlanabilen çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirme sistemine dayanan periodontitis için bir sınıflandırma çerçevesi üzerinde anlaşmıştır (Tonetti ve ark., 2018)

2018 sınıflandırması, evreleme, periodontitisin ciddiyetini, yaygınlığını kategorize etmek için tasarlandı. Bu sınıflandırma klinik ataşman kaybı (CAL) seviyelerine ve dişlerin etrafındaki radyografik kemik kaybının (RBL) yüzdesine göre belirlenir. Derecelendirme, hastalığın ilerleme oranını göstermemeyi amaçlamaktadır. Mevcut sınıflandırma, klinisyenlerin başlangıçta B derecesini vermelerini ve A veya C derecesine geçmek için spesifik kanıtlar aramasını önermektedir (Papapanou ve ark.,2018).

2.2.2. Periodontitisin Epidemiyolojisi

Preshaw, epidemiyolojik çalışmalarda periodontitis tanımında bir tekdüzelik olmadığını belirtmiş ve periodontitis vakasına odaklanan araştırmalarda kriterler oluşturulması gerektiğini önermiştir (Preshaw, 2008). Periodontal hastalıkta, cep derinliği (PD) ve diş eti seviyesi gibi çoklu hastalık belirtileri gözlenmektedir. Periodontal doku yıkımındaki eşik varyasyonu ile ilgili değerler nedeniyle başka komplikasyonlar da gözlenmektedir. Periodontal hastalık vaka tanımlama kriterleri, Center for Disease Control (CDC) ve American Academy of Periodontology tarafından 2003 yılında önerilmiştir (Page ve Eke, 2007). Daha sonra, 2005'teki Beşinci Avrupa Periodontoloji Çalıştayı, periodontitis teşhisini önermiştir (Tonetti ve Claffey, 2005). Bununla birlikte, önerilen kriterler, ülkeler veya yaş grupları arasında periodontitisin epidemiyolojik analizine değil, periodontitisin risk faktörlerini belirlemeye odaklanmıştır (Leroy ve ark., 2010).

Susin ve arkadaşları tarafından yürütülen bir epidemiyolojik araştırmaya göre, LAP prevalansı etnik köken ve coğrafi konumdaki farklılığa bağlıdır. Amerikalılarda %2,6, Afrikalılarda %1-%5, Asyalılarda %0,2, Kuzey Amerikalılarda %0,5 -%1, Güney Amerikalılarda ise %0,3-%2 olduğu tahmin edilmektedir. Genel bir bakış açısıyla, GAP'ın prevalansı %0,13'tür ve LAP'nin prevalansı %1'den azdır (Susin ve ark.,2014). Gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere kıyasla kronik periodontitis prevalansı artmıştır (Ababneh ve ark., 2012). Öncelikle gelişmiş ülkelerde yürütülen epidemiyolojik çalışmalar periodontitis prevalansının değerlendirilmesinde Topluluk Periodontal Tedavi indeksini veya varyasyonlarını kullanmaktan uzaklaşmıştır (Ainamo, 1982). Epidemiyolojik çalışmalarda son 30 yılda yaygın olarak kullanılmasına ve Dünya Sağlık Örgütü'nden elde edilen verilerin büyük bir kısmını oluşturmasına rağmen, önemli eksiklikleri vardır (Baelum ve Papapanou.,1996).

2.2.3. Periodontitis Histopatolojisi

Diş eti iltihabı, vücudun ağız boşluğunda bulunan lokal faktörlere verdiği tepkinin ilk aşamasıdır; bu, herhangi bir kemik veya periodontal destek kaybı olmaksızın geri döndürülebilir bir süreçtir (Theilade ve ark., 1966). Histopatolojik olarak lamina propria içindeki kollajen lifler tahrip olur ve sulkular epitelde ülserasyonlara yol açmıştır. Page ve ark.'na göre diş eti iltihabının üç histopatolojik aşaması vardır, yani başlangıç lezyonu, erken lezyon ve yerleşik lezyon. Bu lezyonlar, bu aşamalar arasındaki geçişi sınırlayan farklı hücreler tarafından işaretlenir. Diş etinde daha ileri iltihabi değişiklikler, yerleşik aşamadan ileri aşamaya geçişle periodontal hastalığın oluşmasına yol açar (Page ve Schroeder, 1976).

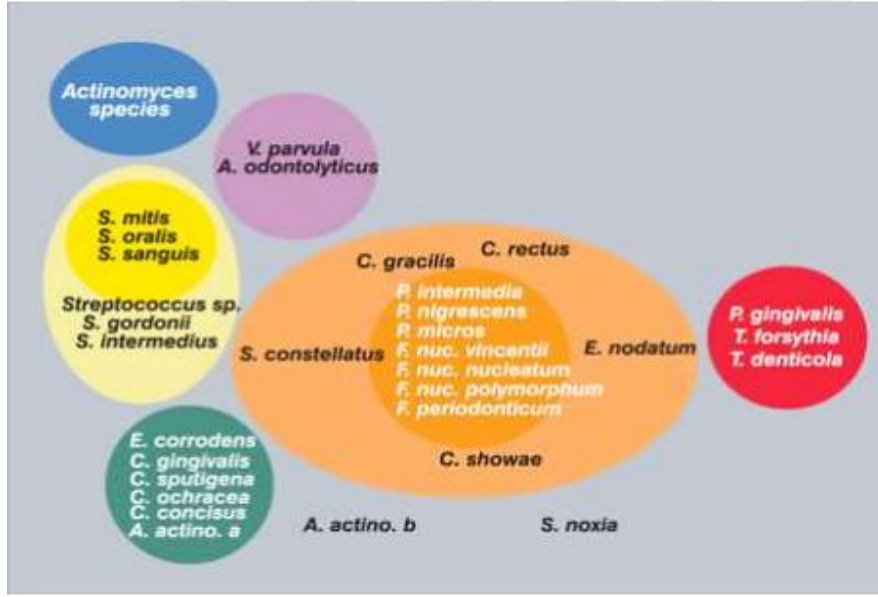
2.2.4. Periodontitis Etiyopatogenezi

Periodontal hastalığa neden olan birincil etken, ağız dokusunda karışık bakteri kolonizasyonudur (Lamont ve Hajishengallis, 2015). Gelişimsel oluklar, diş taşı, diş plağı, sarkan restorasyonlar, kısa gövde gibi anatomik özellikler, servikal mine çıkıntıları, sistemik faktörler gibi periodontal hastalıkların yayılmasını ve gelişimini hızlandıran ikincil etiyolojik faktörler olarak hareket eden başka faktörler de vardır bunlar genetik faktörler, sigara ve strestir (Shi ve ark., 2015; Bergström, 2004). Loe ve ark.,

"İnsanda Deneysel Gingivitis" konulu öncü çalışmalarıyla dişeti ve periodontal hastalığın oluşumunda dental plağın rolünü araştırmıştır. Çalışmada ağız hijyeni önlemlerinin kesilmesini takip eden 7-21 gün içinde diş eti iltihabının gelişmesine neden olduğu görülmüştür. Diş eti iltihabının bu gelişimi, ağız hijyeni önlemlerinin yeniden alınmasından sonraki 7-10 gün içinde geri döndürülebilir bir süreç olduğu düşünülmüştür (Löe ve ark., 1965). Theilade ve ark. 1966, periodontal sağlıkla ilişkili gram pozitif bakteri popülasyonunun periodontal hastalıkla ilişkili baskın gram negatif bakteri popülasyonuna kaymasının arkasındaki bakteriyolojik desteği göstermiştir (Theilade ve ark.,1966).

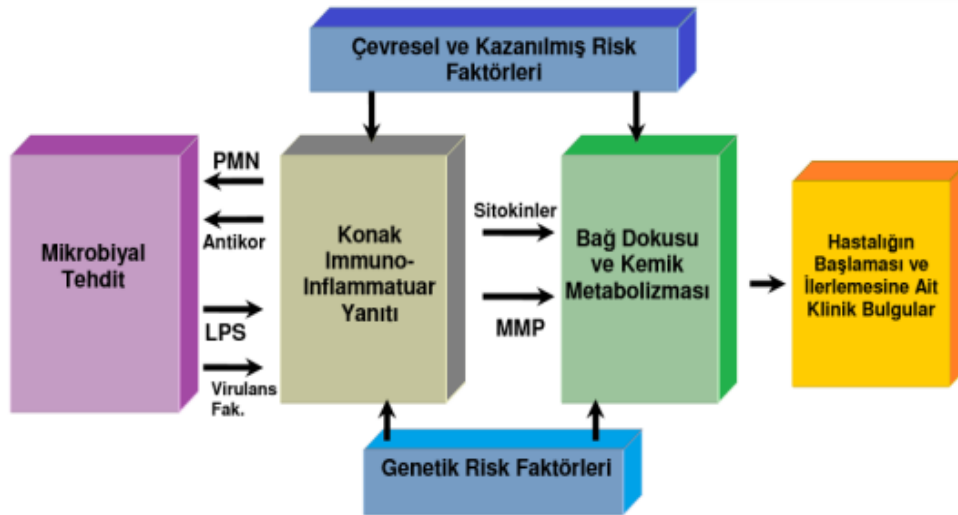
Periodontal hastalığın patofizyolojisini anlamak için kompleks plaklara ve hastalıklara karşı immün yanıtı bilmek önemlidir. Dental plaklar, koruyucu bir matrisle çevrili bakteri kolonileri oluşturan karmaşık biyofilmlerdir. Bu matris, plaktaki mikropları koruyan bir ortam sağlayan hücre dışı polisakaritler ve glikoproteinlerden oluşur (Hillman ve ark.,1985). Biyofilmler mikropları konak savunma sisteminden ve antibiyotikler gibi antimikrobiyal ajanlardan korur (Fang Leong ve ark., 2014).

Biyofilmdeki bakteriler birbirileriyle interaktif olarak iletişim şeklinde küme oluştururlar. Koaggregasyon, metabolik etkileşim ve hücre-hücre sinyalleşmesi gibi birbirileriyle olan etkileşim şekilleri periodontitis hastalık yapma potansiyelinde önemli rol oynar. Periodontal hastalıkta bulunan bakteriyel kompleksler, subgingival plak örnekleriyle yapılan çalışmalar sonucunda farklı 6 bakteri birlikteliği tanımlanmıştır (Socransky ve ark., 1998).



Şekil 2.3. Mikrobiyal Kompleksler (Socransky ve ark.,1998)

Page ve Kornman tarafından 1997'de geliştirilen klasik periodontal hastalık patogenezi modeli hem plak biyofilmi içinde hem de biyofilm ile konakçı yanıtı arasında karmaşık birbirine bağlı ilişkileri çözmeyi amaçlayan çalışmaları desteklemek için anahtar bir çerçeve sağlamışlardır (Page ve Kornman, 1997).



Şekil 2.4. Periodontitis Patogenezinde Konakçı-Mikrop Etkileşimleri (Page ve Kornman, 1997)

2.2.4.1. Nötrofillerin (PMN) Periodontitisteki Rolü

Nötrofiller, bakteriyel enfeksiyona karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde çok önemli bir rol oynadıkları bilinen, homeostazın korunmasında sorumlu oldukları dişeti yarığı ve periodontal cepte en bol bulunan beyaz kan hücreleridir. Nötrofiller en etkili fagositlerdir ve çeşitli yollarla patojenleri ortadan kaldırırlar (Sochalska ve Potempa.,2017).

Nötrofiller bir dizi olay yoluyla tutunur. Patojen girişi ve doku bütünlüğü kaybı için sinyaller hazırlayan endotel hücreleri tarafından üretilen kemokinler gibi potansiyel hedefleri aramak için kan damarlarında dolaşırlar (Nicu ve Loos, 2016).

Oral mikrobiyota dengesindeki bir değişikliğin, disbiyozun periodontitis için ilk tetikleyici olduğu düşünülmektedir. Bakteriyel biyofilm birikimi, esas olarak nötrofillerden oluşan inflamatuvar infiltratta oral dokularda bir artışa yol açar. Geç nötrofillerin periodontal inflamasyonda koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir. Bakterilerin daha derin dokulara girmesini önleyen bir abluka oluştururlar. Nötrofiller ayrıca, konakçı hücrelerin iltihaplanmaya karşı koruyucu bir rol oynamasına izin vererek ve böylece periodontal yara iyileşmesine yardımcı olarak antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu nedenle nötrofil eksikliği de ciddi periodontitise yol açabilir. Nötrofillerin fazlalığının veya yokluğunun periodontal doku hasarına yol açtığı belirtilmektedir (Perumalsamy ve ark., 2020).

2.2.4.2. Sitokinlerin Periodontitisteki Rolü

Sitokinler, hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak hücre içi sinyal kaskadlarını başlatan ve değiştirilmiş gen regülasyonu yoluyla hücrede fenotipik değişikliklere neden olan çözümlü proteinlerdir (Preshaw ve Taylor, 2011). Periodontitisin ilerlemesinde sitokinlerin rolü son derece önemlidir. Sitokinler, bariyer bölgelerinde patojenlere ve uyarılara karşı hareket ederler. Doku hücrelerini lenfositler ve aksesuar hücre popülasyonları ile bağlayan hem homeostazın hem de inflamatuvar süreçlerin anahtar modülatörleridir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışma, sitokinlerdeki ve ilişkili reseptör kodlayan genlerdeki tek nükleoid polimorfizmlerinin periodontitis riski ve şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu, sitokinlerin düzensizliği periodontitisi başlattığını veya hızlandırdığını göstermiştir (Pan ve ark.,2019).

Periodontal patogenezde en önemli proinflamatuvar sitokinler (IL-1 ve TNF- α) dir. Bu sitokinler, inflamatuvar yanıtın başlatılmasında ve amplifikasyonunda önemli bir rol oynar ve hücre dışı matrisi ve periodontal dokuları oluşturan kemik bileşenlerini modüle eder (Fassmann ve ark., 2003). Bu sitokinlerin ikisinde endotel hücrelerinde adezyon molekülü ekspresyonu ve dolayısıyla polimorfonükleer hücrelerin göçünde rol oynadığı bilinmektedir (Gemmell ve ark., 1997).

2.2.4.3. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ve doku inhibitörleri metalloproteinazlar (TIMP)

Matriks metalloproteinazlar, kollajenler, elastinler, jelatin, matris glikoprotein ve proteoglikanlar dahil olmak üzere ECM'nin doku yeniden şekillenmesinden, bozulmasından sorumlu, iyi karakterize edilmiş yapısal ve katalitik özelliklere sahip, kalsiyuma bağımlı çinko içeren endopeptidazların geniş bir ailesidir (Sapna ve ark., 2014). Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve matriks metalloproteinazların (TIMP'ler) doku inhibitörleri, enfeksiyona karşı periapikal immün yanıtın önemli araçları olarak kabul edilir (Wan ve ark., 2021)

MMP'ler hem fizyolojik (kemiğin yeniden şekillenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, apoptoz) hem de patolojik (kardiyovasküler hastalık, artrit, kanser, periodontal hastalık) süreçlere katılır. MMP aktivitesinin regülasyonu, MMP genleri, ön-madde aktivasyonu, alt-tabaka spesifikliğı bakımından farklılıklarına ek olarak MMP inhibitörlerinin transkripsiyonel düzenlemesi yoluyla da meydana gelir (Nagase ve Woessner.,1999). MMP'lerin, neredeyse tüm hücre dışı proteinleri parçalayarak hastalıklarda doku yıkımını teşvik edebildiğı göstermiştir. MMP'lerin proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, serpinler, serum bileşenleri, kompleman bileşenleri ve hücre sinyal molekülleri gibi çeşitli matriks olmayan biyoaktif substratları işleyebildiğı, böylece bağışıklık tepkilerini değıştirebildiğı gösterilmiştir. Bu nedenle, MMP eylemlerinin sonucu sadece doku tahribatını temsil etmekle kalmaz, aynı zamanda anti-inflamatuvar veya koruyucu olabildiğı göstermiştir (Virtanen ve ark., 2017).

MMP'lerin ekspresyonu ve aktivitesi, periodontal hastalıkta bakteriyel virülans faktörleri, sitokinlerden etkilenir (Pozo ve ark., 2005). Periodontal hastalıkta enzimatik

aktivite lehine MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengesizlik, hücre dışı matrisin, alveolar kemiğin bozulmasına yol açar (Kubota ve ark., 2008; Tüter ve ark., 2002).

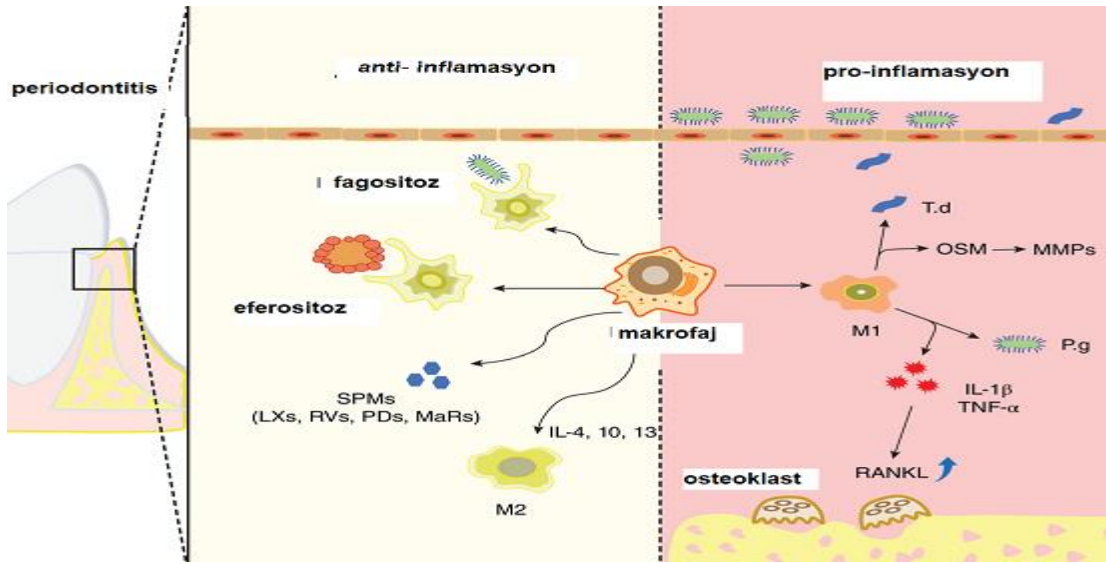
Kanıtlar, dişeti oluğu sıvısındaki ve tükürükteki MMP-1 ile MMP-8 miktarlarının periodontal hastalık sırasında yükseldiğini, periodontal tedaviden sonra ise azaldığını göstermektedir (Marcaccini ve ark., 2009). TIMP-2, MMP'lerin spesifik bir inhibitörüdür ve sadece MMP inhibisyonunda değil, aynı zamanda MMP aktivasyonunda da rol oynar (Butler ve ark.,1998).

Yüksek TIMP-2 seviyeleri, periodontal iltihaplı dokuda farklı ve bölgeye özgü olarak tespit edilmiştir (Meschiari ve ark., 2013). Buna karşılık, sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitisten etkilenen hastalardan alınan doku ekstrakt süpernatantlarında ve diş eti oluğu sıvısında TIMP-2 seviyelerinde azalma bulunmuştur (Pozo ve ark., 2005).

2.2.4.4. Bağ Dokusu ve Kemik Metabolizması

Alveolar kemik kaybı, periodontitis ilerlemesinin bir özelliğidir ve önlenmesi, periodontal hastalık tedavisinde önemli bir klinik zorluktur. Kemik yıkımına, mikrobiyal mücadeleye karşı konakçının immün ve inflamatuvar yanıtı aracılık eder. Bununla birlikte, periodontopatik bakterilere karşı lokal immün yanıtın, kemik oluşumu ve yıkımının homeostatik dengesini kemik kaybı lehine bozduğu mekanizmalar henüz belirlenmemiştir. Temel kemik emici hücre olan osteoklast, kritik sitokinler makrofaj koloni uyarıcı faktör, RANK ligandı ve osteoprotegerinin düzenlenmesi altında monosit/makrofaj öncülerinden farklılaşır. Yıkıcı inflamatuvar periodontal hastalıkların patojenik süreçleri, subgingival plak mikroflorası ve spesifik patojenlerden türetilen lipopolisakkaritler gibi faktörler tarafından başlatılır. Bunlar, konakçı inflamatuvar ve immün hücre etkileri ile yayılır ve T ile B hücrelerinin aktivasyonu, Th1-Th2-Th17 düzenleyici ekseninin düzenlenmesi yoluyla adaptif immün yanıtı başlatır. Th1 tipi T lenfositler, B hücre makrofajları ve nötrofiller, proinflamatuvar mediatörlerin RANK-L ekspresyon yollarının aktivasyonu yoluyla kemik kaybını teşvik eder (Hienz ve ark., 2015).

Son yıllarda, periodontal mikrobiyal topluluğun periodontitin ilk faktörü olduğu giderek daha fazla kabul edilirken, anormal immün yanıtlar, Mφs'in kilit rol oynadığı periodontal doku yıkımının temel nedenleridir. Mφs, patojenleri ortadan kaldırarak, apoptotik nötrofilleri temizleyerek ve pro-çözücü mediatörler (SPM)'leri salgılayarak periodontitiste anti-enflamatuar bir rol oynar. Bununla birlikte, bakterilerden gelen stimülasyon ile Mφs, pro-enflamatuar M1 alt kümesine doğru polarize olur ve periodontal dokularda homeostazı bozabilecek aşırı pro-enflamatuar ürünler üretir (Wang ve ark., 2021).

