



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



KRONİK VE AGRESİF PERİODONTİTİS HASTALARINA AİT DOKU ÖRNEKLERİNİN TRANSKRİPTOMLARININ KARŞILAŞTIRMASI

Canan BOZ ÖZÜVAR

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Gülden EREŞ**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRONİK VE AGRESİF PERİODONTİTİS
HASTALARINA AİT DOKU ÖRNEKLERİNİN
TRANSKRİPTOMLARININ KARŞILAŞTIRMASI**

Canan BOZ ÖZÜVAR

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gülden EREŞ

ANKARA

2023

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kronik ve Agresif Periodontitis Hastalarına Ait Doku Örneklerinin Transkriptomlarının Karşılaştırması” başlıklı tez çalışması; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı : Canan BOZ ÖZÜVAR

Tarih : 12/01/2023

İmza :

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Periodontoloji Anabilim Dalında
Canan BOZ ÖZÜVAR tarafından hazırlanan

“Kronik ve Agresif Periodontitis Hastalarına Ait Doku Örneklerinin Transkriptomlarının Karşılaştırması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/01/2023

Prof. Dr. Nilgün Özlem ALPTEKİN
Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. M. Murat AKKAYA
Ankara Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Yaşar AYKAÇ
Ankara Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Gülden EREŞ
Ankara Üniversitesi
Raportör

Doç. Dr. Özlen KONU KARAKAYALI
Bilkent Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen Aktan
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Periodontal Hastalık Sınıflamaları	2
1.1.1. Periodontal Hastalıklar 1999 Sınıflandırması	2
1.2. Agresif Periodontitis ve Kronik Periodontitisin Özellikleri	10
1.3. Periodontal Hastalıklarda Genetik Faktörlerin Rolü	12
1.4. Mikrodizi Çalışmaları	14
1.4.1. RNA Sekanslama	14
1.5. Gen Ontolojisi	15
1.6. Gen Zenginleştirme Analizleri	16
1.6.1. PANTHER Veri Tabanı	18
1.6.1.1. PANTHER İstatiksel Aşırı Temsil Testi Sonuçlarının Okunması	20
1.6.2. STRING Veri Tabanı	21
1.7. Karşılaştırmalı Transkriptom Analizi	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1. Mikrodizi Verileri	34
2.1.1. GSE79705 Kodlu Çalışmanın Bilgileri	35
2.1.2. GSE16134 Kodlu Çalışmanın Bilgileri	36
2.1.3. GSE10334 Kodlu Çalışmanın Bilgileri	37
2.1.4. GSE23586 Kodlu Çalışmanın Bilgileri	38
2.2. Mikrodizi Verilerin GEO2R Analizleri	39
2.2.1. Yukarı ve Aşağı Regüle Edilmiş DEG'lerin Tanımlanması	39
2.3. Kesişen ve Ortak Olmayan DEG'lerin Tanımlanması	40
2.4. DEG'lerin Fonksiyon ve Yolak Zenginleştirme Analizi	40
2.5. DEG'lerin Protein-Protein Etkileşim Ağ Yapısı İncelemesi	41
3. BULGULAR	42
3.1. Veri Setlerinde Ortak Kesişen DEG'lerin Tanımlanması	42
3.2. Kronik veya Agresif Periodontitis Hikayesi Olan Bireylerde İyileşme Sonrası Dokulara Ait Analizler	42
3.2.1. Kesişen DEG'lerin Analizleri	44
3.2.2. Ortak Olmayan DEG'lerin Analizleri	45
3.2.2.1. Agresif Periodontitis Örneklerinin Analizleri	45
3.2.2.2. Kronik Periodontitis Örneklerinin Analizleri	58
3.3. Periodontitisli Doku ile Geçmişte Periodontitis Hikayesi Olan Klinik Olarak Sağlıklı Dokulara Ait Analizler	65

3.3.1. Agresif Periodontitis Geçmişi Olan Dokularla Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması	66
3.3.1.1. Kesişen DEG’lerin Analizleri	67
3.3.1.2. Ortak Olmayan DEG’lerin Analizleri	81
3.3.2. Kronik Periodontitis Geçmişi Olan Dokularla Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması	92
3.3.2.1. Kesişen DEG’lerin Analizleri	93
3.3.2.2. Ortak Olmayan DEG’lerin Analizleri	94
3.4. Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması	100
4. TARTIşMA	108
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	132
ÖZET	133
SUMMARY	134
KAYNAKLAR	135



ÖNSÖZ

Doktora eğitim sürecinde değerli bilgi, tecrübe ve yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen, hoşgörüsü ve bilgi birikimi ile çalışmalarımızı keyifli hale getiren, üzerimde büyük emekleri olan başta hocam Doç. Dr. Gülden EREŞ ve bu tezin gerçekleşmesinde sabrı ve bilgisiyle yanımda olan Doç. Dr. Özlen KONU'ya,

Mesleki ve hayat tecrübeleriyle eğitimim boyunca her zamanda yanımda olup bana yol gösteren, üzerimdeki emeklerini hiçbir zaman unutamayacağım değerli hocam Prof. Dr. Murat AKKAYA'ya,

Doktora sürecinde yürüttüğümüz çalışmaların her noktasında emekleri olan Ayşe Gökçe KEŞKÜŞ, Fatma Betül DİNÇASLAN'a,

Birçok ortak projede birlikte görev aldığımız, sevgisini kalbimde, uzakta da olsa desteğini her zaman omzumda hissettiğim, bu süreci keyifle geçirmemde büyük emeği olan, sevgili dostum ve bölüm arkadaşım Rahme BARBAROS'a,

Her türlü sıkıntıda yanımda olan, sevgilerini ve destekleri tarif edilemeyecek büyüklükte olan ikinci büyük ailem Perioaile'nin canım üyeleri; Zeliha GÜNEY, Deniz ERDİL, Eray AKTAY ve Duygu YAVUZER'e,

Aynı ortamda çalışmaktan büyük keyif aldığım, eğitimim sonrasında da devam edecek güçlü dostluk bağı kurduğum diğer bölüm arkadaşlarıma ve kürsü personeline,

Arkadaşlığıyla, bilgisiyle, desteğiyle hep yanımda olan, lisans eğitimimden doktora sürecime kadar hep varlığını hissettiren, kendilerinden çok şey öğrendiğim o küçükçük sıcacık odanın üyeleri başta Doç. Dr. Fatma KARACAOĞLU, Doç. Dr. Şivge KURGAN ve Doç. Dr. Canan ÖNDER ve Doç. Dr. Nilsun BAĞIŞ'a,

Doktora eğitimim boyunca mesleki ve bilimsel tecrübelerinden yararlandığım, yardımlarını benden sakınmayan değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Meral GÜNHAN, Prof. Dr. Elif ÜNSAL, Prof. Dr. Yaşar AYKAÇ, Prof. Dr. Adnan TEZEL'e,

Her işimize koşan, anabilim dalımızın kıymetlisi Sn. Ali SAYAN'a,

Bugünlere gelmemde ve bu eğitimi almamda en büyük emeğe sahip, sevgi ve şefkatleriyle hayatım boyunca her zaman yanımda olan, zor zamanlarımda bana sonsuz sabır gösteren, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, çocukları olmaktan gurur duyduğum annem Sühel BOZ, babam Mehmet BOZ, abim Yalçın BOZ ve sevgili halam Lütfiye KARAÇAY'a,

Bu süreçteki manevi desteği tartışılmaz olan, sevgisini ve desteğini fazlasıyla hissettiren, kıymetlim sevgili eşim Aykal ÖZÜVAR'a çok teşekkür ediyorum.

Hayatımızın görece kısa bu zamanını unutulmaz yapan bu büyük dünyayı benimle paylaşan güzel insanlar, bu ekibin bir parçası olmaktan her zaman gurur duydum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
Adj.	Uyarlanmış
AGXT	Alanin-glikosilat aminotransferaz
AKK	Alveolar kemik kaybı
AMPK	Aktive edilmiş protein kinaz
AP	Agresif periodontitis
APA	Amerikan periodontoloji akademisi
AP2A1	AP-2 karmaşık alt birim alfa-1
ASH	Antijen sunan hücreler
ATP5J2	ATP sentaz alt birimi f
BP	Biyolojik proses
C4A	Kompleman C4-A
C4B	Kompleman C4-B
CALCA	Kalsitonin ilişkili polipeptit alfa
CLTA	Klatrin hafif zincir A
CRACC	CD2 benzeri reseptörü aktive eden sitotoksik hücre
CRP	C-reaktif protein
CSF3	Koloni uyarıcı faktör 3
COA6	Sitokrom c oksidaz montaj faktörü 6 homologu
COL4A5	Kollajen alfa-5 (IV) zinciri
COL6A1	Kollajen alfa-1 (VI) zinciri
COL6A6	Kollajen alfa-6 (VI) zinciri
CXCL12	Stromal hücre kaynaklı faktör 1
DEG	Diferansiyel olarak eksprese edilen genler
DH	Dendritik hücreler
ECM	Ekstrasellüler matriks
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü

EMR1	Adezyon G proteinine bağlı reseptör E1
FCGR2A	Düşük afiniteli immünoglobulin gama Fc bölge reseptörü II-a
FCGR3A	Düşük afiniteli immünoglobulin gama Fc bölgesi reseptörü III-A
FCGR3B	IgG'nin Fc fragmanı, düşük afiniteli IIIb reseptörü
FGA	Fibrinojen alfa zinciri
FOXP2	Forkhead box protein P2
GAP	Generalize agresif periodontitis
GEO	Gene expression omnibus
GJP	Generalize juvenil periodontitis
GNLY	Granülizin
GO	Gen ontolojisi
IFN-α	İnterferon-alfa
IFN-β	İnterferon-beta
IFN-γ	İnterferon gama
IFNA1	İnterferon alfa-1
IFNA8	İnterferon alfa-8
IFNAR1	İnterferon alfa/beta reseptörü 1
IFNAR2	İnterferon alfa/beta reseptörü 2
IgG	İmmünoglobulin gama
IL1B	İnterlökin-1Beta
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-10RA	İnterlökin 10 reseptörü alt birim alfa
KAK	Klinik ataşman kaybı
KEGG	Kyoto encyclopedia of genes and genomes
KLRD1	Doğal öldürücü hücreler antijeni CD94
KP	Kronik periodontitis
LAP	Lokelize agresif periodontitis

LEP	Leptin
LJP	Lokelize jüvenil periodontitis
LogFC	Log fold change
LPS	Lipopolisakkarit
LY96	Lenfosit antijeni 96
MAPK	Mitojenle etkinleşen protein kinaz
MAPK1	Mitojenle aktive olan protein kinaz 1
MAS5.0	Micro-array suite sürüm 5.0
MCL	Markov cluster algorithm
MEF2C	Miyosite özgü güçlendirici faktör 2C
MHC	Majör histokompatibilite kompleksi
MMP	Matris metalloproteinaz
MMP3	Matris metalloproteinaz-3
NCR1	Doğal sitotoksikite tetikleyici reseptör 1
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NOS3	Nitrik oksit sentaz 3
PANTHER	Protein analysis through evolutionary relationships
PDGFA	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü alt birimi A
PDGFRA	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa
<i>Pg</i>	Porphyromonas gingivalis
PI3K	Fosfatidilinositol 3'-kinaz
PPE	Protein-protein etkileşimi
PRF1	Perforin-1
PRKAA1	5'-AMP ile aktive edilmiş protein kinaz katalitik alt birim alfa-1
RANK-L	Nükleer faktör kappa-B ligandının reseptör aktivatörü
RMA	Robust multi-array analysis
RNA-seq	RNA-sekanslama
ROMO1	Reaktif oksijen türleri modülatörü 1
ROS	Reaktif oksijen ürünleri

RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
OPG	Osteoprotegerin
SD	Sondalama derinliği
SK	Sondalamada kanama
SRCIN1	SRC kinaz sinyal inhibitörü 1
SOBP	Sinüs oculis bağlayıcı protein homologu
STRING	Search tool for retrieval of interacting genes/proteins
TACR1	Taşikinin resptör 1
TGF2	Dönüştürücü büyüme faktörü -2
TNFSF11	Tümör nekroz faktörü ligandı üst aile üyesi 11
TLR	Toll-benzeri reseptör
TNF	Tümör-nekroz faktörü
TNP	Tek nükleotid polimorfizmi
Treg	Düzenleyici T-hücreleri
USF2	Yukarı akış uyarıcı faktör 2
qRT-PCR	Kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
YKO	Yanlış keşif oranı

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Fisher kesin olasılık testi ve FDR (False discovery rate) düzeltme yönteminin kullanıldığı bir PANTHER aşırı temsil testinin sonuç sayfasının ekran görüntüsü.	22
Şekil 1.2. Bir STRING analizinin sonuç sayfasının ekran görüntüsü.	25
Şekil 3.1. GSE79705 agresif periodontitis ve kronik periodontitis grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları.	44
Şekil 3.2. AP ve KP yukarı ve aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen DEG'lerin PPE kümeleme analizi.	45
Şekil 3.3. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genlerden AP grubuna ait PPE kümeleme analizi	49
Şekil 3.4. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	50
Şekil 3.5. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin kümeleme analizi (İlk 2000 Gen)	56
Şekil 3.6. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 2. kümenin görüntüsü	57
Şekil 3.7. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE kümeleme analizi	59
Şekil 3.8. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1.kümenin görüntüsü	60
Şekil 3.9. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE kümeleme analizi	63
Şekil 3.10. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	64
Şekil 3.11. GSE79705 (Agresif ve kronik periodontitis örneklerinin birleştirildiği analizler), GSE16134, GSE10334 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları	66
Şekil 3.12. GSE79705 agresif periodontitis, GSE16134, GSE10334 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları	67
Şekil 3.13. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE kümeleme analizi	72

Şekil 3.14. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	73
Şekil 3.15. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE kümeleme analizi	79
Şekil 3.16. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	80
Şekil 3.17. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi	84
Şekil 3.18. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	85
Şekil 3.19. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi	90
Şekil 3.20. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	91
Şekil 3.21. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları.	92
Şekil 3.22. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi	95
Şekil 3.23. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 2. kümenin görüntüsü	96
Şekil 3.24. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi	99
Şekil 3.25. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	99
Şekil 3.26. GSE16134, GSE10334, GSE23586 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları	100
Şekil 3.27. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE kümeleme analizi	102
Şekil 3.28. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü	103

Şekil 3.29. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE kümeleme analizi

106

Şekil 3.30. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 3. kümenin görüntüsü

107



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. 1999 APA periodontal hastalık ve durumların sınıflaması	4
Çizelge 1.2. 2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre periodontal hastalık grupları	7
Çizelge 1.3. Periodontitis evrelendirme	8
Çizelge 1.4. Periodontitis derecelendirme	9
Çizelge 2.1. Gen ekspresyonu profillemeye çalışmalarının veri özellikleri	34
Çizelge 3.1. Veri setlerinin p değeri, adj. p değeri ve LogFC değerlerinin değişik aralıklarda filtreleneleme sonuçları	43
Çizelge 3.2. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi	47
Çizelge 3.3. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin KEGG yolak analizi	48
Çizelge 3.4. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	51
Çizelge 3.5. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi	52
Çizelge 3.6. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi	53
Çizelge 3.7. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içinde 2. kümenin GO-BP analizi	57
Çizelge 3.8. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içinde 2. kümenin KEGG yolak analizi	58
Çizelge 3.9. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin GO-BP analizi	58
Çizelge 3.10. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin KEGG yolak analizi	61
Çizelge 3.11. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin GO-BP analizi	62

Çizelge 3.12. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin GO-BP analizi	65
Çizelge 3.13. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin KEGG yolak analizi	65
Çizelge 3.14. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi	68
Çizelge 3.15. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin KEGG yolak analizi	71
Çizelge 3.16. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	74
Çizelge 3.17. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi	75
Çizelge 3.18. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi	76
Çizelge 3.19. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	80
Çizelge 3.20. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi	81
Çizelge 3.21. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin GO-BP analizi	82
Çizelge 3.22. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin KEGG yolak analizi	83
Çizelge 3.23. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	86
Çizelge 3.24. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi	87
Çizelge 3.25. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin GO-BP analizi	88
Çizelge 3.26. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	92

Çizelge 3.27. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin KEGG yolak analizi	94
Çizelge 3.28. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 2. kümenin KEGG yolak analizi	96
Çizelge 3.29. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin GO-BP analizi	97
Çizelge 3.30. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	100
Çizelge 3.31. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin GO-BP analizi	101
Çizelge 3.32. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi	104
Çizelge 3.33. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi	105
Çizelge 3.34. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 3. kümenin KEGG yolak analizi	107

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, diş destek dokularının iltihaplanması ile karakterize, periodontal bağ dokunun ve alveolar kemiğin harabiyetine ve diş kaybına yol açabilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Savage ve ark., 2009). Periodontitis, spesifik mikroorganizmaların veya spesifik mikroorganizma gruplarının neden olduğu, dişlerin destek dokularının iltihaplı bir hastalığı olarak tanımlanmakta olup periodontal ligamentin ve alveolar kemiğin yıkımıyla birlikte, cep oluşumu, çekilme veya her ikisiyle birlikte aşamalı olarak seyreder (Wolff ve ark., 1994).

Periodontitisin önde gelen klinik özellikleri arasında klinik ataşman kaybı (KAK), alveolar kemik kaybı (AKK), periodontal cep oluşumu ve dişeti iltihabı bulunur. Ayrıca diş etinde büyüme veya çekilme, diş eti kanaması, dişlerde artan hareketlilik, migrasyon ve/veya diş kaybı meydana gelebilir (Page ve ark., 1976).

Periodontal hastalıktaki yıkım, duyarlı bir konağın immün tepkisini tetikleyen bakteriyel bir tehdit ile başlar. Konağın enfeksiyona tepkisi, saldırıyı yapan patojen bakterinin türüne, doğasına ve virülansına bağlıdır. Çoğu durumda, patojen bakterilerin varlığı hastalığı başlatmak için yeterli değildir. Araştırmalar, çevresel faktörlerin (subgingival biyofilm) ve genetik faktörlerin de hastalık aktivitesinin modülasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir (Gomez ve ark., 2009; Hart, 1994; Kinane ve Hart, 2003 ve Taba ve ark., 2005).

Periodontal hastalıklar toplumda çok yaygın olmasına rağmen bireylerin sadece %10-15 gibi küçük bir oranında periodontal hastalıkların şiddetli, yıkıcı formlarını geliştirmektedir. Hastalık şiddeti ile ilişkili göreceli bu düşük oran, kalıtsal yatkınlık ile açıklanabilir (Hart, 1994; Hassell ve ark., 1995; Michalowicz, 1993 ve Schenkein, 1998).

Bireylerin periodontitis geliştirip geliştirmediğinin önemli bir belirleyicisi, oral mikrofloraya tepki verme biçimleridir. Genetik faktörler, periodontitis duyarlılığını

belirlemek için bireylerin biyofilm dahil olmak üzere birçok çevresel ajanla nasıl etkileşime girdiğini modüle eder. Sonucu, yalnızca genlerin değil, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi belirler (Schafer ve ark., 2011).

Hastalığın gelişmesinde ve ilerlemesinde tek bir nedensel faktör yoktur. Çok yönlü, multifaktöriyel bir hastalık olarak periodontitisin seyri, periodontal cepte yerleşik olan bakterilerin oluşturduğu biyofilm tabakasına konak tarafından verilen cevabın şiddeti ve bu cevabın oluşturulmasında etkili immün sistem mekanizmaları veya konak cevabındaki defektler nedeniyle şekillenir. Bu mekanizmaların ne derecede şiddetli yanıt oluşturacağı ise genetik faktörler tarafından düzenlenir. Periodontal hastalıkların 1999 yılında yapılan sınıflamasında (Armitage, 1999) agresif periodontitis olarak tanımlanan ve 2017 yılındaki güncel periodontal hastalık sınıflamasına göre periodontitisin şiddetli yıkımla karakterize olan bu formunda, genetik faktörlerin rolünün daha belirgin olduğu düşünülmektedir.

1.1. Periodontal Hastalık Sınıflamaları

Yapılan yeni araştırmalar ışığında periodontal hastalıkların multifaktöriyel doğasına dair bilgi birikimimizin artmasıyla birlikte hastalığa dair bakış açımız değişmektedir. Her yapılan sınıflama bir önceki sınıflamanın eksiklerine göre şekillendirilmiş yeni bilgiler ışığında daha da genişletilerek sunulmuştur.

1.1.1. Periodontal Hastalıklar 1999 Sınıflandırması

Uzun bir süre kullanılan 1999 periodontal hastalık sınıflaması (Çizelge 1.1) Amerikan Periodontoloji Akademisi (APA) tarafından düzenlenmiştir. 1999 sınıflamasından önceki 1989 APA sınıflamasında dişeti hastalıklarıyla ilgili bir kısım bulunmamaktaydı. Hastalığın “yetişkin periodontitisi” olarak tanımlanan formu klinisyenler açısından kafa karışıklığı yaratmaktaydı çünkü yetişkinlerde görülen formun aynısı ergenlerde de görülmekteydi. Yaşa bağlı olarak yapılan bu tanımlama hastalık teşhisinde kısıtlamaya neden olmaktaydı. Buna bağlı olarak 1999

sınıflamasında “yetişkin periodontitisi” yerine “kronik periodontitis” tanımı uygun bulundu ve dişeti hastalıklarıyla ilgili kısımlar eklendi (Armitage, 1999).

1999 sınıflamasına göre tanımlanan “kronik periodontitis (KP)” yavaş ilerleyen bir hastalık olarak nitelendirilmiştir (Brown ve L  e, 1993). Dommisch ve Kerschull (2014)’un belirttiği gibi kronik periodontitis çoğunlukla yetişkinlerde görülmekle birlikte kronik plak birikimine bağlı olarak yaştan bağımsız olarak gençlerde de görülmektedir. Bu nedenle kronik periodontitis, ya la ilişkili ancak yaşa bağlı olmayan, periodontal dokuların karmaşık kronik inflamasyonu olarak anlaşılmalıdır.

Klasik olarak kronik periodontitis Flemmig (1999) tarafından “dişlerin destek dokularında iltihaplanma, ilerleyici ataşman kaybı ve kemik kaybıyla sonuçlanan bulaşıcı bir hastalık” olarak tanımlanmıştır. Hastalığın seyri plak birikim miktarıyla orantılı olarak ilerler. Bununla birlikte, bazı hastalarda kısa süreli hızlı ilerleme yaşanabileceğini gösteren verilerin de olduğu bildirilmiştir (Jeffcoat ve Reddy, 1991 ve Socransky ve ark., 1984). Bu hızlı yıkım atakları lokal, sistemik ve çevresel faktörlerin etkisiyle gelişir hastanın konak cevabıyla şekillenir.

"Erken Başlangıçlı Periodontitis" terimi, 1989 APA ve 1993 Avrupa sınıflamalarında genç hastaları etkileyen bir grup farklı yıkıcı periodontal hastalık için toplu bir tanımlama olarak kullanılmıştır (prepubertal, juvenil ve hızlı ilerleyen periodontitis). Mantıksal olarak, bu hastalıkların hepsinin gençleri etkilediği için erken yaşta ba ladığı varsayıldı. 1999  alı tayını’ndaki otoritelerden biri olan Armitage, “erken başlangıçlı” tanımlamasının, kişinin hastalığın ne zaman ba ladığına dair zamansal bilgiye sahip olduğunu ima ettiğini ancak klinik pratikte ve diğer birçok durumda bunun nadiren olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 1.1. 1999 APA periodontal hastalık ve durumların sınıflaması

I. Gingival Hastalıklar
A. Dental plağa bağlı gingival hastalıklar
B. Dental plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar
II. Kronik Periodontitis
A. Lokalize
B. Generalize
III. Agresif Periodontitis
A. Lokalize
B. Generalize
IV. Sistemik Hastalıkların Bir Yansıması Olan Periodontitis
A. Hematolojik bozukluklarla ilişkili
B. Genetik bozukluklarla ilişkili
C. Aksi belirtilmemiş
V. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
A. Nekrotizan ülseratif gingivitis (NUG)
B. Nekrotizan ülseratif periodontitis (NUP)
VI. Periodontal Apseler
A. Gingival apseler
B. Periodontal apseler
C. Perikoronar apseler
VII. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
A. Kombine lezyonlar
VIII. Kazanılmış ve Gelişimsel Deformiteler ve Lezyonlar
A. Plak ile ilişkili gingivitis/periodontitise neden olabilecek diş ile ilişkili lokalize faktörler
B. Dişin çevresindeki mukogingival deformiteler ve durumlar
C. Dişsiz bölgelerdeki mukogingival deformiteler ve durumlar
D. Oklüzal travma

1999 Çalıştay katılımcıları, yaşa bağlı olan veya ilerleme oranları hakkında gerekli bilgi gerektiren sınıflandırma terminolojilerini iptal etmenin akıllıca olduğuna karar verdiler. Buna göre, daha önce “Erken Başlangıçlı Periodontitis” çatısı altında değerlendirilen oldukça yıkıcı periodontitis formları, “Agresif Periodontitis” (AP) terimi kullanılarak yeniden adlandırıldı. Genel olarak, LJP (lokalize juvenil periodontitis) veya GJP (generalize juvenil periodontitis) için klinik kriterleri karşılayan hastaların artık sırasıyla “Lokalize Agresif Periodontitis” (LAP) veya “Generalize Agresif Periodontitis” (GAP) olduğu söylenmektedir (Armitage, 1999).

Agresif periodontitiste hastalar periodontitis varlığı dışında medikal olarak sağlıklıdır, hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı görülür ve genetik tabanı işaret eden ailesel kümelenme izlenir. Bu bulgulara ikincil olarak her zaman olmasa da sıklıkla plak birikimiyle orantısız bir yıkım, artmış *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) ve *Porphyromonas gingivalis* (Pg) oranları, fagosit anomalileri, hipersensitif makrofaj fenotipi görülmektedir (Albandar, 2014).

Agresif periodontitis iki şekilde ortaya çıkar: esas olarak daimi birinci büyük azı dişlerini ve kesici dişleri etkileyen lokalize formu; ve daimi dişlerin çoğunu veya tamamını içeren generalize formu (Armitage, 1999). Radyografik olarak, agresif periodontitis gelişiminin erken aşamasında, periodontal lezyonlar sıklıkla daimi birinci azı dişlerinin proksimal yüzeylerinde dikey bir alveolar kemik kaybı paterni gösterir (Gjerme ve ark., 1984 ve Hørmann ve Frandsen, 1979). Alveolar kemik defektleri genellikle ağzın sağ ve sol taraflarında benzerdir ve buna ayna görüntüsü deseni denir (Baer 1971). Sıklıkla kesici dişler de etkilenir. Lokalize agresif periodontitisin başlangıç yaşının daha genç olduğu ve enfeksiyona neden olan ajanlara karşı güçlü bir serum antikor yanıtı gösterdiği, buna karşın generalize forma sahip olan hastaların daha ileri yaşta olduğu ve enfeksiyona neden olan ajanlara karşı zayıf bir serum antikor yanıtına sahip olduğu öne sürülmüştür (Lang ve ark., 1999). Ancak, bu önerileri destekleyen kanıtlar yetersiz ve sonuçsuzdur (Albandar ve ark., 2001; Califano ve ark., 1997 ve Xynogala ve ark., 2009). Ayrıca, belirli deneklerde ileri yaşlarda (Brown ve ark., 1996 ve Shapira ve ark., 1994) lokalizeden generalize agresif periodontitise doğru bir ilerleme gösteren veriler bu varsayımı desteklememektedir. Agresif periodontitisin alt gruplarının farklı iki hastalık mı yoksa aynı hastalığın farklı fenotipleri mi olduğuna dair tartışmalar sürmektedir.

Çalışma grubunun agresif periodontitis konsensüs raporu, agresif periodontitis teşhisi için gerekli olan majör ve minör kriterlerin yanı sıra lezyonların dentisyon içindeki dağılım modellerini tanımlamak için spesifik tanımları dile getirirken (lokalizeye karşı generalize), günlük klinik uygulamada öngörülen kriterlerin uygulanmasındaki zorluk ve tanı kategorileri arasındaki önemli örtüşme, sınıflandırma sisteminin uygulanmasında klinisyenlere bir engel oluşturmuştur. Ayrıca, agresif

periodontitis kriterlerinin birçoğunun geçerliliği, uygun şekilde tasarlanmış çalışmalarda doğrulanmamıştır (Tonetti ve ark., 2018).

1.1.2. Periodontal Hastalık ve Durumların Sınıflandırması-2017 Sınıflandırması

American Academy of Periodontology task force report on the update to the 1999 classification of periodontal diseases and conditions (2015)'ta belirtildiği gibi son yirmi yılda klinisyenler, eğitimciler, araştırmacılar ve epidemiyologlar, agresif ve kronik periodontitis vakalarını doğru bir şekilde ayırt etme yetenekleri konusunda endişelerini dile getirmişlerdir ve bu zorluklar yeni bir sınıflama çalışmasının temel gerekçesi olmuştur.

Bütün bunlar ışığında 2017 çalıştayında Tonetti ve ark. (2018)'nın yaptıkları derlemeye göre; vakaların agresif veya kronik periodontitis olarak sınıflandırılabilmesi için özgün patofizyolojik kanıtların olmadığı, hastalıklar arasında ancak bireysel düzeyde klinik olarak gözlemlenebilir hastalık sonuçlarını (fenotipler) etkileyen çoklu faktörlerin ve bunlar arasındaki etkileşimin kanıtı olduğu, popülasyon bazında, periodontitis ilerlemesinin ortalama oranları, dünya genelinde gözlemlenen tüm popülasyonlarda tutarlı olduğu, bununla birlikte popülasyonun belirli segmentlerinin daha fazla klinik ataşman kaybı ile farklı progresyon seviyeleri gösterdiğine dair kanıtların bulunduğu, yalnızca hastalık şiddetine dayalı bir sınıflandırma sisteminin, tedaviye yaklaşımı etkileyen karmaşıklık, olası sonuçları etkileyen risk faktörleri ve bireysel vakayı yönetmek için gereken bilgi ve eğitim düzeyi de dahil olmak üzere bir bireyin hastalığının önemli boyutlarını yakalamakta başarısız olduğu belirtilmiştir.

Çalıştay ayrıca periodontitisli bir hastanın başarılı tedavisinin tamamlanmasının ardından azalmış bir periodonsiyumda periodontal sağlık ve diş eti iltihabını da karakterize etti. Periodontitis tedavisinin tamamlanmasından sonra dişeti sağlığı veya iltihaplanması durumlarıyla ilgili olarak, kalan sulkus/cebin derinliği ve

sondalamadaki kanamaya dayalı olarak spesifik tanımlar üzerinde anlaşmaya varılmıştır. Bu ayrım, başarılı bir şekilde tedavi edilen periodontitisli hastaların daha kapsamlı bir bakım ve gözetim ihtiyacını vurgulamak için yapılmıştır. Gingivitis olan bir hastanın sağlık durumuna geri dönebileceği kabul edilirken, periodontitis hastası başarılı bir tedaviden sonra bile ömür boyu periodontitis hastası olarak kalır ve hastalığın tekrarını önlemek için ömür boyu destekleyici bakıma ihtiyaç duyar (Chapple ve ark., 2018).

2017 çalıştayında patofizyolojiyi temel alan, klinik teşhis kriterleri birbiriyle örtüşen “agresif” veya “kronik” periodontitis olarak iki ayrı tanım yapılan klinik form birleştirilerek, hastalık türünden ziyade hastalığın şiddetini baz alan, evreleme ve derecelendirmeye dayalı bir sınıflama yapıldı. Buna göre üç grup tanımlanmıştır bu gruplar Çizelge 1.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. 2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre periodontal hastalık grupları

●	Periodontal sağlık, gingival hastalık ve durumlar
o	Periodontal sağlık ve gingival sağlık
o	Gingivitis: Dental biyofilm kaynaklı
o	Gingival hastalıklar: Dental biyofilm kaynaklı olmayan
●	Periodontitis
o	Nekrotizan periodontal hastalıklar
o	Periodontitis
o	Sistemik hastalıkların bir bulgusu olarak periodontitis
●	Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar
o	Periodontal dokuları etkileyen sistemik hastalık ve durumlar
o	Periodontal apseler ve endodontik-periodontal lezyonlar
o	Mukogingival deformite ve durumlar
o	Travmatik oklüzal durumlar
o	Diş ve protez ilişkili faktörler

Periodontitisin değerlendirilmesinde kullanılan evrelendirme (Çizelge 1.3) hastalığın o andaki şiddetinin ve yaygınlığının standart sınırlarına dayanır. Derecelendirme (Çizelge 1.4) başka bir boyut ekler ve ilerleme hızının dikkate alınmasını sağlar. Derecelendirmenin amacı, vakanın popülasyonun çoğunluğu için tipik olandan daha yüksek bir hızda ilerleme veya standart tedaviye daha az tahmin

edilebilir yanıt verme olasılığını belirlemek için mevcut olan her türlü bilgiyi kullanmaktır (Tonetti ve ark., 2018).