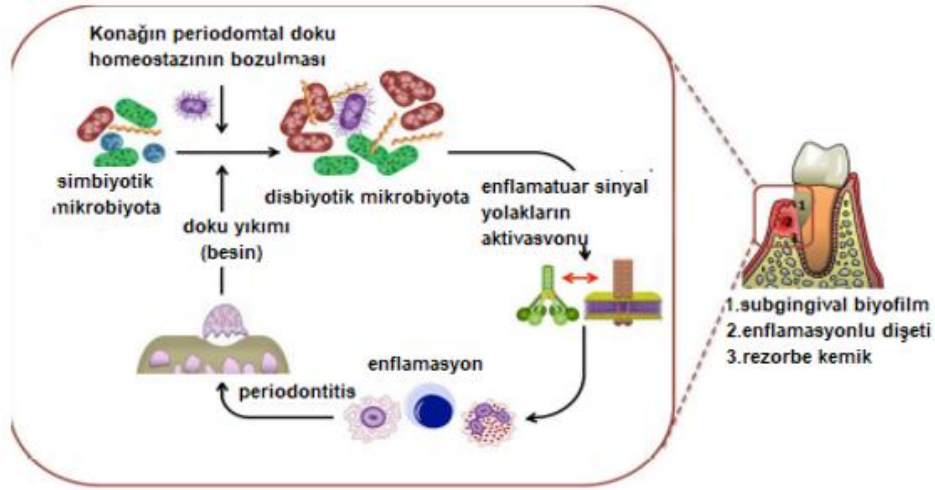


Şekil 2.5. Periodontitiste İnflamasyon Önleyici ve Pro-İnflamasyon Mekanizmaları (Wang ve ark., 2021)

2.2.4.5. Periodontitiste Doku Yıkımı ve Enflamasyonu

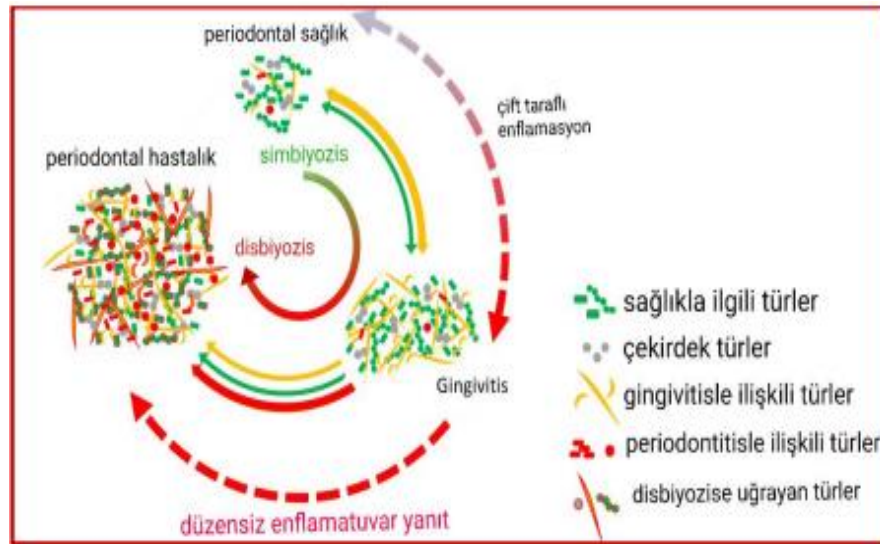
Periodontal inflamasyonun sadece konak doku yıkımı için bir mekanizma olmadığı; mikrop merkezli bir bakış açısıyla, inflamasyon önemli bir besin kaynağıdır. Bu nedenle, periodontal mikrobiyotanın bileşiminde ve sayılarında hem iltihaplanmaya dayanabilen hem de doku kırılım ürünlerini kullanabilen türleri destekleyen güçlü bir etkiye sahiptir (Hajishengallis, 2014).

Periodontitis ilişkili bakterileri barındıran subgingival bölgeler düşük bir redoks potansiyeli sergiler. Periodontal inflamasyonla, besin bakımından zengin serum benzeri bir eksüda olan dişeti sıvı (GCF) ile yıkanır. Enflamasyonla beraber subgingival ortamda oluşan, zorunlu anaerobik bakteri türlerinin sayıca artışına yol açarak ve aerobik türlerin ortadan uzaklaşmasına subgingival mikrobiyotayı modifiye eder (Hajishengallis, 2014).



Şekil 2.6. Periodontitiste Doku Yıkımı ve Enflamasyonu (Hajishengallis ark., 2012)

Enflamatuvar yanıtın ve mikrobiyomun ağız sağlığında (homeostaz) çift yönlü dengede olduğunu ve periodontitiste çift yönlü dengesizlik olduğunu göstermektedir (Curtis ve ak., 2020).



Şekil 2.7. Subgingival Mikrobiyom ile İnflamatuvar ve İmmün Yanıt Arasındaki İlişki (Curtis ve ark., 2020).

2.2.4.6. Hücre Dışı Matris (ECM) Proteinleri

Hücre dışı matris (ECM) proteinleri insan vücudunda oldukça bol miktarda bulunur ve en belirgin olarak bağ dokusu ve bazal membran olmak üzere çeşitli dokularda bulunabilir. İnvaziv bakteriyel patojenler için bu yapılar, alttaki dokulara erişimi engelleyen fiziksel engeller olarak işlev görür. Bu engelleri bağlama ve parçalama yeteneği, enfeksiyonların oluşumu ve diğer vücut bölgelerine göç için önemlidir (Oliveira Marre ve ark., 2020).

Periodontal ECM, büyüme faktörleri, sitokinler ve matriks bozunma enzimleri, metalloproteinazlar (MMP'ler) ile birlikte hem kollajenli hem de kollajen olmayan proteinlerden (proteoglikanlar ve glikoproteinler) oluşur (Waddington ve Embery, 2001).

ECM bileşenleri, büyüme faktörü biyoyararlanımını TGF β , BMP veya Wnt yolları gibi sinyal yollarını modüle eder. ECM bu nedenle doku ve organ gelişimi ve homeostazda kilit fonksiyonel roller oynar. ECM proteinini kodlayan birçok gendeki patojenik varyantların neredeyse tüm organ sistemlerini etkileyebilecek bozukluklara neden olması ECM'nin önemini daha da vurgulamaktadır (Nerger ve ark., 2022).

Ağız boşluğunda, ECM ve bazal membran (BM), diş yüzeyi ile mukoza arasındaki boşluğu kapatan Junctional epitelin (JE) önemli bileşenleridir. Periodontitiste, JE, istilacı patojenik bakteriler, özellikle katı anaerobik türler tarafından ihlal edilir. Periodontitis durumunda, istilacı mikroorganizmalar, bağışıklık hücrelerini çeken ve periodontal cepteki bağ dokusu ve kemiğin yok edilmesine katkıda bulunan polimikrobiyal sinerjizm ve disbiyoz yoluyla düzensiz ve yıkıcı bir konak tepkisini indükler (Oliveira Marre ve ark., 2020).

2.2.4.7. Oksidatif Stres

Süperoksit anyonları ve hidrojen peroksitler gibi reaktif oksijen türleri (ROS) kimyasal olarak reaktif moleküllerdir. Lipid membranlar, nükleik asitler ve proteinler dahil olmak üzere hücrel bileşenlere zarar verirler. Periodontitis durumu kötüleştikçe, periodontal inflamasyona yanıt olarak ROS üretimi artar; ardından ROS sistemik dolaşıma girer. Bu şekilde, biyomoleküllerin oksidasyonu, çeşitli organlara zarar verebilecek dolaşımdaki oksidatif strese yol açar. Bu nedenle, periodontitisin neden olduğu dolaşımdaki oksidatif stresteki artış, sistemik sağlık üzerinde zararlı etkilere

neden olabilir. Periodontitisin periodontal dokuda aşırı ROS üretimini indüklediğini gösteren artan bir kanıt vardır. Bu nedenle periodontal doku yıkımının patogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı ileri sürülmektedir (Small ve ark., 2018).

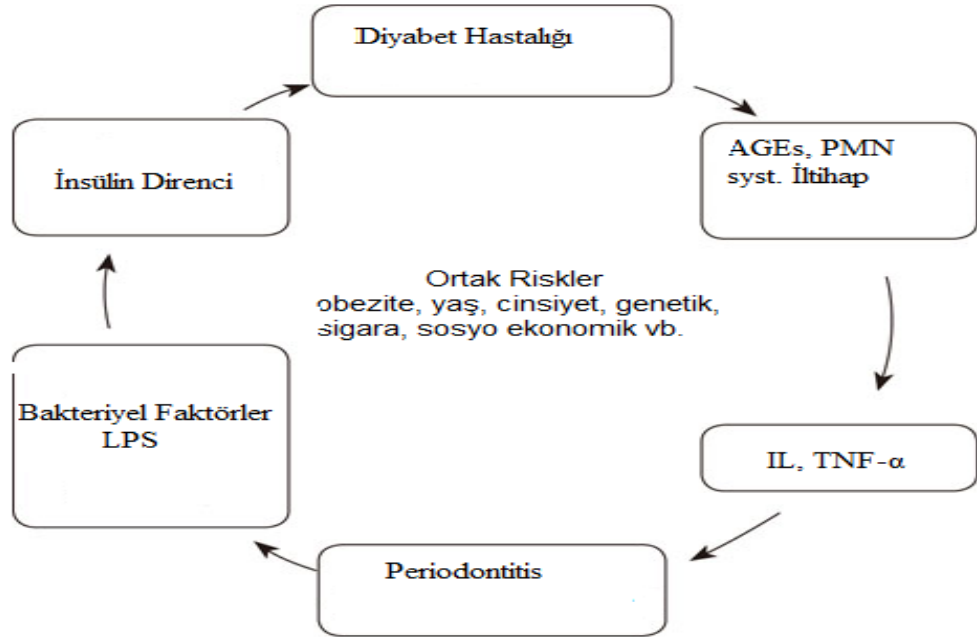
2.2.4.8. Beslenme

Periodontal ve kronik hastalıklar, bir risk faktörü olarak beslenmeyi gecikmeli olarak paylaşırlar. Besin çeşitliliği, her yaş için periodontal koşullar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Dengeli beslenme, oral mikrobiyota ve periodontal sağlık arasındaki simbiyozu sürdürmede önemli bir rol oynar. Birçok makro ve mikro besin, tükürük yoluyla gastrointestinal sisteme girsede, çiğneme süreci besin edinme sürecinin temel bir unsurudur. Tütün, ağız hijyeni, epigenetik ve genetik faktörler, beslenme ve sistemik sağlık gibi çeşitli faktörlerden periodontal dokunun bütünlüğü etkilenir (Martinon ve ark., 2021).

2.2.4.9. Diyabet

Diyabet ve periodontal hastalık çift yönlü bir ilişkiye sahiptir. Bu çift yönlü ilişkiye dayanarak, diyabetli hastalarda periodontal hastalık daha yaygındır. Ulusal Sağlık Beslenme İnceleme Anketi verileri, diyabetli hastalarda şiddetli periodontitis prevalansının diyabeti olmayan kişilere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermektedir (Oguntimein ve ark., 2020). Şekil 2.8. de örneklendiği gibi, diyabet ve periodontitis etkileşimi bir tür kısır döngü olarak kabul edebilir (Albert ve ark., 2012; Gurav, 2012).

Diyabetteki kronik inflamasyon ile kronik periodontitis arasındaki bağlantının altında yatan mekanizmalarda, bağışıklık sisteminin hücreleri ve aracıları merkezi bir rol oynamaktadır (Sonnenschein ve Meyle, 2015).



Şekil 2.8. Diyabet Hastalığı ile Periodontitis İlişkisi (Gurav, 2012).

2.2.4.10. Psikolojik Faktörler

Periodontitisin stres ve anksiyete gibi zihinsel durumlar yoluyla bağışıklık sistemini etkilediği, böylece kişiyi enfeksiyona ve diğer hastalıklara karşı savunmasız hale getirdiği bildirilmektedir. Depresyon ayrıca mitojen kaynaklı lenfosit hiperplazisinin inhibisyonuyla ilişkilidir. Bağışıklık hücrelerinin sayısını, işlevini etkiler. Bunun neden olduğu bağışıklık savunmasının bozulması, patojenlerin birikmesiyle sonuçlanır bu da daha şiddetli bir periodontitise yol açar (Kim ve Nam, 2021).

2.2.4.11. Virülans Faktörler

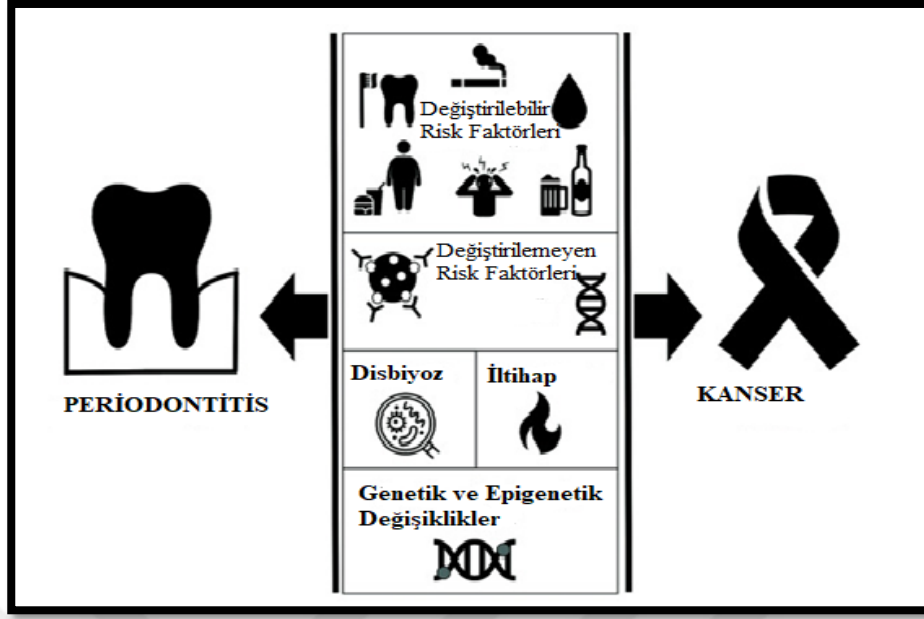
Stres, sigara, HIV enfeksiyonu, hormonal değişiklikler gibi dış eti ve periodontal hastalıklar için risk faktörlerinin çoğu, gizli virüsleri aktive ederek patojenliği artırabilir. Viral periodontitisteki ana mekanizmalar periodontiumdaki farklı hücreler üzerinde doğrudan bir etki, periodontal enfeksiyonlara konak yanıtta değişiklik ve bakteriyel patojenliğin geliştirilmesini içerir, ancak birçok yönden bu üç mekanizma birbirine bağlıdır (Ambili ve ark., 2014).

Son zamanlardaki COVID-19 pandemisinin, bileşenlerinin çoğu periodontitisin sitokin ekspresyon profili ile ortak olan bir sitokin fırtınasının oluşmasıyla ilgili olumsuz

sonuçları olduğu bildirilmiştir. SARS-CoV ve MERS-CoV hastalarında da yüksek Th17 yolu yanıtları gözlenmiştir. Th17 tipi inflamatuvar yanıt, sitokin fırtınasının ortaya çıkmasında ve SARS-CoV-2'nin neden olduğu akciğer enfeksiyonlarında pulmoner ödem ve doku hasarı ile ilgili olumsuz sonuçlarda rol oynar (Wu ve Yang, 2020). Bu yaygın inflamatuvar yanıt yolu, Periodontitis ve COVID-19 ile ilgili olumsuz sonuçlar arasında olası bir ilişkiye işaret etmektedir. Bu ilişkinin anlaşılması, periodontal hastalığı kontrol altında tutmanın önemini ve COVID-19 döneminde titiz ağız hijyeni sağlamanın değerini vurgulamaktadır. Ayrıca, COVID-19 ile ilgili olumsuz sonuçlara yatkınlık olarak periodontal hastalık varlığının olasılığına da işaret etmektedir (Sahni ve Gupta, 2020).

2.2.4.12. Sigara ve Alkol

Son yıllarda, çeşitli çalışmalar alkol ve sigarayı baş boyun kanserleri'nin başlıca risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Bunların ikisi de kötü ağız hijyeni ile ilişkili ve bu nedenle periodontitis ile kanser arasında olası bir bağlantıdır (Meyer ve ark., 2008) Bu nedenle, önleme tedavisi, risk azaltma ve yaşam tarzındaki değişiklikler için müdahaleler önermek periodontitis ile kanser arasındaki risk faktörlerinin olası ilişkiyi anlamak önemlidir (Gasparoni ve ark., 2021). Giderek artan sayıda kanıt, periodontitisli hastalarda çeşitli kanser risklerinin arttığını göstermiştir (Fitzpatrick ve Katz, 2010; Chung ve ark., 2016). Özellikle baş ve boyun kanserleri, özofagus kanseri, akciğer kanseri, pankreas kanseri, meme kanseri ve lenfoma gibi kanser türleri ile ilişkilendirilmiştir (Galvão-Moreira ve Cruz, 2016).



Şekil 2.9. Periodontitis ve Kanser Risk Faktörleri (Gasparoni ve ark.,2021)

2.2.4.13. Kalıtsal Faktörler

2.2.4.13.1. Periodontitis Genetiği

Ağız boşluğunda, bağışıklık sistemi, mikrobiyota ve yaşam tarzı alışkanlıkları (sigara, stres, diyet vb.) arasındaki karmaşık etkileşim, sürekli değişikliklere yol açar ve konağın fizyolojisi, sağlıklı kalabilmek için bu tür değişikliklere uyum sağlamalıdır. Bu etkileşim büyük ölçüde genler tarafından düzenlenir. Genler, bağışıklık reseptörlerini ayrıca konakçının bakteri türlerine karşı özgülüğünü ve duyarlılığını etkileyen molekülleri kodlar. Bu tür moleküller, enflamatuar sinyallerin yukarıdaki, aşağıdaki sinyal iletim yollarını kodlayarak ve uyarlayarak enflamatuar yanıt yoğunluğunu düzenler. Organizmanın dış ve iç uyaranlara esnek bir şekilde yanıt vermesini sağlar (Lander ve ark., 2001).

2.2.4.13.2. Periodontitisin Genetik Temeli

Periodontitisin genetik temeli, birçok genetik çalışma ile doğrulanmıştır. Örneğin, monozigotik ve dizigotik ikiz çiftlerinde erken başlangıçlı periodontal hastalık öyküsü için uyum oranının karşılaştırılması, dizigotik ikizlere kıyasla genetik olarak aynı

monozigotik ikizlerde erken başlangıçlı periodontitis riskinin iki kattan fazla arttığını göstermektedir (Corey ve ark., 1993).

Diş çürüklerini önlemek için genom çapında ilişkilendirme çalışmaları genel çürük deneyimi hastalığın spesifik sunumları ve pediatrik popülasyonlarda hastalığın varlığı veya yokluğu dahil olmak üzere araştırılmıştır (Shungin ve ark., 2019).

Periodontitiste genetik belirteçler ve aday hastalığı modifiye edici genlerin araştırılması, konak savunma sisteminin moleküllerini kodlayan genlerde çok çeşitli tek nükleotid polimorfizmlerini hedef almıştır (Zhang ve ark., 2011; Laine ve ark., 2012). Birçok çalışma, farklı SNP'leri periodontal hastalık ile ilişkilendirmeye çalışmıştır. Birkaç immün yanıt genindeki polimorfizmler, belirli popülasyonlarda tek bir genetik faktör olarak kronik periodontitis duyarlılığı ile ilişkilendirilmiştir. Ancak diğer karmaşık inflamatuvar hastalıklara benzer şekilde periodontitisin poligenik bir hastalık olduğu varsayılmaktadır (Loos ve ark., 2005; Laine ve ark., 2012).

Kronik periodontitiste gözlenen yıkıcı inflamatuvar değişiklikleri tetiklemede periodontal mikrobiyotanın rolü iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, spesifik konak reseptörleri tarafından periodontitis ile ilişkili bakterilerden kaynaklanan bakteriyel DNA'nın tespiti, artık periodontal inflamasyona katkıda bulunan başka bir faktör olarak araştırılmaktadır. DNA reseptör ekspresyonundaki genetik varyasyonlar da ilgi çekicidir ve verilerin analizi, bunların periodontitiste önemli olabileceğini düşündürmektedir (Hajishengallis ve Sahingur, 2014).

2.2.5. Periodontitisin Diğer Hastalıklarla İlişkisi

Çeşitli çalışmalar, periodontitisin belirli bakteri türleri, kötü beslenme alışkanlıkları ve sigara kullanımı tarafından tetiklendiği düşünüldüğünden, periodontitis ile yaşam tarzı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Tsuchida ve Nakayama, 2020).

Epidemiyolojik araştırmalar, periodontal patojenleri diş ve dişi destekleyen dokular üzerindeki lokal etkilerin yanı sıra, bir dizi sistemik hastalıkla da ilişkili olduğunu göstermiştir. (Beck ve Offenbacher, 2001). Periodontal patojenler ve konak yanıtı arasındaki etkileşim sonucu gelişen periodontitisin; kronik akciğer hastalığı (Shi ve ark., 2018), kronik böbrek hastalığı (Deschamps-Lenhardt ve ark., 2019), romatoid artrit (Leech ve Bartold, 2015), psöriyazis (Ungprasert ve ark., 2017), psöriyatik artrit (Üstün

ve ark., 2013), ankilozan spondilit, sedef hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBD) Crohn hastalığı ve ülseratif kolit (Baker ve Isaacs, 2018; Katsanos ve ark., 2019), gibi hastalıklar ile de ilişkide bulunduğu tespit edilmiştir. Periodontal hastalıklar, sistemik hastalıklarla inflamasyon sürecinin bir çok özelliğini paylaşır ve hastalık tabloları iç içe geçmiş gibi görünmektedir (Ebersole ve ark., 2016; Franceschi ve ark., 2017). Bu nedenle kronik periodontitis ile sistemik hastalıklar arasında olan ilişki çift yönlü olarak değerlendirilmektedir (Cardoso ve ark., 2018). Kronik periodontitisin diğer sistemik hastalıkların risk faktörü olarak tanımlanmasında, kronik sistemik hastalıkların gelişimi ile ilişkili mekanizmaları başlatıp devam ettiren bakterilerin ve inflamatuvar elemanların hastalıklı periodontal dokulardan salınıp sistemik olarak yayılmasının etkili olduğu düşünülmektedir (Hajishengallis, 2015).