Çizelge 1.3. Periodontitis evrelendirme

Periodontitis evresi		Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV
Şiddet	En büyük kaybın olduğu yerdeki interdental KAK	1 ila 2 mm	3 ila 4 mm	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	Radyografik kemik kaybı	Koronal üçlü (<%15)	Koronal üçlü (%15-%33)	Kökün orta üçlüsüne ve daha ilerisine uzanan	Kökün orta üçlüsüne ve daha ilerisine uzanan
	Diş kaybı	Periodontitise bağlı diş kaybı yok		Periodontitise bağlı diş kaybı ≤4	Periodontitise bağlı diş kaybı ≥5
Karmaşıklık	Lokal	Maksimum sondalama derinliği ≤4 mm Çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Maksimum sondalama derinliği ≤5 mm Çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Evre II karmaşıklığına ek: Sondalama derinliği ≥6 mm Vertikal kemik kaybı ≥3 mm Sınıf II veya III furkasyon problemi Orta dereceli kenar defektleri	Evre III karmaşıklığına ek: Komplaks tedavi gerektiren: Çiğneme fonksiyon bozukluğu Sekonder oklüzal travma (mobilitate derecesi ≥ 2) Isırma zayıflığı, migrasyon, açılma 20 den az dişin kalması (karşılıklı 10 tane)
Yaygınlık ve dağılım	Tanımlayıcı olarak dereceye ek	Bütün dereceler için, Lokalize (<%30 diş etkilenmiş) Generalize Molar-keser tutulumu			

Çizelge 1.4. Periodontitis derecelendirme

Periodontitis derecelendirmesi	İlerleme		Derece A: Yavaş ilerleme	Derece B: Orta hızda ilerleme	Derece C: Hızlı ilerleme
Primer kriter	İlerlemenin direkt kanıtı	Longitudinal veriler (radyografik kemik kaybı veya KAK)	5 yıldan fazladır kayıp olmamasının kanıtı	5 yıldan fazladır <2mm	5 yıldan fazladır ≥ 2 mm
	İlerlemenin indirekt kanıtı	% kemik kaybı/yaş	<0.25	0.25-1.0	>1.0
		Vaka fenotipi	Fazla biyofilm birikimi düşük seviyede doku harabiyeti	Biyofilm miktarı ile uyumlu doku harabiyeti	Biyofilm miktarına oranla aşırı doku harabiyeti, hızlı ilerleme dönemlerinin ve/veya erken hastalık başlangıcının işareti olan spesifik klinik patern (Molar/keser patern; standart bakteriyel kontrol tedavilerine beklenenin altında cevap)
Derecelendirme modifiye faktörleri	Risk faktörleri	Sigara	Sigara içmeyen	Sigara içen <10 sigara/gün	Sigara içen ≥ 10 sigara/gün
		Diabet	Normoglisemik / diabet tanısı yok	Diabetli hastalarda HbA1c < %7.0	Diabetli hastalarda HbA1c $\geq$ %7.0

Lokalize erken başlangıçlı periodontitisin belirgin, iyi bilinen bir klinik görünümü (erken başlangıç, molar/kesici diş dağılımı, ataşman kaybının ilerlemesi) olmasına rağmen, bu farklı sunumu açıklayan spesifik etiyolojik veya patolojik

unsurlar yeterince tanımlanmamıştır. Benzer şekilde, genç bireylerde generalize periodontitis gelişiminden sorumlu mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (Tonetti ve ark., 2018).

1.2. Agresif Periodontitis ve Kronik Periodontitisin Özellikleri

Bakteri plağının periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesindeki rolü günümüzde iyi bilinmektedir (Socransky ve ark., 1987).

Kronik periodontitis, "dişlerin destek dokularında iltihaplanma, ilerleyici ataşman kaybı ve kemik kaybı ile sonuçlanan bulaşıcı bir hastalık" olarak tanımlanmıştır (Flemmig, 1999). Bu tanım, hastalığın başlıca klinik ve etiyolojik özelliklerini özetlemektedir: (1) mikrobiyal biyofilm oluşumu (diş plağı); (2) periodontal inflamasyon (örneğin, dişeti şişmesi, sondalama sırasında kanama); ve (3) ataşman ve alveolar kemik kaybı.

Kronik periodontitis, dental plakta bulunan mikroorganizmaların yol açtığı periodontal dokulardaki inflamatuvar yanıttır. Bölgeye özgü bir hastalık olarak kabul edilir. Hastalığın klinik tezahürü, subgingival plağa maruz kalma sonucu oluşan inflamatuvar yanıtın doğasına bağlıdır ve hastanın doğuştan gelen yatkınlığı tarafından belirlenir. Yetişkinlerde kronik periodontitis tipik olarak döngüsel bir seyir izler, bazı formlar uzun yıllar boyunca stabil kalır ve diğer formlar kapsamlı tedaviye rağmen müteakip diş kaybıyla ilerler (Gemmell ve ark., 2007). Hastalığın ilerleme hızı inflamatuvar yanıtı etkileyen lokal, çevresel veya sistemik faktörlere göre değişir. Hastalık; klinik ataşman kaybı göz önünde bulundurularak, hafif (1-2 mm kayıp), orta (3-4 mm kayıp) veya şiddetli (≥ 5 kayıp) olarak tanımlanabilir. Hastalığın dişlerin ne kadarını etkilediğine göre de lokalize veya generalize olarak sınıflandırma yapılır.

Agresif periodontitis, klinik olarak sağlıklı bireylerde ortaya çıkan, hızla ilerleyen bir grup periodontal hastalığı içerir. Agresif periodontitisli hastaların kronik periodontitisli hastalara göre daha hızlı ataşman kaybı ve yaşamın erken dönemlerinde

ortaya çıkan kemik yıkımı gösterdiği kabul edilmektedir. Ataşman kaybının saptandığı hastanın yaşı, genellikle klinisyenler tarafından agresif periodontitis tanısı koymak ve agresif periodontitisi kronik erişkin periodontitisten ayırt etmek için kullanılan kriterdendir. Tipik olarak, agresif periodontitis, genetik yatkınlığa işaret eden ailesel geçiş (ailesel kümelenme) gösterir. Erken yaşta görülen hızlı ataşman kaybı, kemik yıkımı ve ailesel geçiş hastalığının birincil özellikleri olarak kabul edilir (Teughels ve ark., 2014). Bunun yanında aşırı periodontal yıkımın yanında düşük miktarda plak varlığı, plak içeriğinde artmış oranda bulunan artmış oranlarda *Pg* ve *Aa* içeriği hastalığın ikincil özellikleri olarak tanımlanmıştır (Lang ve ark., 1999).

Lokalize ve generalize kronik periodontitis genellikle aynı hastalığın iki klinik ifadesi olarak kabul edilir. Her iki durumda da, orta ila yoğun plak ve diş taşı birikintileri ile ilişkili benzer iltihaplanma belirtileri (örneğin kızarıklık, şişme, sondalama sırasında kanama) vardır. Ayrıca yavaş ilerleme hızlarını paylaşırlar, benzer popülasyonları etkilerler (örneğin yaş aralığı, cinsiyet) ve benzer genetik ve çevresel risk faktörleriyle ilişkilidirler (Armitage ve Cullinan, 2010). Ek olarak, hastalığın lokalize ve generalize formları arasında subgingival mikrobiyota (Armitage, 2010) veya histopatolojik özelliklerde (Smith ve ark., 2010) farkedilir bir değişim yok gibi görünmektedir.

Buna karşılık lokalize ve generalize agresif periodontitis farklı hastalıklar olarak kabul edilebilir. Lokalize agresif periodontitiste, özellikle erken evrelerinde, etkilenen diş yüzeylerinde ince bir biyofilm ile ilişkili klinik inflamasyonun yalnızca minimal belirtileri vardır. Bazı durumlarda, iltihaplanma seviyeleri ve plak miktarları her iki durumda da yaklaşık olarak aynıdır, tek fark etkilenen diş sayısı veya hasar şeklidir (yani kesici dişlere ve azı dişlerine lokalize ve genel tutulum).

Agresif ve kronik periodontitis arasında klinik teşhis açısından ayırım yapmak bazen zordur çünkü tespit edilen klinik özellikler benzer olabilir. Dommisch ve Kerschull (2014), tedavi sırasında, daha sonraki zaman noktalarında, agresif ve kronik periodontitisin, zamanla hastalığın ilerleme hızı, agresif hastalığın ailesel doğası,

hastalığın periodontal anti-infektif tedaviye direnci ve lokal faktörlerin varlığı ile ayırt edilebileceğini belirtmiştir.

Genel olarak, kronik ve agresif periodontitis birçok klinik özelliği paylaşır, ancak paylaşılan özelliklerin spesifik detayları, hastalığın her iki formunda mutlaka aynı değildir (Haffajee ve ark., 2006 ve Ledder ve ark. 2007). Birçok açıdan benzer olmasına rağmen, kronik ve agresif periodontitis formlarının, (i) başlangıç yaşı, (ii) ilerleme oranları, (iii) yıkım paternleri, (iv) klinik inflamasyon belirtileri ve (v) göreceli plak ve diş taşı miktarı dahil olmak üzere bir dizi önemli klinik farklılığa sahip olduğu öne sürülmüştür.

Mikrobiyal dental plak hastalığın başlaması için gereklidir, ancak agresif periodontitiste konak cevabının etkisi kronik periodontitise göre daha şiddetlidir. Bireyin genetik yapısı gibi konak cevabını etkileyen faktörler hastalığın ayırıcı özelliklerinden biri olan erken yerleşimli olmasından sorumludur. (Albandar, 2014 ve Loos ve ark., 2015).

1999 çalıştayından bu yana agresif periodontitis üzerine kapsamlı araştırmalara rağmen (Fine ve ark., 2018), şu anda agresif ve kronik periodontitisin patofizyolojik olarak farklı iki hastalık olduğunu düşünmek için yeterli kanıt sunulmamıştır. Periodontitise uygulanan mevcut çok faktörlü hastalık modelleri, klinik parametrelerle tanımlanan vakalar arasında gözlenen fenotipik varyasyonun önemli bir bölümünü açıklıyor gibi görünmektedir (Tonetti ve ark., 2018).

1.3. Periodontal Hastalıklarda Genetik Faktörlerin Rolü

Bir hastalığın genetik yönünün ortaya çıkarılması sayesinde hem hastalığının gelişimi daha iyi anlaşılacak hem de daha etkin tedavi yöntemleri geliştirilmesine olanak sağlanacaktır. Bu açıdan periodontal hastalığın genetik rolü son yılların popüler araştırma konularındandır. Ortak çevresel değişkenler olmasına rağmen her bireyin hastalığa karşı farklı yanıt geliştirmesi, bazı bireylerde bakteri türü ve miktarından

bağımsız olarak hastalığın şiddetinin değişken olması, hastalığı modüle eden mikrobiyal ve çevresel faktörler dışındaki diğer önemli belirleyici faktör olan genetik profile dair araştırmaların başlangıcını oluşturmuştur. Bu amaçla hastalığın genetik yönünü araştırmak için ikiz çalışmaları, aday-gen çalışmaları, genom çapı ilişkilendirme çalışmaları, polimorfizm çalışmaları gibi birçok araştırma yapılmıştır.

Tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) ve genetik kopya sayısı varyasyonları gibi genetik varyasyonlar, doğal ve adaptif immün yanıtları ve ayrıca periodontal dokuların yapısını doğrudan etkileyebilir. Aile üyeleri arasında ve bir aile içindeki farklı nesiller arasında periodontal yıkım bulunmuştur, bu nedenle periodontal hastalığa yatkınlık için genetik bir temel olduğunu düşündürmektedir. Bir veya daha fazla periodontitisli aile üyesi öyküsü olan ailelerde agresif ve kronik periodontitis prevalansı bir dizi çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, %50'ye varan kalıtım olasılığı olan değişken sonuçlar göstermiştir. Varyasyonlar, esas olarak farklı çalışma tasarımlarının yanı sıra değerlendirilen birey sayısının sonucudur (Beaty ve ark., 1987, Llorente ve Griffiths, 2006 ve Saxen, 1980).

Son yıllarda geliştirilen genetik teknolojiler ile periodontal hastalıkların genetik kökeni araştırılmaktadır. Periodontal hastalıklarla ilişkili olabilecek aday genler belirlenmiş ve bu genlerin periodontal hastalığın genetik temeline katkısı araştırılmaktadır. Bu genler tespit edilebilirse, periodontal hastalığa yatkın olanlar tespit edilerek önlem alınabilir veya genetik teknolojinin ilerlemesi ile genetik tedaviler mümkün olabilir.

Aday gen ilişkilendirme çalışmaları periodontal araştırmalarda yaygın olarak uygulanan yöntemler olmasına rağmen, genetik riskin tamamını tanımlayamayabilirler. Birçok gen hastalıkla ilişkili olabilir ancak fonksiyonlarının tanımlanmaması ve önceden bilgi eksikliği nedeniyle aday gen olarak seçilemeyebilir (Tabor ve ark., 2002).

1.4. Mikrodizi Çalışmaları

Mikrodizi teknolojisi, belirli bir organizmadaki genlerin genom çapında ekspresyon seviyelerini izlemek için kullanılan vazgeçilmez araçlardan biridir.

Bir mikrodizi tipik olarak üzerine DNA moleküllerinin noktalar (veya özellikler) olarak adlandırılan belirli konumlarda düzenli bir şekilde sabitlendiği bir cam slayttır. Bir mikrodizi binlerce nokta içerebilir ve her bir nokta, bir gene benzersiz şekilde karşılık gelen birkaç milyon özdeş DNA molekülü kopyası içerebilir. Bir noktadaki DNA ya genomik DNA ya da bir gene karşılık gelen kısa oligo-nükleotid dizileri olabilir. Noktalar, bir robot tarafından cam slayt üzerine yazdırılır veya fotolitografi işlemi ile sentezlenir (Babu, 2004).

Günümüzde ekspresyon düzeylerinden elde edilen bilgiler, insan hastalıklarının teşhis ve tedavisi için çok önemlidir. Mikrodizi, moleküllerin (mRNA, microRNA) ekspresyon seviyelerini aynı anda elde etmek için tasarlanmış çip tabanlı bir teknolojidir. Çip, bir yüzeyden (cam veya silikon) ve farklı molekülleri ayırt etmek için genetik malzemelerden oluşur. Dizi teknolojisi son yıllarda popüler hale gelmiştir (Schena ve ark., 1995). Farklı şirketler Affymetrix, Agilent vb. gibi farklı çipler sağlamaktadır (Petersen ve ark., 2005).

1.4.1. RNA Sekanslama

RNA mikrodizi teknolojisi, 90'lı yılların ortalarında transkriptomik analiz için kullanılmaya başlandı. Transkripsiyonel profilleri ve genom farklılıklarını keşfetmek için güçlü bir teknoloji olarak kullanılmıştır. Mikrodiziler, katı bir substrat üzerinde dizilen "sondalar" olarak bilinen kısa nükleotid oligomerlerinden (20-100 veya daha fazla baz çifti) oluşur. Transkript bolluğu, floresan olarak etiketlenmiş transkriptlerin bu problemlere hibridizasyonu ile belirlenir ve dizi üzerindeki her bir prob konumundaki flüoresan yoğunluğu, o prob için transkript bolluğunu gösterir. Mikrodizi sistemleri, yüksek hassasiyetleri, yüksek doğrulukları, düşük maliyetleri, emek tasarrufu sağlayan

prosedürleri ve tekrarlanabilirlikleri nedeniyle uzun yıllardır tercih edilen bir teknoloji olarak kullanılmaktadır (Lowe ve ark., 2017).

İlk transkriptomik çalışmalar büyük ölçüde hibridizasyon tabanlı mikrodizi teknolojilerine dayanıyordu ve genomlardan çok çeşitli seviyelerde ifade edilen çeşitli RNA moleküllerini tam olarak kataloglamak ve ölçmek için sınırlı bir yetenek sundu. Yüksek verimli yeni nesil DNA dizileme teknolojilerinin (Metzker, 2010) tanıtılması, büyük ölçekte cDNA dizilimi yoluyla RNA analizine izin vererek transkriptomikte devrim yaratmıştır.

Nagalakshmi ve arkadaşları (2008), tarafından tanıtıldığı gibi transkriptomik analiz için RNA-sekanslama (RNA-seq) yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntem mikrodizi analizine kıyasla birçok ek avantaj içerir. RNA sekanslama yoluyla, araştırmacılar yeni transkriptler, tek nükleotid çözünürlüğünde transkripsiyon sınırları bulabilir ve dizilerdeki tek nükleotid polimorfizmleri gibi varyasyonları tespit edebilir (Nagalakshmi ve ark., 2008). RNA sekanslama yöntemi, yüksek keşif oranına, yüksek duyarlılığa, kolaylığa, doğru profil oluşturmaya ve transkriptleri nicelleştirmeye sahip olduğundan, günümüzde en uygun yöntem olarak kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2009).

1.5. Gen Ontolojisi

Gen Ontolojisi (GO) (Ashburner ve ark., 2000), yüksek verimli biyolojik veri kümelerinin analizi ve yorumlanması için evrensel bir kaynaktır (Kramarz ve Lovering, 2019). The Gene Ontology Consortium (2019)'da açıklandığı gibi, GO (Ashburner ve ark., 2000) herhangi bir organizmadaki genleri ve gen ürünlerini tanımlayıp, bu verileri işlevsel düzeyde hesaplamalı olarak işlemek için uygun bir biyoinformatik kaynak sağlamaktadır.

Yüksek verimli yaklaşımların analizlerinin çoğu, yüksek kaliteli veri atıflandırmasına (anotasyon) (Cooper-Knock ve ark., 2012 ve Kang ve ark., 2015)

dayanır, çünkü bunlar veri harmanlama ve veri analizi (Cooper-Knock ve ark., 2012 ve Lovering ve ark., 2009) arasındaki boşluğu kapatır. Gen anotasyon veri kümeleri, proteinler veya mikroRNA'lar gibi gen ürünleri hakkında hesaplamalı olarak erişilebilir bir formatta işlevsel bilgi sağlar, böylece bu veriler sistem biyolojisi araştırmacıları tarafından kullanılabilir (Polis ve Samson, 2019).

Ontolojinin kendisi, proteinler ve diğer gen ürünlerinin hücre içi lokalizasyonu (Hücresel Bileşen: ~3000 terim), biyokimyasal aktiviteyi (Moleküler Fonksiyon: ~9000 terim) ve büyük süreçlere katılımı (Biyolojik Proses [BP]: ~20 000 terim) tanımlayan 32 000'den fazla terim içerir (Gaudet ve ark., 2011).

Omik veri çalışmalarında önemli ölçüde zenginleştirilmiş yolları tanımlamak için kullanılan ana kaynaklar, GO (Ashburner ve ark., 2000), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) (Kanehisa ve ark., 2022 ve Kotera ve ark., 2012), Reaktom (Haw ve ark., 2011) ve protein etkileşimi veri tabanları (Kerrien ve ark., 2012 ve Orchard ve ark., 2014) tarafından sağlananlardır. GO (Ashburner ve ark., 2000) açıklama verileri, bir gen ürününün bir süreçteki rolünü veya bir hücredeki yerini tanımlayabildiği için, bu gen ürününün temel moleküler aktivitesi hala araştırılıyor olsa bile sıklıkla kullanılmaktadır (Lovering ve ark., 2018). Buna karşılık, reaktom (Haw ve ark., 2011) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022), bir yolak diyagramında açıkça tanımlanan her gen ürünü tarafından katalize edilen veya oluşturulan "reaksiyon" ile bir gen ürününün bir yolak içindeki moleküler işlevi hakkında çok özel bilgiler sağlar. Sonuç olarak yine rolü tam olarak aydınlatılamamış ürünler bu kaynaklara dahil edilemez (Kramarz ve Lovering, 2019).

1.6. Gen Zenginleştirme Analizleri

Zenginleştirme analizi, heterojen bir popülasyondan seçilen öğeler içinde kategorik bir sınıfın olağandışı temsilini keşfetmek için kullanılan istatistiksel bir yaklaşımdır. Daha büyük münferit listeden bir üye alt kümenin seçiminde yanlılıktan şüphelenilen herhangi bir durumda uygulanabilir. Genetik alanında deneysel olarak

tanımlanmış gen listelerinin analizinde, genellikle listeyi tanımlamak veya genel olarak üyeleri toplu olarak tanımlayan ortak özellikleri keşfetmek amacıyla popülerlik kazanmıştır (Tilford ve Siemers, 2009).

Yüksek verimli genomik, proteomik ve biyoinformatik tarama yaklaşımları (ifade mikrodizisi, promotör mikrodizisi, proteomik, CHIP'ler üzerinde ChIP, vb.), araştırmacıların belirli biyolojik koşullar altında, genom çapında genlerdeki değişiklikleri ve düzenlemeleri eş zamanlı olarak ölçmesine olanak tanıyan alternatif teknolojiler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu yüksek verimli teknolojiler, genellikle nihai sonuç olarak büyük gen listeleri oluşturur. Bununla birlikte, büyük gen listelerinin (boyutları yüzlerce ila binlerce gen arasında değişen) biyolojik yorumu hala zorlu ve göz korkutucu bir iştir. Son birkaç on yılda, halka açık veri tabanlarında biriken biyolojik bilgiyi kullanan biyoinformatik yöntemler (örn. Gen Ontolojisi) (Ashburner ve ark., 2000), en zenginleştirilmiş ve en ilgili biyolojinin bir özetini bir araya getirmek amacıyla büyük gen listelerini sistematik olarak incelemeyi mümkün kılmaktadır. Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca, biyoinformatik zenginleştirme araçları, çeşitli yüksek verimli biyolojik çalışmalar için geniş gen listelerinin fonksiyonel analizine katkıda bulunan çok önemli ve başarılı bir rol oynamıştır (Huang ve ark., 2009).

Zenginleştirme analizinin temeli belirli bir çalışmada biyolojik bir süreç anormal ise, ortak çalışan genlerin yüksek verimli tarama teknolojileri tarafından bağlantılı bir grup olarak seçilmek için daha yüksek (zenginleştirilmiş) bir potansiyele sahip olması gerektiğidir. Böyle bir mantık, büyük gen listelerinin analizini, bireysel gen odaklı bir bakış açısından, bağlantılı gen grubu bazlı analize doğru hareket ettirebilir. Analitik sonuç, tek bir gen yerine bir grup bağlantılı gene dayandığından, araştırmacıların, incelenen biyolojik fenomene en uygun biyolojik süreçleri belirleme olasılığını artırır (Huang ve ark., 2009).

1.6.1. PANTHER Veri Tabanı

PANTHER (Protein Analysis Through Evolutionary Relationships) Sınıflandırma Sistemi (www.pantherdb.org), genom çapında bir ölçekte gen fonksiyonunun analizi için kapsamlı bir platform olarak tasarlanmıştır (Thomas ve ark., 2022). İlk gelişimi gen ve protein fonksiyonlarını sınıflandırmayı amaçlasa da (Thomas ve ark., 2003 ve Venter ve ark., 2001) deneysel veri analizi için çevrimiçi bir kaynak olarak hizmet etmek için yıllar içinde gelişmiştir (Thomas ve ark., 2006).

PANTHER (Thomas ve ark., 2022) sistemi, üç fonksiyonel modül ile oluşturulmuştur. Çekirdek modül, önce dizi homolojisine dayalı ailelere ve daha sonra ortak işlevlerine (genellikle bir grup ortolog gen) dayalı olarak alt ailelere organize edilen 82 organizmanın tüm protein kodlayan genlerini içeren büyük bir protein kütüphanesidir. Her aile veya alt aile, ontoloji terimleriyle (GO [Ashburner ve ark., 2000] terimleri ve PANTHER Protein Sınıfı terimleriyle) açıklamalı bir istatistiksel model ile temsil edilir. İkinci modül, PANTHER (Thomas ve ark., 2022) yolak modülüdür. Tüm yolaklar, manuel iyileştirme yoluyla, protein kitaplığındaki tek tek proteinlere, yolak bileşenleri aracılığıyla bağlanır ve bu nedenle, filogenetik bilgi ve istatistiksel modellerle de bağlantılıdır. Son modül, kullanıcıların yalnızca verileri sorgulamasına ve genleri ve proteinleri sınıflandırmasına değil, aynı zamanda genom çapında deneysel verileri görselleştirmesine, analiz etmesine ve yorumlamasına olanak tanıyan bir biyoinformatik araç ve yazılım koleksiyonunu içeren web sitesi araç takımıdır (Mi ve ark., 2013 ve Thomas ve ark., 2022).

PANTHER (Thomas ve ark., 2022) veri tabanında proteinler iki ana eksenle sınıflandırılır: evrimsel gruplamalar (Protein Sınıfı, Protein Ailesi, Alt Aile) ve fonksiyonel gruplamalar (Gen Ontolojisi [Ashburner ve ark., 2000] ve yolaklar). Evrimsel gruplamalar, proteinlerin evrimsel geçmişlerine göre “doğal sınıflandırmasına” karşılık gelir. Fonksiyonel gruplamalar, proteinleri ailelere göre değil, tek tek proteinlerin işlevlerine göre sınıflandırır. Fonksiyonlar birden fazla yolla sınıflandırılır: Gen Ontolojisi (Ashburner ve ark., 2000) tarafından tanımlanan üç farklı durum (moleküler fonksiyon, hücresel bileşen ve biyolojik proses) ve yolaklar

(sinyalleme ve metabolik yollar). İşlevler, iki farklı yöntem kullanılarak açıklanır. İlk yöntem, bir filogenetik ağaçtaki ilgili proteinlerin klavuzlarını (iç ağaç düğümleri kullanılarak tanımlanır) açıklar ve anotasyon klavuzdaki tüm proteinlerin anotasyonu ile sonuçlanır. Bu anotasyonlar, PANTHER yolağı (Thomas ve ark., 2022) ontolojisinin yanı sıra eksiksiz GO'nun basitleştirilmiş veya "ince" bir alt kümesi olan PANTHER GO-slim'den Gen Ontolojisi terimlerini içerir (Mi ve ark., 2021).

Fonksiyonel gruplamalar, proteinleri ailelere göre değil, tek tek proteinlerin işlevlerine göre sınıflandırır. Fonksiyonlar birden fazla yolla sınıflandırılır: Gen Ontolojisi (Ashburner ve ark., 2000) tarafından tanımlanan üç farklı yön (moleküler fonksiyon, hücresel bileşen ve biyolojik süreç) ve yollar (sinyalleme ve metabolik yollar) ile sınıflandırılır. İşlevler, iki farklı yöntem kullanılarak açıklanır. İlk yöntem, bir filogenetik ağaçtaki ilgili proteinlerin klavuzlarını (iç ağaç düğümleri kullanılarak tanımlanır) açıklar ve açıklamalı klavuzdaki tüm proteinlerin açıklamalarıyla sonuçlanır. Bu açıklamalar, eksiksiz GO'nun basitleştirilmiş veya "ince" bir alt kümesi olan PANTHER GO-slim'den Gen Ontolojisi terimlerinin yanı sıra PANTHER Pathway (Mi ve Thomas, 2009) ontolojisinden terimleri içerir.

Gen listesi fonksiyonel terimlerle sınıflandırıldıktan sonra üç farklı şekilde analiz edilebilir (Mi ve ark., 2013);

- İşlevsel sınıflandırma – Bu araç, yüklenen listenin işlevsel sınıflandırma sonuçlarını sağlar ve bunları bir gen listesi sayfasında veya pasta grafiğinde görüntüler.
- İstatistiksel aşırı temsil testi - Bu araç, kavramsal olarak basit binom testine dayanmaktadır (Cho ve Campbell, 2000). Kullanıcı tarafından yüklenen bir test gen listesini bir referans gen listesiyle karşılaştırır ve belirli bir gen sınıfının (örneğin, bir GO biyolojik süreci veya PANTHER yolağı) fazla mı yoksa eksik mi temsil edildiğini belirler. Aşırı temsil testi artık varsayılan olarak binom testi yerine Fisher'ın kesin testini kullanmaktadır (yani araç artık varsayılan olarak hipergeometrik bir dağılım varsayıyor, daha küçük gen listeleri için daha doğru sonuç vermektedir) (Mi ve ark., 2019a).

- İstatistiksel zenginleştirme testi - PANTHER grubu (Clark ve ark., 2003) ve Lander grubu (Mootha ve ark., 2003) tarafından yaklaşık olarak aynı anda iki farklı genomik veri analizi için yapılan çalışmaya dayanan bu araç, herhangi bir ontoloji sınıfının veya yolağın sayısal değerlere sahip olup olmadığını belirlemek için Mann-Whitney testini (Mann ve Whitney, 1947) kullanır. Tüm değerler listesine göre rastgele dağıtılır. Sayısal veriler, mikrodizi deneylerinden elde edilen normalleştirilmiş ham okumalar veya daha yaygın olarak, bir diferansiyel ekspresyon deneyinde her bir gen için kat değişim değeri veya genom çağı ilişkilendirme çalışması deneyinden hesaplanan p değerleri olabilir.

1.6.1.1. PANTHER İstatistiksel Aşırı Temsil Testi Sonuçlarının Okunması

Test listesi genellikle ilgilenilen genlerin bir listesidir. Liste, GO (Ashburner ve ark., 2000) veya PANTHER (Thomas ve ark., 2022) sınıflandırmasına göre (moleküler fonksiyon, biyolojik süreç, hücresel bileşen, PANTHER protein sınıfı veya PANTHER yolağı) gruplara ayrılır. Tüm genleri/proteinleri içeren bir referans listesi, aynı şekilde gruplara ayrılır. PANTHER (Thomas ve ark., 2022), 82 genomun tümü için varsayılan referans listeleri olarak referans proteom veri seti sağlar, bu nedenle bir referans listesi yüklemek isteğe bağlıdır. Daha sonra, moleküler fonksiyon için protein kinaz, biyolojik süreç için hücre proliferasyonu veya yolak için apoptoz sinyal yolağı gibi her bir fonksiyonel kategori için, referans listesine göre test listesinde genlerin/proteinlerin istatistiksel olarak fazla veya eksik temsilinin olup olmadığını belirlemek için binom testi uygulanır (Mi ve ark., 2019b).

Aşırı temsil testinde beklenen değer; referans listesine dayalı olarak belirli bir PANTHER (Thomas ve ark., 2022) kategorisi için test listesinde beklediğiniz gen sayısıdır. Örneğin, referans listesinde 20.000 gen vardır (ör: insan genomu). Bu genlerin 440'ı, apoptozun GO (Ashburner ve ark., 2000) terimi indüksiyonu ile eşlenir. Buna dayanarak, referans listesindeki genlerin %2,2'si (440 bölü 20.000) apoptoz indüksiyonunda yer almaktadır. Şimdi 500 gen içeren bir test listesi

yüklendiğinde referans listesine göre, test listesindeki 11 genin ($500 \times \%2,2$) apoptoz indüksiyonunda yer alması beklenmektedir (Mi ve ark., 2013).

Test edilen biyolojik süreç için test listesinde beklenenden daha fazla gen gözlemlenirse, genlerin aşırı temsili (+) var demektir. Beklenenden daha az gen gözlemlenirse, yetersiz temsil var demektir (-). Daha sonra fazla veya eksik temsilin anlamlı olup olmadığını belirlemek için bir p değeri hesaplanır. Örneğin, test listesinde gözlenen 21 genin apoptozu indüklemeye rol oynadığını varsayalım. Bu, beklenen değerin neredeyse iki katı olmasına rağmen, p değeri büyüktür ve anlamlı değildir (p değeri 0,722 olacaktır). Alternatif olarak, eğer 35 gen gözlenirse, bu beklenen değerden çok farklıdır, bu nedenle küçük, anlamlı bir p-değeri beklersiniz (p-değeri $6.21e-7$ olur). Bu küçük p-değeri, sonucun rastgele olmadığını ve potansiyel olarak ilginç olduğunu ve daha yakından incelenmeye değer olduğunu gösterir (Mi ve ark., 2013).

Analiz sonuçları artık, kullanıcıların aşırı temsil edilen veya zenginleştirilmiş işlevsel sınıflar arasındaki hiyerarşik ilişkileri anlamalarına yardımcı olmak için varsayılan olarak "Hiyerarşik" olarak sıralanır. Sıralamada, en özgül alt sınıf ilk sırada gösterilirken, üst sınıflar doğrudan altında girintili olarak gösterilir. Bunların hepsi bir ontolojideki ilgili sınıflardır ve genellikle bireysel olarak değil, bir grup olarak yorumlanabilir. Bir terim, sonuçlar tablosunda birden fazla terimin ebeveyniyse, yalnızca ilk alt ögesi altında gösterilir. Sınıfın en genel başlığı en girintili sırada gösterilir (Şekil 1.1) (Thomas ve ark., 2022).

1.6.2. STRING Veri Tabanı

Biyomoleküler ağlar modern biyoloji ve tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Barabasi ve Oltvai, 2004; Conte ve ark., 2020 ve Hu ve ark., 2016). Moleküler fonksiyonların çıkarımını mümkün kılarlar (Cowen ve ark., 2017 ve Tian ve ark., 2008), biyolojik süreçlerde modülerliğin karakterizasyonuna (Choobdar ve ark., 2018; Luo ve ark., 2007 ve Serban, 2020) izin verirler ve derin öğrenme için substrat görevi

görürler (Camacho ve ark., 2018 ve Gligorijevic ve ark., 2018). En kullanışlı, genel ve geniş kapsamlı ağ türlerinden biri, protein-protein ilişki ağıdır; belirli bir genomdaki tüm protein kodlayan genleri kapsar ve fonksiyonel ilişkilerini vurgular (Guala ve ark., 2020). Proteinler birçok şekilde etkileşime girebildiğinden, bir "fonksiyonel ilişki" tipik olarak operasyonel olarak tanımlanır: belirli bir hücresel sürece ortaklaşa katkıda bulunan herhangi iki proteinin fonksiyonel olarak ilişkili olduğu kabul edilir (Guala ve ark., 2020); bu tanım, aynı süreç içinde antagonist olarak hareket eden protein çiftlerini bile içerir.