2.3. Hücre İskeleti

Hücre hücre iskeleti mekanik destek sağlar, hücrenin kargo iletilmesine izin verir ve hücre bölünmesi için esastır. Üç biyolojik polimerden oluşur: Mikrotübüller, ara filamentler ve aktin (Grandy ve ark., 2022).

Biyolojik dokular, organlarda ve tüm vücutta kendi işlevlerini yerine getirmek için işbirliği içinde çalışan çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Gelişim sırasında, embriyogenez ve ardından histogenez, hücresel bileşenlerin orkestrasyonlu bölünmesine, ölümüne, farklılaşmasına ve toplu hareketlerine dayanır. Bu hücreler, yapışma kompleksleri yoluyla birbirlerine veya alttaki substrata sabitlenir. Aktif hücre iskeletinin yeniden şekillenmesiyle kuvvet oluşumunu düzenlerler. Her bir hücre düzeyinde ortaya çıkan kasılma ile ilgili değişiklikler, hücre şeklindeki değişiklikleri, hücre hareketini ve çevreleyen ortamın yeniden şekillenmesini tetikleyerek doku mimarisini etkiler. Bu denge dışı süreçler, enerji tüketimi yoluyla gerçekleşir (Balasubramaniam ve ark., 2022).

2.3.1. Aktin Hücre İskeleti

Aktin ökaryotik hücrelerin hücre iskeleti ana bileşenidir. Sadece hücresel morfogenez göç için moleküler temeli sağlamakla kalmaz, aynı zamanda deformasyona, hücre dışı materyalin alımına, hücre içi veziküler taşımaya ve hücre yapışmasına karşı mekanik dirençte dinamik olarak yer alır. Aktin hücre iskeleti, filopodia, lamellipodia ve

podozomlar gibi karmaşık hücresel yapıların organizasyonuna da katılır (Fletcher ve Mullins, 2010; Pollard ve Cooper, 2009).

Aktin, mikrofilamentlerin yapısal proteinidir ve genellikle iki formda bulunur: monomer ve polimer. Bunlar arasında monomer aktin, küresel aktin olarak da bilinen bir polipeptit zincirinden oluşan küresel bir moleküldür. Aktin polimerlerinin işlevi, aktin filamentleri üretmektir, bu nedenle fibroaktin olarak da adlandırılır. Aktin hücre iskeleti, önemli bir hücre altı filament sistemi olarak kabul edilir. Hücre bölünmesi ve kas kasılmasından hücre hareketine kadar temel işlevleri düzenleyen ve doku bütünlüğünü sağlayan çok sayıda ilgili protein ve düzenleyici hücre ile etkileşime girer (Jiang ve ark., 2021).

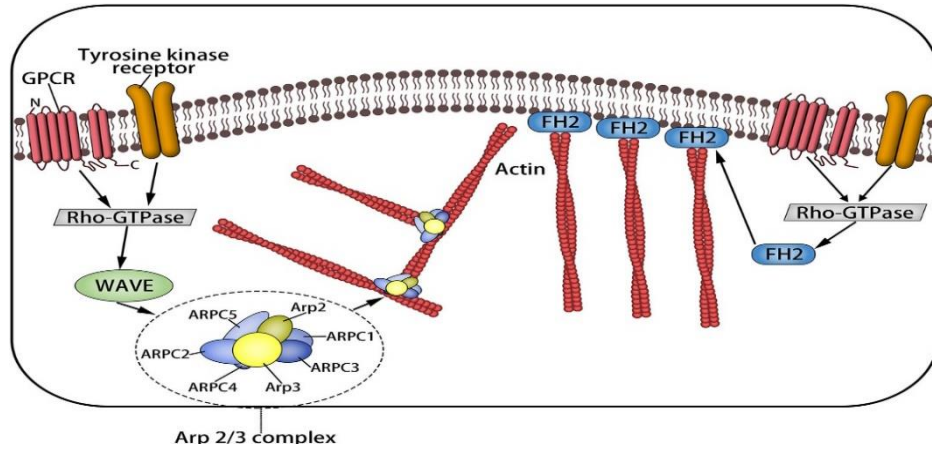
Aktin hücre iskeleti, tüm hücrelerin bütünlüğü için kritik öneme sahiptir. G-aktin monomerleri ve F-aktin filamentleri arasında, uygun hücre şekli, hareketlilik, parçacıkların ve hücresel fragmanların yutulması ile çeşitli hücre tipleri arasındaki etkileşimler için gerekli olan temel hücresel yapıların gelişimini destekleyen dinamik bir denge vardır. Aktin filamentlerinin büzülmesi ve uzamasının yanı sıra dallanma da üç boyutlu bir ağ oluşturmada önemlidir. F-aktin filamentlerinin başlatılması termodinamik olarak kararsız bir işlemdir, bu nedenle aktin çekirdeklenme proteinleri, dallanmanın başlatılması ve desteklenmesi için gereklidir. Bağışıklık sisteminde, bu aktin çekirdekleyici, düzenleyiciler proteinler, antijen reseptör ligasyonu, kemokin reseptör bağlanması ve integrin aktivasyonu dahil sinyallere yanıt verir (Janssen ve Geha, 2019).

Bağışıklık hücreleri, özellikle aktin hücre iskeletinin düzgün işleyişine bağlıdır ve hem doğuştan gelen hem de uyarlanabilir tepkiler buna bağlıdır. Lökositlerin talimatları ileten veya enfekte hücreleri öldüren sinapslar oluşturmak için sadece substratlara değil hücrelere de yapışması gerekir. Nötrofiller, kanın ekstrevasyonu sırasında hücre gövdesini tam anlamıyla sıkıştırır ve etkili bir şekilde inflamatuvar odağa göç eder. Ayrıca, bağışıklık hücrelerinin gelişimi, diğer süreçlerin yanı sıra yapışkan temaslara ve göçe bağlı olduğu için hücre iskeletinin yeniden şekillenmesini gerektirir (Tur-Gracia ve Martinez-Quiles, 2021).

2.3.2. Hücre Göçü ve Mikrofilamentlerin Oluşumu

Hücre göçü, esas olarak aktin mikrofilamentleri, mikrotübüller ve ara filamentleri içeren hücre iskeleti tarafından yönlendirilen oldukça dinamik bir süreçtir. Göç sırasında hücreler polarize olur ve ön tarafta yeni yapışıklıkların oluştuğu çıkıntılar oluşturur. Bu yeni oluşan yapışıklıklar olgunlaşarak hareket için gerekli olan çekiş kuvvetlerini ileten fokal yapışıklıklara dönüşür. Bu adımların tümü, ana hücre iskeleti yeniden düzenlemeleriyle birleştirilir ve geniş bir dizi sinyalleşme kaskadları tarafından kontrol edilir. Aktin, mikrotübüller ve ara filamentler arasındaki hücre göçünü kolaylaştırmak için koordineli dinamiklerini sağlar. Hücre göçü, gelişim, doku onarımı ve bağışıklık tepkileri gibi temel fizyolojik süreçler için gereklidir. Hücre göçü ayrıca kronik inflamatuvar hastalıklar ve kanser istilası gibi çeşitli patolojik durumlara da katkıda bulunur. Bu bağlamda, hücre göçünü düzenleyen mekanizmaların çözülmesi, terapötik stratejilerin tasarlanmasına yardımcı olabilir (Seetharaman ve Etienne-Manneville, 2020).

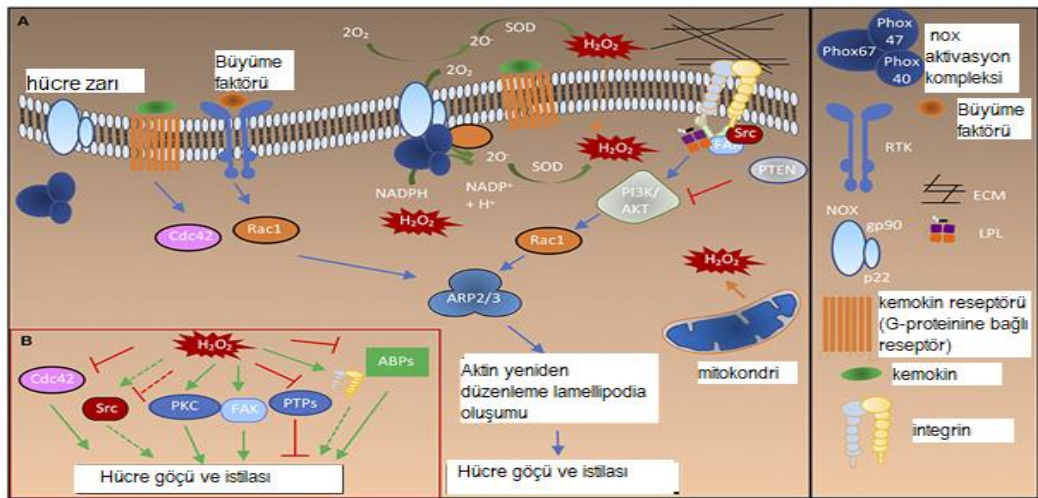
Hücre göçü, esas olarak, hareket üretmek için hücre iskeleti ve hücre yapışmalarındaki dinamik değişikliklere aracılık eden Rho GTPaz tarafından düzenlenen sinyal ağları aracılığıyla yönlendirilir. Cdc42, öncelikle hem tek hücreli göçte hem de toplu göçte lamellipodia ve filopodia'nın genişlemesini düzenleyerek bu sürecin kilit bir aracısı olarak tanımlanmıştır. Alternatif olarak, tek hücreler, aktomiyosin kasılmaları yoluyla daha yuvarlak hücreleri sevk etmek için yüksek seviyelerde Rho/ROCK sinyaliyle de çalıştırılabildiği bilinmektedir. Cdc42-MRCK sinyalinin, hücre istilasını yönlendirmek için ROCK'dan bağımsız olarak bu tahriki düzenlediği de bilinmektedir (Turnham ve ark., 2020). Rho, formin proteininin ayrı olarak aktive edilecek bir konumda olduğu ancak kendi kendini inhibe ettiği ve mikrofilamente dokunma yeteneğine sahip olduğu hedef formin homolog domain mDia proteini ile düz etkileşim yoluyla lineer liflere aktin polimerizasyonunu destekler. Ayrıca, ROCK'u etkinleştirerek mikrofilamentlerin montajını da tetikler. Rac, aktin ağı oluşturmak için önceden var olan mikrofilamentlerin yanından uzayan Arp2/3'ü aktive etmek için dalga proteini salgılar (Jiang ve ark., 2021).



Şekil 2.10. Mikrofilamentlerin Oluşumu (Jiang ve ark., 2021)

2.3.3. Hücre Göçü ve Yapışmasında Aktin Hücre İskeletinin Redoks Düzenlemesi

Hücre yapışması ve göçü sırasında, hücre iskeleti ve diğer sinyal proteinlerini yeni hücre iskeleti düzeneği bölgelerine getiren ECM-integrin kompleksleri oluşur (Şekil 1A). ROS, aktin hücre iskeletini birkaç aşamada düzenler. NF-KB, AP1, NRF2, HIF1-a ve sinyal enzimleri [PI3K/Akt ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK)] dahil olmak üzere transkripsiyon faktörleri dolaylı olarak ROS tarafından düzenlenebilir. Böylece ROS, ABP'leri kodlayanlar da dahil olmak üzere çeşitli genlerin ekspresyonunu etkileyebilir. İkinci düzenleme seviyesi, kinazların ve fosfatazların, aktivasyonlarına veya deaktivasyonlarına yol açan ve böylece ABP'lerin fosforilasyon durumunu yani aktivasyonunu kontrol eden doğrudan oksidasyondur (Şekil 1B) (Balta ve ark., 2021).



Şekil 2.11. Hücre Aktivasyonu ve Göçü ile İlgili Proteinlerin Redoks Düzenlemesi (Balta ve ark., 2021)

2.3.4. Arp2/3 Kompleks Çeşitliliği

Aktin ile ilgili protein 2/3 (Arp2/3) kompleksi yedi alt birimden oluşur; bunlardan ikisi G-aktine benzer ve sırasıyla ACTR2 ve ACTR3 genleri tarafından kodlanan aktin ile ilişkili proteinler ARP2 (44 kDa) ve ARP3 (47 kDa) olarak adlandırılır. Diğer alt birimler, aktin ile ilişkili protein kompleksi (ARPC) proteinleri, ARPC1 (omurgalılarda A ve B izoformu ile p41 olarak da adlandırılır), ARPC2 (p34), ARPC3 (p21), ARPC4 (p20) ve ARPC5 (p16) ayrıca bilinir (Tur-Gracia ve Martinez-Quiles, 2021).

Yedi alt birimden oluşan kompleksin tümünün tahmini amino asit dizisini belirlenmiştir. Her birinin çeşitli ökaryotlarda homologları vardır, bu da kompleksin yapısının ve işlevinin evrim yoluyla korunduğunu ifade eder. İnsan Arp2 ve Arp3, diğer türlerin aile üyelerine çok benzer. p41-Arc, WD (triptofan ve aspartat) tekrar içeren proteinlerin Sop2 ailesinin yeni bir üyesidir ve translasyon sonrası modifiye edilebilir, kompleksin aktivitesinin veya lokalizasyonunun düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. p34-Arc, p21-Arc, p20-Arc ve p16-Arc, yeni protein ailelerini tanımlar. Arp2/3 kompleksinin hücre içi dağılımını belirleyerek hücrelerdeki işlevini değerlendirmeye çalışılmıştır. Arp3, p34-Arc ve p21-Arc, sabit ve hareket eden fibroblastların lamellipodialarında ve ayrıca *Listeria monocytogenes*, aktin kuyruklarını bir araya getirmiştir. Aktin filamentlerinin hücresel demetlerinde ise tespit edilmemiştir. Arp2/3 kompleksinin aktin polimerizasyonunu indüklemeye kabiliyeti ile birlikte ele alındığında, bu gözlemler kompleksin lamellipodide aktin birleşmesini desteklediğini ve lamellipodiyal çıkıntıya katılabileceğini düşündürmektedir (Welch ve ark., 1997).

Odak Yapışıklıkları

Arp2/3 kompleksinin insan deri hücrelerindeki fokal adezyonlarla ilişkisinin vinculin ile etkileşim gerektirdiği gösterilmiştir. Tavuk düz kasının yoğun plaklarından (fokal yapışma homolog yapıları) ekstrakte edilen proteinlerin yapılan bir doğal kütle spektrometrisi analizi, a-aktinin ve vinkülin veya Arp2 ile birlikte Arp2, Arp3,ARPC2'den oluşan bir çekirdekten oluşan Arp2/3 komplekslerini vinculin, yani 'hibrit kompleksler' tespit edilmiştir. Özellikle, bu alternatif kompleksler, kompleksin fokal adezyonlara alınmasına aracılık edebilen ve HeLa hücrelerinde ARPC1B ile rekabet edebilen vinkülin içerir. Buna göre, ARPC1B'nin yıkılması, Arp2/3-vinculin hibrit komplekslerinin oluşumuna doğru kaymış bir denge doğrultusunda, odak yapışması ve stres lifi oluşumu üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir (Chorev ve ark.,2014).

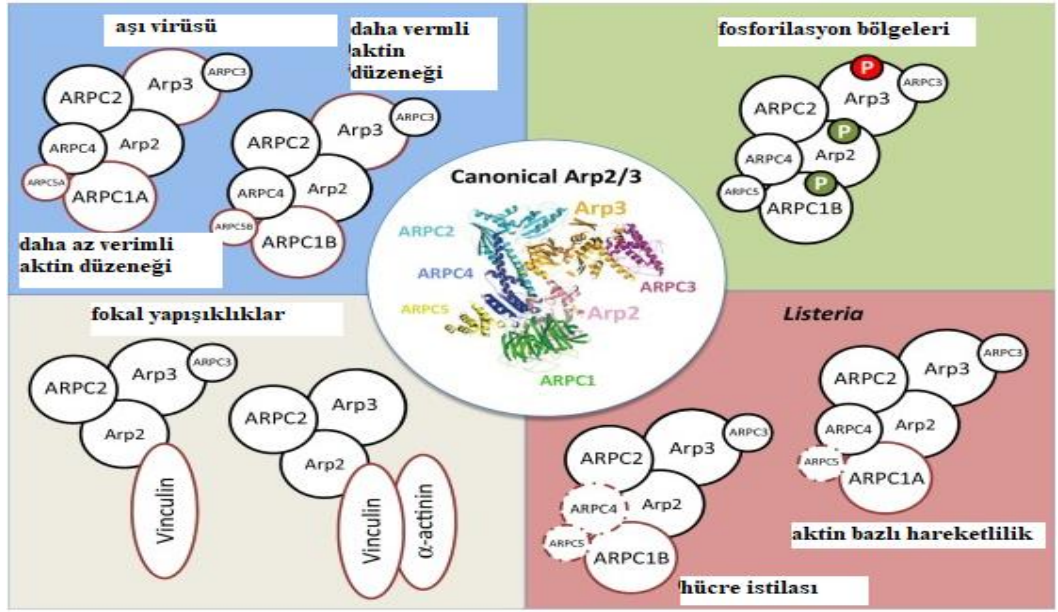
Listeria monocytogenes Enfeksiyonu

L. monocytogenes tarafından HeLa hücre enfeksiyonunu araştıran insan genomu çapında RNA interferans (RNAi) taramalarında, ARPC1A'nın etkisizleştirilmesi, aktin kuyruğu oluşumu üzerinde ARPC1B'nin etkisizleştirilmesinden daha derin bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. ArpC4'ün ayrıca *L. monocytogenes*'in konakçı hücrelerin erken istilası için vazgeçilmez olduğu gösterilmiştir (Kühbacher ve ark.,2015).

Vaccinia Virüsü Hareketliliği

Vaccinia virüsü tarafından aktin polimerizasyonuna ilişkin bir çalışmada, ARPC1B ve ARPC5B için spesifik roller bulunmuştur. Gerçekten de, ARPC1B ve ARPC5B içeren Arp2/3 komplekslerinin, aktin oluşumunu teşvik etmede ARPC1A ve ARPC5A içerenlerden önemli ölçüde daha verimli olduğu gözlemlenmiştir. (Abella ve ark., 2016).

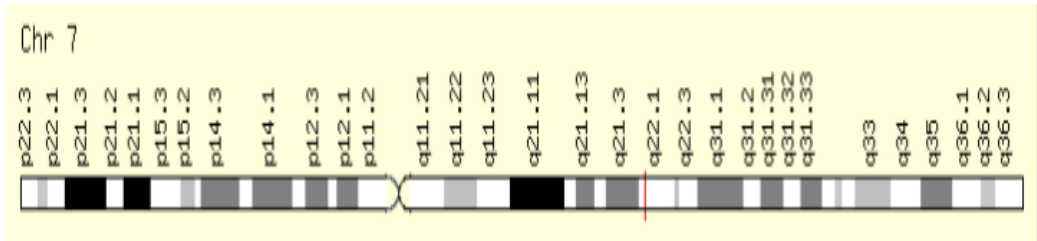
Arp2/3 kompleksi, keşfinden bu yana 20 yıl boyunca klasik olarak tek bir moleküler varlık olarak kabul edilirken, son araştırmalardan ortaya çıkan bir olasılık, Arp2/3 kompleksinin birden fazla versiyonunun hücrelerde bir arada var olabileceğini düşündürmektedir. Şekil 2.12, tarif edilen komplekslerin bir özetini ve bunların düzenleme modunu sunar. (Pizarro-Cerdá ve ark., 2017).



Şekil 2.12. Arp2/3 Komplekslerinin Çeşitliliği (Pizarro-Cerdá ve ark., 2017)

2.3.4.1. *ARPC1A* Geni

ARPC1A geni 7. Kromozomun uzun q kolunda 10 ekzon içeren 41 kb uzunluğundadır.



Şekil 2.13. *ARPC1A* Geninin Kromozom Üzerindeki Lokasyonu

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/gene/?id=10552>)

ARPC1A (Aktinle İlgili Protein 2/3 Kompleks Alt Birimi 1A) bir Protein Kodlayan gendir. İlgili yollar arasında fagositik kap oluşumu ve EPH-Ephrin sinyali için aktin dinamiğinin düzenlenmesi bulunmaktadır. Bu genle ilgili gen ontolojisi (GO) açıklamaları, aktin filament bağlanmasını içermektedir (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ARPC1A>).

ARPC1A geni, insan Arp2/3 protein kompleksinin yedi alt biriminden birini kodlar. SOP2 protein ailesinin bir üyesidir. Bu gen ayrıca ark40; SOP2L; HEL-68; SOP2H'ler; HEL-S-307 olarak bilinir. Bu gen *ARPC1B* geni tarafından kodlanan proteine en çok benzer. İki protein arasındaki benzerlik, her ikisinin de hücrelerde aktin polimerizasyonunun kontrolünde rol oynayan insan Arp2/3 kompleksinin p41 alt birimi olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir. p41 alt biriminin, Arp2/3 kompleksinin yapısının bir araya getirilmesinde ve korunmasında yer alması mümkündür. p41 alt biriminin çoklu versiyonları, kompleksin fonksiyonlarını farklı hücre tiplerine veya gelişim aşamalarına uyarlanmıştır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=arpc1a>).

Arp2/3 kompleksi, mikrofilamentlerin çekirdeklenmelerini teşvik etmekten sorumlu önemli bir aktin çekirdeğidir. Hücre içi aktin monomerlerinin hücre yapısını oluşturan ve hücre-hücre bağlantılarının oluşumunda, patojenlerin hareketliliğinde ve veziküllerin taşınmasında rol oynayan süreçleri destekleyen mikrofilamentlere montaj sürecini kolaylaştırmak ve aktin filament nükleasyonu sürecinde kanser hücrelerinde invaziv psödopodinin oluşumunda önemli bir rol oynar. Anormal göç ve invazyon tümör metastazı için kritik faktörlerdir (Huang ve ark., 2021).

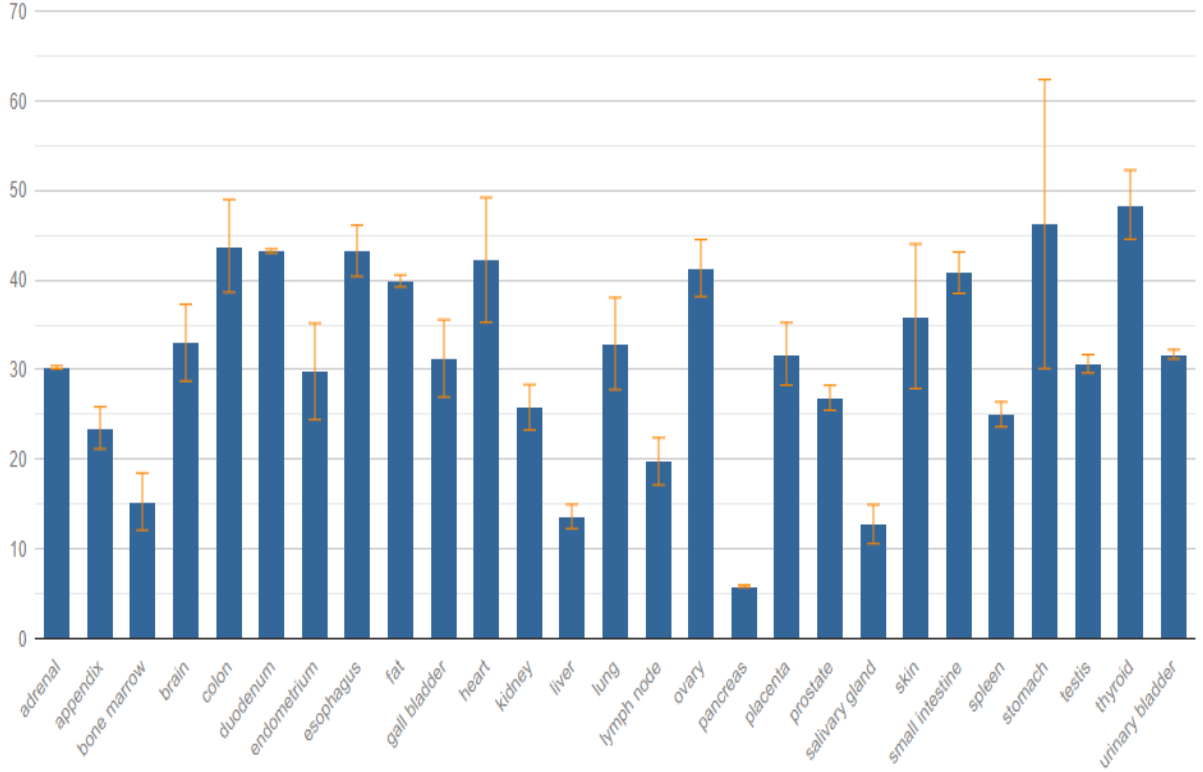
Yedi alt birimli Arp2/3 protein kompleksi, aktin polimerizasyonunda çok önemli bir oyuncudur ve bu nedenle hücre hareketliliğinin kontrolünde yer alır. Bu gerçeğe uygun olarak, kompleksin makrofajlar ve lenfositler gibi yüksek mobilitelere sahip hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, mide kanserinde Arp2/3 kompleksinin azalmış ekspresyonu rapor edilmiştir. Bununla birlikte, meme, kolorektal ve akciğer kanseri dahil olmak üzere diğer bazı malignitelere, kompleksin artan ekspresyonu gerçekten de yaygın olarak gözlemlenmiştir. Kanser hücresi istilası ve metastazı ile bağlantılıdır. Burada, 7q21-q22 bölgesinin amplifikasyonunun iki Arp2/3 kompleks alt birimi geninin, *ARPC1A* ve *ARPC1B*'nin aşırı ekspresyonu ile sonuçlandığını ve pankreas kanseri hücrelerinde artan hareketliliğe yol açtığını göstermiştir. *ARPC1A* ve *ARPC1B* tarafından kodlanan p41 alt biriminin Arp2/3 kompleksinin aktivitesini düzenlediği öne sürülmüştür. Dolayısıyla bu proteinlerin fazla bir miktarının tüm kompleksin işlevi üzerinde derin bir etkisi olabildiği ve bu nedenle *ARPC1A* ve *ARPC1B*'yi antikanser tedavisi için ilginç hedefler olarak ifade edildiği varsayılmıştır (Laurila ve ark., 2009).

ARPC1A geni aynı zamanda hücre hareketliliğini düzenleyen bir protein kompleksine aittir. Pankreas kanseri hücrelerinde bu genin susturulması, kanser yayılmasıyla ilişkili önemli bir özellik olan hücre hareketliliğini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Laurila, 2012).

Arp2/3 kompleksi yoluyla aktin çekirdeklenmesinin, çeşitli deneysel modellerde tümör hücresi istilası için gerekli olduğu rapor edilmiştir. İnsan kanserlerinin analizi sonucunda, kolorektal numunelerden hem stromal hem de tümör hücrelerinde güçlü ARP2 ekspresyonunu ortaya koymaktadır. Ayrıca pankreas kanseri hücrelerinde *ARPC1A*'nın susturulması hücre istilasında dramatik bir azalmaya yol açmıştır (Zucchini ve ark., 2014). Osteosarkom hücrelerinde CD99wt'nin transfeksiyonu, Aktin ile ilişkili protein 2/3 kompleksi, alt birim 1A (*ARPC1A*), Rho ile ilişkili, sarmal-sarmal içeren protein kinaz 2 (ROCK2) ve ayrıca ezrin, bir ezrin/radixin gibi aktin hücre iskeletinin yeniden şekillenmesi için çok önemli olan birkaç molekülün ekspresyonunu inhibe ettiği göstermektedir (Khanna ve ark., 2004; Park ve ark., 2006). Arp2/3 protein kompleksinin p41 alt birliğini kodlayan *ARPC1A*, AsPC-1 hücrelerinde RNAi tarafından susturulduğunda, hücre çoğalması, göçü ve istilasının azalması, Arp2/3'ün aktüer polimerizasyondaki rolünü doğruladığı gözlenmiştir (Aseervatham, 2020).

ARP2/3 kompleksi, kanser hücrelerinde invaziv psödopodinin oluşumu için gerekli olan aktüen filament nükleasyonu ve depolimerizasyon sürecinde yer alır. Önceki çalışmalar, ARP2/3 kompleksinin bileşenlerinin mesane, meme, mide ve akciğer kanserleri de dahil olmak üzere tümörlerde yüksek oranda ifade edildiğini bildirmiştir (Xu ve ark., 2020).

ARPC1A geni, tiroid, mide, kalp ve aşağıda şekilde gösterdiği gibi birçok dokuda ekspre edilmektedir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10552>).



Şekil 2.14. *ARPC1A* Geninin Farklı Dokulardaki Ekspresyonu

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10552>)

Kahr ve ark., mikrotrombositopeni, eozinofili inflamatuvar hastalığı olan çalışmada; Arp2/3 bileşenlerinin ifadesi normal, etkilenmemiş aile üyelerinde ve hasta trombosit lizatlarında immüno blot analizi ile incelemiştir. Hasta 1'de *ARPC1B*'nin olmadığını gösteren ve Hasta 2 ve 3'teki seviyeleri büyük ölçüde azaltan diğer Arp2/3 bileşenlerinin (ARP2, ARP3, ARPC2, ARPC3 ve ARPC5) ve *WASP* tüm hastalarda ve ayrıca etkilenmemiş aile üyelerinde normal olduğu görülmüştür. *ARPC1B* seviyesinin <6%'sında mevcut olduğunu ve hücre/doku tipleri arasında önemli ölçüde farklılık gösteren izoform seviyeleri ve oranları olduğunu göstermektedir. Normal trombositlerde *ARPC1A*'nın *ARPC1B*'ye göre düşük ekspresyonunu ve *ARPC1B* eksikliği olan hücrelerde *ARPC1A*'nın arttığını gözlemlemiştir (Kahr ve ark., 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Hastanesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı polikliniğine periodontitis nedeniyle ileri diş destek doku kaybı oluşumuna bağlı diş çekimi için başvuran periodontitis tanısı almış 20 hasta (12 erkek,8 kadın) dahil edildi. Hasta grubu; 34-65 yaş arası, hastalardan diş çekim endikasyonu bulunan dişler çekildikten sonra, yumuşak doku düzeltilmesi gereksinimi olan bölgelerden 2 mm periodontitisli yapışık diş eti doku örnekleri elde edilmiştir. Kontrol grubu doku örnekleri için aynı hastadan rezektif gingival cerrahi endikasyon varlığında (kron boyu uzatma, dental implant iyileşme başlığı uygulama, vb) 2 mm sağlıklı diş eti örneği alınmıştır. Sağlıklı diş eti bölgesi cep sondalama derinliği ≤ 3 mm ve sondalamada kanamanın olmaması olarak kabul edilmiştir.

Çalışmada, katılımcıların izni ve bilgisi dahilinde yukarıda bildirilen durumlarda ameliyat sonrası çıkartılan doku örnekleri kullanılmıştır. Bunun dışında herhangi bir doku alma işlemi olmamıştır.

Çalışma için gerekli izin Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 18.02.2021 tarihli toplantısında 21-KAEK-048 proje numarası ile alındı. Çalışmanın tamamı Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Bu tez çalışması, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığınca 2021/72 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.2. Dokuların Saklanması

Ameliyat sırasında alınan doku örnekleri hızlı bir şekilde sonrasında çalışılmak üzere -80°C’de muhafaza edildi.

3.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- -80°C Derin Dondurucu (Nuair, Nu9483e, ABD)
- -20°C Derin Dondurucu (Arçelik, 2052dy, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik, 570465, Türkiye)
- Homojenizatör (Heildolph Silent Crusher, Almanya)
- Vorteks (Velp, Scientifica, F20220176, İtalya)
- Hassas Terazı (Kern, ABT, WB0750631, Almanya)
- Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Otomatik pipetler (Transperpette, Almanya)
- Mikropipet Seti (Gilson, Thermo Scientific, FinnpiPET)
- Etüv (Memmert, Almanya)
- Otoklav (HMC, HV25, Almanya)
- Mikro dalga fırın (Arçelik, MD554, Türkiye)
- PCR (Thermocycler, Almanya)
- Qubit 2.0 Florometre (Invitrogen by life Technologies, Avustralya)
- RT-PCR (Applied Biosystems, İngiltere)
- Plate (Applied Biosystems, 4346907, İngiltere)
- Plate yapıştırıcı (Applied Biosystems, 2014005092, İngiltere)
- Distile Su Cihazı (Elga-option Q7, UK)

3.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

RNA izolasyon aşaması için;

Thermo scientific marka GeneJET RNA Purification Kit (Lot:01125929)

- Lizis Buffer
- Wash Buffer 1/ Wash Buffer 2
- Water Nuklease -Free
- RNA Purification Columns & Collection Tubes
- Proteinaz K

cDNA aşaması için;

RNA' y1 cDNA çevirmek için Thermo Fisher scientific marka Applied biosystems High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Lot:01152470)

- ❖ RT-Random Primers
- ❖ dNTP mix
- ❖ Multi Scribe Revers Transkriptaz
- ❖ dH₂O Nuklease Free Watter
- ❖ Rot Buffer

cDNA konsantrasyon ölçümü için;

İnvitrogen Thermo Fisher scientific Qubit™ 1X dsDNA HS Assay kiti (Lot: 2346191)

qRT-PZR aşaması için;

AMPLIQON RealQ Plus 2X qPZR SYBR-Green MasterMix (High ROX™) (Cat no: A325402) kullanılmıştır.

- RealQ Plus 2X qPZR SYBRGreen MasterMix (High ROX™)
- Forward Primer
- Reverse Primer
- Kalıp cDNA
- dH₂O

Kit Harici Malzemeler

- ❖ TE Buffer
- ❖ B-mercaptoethanol
- ❖ Working solution
- ❖ Etanol
- ❖ Bisturi
- ❖ Deney tüpü
- ❖ Ependorf

3.5. YÖNTEM

3.5.1. Dokudan mRNA İzolasyonu

mRNA izolasyonu için, GeneJET marka, Purification (01125929) kitleri kullanılmış olup, izolasyon aşamaları aşağıda verildiği gibi kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

mRNA izolasyon protokolü;

RNA İzolasyon Protokolü (K0731)

- Dokular 30 mg olacak şekilde tartıldı
- Dokular homojenizatörde 3 dakika parçalandı
- Parçalanmış dokular 1,5 µl'lik ependorf tüpe alındı
- Tüpe alınan dokular bekletilmeden 300 µl lizis tamponu eklendi ve 10 saniye vorteksle karıştırıldı (lizis tampon; 2-MERCAPTOETANOL)
- 600 µl seyreltilmiş Proteinaz K eklendi ve vorteksle karıştırıldı
- Karışımlar 25°C'de 10 dk inkübe edildi
- Karışım 5 dk 12.000 rpm'de santrifüj edildi
- Süpernatantlar yeni bir RNAase içermeyen mikrosantrifüj tüpe alındı
- Örnekler 450 µl etanol eklendi ve pipetaj yapılarak karıştırıldı
- Örnekler filtreli tüpe alındı ve üzerlerine 700 µl'ye kadar lizat eklendi
- 12000 rpm'de 1 dk santrifüjlendi
- Tüpler atıldı ve filtreler 2 µl'lik yeni bir tüpe alındı
- 700 µl Wash Buffer1 eklendi ve 1 dk santrifüj edildi
- Filtreler alınarak tekrar yeni 2 µl'lik tüplere yerleştirildi
- Tüplere 600 µl Wash Buffer2 eklendi ve 1 dk 12000 rpm'de santrifüj edildi
- Filtreler tekrar alındı yeni tüpe aktarıldı, üzerlerine 250 µl Wash Buffer2 eklendi ve 12000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi (bu adım isteğe bağlı gerçekleştirildi kolon temizlendiğinden emin olduğunda bu adım uygulanmayabilir)
- Daha sonra filtreli kap ve kolon 1 dk max hızda santrifüjlendi
- Filtreler 1,5 µl 'lik tüpe aktarıldı
- Üzerine 100 µl RNAase Free Water eklendi ve 12000 rpm'de 1 dk santrifüjlendi ve RNA hazır hale getirildi

3.5.2. cDNA Sentezi

mRNA izolasyonu sonrasında, cDNA sentezi aşamasına geçilmiştir. cDNA sentezi için Appliedbiosystems by Thermo Fisher Scientific marka High Capacity cDNA Reverse Transcription kiti (01152470) kullanılmış olup, sentez işlemi için üretici firmanın kit protokolü uygulanmıştır. Kit bileşenleri aşağıda önerilen oranlarda bir mikrotüpte karıştırıldı. Hava kabarcıkları gidermek ve içindeki malzemeleri karıştırmak için tüp santrifüjlendi.

- İki aşamada cDNA sentezi yapıldı. İlk aşama mix hazırlandı ve ikinci aşama ise PCR uygulandı.

1.cDNA sentezi için kullanılan kitin miktar bilgileri tablo 3.1 de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Revers Transkriptaz Reaksiyon Hacmi

Bileşenler	Miktar(1X)
10X Reaction Buffer	2 µl
dNTP Mix(2.5 mM)	0,8 µl
Primer	2 µl
Reverse Transcriptase (200U/µl)	1 µl
RNase free Water	4.2 µl
RNA örneği	10 µl
Total hacim	20 µl

2. cDNA mastermix buz üzerinde hazırlandıktan sonra aşağıdaki koşullar takip edilmiştir.

Tablo 3.2. cDNA Sentezi İçin Uygulanan PZR Programı

RT Adımları	Sıcaklık	Zaman	Döngü
Adım 1	25 °C	10 dakika	1
Adım 2	37 °C	120 dakika	1
Adım 3	85°C	5 dakika	1
Adım 4	4°C	∞	1

3.5.3. cDNA Konsantrasyon Ölçümü

Qubit 2.0 cihazı ve invitrogen Thermo Fisher scientific Qubit™ 1X dsDNA HS Assay kiti kullanılarak cDNA ölçümleri gerçekleştirildi.

- Tüm bileşenler kullanımdan önce oda ısısına getirildi.
- Standartlar için 190 µl solüsyondan 0.5ml'lik tüplere alındı.
- 10 µl Standard1 ve Standard2 ayrı ayrı tüplerde hazırlandı

Cihaza standart okumaları yaptırıldı. cDNA kiti için Standard 1:0 ng/µl, Standard2:10ng/µl. Bunlar örnekmiş gibi cihaza okuma yaptırılarak kontrol sağlandı.

Örnek ölçümü için;

- Elimizdeki miktara göre 1µl-10µl aralığında örnek tüplere alındı, üzeri Working solution ile 200 µl 'ye tamamlandı.
- Parmakla hafifçe vurularak örneğin iyice karışması sağlandı.

Böylece ölçümleri tamamlanan örnekler RT-PZR aşaması için hazır hale gelmiş oldu.

3.5.4. qRT-PZR Aşaması

Genlerin diferansiyel mRNA ekspresyon profilinin tahmini için gerçek zamanlı PCR kullanılır. cDNA'dan bir dizi genin nicel ifadesidir. Tekniğin arkasındaki temel prensip, floresandaki sürekli kayıt değişimi ile PCR tabanlı DNA amplifikasyonunun aşamalı olarak kaydedilmesidir. QPCR tekniği Sybergreen, Eva Green gibi floraresan boyalar veya Taqman problamasını içerebilir (Pal, 2022). Bu boyalar DNA 'nın minör oluşuna bağlanıldığında floresans ışımaya yapar. Çift zincirli DNA'ya primer bağlanıp uzama gerçekleşirken floresan boya da oluklara bağlanmış olur. Amplifikasyon süresince orantılı olarak hem DNA miktarında hemde floresans miktarında artışa bağlı olarak RT-PCR cihazı ekranında takip edilebilir (Günel, 2007).

İzole edilen RNA'lerden cDNA eldesinden sonra ekspresyon analizi için real time PZR aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada hedef *ARPC1A* geni için kontrol ve çalışma grupları ile kontrol primeri olarak beta-aktin kullanıldı. Reaksiyon karışımı olarak AMPLIQON RealQ Plus 2X qPZR SYBR-Green MasterMix (High ROX™) (Cat no: A325402) kullanılmıştır.

Reaksiyon karışımı aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

Tablo 3.3. PZR Reaksiyonu Bileşenleri

Bileşenler	Miktar
RealQ Plus 2X qPZR SYBR Green Master Mix (HighROX™)	12.5 µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
Kalıp cDNA	3 µl
dH ₂ O	8,5 µl
Total hacim	25 µl

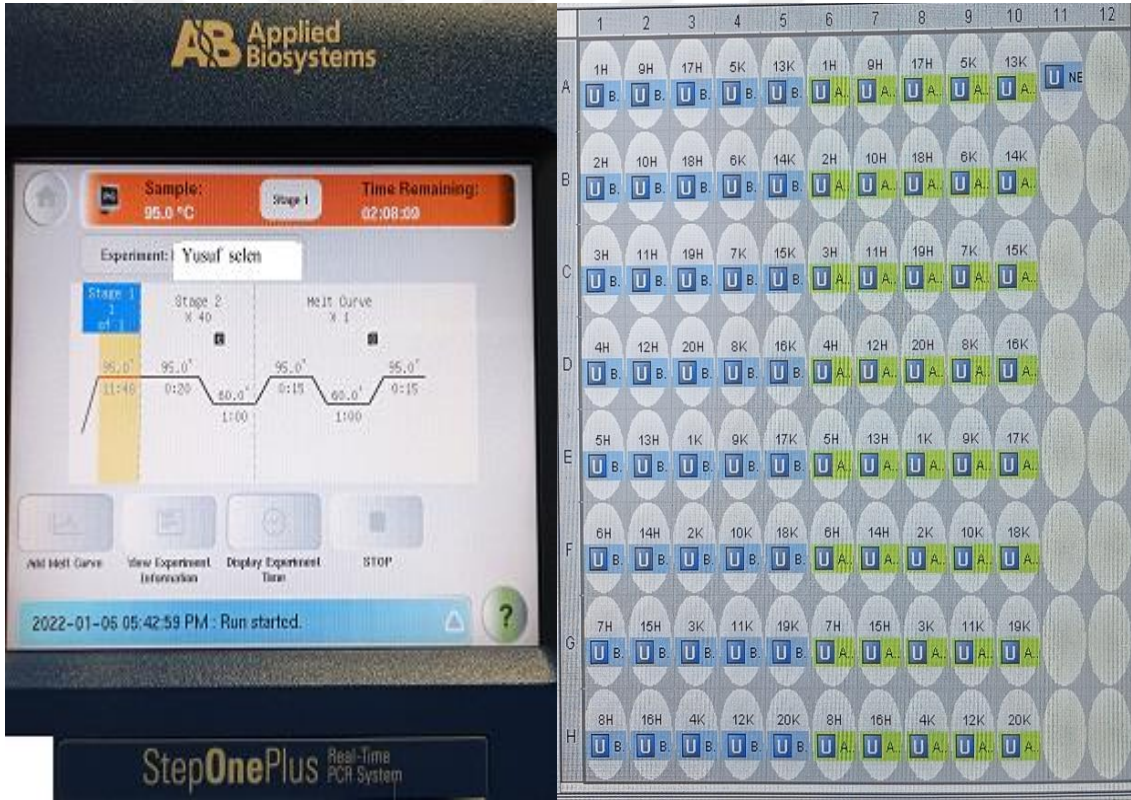
ARPC1A geninin mRNA ekspresyon ifade düzeyini belirlemek için, SYBR Green'e dayalı kantitatif Real-Time PZR yöntemi kullanıldı. *ARPC1A* ve referans olarak (*β-Aktin*) için, cDNA örnekleri (1/10: 1/100: 1/1000 ve 1/10000) farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak seri seyreltme yapılmıştır. Çalışmada, referans (kontrol) geni olarak; *β-Aktin* geni: negatif kontrol olarak; içerisinde cDNA kalıbı içermeyen Real-Time karışımı örnek kullanıldı.