	Homo sapiens (REF)	Client Text Box Input (▼ Hierarchy, NEW! ⓘ)
	#	# expected Fold Enrichment +/- raw P value FDR
GO biological process complete		
mitochondrial respiratory chain complex I assembly	60	19 4.40 4.32 + 1.09E-06 2.85E-03
↳NADH dehydrogenase complex assembly	60	19 4.40 4.32 + 1.09E-06 3.42E-03
↳mitochondrial respiratory chain complex assembly	99	25 7.26 3.44 + 8.66E-07 3.40E-03
↳mitochondrion organization	445	66 32.64 2.02 + 7.39E-07 3.86E-03
cellular defense response	51	15 3.74 4.01 + 3.00E-05 2.61E-02
proton motive force-driven mitochondrial ATP synthesis	64	17 4.69 3.62 + 2.74E-05 2.53E-02
↳proton motive force-driven ATP synthesis	73	18 5.35 3.36 + 3.74E-05 3.09E-02
↳ATP biosynthetic process	85	20 6.23 3.21 + 2.52E-05 2.64E-02
↳purine ribonucleotide biosynthetic process	197	33 14.45 2.28 + 5.48E-05 3.91E-02
↳purine nucleotide biosynthetic process	205	34 15.03 2.26 + 4.60E-05 3.43E-02
↳purine-containing compound biosynthetic process	216	35 15.84 2.21 + 6.76E-05 4.61E-02
↳cellular biosynthetic process	2464	238 180.71 1.32 + 2.68E-05 2.62E-02
↳organonitrogen compound biosynthetic process	1333	153 97.76 1.57 + 2.79E-07 2.19E-03
↳carbohydrate derivative biosynthetic process	599	80 43.93 1.82 + 1.94E-06 4.34E-03
oxidative phosphorylation	119	29 8.73 3.32 + 2.26E-07 3.54E-03
↳aerobic respiration	159	32 11.66 2.74 + 3.39E-06 5.32E-03
↳cellular respiration	190	34 13.93 2.44 + 1.19E-05 1.69E-02
mitochondrial ATP synthesis coupled electron transport	91	23 6.67 3.45 + 2.32E-06 4.54E-03
↳ATP synthesis coupled electron transport	91	23 6.67 3.45 + 2.32E-06 4.03E-03
↳respiratory electron transport chain	113	24 8.29 2.90 + 1.80E-05 2.01E-02
mitochondrial translation	110	24 8.07 2.97 + 1.22E-05 1.60E-02
↳mitochondrial gene expression	141	28 10.34 2.71 + 1.73E-05 2.08E-02
glycoprotein biosynthetic process	277	42 20.32 2.07 + 4.40E-05 3.45E-02

Şekil 1.1. Fisher kesin olasılık testi ve FDR (False discovery rate) düzeltme yönteminin kullanıldığı bir PANTHER aşırı temsil testinin sonuç sayfasının ekran görüntüsü.

- Kırmızı ok; PANTHER GO, GO-Slim veya PANTHER yollarına ait anotasyon veri kategorisinin ismini içerir.
- } sarı küme; tek bir ontoloji sınıfının alt gruplarıyla birlikte hiyerarşik sıralamasını içerir.
- mavi ok ile gösterilen en girinli sıra; o ontolojinin en genel sınıfını gösterir.
- yeşil ok ise o ontolojinin en özgül alt sınıfı gösterir.

- “Homo sapiens (REF) #”; referans listesindeki bu anotasyon veri kategorisiyle eşleşen genlerin sayısını içerir.

- “Client Text Box Input”; istemci metin kutusu girişini gösterir.
- “#”; yüklediğiniz listede anostasyon veri kategorisiyle eşleşen genlerin sayısını içerir.
- “expected”; referans listesine göre bu kategori için listenizde olmasını bekleyeceğiniz gen sayısı olan beklenen değeri içerir.
- “Fold Enrichment”; yüklenen listede gözlenen genlerin beklenenin (listedeki sayının beklenen sayıya bölümü) üzerinden katlama zenginleşmesini gösterir. 1’den büyükse, kategorinin fazla temsil edildiğini gösterir. Tersine, 1’den küçükse kategori yetersiz temsil edilmiştir.
- “+/-”; artı işareti, bu kategorinin aşırı temsil edildiğini gösterir: referans listesine göre beklenenden daha fazla gen gözlemlenmiştir (bu kategori için, listenizdeki gen sayısı beklenen değerden fazladır). Tersine, negatif bir işaret yetersiz temsili gösterir.
- “raw P value”; Fisher’in kesin testi veya Binom istatistiği tarafından belirlenen ham p değeridir. Bu, referans listeniz tarafından belirlendiği üzere, bu kategoride gözlemlediğiniz gen sayısının tesadüfen (rastgele) meydana gelme olasılığıdır.
- “FDR”; Benjamini-Hochberg yöntemiyle hesaplanan yanlış keşif oranıdır (YKO). Varsayılan olarak, sonuçları filtrelemek için kritik bir 0,05 değeri kullanılır, bu nedenle gösterilen tüm sonuçlar, bireysel bir karşılaştırma için YKO bu değerden büyük olsa bile genel YKO<0,05 için geçerlidir. Bu değer, Fisher’in kesin olasılık testi seçeneği seçildiğinde verilir (Thomas ve ark., 2022).

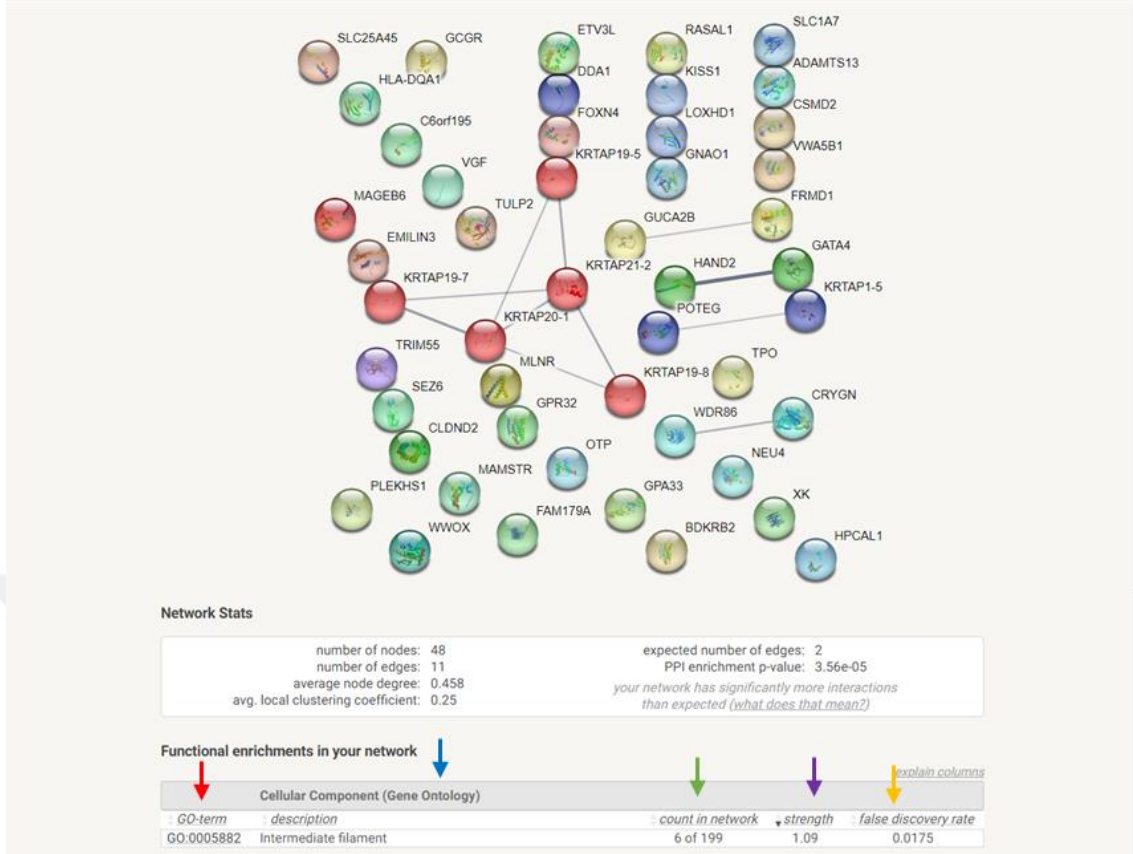
STRING (Search Tool for Retrieval of Interacting Genes/Proteins) veritabanı (Snel ve ark., 2000 ve Szklarczyk ve ark., 2021), organizma çapında protein ilişki ağlarına ayrılmış birkaç çevrimiçi kaynaktan biridir. STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)’deki temel etkileşim birimi, fonksiyonel ilişkidir, yani her ikisi de belirli bir biyolojik fonksiyona ortak olarak katkıda bulunan iki protein arasındaki bir bağlantıdır (Enright ve Ouzounis, 2001 ve Szklarczyk ve ark., 2021). İki proteinin bu şekilde ilişkilendirilmesi için fiziksel olarak etkileşime girmeleri gerekmez. Bunun yerine, hücredeki işlevsel rollerinin en azından bir kısmının üst üste gelmesi ve bu örtüşen işlevin geniş anlamda bir yolak veya işlevsel harita olarak nitelendirilebilecek kadar spesifik olması yeterlidir. Bu tanım gereği, aynı yolak içinde bir inhibitör ve bir aktivatör gibi birbirini antagonize eden proteinler bile fonksiyonel olarak ilişkilendirilebilir (Szklarczyk ve ark., 2019).

Genel olarak, STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)’deki etkileşim puanları, belirli bir etkileşimin gücünü veya özgüllüğünü temsil etmez, bunun yerine, mevcut tüm kanıtlar göz önüne alındığında, ilişkinin doğru olduğuna dair sıfırdan bire bir

ölçekte yaklaşık bir güveni ifade etmeyi amaçlar. STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)'deki puanlar, her iki protein ortağının da zaten işlevsel olarak açıklamalı olduğu birlikler alt kümesi kullanılarak kıyaslanır; bunun için, KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak haritaları altın standart olarak kullanılır ve bu nedenle dolaylı olarak işlevsel ilişkilerin ayrıntı düzeyini de belirlerler (Szklarczyk ve ark., 2021).

STRING (Szklarczyk ve ark., 2021), kullanıcının girdisi üzerinde otomatik yolak zenginleştirme analizi yapar ve beklenenden daha sık gözlemlenen tüm yolakları veya işlevsel alt sistemleri listeler. STRING (Szklarczyk ve ark., 2021), ikisi başka yerde bulunmayan toplam on bir işlevsel yolak sınıflandırma çerçevesi için bu aşırı temsil testlerini gerçekleştirecektir (Szklarczyk ve ark., 2021). Yaygın olarak bulunan çerçeveler şunlardır: The Gene Ontology Consortium (2019)'da belirtilen Gene Ontoloji (Ashburner ve ark., 2000) ek açıklamaları (üç GO alanının tümü), KEGG yolakları (Kanehisa ve ark., 2022), The UniProt Consortium (2019)'da belirtilen UniProt (Uniprot/SwissProt, protein dizisi, yapısı ve işlevi hakkında derlenmiş bilgileri içeren bir veri tabanıdır) anahtar sözcükleri, Reaktom yolakları (Jassal ve ark., 2020), Pfam (El-Gebali ve ark., 2019) ve SMART (Letunic ve Bork, 2018) protein alanları ve InterPro protein özellikleri (Mitchell ve ark., 2019). Geriye kalan iki sınıflandırma sistemi STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)'e özgüdür: i) biyomedikal literatürün isim etiketli kapsamlı bir koleksiyonu (PubMed özetleri, 2,7 milyon tam metin makale ile desteklenir) ve ii) STRING (Szklarczyk ve ark., 2021) ağının kendisinin hiyerarşik bir kümelenmesi, daha küçük bölümlere ayrılmış, birbirine sıkı sıkıya bağlı kümeler. Bu iki alt sistem, yerleşik, manuel olarak açıklamalı yolak sınıflandırmalarına kıyasla tamamlayıcı ve daha keşifsel zenginleştirme görünümleri sağlar (Szklarczyk ve ark., 2021).

Birlikte ele alındığında, STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)'deki ağ ve zenginleştirme araçları, kullanıcı gen listelerinin ve işlevsel genomik veri kümelerinin kapsamlı karakterizasyonunu sağlar ve yüksek düzeyde özelleştirilmiş ve artırılmış protein-protein ilişki ağlarının oluşturulmasına ve paylaşılmasına olanak tanır (Szklarczyk ve ark., 2021).



Şekil 1.2. Bir STRING analizinin sonuç sayfasının ekran görüntüsü.

- ➔ Kırmızı ok; İlgili verinin GO kodunu gösterir.
- ➔ Mavi ok; Hangi kategoride ontoloji yapıldığını gösterir.
- ➔ Yeşil ok; Ağda Sayım: İlk sayı, ağınızda kaç proteinin belirli bir terimle açıklandığını gösterir. İkinci sayı, bu terimin toplamda (ağınızda ve arka planda) kaç proteine atandığını gösterir.
- ➔ Mor ok; Kuvvet: Log10 (gözlemlenen/beklenen). Bu ölçü, zenginleştirme etkisinin ne kadar büyük olduğunu açıklar. Bu, i) ağınızda bir terimle açıklamalı protein sayısı ile ii) aynı boyutta rastgele bir ağda bu terimle açıklamalı olmasını beklediğimiz protein sayısı arasındaki orandır.
- ➔ Sarı ok; Yanlış Keşif Oranı: Bu ölçü, zenginleştirmenin ne kadar önemli olduğunu açıklar. Gösterilenler, Benjamini-Hochberg prosedürü kullanılarak her kategoride çoklu testler için düzeltilmiş p değerleridir (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021).

Analiz bölümü, düğümlerin ve kenarların sayısı gibi ağın bazı kısa istatistiklerini verir. Ortalama düğüm derecesi, bir proteinin ağda ortalama olarak kaç etkileşime (puan eşliğinde) sahip olduğunun sayısıdır. Kümeleme katsayısı, ağdaki düğümlerin ne kadar bağlı olduğunun bir ölçüsüdür. Yüksek düzeyde bağlantılı ağlar yüksek değerlere sahiptir.

Beklenen kenar sayısı, eğer düğümler rasgele seçilecekse kaç kenar bekleneceğini verir. Küçük bir PPE (protein-protein etkileşimi) zenginleştirme p-değeri, düğümlerin rastgele olmadığını ve gözlemlenen kenar sayısının önemli olduğunu gösterir (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021).

1.7. Karşılaştırmalı Transkriptom Analizi

Transkriptom, bir bireyde veya bir hücre popülasyonunda kodlama yapan ve kodlamayan dahil olmak üzere tüm RNA transkriptlerinin kümesidir. Karşılaştırmalı transkriptom analizi ise hücrede bulunan bütün transkriptlerin çeşidinin ve miktarının eş zamanlı olarak incelenmesidir. Bir örnekte bulunan RNA miktarına bağlı olarak, genlerin seçilmiş bir alt grubunun veya tamamının ekspresyon düzeyini, tek nükleotid polimorfizimleri, insersiyonları, delesyonları, translokasyonları ve kodlanmayan RNA'ları da incelemek mümkündür (Nagalakshmi ve ark., 2010). Böylece transkriptom dizileme ile hücre içerisindeki dinamik işleyişin eş zamanlı paralel olarak incelenmesi mümkündür.

Son on yıldaki teknolojik gelişmeler, sadece gen dizisini değil, aynı zamanda gen ekspresyonu, protein-protein etkileşimleri ve transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya bağlanması gibi fonksiyonel özellikleri de tanımlayan genom ölçeğinde verilerin birikmesine yol açmıştır. Bu tür veriler artık birden fazla organizma için mevcuttur ve bunların karmaşıklığı, karşılaştırmalı analiz için yeni bir dizi zorluk sunar. Ayrıca, dizi analizi tipik olarak gene özgüdür ve belirli homolog kümelerini karşılaştırır. Aksine, fonksiyonel özellikler, çoğu zaman çoklu genlerin entegre fonksiyonunu yansıtır ve gen merkezli karşılaştırmalardan ziyade ağ merkezli karşılaştırmalara izin veren yeni yöntemler gerektirir. Son olarak, mevcut teknolojilerle üretilen fonksiyonel genomik veriler yüksek düzeyde anlamsız veriden muzdariptir ve bu nedenle geçerli sonuçlar elde etmek için filtrelenmeleri gerekir (Tirosh ve ark., 2007).

Karşılaştırmalı transkriptom analizi, farklı denekler arasındaki gen ekspresyon modellerini karşılaştırmanın ve biyolojik süreçler hakkında bilgi sağlamanın etkili bir

yoludur (Fu ve ark., 2016 ve Zhou ve ark., 2014). Ayrıca, transkriptom dizilimi, veri analizi için bir referans genom gerektirmez (Schuster, 2008 ve Trick ve ark., 2009).

Geleneksel karşılaştırmalı transkriptomikler, her grup için birkaç örneğin gen ifadelerinin ölçüldüğü ve vaka ve kontrol denekleri arasındaki farklı gen ekspresyonunu incelemek için istatistiksel testlerin uygulandığı vaka-kontrol çalışması tasarımına dayanmaktadır. Vaka-kontrol çalışması tasarımı, epidemiyolojide hastalık ve maruziyet arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaygın olarak benimsenmiştir ve karşılaştırmalı çalışmaların ilk ilkesidir. Genomik çalışmalarda, bu tasarım iki nesnenin karşılaştırılması için verimli bir şekilde çalışır ve fenotipik farklılık ile genetik farklılık arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçlar. Fenotipik farklılık hastalık anlamına gelirken, genetik farklılık epidemiyoloji açısından maruz kalma anlamına gelir. Genomik görüşe göre, genetik farklılıklar vaka ve kontrol numuneleri arasındaki varyantlardı (Liu ve ark., 2015). Birçok genom çapında ilişkilendirme analizi çalışması popülasyonlar arasındaki genetik varyantların potansiyel etkilerini incelemek için vaka kontrol çalışması tasarımını da kullanır (Mahajan ve ark., 2014; Speedy ve ark., 2014 ve Yeager ve ark., 2007), bu da birçok hastalık türünün anlaşılmasını (Altshuler ve ark., 2008) teşvik etmiştir.

Farklı veri kümeleri arasındaki ilişkileri anlamak, veri analizi için hayati derecede önemlidir ve uygun görselleştirme yöntemlerinin kullanılması, kurulan ilişkileri netleştirmek için özellikle önemlidir. Bu ilişkileri göstermenin en basit ve en etkili yollarından biri, ilk kez 1880’de John Venn (Venn, 1880) tarafından önerilen bir Venn şeması oluşturmaktır. Tipik bir Venn şeması, veri kümeleri arasındaki kesişimleri, farklılıkları ve birleşimleri göstermek için örtüşen daireler kullanır. Kümeler arasındaki kesişimler, dairelerin örtüşen kısımlarında, farklılıklar dairelerin örtüşmeyen kısımlarında ve birleşimler, her iki veya her üç dairedeki verilerle temsil edilir (Jia ve ark., 2021).

Biyoinformatikte, Venn diyagramları (Venn, 1880), araştırmacıların deneyler, koşullar ve gruplar arasındaki bilgileri hızlı bir şekilde gözlemleyerek veri kümeleri arasındaki ilişkileri keşfetmelerini sağlar (Edwards ve ark., 2015; Jin ve ark. 2019;

Lake ve ark. 2016; Marks ve ark., 2012 ve Probst ve Almouzni, 2011). Genomik, transkriptomik ve proteomik gibi dizileme teknolojisinin ilerlemesiyle, çekirdek gen setlerini ortaya çıkarmak için çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı omiklerden gen listesi elde edildikten sonra, bu gen listeleri arasında paylaşılan veya benzersiz genleri göstermek için genellikle Venn diyagramları (Venn, 1880) kullanılır (Chen ve ark., 2021; Huang ve ark., 2019 ve Jacob ve ark., 2020).

Venn diyagramı (Venn, 1880) oluşturucuları ve uygulama araçları, veri kümeleri arasındaki temel öğelerin taranmasında önemli bir rol oynar ve kullanıcıların verilerinin potansiyel olarak paylaşılan özelliklerini daha iyi anlamalarına ve keşfetmelerine etkin bir şekilde yardımcı olabilir.

Periodontal hastalıklarla ilgili yapılan biyoinformatik analizlere dayanan çalışmalar incelendiğinde Papapanou ve ark. (2009)'nın periodontitisli hastaların dişeti dokularındaki subgingival bakteri profilleri ile gen ekspresyon paternleri arasındaki ilişkiyi araştırdığı çalışma karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmanın deneysel ayrıntıları ve sonuçları, GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) erişim numarası altında Gene Expression Omnibus'ta (GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) (Edgar ve ark., 2002) mevcuttur. Örnek sayısı fazla olan bu çalışmanın periodontal cebin mikrobiyal içeriğinin gingival dokulardaki gen ekspresyonunun bir belirleyicisi olduğunu ve periodontal türlerin lokal bir konak yanıtı ortaya çıkarmak için farklı yetenekleri hakkında yeni bilgiler sağladığını göstermektedir (Papapanou ve ark., 2009).

Sağlıklı ve hastalıklı dişeti dokuları arasındaki gen ekspresyon imzalarının karşılaştırılmasının, periodontitis patobiyolojisinde yeni bilgiler sağlayacağını ve gelecekteki çalışmaların tasarımına bilgi vereceği hipoteziyle yola çıkan Demmer ve ark. (2008), halihazırda tanınan periodontitis formlarının, etkilenen dişeti dokularında farklı gen ekspresyon profilleri ile karakterize edilip edilmediğini araştırmak için bir dizi çalışma başlatmıştır. Bu çalışmanın deneysel ayrıntıları ve sonuçları, GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) erişim numarası altında GEO veri tabanında (Edgar ve ark., 2002) mevcuttur. Transkriptom analizi, çoklu karşılaştırmalar için ayar yapıldıktan

sonra toplam 12.744 prob setinin farklı şekilde ifade edildiğini ortaya koymuştur ($p < 9.15 \times 10^{-7}$). Bunlardan 5.295'i sağlıklı karşılaştırıldığında hastalıkta yukarı regüle edilmiş ve 7.449'u aşağı regüle edilmiştir. Gen ontoloji analizi, apoptoz, antimikrobiyal hümoral yanıt, antijen sunumu, metabolik süreçlerin düzenlenmesi, sinyal iletimi ve anjiyogenez dahil olmak üzere farklı şekilde ifade edilen 61 grup (düzeltilmiş $p < 0.05$) tanımlamıştır. Dişeti dokusu transkriptomlarının, periodontitisin patobiyolojisinin hipoteze dayalı daha ileri çalışmaları için değerli bir bilimsel araç sağladığı görülmüştür (Demmer ve ark., 2008).

Abe ve ark. (2011), mikrodizi ve kantitatif gerçek zamanlı RT-PCR analizlerini kullanarak periodontitisten etkilenen dişeti dokusunda spesifik genlerin ve biyolojik yolakların ekspresyonunu belirlemek amacıyla, şiddetli kronik periodontitisli    hastanın sağlıklı ve periodontitisten etkilenen dişeti dokularında çalıştılar. Karşılaştırmalar, gen ontolojisi ve yolak analizleri gibi veri madenciliği analizleri yapıldı ve periodontitiste önemli rolü olan biyolojik yolaklar belirlendi. Çalışmada sunulan veri setleri, GEO veritabanında (Edgar ve ark., 2002), GSE23586 (Abe ve ark., 2011) erişim numarasıyla depolanmıştır. Karşılaştırma analizleri sonucunda, periodontitisten etkilenen diş eti dokularında 15 yukarı regüle ve 13 aşağı regüle gen (hepsi ekspresyon seviyelerinde iki kattan fazla değişiklik gösterdi) bulunmuştur. Yolak analizi, lökosit transendotelyal g     de dahil olmak üzere yukarı regüle edilmiş 15 biyolojik yolağı ve hücre iletişimi dahil olmak üzere beş aşağı regüle edilmiş yolakları tanımlamıştır (Abe ve ark., 2011).

Generalize agresif periodontitis ve kronik periodontitis öyküsü olan hastalarda ve periodontitis öyküsü olmayan hastalarda dişsiz bölgelerden sağlıklı dişeti dokusunun transkriptomunu mikrodizi ve kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) analizi kullanarak değerlendirildiği Taiete ve ark. (2018)'nın çalışmasında; Generalize agresif periodontitis (n=4), kronik periodontitis (n=4) ve periodontitis öyküsü olmayan (n=4) gruplarındaki hastalardan dişsiz bölgelerden sağlıklı dişeti dokusu alındı. Diferansiyel gen ekspresyonu (kat değişimi), gen ontolojisi (Ashburner ve ark., 2000) (GO; biyolojik süreç) ve yolak analizleri yapıldı. Mikrodizi verileri, GEO veritabanında (Edgar ve ark., 2002) (erişim no.:

GSE79705) saklanmıştır. Toplamda, 270 prob seti ve 50 GO grubu, Generalize agresif periodontitis ve periodontitis öyküsü olmayan gruplar arasında farklı şekilde eksprese edildi. Doğal öldürücü hücre reseptörleri ve bağışıklık sistemi ile ilgili diğer genler, generalize agresif periodontitiste yukarı regüle edildi, oysa nöral süreçlerde ve proliferasyonda fonksiyonları olan genler/keratinositlerin farklılaşması yetersiz ifade edildi. Kronik periodontitis ve generalize agresif periodontitis karşılaştırılırken farklı şekilde ifade edilen 220 prob seti ve 75 GO (Ashburner ve ark., 2000) grubu vardı. Kronik periodontitis, dış uyaranlara verilen yanıtlarla ilgili genlerin ekspresyonunun artması ve bağışıklık sistemi ile ilgili genlerin yetersiz ekspresyonu ile karakterize edildi. Bu çalışma, kronik periodontitis ve periodontitis öyküsü olmayan gruplardaki hastalarla karşılaştırıldığında generalize agresif periodontitis hastalarında dişsiz bölgelerden alınan sağlıklı dişeti dokusunun transkriptomundaki farklılıkları ortaya koymaktadır (Taïete ve ark., 2018).

GEO veritabanındaki (Edgar ve ark., 2002) havuzlanmış veri kümeleri kullanarak kronik periodontitisin moleküler biyobelirteç adaylarını ve biyolojik yollarını belirlemek amacıyla Suzuki ve ark. (2019)'ı, kronik periodontitisli dişeti dokusunun havuzlanmış üç transkriptomik veri setini (GSE10334 [Demmer ve ark., 2008], GSE16134 [Papapanou ve ark., 2009] ve GSE23586 [Abe ve ark., 2011]) kullanmıştır. Farklı şekilde eksprese edilmiş genler, fonksiyonel analiz ve biyolojik yollar, Protein-Protein Etkileşim ağı, tanı ve prognoz için biyobelirteç adayları araştırılmıştır. Kronik periodontitisli dişeti dokusunda 81 yukarı regüle edilmiş gen ve 42 aşağı regüle edilmiş gen dahil olmak üzere 123 yaygın diferansiyel olarak eksprese edilen genler (DEG) bulunmuştur. Gen Ontolojisindeki yukarı regüle edilmiş genlerin, bağışıklık cevabında önemli ölçüde ifadesi artmıştı ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yollarındaki, sitokin-sitokin reseptörü etkileşim yolağında, hücre yapışma moleküllerinde ve hematopoietik hücre ailesinde önemli ölçüde ifadesi artmıştı. Bu çalışmanın sonucunda; kronik periodontitis teşhisi ve prognozu için birkaç potansiyel biyobelirteç ve kronik periodontitis tanısı için biyobelirteç adaylarının yukarı yönde düzenleyicileri (TNF [Tümör-nekroz faktörü] ve TGF2 [Dönüştürücü Büyüme Faktörü -2] belirlenmiştir. Ayrıca CD19, IL-8 (interlökin-8), CD79A, FCGR3B (IgG'nin Fc fragmanı, düşük afiniteli IIIb reseptörü), Selectin L, CSF3 (Koloni Uyarıcı

Faktör 3), IL1B (İnterlökin-1Beta), CD53 ve IL-10RA (interlökin 10 reseptörü alt birim alfa) gibi kronik periodontitis patogenezinin anahtar genleri de doğrulanmıştır (Suzuki ve ark., 2019).

Periodontitis ve Alzheimer hastalığını birbirine bağlayan genetik mekanizmaları araştırmak amacıyla Jin ve ark. (2021) tarafından yapılan karşılaştırmalı transkriptomik çalışmada; periodontitis ile ilgili gen ekspresyonu veri setleri GEO veri tabanından (Edgar ve ark., 2002) indirilmiştir, diferansiyel ekspresyon analizi, DEG'leri tanımlamak için yapılmıştır. Alzheimer ile ilişkili genler; insan hastalıklarını içeren mevcut en büyük gen ve varyant koleksiyonlarından biri olan DisGeNET (<http://www.disgenet.org>) (Bauer-Mehren ve ark., 2010) veri tabanından indirilmiştir. Periodontisteki DEG'ler arasında örtüşen genler ve alzheimer ile ilgili genler, periodontitis ve alzheimer arasındaki karışma genleri olarak tanımlanmıştır. Periodontitis ile ilgili dört veri seti (GSE23586 [Abe ve ark., 2011], GSE16134 [Papapanou ve ark., 2009], GSE10334 [Demmer ve ark., 2008] ve GSE79705 [Taiete ve ark., 2018]) analize dahil edilmiştir. Boruta algoritması kullanılarak toplam 48 temsili karışma geni tanımlanmıştır. Üç transkripsiyon faktörü; FOS, MEF2C (miyosite özgü güçlendirici faktör 2C) ve USF2 (yukarı akış uyarıcı faktör 2) ve birkaç yolak; JAK-STAT, MAPK (mitojenle etkinleşen protein kinaz), NF-kappa B ve doğal öldürücü hücre aracılı sitotoksikite bu karışma genlerinin düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır. DisGeNET'te (Bauer-Mehren ve ark., 2010), C4A (kompleman C4-A), C4B (kompleman C4-B), CXCL12 (stromal hücre kaynaklı faktör 1), FCGR3A (düşük afiniteli immünoglobulin gama Fc bölgesi reseptörü III-A), IL-1B ve MMP3 (matriks metalloproteinaz-3) bu 48 karışma genleri ve kronik periodontitis ile ilgili genler, periodontitis ve alzheimer arasındaki en önemli aday bağlantılar olarak paylaşılmış ve tanımlanmıştır. Mevcut transkriptomik veri kümelerinin araştırılması, periodontitis ve Alzheimer arasındaki en iyi aday moleküler bağlantı genleri olarak C4A, C4B, CXCL12, FCGR3A, IL-1B ve MMP3'ü ortaya çıkarmıştır (Jin ve ark., 2021).

Periodontitis ve normal kontrol arasında bir ekspresyon profili karşılaştırması yapmayı ve periodontitis ile ilgili daha fazla aday gen tanımlamayı ve periodontitis

ilerlemesinin moleküler mekanizmaları hakkında daha fazla bilgi edinmeyi amaçlayan Song ve ark. (2015)'lerinin çalışmasında sistemik olarak sağlıklı 120 periodontitisli hastadan (65'i kronik ve 55'i agresif periodontitisli) elde edilen 241 dişeti dokusu örneği ve kontrol olarak 69 sağlıklı örnek içeren GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009)'ün gen ekspresyon profili, GEO veri tabanından (Edgar ve ark., 2002) indirilmiştir. Periodontitis numunelerindeki DEG'ler, kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında R'deki limma paketi kullanılarak tarandı. DEG'ler üzerindeki Gen Ontolojisi ve yolak zenginleştirme analizi, Hipergeometrik Dağılım testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Periodontitis numunelerinde toplam 762 DEG (507 yukarı ve 255 aşağı regüle edilmiş) tanımlanmıştır. DEG'ler, bağışıklık sistemi süreci, hücre aktivasyonu biyolojik süreçleri, sitokin-sitokin reseptörü etkileşimi ve metabolik yollar gibi farklı GO (Ashburner ve ark., 2000) terimleri ve yollarında zenginleştirilmiştir. Ayrıca, interferon düzenleyici faktör 8 ve murin osteosarkom viral onkogen homolog B dahil olmak üzere 19 TF tanımlanmıştır. Bu çalışma, periodontitis gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynayabilecek genleri tanımlamıştır (Song ve ark., 2015).

Literatürde birçok örneği bulunan karşılaştırmalı transkriptom analizleri ile farklı kaynaklardan gelen veriler birbirleriyle karşılaştırılarak yeni bir sonuç elde edilerek, detaylı bilgiler ortaya koyulabilir.

Son yıllarda geliştirilen genetik teknolojiler ile periodontal hastalıkların genetik kökenin incelenmesi popüler araştırma konularındandır. Periodontal hastalıklarla ilişkili olabilecek aday genlerin belirlenmesi ve bu genlerin periodontal hastalığın genetik temeline katkısı tespit edilebilirse, periodontal hastalığa yatkın olan hastalar belirlenerek önlem alınabilir veya genetik teknolojilerin ilerlemesi ile genetik tedaviler mümkün olabilir.

2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre “periodontitis” başlığı altında birleştirilen agresif ve kronik periodontitisin doku cevabında farklılıklar olabileceği, klinik olarak iyileşme gözlenirse de genetik altyapısı nedeniyle gen ekspresyonlarında farklılıklar olabileceği hipotezinden hareketle çalışmamızın amacı; agresif ve kronik

periodontitis hastalarında, hastalığın aktif döneminde ve klinik olarak iyileşmenin gözlemlendiği dönemde elde edilen doku örneklerinin transkriptomlarının karşılaştırılarak gen ekspresyonu seviyesinde bu iki hastalık arasındaki benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkarılmasıdır. Yeni sınıflamaya göre birleştirilen bu iki hastalık antitesinin gen ekspresyon profilinin incelenerek hastalıklar arasındaki farkların ve benzerliklerin ortaya konulması amacıyla biyoinformatik analizler hedeflenmiştir. Bu analizler mikrodizi veri analizi, gen ontolojisi, gen zenginleştirme analizleri, karşılaştırmalı transkriptom analizlerini içermektedir. Karşılaştırmalı transkriptom analizi kullanılarak farklı kaynaklardan elde edilmiş verilerden agresif ve kronik periodontitiste görülen doku cevabı hakkında daha detaylı bir sonuç ortaya konulacaktır. Bu yöntemle agresif ve kronik periodontitisteki patolojik yollara ait önemli ölçüde farklı şekilde eksprese edilen genler analiz edilecektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Mikrodizi Verileri

GEO veri tabanındaki (Edgar ve ark., 2002) periodontitis tanısı konmuş, dişeti dokusunda çalışmış mikrodizi veri setleri araştırıldı. “Periodontitis”, “Homo sapiens”, “gingival tissue” anahtar kelimeleri kullanılarak, “diziye göre ifade profili oluşturma” çalışma türü seçilerek çıkan sonuçlar arasından dişeti dokusunda çalışmış veri setleri incelendi. Periodontitis hastalık tanımı için 2017 Dünya Çalıştay’ında sunulan vaka tanımına uyan çalışmalar seçildi; (1) 2 veya daha fazla bitişik olmayan dişlerde saptanabilen interdental KAK veya (2) 2 veya daha fazla dişte saptanabilen $>3\text{mm}$ cep ile $\geq 3\text{mm}$ bukkal veya oral KAK (Tonetti ve ark., 2018). Çıkan çalışmalar arasından dahil edilme kriterlerine uyan dört veri seti seçildi: GSE79705 (Taiete ve ark., 2018), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011). Bu dört veri seti devam eden analizler için kullanıldı. Bireysel çalışmaların detaylı özeti Çizelge 2.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Gen ekspresyonu profillemeye çalışmalarının veri özellikleri

GEO gen seti ID	GSE79705	GSE16134	GSE10334	GSE23586
Platform	GPL 18734	GPL 570	GPL570	GPL570
Deney türü	Dizi verisi ile gen ekspresyon profili oluşturma	Dizi verisi ile gen ekspresyon profili oluşturma	Dizi verisi ile gen ekspresyon profili oluşturma	Dizi verisi ile gen ekspresyon profili oluşturma
Hasta sayısı	n=12	n=120	n=90	n=3
Hasta dağılımı	GAP n=4 KP n=4 Sağlıklı n=4	AP n=55 KP n=65	AP n=63 KP n=27	KP n=3
Örnek grupları ve sayısı	GAP n=4 KP n=4 Sağlıklı n=4	Etkilenmiş n=241 Etkilenmemiş n=69	Etkilenmiş n=183 Etkilenmemiş n=64	KP n=3 Sağlıklı n=3
Örnek alınan yer	Posterior dişsiz bölgeler	Maksilla posterior interdental papilla	Maksilla posterior interdental papilla	Flep cerrahisi ve diş çekimi sırasında toplanan gingival doku
PubMed ID	30917206	19835625 24646639	18980520	21382035
Normalizasyon yöntemi	R’ de RMA	justRMA kullanılarak R’ de RMA	justRMA kullanılarak R’ de RMA	Microarray Suite version 5.0 (MAS 5.0)

2.1.1. GSE79705 Kodlu Çalışmanın Bilgileri

GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmada; generalize agresif periodontitis (n=4) veya kronik periodontitis (n=4) öyküsü olan, daha önce periodontolog ekibi tarafından tedavi edilen ve aktif periodontal tedaviyi takiben en az bir yıl boyunca düzenli destekleyici periodontal tedavi almış ve %30'dan daha az kanama skoru (Mühlemann ve Son, 1971) olan hastalar çalışma için seçilmişlerdir. Bütün hastaların tüm ağız plak indeks (Ainamo ve Bay, 1975) ölçümleri kayıt edilmiştir.