Tablo 3.4. β -Aktin ve ARPCIA Genlerinin Primer Dizileri

Beta-Aktin / ARPCIA Baz Dizisi	
β -Aktin	5'-GCATGGGTCAGAAGGATTCC-3' 5'-CACGCAGCTCATTGTAGAAGG-3'
ARPCIA	5' AACTCAAGGAGCACAAACGG 3'
ARPCIA Reverse	5' ATCAGCAACAGACACGGTG 3'

Reaksiyon döngüsü Applied Biosystems Real Time PZR cihazında aşağıdaki gibi ayarlanmıştır;

Uygulanan RT-PCR programı

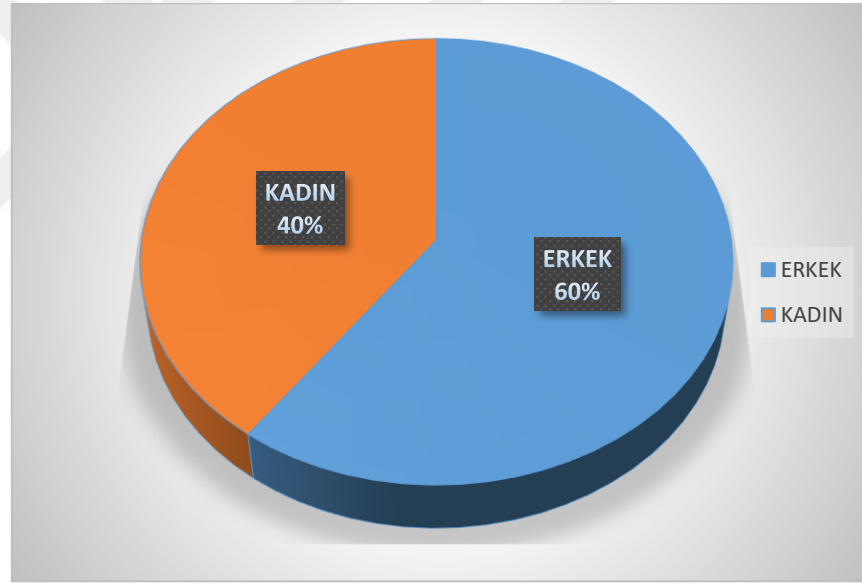


Şekil 3.1. Gerçek Zamanlı RT-PCR Cihazı ve Plate İçindeki Numuneler

4. BULGULAR

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Hastanesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı polikliniğine periodontitis nedeniyle ileri diş destek doku kaybı oluşumuna bağlı diş çekimi için başvuran periodontitis tanısı almış 20 hastanın, diş çekim endikasyonu bulunan dişler çekildikten sonra, yumuşak doku düzeltmesi gereksinimi olan bölgelerden 2mm periodontitisli yapışık diş eti doku örnekleri elde edilmiştir. Kontrol grubu doku örnekleri için aynı hastadan rezektif gingival cerrahi endikasyon varlığında (kron boyu uzatma, dental implant iyileşme başlığı uygulama, vb) 2 mm sağlıklı diş eti örneği alınmıştır. Sağlıklı diş eti bölgesi cep sondalama derinliği ≤ 3 mm ve sondalamada kanamanın olmaması olarak kabul edilmiştir.

Çalışma grubu; 34-65 yaş arası (ortalama $52,15 \pm 10,29$) olan 12 erkek ve 8 kadından oluşmaktadır.



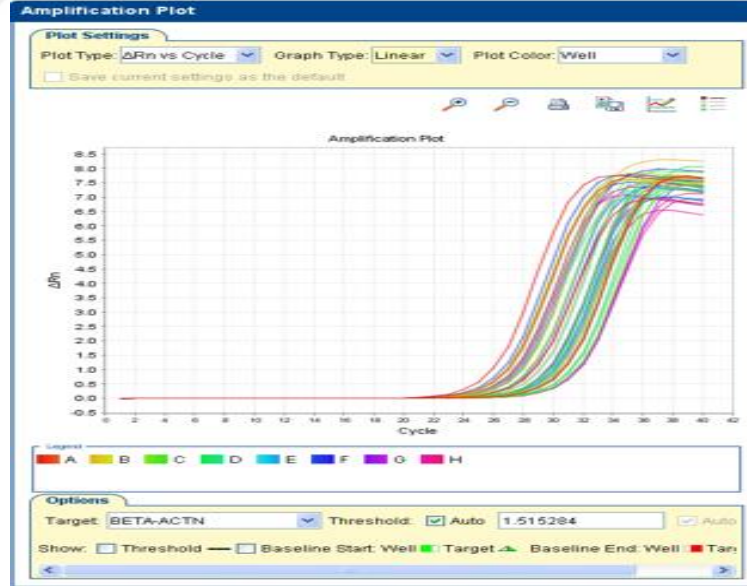
Şekil 4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Cinsiyet Dağılımı

4.1. *ARPCIA* mRNA İfade Analiz Sonuçları

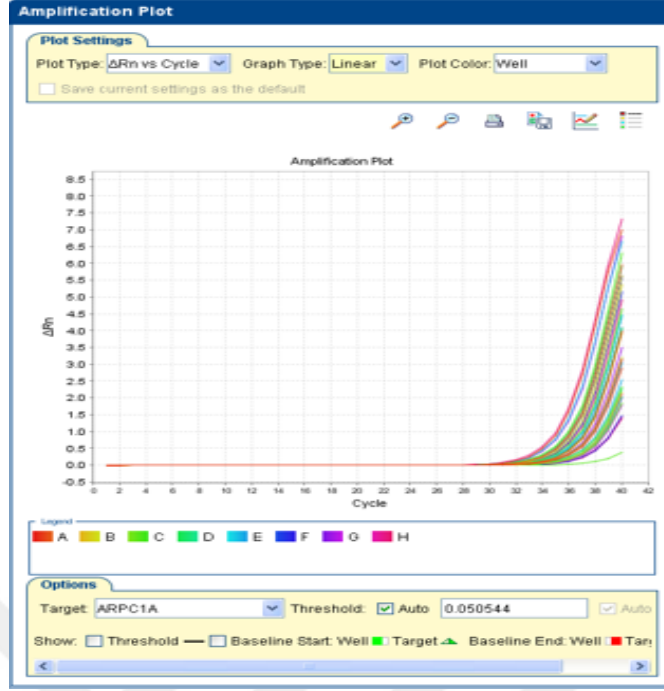
Periodontitisli yapışık diş eti doku örnekleri ve kontrol grubu doku örnekleri için aynı hastadan rezektif gingival cerrahi endikasyon varlığında sağlıklı diş eti dokularında bulunan *ARPCIA* geninin mRNA düzeyinde ifadesi için qRT-PZR analizi gerçekleştirildi. *ARPCIA* ve β -Aktin genlerinin qRT-PZR sonuçları step one plus software v2.3 programı ile kantifikasyonu gerçekleştirildi. *ARPCIA* ve β -Aktin genlerinin Ct (Cycle Threshold) değerleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerlerini hesaplamak için kullanıldı

‘‘Elde edilen değerlerin analizi 0,9 – 1,1 aralığına göre yapıldı. 0,9’dan düşük olan değerlerde normal dokuya oranla periodontitis dokusunda *ARPCIA* geninin ifade düzeyinin azaldığı, 0,9–1,1 aralığında ise normal dokuya göre değişmediği ve 1,1 değerinden yüksek değerlerde ise normal dokuya oranla bir artış olduğu kabul edildi’’ (Schmittgen ve Livak, 2008).

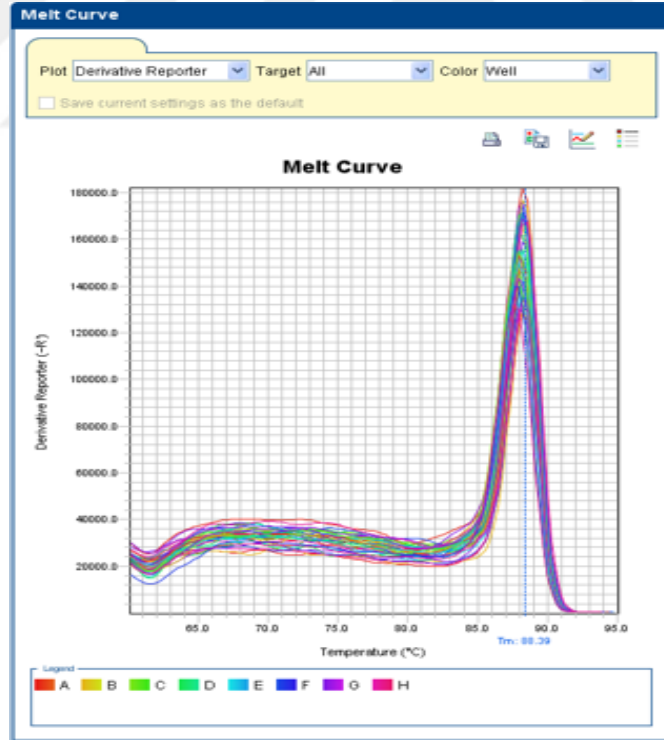
Aşağıdaki şekillerde β -Aktin ve *ARPCIA*'nin amplifikasyon eğrisi ve erime piki qRT-PCR sonucunda gözlenen genler sırasıyla verilmiştir (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5).



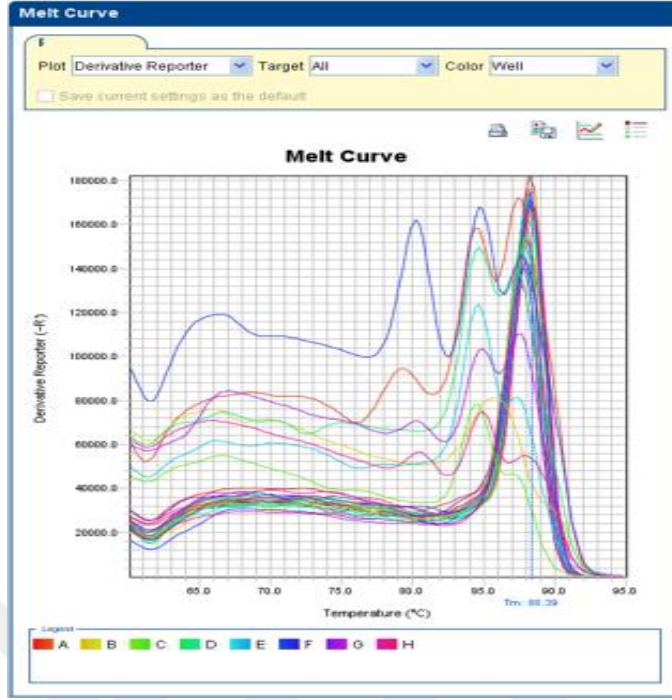
Şekil 4.2. β -Aktin Amplifikasyon Eğrisi



Şekil 4.3. ARPC1A'nın Amplifikasyon Eğrisi

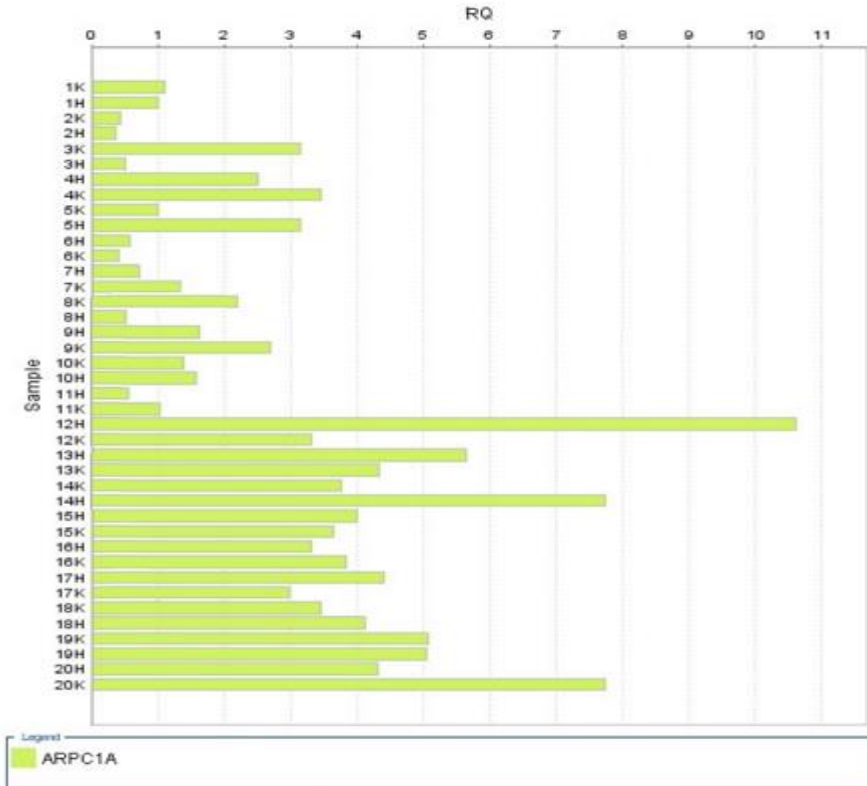


Şekil 4.4. β-Aktin'in Eğrisi



Şekil 4.5. *ARPC1A*'ın Erime Eğrisi

ARPC1A Geni Ekspresyon Grafiği (RQ vs Örnek)



Şekil 4.6. *ARPC1A* Gen Ekspresyonu

Tablo 4.1. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Metodu

$\Delta Ct1$ (Periodontitis Dokusu): *ARPCIA* Geni (CTort)- β -Aktin Geni (CTort)

$\Delta Ct2$ (Kontrol Dokusu): *ARPCIA* Geni (CTort)- β -Aktin Geni (CTort)

$\Delta\Delta Ct$: $\Delta Ct1$ (Periodontitis Dokusu) - $\Delta Ct2$ (Kontrol Dokusu)

$2^{-\Delta\Delta Ct}$: Değeri ise bunun logaritmik olarak kat değişikliğini göstermektedir.

Tablo 4.2. Periodontitis ve Kontrol Dokulara Ait *ARPCIA* ve β -Aktin Ct Değeri

Hasta No	Ct <i>ARPCIA</i> Periodontitis	Ct β -Aktin Periodontitis	Ct <i>ARPCIA</i> Kontrol	Ct β -Aktin Kontrol	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
1	30,68	26,62	32,47	28,55	0,14	0,907519
2	34,16	28,65	34,71	29,43	0,23	0,852635
3	34,13	29,09	30,74	28,33	2,63	0,161544
4	31,36	28,63	30,33	28,06	0,46	0,726986
5	32,31	29,9	31,68	27,63	-1,64	3,116658
6	32,14	27,29	32,88	27,54	-0,49	1,404445
7	33,12	28,58	31,38	27,75	0,91	0,532185
8	34,14	29,18	33,99	31,06	2,03	0,244855
9	32,78	29,42	33,55	30,93	0,74	0,598739
10	31,61	28,2	31,75	28,16	-0,18	1,132884
11	37,13	32,25	34,35	30,32	0,85	0,554785
12	32,59	31,94	34,58	32,25	-1,68	3,20428
13	30,69	29,13	33,25	31,31	-0,38	1,301342
14	31,5	30,39	33,12	30,98	-1,03	2,042024
15	32,46	30,4	33,6	31,4	-0,14	1,101905
16	34,68	32,25	33,98	31,87	0,32	0,80107
17	33,33	31,41	33,17	30,69	-0,56	1,474269
18	31,81	29,8	33	30,73	-0,26	1,197479
19	32,15	30,43	34,12	32,41	0,01	0,993092
20	32,47	30,52	32,01	30,91	0,85	0,554785

4.2. İstatistiksel Analiz

Çalışma gruplarının genel özellikleri hakkında bilgi vermek amacı ile tanımlayıcı analizler yapılmıştır. Sürekli değişkenlere ait veriler ortalama±standart sapma şeklinde; kategorik değişkenlere ilişkin veriler ise n (%) şeklinde verilmektedir. Nicel değişkenlerin gruplar arasındaki ortalamalarını karşılaştırırken İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik testinden yararlanılmaktadır. Nicel değişkenler arasındaki ilişki için pearson korelasyon katsayısından yararlanılmaktadır. p değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda hazır istatistik yazılımı kullanılmıştır (SPSS 22.0 Chicago, IL, USA).

Tablo 4.3. Nitel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler		N	%
Grup	Hasta	20	50,0
	Kontrol	20	50,0
Cinsiyet	Kadın	16	40,0
	Erkek	24	60,0
Diş eti çekilmesi	2	6	30,0%
	3	14	70,0%
Plak skoru	1	4	20,0%
	2	16	80,0%
Kanama skoru	1	5	25,0%
	2	15	75,0%

Tablo 4.4. Nicel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler	Ort.	SS	Min.	Maks.
Yaş	52,15	10,29	34,00	65,00
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	1,15	0,82	0,16	3,20

Tablo 4.5. Gruplara Göre Nitel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler		Grup				χ^2	P
		Hasta		Kontrol			
		n	%	n	%		
Cinsiyet	Kadın	8	40,0	8	40,0	0,000	1,000
	Erkek	12	60,0	12	60,0		
Diş eti çekilmesi	2	6	30,0%	6	30,0%	0,000	1,000
	3	14	70,0%	14	70,0%		
Plak skoru	1	4	20,0%	4	20,0%	0,000	1,000
	2	16	80,0%	16	80,0%		
Kanama skoru	1	5	25,0%	5	25,0%	0,000	1,000
	2	15	75,0%	15	75,0%		

Pearson ki-kare testi kullanıldı

Tablo 4.6. Cinsiyete Göre Nitel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler		Cinsiyet				χ^2	P
		Kadın		Erkek			
		N	%	n	%		
Diş eti çekilmesi	2	4	25,0%	8	33,3%	0,317	,573
	3	12	75,0%	16	66,7%		
Plak skoru	1	0	0,0%	8	33,3%	6,667	0,010
	2	16	100,0%	16	66,7%		
Kanama skoru	1	4	25,0%	6	25,0%	0,001	0,999
	2	12	75,0%	18	75,0%		

Pearson ki-kare testi kullanıldı.

Hastalar demografik verileri doğrultusunda hastalar cinsiyetlerine göre karşılaştırıldı. Hastalar cinsiyetlerine göre yapılan analizde plak oluşumu kadınlarda erkeklere oranla daha yatkındı ($p < 0.05$).

Tablo 4.7. Yaşın Nitel Değişkenlere Göre Dağılımı

Değişkenler		Yaş		t,F	P
		Ort.	SS		
Grup	Hasta	51,15	10,08	0,000	1,000
	Kontrol	51,15	10,08		
Cinsiyet	Kadın	52,88	8,24	0,797	0,378
	Erkek	50,00	10,96		
Diş eti çekilmesi	2	47,17	8,49	4,368	0,043
	3	54,29	10,38		
Plak skoru	1	51,50	13,53	0,039	0,845
	2	52,31	9,58		
Kanama skoru	1	48,20	9,37	2,016	0,164
	2	53,47	10,39		

İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ya da tek yönlü varyans analizi kullanıldı.

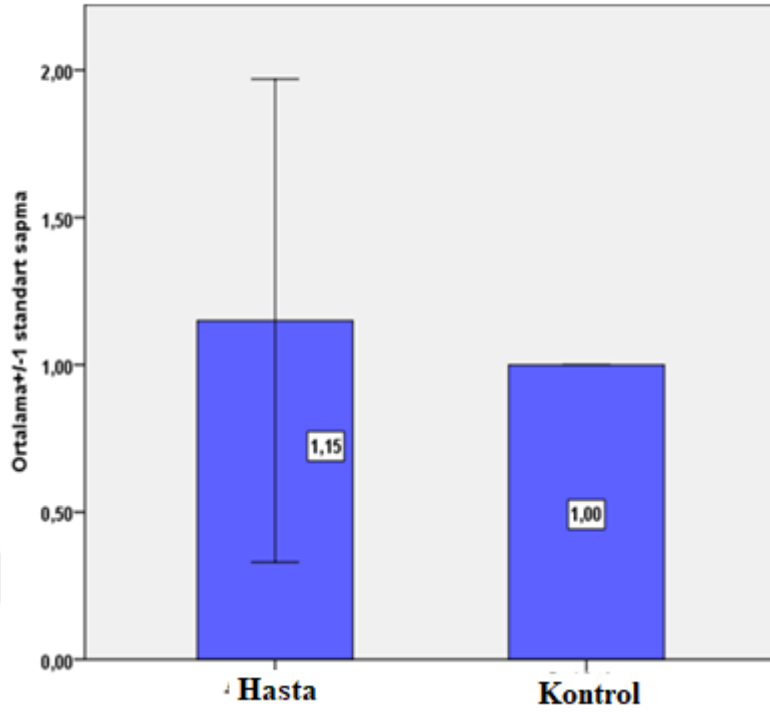
Demografik veriler neticesinde hastalar yaşlarına göre gruplandırılarak analiz yapıldı. Analizde hastaların yaşlarının artmasıyla, dişeti çekilmesinin anlamlı olduğu saptandı.($p<0.05$)

Tablo 4.8. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Değerlerinin Nitel Değişkenlerin Gruba Göre Dağılımı

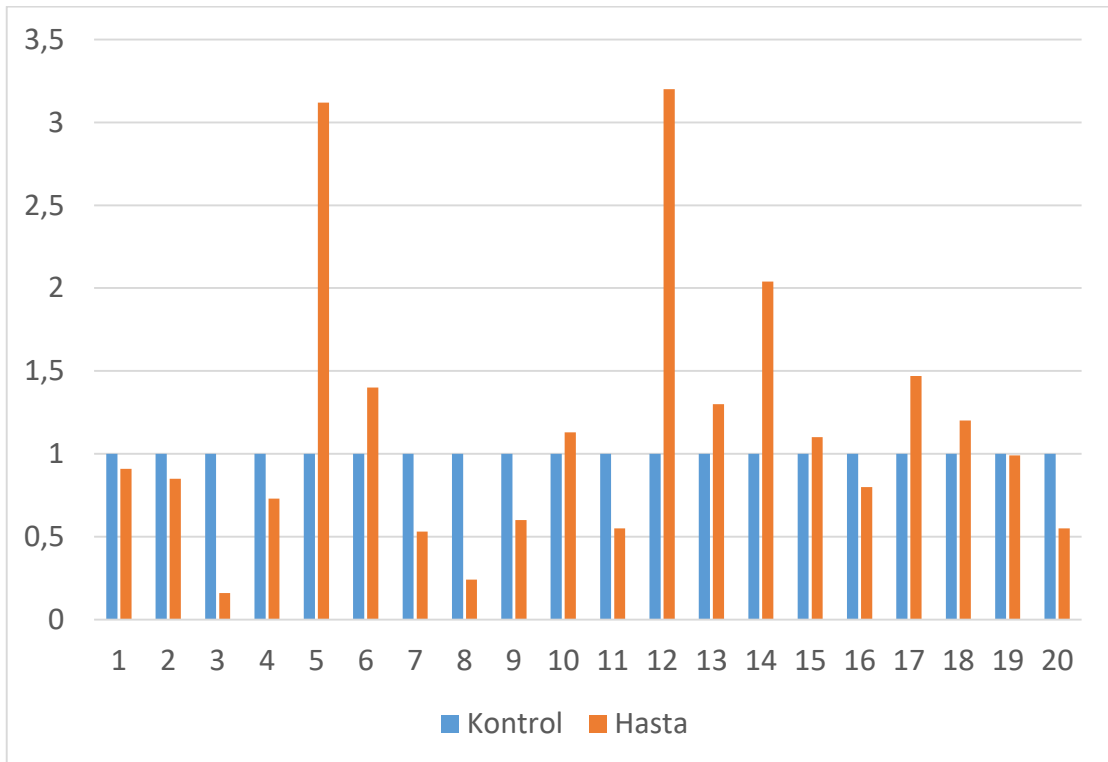
Değişkenler		$2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri		t,F	P
		Ort.	SS		
Grup	Hasta	1,15	0,82	0,628	0,433
	Kontrol	1,00	0,00		
Cinsiyet	Kadın	1,21	0,80	1,440	0,238
	Erkek	0,98	0,35		

İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Nitel değişkenlerin gruba göre dağılımında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı. Çalışmada periodontitis dokusunda *ARPCIA* geninin ekspresyon seviyesi normal dokuyla karşılaştırıldığında periodontitis dokusunda artış olduğu fakat bu artışın ($p=0,433$, değeri $p>0.05$), istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.8) (Tablo 4.8).



Şekil 4.7. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Ortalama $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Değeri



Şekil 4.8. ARPC1A'nın $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Değeri ile Kontrol Doku Grubu Gen Ekspresyonu

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Periodontitis, disbiyotik dental biyofilmin neden olduğu, periodonsiyumun ilerleyici yıkımı ile karakterize edilen önemli kronik multifaktöriyel inflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitis, dünya çapında diş kaybının önde gelen nedenlerinden biridir. Belirgin bir inflamatuvar hücre infiltratı ve yalnızca gingival dokularla sınırlı olmayan, aynı zamanda sistemik konakçı değişikliklerinde rol oynayan proinflamatuvar mediatörlerin bolluğu ve diş eti iltihabı ile karakterizedir (Botelho ve ark., 2021).

Patojenlerin istilasını takiben periodontitisin ilerlemesinin büyük ölçüde mikrobiyomlara karşı yıkıcı inflamatuvar yanıtlara bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu enflamatuvar tepkiler, bağ dokularının yıkımını düzenlemek için çeşitli araçların üretimini teşvik ederken, aynı zamanda kemik rezorpsiyonu (osteoklastlar tarafından) ve kemik oluşumu (osteoblastlar tarafından) arasındaki dengeyi bozarak alveolar kemiğe yol açar. Böylece periodontitisin sürekli gelişimini teşvik eder. Bu nedenle, anormal immün yanıtları, bağ dokularının yıkımını veya osteoblast/osteoklast farklılaşmasının dengesizliğini düzenleyerek anti-inflamatuvar tedaviler geliştirmek için periodontitisin patogenezinde yer alan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır(Lin ve ark.,2021).

Periodontal hastalıklar, dişleri marjinal diş eti ve alveolar kemiğe destekleyen, sabitleyen dokuları etkileyen bir grup hastalıktır. Bunlar gingivitis, akut nekrotizan ülseratif gingivitis, erişkin periodontitis ve lokalize juvenil periodontitistir. Bu hastalıklar bakterilerle başlar. Bakteri türlerinin dengesinde zararsızdan hastalığa neden olan bakteriye doğru bir değişiklik meydana geldiğinde periodontal hastalık gelişir. Bu zararlı bakteriler, plak adı verilen bir film oluşturana kadar kütle ve kalınlık olarak artar. Diş eti iltihabının erken evresinde, plakta biriken bakteri diş etlerinin iltihaplanmasına ve diş fırçalama sırasında kolayca kanamaya neden olur. Haffajee ve Socransky göre marjinal gingivadaki fibröz dokunun bozulması, epitelyal tutunmanın ayrılmasına yol açar. Alveolar kemiğe ilerler ve burada periodontal ligament yönünde rezorbsiyon meydana gelir, bu da kemik altı ceplerinin oluşumuna yol açar. Bu nedenle periodontitis veya yetişkin periodontitis, genellikle marjinal gingivada başlayan ve ilerleyici alveolar kemik

kaybı ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilmiştir (Haffajee ve Socransky, 1986 ; Kirkwood ve ark.,2007).

Hem gingivitis hem de periodontitis, bakteriyel kaynaklı bir inflamatuvar süreçle başlasa da, osteoklastik alveolar kemik rezorpsiyonunu aktive etme sinyallerinde farklılık gösterirler (Séguier ve ark.,2000). Özellikle marjinal diş etinde olmak üzere bozulmuş kollajen liflerinin miktarının periodontitiste oldukça yüksek olduğunu, diş eti iltihabında anlamlı derecede daha az olduğunu ve sağlıklı marjinal diş etinde minör bozulma olduğunu bildirmiştir. Erişkin periodontitisinde, hem marjinal gingivanın yerleşik hücreleri hem de inflamatuvar hücreler dokuyu istila eder. Dişeti kollajenöz fibröz dokusunu bozan, lokal doku bütünlüğünün kaybına ve periodontal yıkıma yol açan metalloproteinazların (MMP'ler) salınımını sağlar. MMP'ler ve TIMP'ler (metalloproteinazların doku inhibitörü) arasındaki bir dengesizliğin, periodontitis sırasında hücre dışı matrisin patolojik yıkımı ile ilişkili olduğu göstermektedir (Kubota ve ark.,1996). Bu olaylar sıklıkla, sitokinleri serbest bırakmak için inflamatuvar hücreleri ve fibroblastları uyaran bakterilerde bulunan lipopolisakkaritler tarafından başlatıldığı göstermektedir (Heasman, 1988).

Hücre iskeletinin hücrelerin normal bazal ön gerilimini kontrol etmede bir anahtar olması ve bu nedenle hemen hemen tüm fizyolojik hücresel süreçlerde yer alması sebebiyle hücre iskeletinde meydana gelen anormallikler birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Periodontitisinde böyle bir hücre iskeleti hastalığı olabileceği düşünülmektedir. Periodontitisin, diş yüzeyi ile marjinal dişeti arasındaki ara yüzde lokal bir inflamatuvar yanıtı indükleyen bakteriyel istila ile başladığı iyi bilinmektedir. Enflamatuvar hücreler, dişeti kollajenöz fibröz dokusunu bozan ve normal ön gerilmeli hücre-hücre dışı matris ağını azaltan lokal doku bütünlüğünün kaybını bozan metalloproteinazları serbest bırakır. Hücresel mekanik algılama, membran kanallarının açılmasına veya hücre iskeleti yapışma moleküllerine afinitelerin değişmesine neden olan moleküler kuvvetlere maruz kalan mekanik duyarlı proteinlerde kuvvetin neden olduğu konformasyonel değişikliklere dayanır, böylece sinyal yollarını aktive eder. Bu nedenle, hücre içi veya hücre dışı yapı ve organizasyondaki değişiklikler yoluyla normal hücre içi kuvvet aktarımındaki herhangi bir değişiklik, azaltılmış veya artan mekanik duyarlı

sinyallerle sonuçlanan değiştirilmiş moleküler kuvvetlere yol açar (Binderman ve ark.,2014).

Hücrelerin içindeki aktin polimerizasyonu, aktin çekirdeklenme faktörleri tarafından başlatılır. Aktin hücre iskeletinin yeniden birleştirilmesi, istilacı hücre göçü için esastır. Aktin nükleatörlerinin kanser progresyonundaki spesifik rolleri için artık çok sayıda klinik kanıt bulunmaktadır. Daha da önemlisi, bu faktörlerin birçoğunun ilerlemiş hastalık ve insan kanserlerinin metastatik yayılımı ile ilişkili olduğu göstermektedir (Nürnberg ve ark., 2011)

Hücre yapışması ve göçünün düzenlenmesi, metastatik sürecin önemli bir bileşenidir. Kanser hücrelerinin geniş bir istila ve göç mekanizması yelpazesine sahip olmasına rağmen, tümör hücresinin çevre dokulara yayılmasının iki ana modu tanımlanmıştır: stres liflerine sahip ve hücre dışı proteolize bağlı uzun hücrelerle mezenkimal fibroblast benzeri göç ve amipoid göç. Yüksek kortikal gerilime ve matrikse düşük yapışmaya sahip yuvarlak hücreler ile karakterizedir. Bu iki göç modu in vitro olarak kolayca ayrılabilir de, kanıtlar bunların birbirini dışlamadığını ve hücrelerin mikroçevredeki değişikliklere yanıt olarak bir türden diğerine dönüşebileceğini göstermektedir. Hücre-hücre bağlantıları ne mezenkimal ne de amaeboid göçte korunmaz. Aktin hücre iskeletinin yeniden şekillenmesi her iki süreçte de temel bir role sahiptir. Gerçekten de, hücre göçünün ilk adımı, yaygın olarak, mezenkimal göçte hücre dışı matrise yapışmak için çıkıntılarının oluşumunu sağlayan ve amaeboid göçte hücre hareketi için hücre içi kasılma kuvvetleri oluşturan dinamik filamentli aktin hücre iskeleti yeniden şekillenmesi şeklini alır (Zucchini ve ark., 2014).

ARPC1A, aktin ile ilgili protein 2/3 (ARP2/3) kompleks ailesinin bir üyesidir. *ARPC1A*, aktin polimerizasyonunda önemli bir oyuncu olan ve böylece hücre hareketliliğini düzenleyen Arp2/3 protein kompleksinin p41 alt birimini kodlar (Zucchini ve ark.,2014). Önceki çalışmalar, ARP2/3 kompleksinin bileşenlerinin mesane, meme, mide ve akciğer kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli tümörlerde yüksek oranda ifade edildiğini bildirmiştir (Xu, ve ark.,2020).

Arp2/3kompleksi yoluyla aktin çekirdeklenmesinin, çeşitli deneysel modellerde tümör hücresi istilası için gerekli olduğu rapor edilmiştir. İnsan kanserlerinin analizi, kolorektal numunelerden hem stromal hem de tümör hücrelerinde güçlü ARP2 ekspresyonunu ortaya koymaktadır. Ayrıca pankreas kanseri hücrelerinde *ARPCIA*'nın susturulması, hücre istilasında dramatik bir azalmaya yol açar. Buna göre, *ACTR2* ve *ARPCIA* osteosarkom hücreleri CD99wt ekspresyonu elde ettiğinde, azalan göç yeteneklerini yansıtarak aşağı regüle edilir. Aktin hücre iskeleti dinamikleri, hücre göçü sırasında itici gücü oluşturduğundan, küçük monomerik GTP azların Rho ailesinin bir aşağı akış efektörü olan ROCK2'nin, osteosarkom hücre göçü üzerindeki CD99 etkilerini düzenlemede yer alması şaşırtıcı değildir. Rho proteinlerinin, göç eden hücrelerin ön ucundaki aktin polimerizasyonunu ve ayrıca stres liflerinin oluşumunu ve fokal yapışma düzeneğini düzenleyerek tümör hücresi istilası ve metastazında çok önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (Hall ve Nobes, 2000 ; Lock ve ark., 2012).

Mahlamaki ve ark. yaptıkları karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) çalışmasında; pankreas kanserinde 7q21-q22'de 3 Mb'lik bir bölgenin tekrar tekrar amplifiye edildiğini ortaya çıkarılmıştır(Mahlamaki ve ark.,2004) Bu bulgu daha sonra birkaç başka mikrodizi araştırmasıyla doğrulanmıştır. Aynı ampikon özofagus, mide ve hepatoselüler kanserler gibi diğer malignitelerde ve ayrıca melanomda da gözlenmiştir. Bu bölge içindeki genlerin uygunsuz aktivasyonunun çok sayıda farklı malignitenin patogenezeine katkıda bulunabileceğini öne sürmektedir (Bashyam ve ark.,2005).

Laurila ve ark., yaptıkları 16 pankreas kanseri hücre hattında ve 29 primer pankreas tümöründe 7q21-q22 ampikonun ayrıntılı bir karakterizasyonunu gerçekleştirmiştir. 16 pankreas kanseri hücre hattında ve 29 primer pankreas tümöründe floresan in situ hibridizasyon analizleri, her iki numune grubundaki vakaların yaklaşık %25'inde artan bir kopya sayısı ortaya çıkarmıştır. On transkript içeren 77 Mb ampikon çekirdek bölgesi qRT-PCR ile yapılan gen ekspresyonu analizleri, *ARPCIA* geni, amplifikasyon ve yüksek ekspresyon arasında istatistiksel olarak en anlamlı korelasyona sahip olduğu görülmüştür ($p=0.004$). *ARPCIA*'nın yüksek düzeyde amplifikasyona ve ekspresyona sahip AsPC-1 hücrelerinde RNA interferansı ile susturulması, hücre proliferasyonunda hafif bir azalmaya, ancak hücre göçü ve invazyonunda büyük bir azalmaya neden olmuştur. *ARPCIA*, aktin polimerizasyonunda önemli bir oyuncu olan ve böylece hücre hareketliliğini düzenleyen Arp2/3 protein kompleksinin p41 alt birimini

kodlar. Birlikte ele alındığında, verileri *ARPC1A*'yı içerdiği göstermiştir. 7q21-q22 amplifikasyonu için yeni bir hedef ve pankreas kanserinde hücre göçü ve istilasının düzenleyicisi olarak, bu nedenle onu antimetastaz tedavisi için ilginç bir hedef haline getirildiği düşünülmüştür (Laurila,2009)

Göç, fagositoz, aktivasyon, sekresyon ve hücre-hücre etkileşimi dahil olmak üzere birçok temel eylem hücre iskeleti mobilizasyonuna bağlı olduğundan, hücre iskeleti özellikle bağışıklık sisteminin hücreleri için önemlidir (Wickramarachchi ve ark., 2010). Bağışıklıkta aktin hücre iskeletinin önemi ilk olarak aktin polimerizasyonundaki kusurların neden olduğu immün yetmezlikler tespit edildiğinde kabul edilmiştir. Aktin polimerizasyonunun tamamen kaybolması yaşama uyumlu olmasada, bağışıklık hücreleri mutasyona uğradıklarında, aktin hücre iskeleti dinamiklerinin ve hastalığa neden olan bir dizi benzersiz aktin düzenleyicinin ifadesinin değişmesine sebep olmuştur(Tolar, 2017). Bağışıklık ve hematolojik hücrelerde aktin hücre iskeletinin koordineli olarak yeniden düzenlenmesinin önemi, bu sürecin bozulduğu insanlarda çeşitli hastalıklarla vurgulanmaktadır(Park ve ark., 2010).

Son yıllardaki çalışmalar, Arp2/3 kompleksinin bağışıklık hücresi sinapslarının oluşumu için kritik olduğunu ve Arp2/3 kompleksi bileşeninin kaybının, lenfosit fonksiyon bozukluğu ve inflamatuvar hastalığa yatkınlık oluşturduğunu göstermiştir (Kahr ve ark.,2017; Malinova ve ark.,2016). Hücre içi aktin monomerlerinin hücre yapısını oluşturan ve hücre-hücre bağlantılarının oluşumunda, patojenlerin hareketliliğinde ve veziküllerin taşınmasında rol oynayan süreçleri destekleyen mikrofilamentlere montaj sürecini kolaylaştırmak ve aktin filament nükleasyonu sürecinde kanser hücrelerinde invaziv psödopodinin oluşumunda önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Anormal göç ve invazyon tümör metastazı için kritik faktörler olduğu göstermektedir (Huang ve ark.,2021)

Arp2/3 kompleksi, aktin polimerizasyonunun düzenlenmesi yoluyla çeşitli hücre aktivitelelerinde çok önemli rollere hizmet etmektedir. Bağışıklık hücreleri, istirahatte düşük seviyeli, yapısal sinyalleşme (tonik sinyalleşme) sergiler. Bu tür tonik sinyaller, B lenfositlerinin hayatta kalması da dahil olmak üzere temel süreçler için gereklidir, ancak genetik veya çevresel nedenlerle yükseldiklerinde, otoimmüniteye yol

açabilirler. Devam eden sinyal iletimini kontrol eden olaylar, bu nedenle, F-aktin gibi alt zar hücre iskeleti polimerleri tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir (Pan ve ark.,2004). Leung ve ark., *ARPC1B* eksikliği olan hastaları araştırarak, *ARPC1B* içeren ARP2/3 komplekslerinin Wiskott Aldrich Sendromu proteini (WASP) tarafından B hücre reseptöründen (BCR) gelen tonik sinyali kontrol eden dallı aktin ağlarını çekirdeklendirmek için uyarıldığını bildirmiştir. *ARPC1A*'nın düzenlenmesine rağmen, *ARPC1B* eksikliği olan hücreler, ARP2/3 tarafından WASP aracılı çekirdeklenme yeteneğine sahip olmadığı görülmüştür. Bu, makrofajlardaki podozomlar ve B hücrelerindeki lamellipodia dahil olmak üzere WASP'ye bağlı yapıların kaybına neden olmuştur. B hücresi bölmesinde, *ARPC1B* eksikliği ayrıca normalde B hücre reseptörlerin difüzyonunu engelleyen ve sonuçta artan tonik lipid sinyalleşmesi, endoplazmik retikulumdan salınımlı kalsiyum salınımı ve fosforile edilmiş Akt ile sonuçlanan kortikal F-aktin hücre iskeletinin zayıflamasına neden olmuştur. Bu olaylar, mikrobiyal ilişkili moleküler modellere (MAMP'ler) yanıt olarak B hücresi aktivasyonu eşliğinin eğrilmesine katkıda bulunmuştur (Leung ve ark.,2021).

Doğuştan gelen bağışıklık bölmesindeki kusurların *ARPC1B* eksikliğinin klinik özelliklerine katkıda bulunup bulunmadığını anlamak için hasta makrofajlarının hücre dışı matrisi ve fagositoz partiküllerini yeniden şekillendirme yeteneğini değerlendirdirilmiştir. (Ostrowski ve ark., 2019). *ARPC1B* eksikliği olan makrofajların alt tabakalarını bozup bozmadığını belirlemek için, *ARPC1B* eksikliği olan hastalardan veya kontrol donörlerinden türetilen makrofajları floresan etiketli jelatin üzerine ekilmiştir. Bu koşullar altında, *ARPC1B*'yi eksprese eden makrofajlar jelatini bozarken, *ARPC1B* eksikliği olan hastalardan gelen makrofajlar bunu yapmamıştır. Matriks bozunmasındaki ve podozom oluşumundaki kusurlara rağmen, çeşitli fagositik hedeflerle zorlu kontrol ve hasta primer makrofajları üzerine, Fc ve kompleman aracılı fagositozda sadece küçük düşüşler bulunmuştur. Bu da ARP2/3'e bağlı süreçler olarak tanımlanmıştır (Rotty ve ark., 2017). Bu nedenle, *ARPC1B*'nin kalan ifadesinin veya yukarı regüle edilmiş *ARPC1A*'nın fagositik etkinlik için yeterli görüldüğü ve fagositozdaki değişikliklerin *ARPC1B* eksikliği ile ilişkili bağışıklık kusurlarını açıklama olasılığının düşük olduğu sonucuna varılmıştır (Leung ve ark.,2021).