İlk muayenede, periodontal tedaviden önce, GAP ve KP tanısı, 1999 Uluslararası Periodontal Hastalıklar ve Durumların Sınıflandırılması Çalıştayı'na dayanarak yapılmıştı (Lang ve ark., 1999 ve Lindhe ve ark., 1999). Ayrıca, bu hastalarda en az 20 dişe sahip olması gerekiyordu, en az 8 dişte sondalamada kanama (SK) ile sondalama derinliğinin (SD) ≥ 5 mm olması şartı aranmıştır (SD ≥ 7 mm olan en az 2 diş olmalıdır). GAP için 35 yaşından küçük ve KP için 35 yaşından büyük kişiler çalışmaya dahil edilip, tüm hastalara, cerrahi olmayan periodontal tedavi ile birlikte dikkatli ağız hijyeni talimatlarını da içeren kapsamlı periodontal tedavi uygulanmıştır. GAP hastalarına 7 gün süreyle amoksisilin artı metronidazol veya doku toplanmasından en az bir yıl önce cerrahi olmayan tedaviye ek olarak %10 povidon iyodin lokal uygulaması verilmiştir. Destekleyici periodontal tedavide, SD ≥ 5 mm ve SK görülen bölgeler ek kazıma ve kök planlaması tedavisi yapılmıştır. Furkasyon veya kemik içi defektlerle ilişkili rezidüel ceplere (SD ≥ 5 mm), periodontal cerrahi ve/veya rejeneratif yaklaşımlar uygulanmıştır. Biyopsi bölgesine komşu dişlerin hiçbirinde rejeneratif prosedür uygulanmamıştır. Periodontitis hastalarının hiçbirinde implant uygulanan bölgelerde SK ile SD ≥ 5 mm kaydedilmemiştir. Periodontitis öyküsü olmayan bireyler de çalışmaya dahil edilmiştir (n=4) ve hastalar için uygulanan aynı kriterler izlenmiştir (interproksimal ataşman kaybı olmayan ve >4 mm SD olmayan) (Sørensen ve ark., 2008 ve Jonsson ve ark., 2011). Ek dahil etme kriterleri şunlardı: sigara içmeyen, son altı ay içinde sistemik antibiyotik veya antienflamatuvar ilaç kullanmamış, iyileşme sürecini etkileyen sistemik bir hastalığı olmayan (örneğin

diyabet) veya cerrahiyi kontrendike edecek herhangi bir kardiyovasküler hastalığı olmayan ve hamile olmayan veya emzirmeyen hastalar (Taiete ve ark., 2018).

Sağlıklı dişeti dokusu örnekleri, subgingival mikrobiyotanın etkisini önlemek amacıyla, implant yerleştirildiği anda komşu dişlerden en az 2 mm uzaktaki posterior maksiller veya mandibular dişsiz bölgelerden alınmıştı (Berglundh ve ark., 1999; Waerhaug, 1976 ve Zitzmann ve ark., 2005). Doku örneği alınan bölgelerdeki (mesial ve distal) komşu dişlerde 3mm'den fazla sondalama derinliği, SK ve plak birikimi yoktu. Ayrıca hastalar doku toplama alanında sabit veya hareketli diş protezi kullanmıyorlardı. GAP ve KP hastaları periodontal hastalık nedeniyle diş kaybı görülmüşken, sağlıklı hastalar çürük, travma veya endodontik nedenlerle diş kaybına uğramıştır. Araştırmacılar lokal anesteziden sonra (1:100.000 epinefrin ile %4 Articain), dişsiz alveoler kretin lingual yüzeyi yönünde iki paralel insizyondan sonra krestal bir insizyon yapmıştır ve oral epiteli ve bağ dokusunu içeren yaklaşık 3x3mm'lik bir doku örneği dikkatlice diseke etmişlerdir (Taiete ve ark., 2018).

Araştırmacılar çalışmanın mikrodizi verilerini, özgün yazılımlarla analiz etmişlerdir. R ve Bioconductor (Carvalho ve Irizarry, 2010) yazılımındaki genomik verilerini analizi için Oligo paketi kullanarak analiz etmişlerdir. İfade verilerini, Robust Multi-Array Analysis (RMA) analizi kullanarak normalleştirip özetlemişlerdir. Daha sonra GAP ve sağlıklı arasındaki ve KP ve sağlıklı arasındaki gen ekspresyon seviyelerindeki gerçek değişiklikleri ayırt etmek için karşılaştırma analizleri kullanmışlardır. Limma paketi (Smyth, 2005) kullanarak ampirik Bayes yönteminin kat değişimi ve t testi hesaplanarak diferansiyel ifade analizi yapmışlardır. İfadede en az 2 kat değişiklik gösteren ve p değeri ≤ 0.05 olan genler, farklı şekilde ifade edilmiş olarak tanımlanmıştır (Shimizu ve ark., 2011).

2.1.2. GSE16134 Kodlu Çalışmanın Bilgileri

GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) kodlu çalışmada; üç tip doku örneği kullanılmıştır. Araştırmacılar agresif ve kronik periodontitis teşhisli hastaların

hastalıklı bölgelerinden ve sağlıklı bölgelerinden örnek toplamıştır. Agresif ve kronik periodontitis örneklerini tek bir grupta birleştirerek analizlere devam etmişlerdir. 241 “hastalıklı” diş eti dokusu örneği (sondalamada kanama, sondalama derinliği $\geq$ 4 mm ve klinik ataşman kaybı $\geq$ 3 mm), 69 “sağlıklı” diş eti dokusu örneğini (sondalamada kanama olmayan, sondalama derinliği $\leq$ 4 mm ve klinik ataşman kaybı $\leq$ 4 mm), sistemik olarak sağlıklı, orta/şiddetli periodontitisli (65’i kronik ve 55’i agresif periodontitisli) 120 sigara içmeyen bireyden elde etmişlerdir (Papapanou ve ark., 2009).

Periodontal cerrahi ile tedavi edilen 120 hastada, maksiller posteriordan minimum iki interproksimal dişeti papilli, varsa aynı hastadan "sağlıklı" bir de papilla elde etmişlerdir. Araştırmacılar elde edilen toplan 310 doku örneğinden 241 hastalıklı örneği, 69 “sağlıklı” dişeti dokusu örneği ile karşılaştırmışlardır (Papapanou ve ark., 2009). Özel bir yazılım olan R’da araştırmacılar tarafından gen ekspresyonu verileri, varsayılan ayarlarla log ölçekli çoklu dizi analizi (RMA) kullanılarak normalleştirilip, özetlenmiştir (Papapanou ve ark., 2009).

2.1.3. GSE10334 Kodlu Çalışmanın Bilgileri

Araştırmacılar GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmada; doku örneği alınan hastaları; 13 yaşından büyük, 24’ten fazla diş sahibi, arasıra profilaksi dışında sistematik periodontal tedavi öyküsü olmayan, son 6 ay içinde sistemik antibiyotik veya antiinflamatuvar ilaç almamış, radyografik olarak 4’ten fazla dişinde kemik kaybı olan, sistemik olarak sağlıklı, sigara içmeyen, hamile olmayan hastalar arasından seçmişlerdir. Bu özelliklere sahip orta ila ileri periodontitisli (63’ü kronik ve 27’si agresif periodontitisli) 90 kişinin her birinden 2 veya daha fazla "hastalıklı" interproksimal papilla örneği (sondalamada kanama, cep derinliği $\geq$ 4mm ve ataşman kaybı $\geq$ 3mm) toplanmış ve eğer varsa aynı ağızlardan "sağlıklı" (sondalamada kanama yok, cep derinliği $\leq$ 4mm ve ataşman kaybı $\leq$ 2mm) papilla da elde etmişlerdir. Örnekler maksiller posterior bölgeden, önceden supra- veya subgingival debridman yapılmadan, tanımlanan sekstantta periodontal flep cerrahisi sırasında araştırmacılar tarafından alınmıştır. Bu çalışmada, kronik ve agresif periodontitis hastalarından

alınan örnekler, aynı grupta birleştirilmiş ve sonraki analizde kontrol olarak “sağlıklı” dişeti dokusu örnekleri ile karşılaştırmaları yapılmıştır (Demmer ve ark., 2008).

Araştırmacılar verilerin normalizasyonu için R yazılımında, 247 doku örneğinde (183 hastalıklı ve 64 sağlıklı papilla) diferansiyel ekspresyonu, standart karma efektli lineer model yaklaşımı kullanarak, hasta etkilerini normal dağılımla rastgele kabul ederek ve diş eti dokusu durumu iki seviyeli sabit etki olarak kabul etmişlerdir (“sağlıklı” veya “hastalıklı”). İfade verilerini normalleştirip ve varsayılan ayarlarla RMA (log ölçekli sağlam çoklu dizi analizi) (Irizarry ve ark. 2003) kullanarak özetlemişlerdir. Her mikrodizi prob seti için istatistiksel önem, hem Bonferroni kriteri hem de p-değeri kullanarak belirlenmiştir (Storey ve Tibshirani, 2003). Her mikrodizi prob seti için, “hastalıklı” doku örnekleri arasındaki ham ekspresyon değerlerinin “sağlıklı” örnekler arasındaki ham ekspresyon değerlerine bölünmesiyle bir kat değişimi hesaplamışlardır. Bu nedenle, kat değişim değerleri, "hastalık" ve "sağlık" arasındaki nispi RNA seviyelerini temsil etmektedir (Demmer ve ark., 2008).

2.1.4. GSE23586 Kodlu Çalışmanın Bilgileri

GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmada; üç hastadan sağlıklı ve periodontitisten etkilenen dişeti örnekleri almışlardır ve mikrodizi analizi için kullanmışlardır. Hastalıklı bölgelerde sondalamada kanama, dişeti indeksi ≥ 1 , sondalanabilir bir cep derinliği ve klinik ataşman kaybı ≥ 5 mm bulunmaktaydı. Sağlıklı bölgelerde, klinik ataşman kaybı ve diş eti iltihabı yoktu ve 2 mm’lik bir sondalama cep derinliği mevcuttu. Periodontitisten etkilenen ve sağlıklı dişeti (bağ doku ve epitelyal) doku örneklerini periodontal flep cerrahisi ve diş çekimi sırasında almışlardır (Kinane ve ark., 2006). Affymetrix varsayılan ayarları ve global ölçekleme ile Micro-array Suite sürüm 5.0 (MAS5.0) normalizasyon metodu kullanılarak tek dizi analizi ve karşılaştırma analizi gerçekleştirmişlerdir. Yanlış keşif oranı için Benjamini & Hochberg yöntemi kullanmışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek düzeyde ekspresyon gösteren genleri,

eşleştirilmiş bir t-testi kullanarak seçmişlerdir ($p < 0.05$). Sağlıklı ve periodontitis bölgeleri karşılaştırmış ve periodontitis ve kontrol bölgeleri arasında ekspresyon seviyelerinde en az iki kat değişiklik gösterdiği bulunan genleri seçmişlerdir (Koshi ve ark., 2007). Çalışmada sunulan veri setleri, GEO veri tabanında (erişim no.: GSE 23586) depolanmıştır (Abe ve ark., 2011).

2.2. Mikrodizi Verilerin GEO2R Analizleri

İlk olarak, yüksek verimli dizileme veri seti, gen ekspresyon matrisi ve her veri seti için ilgili açıklama platformu GEO veri tabanında (Edgar ve ark., 2002) bulundu. GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>)'a alınan veri setlerindeki analizler Çizelge 2.1'de verilen örnek gruplarının ikili karşılaştırmaları olarak yapıldı. Normal sağlıklı kontrol ve hastalık grupları ikili karşılaştırma grupları olarak kullanıldı.

Benjamini & Hochberg yanlış keşif oranı yöntemi, mikrodizi verileri için en yaygın olarak kullanılan yöntem olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı genlerin keşfi ile yanlış pozitiflerin sınırlandırılması arasında iyi bir denge sağladığı için varsayılan olarak seçilmiştir (Gautier ve ark., 2004).

Mikrodizi veri kümeleri için, GEO2R'da "limma" (mikrodizi verileri için doğrusal modeller) R paketi kullanılarak her mikrodizideki vakalar ve kontroller arasında diferansiyel ekspresyon analizi yapıldı (Ritchie ve ark., 2015).

2.2.1. Yukarı ve Aşağı Regüle Edilmiş DEG'lerin Tanımlanması

Herbir veri seti için değişik p değeri, adj. (uyarlanmış) p değeri ve LogFC (Log fold change; logaritma tabanında kat değişimi) değerleri incelenerek anlamlı aralık belirlendi. Örnek sayısı fazla olan GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmalar için adj. p değeri kullanılmış olup, örnek

sayısı az olan GSE23586 (Abe ve ark., 2011) ve GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmalar için ise p değeri kullanılmıştır. p değeri<0.05, adj. p değeri<0.05 olan ve $|\log FC \text{ kat değişim}| \geq 0$ olan genler, anlamlı DEG'ler olarak kabul edildi. $\log FC > 0$ yukarı regüle DEG'ler olarak tanımlanırken, $\log FC < 0$ aşağı regüle DEG'ler olarak tanımlandı.

2.3. Kesişen ve Ortak Olmayan DEG'lerin Tanımlanması

Dört veri setinden tanımlanan DEG'ler içindeki kesişen ve ortak olmayan genleri tanımlamak için Venn (Venn, 1880) şeması (bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/) çizildi. Aşağıdaki analizler için dört veri kümesindeki yukarı/aşağı düzenlenmiş DEG'ler kullanıldı. Kesişen genleri belirlemek adına Venn şemasındaki ortak genlerde analizler yapıldı, ortak olmayan DEG'lerde ise hastalığa özgü gen kümelerini belirlemek adına analizler yapıldı.

- GSE79705 AP ile GSE79705 KP grubunun karşılaştırılması
- GSE79705 AP'in GSE16134 ve GSE10334 ile karşılaştırılması
- GSE79705 KP'in GSE16134 ve GSE10334 ve GSE23586 ile karşılaştırılması
- GSE10334, GSE16134 ve GSE23586'nın karşılaştırılması

2.4. DEG'lerin Fonksiyon ve Yolak Zenginleştirme Analizi

Periodontitis gelişme ve ilerlemesini fonksiyonel düzeyde araştırmak için, tanımlanan DEG'lerin Gen Ontolojisi (Ashburner ve ark., 2000) ve yolak zenginleştirme analizi yapıldı. Tanımlanan DEG'ler üzerindeki biyolojik süreç GO (Ashburner ve ark., 2000) kategorisi, istatistiksel aşırı temsil testi kullanılarak PANTHER veri tabanında (Thomas ve ark., 2022) zenginleştirildi.

KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yollarının incelemesi ise STRING veri tabanında ([//string-db.org/](http://string-db.org/)) (Szklarczyk ve ark., 2021), isimlere göre çoklu protein seçeneği kullanılarak yapılan analizle elde edildi.

2.5. DEG'lerin Protein-Protein Etkileşim Ağ Yapısı İncelenmesi

PPE ağında, her düğüm bir geni veya proteini temsil eder ve düğümler arasındaki kenar, moleküllerin etkileşimini temsil eder. PPE ağı, PPE verilerini yayınlanmış literatürden içe aktaran çevrimiçi bir havuz olan STRING veri tabanı ([//string-db.org/](http://string-db.org/)) (Szklarczyk ve ark., 2021) kullanılarak oluşturuldu. STRING (Szklarczyk ve ark., 2021)'de varsayılan işlevler kullanıldı. Benzer fonksiyonlara sahip proteinlerin tanımlanması amacıyla kümeleme yapıldı. Kümeleme, etiketlenmemiş verilerdeki kümeleri ortaya çıkarmak için kullanılan algoritmaları ifade eder. Bunun için STRING veri bankasında (Szklarczyk ve ark., 2021), “MCL (Markov Cluster Algorithm) Clustering” (Van Dongen, 2000) seçeneği kullanıldı. Bu seçenekte küme sayısı direkt olarak belirtilemez. Enflasyon parametresi kullanılarak dolaylı olarak kontrol edilir. Enflasyon, kümelene sonucunun ayrıntı düzeyini veya çözünürlüğünü etkiler; düşük değerler (1,3; 1,4) daha az ve daha büyük kümelere yol açar ve yüksek değerler (5, 6) daha çok ve daha küçük kümelere yol açar. Analizler için enflasyon parametresi “3” olarak seçildi. İstatiksel olarak önemli bulunan kümelerin fonksiyonel yolak analizleri STRING veri bankasında (Szklarczyk ve ark., 2021) yapıldı. Analiz sonucunda aynı renklere sahip olan ve kalınlık oranına göre aralarındaki etkileşimin seviyesini ifade eden çizgi bulunan genler kümelenen genler olarak kabul edilmiştir. Kümelenen genlerin yolak zenginleştirme analizleri STRING veri tabanında (Szklarczyk ve ark., 2021) yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Veri Setlerinde Ortak Kesişen DEG'lerin Tanımlanması

GEO veri bankasından indirilen her bir veri seti için değişik p değeri ve LogFC değerleri excel tablosunda filtreleme yapılarak incelendi. Veri setlerindeki detaylı adj. p değeri, p değeri ve LogFC değerleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Buna göre örnek sayısının az olduğu GSE23586 (Abe ve ark., 2011) ve GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) için p değeri <0.05 ve örnek sayısının fazla olduğu GSE1634 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) için adj. p değeri <0.05 olan ve $|\log FC \text{ kat değişim}| \geq 0$ olan genler, anlamlı DEG'ler olarak kabul edildi. Kullanılan aralıklar Çizelge 3.1'de kalın şekilde yazılmıştır.

Aşağı ve yukarı regüle olan genler arasında veri setlerindeki kesişen ve ortak olmayan genleri belirlemek adına Venn şemaları oluşturuldu.

3.2. Kronik veya Agresif Periodontitis Hikayesi Olan Bireylerde İyileşme Sonrası Dokulara Ait Analizler

Periodontitis tanısı konulup tedavi uygulandıktan sonra idame fazına alınmış hastaların bir yıl sonra dişsiz bölgelerinden alınan dokuların mikrodizi verilerini içeren GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmada agresif ve kronik periodontitis gruplarına ait yukarı ve aşağı regüle edilmiş DEG'ler Venn (Venn, 1880) şemasında karşılaştırıldı. Sonuçlar Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018) örneklerinde toplam 1551 gen yukarı regüle iken, GSE79705_KP (Taiete ve ark., 2018) örneklerinde toplam 441 gen yukarı regüledir. Yukarı regüle olan genler arasında toplam 26 DEG her iki grup için de ortaktır.

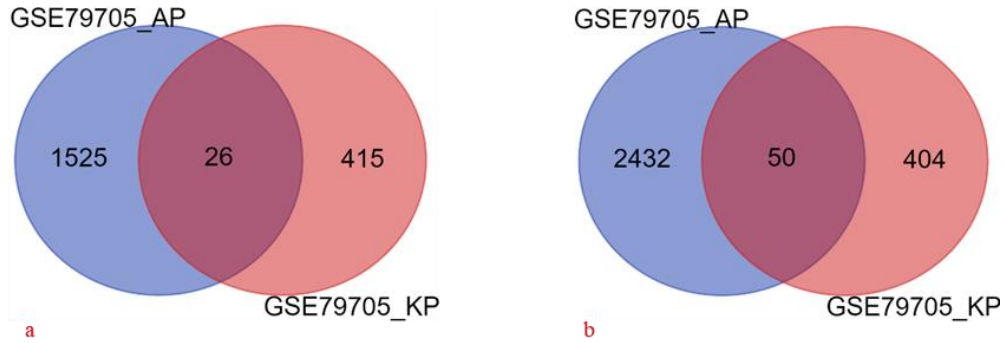
Çizelge 3.1. Veri setlerinin p değeri, adj. p değeri ve LogFC değerlerinin değişik aralıklarda filtrelenme sonuçları

		GSE16134	GSE10334	GSE23586	GSE79705_AP	GSE79705_KP
	p değeri <0,05	14559	15608	3485	3993	889
	p değeri <0,01	12230	13123	910	1167	108
p değeri <0,05	LogFC< 0	8090	7787	2500	2482	454
	LogFC>0	7442	8869	1033	1551	441
	LogFC<-1	86	75	2303	248	31
	LogFC>1	249	183	936	117	76
p değeri <0,01	LogFC< 0	6699	6730	677	874	52
	LogFC>0	6002	6947	236	294	57
	LogFC<-1	86	76	677	153	8
	LogFC>1	251	183	236	52	21
	Adj. p değeri<0,05	13538	14685			
	Adj. p değeri<0,01	11098	11954			
Adj. p değeri <0,05	LogFC< 0	7349	7284			
	LogFC>0	6661	7991			
	LogFC<-1	86	76			
	LogFC>1	251	183			
Adj. p değeri <0,01	LogFC< 0	6078	6257			
	LogFC>0	5341	6086			
	LogFC<-1	86	76			
	LogFC>1	251	183			

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018) örneklerinde toplam 2482 gen aşağı regüle iken, GSE79705_KP (Taiete ve ark., 2018) örneklerinde toplam 454 gen aşağı regüledir. Aşağı regüle olan genler arasında toplam 50 DEG her iki grup için de ortaktır.

Hem yukarı hem de aşağı regüle olan genlerin karşılaştırmasında AP grubunda daha fazla sayıda DEG tespit edilmiştir. Hastalık geçmişi olan dişsiz bölgelerden

toplanan örneklerde agresif periodontitis geçirmiş dokularda kronik periodontitis geçmişli olan örneklerle göre hala ciddi oranda yüksek doku cevabı görülmüştür.



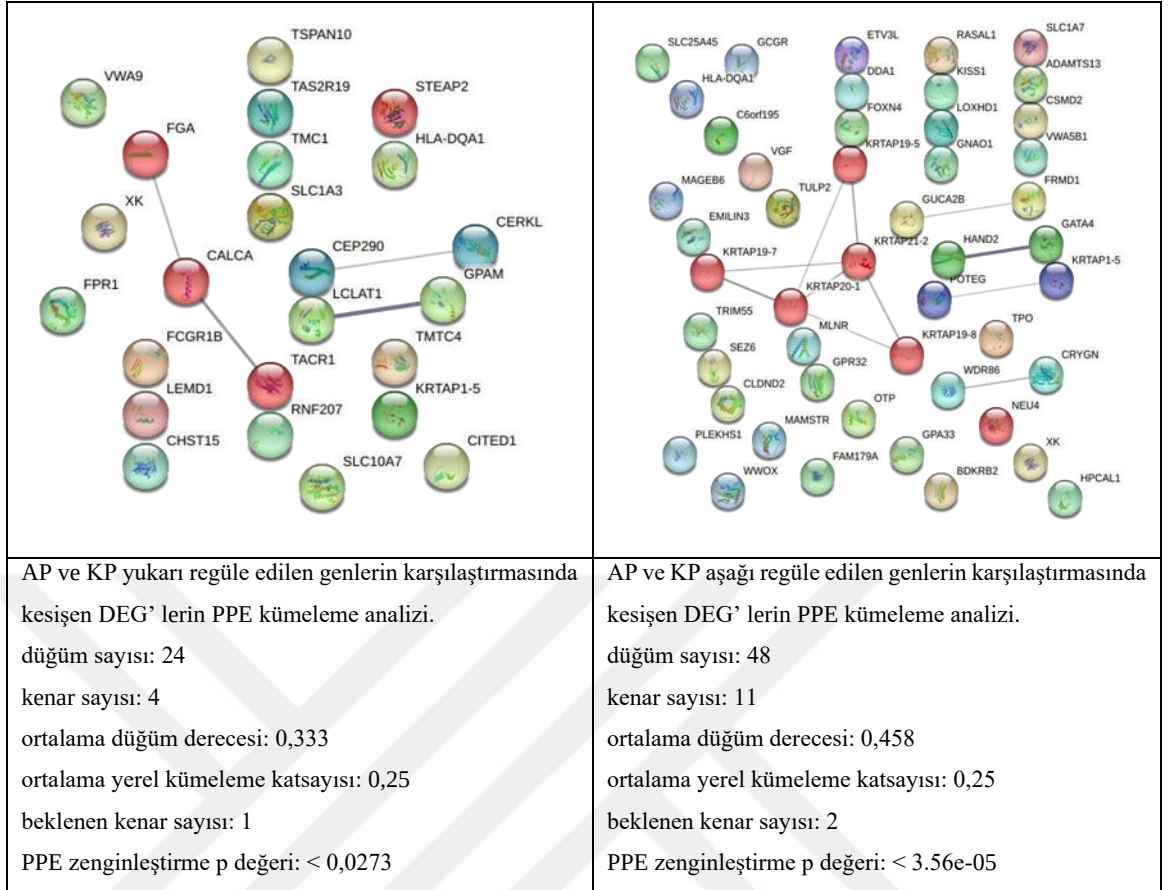
Şekil 3.1. GSE79705 agresif periodontitis ve kronik periodontitis grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları.

- (a) Yukarı regüle edilmiş genler
(b) Aşağı regüle edilmiş genler

3.2.1. Kesişen DEG'lerin Analizleri

Agresif ve kronik periodontitis geçmişli olan dokularda yukarı ve aşağı regüle edilen DEG'lerde kesişen genlerin PANTHER veri tabanında (Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) yapılan yolak zenginleştirme analizleri sonucu istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

Yukarı ve aşağı regüle edilen DEG'ler arasında bilinen ve tahmin edilen protein-protein etkileşimi saptanamamıştır. İki grup arasındaki ortak genler arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir etkileşim bulunmadığından iki hastalık arasında herhangi bir paylaşılan ortak ifade bulunamadığı sonucuna varılmıştır (Şekil 3.2). Yukarı regüle olan genlerde görülen kümelenmedeki 3 gen; FGA (fibrinojen alfa zinciri), CALCA (kalsitonin ilişkili polipeptit alfa) ve TACR1 (taşikinin resptör 1)'dir. CALCA kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde rol alırken, FGA ise pıhtılaşma ile ilişkilidir. Aşağı yönde regüle olan genler arasında izlenen kümelenmedeki genler ise saç keratini ile ilişkili proteinleri kodlayan genlerdir (Szkarczyk ve ark., 2021) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. AP ve KP yukarı ve aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen DEG'lerin PPE kümeleme analizi.

3.2.2. Ortak Olmayan DEG'lerin Analizleri

Yukarı ve aşağı regüle edilen DEG'ler arasında ortak olmayan genlerin incelenmesi ile hastalık geçmişi olan klinik olarak sağlıklı dokulardaki ifade profilleri değerlendirilmiştir. İki hastalık arasında farklı olan genlerin analizleri yapılarak aktif olarak hastalık döneminde olmayan örneklerde hala periodontitis patogenezine özgü hangi yolların ifade olduğu araştırılmıştır.

3.2.2.1. Agresif Periodontitis Örneklerinin Analizleri

Agresif periodontitis grubuna ait incelenen dişeti dokusunda ortak olmayan genlerin PANTHER (Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) veri tabanı

kullanılarak GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve STRING (Szklarczyk ve ark., 2021) veri tabanı kullanılarak KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri temelinde yukarı ve aşağı regüle edilmiş DEG'lerin fonksiyonel zenginleştirme analizleri yapıldı. Yukarı regüle edilen genlerin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'te gösterildi. Çizelge 3.2'de PANTHER (Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir.

Yapılan PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analiz sonucunda AP grubunda, KP grubundan farklı olarak özellikle mitokondriyal biyolojik süreçlerde yukarı yönde regülasyon görüldü. Listede görünen tüm biyolojik süreçler beklenenden fazla temsil edilmiştir. Bu aşırı temsillerin tamamı istatistiksel olarak anlamlıdır (ham p değeri<0,05). ATP sentezi ve oksidatif fosforilasyon ile ilgili mitokondriyal yolaklarda beklenenden fazla kat değişimleri izlenmiştir buna göre hücrenin enerji ihtiyacının arttığı söylenebilir. Hücresel savunma cevabı ile ilgili ise beklenenden 16 kat fazla gen bulunmuştur. Hücrenin enerji ihtiyacının artması ve savunma cevabı ile ilgili genlerde görülen artmış ekspresyon, agresif periodontitis geçmişi olan klinik olarak sağlıklı dokularında hala hücresel yanıtın aktif olduğuna işaret eder (Çizelge 3.2).

Yapılan KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analiz sonucunda bulunan tüm yolaklar istatistiksel olarak anlamlıdır (YKO<0,05). Bu yolaklar arasında periodontal patogenezele ilişkili olan oksidatif fosforilasyon ile ilgili 130 referans genden 22'si, NK aracılı sitotoksitite ile ilgili 121 referans genden 25'i ve antijen sunumu ve işlenmesiyle ilgili 63 referans genden 14'ü agresif periodontitis örneklerinde bulunmuştur. Hücrelerde savunma yanıtı, bağışıklık hücresi aracılı sitotoksitite ve hücrenin enerji ihtiyacı artmıştır. Bu sonuca göre klinik olarak sağlıklı olsa da agresif periodontitis geçmişi sahip örneklerde periodontitis patogeneziyle ilintili yolakların aktif olduğu söylenebilir (Çizelge 3.3).

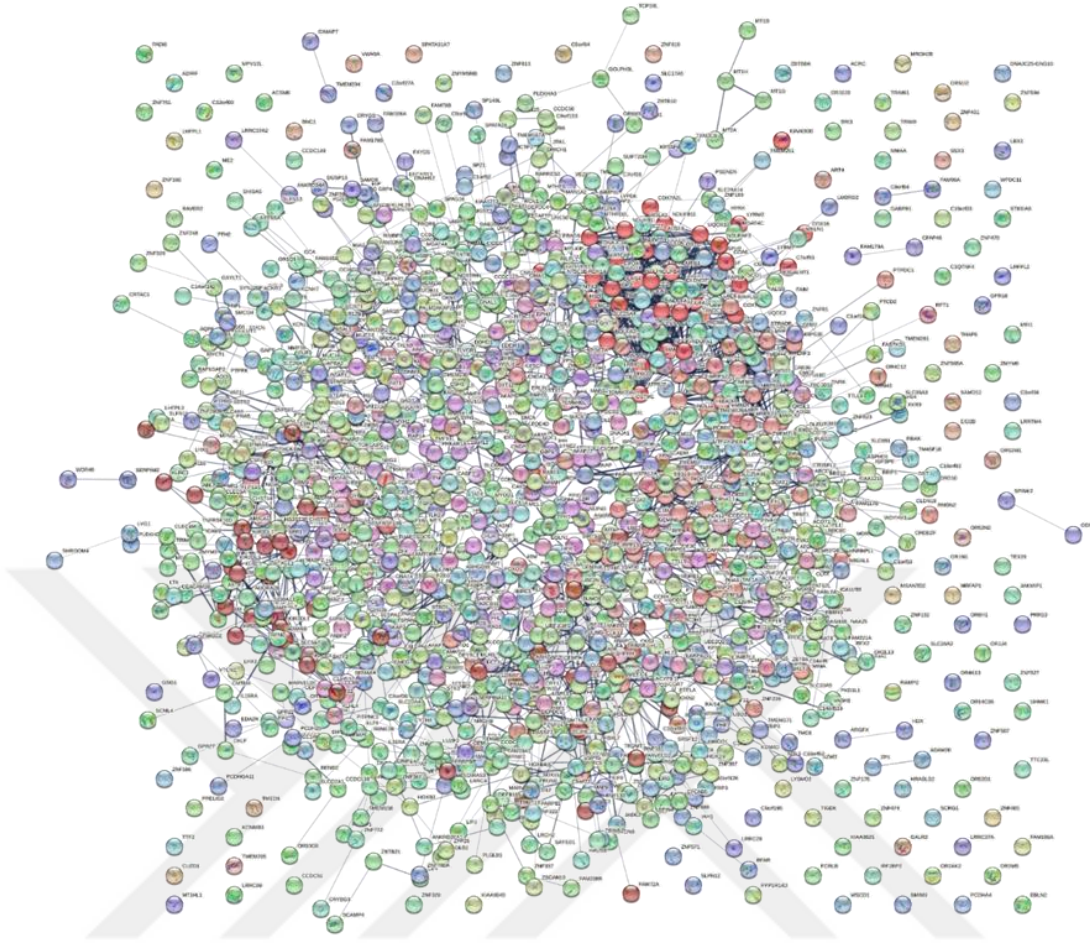
Çizelge 3.2. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (1510)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Mitokondriyal organizasyon (GO:0007005)	445	66	32,64	+	2,02	7,39E-07	3,86E-03
Mitokondriyal solunum zinciri kompleks I toplanması (GO:0032981)	60	19	4,40	+	4,32	1,09E-06	2,85E-03
Hücrel savunma yanıtı (GO:0006968)	51	15	3,74	+	4,01	3,00E-05	2,61E-02
Hücrel biyosentetik süreç (GO:0044249)	2464	238	180,71	+	1,32	2,68E-05	2,62E-02
Proton motif güç ile ATP sentezi (GO:0015986)	73	18	5,35	+	3,36	3,74E-05	3,09E-02
Oksidatif fosforilasyon (GO:0006119)	119	29	8,73	+	3,32	2,26E-07	3,54E-03
Respiratuvar elektron taşıma zinciri (GO:0022904)	113	24	8,29	+	2,90	1,80E-05	2,01E-02
Mitokondriyal ATP sentezi eşleştirilmiş elektron taşınması (GO:0042775)	91	23	6,67	+	3,45	2,32E-06	4,54E-03
Mitokondriyal gen ekspresyonu (GO:0140053)	141	28	10,34	+	2,71	1,73E-05	2,08E-02
Mitokondriyal translasyon (GO:0032543)	110	24	8,07	+	2,97	1,22E-05	1,60E-02
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (1510)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Çizelge 3.3. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Yanlış Keşif Oranı
hsa04650	Natural Killer (NK) hücre aracılı sitotoksosite	25 / 121	0,45	0,0063
hsa05332	Graft-versus-host hastalığı	12 / 36	0,66	0,0117
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması	26 / 148	0,38	0,0156
hsa00062	Yağ asidi sentezi uzaması	9 / 25	0,69	0,0297
hsa01040	Doymamış yağ asitlerinin biyosentezi	9 / 26	0,67	0,03
hsa00190	Oksidatif fosforilasyon	22 / 130	0,36	0,0373
hsa04612	Antijen işleme ve sunum	14 / 63	0,48	0,0373

Yukarı regüle edilen ortak olmayan genler arasında agresif periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



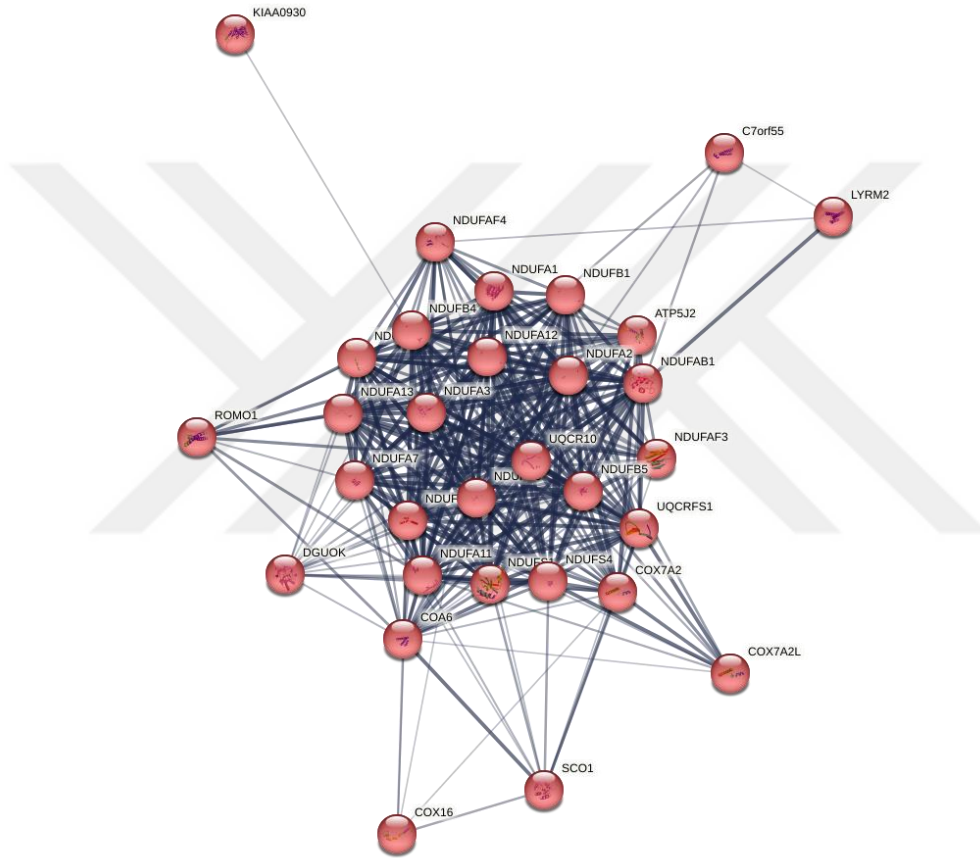
Şekil 3.3. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genlerden AP grubuna ait PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 1438
kenar sayısı: 5615
ortalama düğüm derecesi: 7,81

ortalama yerel kümeleme katsayısı: 0,284
beklenen kenar sayısı: 4888
PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Gen sayısının fazla olmasından kaynaklı PPE ağında çoğu genler birbirleriyle yüksek düzeyde etkileşim göstermektedir. Beklenenden fazla kenar sayısı bulunmuş olup, düğüm derecesi yüksektir. Bu sonuç proteinlerin birbirleriyle yüksek düzeyde bağlantılı bir ağ oluşturduğuna işaret eder. Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı yolak analizleri yapılabilen kümeler ileri analizler için seçildi. Bu PPE analizindeki en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi olan 1. küme Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Bu kümedeki genlerin neredeyse tamamı mitokondriyal enerji üretim enzimlerinin ve alt birimlerinin kodlayıcı genleridir: NADH dehidrojenazın (Kompleks I) yardımcı alt birimleri (NDUFA1, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA7), NADH dehidrojenaz

(ubikininon) 1 beta alt kompleks alt birimleri (NDUFB1, NDUFB11, NDUFB3, NDUFB4, NDUFB5, NDUFB6), Sitokrom c oksidaz alt birimi 7A2 (COX7A2), Sitokrom c oksidaz montaj faktörü 6 homologu (COA6), ATP sentaz alt birimi f (ATP5J2). Bunların yanında reaktif oksijen türlerinin üretimini indükleyen ROMO1 (Reaktif oksijen türleri modülatörü 1) de bu kümede yer almaktadır (<http://string-db.org/>) (Szklarczyk ve ark., 2021) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 31
kenar sayısı: 299
ortalama düğüm derecesi: 19.3

ortalama yerel kümeleme katsayısı: 0.867
beklenen kenar sayısı: 6
PPE zenginleştirme p değeri: $< 1.0e-16$

AP grubuna ait yukarı regüle edilen ortak olmayan genlerden PPE ağındaki 1. kümenin yolak zenginleştirme analizlerinin tamamı STRING veri bankasında (Szklarczyk ve ark., 2021) tamamlandı. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri Çizelge 3.4. ve Çizelge 3.5.'te verilmiştir.

GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde bulunan biyolojik süreçlerin ve yolakların ifadeleri istatistiksel olarak anlamlıdır (YKO<0,05). Oksidatif fosforilasyonla ilişkili beklenenden 4 kat fazla gen görülmüştür. Bunun yanında hücrenin artmış enerji ihtiyacını karşılamak için oksidatif fosforilasyon basamaklarına dair yolaklar, mitokondriyal enerji üretim metabolizması ile ilişki genler 1. kümede toplanmıştır ve bu genlerin ifadeleri de önemli derecede yüksektir (Çizelge 3.4). 1. kümenin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analiz sonuçları Çizelge 3.2.'de gösterilen AP grubu GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analiz sonuçlarının tamamını kapsamaktadır.

Çizelge 3.4. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0006119	Oksidatif fosforilasyon	22 / 118	2,07	2,67E-37
GO:0033108	Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi toplanması	21 / 102	2,11	2,53E-36
GO:0042773	ATP sentezi bağlı elektron taşıma	20 / 88	2,16	3,57E-35
GO:0007005	Mitokondri organizasyonu	26 / 452	1,01	2,90E-34
GO:0042775	Mitokondriyal ATP sentezi eşleştirilmiş elektron taşınması	19 / 87	2,14	3,79E-33
GO:0032981	Mitokondriyal solunum zinciri kompleks I toplanması	18 / 66	2,24	1,07E-32
GO:0022900	Elektron taşıma zinciri	21 / 174	1,88	1,56E-32
GO:0006120	Mitokondriyal elektron taşınması nadh'tan ubiquinone'a	16 / 49	2,31	8,96E-30
GO:0034622	Hücrel protein içeren kompleks toplanması	25 / 816	1,01	2,28E-26
GO:0016310	Fosforilasyon	23 / 1275	1,06	2,15E-18
GO:0016043	Hücrel komponent organizasyonu	27 / 5447	0,50	4,91E-09
GO:0017004	Sitokrom kompleksi birleştirici	4 / 37	1,83	0,00024
GO:0008535	Solunum zinciri kompleks IV toplanması	3 / 26	1,86	0,0058
GO:0007007	İç mitokondriyal zar organizasyonu	3 / 48	1,6	0,0304
GO:0045039	Mitokondriyal iç zar protein eklenmesi	2 / 8	2,2	0,0448

KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi sonucunda bulunan yolakların sonuçları istatistiksel olarak anlamlıdır ($YKO < 0,05$). Bu analiz sonucunda 1. kümede toplanan genler arasında oksidatif fosforilasyon ve ısı üretimi ile ilgili genlerin ifade artışı anlamlı derecede yüksek şekilde görülmüştür, bunun yanında Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi çeşitli hastalıklar ile ilgili beklenenden fazla gende yukarı yönde regülasyon izlenmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04714	Termogenez	24 / 229	1,82		1,23E-37
hsa00190	Oksidatif fosforilasyon	20 / 130	1,99		1,70E-33
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması	19 / 148	1,91		2,42E-30
hsa05012	Parkinson hastalığı	19 / 240	1,7		1,06E-26
hsa05020	Prion hastalığı	19 / 265	1,66		5,10E-26
hsa05016	Huntington hastalığı	19 / 298	1,6		3,59E-25
hsa05014	Amyotrofik lateral skleroz (ALS)	19 / 352	1,53		6,42E-24
hsa05010	Alzheimer	19 / 355	1,53		6,56E-24
hsa04723	Retrograd endokannabinoid sinyali	15 / 145	1,81		2,45E-22
hsa01100	Metabolik yolaklar	20 / 1447	0,94		3,45E-14
hsa04260	Kardiyak kas kasılması	4 / 87	1,46		0,00038

Agresif periodontitis grubuna ait incelenen dişeti dokusunda aşağı regüle edilmiş genlerden ortak olmayan DEG'lerin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi temelinde fonksiyonel zenginleştirme analizleri yapılmıştır. KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolağına dair istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analiz sonuçları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir. Agresif periodontitis grubunda aşağı regüle olan genlerin yolak zenginleştirme analizi sonuçlarında tüm yolaklarda $YKO < 0,05$ 'tir, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Organizmanın biyolojik, hücresel, gelişimsel ve sistemsel süreçleri ile ilgili beklenenden daha fazla gen bulunmuştur ve bu genler aşırı

temsil edilmiştir. Hücre farklılaşmasının negatif regülasyonu ile ilgili genler aşırı temsil edilmiştir ve beklenenden daha fazla gen bulunmuştur, yolak zenginleştirme açısından bu yolaklarla ilgili genler anlamlı şekilde aşağı regüledir (Çizelge 3.6). Çizelgede PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (2383)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Multisellüler organizma süreci (GO:0032501)	6581	894	761,69	+	1,17	6,36E-08	6,23E-05
Biyolojik regülasyon (GO:0065007)	12544	1603	1451,86	+	1,10	1,22E-09	3,19E-06
Gelişimsel büyümenin negatif düzenlemesi (GO:0048640)	109	32	12,62	+	2,54	1,90E-05	7,27E-03
HücreSEL süreç (GO:0009987)	15044	1889	1741,21	+	1,08	3,03E-11	2,37E-07
Plazma zarı boyunca inorganik katyon taşınması (GO:0098659)	99	29	11,46	+	2,53	5,23E-05	1,44E-02
Metal iyon taşınması (GO:0030001)	632	113	73,15	+	1,54	3,93E-05	1,21E-02
Sinapsta vezikül aracılı taşıma (GO:0099003)	135	34	15,63	+	2,18	1,82E-04	3,57E-02
Gelişimsel süreç (GO:0032502)	5677	794	657,06	+	1,21	6,50E-09	1,27E-05
Embriyonik epitelin morfogenez (GO:0016331)	151	36	17,48	+	2,06	2,50E-04	4,40E-02
Biyolojik niteliğin düzenlenmesi (GO:0065008)	3677	538	425,58	+	1,26	4,09E-08	4,58E-05

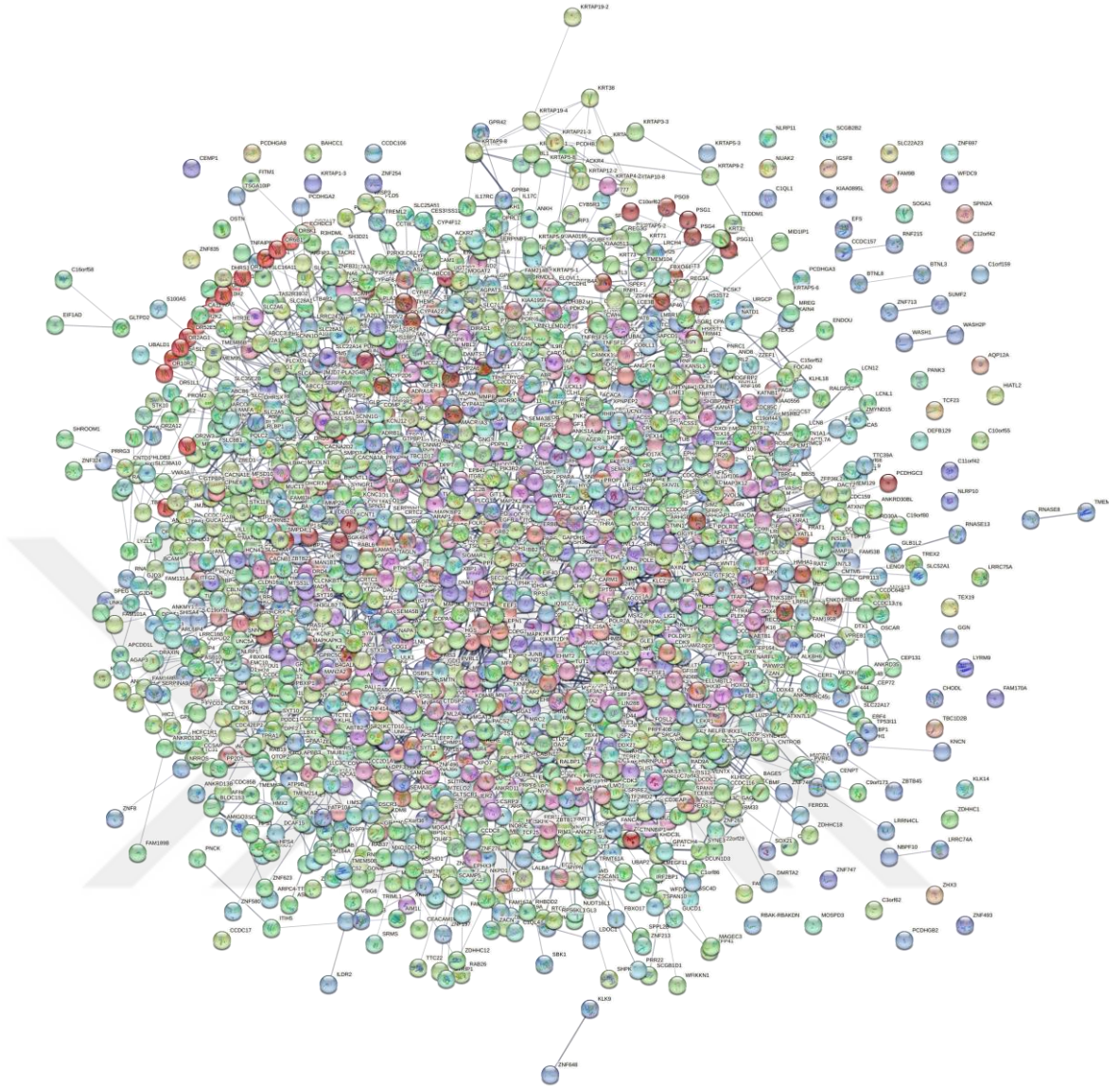
Çizelge 3.6. Devam. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (2383)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Nörotransmitter seviyesinin düzenlenmesi (GO:0001505)	223	48	25,81	+	1,86	2,65E-04	4,52E-02
Sekresyon (GO:0046903)	527	98	61,00	+	1,61	3,38E-05	1,10E-02
Nöron farklılaşmasında yer alan hücre morfogenezi (GO:0048667)	440	82	50,93	+	1,61	1,46E-04	3,14E-02
Hücre-hücre sinyalizasyonu (GO:0007267)	1083	184	125,35	+	1,47	1,98E-0	1,20E-03
Trans sinaptik sinyalizasyon (GO:0099537)	431	80	49,88	+	1,60	1,72E-04	3,51E-02
Hücresel sürecin düzenlenmesi (GO:0050794)	11187	1431	1294,80	+	1,11	1,10E-07	9,57E-05
Kimyasal sinaptik iletimin modülasyonu (GO:0050804)	438	81	50,69	+	1,60	1,89E-04	3,67E-02
Hücresel bileşen organizasyonunun düzenlenmesi (GO:0051128)	2364	352	273,61	+	1,29	5,01E-06	2,38E-03
Dolaşım sistemi süreci (GO:0003013)	498	90	57,64	+	1,56	1,56E-04	3,22E-02
Anatomik yapı boyutunun düzenlenmesi (GO:0090066)	511	92	59,14	+	1,56	1,45E-04	3,15E-02
Lokalizasyonun düzenlenmesi (GO:0032879)	2104	328	243,52	+	1,35	2,68E-07	2,10E-04
İyon taşınmasının düzenlenmesi (GO:0043269)	708	127	81,94	+	1,55	1,02E-05	4,30E-03

Çizelge 3.6. Devam. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (2383)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hücre farklılaşmasının negatif regülasyonu (GO:0045596)	676	117	78,24	+	1,50	8,67E-05	2,13E-02
Salgılamanın düzenlenmesi (GO:0051046)	623	107	72,11	+	1,48	2,59E-04	4,51E-02
Multiselüler organizma sürecinin düzenlenmesi (GO:0051239)	2750	391	318,29	+	1,23	6,24E-05	1,63E-02
Multiselüler organizma gelişiminin düzenlenmesi (GO:2000026)	1383	211	160,07	+	1,32	1,74E-04	3,51E-02
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (2383)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Aşağı regüle edilen ortak olmayan genler arasında agresif periodontitis grubuna ait DEG'lerin sayısı, analiz yapılabilmesi açısından fazla olduğu için protein-protein etkileşimi analizi için ilk 2000 gen (p değerine göre sıralanmıştır) ile sınırlandırılmıştır. Protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Protein ağı içinde beklenenden fazla kenar sayısı ve yüksek düğüm derecesi görülmüştür. Analiz edilen proteinler birbiriyle yüksek derecede ilişkili bir ağ oluşturmaktadır (Şekil 3.5).

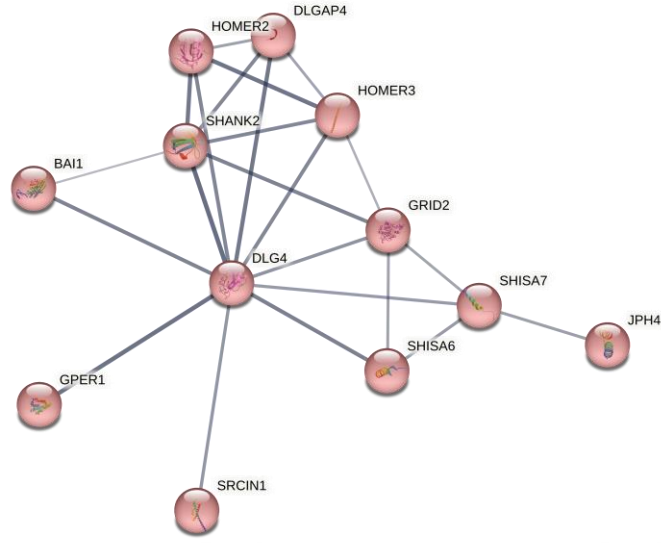


Şekil 3.5. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin kümeleme analizi (İlk 2000 Gen).

düğüm sayısı: 1895
kenar sayısı: 8928
ortalama düğüm derecesi: 9,42

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,258
beklenen kenar sayısı: 7592
PPE zenginleştirme p değeri: < 1,0e-16

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ancak 1. kümedeki genler olfaktör sistemle ilişkiliydi bu yüzden analiz için 2. küme ile devam edildi. 2. küme Şekil 3.6’da gösterilmiştir. Bu kümedenmedeki genler beyin aktivitesiyle ilişkilidir (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021).



Şekil 3.6. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 2. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 12

kenar sayısı: 23

ortalama düğüm derecesi: 3,83

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,814

beklenen kenar sayısı: 0

PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Çizelge 3.7. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içinde 2. kümenin GO-BP analizi.

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0050804	Kimyasal sinaptik iletimin modülasyonu	8 / 446	1,47	2,31E-07
GO:0043269	İyon transportunun regülasyonu	8 / 696	1,27	3,76E-06
GO:0007215	Glutamat reseptör sinyalizasyon yolağı	3 / 45	2,04	0,0015
GO:0051049	Transportun regülasyonu	10 / 1776	0,92	0,0001
GO:1904062	Kasyon transmembran taşınmasının düzenlenmesi	6 / 337	1,46	6,02e-05
GO:0051239	Multiselüler organizmal sürecin regülasyonu	11 / 3227	0,74	6,02e-05
GO:0099601	Nörotransmitter reseptör aktivitesinin düzenlenmesi	4 / 78	1,92	0,00016
GO:0051962	Sinir sistemi gelişiminin pozitif düzenlenmesi	5 / 547	1,17	0,0044
GO:0032703	İnterlökin-2 üretiminin negatif regülasyonu	2 / 23	2,15	0,0197

Çizelge 3.8. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında AP grubu genlerinin PPE ağı içinde 2. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04724	Glutamaterjik sinaps	4 / 111	1,77		0,00018

Kümenin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000)ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi sırasıyla Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8’de gösterilmiştir. Organizmal süreçlerin, sinir sistemi gelişimine dair genlerin ifadesinin azaldığı, interlökin-2 (IL-2) üretiminin negatif regülasyonun azaldığı yani pozitif yönde üretimin olduğu görülmüştür (Çizelge3.7).

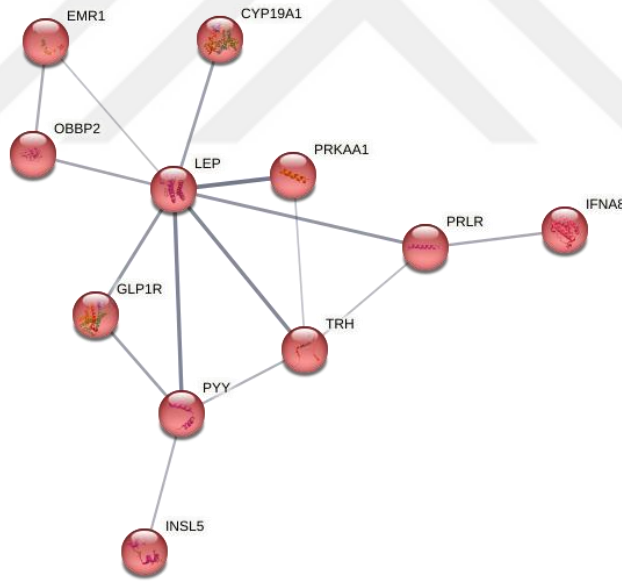
3.2.2.2. Kronik Periodontitis Örneklerinin Analizleri

İncelenen dişeti dokusunda ortak olmayan genlerden kronik periodontitis grubuna ait genlerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi temelinde yukarı ve aşağı regüle edilmiş DEG’lerin fonksiyonel zenginleştirme analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.9. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)					İstemci Metin Kutusu Girişi (389)		
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Multiselüler organizma süreci (GO:0032501)	6581	173	124,34	+	1,39	4,01E-07	6,30E-03
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (389)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Kümelenmeler teker teker incelenip istatikselsel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Bu kümedeki genler; LEP (leptin); enerji dengesinin düzenlenmesinde ve vücut ağırlığı kontrolünde rol alır, PRKAA1 (5'-AMP ile aktifleştirilmiş protein kinaz katalitik alt birim alfa-1); hücrel enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan bir enerji sensörü protein kinaz olan AMP ile aktive olan protein kinazın katalitik alt birimidir, EMR1 (adezyon G proteinine bağlı reseptör E1); hücre yapışmasında ve muhtemelen spesifik olarak bağışıklık sisteminin hücrelerini içeren hücre-hücre etkileşimlerinde yer alır düzenleyici T-hücreleri (Treg) gelişiminde rol oynayabilir, IFNA8 (interferon alfa-8); makrofajlar tarafından üretilen IFN- α (interferon-alfa), antiviral aktivitelere sahiptir (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021) (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1.kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 11
kenar sayısı: 15
ortalama düğüm derecesi: 2,73

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,759
beklenen kenar sayısı: 1
PPE zenginleştirme p değeri: < 1,11e-16

Bu kümeye ait yolak zengileştirme analizleri içinde istatistiksel olarak anlamlı GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizi sonucu elde edilememiştir. KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi ise Çizelge 3.10'da verilmiştir. Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi ve JAK-STAT sinyalizasyon yolağına dair beklenenden fazla gen ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10. AP ve KP yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04080	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	6 / 330	1,51		3,53E-06
hsa04630	JAK-STAT sinyalizasyon yolağı	3 / 160	1,52		0,015

Aşağı regüle edilen ortak olmayan genler arasında kronik periodontitis grubu genlerin analizinde KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolağına dair istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analiz sonuçları Çizelge 3.11'de paylaşılmıştır. Çizelgede PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir. Bu analizde MHC (Majör histokompatibilite kompleksi) Ib aracılı endojen lidip antijeninin işlenmesi ve sunuma dair referans listede bulunan tüm genler kronik periodontitis örneklerinde de bulunmuştur. Adenohipofiz gelişimine dair genler beklenenin çok üzerinde zenginleşmiştir, hücre öldürme ve lökosit aracılı sitotoksitelerin düzenlenmeleri ile ilgili genler de aşırı temsil edilmiş, önemli ölçüde zenginleşmiştir (Çizelge 3.11).

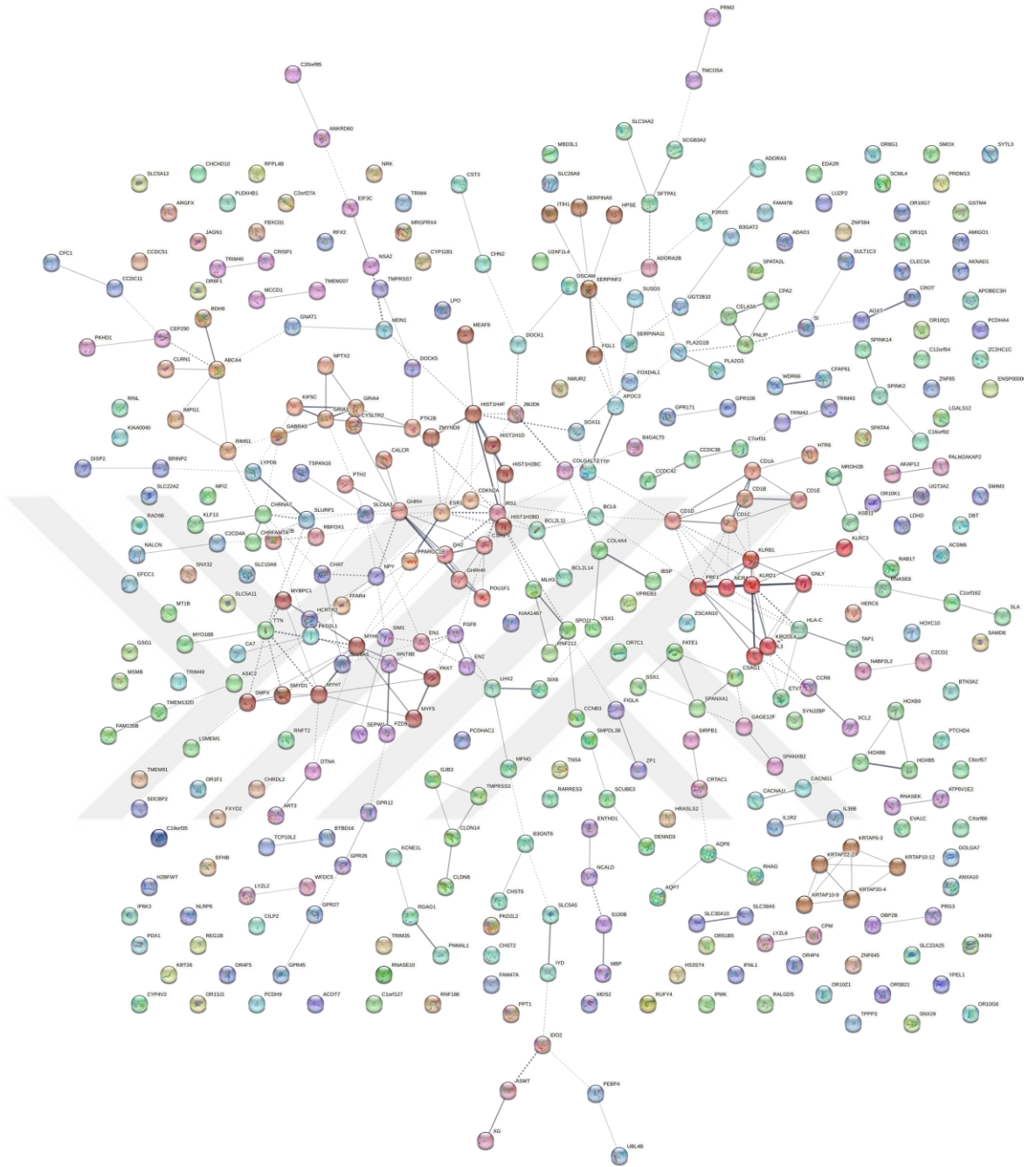
Bu sonuçlar ışığında kronik periodontitis örneklerinde antijen sunumu ve işlenmesi, sitotoksik süreçlerin düzenlenmesine dair genlerin ifadesi ciddi oranda aşağı yönde regüle olmuştur. Kronik periodontitis örneklerinde doku cevabı azalmıştır, hücrelerde agresif periodontitis örneklerinde görülen yüksek derecede hücresel, metabolik ve savunma aktivitelerinin olmadığı söylenebilir. Kronik periodontitis

örneklerinde MHC Ib aracılı antijen sunumuna dair ifadede görülen azalma dikkat çekicidir.

Çizelge 3.11. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (394)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Antijen işleme ve sunum, MHC sınıf Ib yoluyla endojen lipid antijeni (GO:0048006)	5	5	,10	+	52,26	5,31E-07	8,32E-03
MHC sınıf Ib aracılığıyla antijen işleme ve sunma (GO:0002475)	14	5	,27	+	18,66	2,13E-05	3,71E-02
Adenohipofiz gelişimi (GO:0021984)	17	5	,33	+	15,37	4,60E-05	4,51E-02
Hücre öldürmenin düzenlenmesi (GO:0031341)	103	11	1,97	+	5,58	1,02E-05	2,65E-02
Lökosit aracılı sitotoksitenin düzenlenmesi (GO:0001910)	87	10	1,66	+	6,01	1,43E-05	3,21E-02
Trans-sinaptik sinyalizasyon (GO:0099537)	431	22	8,25	+	2,67	5,20E-05	4,79E-02
Kimyasal sinaptik iletim (GO:0007268)	414	22	7,92	+	2,78	2,94E-05	4,19E-02
Sistem süreci (GO:0003008)	2079	67	39,78	+	1,68	3,32E-05	3,72E-02
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (394)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Aşağı regüle edilen ortak olmayan genler arasında kronik periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.9'da gösterilmiştir. Beklenenden fazla kenar sayısı görülmüştür.