Ma ve ark., yaptıkları Multipl miyelomu (MM) hastalığı olan çalışmada; *ARPC1A*, FGA, P26s4 ve DBL2'nin protein ifadeleri, 12 Multipl miyelomu (MM) hastası ve 10 sağlıklı kontrolden oluşan bağımsız bir kohortta immüno blotlama ile ölçülmüştür. MM hastalarının serum numunelerinin immüno blotlama analizi ve sağlıklı kontroller, yaşları eşleştirilmiş bağımsız bir vaka grubu üzerinde MM hastalarında *ARPC1A* ve FGA'nın yukarı doğru düzenlenirken, MM hastalarında P26s4 ve DBL2'nin aşağı doğru düzenlendiğini doğrulanmıştır. RT-qPCR analizi, ekspresyonu doğrulanmış 5 protein arasından sadece *ARPC1A*'nın mRNA seviyesinde eksprese edildiğini göstermiştir. FGA, PSMC1 (P26s4'ü kodlayan) ve MCF2'nin (DBL2'yi kodlayan) mRNA ekspresyonu, MM ve kontrol numuneleri arasında önemli ölçüde değişmediği görülmüştür ($p>0.05$) (Ma ve ark., 2019).

Kahr ve ark., mikrotrombositopeni, eozinofili ve inflamatuvar hastalığı olan çalışmada; Arp2/3 bileşenlerinin ifadesi normal, etkilenmemiş aile üyelerinde ve hasta trombosit lizatlarında immüno blot analizi ile incelemiştir. Hasta 1'de *ARPC1B*'nin olmadığını gösteren ve Hasta 2 ve 3'teki seviyeleri büyük ölçüde azaltan diğer Arp2/3 bileşenlerinin (ARP2, ARP3, ARPC2, ARPC3 ve ARPC5) ve WASP tüm hastalarda ve ayrıca etkilenmemiş aile üyelerinde normal olduğu görülmüştür. *ARPC1B* seviyesinin 6%'sında mevcut olduğunu ve hücre/doku tipleri arasında önemli ölçüde farklılık gösteren izoform seviyeleri ve oranları olduğunu göstermektedir. Normal trombositlerde *ARPC1A*'nın *ARPC1B*'ye göre düşük ekspresyonunu ve *ARPC1B* eksikliği olan hücrelerde *ARPC1A*'nın arttığını gözlemlenmiştir. Trombositler çekirdekten yoksun olduğundan, bu *ARPC1B* eksikliği olan trombosit öncü megakaryositlerinde (MK'ler) *ARPC1A*'nın yukarı regülasyonunu göstermiştir. Bu, HeLa hücrelerinde *ARPC1A* ekspresyonunu bastırmak için siRNA kullanıldığında *ARPC1B*'nin bildirilen yukarı regülasyonuna paralel görülmüştür. Aynı çalışma, *ARPC1B* kaybının diğer Arp2/3 bileşenlerinin ifadesi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını da bildirmiştir (Kahr ve ark., 2017).

Hücre iskeletini yeniden düzenlemek için mikrofilament bağlayıcı proteinlerin aktivitesini modüle etmede birkaç hücre dışı sinyal yer alır. Rho GTPaz ailesinin hücre iskeleti organizasyonunu desteklediğine inanılmaktadır. Cdc42, Rac1 ve RhoA, Rho GTPaz ailesinin ana üyeleridir ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesinde farklı rollere sahiptir(Liu ve ark., 2021).

N-WASP, hücre göçünü, reseptör sinyalini ve immün inflamatuvar yanıtları teşvik etmede hayati bir rol oynar. Wiskott-aldrich sendromu (WAS), egzama, trombositopeni, immün yetmezlik ve otoimmünite ile karakterize X'e bağlı bir hastalıktır. WAS'ın görünümü, wiskott-aldrich sendromu proteinindeki (WASP) çeşitli gen mutasyonları ile ilişkilidir. N-WASP, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesinde yer alan WASP ailesinin hayati bir bileşenidir. N-WASP nakavtının farelerde esas olarak sedef hastalığı olarak immün yetmezliğe ve kronik cilt iltihabına neden olduğunu bulmuştur (Li ve ark., 2018). Sedef hastalığının immünopatogenezi, psoriatik plaktaki dendritik hücreler (DC'ler), T hücreleri ve keratinositler tarafından üretilen doğuştan gelen ve edinilmiş immün hücre tipleri ve immün faktörler arasındaki karmaşık etkileşimden oluşur (Levine ve Gottlieb, 2009). Bunlara ek olarak, bakteriler sedef hastalığının immünopatogenezinde önemli bir rol oynamıştır (Fry ve ark., 2015). Psoriatik lezyonların görünümü ve alevlenmesi, interlökin (IL)-6, plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1) ve kronik proinflamatuvar durumu yükselten bazı hormonlar (leptin, resistin) gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Naldi, 2016).

Hem periodontitis hem de sedef hastalığı kronik inflamatuvar hastalıklardır. Psoriasis, periodontitis ile aynı inflamatuvar sürece sahiptir (Antal ve ark., 2014). Sedef hastalığının immünopatogenezinin ve periodontitisin alevlenmesinin, değişmiş T-lenfosit aracılı bağışıklık ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Ohlrich ve ark., 2009). Ganzetti ve ark., yaptığı çalışmada; tümör nekroz faktörü (TNF)- α , dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β 1, IL-1 β ve CCL2'nin tükürük ekspresyonunun, TGF- β 1, IL-1 β arasında pozitif bir korelasyon ile psoriaziste istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir(Ganzetti ve ark., 2015)

Wang ve ark., N-WASP nakavt farelerin diş eti dokusu çalışmasında; periodontitis ile ilgili bir dizi sitokinin ekspresyonunu analiz edilmiştir. IL-6, IL-8, CCL2, SOD2 ve PTGS2'nin mRNA ekspresyonu, HGF'lerde N-WASP yıkımından sonra arttırılmış ve 48 saatte maksimuma ulaşmıştır. Bununla birlikte, sitokinlerin gen ekspresyon profilleri, salgılanan protein seviyeleri ile tutarlı olmadığı görülmüştür. Fare dişeti fibroblastlarında(HGF) IL-8 ve CCL2'nin protein seviyeleri, mRNA ekspresyonu ile tutarlı olan N-WASP yıkımından sonra zamana bağlı olarak artmış Oysa IL-6 protein üretimi, mRNA düzeyine kıyasla nispeten kısa sürede maksimuma ulaştığı görülmüştür. mRNA seviyelerinin transkripsiyon ile protein seviyelerinin ise translasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, *N-WASP*'ın periodontal hastalığın immünopatogenezinde kritik bir rol oynadığını *N-WASP*'ın periodontitis patogenezindeki tam mekanizmasının ele alınması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyduğunu ileri sürülmüştür (Wang ve ark., 2020).

Literatürü incelediğimiz kadarıyla aktin ile ilgili protein ARP2/3 kompleks ailesinin bir yesi olan *ARPC1A* geninin periodontitis gelişimi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Fakat periodontitisle aynı patogenezi paylaşan N-WASP, sedef hastalığı ile ilişkilidir ve sedef hastalığı, periodontitis ile aynı risk faktörlerine ve inflamatuar süreçlere sahiptir. *N-WASP*, Arp2/3 kompleksinin aktivasyonu yoluyla aktin hücre iskeletini düzenler ve *ARPC1A* ile aynı sinyal yollağında yer alır.

Tüm bu verileri değerlendirerek aktin ile ilgili protein ARP2/3 kompleks ailesinin bir yesi olan *ARPC1A* geninin periodontitis dokusunda analizini gerçekleştirdik.

Yaptığımız çalışmada periodontitis dokusunda *ARPC1A* geninin ekspresyon seviyesi normal dokuyla karşılaştırıldığında periodontitis dokusunda artış olduğu fakat bu artışın ($p=0,433$, değeri $p>0.05$), istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Literatürdeki çalışmalarda epidemiyolojik ve biyolojik veriler, periodontitisin; kronik akciğer hastalığı (Shi ve ark., 2018), kronik böbrek hastalığı (Deschamps-Lenhardt ve ark., 2019), diyabet (Oguntimein ve ark., 2020), romatoid artrit (Leech ve Bartold, 2015), psöriyazis (Ungprasert ve ark., 2017), psöriyatik artrit (Üstün ve ark., 2013), ankilozan spondilit, sedef hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBD) Crohn hastalığı ve ülseratif kolit (Baker ve Isaacs, 2018; Katsanos ve ark., 2019), gibi çeşitli sistemik hastalıklar arasındaki potansiyel bağlantıları göstermektedir. Periodontal hastalıklar, sistemik hastalıklarla inflamasyon sürecinin bir çok özelliğini paylaşır ve hastalık tabloları iç içe geçmiş gibi görünmektedir (Ebersole ve ark., 2016; Franceschi ve ark., 2017).

Bizim çalışmamızda 5,6,10,12,13,14,15,17,18 hastalarının ekspresyon seviyesinin kontrol gruba göre daha fazla artış görüldü (şekil 4.8). Bu hastalar bilinmeyen sistemik hastalıklara sahip olabilirler.

Sonuç olarak, tüm bu veriler ışığında günümüze kadar yapılmış olan çalışmaların bazılarında *ARPCIA* geninin bazı hastalarda aşırı eksprese edilirken bazılarında ise anlamlı bir artış olmamıştır. Bu sonuçların farklı etkileri olduğu gösterilmektedir. Bu çalışmaların çoğunda sınırlı sayıda örnek analiz edilmiştir. Çalışmamızda *ARPCIA* geninin periodontitisle anlamlı bir artış olmamıştır. Fakat anlamlı olmasada artışın olması periodontitis dokusu oluşumu ve gelişiminde *ARPCIA* geninin rolü olabileceğini düşündürmektedir. Literatürü incelediğimiz kadarıyla *ARPCIA* geni ile periodontitis gelişimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı spesifik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *ARPCIA* genin periodontitis gelişimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı spesifik bir çalışmaya rastlanılmamış olması çalışmamızı özgün kılmaktadır. Çalışmamız bu yönüyle hem Türkiye’de hem de dünyada ilk olma özelliği taşımaktadır. Çalışmamızın özgün nitelikte olması, görece örneklem sayısının az olması, periodontitis ve *ARPCIA* geni arasındaki ilişkinin daha fazla çeşitli çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmamız Türk toplumunda ve dünyada yapılmış, literatürdeki ilk çalışma olması, yapılacak yeni çalışmalara fikir vermesi açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Ababneh, K. T., Hwajj, Z. M. F. A., & Khader, Y. S. (2012). Prevalence and risk indicators of gingivitis and periodontitis in a Multi-Centre study in North Jordan: a cross sectional study. *BMC oral health*, *12*(1), 1-8.
- Abella, J. V., Galloni, C., Pernier, J., Barry, D. J., Kjær, S., Carlier, M. F., & Way, M. (2016). Isoform diversity in the Arp2/3 complex determines actin filament dynamics. *Nature cell biology*, *18*(1), 76-86.
- Ainamo, J. (1982). Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int. dent. J.*, *32*, 281-291.
- Albandar, J. M., Susin, C., & Hughes, F. J. (2018). Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology*, *45*, S171-S189.
- Albert, D. A., Ward, A., Allweiss, P., Graves, D. T., Knowler, W. C., Kunzel, C., ... & Lalla, E. (2012). Diabetes and oral disease: implications for health professionals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1255*, 1.
- Ambili, R., Preeja, C., Archana, V., Nisha, K. J., Seba, A., & Reejamol, M. K. (2014). Viruses: are they really culprits for periodontal disease? A critical review. *Journal of investigative and clinical dentistry*, *5*(3), 179-187.
- Antal, M., Braunitzer, G., Mattheos, N., Gyulai, R., & Nagy, K. (2014). Smoking as a permissive factor of periodontal disease in psoriasis. *PLoS One*, *9*(3), e92333.
- Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology*, *4*(1), 1-6.)
- Aseervatham, J. (2020). Cytoskeletal remodeling in cancer. *Biology*, *9*(11), 385.
- Baelum, V., & Papapanou, P. N. (1996). CPITN and the epidemiology of periodontal disease Commentary. *Community dentistry and oral epidemiology*, *24*(6), 367-368.

- Baker, K. F., & Isaacs, J. D. (2018). Novel therapies for immune-mediated inflammatory diseases: what can we learn from their use in rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, systemic lupus erythematosus, psoriasis, Crohn's disease and ulcerative colitis?. *Annals of the rheumatic diseases*, 77(2), 175-187.
- Balasubramaniam, L., Mège, R. M., & Ladoux, B. (2022). Active nematics across scales from cytoskeleton organization to tissue morphogenesis. *Current Opinion in Genetics & Development*, 73, 101897.
- Balta, E., Kramer, J., & Samstag, Y. (2021). Redox regulation of the actin cytoskeleton in cell migration and adhesion: on the way to a spatiotemporal view. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 1826.
- Bartold, P. M., & Van Dyke, T. E. (2013). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000*, 62(1), 203-217.
- Bartova, J., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Mysak, J., Prochazkova, J., Duskova, J., ... & Podzimek, S. (2014). Periodontitis as a risk factor of atherosclerosis. *Journal of immunology research*, 2014. Volume 2014, Article ID 636893, 9 pages
- Bashyam, M. D., Bair, R., Kim, Y. H., Wang, P., Hernandez-Boussard, T., Karikari, C. A., ... & Pollack, J. R. (2005). Array-based comparative genomic hybridization identifies localized DNA amplifications and homozygous deletions in pancreatic cancer. *Neoplasia*, 7(6), 556-IN16.
- Becerra-Ruiz, J. S., Guerrero-Velázquez, C., Martínez-Esquivias, F., Martínez-Pérez, L. A., & Guzmán-Flores, J. M. (2021). Innate and adaptive immunity of periodontal disease. From etiology to alveolar bone loss. *Oral Diseases*. DOI: 10.1111/odi.13884, 1-7.
- Beck, J. D., & Offenbacher, S. (2001). The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. *Annals of Periodontology*, 6(1), 9-15.
- Bergström, J. (2004). Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology*, 92(1), 1-8.
- Binderman, I., Gadban, N., & Yaffe, A. (2014). Cytoskeletal disease: a role in the etiology of adult periodontitis. *Oral diseases*, 20(1), 10-16.

- Botelho, J., Machado, V., Hussain, S. B., Zehra, S. A., Proença, L., Orlandi, M., ... & D'aiuto, F. (2021). Periodontitis and circulating blood cell profiles: a systematic review and meta-analysis. *Experimental Hematology*, *93*, 1-13.
- Butler, G. S., Butler, M. J., Atkinson, S. J., Will, H., Tamura, T., Van Westrum, S. S., ... & Murphy, G. (1998). The TIMP2 membrane type 1 metalloproteinase “receptor” regulates the concentration and efficient activation of progelatinase A: a kinetic study. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(2), 871-880.
- C. Wickramarachchi, D., Theofilopoulos, A. N., & Kono, D. H. (2010). Immune pathology associated with altered actin cytoskeleton regulation. *Autoimmunity*, *43*(1), 64-75.
- Cardoso, E. M., Reis, C., & Manzanares-Céspedes, M. C. (2018). Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgraduate medicine*, *130*(1), 98-104.
- Carter, S. S. D., Costa, P. F., Vaquette, C., Ivanovski, S., Hutmacher, D. W., & Malda, J. (2017). Additive biomanufacturing: an advanced approach for periodontal tissue regeneration. *Annals of biomedical engineering*, *45*(1), 12-22.
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., ... & Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*, *89*(S1) 1-8.
- Chavier, C. (1990). The elastic system fibres in healthy human gingiva. *Archives of oral biology*, *35*, S223-S225.
- Chorev, D. S., Moscovitz, O., Geiger, B., & Sharon, M. (2014). Regulation of focal adhesion formation by a vinculin-Arp2/3 hybrid complex. *Nature communications*, *5*(1), 1-11.
- Chung, S. D., Tsai, M. C., Huang, C. C., Kao, L. T., & Chen, C. H. (2016). A population-based study on the associations between chronic periodontitis and the risk of cancer. *International journal of clinical oncology*, *21*(2), 219-223.

- Clark, M. B., & Clark, D. A. (2018). Oral development and pathology. *Ochsner Journal*, 18(4), 339-344.
- Corey, L. A., Nance, W. E., Hofstede, P., & Schenkein, H. A. (1993). Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *Journal of periodontology*, 64(12), 1205-1208.
- Curtis, M. A., Diaz, P. I., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 14-25.
- Dave, S., & Van Dyke, T. E. (2008). The link between periodontal disease and cardiovascular disease is probably inflammation. *Oral diseases*, 14(2), 95-101.
- Deschamps-Lenhardt, S., Martin-Cabezas, R., Hannedouche, T., & Huck, O. (2019). Association between periodontitis and chronic kidney disease: Systematic review and meta-analysis. *Oral diseases*, 25(2), 385-402.
- Eaton, W. W., Rose, N. R., Kalaydjian, A., Pedersen, M. G., & Mortensen, P. B. (2007). Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. *Journal of autoimmunity*, 29(1), 1-9.
- Ebersole, J. L., Graves, C. L., Gonzalez, O. A., Dawson Iii, D., Morford, L. A., Huja, P. E., ... & Wallet, S. M. (2016). Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontology 2000*, 72(1), 54-75.
- Enevold, C., Nielsen, C. H., Molbo, D., Lund, R., Bendtzen, K., Fiehn, N. E., & Holmstrup, P. (2019). Lewis and ABO blood group-phenotypes in periodontitis, cardiovascular disease, obesity and stroke. *Scientific reports*, 9(1), 1-7.
- Fassmann, A., Holla, L. I., Buckova, D., Vasku, A., Znojil, V., & Vanek, J. (2003). Polymorphisms in the +252 (A/G) lymphotoxin-alpha and the -308 (A/G) tumor necrosis factor-alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population. *Journal of periodontal research*, 38(4), 394-399.
- Fitzpatrick, S. G., & Katz, J. (2010). The association between periodontal disease and cancer: a review of the literature. *Journal of dentistry*, 38(2), 83-95.
- Fletcher, D. A., & Mullins, R. D. (2010). Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 463(7280), 485-492.

- Foster, B. L., Ao, M., Salmon, C. R., Chavez, M. B., Kolli, T. N., Tran, A. B., ... & Somerman, M. J. (2018). Osteopontin regulates dentin and alveolar bone development and mineralization. *Bone*, *107*, 196-207.
- Foster, B. L., Nociti Jr, F. H., & Somerman, M. J. (2013). Tooth root formation. *Stem Cells, Craniofacial Development and Regeneration*. Wiley-Blackwell, 153-177.
- Franceschi, C., Garagnani, P., Vitale, G., Capri, M., & Salvioli, S. (2017). Inflammaging and 'Garb-aging'. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *28*(3), 199-212.
- Fry, L., Baker, B. S., Powles, A. V., & Engstrand, L. (2015). Psoriasis is not an autoimmune disease?. *Experimental dermatology*, *24*(4), 241-244.
- Galvão-Moreira, L. V., & Da Cruz, M. C. F. N. (2016). Oral microbiome, periodontitis and risk of head and neck cancer. *Oral oncology*, *53*, 17-19.
- Ganzetti, G., Campanati, A., Santarelli, A., Pozzi, V., Molinelli, E., Minnetti, I., ... & Offidani, A. (2015). Involvement of the oral cavity in psoriasis: results of a clinical study. *British Journal of Dermatology*, *172*(1), 282-285.
- Gasparoni, L. M., Alves, F. A., Holzhausen, M., Pannuti, C. M., & Serpa, M. S. (2021). Periodontitis as a risk factor for head and neck cancer. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, *26*(4), e430.
- Gemmell, E., Marshall, Rı Ve Seymour, Gj (1997). İmmün homeostazda sitokinler ve prostaglandinler ve periodontal hastalıkta doku yıkımı. *Periodontoloji 2000* , *14* (1), 112-143.
- Genco, R. J., Mashimo, P. A., Krygier, G., & Ellison, S. A. (1974). Antibody-mediated effects on the periodontium. *Journal of periodontology*, *45*(5P2), 330-337.
- Grandy, C., Port, F., Pfeil, J., & Gottschalk, K. E. (2022). Influence of ROCK Pathway Manipulation on the Actin Cytoskeleton Height. *Cells*, *11*(3), 430.
- Graziani, F., Karapetsa, D., Alonso, B., & Herrera, D. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease?. *Periodontology 2000*, *75*(1), 152-188.

- Gurav, A. N. (2012). Periodontitis and insulin resistance: casual or causal relationship?. *Diabetes & metabolism journal*, 36(6), 404-411.
- Günel, T.,(2007). Gen Anlatımının Kantitatif Analizi ‘‘Real-Time PCR’’, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007.27:763-767.
- Haffajee Ad, Socransky Ss (1986). Attachment level changes in destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 13: 461–475.
- Hajishengallis, G. (2014). The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular oral microbiology*, 29(6), 248-257.
- Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature reviews immunology*, 15(1), 30-44.
- Hajishengallis, G., & Sahingur, S. E. (2014). Novel inflammatory pathways in periodontitis. *Advances in dental research*, 26(1), 23-29.
- Hajishengallis, G., Darveau, R.P. Ve Curtis, M.A. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiology* 10: 717–725.
- Hall, A., & Nobes, C. D. (2000). Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 355(1399), 965-970.
- Hart, T. C., Shapira, L., & Van Dyke, T. E. (1994). Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 65, 521-529.
- Heasman, P. A. (1988). The role of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the management of periodontal disease. *Journal of dentistry*, 16(6), 247-257.
- Hienz, S. A., Paliwal, S., & Ivanovski, S. (2015). Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *Journal of immunology research*, Volume 2015 , Article ID 615486
- Hillman, J. D., Socransky, S. S., & Shivers, M. (1985). The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Archives of Oral Biology*, 30(11-12), 791-795.