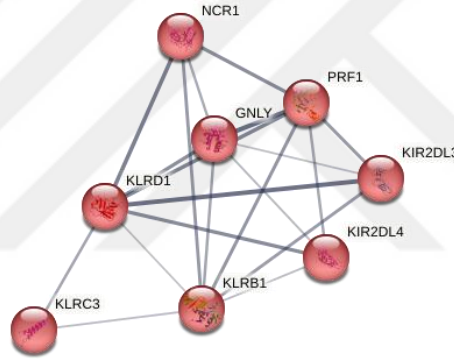
Şekil 3.9. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 371
kenar sayısı: 328
ortalama düğüm derecesi: 1,77

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,375
beklenen kenar sayısı: 217
PPE zenginleştirme p değeri: < 1,79e-12

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan küme ve bu kümenin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil

3.10’da gösterilmiştir. Bu kümedeki genler; GNLY (Granülizin); hücre içi patojenleri öldüren antimikrobiyal protein, PRF1 (Perforin-1); salgı granülüne bağlı hücre ölümünde ve virüs bulaşmış veya neoplastik hücelere karşı savunmada kilit bir rol oynar. NCR1 (Doğal sitotoksikite tetikleyici reseptör 1); tümör hücresi lizisine aracılık etmek için aktive edilmiş NK hücrelerinin artan etkinliğine katkıda bulunabilen sitotoksikiteyi aktive eden reseptör. KIR2DL3 ve KIR2DL4; katil hücre immünoglobulin benzeri reseptörler, bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde rol aldıkları düşünülmektedir. KLRD1 (Doğal öldürücü hücreler antijeni CD94); MHC sınıf I HLA-E moleküllerinin NK hücreleri ve bazı sitotoksik T-hücreleri (CD8+) tarafından tanınması için reseptör olarak rol oynar (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021) (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 8	ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,855
kenar sayısı: 20	beklenen kenar sayısı: 0
ortalama düğüm derecesi: 5	PPE zenginleştirme p değeri: < 1,0e-16

Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizlerinden GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri ise sırasıyla Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.13’te verilmiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizi sonucunda en çok hücrel savunma yanıtının 2 kattan fazla zenginleştiği görülmüştür. Ayrıca hücre öldürmenin ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesi ile ilişkili genlerin de ifadesi aşağı yönde zenginleşmiştir (Çizelge 3.12). KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde ise DEG’ler temel olarak antijen sunumu ve NK aracılı sitotoksikite ile ilgili yolaklarla yer almıştır (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.12. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0006968	Hücrel savunma yanıtı	5 / 54	2,35		1,49E-07
GO:0006952	Savunma yanıtı	6 / 1296	1,05		0,0137
GO:0031341	Hücre öldürmenin düzenlenmesi	3 / 91	1,91		0,0253
GO:0050776	Bağışıklık yanıtının düzenlenmesi	5 / 896	1,14		0,0327

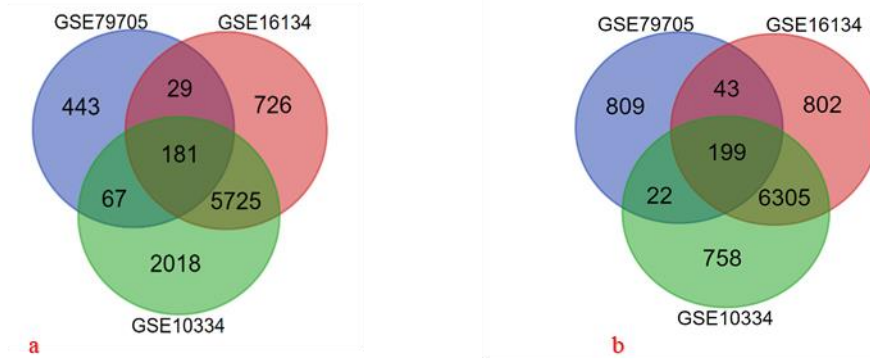
Çizelge 3.13. AP ve KP aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında ortak olmayan genler arasında KP grubu genlerinin PPE ağı içinde 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04650	Natural killer hücre aracılı sitotoksikite	4 / 121	1,91		3,65E-05
hsa05332	Graft-versus-host hastalığı	3 / 36	2,31		6,83E-05
hsa04612	Antijen işleme ve sunumu	2 / 63	1,89		0,0336

3.3. Periodontitisli Doku ile Geçmişte Periodontitis Hikayesi Olan Klinik Olarak Sağlıklı Dokulara Ait Analizler

Periodontal hastalık teşhisi alan hastalardan toplanan hastalığın aktif dönemine ait dokuların incelendiği GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmalar ile periodontal hastalık geçmişi olan ve iyileşme tamamlandıktan 1 yıl sonra dişsiz bölgelere ait dokuların incelendiği GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmanın karşılaştırması yapıldı.

GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmalarda agresif ve kronik periodontitis hastalarına ait doku örnekleri tek bir grupta birleştirildiği için, GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışma için öncelikle agresif ve kronik periodontitis geçmişi olan hastaların doku örnekleri de birleştirilerek analizler yapılmıştır. Aşağı ve yukarı regüle DEG'ler tanımlandıktan sonra üç grup arasındaki kesişen genleri tespit etmek amacıyla Venn diagramı çizildi. Sonuçlar Şekil 3.11'de gösterildi.



Şekil 3.11. GSE79705 (Agresif ve kronik periodontitis örneklerinin birleştirildiği analizler), GSE16134, GSE10334 grupları arasındaki DEG’leri gösteren Venn diagramları.

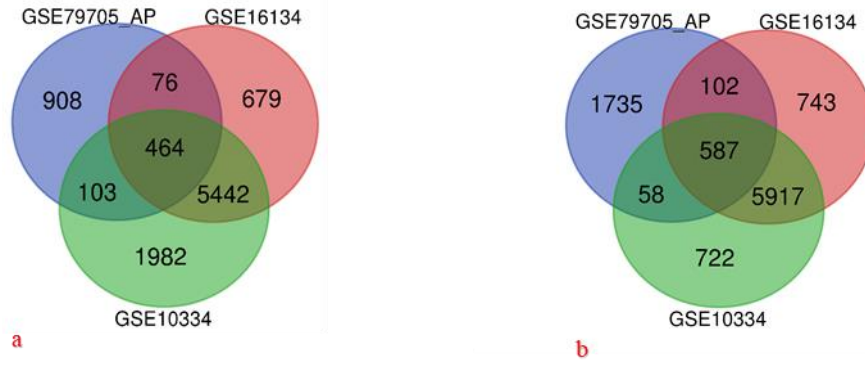
- (a) Yukarı regüle edilmiş DEG’lerin karşılaştırması
(b) Aşağı regüle edilmiş DEG’lerin karşılaştırması

GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmada yukarı regüle olan 720 genden 181’i diğer iki çalışmayla ortaktır. GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmada aşağı regüle olan 1073 genden 199’u diğer iki çalışmayla ortaktır (Şekil 3.11). Daha detaylı sonuçlar elde etmek için GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmanın agresif ve kronik periodontitis grupları ayrılarak analizler devam ettirildi.

3.3.1. Agresif Periodontitis Geçmiş Olan Dokularla Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması

Agresif periodontitis geçmişi olan hastalardan alınan klinik olarak sağlıklı dokulara ait DEG’ler ile hastalığın aktif döneminde alınan dokulara ait yukarı ve aşağı regüle edilmiş DEG’lerin Venn (Venn, 1880) diagram karşılaştırması yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.12’de gösterilmektedir.

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018) grubunda yukarı regüle 1551 genden 464’ü her 3 grup içinde ortaktır. GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmada aşağı regüle olan 2482 genden 587’si diğer iki çalışmayla ortaktır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. GSE79705 agresif periodontitis, GSE16134, GSE10334 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları.

- (a) Yukarı regüle edilmiş DEG'lerin karşılaştırması
(b) Aşağı regüle edilmiş DEG'lerin karşılaştırması

3.3.1.1. Kesişen DEG'lerin Analizleri

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) karşılaştırmasında yukarı ve aşağı regüle edilen DEG'lerde kesişen genler için yolak zenginleştirme analizleri yapıldı ve protein-protein etkileşim ağı incelendi. Yukarı regüle edilen genler arasındaki kesişen genlerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri sırasıyla Çizelge 3.14 ve Çizelge 3.15'te gösterildi. Çizelge 3.14, PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizi sonucunda tespit edilen tüm süreçlerde beklenenden daha fazla gen bulunmuştur ve aşırı temsil edilmiştir. Kesişen yukarı regüle edilen DEG'ler; proteoglikan sentezi, antijen sunumu ve işlenmesi, mononükleer hücre farklılaşması, lökosit hücre göçü, miyeloid hücre farklılaşması, sitokin ilişkili sinyalizasyon yolları ve hücre ölümünün pozitif yönde düzenlenmesi ile ilişkili süreçlerde rol almaktadır (Çizelge 3.14). KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde ise DEG'lerin; NK aracılı sitotoksikite, osteoklast farklılaşması, apoptozis ve Epstein Barr virüs enfeksiyonu ile ilgili yollarla rol aldıkları görüldü (Çizelge 3.15).

Çizelge 3.14. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (471)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hücrel süreç (GO:0009987)	15044	382	344.15	+	1.11	7.48E-05	2.44E-02
Proteoglikan biyosentetik süreci (GO:0030166)	59	8	1.35	+	5.93	1.21E-04	3.11E-02
Proteinin N-bağılı glikozilasyonu (GO:0006487)	74	9	1.69	+	5.32	9.85E-05	2.91E-02
İmmün sistem süreci (GO:0002376)	2429	94	55.57	+	1.69	5.79E-07	9.07E-04
Antijen işleme ve sunum (GO:0019882)	96	10	2.20	+	4.55	1.33E-04	3.27E-02
Gelişim süreci (GO:0032502)	5677	171	129.87	+	1.32	4.70E-05	1.94E-02
Mononükleer hücre farklılaşması (GO:1903131)	326	23	7.46	+	3.08	4.35E-06	3.25E-03
Hemopoez (GO:0030097)	660	36	15.10	+	2.38	4.99E-06	3.40E-03
Hareket yeteneğinin düzenlenmesi (GO:0040012)	1034	54	23.65	+	2.28	3.94E-08	2.06E-04
Lökosit göçünün düzenlenmesi (GO:0002685)	232	16	5.31	+	3.01	1.58E-04	3.64E-02
Lökosit göçü (GO:0050900)	250	17	5.72	+	2.97	1.17E-04	3.15E-02
Taşınmanın düzenlenmesi (GO:0051049)	1766	65	40.40	+	1.61	1.83E-04	4.05E-02
Hücre tarafından salgılananın pozitif düzenlenmesi (GO:1903532)	284	19	6.50	+	2.92	5.77E-05	2.26E-02

Çizelge 3.14. Devam. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (471)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hareket yeteneğinin pozitif düzenlenmesi (GO:0040017)	574	35	13.13	+	2.67	3.84E-07	8.59E-04
Hücre göçünün pozitif düzenlenmesi (GO:0030335)	532	35	12.17	+	2.88	6.94E-08	2.18E-04
Miyeloid hücre farklılaşması (GO:0030099)	264	17	6.04	+	2.81	2.14E-04	4.48E-02
Dış uyarana yanıtın düzenlenmesi (GO:0032101)	973	46	22.26	+	2.07	6.11E-06	3.69E-03
Dış uyarana yanıtın pozitif düzenlenmesi (GO:0032103)	455	28	10.41	+	2.69	4.86E-06	3.46E-03
Uyarana tepki (GO:0050896)	8209	228	187.79	+	1.21	2.43E-04	4.95E-02
Sitokin aracılı sinyalizasyon yolağı (GO:0019221)	366	21	8.37	+	2.51	1.86E-04	4.05E-02
Hücre aktivasyonu (GO:0001775)	700	43	16.01	+	2.69	1.38E-08	1.08E-04
Lenfosit aktivasyonu (GO:0046649)	465	25	10.64	+	2.35	1.37E-04	3.26E-02
Strese tepki (GO:0006950)	3466	115	79.29	+	1.45	3.89E-05	1.65E-02
İnflamatuar yanıt (GO:0006954)	540	28	12.35	+	2.27	1.21E-04	3.15E-02
Hücre ölümünün pozitif düzenlenmesi (GO:0010942)	583	29	13.34	+	2.17	1.44E-04	3.38E-02

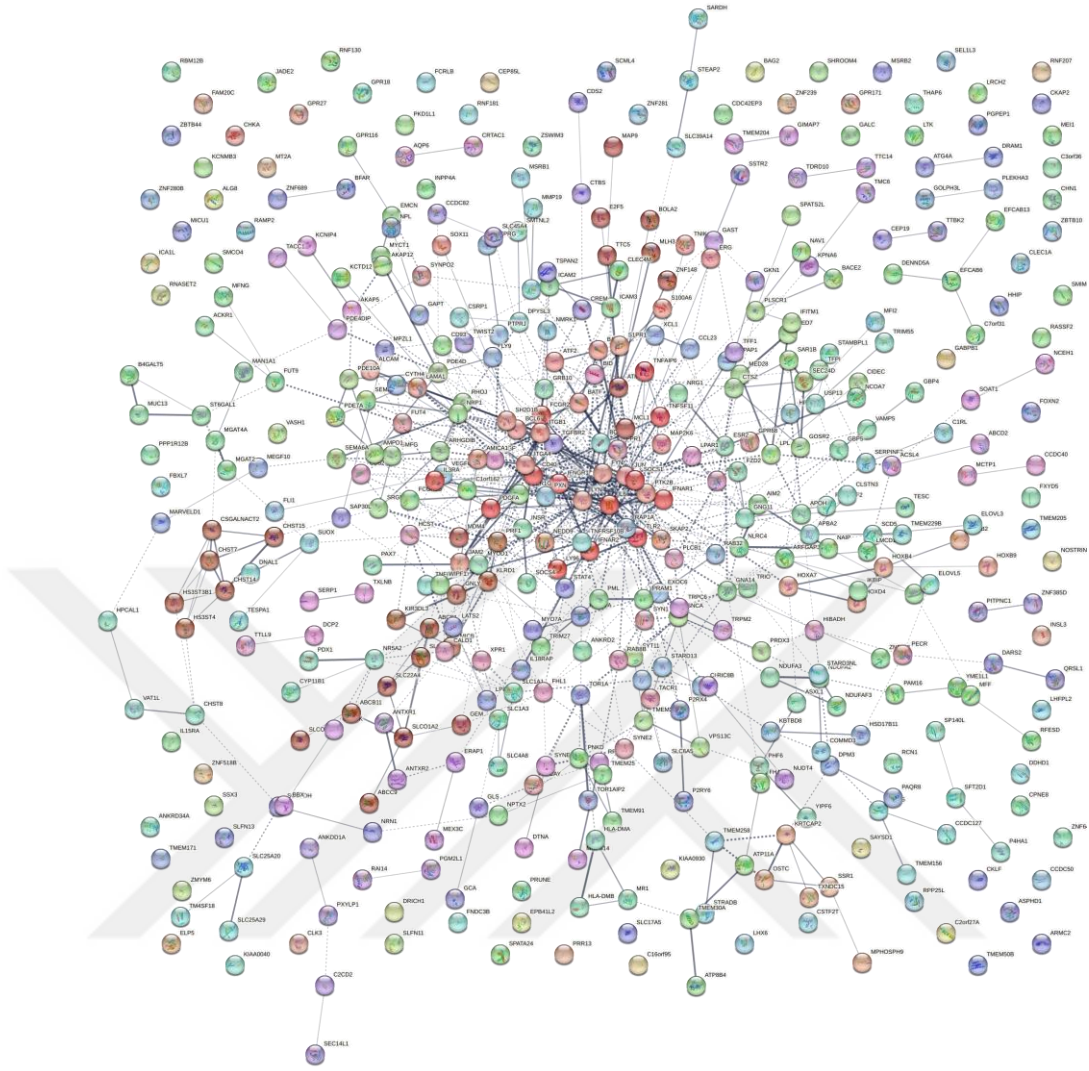
Çizelge 3.14. Devam. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (471)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Organonitrojen bileşiğine yanıt (GO:0010243)	968	43	22.14	+	1.94	6.73E-05	2.30E-02
Sinyalizasyonun pozitif düzenlenmesi (GO:0023056)	1701	65	38.91	+	1.67	6.80E-05	2.27E-02
Hücre içi sinyal iletiminin pozitif düzenlenmesi (GO:1902533)	999	42	22.85	+	1.84	2.22E-04	4.58E-02
Endojen uyarana tepki (GO:0009719)	1371	54	31.36	+	1.72	1.31E-04	3.25E-02
Multiselüler organizma sürecinin düzenlenmesi (GO:0051239)	2750	99	62.91	+	1.57	6.02E-06	3.78E-03
Multiselüler organizma sürecinin pozitif düzenlenmesi (GO:0051240)	1515	58	34.66	+	1.67	1.74E-04	3.91E-02
Hücre gelişimi (GO:0048468)	1725	65	39.46	+	1.65	1.07E-04	2.94E-02
Dış uyarana tepki (GO:0009605)	2469	92	56.48	+	1.63	4.22E-06	3.31E-03
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (471)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Yukarı regüle edilen kesişen DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.13'te gösterilmiştir. 451 düğüm, 775 kenar vardır. Beklenenden fazla küme ve kenar sayısı görülmüştür, bu grubun birbiriyle oldukça bağlantılı kümeler içerdiği görülmektedir (Şekil 3.13).

Çizelge 3.15. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Yanlış Keşif Oranı
hsa04650	NK aracılı sitotoksiste	15 / 121	0,73	0,00015
hsa05321	Enflamatuvar bağırsak hastalığı	8 / 60	0,76	0,0237
hsa04621	NOD benzeri reseptör sinyal yolu	13 / 174	0,51	0,031
hsa05140	Leishmaniasis	8 / 70	0,7	0,031
hsa05145	Toksoplazmoz	10 / 105	0,62	0,031
hsa05332	Graft-versus-host hastalığı	6 / 36	0,86	0,031
hsa05416	Viral miyokardit	7 / 55	0,74	0,031
hsa04380	Osteoklast farklılaşması	10 / 122	0,55	0,0347
hsa05135	Yersinia enfeksiyonu	10 / 125	0,54	0,0347
hsa05169	Epstein-Barr virüs enfeksiyonu	13 / 193	0,47	0,0347
hsa04979	Kolesterol metabolizması	6 / 48	0,73	0,04
hsa04210	Apoptoz	10 / 132	0,52	0,0403
hsa00510	N-Glikan biyosentezi	6 / 50	0,72	0,041
hsa00532	Glikozaminoglikan biyosentezi - kondroitin sülfat / dermatan sülfat	4 / 20	0,94	0,0423
hsa04514	Hücre adezyon molekülleri	10 / 137	0,5	0,0423
hsa04630	JAK-STAT sinyalizasyon yolağı	11 / 160	0,47	0,0423



Şekil 3.13. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında keşilen genlerin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 451

kenar sayısı: 775

ortalama düğüm derecesi: 3,44

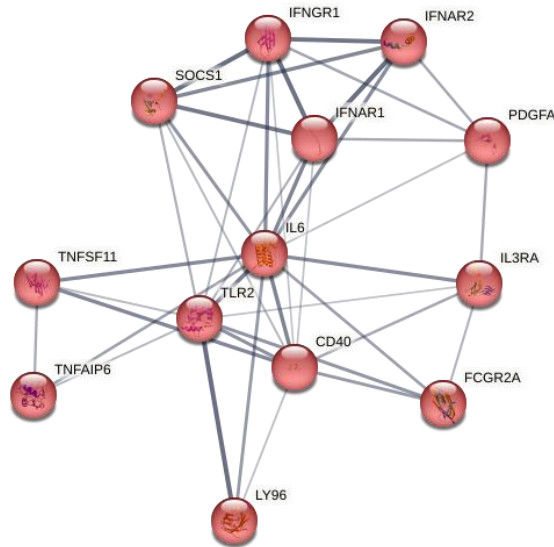
ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,362

beklenen kenar sayısı: 505

PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil 3.14'te gösterilmiştir. 1. kümede 13 düğüm, 40 kenar vardır (Şekil 3.14). Bu kümede görülen genler: IL-6 (İnterlökin-6); akut faz yanıtının güçlü bir indükleyicisidir. TLR2 (Toll-benzeri reseptör 2); doğal bağışıklık tepkisine aracılık eder. IFNAR1 (İnterferon alfa/beta reseptörü 1) ve IFNAR2 (İnterferon alfa/beta reseptörü 2) JAK-STAT

sinyalizasyon yollarını aktive ederler. TNFSF11 (Tümör nekroz faktörü ligandı üst aile üyesi 11); osteoklast farklılaşması ve aktivasyon faktörü. LY96 (Lenfosit antijeni 96); bakteriyel lipopolisakkaridi (LPS) bağlar. Bakteriyel lipopolisakkarite (LPS) karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde TLR4 ile ve Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerden hücre duvarı bileşenlerine yanıtta TLR2 ile işbirliği yapar. CD40; bu gen, TNF-reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Kodlanan protein, bağışıklık sisteminin antijen sunan hücreleri üzerindeki bir reseptördür ve T hücresine bağlı immünoglobulin sınıfı değişimi, bellek B hücresi gelişimi ve germinal merkez oluşumu dahil olmak üzere çok çeşitli bağışıklık ve enflamatuvar tepkilere aracılık etmek için esastır. PDGFA (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü alt birimi A); embriyonik gelişim, hücre proliferasyonu, hücre göçü, hayatta kalma ve kemotaksis düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan büyüme faktörüdür. FCGR2A (Düşük afiniteli immünoglobulin gama Fc bölge reseptörü II-a); immünoglobulin gama (IgG)'nın Fc bölgesine bağlanır. IgG'ye bağlanarak patojenlere ve çözünür antijenlere karşı hücresel tepkileri başlatır (<http://string-db.org/>) (Szklarczyk ve ark., 2021) (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 13
kenar sayısı: 40
ortalama düğüm derecesi: 6,15

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,765
beklenen kenar sayısı: 4
PPE zenginleştirme p değeri: < 1,0e-16

Bu kümeye ait yolak zengileştirme analizleri olan GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri ise sırasıyla Çizelge 3.16 ve Çizelge 3.17’de verilmiştir. Analizi sonucunda; bakteriyel orjinli moleküllerin tanınması, akut inflamatuvar cevabın pozitif düzenlenmesi, TLR ilişkili yolaklarının aktivasyonu, epitelyal apoptozunun pozitif düzenlenmesi, kemik rezorpsiyonunu düzenlenmesi, lipopolisakkaritlere karşı hücrel cevap, NF-kappa B sinyal yolağı aktivitesi gibi inflamatuvar yanıtla ilişkili genler 1.küme içinde toplanmıştır (Çizelge 3.16).

Çizelge 3.16. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP Analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0007166	Hücre yüzeyi reseptörü sinyalizasyon yolağı	12 / 2325	0,89		1,21E-06
GO:0006955	İmmün yanıt	10 / 1588	0,98		1,06E-05
GO:0019221	Sitokin aracılı sinyalizasyon yolağı	8 / 678	1,25		1,06E-05
GO:0032101	Dış uyarana tepkinin düzenlenmesi	9 / 1013	1,13		1,06E-05
GO:0071345	Sitokin uyarısına hücrel yanıt	9 / 1013	1,13		1,06E-05
GO:0007165	Sinyal iletimi	13 / 4876	0,6		2,66E-05
GO:0060759	Sitokin uyarısına yanıtın düzenlenmesi	5 / 175	1,63		9,68E-05
GO:0031347	Savunma yanıtının düzenlenmesi	7 / 674	1, 19		9,97E-05
GO:0071310	Organik maddeye hücrel tepki	10 / 2369	0,8		0,00015
GO:0006952	Savunma yanıtı	8 / 1296	0,97		0,00033
GO:0006954	İnflamatuvar yanıt	6 / 515	1,24		0,00043
GO:0098542	Diğer organizmaya karşı savunma tepkisi	7 / 900	1,07		0,00048
GO:0080134	Strese karşı tepkinin düzenlenmesi	8 / 1437	0,92		0,00057
GO:0009615	Virüse yanıt	5 / 293	1,41		0,00062
GO:0032496	Lipopolisakkarite yanıt	5 / 313	1,38		0,00078
GO:0001775	Hücre aktivasyonu	7 / 1075	0,99		0,001
GO:0009605	Dış uyarana tepki	9 / 2310	0,77		0,001
GO:0007259	JAK-STAT yoluyla reseptör sinyalizasyon yolağı	3 / 38	2,07		0,0011
GO:0002791	Peptit salgılanmasının düzenlenmesi	5 / 363	1,32		0,001

KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) analizinde ise Toll benzeri reseptör ilişkili sinyal yolları, osteoklast farklılaşması, NF-kappa B sinyal yolağı aktivitesi, HIF-1 sinyal yolağı ve nekropitoz ile ilişkili genler bulunmuştur (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04630	JAK-STAT sinyalizasyon yolağı	7 / 160	1,82		1,60E-09
hsa04620	Toll-like reseptör sinyalizasyon yolağı	6 / 101	1,95		6,46E-09
hsa04380	Osteoklast farklılaşması	6 / 122	1,87		1,28E-08
hsa04060	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	7 / 282	1,57		1,90E-08
hsa05145	Toksozmoz	5 / 105	1,86		4,26E-07
hsa04151	PI3K-Akt sinyalizasyon yolağı	6 / 350	1,41		2,99E-06
hsa05169	Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu	5 / 193	1,59		5,82E-06
hsa05200	Kanser yolları	6 / 517	1,24		2,17E-05
hsa05162	Kızamık	4 / 138	1,64		6,73E-05
hsa05144	Sıtma	3 / 46	1,99		0,00012
hsa05152	Tüberküloz	4 / 168	1,55		0,00012
hsa05164	İnfluenza A	4 / 165	1,56		0,00012
hsa05167	Kaposi sarkomu ile ilişkili herpes virüsü enfeksiyonu	4 / 187	1,51		0,00015
hsa05321	Enflamatuvar bağırsak hastalığı	3 / 60	1,88		0,00021
hsa05168	Herpes simplex virus 1 enfeksiyonu	5 / 479	1,2		0,00022
hsa05140	Leishmaniasis	3 / 70	1,81		0,00029
hsa05323	Romatoid artrit	3 / 85	1,73		0,00048
hsa04064	NF-kappa B sinyalizasyon yolağı	3 / 101	1,65		0,00071
hsa05142	Chagas hastalığı	3 / 99	1,66		0,00071

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) karşılaştırmasında aşağı regüle edilen genler arasında kesişen genlerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizi Çizelge 3.18’de gösterilmiştir. Çizelgede sonuçlarda her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili

özgül sınıf gösterilmiştir. İstatiksel olarak anlamlı KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analiz sonucu elde edilemedi. PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizine göre treonin katabolik sürecinin referans listede bulununan neredeyse tüm genlerin DEG’ler arasında bulunduğu, beklenenden 27 kat fazla zenginleştirildiği görüldü. Bunun yanında DNA zincir uzaması, yağ asidi oksidasyonu, makrotofajinin düzenlenmesi, histon metilasyonu, epitelial hücre farklılaşması süreçleri aşırı temsil edilmiştir (Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında keşişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)	İstemci Metin Kutusu Girişi (596)						
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hücrel süreç (GO:0009987)	15044	498	435.49	+	1.14	2.64E-09	1.38E-05
Treonin katabolik süreci (GO:0006567)	5	4	.14	+	27.64	6.98E-05	2.74E-02
DNA replikasyonunda yer alan DNA zinciri uzaması (GO:0006271)	15	5	.43	+	11.52	1.89E-04	4.43E-02
Biyolojik regülasyon (GO:0065007)	12544	412	363.12	+	1.13	4.95E-05	2.59E-02
Deri yoluyla su kaybının düzenlenmesi (GO:0033561)	32	7	.93	+	7.56	9.47E-05	3.03E-02
Lokalizasyon (GO:0051179)	4566	181	132.17	+	1.37	5.34E-06	1.20E-02
Mikrotübül boyunca vezikül taşınması (GO:0047496)	41	8	1.19	+	6.74	6.10E-05	2.82E-02
Biyolojik sürecin düzenlenmesi (GO:0050789)	11806	389	341.75	+	1.14	1.07E-04	3.12E-02
Yağ asidi oksidasyonunun düzenlenmesi (GO:0046320)	37	7	1.07	+	6.54	2.09E-04	4.55E-02

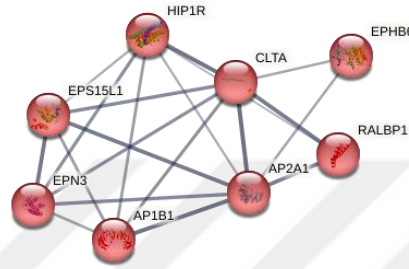
Çizelge 3.18. Devam. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (596)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Metabolik sürecin pozitif düzenlenmesi (GO:0009893)	3858	150	111.68	+	1.34	1.29E-04	3.63E-02
Makrotofajinin pozitif düzenlenmesi (GO:0016239)	75	12	2.17	+	5.53	5.71E-06	1.12E-02
Histon metilasyonunun düzenlenmesi (GO:0031060)	84	11	2.43	+	4.52	7.33E-05	2.67E-02
Gelişim süreci (GO:0032502)	5677	215	164.33	+	1.31	8.15E-06	1.16E-02
Epitel gelişimi (GO:0060429)	1072	58	31.03	+	1.87	1.08E-05	1.21E-02
Primer nöral tüp oluşumu (GO:0014020)	100	12	2.89	+	4.15	7.52E-05	2.62E-02
Hayvan organ gelişimi (GO:0048513)	3254	137	94.20	+	1.45	6.93E-06	1.21E-02
Cilt gelişimi (GO:0043588)	268	23	7.76	+	2.96	9.22E-06	1.20E-02
Hücresel gelişim süreci (GO:0048869)	3542	139	102.53	+	1.36	1.84E-04	4.45E-02
Epitelyal hücre farklılaşması (GO:0030855)	620	36	17.95	+	2.01	1.56E-04	3.89E-02
Epidermal hücre farklılaşması (GO:0009913)	201	17	5.82	+	2.92	1.56E-04	3.94E-02
GTPaz aktivitesinin düzenlenmesi (GO:0043087)	378	26	10.94	+	2.38	9.53E-05	2.99E-02
GTPaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi (GO:0043547)	286	21	8.28	+	2.54	1.77E-04	4.35E-02

Çizelge 3.18. Devam. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (596)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
RNA metabolik sürecinin pozitif düzenlenmesi (GO:0051254)	1848	83	53.49	+	1.55	9.07E-05	2.96E-02
RNA polimeraz II tarafından transkripsiyonun pozitif düzenlenmesi (GO:0045944)	1259	62	36.44	+	1.70	7.00E-05	2.68E-02
Lipid metabolik süreci (GO:0006629)	1234	59	35.72	+	1.65	2.44E-04	4.85E-02
Nörogenez (GO:0022008)	1290	61	37.34	+	1.63	2.40E-04	4.82E-02
HücreSEL sürecin negatif düzenlenmesi (GO:0048523)	4732	184	136.98	+	1.34	1.39E-05	1.29E-02
HücreSEL biyosentetik sürecin negatif düzenlenmesi (GO:0031327)	1594	75	46.14	+	1.63	5.40E-05	2.65E-02
Gelişim sürecinin düzenlenmesi (GO:0050793)	2489	109	72.05	+	1.51	1.54E-05	1.34E-02
Multiselüler organizma gelişiminin düzenlenmesi (GO:2000026)	1383	65	40.03	+	1.62	1.92E-04	4.42E-02
Nitrojen bileşiği metabolik sürecinin negatif düzenlenmesi (GO:051172)	2409	101	69.73	+	1.45	1.85E-04	4.39E-02
Analiz Türü: Analiz edilen liste: Referans liste: Test türü: Düzeltilme:	PANTHER Aşırı Temsil Testi İstemci Metin Kutusu Girişi (596) Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler) FISHER YKO						

3.16’da gösterilmiştir. 8 düğüm sayısı ve 20 kenar sayısı görülmüştür (Şekil 3.16). Bu kümelenmedeki bazı genler: CLTA (Klatrin hafif zincir A); klatrin kaplanmış çukur ve veziküllerin polihedral kaplamasının ana proteinidir. AP2A1 (AP-2 karmaşık alt birim alfa-1); adaptör protein kompleksi 2'nin (AP-2) bileşeni. Adaptör protein kompleksleri, farklı membran trafik yollarında taşıma vezikülleri yoluyla protein taşınmasında işlev görür (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021).



Şekil 3.16. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 8
kenar sayısı: 20
ortalama düğüm derecesi: 5
ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,88
beklenen kenar sayısı: 0
PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizleri olan GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri ise sırasıyla Çizelge 3.19 ve Çizelge 3.20’de verilmiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizinde antijen sunumu ve işlenmesi ile ilişkili genlerin ifadesinde neredeyse 4 kat bir artış görülmüştür (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0006897	Endositoz	6 / 433	1,53	4,26E-05
GO:0016192	Vezikül aracılı taşıma	7 / 1805	0,98	0,0027
GO:0019886	Antijen işlenmesi ve MHC sınıf ii yoluyla eksojen peptit antijeninin sunumu	3 / 96	1,88	0,0296
GO:0032802	Düşük yoğunluklu lipoprotein partikül reseptörü katabolik süreci	2 / 10	2,69	0,0296
GO:0048268	Klatrin kaplama birleşimi	2 / 18	2,43	0,044

Çizelge 3.20. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında kesişen genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04144	Endositoz	4 / 241	1,61		0,00054
hsa04961	Endokrin ve diğer faktör tarafından düzenlenen kalsiyum geri emilimi	2 / 53	1,97		0,0361
hsa04721	Sinaptik vezikül döngüsü	2 / 74	1,82		0,046

3.3.1.2. Ortak Olmayan DEG'lerin Analizleri

GSE79705_AP (Taiete ve ark., 2018), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) karşılaştırmasında agresif periodontitise ait ortak olmayan genler analiz edilmiştir. Bu sayede agresif periodontitis geçmişi bulunan dokularda ifade edilen genler incelenerek hastalık aktivitesinin genetik tabanı ile aktif hastalık dönemine ait genlerin çıkarılmasıyla klinik olarak sağlıklı agresif periodontitis geçmişi olan dokularda hala ne kadar bir doku cevabı görülmekte olduğu incelendi. Yukarı regüle edilen sadece agresif periodontitis kümesindeki DEG'lerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri sırasıyla Çizelge 3.21 ve Çizelge 3.22'de verildi. Çizelge 3.21 PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizinde mitokondriyal solunum zinciri kompleksi toplanması, mitokondriyal iç zar organizasyonu, mitokondriyal elektron taşınması, proton motiv güç ile ATP sentezi, mitokondriyal translasyon gibi hücrenin enerji ihtiyacı ile ilgili süreçlerin hepsinde ifade beklenenden 16 ila 64 kat fazla zenginleşmiştir ve bu süreçlerin tamamı aşırı temsil edilmiştir (Çizelge 3.21).

KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde ise DEG'ler oksidatif fosforilasyon, termogenez, alkolden bağımsız karaciğer yağlanması ve prion hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.22)

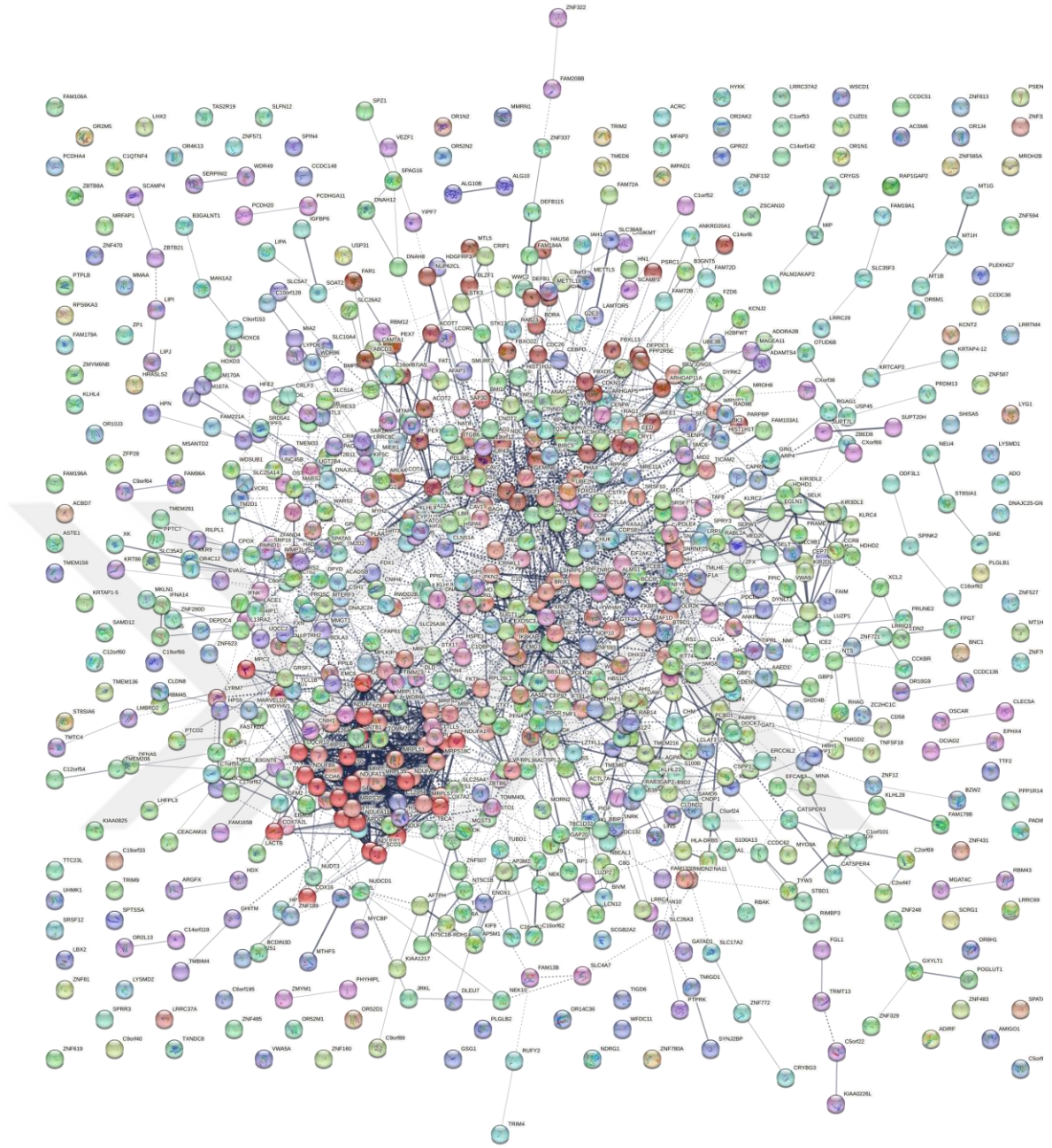
Çizelge 3.21. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (880)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hücrel bileşen biyogenezi (GO:0044085)	2633	163	112.54	+	1.45	2.33E-06	1.31E-03
Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I toplanması (GO:0032981)	60	16	2.56	+	6.24	5.98E-08	1.17E-04
İç mitokondriyal zar organizasyonu (GO:0007007)	37	9	1.58	+	5.69	8.81E-05	2.82E-02
Hücrel metabolik süreç (GO:0044237)	6606	341	282.35	+	1.21	4.36E-05	1.59E-02
Mitokondriyal elektron taşınması, NADH' den ubiquinone' a (GO:0006120)	46	11	1.97	+	5.59	1.69E-05	6.62E-03
Biyosentetik süreç (GO:0009058)	2603	157	111.26	+	1.41	1.49E-05	6.13E-03
Proton motiv güce dayalı mitokondriyal ATP sentezi (GO:0042776)	64	15	2.74	+	5.48	6.38E-07	5.01E-04
Hücrel amid metabolik süreci (GO:0043603)	802	63	34.28	+	1.84	9.88E-06	4.43E-03
Mitokondriyal translasyon (GO:032543)	110	20	4.70	+	4.25	3.41E-07	3.56E-04
Ribonükleo-protein kompleksi biyogenezi (GO:0022613)	449	41	19.19	+	2.14	1.52E-05	6.13E-03
Analiz Türü: Analiz edilen liste: Referans liste: Test türü: Düzeltilme:	PANTHER Aşırı Temsil Testi İstemci Metin Kutusu Girişi (880) Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler) FISHER YKO						

Çizelge 3.22. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa00190	Oksidatif fosforilasyon	18 / 130	0,51		0,0134
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması	19 / 148	0,47		0,0134
hsa05020	Prion hastalığı	26 / 265	0,36		0,0217
hsa04714	Termogenez	23 / 229	0,37		0,0276

Yukarı regüle edilen ortak olmayan genler arasında sadece agresif periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış hali Şekil 3.17'de gösterilmiştir. PPE ağında 842 düğüm, 2277 kenar sayısı vardır.



Şekil 3.17. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 842

kenar sayısı: 2277

ortalama düğüm derecesi: 5,41

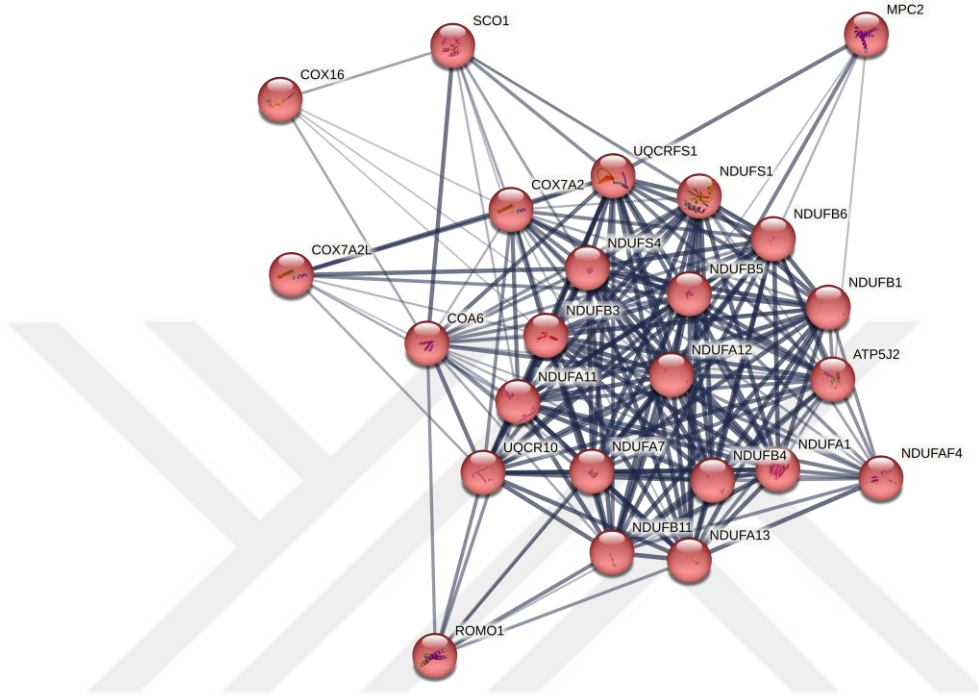
ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,364

beklenen kenar sayısı: 1669

PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil 3.18’de gösterilmiştir. 24 düğüm, 200 kenar sayısı tespit edilmiştir. Bu

kümelenmedeki bazı genler: NDUFA12, NDUFA7, COA6, ROMO1, ATP5J2, NDUFB4, COX7A2 gibi mitokondriyel protein kodlayan genlerdir (<http://string-db.org/>) (Szkarczyk ve ark., 2021).



Şekil 3.18. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 24	ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,882
kenar sayısı: 200	beklenen kenar sayısı: 4
ortalama düğüm derecesi: 16,7	PPE zenginleştirme p değeri: < 1,0e-16

Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizleri olan GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri ise sırasıyla Çizelge 3.23 ve Çizelge 3.24'te verilmiştir. 1. kümenin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizinde kümelenen genlerin tamamı oksidatif fosforilasyonun basamakları, mitokondriyal enerji üretimi ile ilişkili süreçlerde zenginleşmiştir (Çizelge 3.23).

1. kümenin KEGG yolak analizinde ise en güçlü ifade zenginleştirilmesi oksidatif fosforilasyon için bulunmuştur. Bunun yanında DEG'ler termogenez, Parkinson, Alzheimer, Prion hastalığı gibi süreçlerle ilgili bulunmuştur (Çizelge 3.24).

Çizelge 3.23. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0006119	Oksidatif fosforilasyon	19 / 118	2,12		1,62E-33
GO:0042773	ATP sentezi eşleşmiş elektron taşınması	17 / 88	2,2		1,37E-30
GO:0033108	Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi toplanması	17 / 102	2,13		9,07E-30
GO:0022900	Elektron transport zinciri	18 / 174	1,93		8,45E-29
GO:0042775	Mitokondriyal ATP sentezi ile bağlı elektron taşınması	16 / 87	2,18		1,31E-28
GO:0007005	Mitokondri organizasyonu	21 / 452	1,58		2,14E-28
GO:0032981	Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I toplanması	14 / 66	2,24		2,63E-25
GO:0006120	Mitokondriyal elektron taşınması, nadh' den ubiquinone'a	13 / 49	2,34		1,85E-24
GO:0034622	Hücrel protein içeren kompleks toplanması	20 / 816	1,3		2,49E-21
GO:0006796	Fosfat içeren bileşik metabolik süreç	20 / 2107	0,89		2,12E-13
GO:0016043	Hücrel bileşen organizasyonu	22 / 5447	0,52		4,78E-08
GO:0017004	Sitokrom kompleksi toplanması	4 / 37	1,95		8,10E-05
GO:0008535	Solunum zinciri kompleksi IV toplanması	3 / 26	1,97		0,0027
GO:0007007	İç mitokondriyal zar organizasyonu	3 / 48	1,71		0,0139
GO:0045039	Mitokondriyal iç zara protein eklenmesi	2 / 8	2,31		0,0258
GO:0097250	Mitokondriyal solunumsal toplanma	2 / 9	2,26		0,0306

Çizelge 3.24. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04714	Termogenez	20 / 229	1,85		1,91E-32
hsa00190	Oksidatif fosforilasyon	17 / 130	2,03		1,62E-29
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer	16 / 148	1,95		2,14E-26
hsa05012	Parkinson hastalığı	16 / 240	1,74		2,54E-23
hsa05020	Prion hastalığı	16 / 265	1,69		9,33E-23
hsa05016	Huntington hastalığı	16 / 298	1,64		4,75E-22
hsa05010	Alzheimer hastalığı	16 / 355	1,57		5,35E-21
hsa05014	Amyotrofik lateral skleroz	16 / 352	1,57		5,35E-21
hsa04723	Retrograd endokannabinoid sinyalizasyon	12 / 145	1,83		4,26E-18
hsa01100	Metabolik yollar	16 / 1447	0,95		1,20E-11
hsa04260	Kalp kası kasılması	4 / 87	1,57		0,00013

Aşağı regüle edilen sadece agresif periodontitis kümesindeki DEG'lerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizi Çizelge 3.25'te verilmiştir.

Çizelgede PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) sonuçlarında her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir. KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde anlamlı istatistiksel sonuç elde edilememiştir.

GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizinde DEG'ler iyon taşıması, hücre-hücre sinyalizasyonu, sinaptik iletim, biyolojik regülasyon, sinaptik sinyalizasyon, membran potansiyelinin düzenlenmesi, salgılamının düzenlenmesi ile ilgili süreçlerde beklenenden fazla gen bulunmuş olup bu süreçler aşırı temsil edilmiştir. Genel olarak vücutta metabolik süreçler ve iletim ile ilgili genlerin ifadesinde azalma izlenmiştir (Çizelge 3.25).

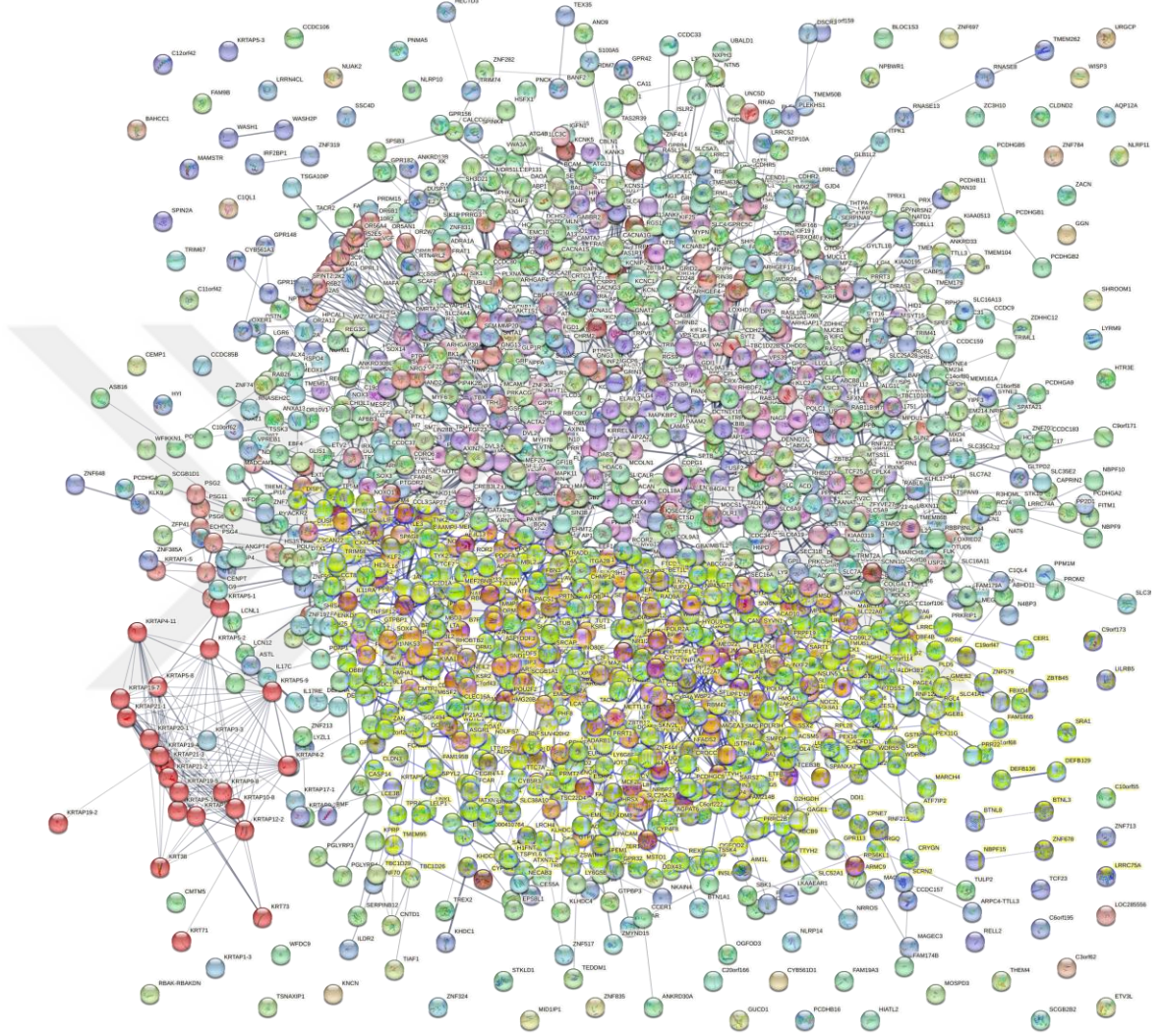
Çizelge 3.25. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (1683)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Lokalizasyon (GO:0051179)	4566	445	373.24	+	1.19	7.82E-05	2.61E-02
Plazma membranından inorganik katyon girişi (GO:0098659)	99	23	8.09	+	2.84	3.83E-05	1.82E-02
Metal iyonu taşınması (GO:0030001)	632	89	51.66	+	1.72	3.98E-06	6.94E-03
Sodyum iyonu transmembran taşınması (GO:035725)	131	27	10.71	+	2.52	5.63E-05	2.15E-02
Nörotransmitter taşınması (GO:0006836)	138	28	11.28	+	2.48	7.91E-05	2.58E-02
Potasyum iyon taşınması (GO:0006813)	175	33	14.30	+	2.31	5.14E-05	2.18E-02
Hücre-hücre sinyalizasyonu (GO:0007267)	1083	139	88.53	+	1.57	1.12E-06	3.52E-03
Sinyal salınımı (GO:0023061)	183	33	14.96	+	2.21	1.27E-04	3.56E-02
Biyolojik regülasyon (GO:0065007)	12544	1115	1025.38	+	1.09	1.53E-05	1.20E-02
Kalp kasılmasının düzenlenmesi (GO:0008016)	202	36	16.51	+	2.18	6.07E-05	2.21E-02
Biyolojik kalitenin düzenlenmesi (GO:0065008)	3677	375	300.57	+	1.25	1.04E-05	1.09E-02

Çizelge 3.25. Devam. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (1683)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Sinaptik sinyalizasyon (GO:0099536)	461	68	37.68	+	1.80	1.81E-05	1.29E-02
Kimyasal sinaptik iletim (GO:0007268)	414	64	33.84	+	1.89	9.68E-06	1.17E-02
Hücrel sürecin düzenlenmesi (GO:0050794)	11187	1003	914.46	+	1.10	2.94E-05	1.71E-02
Kimyasal sinaptik iletimin modülasyonu (GO:0050804)	438	67	35.80	+	1.87	7.53E-06	1.07E-02
Membran potansiyelinin düzenlenmesi (GO:0042391)	430	63	35.15	+	1.79	4.35E-05	1.89E-02
Lokalizasyonun düzenlenmesi (GO:032879)	2104	239	171.99	+	1.39	8.33E-07	26E-03
İyon transmembran taşımalarının düzenlenmesi (GO:034765)	510	73	41.69	+	1.75	2.19E-05	1.37E-02
Salgılamının düzenlenmesi (GO:0051046)	623	84	50.93	+	1.65	3.40E-05	1.72E-02
Salgılamının hücre tarafından düzenlenmesi (GO:1903530)	566	76	46.27	+	1.64	1.01E-04	2.97E-02
Analiz Türü: Analiz edilen liste: Referans liste: Test türü: Düzeltilme:	PANTHER Aşırı Temsil Testi İstemci Metin Kutusu Girişi (1683) Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler) FISHER YKO						

Aşağı regüle edilen ortak olmayan genler arasında sadece agresif periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.19'da gösterilmiştir. 1620 düğüm, 6321 kenar tespit edilmiştir.



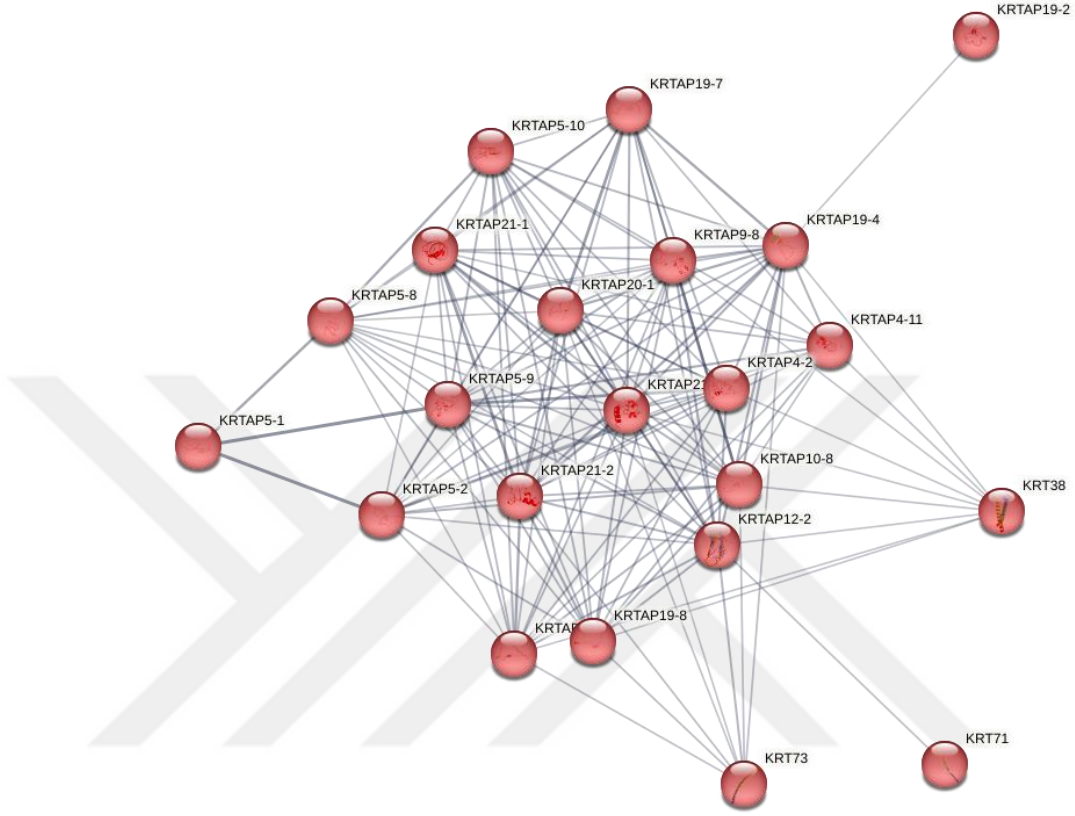
Şekil 3.19. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 1620
kenar sayısı: 6321
ortalama düğüm derecesi: 7,8

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,262
beklenen kenar sayısı: 4991
PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair en çok gen içeren ve en çok etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil

3.20’ de gösterilmiştir. 22 düğüm, 144 kenar tespit edilmiştir. Bu kümelenmedeki genler; saç keratinizasyonu ile ilişkilidir.



Şekil 3.20. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 22	ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,817
kenar sayısı: 144	beklenen kenar sayısı: 1
ortalama düğüm derecesi: 13,1	PPE zenginleştirme p değeri: < 1,0e-16

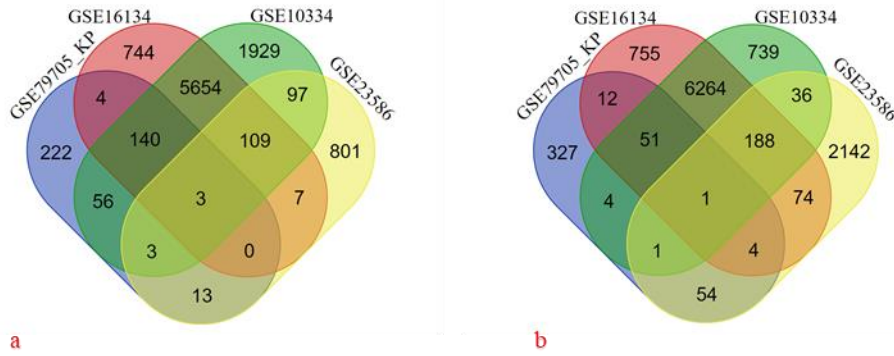
Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizlerinde GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizi Çizelge 3.26’da verilmiştir. Bu kümeye ait istatistiksel olarak anlamlı KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi bulunamamıştır. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizinde DEG’ler saçlarda gerçekleşen keratinizasyon ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.26).

Çizelge 3.26. GSE79705_AP, GSE16134, GSE10334 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece AP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Yanlış Keşif Oranı
GO:0031424	Keratinizasyon	22 / 226	1,94	8,94e-39

3.3.2. Kronik Periodontitis Geçmiş Olan Dokularla Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması

Kronik periodontitis geçmişi olan hastalardan alınan klinik olarak sağlıklı dokularda çalışan GSE79705_KP (Taiete ve ark., 2018) ile hastalığın aktif döneminde doku toplayan GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmaların örneklerine ait veriler karşılaştırılmıştır. GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın örnekleri sadece kronik periodontitis teşhisli hastalardan oluştuğu için GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmanın sadece kronik periodontitis örnekleriyle karşılaştırmada kullanılmıştır. Yukarı ve aşağı regüle edilmiş DEG'lerin Venn (Venn, 1880) diagram karşılaştırması yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.21'de gösterilmektedir.



Şekil 3.21. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334- GSE23586 grupları arasındaki DEG'leri gösteren Venn diagramları.

- (a) Yukarı Regüle Edilen Genler
(b) Aşağı Regüle Edilen Genler

3.3.2.1. Kesişen DEG'lerin Analizleri

Yapılan karşılaştırmada dört grup arasında ortak gen sayısı çok düşük olduğu için yolak zenginleştirme ve protein-protein etkileşim ağı analizleri yapılamamıştır. Ortak genlerin hangileri olduğu aşağıda verilmiştir.

Yukarı regüle edilen genler arasındaki ortak 3 gen:

- NOS3 (nitrik oksit sentaz 3); Nitrik oksit, nörotransmisyon ve antimikrobiyal ve antitümöral aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde biyolojik aracı olarak görev yapan reaktif bir serbest radikaldir. Nitrik oksit, nitrik oksit sentazları ile L-arginin' den sentezlenir. Bu gendeki varyasyonlar, koroner spazm duyarlılığı ile ilişkilidir (Stelzer ve ark., 2016).
- FOXP2; Forkhead box protein P2. Akciğer epitelinin spesifikasyonunda ve farklılaşmasında rol oynayabilecek transkripsiyonel baskılayıcı. Nöral, gastrointestinal ve kardiyovasküler dokuların gelişmesinde de rol oynayabilir. Transkripsiyonu sinerjik olarak bastırmak için CTBP1 ile birlikte hareket edebilir, ancak CTPBP1 gerekli değildir. SRPX2 seviyelerini düzenleyerek sinaps oluşumunda rol oynar. Konuşma ve dil gelişimine aracılık eden sinirsel mekanizmalarda yer alır (Stelzer ve ark., 2016).
- SOBP; Sinüs oculis bağlayıcı protein homologu; Kokleanın gelişiminde rol oynar (Stelzer ve ark., 2016).

Aşağı regüle edilen genler arasındaki ortak gen AGXT (alanine-glyoxylate aminotransferase) 'dir. Bu gene ait bilgiler aşağıda paylaşılmıştır.

- AGXT; Bu gen sadece karaciğerde eksprese edilir ve kodlanan protein peroksizomlarda lokalizedir çoğunlukla glioksilat detoksifikasyonunda yer alır. Bazıları subselüler hedeflemeyi değiştiren bu gendeki mutasyonlar, tip I primer hiperoksalüri ile ilişkilendirilmiştir (Stelzer ve ark., 2016).

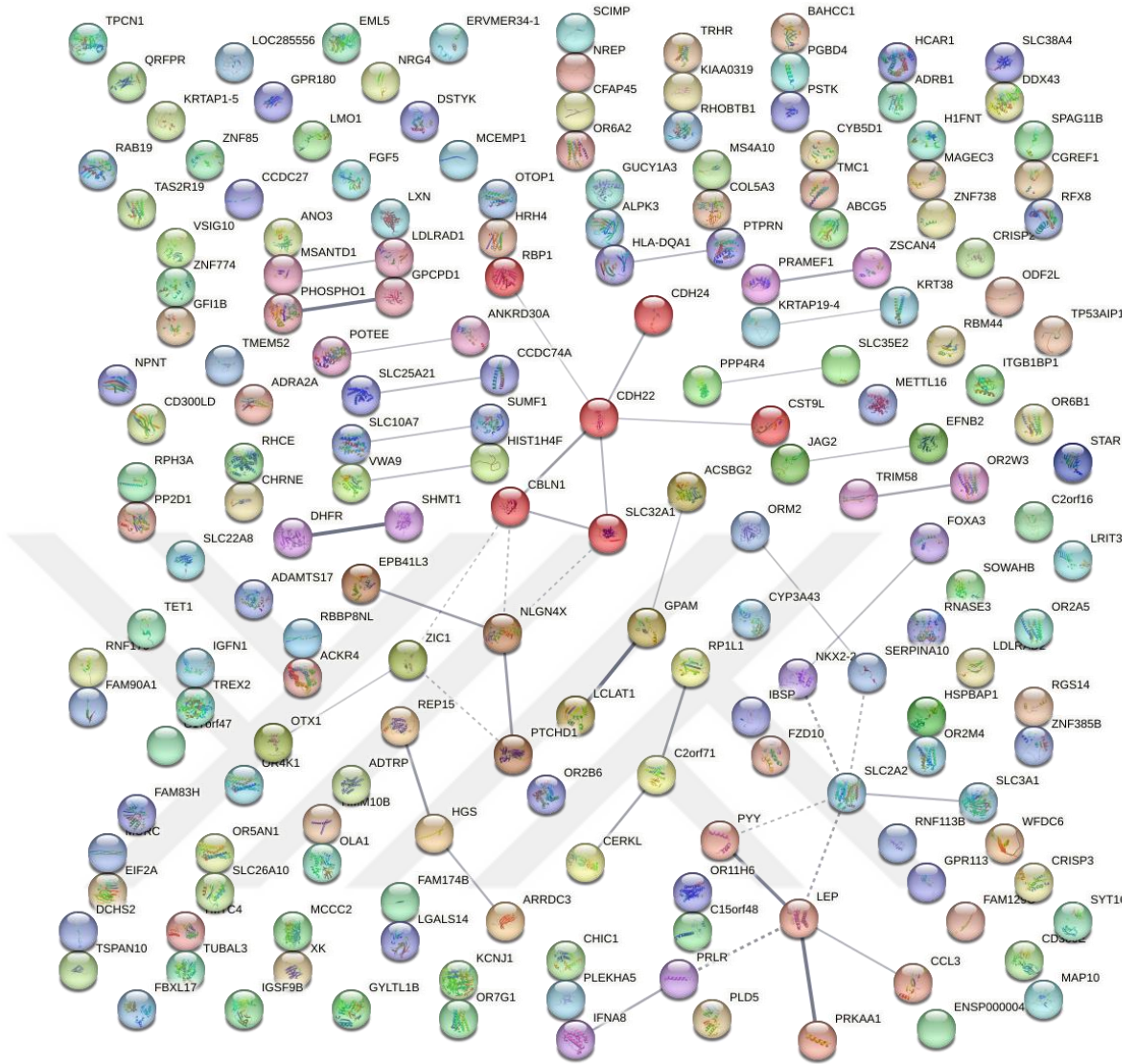
3.3.2.2. Ortak Olmayan DEG'lerin Analizleri

GSE79705_KP (Taiete ve ark., 2018), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) karşılaştırmasında sadece GSE79705_KP (Taiete ve ark., 2018)'e ait ortak olmayan genler analiz edilmiştir. Yukarı regüle edilen sadece KP kümesindeki DEG'lerin KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi Çizelge 3.27'de verilmiştir. PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Buna göre KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde DEG'ler adipositokin sinyalizasyon yolağı, alkolden bağımsız karaciğer yağlanması, aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) sinyalizasyon yolları ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.27).

Çizelge 3.27. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04920	Adipositokin sinyalizasyon yolağı	2 / 69	2,15		0,026
hsa04152	AMPK sinyalizasyon yolağı	2 / 120	1,91		0,0385
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması	2 / 148	1,82		0,0388

Yukarı regüle edilen ortak olmayan genler arasında sadece kronik periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.22'de gösterilmiştir. 184 düğüm, 44 kenar tespit edilmiştir.



Şekil 3.22. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 184

kenar sayısı: 44

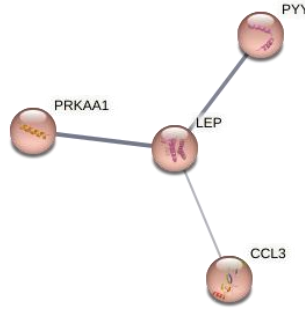
ortalama düğüm derecesi: 0,478

ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,247

beklenen kenar sayısı: 38

PPE zenginleştirme p değeri: 0,204

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair anlamlı etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 2. kümesidir ve Şekil 3.23'te gösterilmiştir. 4 düğüm, 3 kenar görülmüştür.



Şekil 3.23. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 2. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 4 ort. yerel kümeleme katsayısı: 0,75
kenar sayısı: 3 beklenen kenar sayısı: 0
ortalama düğüm derecesi: 1,5 PPE zenginleştirme p değeri: 0,00111

Bu kümeye ait yolak zengileştirme analizlerinden KEGG analizi Çizelge 3.28’de verilmiştir. GO-BP analizi için istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. KEGG yolak analizinde 1. kümenin sonuçları, kümelenmemiş grubun (Çizelge 3.27) analizlerini kapsamaktadır (Çizelge 3.28).