- Huang, S., Li, D., Zhuang, L., Sun, L., & Wu, J. (2021). Identification of Arp2/3 Complex Subunits as Prognostic Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma. *Front. Mol. Biosci.* 8:690151. doi: 10.3389/fmolb.2021.690151
- Huang, X., Xie, M., Xie, Y., Mei, F., Lu, X., Li, X., & Chen, L. (2020). The roles of osteocytes in alveolar bone destruction in periodontitis. *Journal of Translational Medicine*, 18(1), 1-15
- Ioannidou, E. (2017). The sex and gender intersection in chronic periodontitis. *Frontiers in public Health*, 5, 189.
- Jacobson, D. L., Gange, S. J., Rose, N. R., & Graham, N. M. (1997). Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clinical immunology and immunopathology*, 84(3), 223-243.
- Jamil, N. A., Chau, S. H., Razak, N. I. A., Kamar, I. I. S., Mohd-Said, S., Rani, H., & Sameeha, M. J. (2021). Development and evaluation of an integrated diabetes-periodontitis nutrition and health education module. *BMC medical education*, 21(1), 1-9.
- Janssen, E., & Geha, R. S. (2019). Primary immunodeficiencies caused by mutations in actin regulatory proteins. *Immunological reviews*, 287(1), 121-134.
- Jiang, X., Qin, Y., Kun, L., & Zhou, Y. (2021). The significant role of the microfilament system in tumors. *Frontiers in Oncology*, 11, 333.
- Joshi, D., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Advanced drug delivery approaches against periodontitis. *Drug delivery*, 23(2), 363-377.
- Kahr, W. H., Pluthero, F. G., Elkadri, A., Warner, N., Drobac, M., Chen, C. H., ... & Muise, A. M. (2017). Loss of the Arp2/3 complex component ARPC1B causes platelet abnormalities and predisposes to inflammatory disease. *Nature communications*, 8(1), 1-14.
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of dental research*, 93(11), 1045-1053.

- Katsanos, K. H., Papamichael, K., Feuerstein, J. D., Christodoulou, D. K., & Cheifetz, A. S. (2019). Biological therapies in inflammatory bowel disease: Beyond anti-TNF therapies. *Clinical Immunology*, *206*, 9-14.
- Khanna, C., Wan, X., Bose, S., Cassaday, R., Olomu, O., Mendoza, A., ... & Helman, L. J. (2004). The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. *Nature medicine*, *10*(2), 182-186.
- Kim, J., & Amar, S. (2006). Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology*, *94*(1), 10-21.
- Kim, S. R., & Nam, S. H. (2021). Comparison of Diagnosed Depression and Self-Reported Depression Symptom as a Risk Factor of Periodontitis: Analysis of 2016–2018 Korean National Health and Nutrition Examination Survey Data. *International journal of environmental research and public health*, *18*(3), 871.
- Kirkwood Kl, Cirelli Ja, Rogers Je, Giannobill Wv (2007). Novel host response therapeutic approach to treat periodontal disease. *Periodontol 2000*: 294–315.
- Kiuchi, T., Nagai, T., Ohashi, K., & Mizuno, K. (2011). Measurements of spatiotemporal changes in G-actin concentration reveal its effect on stimulus-induced actin assembly and lamellipodium extension. *Journal of Cell Biology*, *193*(2), 365-380.
- Krishnan, V., & Davidovitch, Z. E. (2006). Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, *129*(4), 469-e1
- Kubota, T., Itagaki, M., Hoshino, C., Nagata, M., Morozumi, T., Kobayashi, T., ... & Yoshie, H. (2008). Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue. *Journal of periodontology*, *79*(1), 166-173.
- Kubota, T., Nomura, T., Takahashi, T., & Hara, K. (1996). Expression of mRNA for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in periodontitis-affected human gingival tissue. *Archives of Oral Biology*, *41*(3), 253-262.

- Kühbacher, A., Emmenlauer, M., Rämö, P., Kafai, N., Dehio, C., Cossart, P., & Pizarro-Cerdá, J. (2015). Genome-wide siRNA screen identifies complementary signaling pathways involved in *Listeria* infection and reveals different actin nucleation mechanisms during *Listeria* cell invasion and actin comet tail formation. *MBio*, *6*(3), e00598-15.
- Laine, M. L., Crielaard, W., & Loos, B. G. (2012). Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontology 2000*, *58*(1), 37-68.
- Lamont, R. J., & Hajishengallis, G. (2015). Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends in molecular medicine*, *21*(3), 172-183.
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., ... & Proctor, M. J. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *409*(6822):860-921
- Laurila, E. (2012). Novel Regulators of Pancreatic Cancer Cell Growth and Mobility. 1-116.
- Laurila, E., Savinainen, K., Kuuselo, R., Karhu, R., & Kallioniemi, A. (2009). Characterization of the 7q21-q22 amplicon identifies ARPC1A, a subunit of the Arp2/3 complex, as a regulator of cell migration and invasion in pancreatic cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, *48*(4), 330-339.
- Leech, M. T., & Bartold, P. M. (2015). The association between rheumatoid arthritis and periodontitis. *Best practice & research Clinical rheumatology*, *29*(2), 189-201.
- Leong, X. F., Ng, C. Y., Badiah, B., & Das, S. (2014). Association between hypertension and periodontitis: possible mechanisms. *The Scientific World Journal*, *2014*.
- Leroy, R., Eaton, K. A., & Savage, A. (2010). Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis-how can it be improved?. *BMC oral health*, *10*(1), 1-7.
- Leung, G., Zhou, Y., Ostrowski, P., Mylvaganam, S., Boroumand, P., Mulder, D. J., ... & Freeman, S. A. (2021). ARPC1B binds WASP to control actin polymerization and curtail tonic signaling in B cells. *JCI insight*, *6*(23).
- Levine, D., & Gottlieb, A. (2009). Evaluation and management of psoriasis: an internist's guide. *Medical Clinics*, *93*(6), 1291-1303.
- Li, H., Yao, Q., Mariscal, A. G., Wu, X., Hülse, J., Pedersen, E., ... & Brakebusch, C. (2018). Epigenetic control of IL-23 expression in keratinocytes is important for chronic skin inflammation. *Nature communications*, *9*(1), 1-18.

- Lin, L., Yu, W., Zhang, W., Li, S., Hu, S., Jiang, B., ... & Lu, E. (2021). Expression profile of lipoxygenases in gingival tissues of human periodontitis. *Oral Diseases*, 27(3), 567-576.
- Liu, Y., Zhuang, X., Yu, S., Yang, N., Zeng, J., Liu, X., & Chen, X. (2021). Exosomes derived from stem cells from apical papilla promote craniofacial soft tissue regeneration by enhancing Cdc42-mediated vascularization. *Stem cell research & therapy*, 12(1), 1-14.
- Lock, F. E., Ryan, K. R., Poulter, N. S., Parsons, M., & Hotchin, N. A. (2012). Differential regulation of adhesion complex turnover by ROCK1 and ROCK2. *PloS one*, 7(2), e31423.
- Loos, B. G., John, R. P., & Laine, M. L. (2005). Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *Journal of clinical periodontology*, 32, 159-179.
- Löe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). Experimental gingivitis in man. *The Journal of periodontology*, 36(3), 177-187.
- Ma, T. Z., Piao, Z., Jin, S. Y., & Kwak, Y. G. (2019). Differential expression of serum proteins in multiple myeloma. *Experimental and therapeutic medicine*, 17(1), 649-656.
- Mahlamaki, E. H., Kauraniemi, P., Monni, O., Wolf, M., Hautaniemi, S., & Kallioniemi, A. (2004). High-resolution genomic and expression profiling reveals 105 putative amplification target genes in pancreatic cancer. *Neoplasia*, 6(5), 432-439.
- Maisonneuve, P., Amar, S. Ve Lowenfels, Ab (2017). Periodontal hastalık, dişsizlik ve pankreas kanseri: bir meta-analiz. *Annals of Oncology* , 28 (5), 985-995.
- Malinova, D., Fritzsche, M., Nowosad, C. R., Armer, H., Munro, P. M., Blundell, M. P., ... & Thrasher, A. J. (2016). WASp-dependent actin cytoskeleton stability at the dendritic cell immunological synapse is required for extensive, functional T cell contacts. *Journal of leukocyte biology*, 99(5), 699-710.
- Marcaccini, A. M., Novaes Jr, A. B., Meschiari, C. A., Souza, S. L., Palioto, D. B., Sorgi, C. A., ... & Gerlach, R. F. (2009). Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clinica chimica acta*, 409(1-2), 117-122.

- Martinon, P., Fraticelli, L., Giboreau, A., Dussart, C., Bourgeois, D., & Carrouel, F. (2021). Nutrition as a key modifiable factor for periodontitis and main chronic diseases. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(2), 197.
- Meikle, M. C. (2006). The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *The European Journal of Orthodontics*, *28*(3), 221-240.
- Meschiari, C. A., Marcaccini, A. M., Moura, B. C. S., Zuardi, L. R., Tanus-Santos, J. E., & Gerlach, R. F. (2013). Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls. *Clinica chimica acta*, *421*, 140-146.
- Meyer, M. S., Joshipura, K., Giovannucci, E., & Michaud, D. S. (2008). A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease, and cancer. *Cancer causes & control*, *19*(9), 895-907.
- Mitsis, F. J. (1991). Hippocrates in the golden age: his life, his work and his contributions to dentistry. *The Journal of the American College of Dentists*, *58*(1), 26-30.
- Nagase, H., & Woessner, J. F. (1999). Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological chemistry*, *274*(31), 21491-21494.
- Naldi, L. (2016). Psoriasis and smoking: links and risks. *Psoriasis (Auckland, NZ)*, *6*, 65.
- Nerger, B. A., Jones, T. M., Rose, K. W., Barqué, A., Weinbaum, J. S., Petrie, R. J., ... & Naba, A. (2022). The matrix in focus: new directions in extracellular matrix research from the 2021 ASMB hybrid meeting. *The Company of Biologists*, *11*(1), 1-6.
- Nicu, E. A., & Loos, B. G. (2016). Polymorphonuclear neutrophils in periodontitis and their possible modulation as a therapeutic approach. *Periodontology 2000*, *71*(1), 140-163.
- Nürnberg, A., Kitzing, T., & Grosse, R. (2011). Nucleating actin for invasion. *Nature Reviews Cancer*, *11*(3), 177-187.

- Oguntimein, O., Butler, J., Desmond, S., Green, K. M., He, X., & Horowitz, A. M. (2020). Patients' understanding of the relationship between their diabetes and periodontal disease. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, 33(6), 1004-1010.
- Ohlrich, E. J., Cullinan, M. P., & Seymour, G. J. (2009). The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian dental journal*, 54, S2-S10.
- Oliveira Marre, A. T., Domingues, R. M., & Lobo, L. A. (2020). Adhesion of anaerobic periodontal pathogens to extracellular matrix proteins. *Brazilian journal of microbiology*, 1-9.
- Ostrowski, P. P., Freeman, S. A., Fairn, G., & Grinstein, S. (2019). Dynamic podosome-like structures in nascent phagosomes are coordinated by phosphoinositides. *Developmental cell*, 50(4), 397-410.
- Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of periodontal research*, 26(3), 230-242.
- Page, R. C., & Eke, P. I. (2007). Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of periodontology*, 78, 1387-1399.
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9-11.
- Page, R. C., & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 34(3), 235-249.
- Pal, A. (2022). Real-Time or Quantitative PCR. In *Protocols in Advanced Genomics and Allied Techniques* (pp. 181-209).
- Palumbo, A. (2011). The anatomy and physiology of the healthy periodontium. *Gingival Diseases-Their Aetiology, Prevention and Treatment. Croatia: InTech*, 1-21.
- Pan, F., Egile, C., Lipkin, T., & Li, R. (2004). ARPC1/Arc40 mediates the interaction of the actin-related protein 2 and 3 complex with Wiskott-Aldrich syndrome protein family activators. *Journal of Biological Chemistry*, 279(52), 54629-54636.

- Pan, W., Wang, Q., & Chen, Q. (2019). The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *International journal of oral science*, *11*(3), 1-13.
- Papapanou, P. N. (2015). Systemic effects of periodontitis: lessons learned from research on atherosclerotic vascular disease and adverse pregnancy outcomes. *International dental journal*, *65*(6), 283-291.
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., ... & Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, *89*, S173-S182.
- Park, H. R., Jung, W. W., Bacchini, P., Bertoni, F., Kim, Y. W., & Park, Y. K. (2006). Ezrin in osteosarcoma: comparison between conventional high-grade and central low-grade osteosarcoma. *Pathology-Research and Practice*, *202*(7), 509-515.
- Park, H., Chan, Mm., Iritani, B.M. (2010). Hem-1: Putting the “WAVE” into actin polymerization during an immune response. *FEBS Lett.* 2010 Dec 15; *584*(24): 4923–4932.
- Perumalsamy, R., Mahendra, J., Mahendra, L., Sethuraman, M., & Rao, V. M. (2020). Protective role of neutrophils in periodontal inflammation. *Indian Journal of Dental Research*, *31*(6), 872-876
- Petersen, P. E., & Baehni, P. C. (2012). Periodontal health and global public health. *Periodontology 2000*, *60*(1), 7-14.
- Petersen, P. E., & Ogawa, H. (2012). The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontology 2000*, *60*(1), 15-39.
- Pizarro-Cerdá, J., Chorev, D. S., Geiger, B., & Cossart, P. (2017). The diverse family of Arp2/3 complexes. *Trends in cell biology*, *27*(2), 93-100.
- Pollard, T. D., & Cooper, J. A. (2009). Actin, a central player in cell shape and movement. *science*, *326*(5957), 1208-1212.

- Pozo, P., Valenzuela, M. A., Melej, C., Zaldivar, M., Puente, J., Martinez, B., & Gamonal, J. (2005). Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *Journal of periodontal research*, 40(3), 199-207.
- Preshaw, P. M. (2008). Definitions of periodontal disease in research. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(1), 1-2.
- Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2011). How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?. *Journal of clinical periodontology*, 38, 60-84.
- Rakic, M., Pejicic, N., Perunovic, N., & Vojvodic, D. (2021). A Roadmap towards Precision Periodontics. *Medicina*, 57(3), 233.
- Rezania, A., & Healy, K. E. (1999). Biomimetic peptide surfaces that regulate adhesion, spreading, cytoskeletal organization, and mineralization of the matrix deposited by osteoblast-like cells. *Biotechnology progress*, 15(1), 19-32.
- Rotty, J. D., Brighton, H. E., Craig, S. L., Asokan, S. B., Cheng, N., Ting, J. P., & Bear, J. E. (2017). Arp2/3 complex is required for macrophage integrin functions but is dispensable for FcR phagocytosis and in vivo motility. *Developmental cell*, 42(5), 498-513.
- Sahni, V., & Gupta, S. (2020). COVID-19 & Periodontitis: The cytokine connection. *Medical hypotheses*, 144, 109908.
- Sapna, G., Gokul, S., & Bagri-Manjrekar, K. (2014). Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral diseases*, 20(6), 538-550.
- Schmittgen, T. D. And Livak. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*, 3 (6): 1101- 1108.
- Seetharaman, S., & Etienne-Manneville, S. (2020). Cytoskeletal crosstalk in cell migration. *Trends in cell biology*, 30(9), 720-735.

- Shi, B., Chang, M., Martin, J., Mitreva, M., Lux, R., Klokkevold, P., ... & Li, H. (2015). Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *MBio*, *6*(1), e01926-14.
- Shi, Q., Zhang, B., Xing, H., Yang, S., Xu, J., & Liu, H. (2018). Patients with chronic obstructive pulmonary disease suffer from worse periodontal health evidence from a meta-analysis. *Frontiers in physiology*, *9*, 33.
- Shungin, D., Haworth, S., Divaris, K., Agler, C. S., Kamatani, Y., Lee, M. K., ... & Johansson, I. (2019). Genome-wide analysis of dental caries and periodontitis combining clinical and self-reported data *Nature communications*, *10*(1), 1-13.
- Small, H. Y., Migliarino, S., Czesnikiewicz-Guzik, M., & Guzik, T. J. (2018). Hypertension: focus on autoimmunity and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, *125*, 104-115.
- Sochalska, M., & Potempa, J. (2017). Manipulation of neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the development of periodontitis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *7*, 1-15.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (1994). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000*, *5*(1), 7-25.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. K. J. R., & Kent Jr, R. L. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, *25*(2), 134-144.
- Sonnenschein, S. K., & Meyle, J. (2015). Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontology 2000*, *69*(1), 221-254.
- Susin, C., Haas, A. N., & Albandar, J. M. (2014). Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, *65*(1), 27-45.

- Tang, Y., Liu, L., Wang, P., Chen, D., Wu, Z., & Tang, C. (2017). Periostin promotes migration and osteogenic differentiation of human periodontal ligament mesenchymal stem cells via the Jun amino-terminal kinases (JNK) pathway under inflammatory conditions. *Cell proliferation*, 50(6), e12369.
- Theilade, E., Wright, W. H., Jensen, S. B., & Löe, H. (1966). Experimental gingivitis in man: II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of periodontal research*, 1(1), 1-13.
- Tolar, P. (2017). Cytoskeletal control of B cell responses to antigens. *Nature Reviews Immunology*, 17(10), 621-634.
- Tonetti, M. S., & Claffey, N. (2005). Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 32, 210-213.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89, S159-S172.
- Tsuchida, S Ve Nakayama, T (2020). Proteomic analysis of human immunodeficiency virus and periodontitis. *Expert Review of Proteomics*, Vol(11-12) ,pp: 793-795.
- Tur-Gracia, S., & Martinez-Quiles, N. (2021). Emerging functions of cytoskeletal proteins in immune diseases. *Journal of Cell Science*, 134(3), jcs253534
- Turnham, D. J., Yang, W. W., Davies, J., Varnava, A., Ridley, A. J., Conlan, R. S., & Clarkson, R. W. (2020). Bcl-3 promotes multi-modal tumour cell migration via NF-κB1 mediated regulation of Cdc42. *Carcinogenesis*, 41(10), 1432-1443.
- Tüter, G., Kurtiş, B., & Serdar, M. (2002). Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *Journal of periodontology*, 73(5), 487-493.

- Ungprasert, P., Wijarnpreecha, K., & Wetter, D. A. (2017). Periodontitis and risk of psoriasis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 31(5), 857-862.
- Üstün, K., Sezer, U., Kısacık, B., Şenyurt, S. Z., Özdemir, E. Ç., Kimyon, G., ... & Onat, A. M. (2013). Periodontal disease in patients with psoriatic arthritis. *Inflammation*, 36(3), 665-669.
- Virtanen, E., Yakob, M., Tervahartiala, T., Söder, P. Ö., Andersson, L. C., Sorsa, T., ... & Söder, B. (2017). Salivary MMP-13 gender differences in periodontitis: A cross-sectional study from Sweden. *Clinical and experimental dental research*, 3(5), 165-170.
- Waddington, R. J., & Embery, G. (2001). Proteoglycans and orthodontic tooth movement. *Journal of orthodontics*, 28(4), 281-290.
- Wan Cy, Li L, Liu Ls, Jiang Cm, Zhang Hz, Wang Jx.(2021).Expression of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases during Apical Periodontitis Development. *J Endod*, 47(7),1118-1125.
- Wang, W., Zheng, C., Yang, J., & Li, B. (2021). Intersection between macrophages and periodontal pathogens in periodontitis. *Journal of Leukocyte Biology*. Vol 110, issue 3, Pages 577-583.
- Wang, Y., Kang, W., Shang, L., Song, A., & Ge, S. (2020). N-WASP knockdown upregulates inflammatory cytokines expression in human gingival fibroblasts. *Archives of Oral Biology*, 110, 104605.
- Welch, M. D., Depace, A. H., Verma, S., Iwamatsu, A., & Mitchison, T. J. (1997). The human Arp2/3 complex is composed of evolutionarily conserved subunits and is localized to cellular regions of dynamic actin filament assembly. *The Journal of cell biology*, 138(2), 375-384.
- Wu, D. Ve Yang, Xo (2020). COVID-19'un sitokin fırtınasında TH17 yanıtları: JAK2 inhibitörü Fedratinib'in ortaya çıkan bir hedefi. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53 (3), 368-370.

Xu, N., Chen, S. H., Lin, T. T., Cai, H., Ke, Z. B., Dong, R. N., ... & Zheng, Q. S. (2020). Development and validation of hub genes for lymph node metastasis in patients with prostate cancer. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(8), 4402-4414.

Yamamoto, M., & Aizawa, R. (2021). Maintaining a protective state for human periodontal tissue. *Periodontology 2000*, 86(1), 142-156.

Zhang, J., Sun, X., Xiao, L., Xie, C., Xuan, D., & Luo, G. (2011). Gene polymorphisms and periodontitis. *Periodontology 2000*, 56(1), 102-124.

Zucchini, C., Manara, M. C., Pinca, R. S., De Sanctis, P., Guerzoni, C., Sciandra, M., ... & Scotlandi, K. (2014). CD99 suppresses osteosarcoma cell migration through inhibition of ROCK2 activity. *Oncogene*, 33(15), 1912-1921.

<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ARPC1A>, (10.01.2021)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=arpc1a>, (21.12.2020)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10552>, (18.01.2021)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/gene/?id=10552>, (07.08.2020)