Çizelge 3.28. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 2. kümenin KEGG yolak analizi

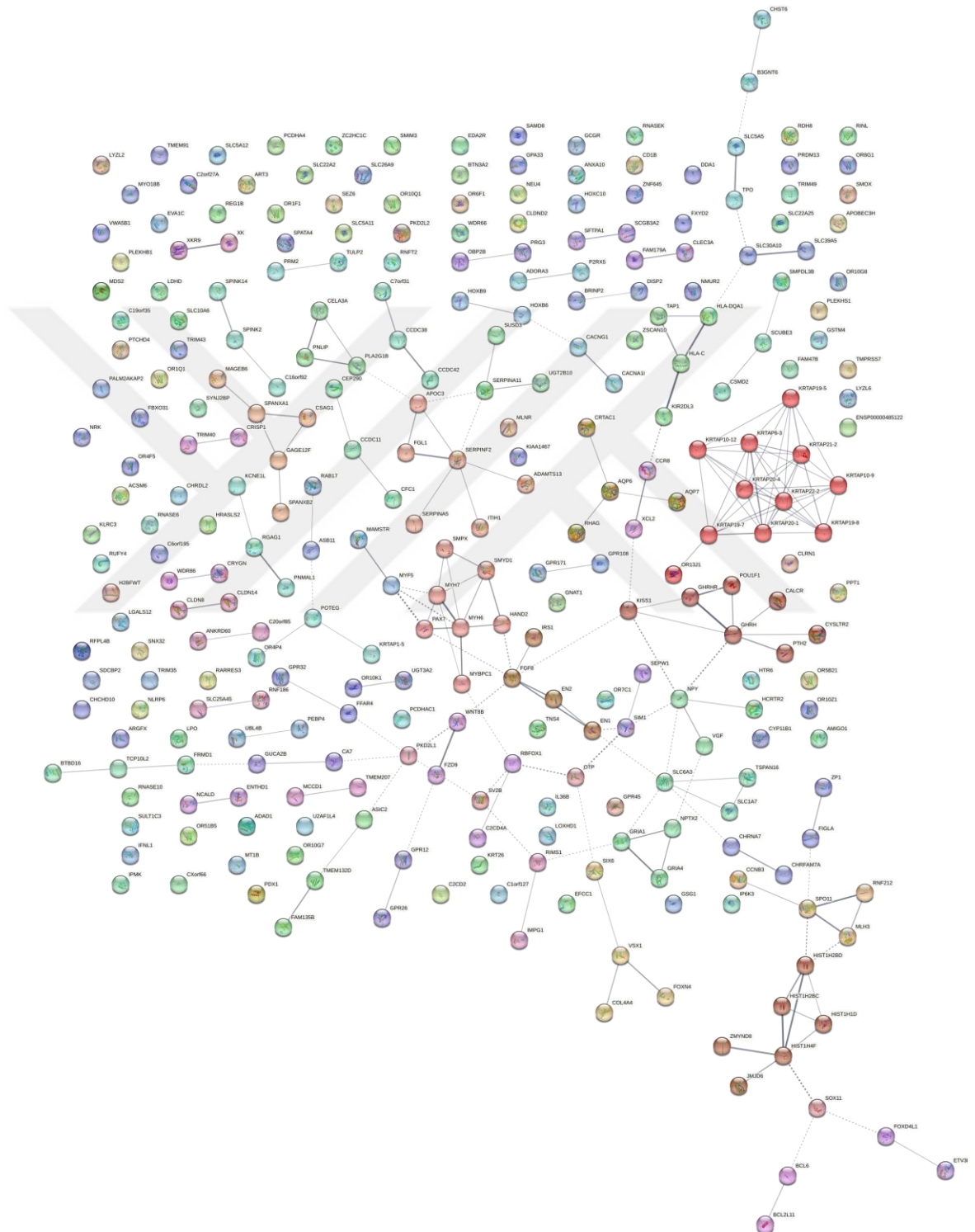
Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04920	Adiposit sinyalizasyon yolağı	2 / 69	2,15		0,026
hsa04152	AMPK sinyalizasyon yolağı	2 / 120	1,91		0,0385
hsa04932	Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması	2 / 148	1,82		0,0388

Aşağı regüle edilen sadece KP kümesindeki DEG’lerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizi, Çizelge 3.29’da verilmiştir. Çizelgede her bir ontoloji kategorisi için ilk sırada en genel sınıf, altta ise varsa ilgili özgül sınıf gösterilmiştir. KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizinde adenohipofiz gelişimi, G protein bağlı reseptör sinyalizasyon yolağı ile ilişkili genlerde aşırı temsil

görülmüştür, metabolik süreçler ve gen ekspresyonu ise yetersiz temsil edilmiştir (Çizelge 3.29).

Çizelge 3.29. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (315)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Adenohipofiz gelişimi (GO:0021984)	17	5	,26	+	19,22	1,61E-05	2,29E-02
Sistem süreci (GO:0003008)	2079	60	31,81	+	1,89	2,06E-06	5,38E-03
Kimyasal uyarının duyuşsal algısı (GO:0007606)	551	23	8,43	+	2,73	2,23E-05	2,50E-02
G proteinine bağlı reseptör sinyalizasyon yolağı (GO:0007186)	1223	39	18,71	+	2,08	2,09E-0	2,53E-02
Metabolik süreç (GO:0008152)	8131	82	124,40	-	,66	6,89E-07	2,70E-03
Hücrel metabolik süreç (GO:0044237)	6606	63	101,07	-	,62	2,43E-06	5,43E-03
Organik madde metabolik süreci (GO:0071704)	7697	74	117,76	-	,63	1,98E-07	1,04E-03
Protein metabolik süreci (GO:0019538)	3920	31	59,97	-	,52	1,19E-05	2,07E-02
Gen ekspresyonu (GO:0010467)	2314	13	35,40	-	,37	1,21E-05	1,90E-02
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (315)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						



Şekil 3.24. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 295

kenar sayısı: 210

ortalama düğüm derecesi: 1,42

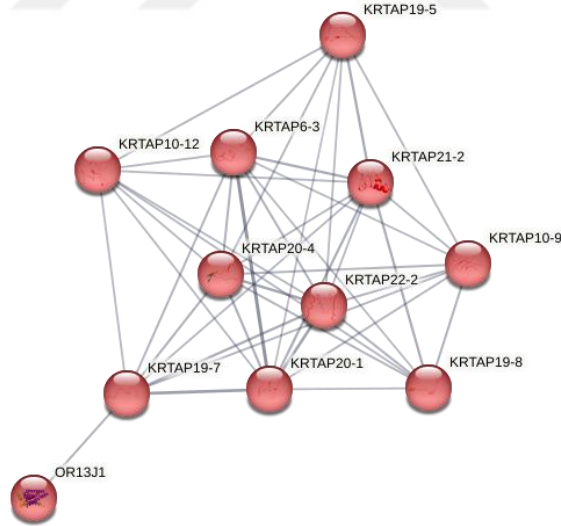
ort, yerel kümeleme katsayısı: 0,392

beklenen kenar sayısı: 98

PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Aşağı regüle edilen ortak olmayan genler arasında sadece kronik periodontitis grubuna ait DEG'lerin protein-protein etkileşim ağı kümeleme analizi uygulanmış haliyle Şekil 3.24'te gösterilmiştir, 295 düğüm ve 210 kenar görülmüştür.

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir, Bu analize dair anlamlı etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil 3.25'te gösterilmiştir, 11 düğüm sayısı ve 42 kenar görülmüştür. Genler saç keratinizasyonu ile ilgilidir.



Şekil 3.25. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 11

kenar sayısı: 42

ortalama düğüm derecesi: 7,64

ort, yerel kümeleme katsayısı: 0,895

beklenen kenar sayısı: 0

PPE zenginleştirme p değeri: $< 1,0e-16$

Bu kümeye ait yolak zengileştirme analizlerinden GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizi Çizelge 3.30'da verilmiştir, KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizi için istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

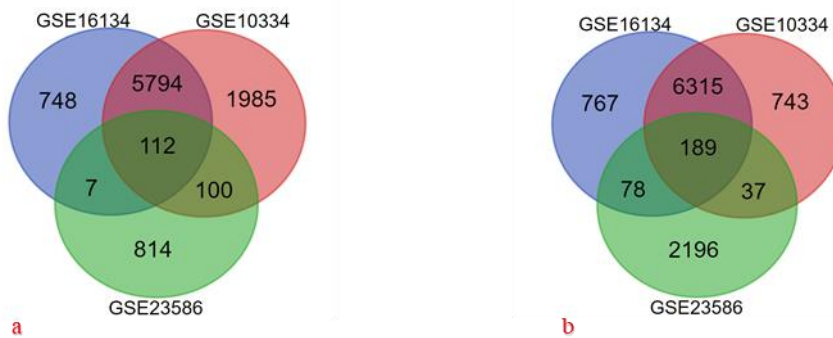
Bu kümedeki DEG'lerin GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) analizinde bulunan genlerin fonksiyonları saç keratinizasyonu ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.30). Periodontal infalamasyon açısından anlamlı bir gen bulunmamıştır.

Çizelge 3.30. GSE79705_KP, GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece KP grubundaki genlerin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0031424	Keratinizasyon	8 / 226	1,8	7,60e-10

3.4. Periodontitisli Dokuların Karşılaştırılması

Periodontitis teşhisi alan hastalarda tedavi uygulanmadan doku örneği toplayan üç çalışmanın GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) Venn (Venn, 1880) diagram karşılaştırması yapılmıştır, yukarı ve aşağı regüle edilen DEG'lerin sonuçları Şekil 3.26'da gösterilmiştir.



Şekil 3.26. GSE16134, GSE10334, GSE23586 grupları arasındaki DEG' leri gösteren Venn diagramları

- (a) Yukarı regüle edilmiş DEG'lerin karşılaştırması
- (b) Aşağı regüle edilmiş DEG'lerin karşılaştırması

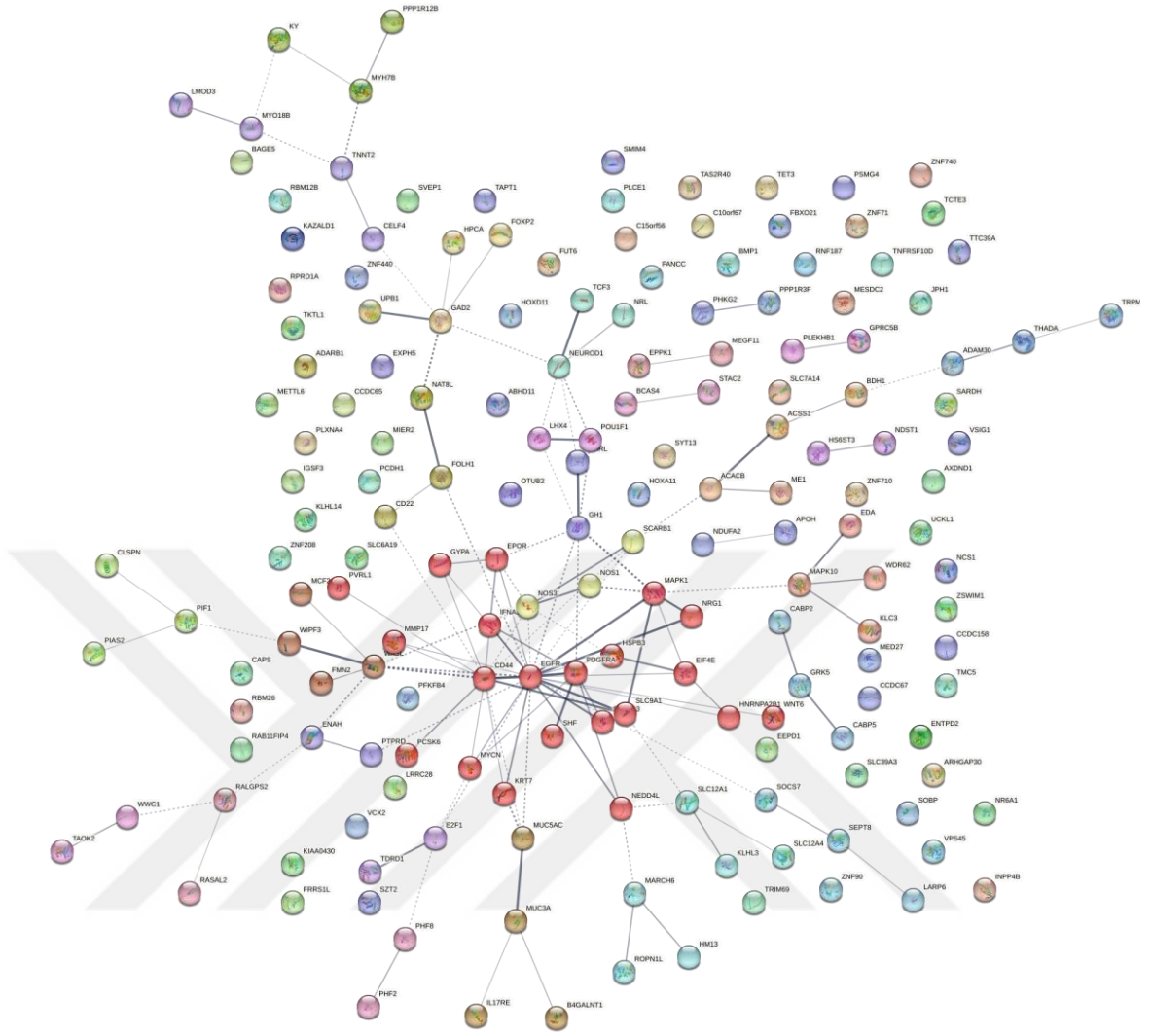
Bu karşılaştırmada ileri analizler için ortak genler ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kümesinin diğer kümelerle kesiştiği genler kullanılmıştır. GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın örnekleri sadece kronik periodontitis teşhisli hastalardan alındığı için diğer gruplarla kesişen genlerin kronik periodontitis temsil ettiği varsayıldı. Ortak olmayan genler için herhangi bir analiz yapılmadı.

Yukarı regüle edilen GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın diğer çalışmalarla kesiştiği ortak genlerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizi Çizelge 3.31’de verilmiştir. KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolağına dair anlamlı istatistiksel sonuç elde edilmemiştir. GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) analizinde DEG’ler anatomik yapı gelişimi, gelişim süreci ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.31).

Çizelge 3.31. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin GO-BP analizi

Homo Sapiens (Ref liste)		İstemci Metin Kutusu Girişi (180)					
GO Biyolojik süreç	#	#	Beklenen	+/-	Kat değişimi	Ham P değeri	YKO
Hayvan organ gelişimi (GO:0048513)	3254	53	28,45	+	1,86	4,74E-06	2,48E-02
Anatomik yapı gelişimi (GO:0048856)	5144	75	44,97	+	1,67	1,04E-06	8,15E-03
Gelişim süreci (GO:0032502)	5677	81	49,63	+	1,63	8,88E-07	1,39E-02
Analiz Türü:	PANTHER Aşırı Temsil Testi						
Analiz edilen liste:	İstemci Metin Kutusu Girişi (180)						
Referans liste:	Homo sapiens (veri bankasındaki tüm genler)						
Test türü:	FISHER						
Düzeltilme:	YKO						

Yukarı regüle edilen GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın diğer çalışmalarla kesiştiği ortak genlerin PPE kümelenme analizi yapılmış görüntüsü Şekil 3.27’de verilmiştir. 176 düğüm ve 134 kenar tespit edilmiştir (Şekil 3.27).



Şekil 3.27. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE kümeleme analizi

düğüm sayısı: 176

kenar sayısı: 134

ortalama düğüm derecesi: 1,52

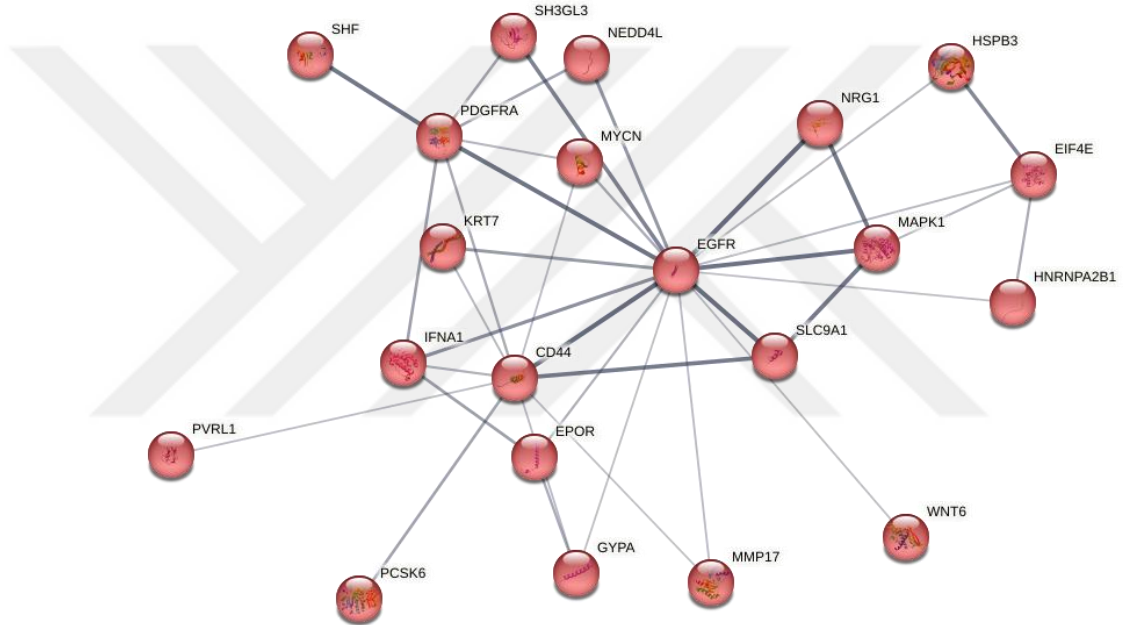
ortalama yerel kümeleme katsayısı: 0,341

beklenen kenar sayısı: 96

PPE zenginleştirme p değeri: 0,000144

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir. Bu analize dair anlamlı etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 1. kümesidir ve Şekil 3.28’de gösterilmiştir. 21 kenar ve 38 düğüm tespit edilmiştir (Şekil 3.28). Bu kümelenmedeki bazı genler: EGFR (Epidermal büyüme faktörü reseptörü). MAPK1 (Mitojenle aktive olan protein kinaz 1); MAP kinaz sinyal iletim yolunun temel bir bileşeni olarak işlev gören serin/treonin kinaz. PDGFRA (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa); PDGFA, PDGFB ve PDGFC için bir hücre yüzeyi reseptörü görevi gören ve

embriyonik gelişim, hücre proliferasyonu, hayatta kalma ve kemotaksis düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan tirozin-protein kinaz. IFNA1 (İnterferon alfa-1); makrofajlar tarafından üretilen IFN-alfa, antiviral aktivitelere sahiptir. CD44 (CD44 antijeni;) hyaluronik asit için reseptör. Hyaluronik asite olan afinitesi ve muhtemelen ayrıca osteopontin, kollajenler ve matris metaloproteinazlar (MMP) gibi diğer ligandlara olan afinitesi yoluyla hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerine aracılık eder. MMP17; fibrin gibi hücre dışı matrisin çeşitli bileşenlerini parçalayan endopeptidaz (Szkarczyk ve ark., 2021).



Şekil 3.28. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 21	ort, yerel kümeleme katsayısı: 0,778
kenar sayısı: 38	beklenen kenar sayısı: 9
ortalama düğüm derecesi: 3,62	PPE zenginleştirme p değeri: < 9,86e-13

Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizlerinden GO-BP (Ashburner ve ark., 2000) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) yolak analizleri sırasıyla Çizelge 3.32 ve Çizelge 3.33'te verilmiştir.

Çizelge 3.32. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin GO-BP analizi

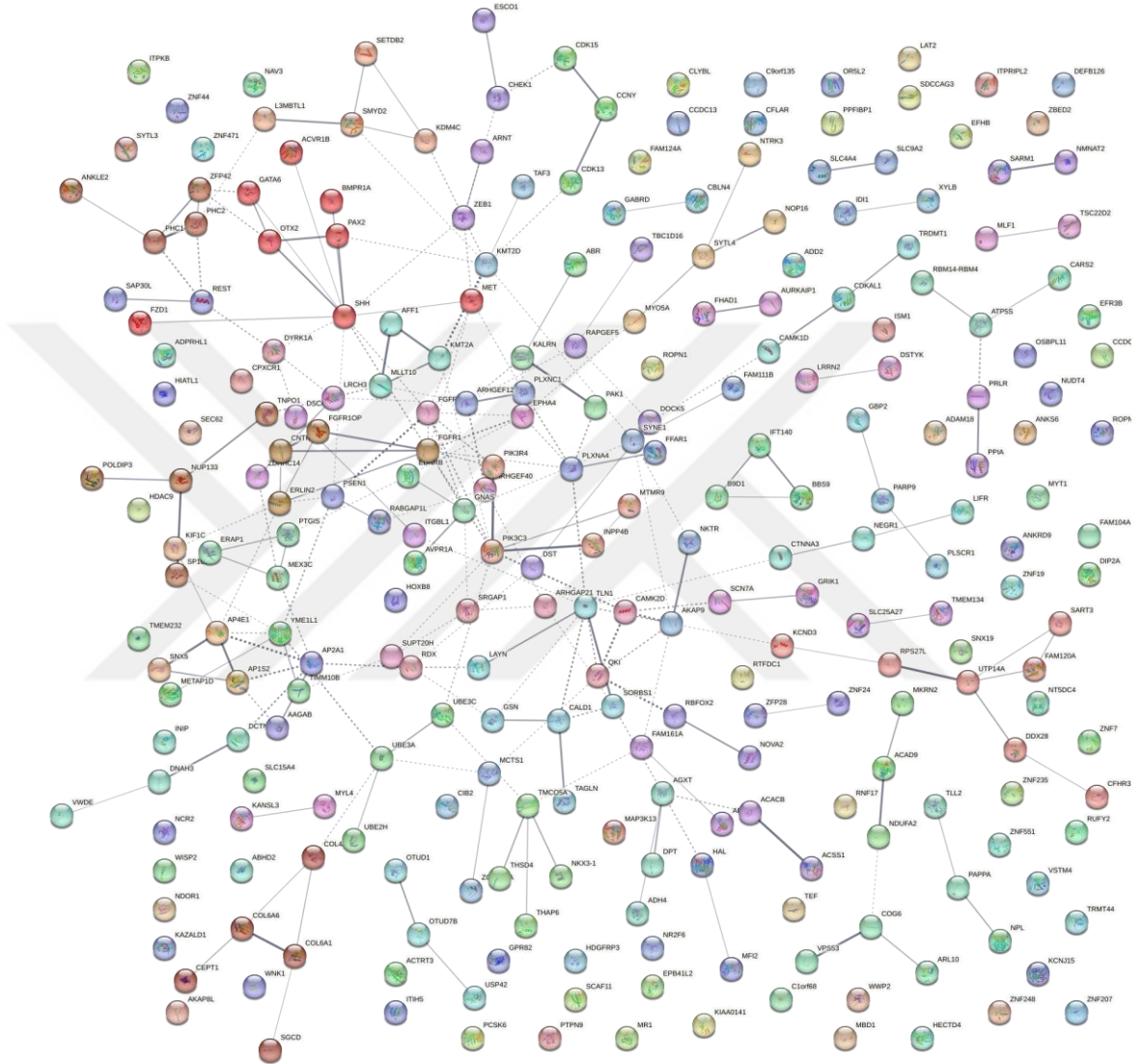
Yolak	Biyolojik süreç (GO)	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
GO:0016032	Viral süreç	9 / 776	1,03		0,00062
GO:0009888	Doku gelişimi	11 / 1760	0,77		0,0013
GO:0048513	Hayvan organ gelişimi	14 / 3197	0,61		0,0013
GO:0048731	Sistem gelişimi	16 / 4426	0,53		0,0013
GO:0044419	Organizmalar arasındaki türler arası etkileşim	11 / 1899	0,73		0,0022
GO:0035051	Kardiyosit farklılaşması	4 / 109	1,53		0,0084
GO:0042060	Yara iyileşmesi	6 / 439	1,1		0,0084
GO:0014066	Fosfatidilinositol 3-kinaz sinyalleşmesinin düzenlenmesi	4 / 123	1,48		0,0099
GO:0045927	Büyümenin pozitif düzenlenmesi	5 / 267	1,24		0,0099
GO:0006928	Hücre veya hücre altı bileşenin hareketi	9 / 1501	0,75		0,0116
GO:0030154	Hücre farklılaşması	13 / 3702	0,51		0,0145
GO:0042221	Kimyasala tepki	14 / 4333	0,48		0,0145
GO:0040011	Hareket	8 / 1251	0,78		0,0184
GO:0030307	Hücre büyümesinin pozitif düzenlenmesi	4 / 171	1,34		0,0206
GO:0030324	Akciğer gelişimi	4 / 170	1,34		0,0206
GO:0019058	Viral yaşam döngüsü	4 / 202	1,27		0,0331
GO:0038127	ERBB sinyalizasyon yolağı	3 / 70	1,6		0,0331
GO:0071310	Organik maddeye hücre sel tepki	10 / 2369	0,59		0,0335
GO:0051128	Hücre sel bileşen organizasyonunun düzenlenmesi	10 / 2402	0,59		0,0351
GO:1902533	Hücre içi sinyal iletiminin pozitif düzenlenmesi	7 / 1041	0,8		0,0351

Çizelge 3.33. GSE16134, GSE10334, GSE23586 yukarı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 1. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa01521	EGFR tirozin kinaz inhibitörü direnci	4 / 78	1,68		0,00054
hsa05205	Kanserde proteoglikanlar	5 / 196	1,38		0,00054
hsa05200	Kanser yolakları	6 / 517	1,03		0,0015
hsa04151	PI3K-Akt sinyalizasyon yolağı	5 / 350	1,12		0,0021
hsa04630	JAK-STAT sinyalizasyon yolağı	4 / 160	1,37		0,0021
hsa05206	Kanserde MicroRNA' lar	4 / 160	1,37		0,0021
hsa04012	ErbB sinyalizasyon yolağı	3 / 83	1,53		0,0027
hsa04520	Adherens junction	3 / 67	1,62		0,0027
hsa04810	Aktin hücre iskeletinin düzenlenmesi	4 / 209	1,25		0,0027
hsa05163	İnsan sitomegalovirüs enfeksiyonu	4 / 218	1, 23		0,0027
hsa05214	Glioma	3 / 72	1,59		0,0027
hsa05218	Melanoma	3 / 72	1,59		0,0027
hsa05230	Kanserde merkezi karbon metabolizması	3 / 69	1,61		0,0027
hsa04144	Endositoz	4 / 241	1,19		0,0028
hsa04540	Gap junction	3 / 87	1,51		0,0028
hsa04640	Hematopoetik hücre kökeni	3 / 91	1,49		0,0028
hsa05215	Prostat kanseri	3 / 96	1,46		0,0031
hsa05231	Kanserde kolin metabolizması	3 / 96	1,46		0,0031
hsa04928	Paratiroid hormon sentezi salgılanması ve etkisi	3 / 103	1,43		0,0034
hsa05165	Human papillomavirüs enfeksiyonu	4 / 325	1,22		0,0063

Aşağı regüle edilen GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın diğer çalışmalarla kesiştiği ortak genlerin PANTHER GO-BP (Ashburner ve ark., 2000; Mi ve ark., 2019b ve Thomas ve ark., 2022) ve KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) analizlerine dair istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Aşağı regüle edilen GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmanın diğer çalışmalarla kesiştiği ortak genlerin PPE kümelenme analizi yapılmış görüntüsü Şekil 3.29'da verilmiştir.



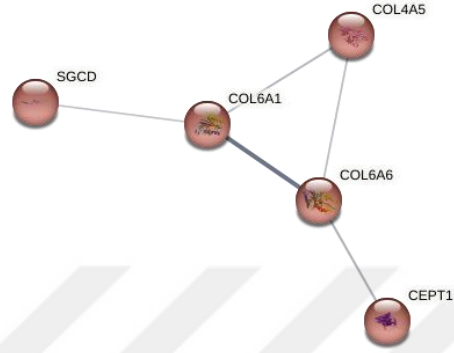
Şekil 3.29. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE kümelenme analizi

düğüm sayısı: 264
kenar sayısı: 233
ortalama düğüm derecesi: 1,77

ort. yerel kümelenme katsayısı: 0,359
beklenen kenar sayısı: 198
PPE zenginleştirme p değeri: 0,00832

Kümelenmeler teker teker incelenip istatistiksel olarak anlamlı olan kümeler ve bu kümelerin yolak zenginleştirme analizleri aşağıda verilmiştir, Bu analize dair anlamlı etkileşime sahip gen kümesi; bu analizin 3. kümesidir ve Şekil 3.30'da gösterilmiştir.

Bu kümedenmedeki bazı genler: COL6A1 (kollajen alfa-1 [VI] zinciri); kollajen VI, hücre bağlayıcı bir protein görevi görür; Tip VI kollajen ailesine aittir. COL6A6 (kollajen alfa-6 [VI] zinciri); kollajen VI, COL4A5 (kollajen alfa-5 [IV] zinciri); Tip IV kollajen.



Şekil 3.30. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 3. kümenin görüntüsü

düğüm sayısı: 5
kenar sayısı: 5
ortalama düğüm derecesi: 2

ort, yerel kümeleme katsayısı: 0,733
beklenen kenar sayısı: 0
PPE zenginleştirme p değeri: 3,61e-08

Bu kümeye ait yolak zenginleştirme analizlerinden KEGG (Kanehisa ve ark., 2022) analizi Çizelge 3.34'te verilmiştir. Analiz sonucunda, ekstrasellüler matriks reseptör etkileşimi, fokal adezyon, PI3K (Fosfatidilinositol 3'-kinaz)-Akt sinyalizasyon yolağı ile ilişkili genler bulunmuştur.

Çizelge 3.34. GSE16134, GSE10334, GSE23586 aşağı regüle edilen genlerin karşılaştırmasında sadece GSE23586 grubunun kesişen genlerinin PPE ağı içindeki 3. kümenin KEGG yolak analizi

Yolak	KEGG Yolağı	Ağ İçindeki Sayı	Güç	Oranı	Yanlış Keşif
hsa04512	ECM (ekstrasellüler matriks) reseptör etkileşimi	3 / 88	2,13		0,00032
hsa04974	Protein sindirimi ve emilimi	3 / 100	2,07		0,00032
hsa04510	Fokal adezyon	3 / 198	1,77		0,0012
hsa04151	PI3K-Akt sinyalizasyon yolağı	3 / 350	1,53		0,0038
hsa05165	Human papillomavirüs enfeksiyonu	3 / 325	1,56		0,0038

4. TARTIŞMA

Periodontal hastalıkların 1999 sınıflamasını takiben yapılan çalışmalarda agresif ve kronik periodontitis patogenezi birbirinden ayıran yeterli kanıt ulaşılamamış olması (Çekici ve ark., 2014 ve Ford ve ark., 2010) ve hastalık teşhisinin yaş gibi bir değişkenle ilişkilendirilmiş olması nedeniyle 2017’de özellikle tedavi ihtiyacını ön plana alan yeni bir periodontal hastalık sınıflandırması yapılmıştır (Tonetti ve ark., 2018). Bu sınıflamada tek bir başlık altında birleştirilen agresif ve kronik periodontitis, anguler yıkım paterni ve plak akümülyasyon miktarıyla orantısız destek doku kaybı olması, ileri yaşlardaki bireylerin kronik periodontitis olarak sınıflandırılması gibi klinik kısıtlılıklar göz önünde bulundurularak geliştirilmiş olmasına rağmen yapılan immünolojik çalışmalar bu iki hastalığın benzer klinik bulgulara sahip farklı antiteler olduğunu desteklemektedir (Abuhussein ve ark., 2014; Bantel ve ark., 2005; Deguchi ve ark., 1990 ve Hajishengallis, 2014). 2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre “periodontitis” başlığı altında birleştirilen agresif ve kronik periodontitisin doku cevabı bazında farklı hastalıklar olabileceği, klinik olarak iyileşme gözlense de genetik altyapısı nedeniyle gen ekspresyonlarında farklılıklar olabileceği hipotezinden hareketle çalışmamızın amacı; agresif ve kronik periodontitis hastalarında hastalığın aktif döneminde ve klinik olarak iyileşmenin gözlendiği dönemde elde edilmiş doku örneklerinin transkriptomlarının karşılaştırılarak gen ekspresyonu seviyesinde bu iki hastalık arasındaki benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkarılmasıdır.

Çalışmamızda farklı araştırmacılar tarafından tamamlanmış mikrodizi çalışmalarından (GSE79705 [Taiete ve ark., 2018], GSE16134 [Papapanou ve ark., 2009], GSE10334 [Demmer ve ark., 2008] ve GSE23586 [Abe ve ark., 2011]) elde edilen hastalık gruplarının transkriptomları karşılaştırılmış ve yolak zenginleştirme analizleri yapıp, protein-protein etkileşimleri incelenmiştir. Çalışmamız sonucunda hipotezimizle uyumlu olarak agresif ve kronik periodontitis örneklerinde farklı hücresel süreçlerin aktive olduğu görülmüş olup doku cevabı bakımından bu iki grubun birbirinden farklılıkları ortaya konmuştur.

Literatür verileri incelendiğinde bu alanda yapılan çalışmaların neredeyse hepsi mikrodizi araştırmalarıdır. Periodontitiste gen ekspresyon profilini araştıran mikrodizi çalışmalarından biri, kronik ve agresif periodontitisli hastalarda farklı patolojik bölgelerdeki gen ekspresyonunda anlamlı bir fark olmadığını bildirirken (Papapanou ve ark., 2004), Kim ve ark. (2006) ve Demmer ve ark. (2008), sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında periodontitiste yukarı yönde regüle olan birkaç gen (laktotransferrin, matrix metalloproteinase-1 [MMP-1], MMP-3, interferon induced-15 ve Homo sapiens hypothetical protein) göstermiştir. Ayrıca Beikler ve ark. (2008), periodontitis bölgelerinden elde edilen dişeti dokularında, immün ve inflamatuvar genlerin ekspresyonunun, cerrahi olmayan tedaviyi takiben aşağı regüle olduğunu göstermiştir. Karşılaştırmalı transkriptomik verilere dayalı periodontitis patogenezi değerlendirilen tek çalışma olan Suzuki ve ark. (2019)'nın çalışmasında ise sadece kronik periodontitisli örneklerinde çalışılmış ve sonucunda ise, kronik periodontitis örneklerinde sitokin reseptör etkileşimi ve hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile ilişkili genlerin ifadesinde değişiklikler bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız bu çalışma ise agresif ve kronik periodontitis patogeneziindeki farklılıkların transkriptomik düzeyde incelendiği literatürde yapılan ilk çalışmadır ve bu araştırmada 2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre birleştirilen bu iki hastalığın histopatolojik farkları ortaya konmuştur.

Çalışmamızda, GSE79705 kodlu çalışmaya ait agresif ve kronik periodontitis geçmişine sahip dokuların karşılaştırmasında iki doku arasında paylaşılan az sayıda DEG bulundu. Bu ortak DEG'ler için analiz sonuçlarında anlamlı bir yolak veya protein etkileşimi görülmedi. Bu bulgu agresif ve kronik periodontitis geçmişine sahip iyileşmiş dokuların hücresel aktivite açısından birbirinden farklı oldukları görüşünü desteklemektedir. Bu farkların neler olduğunu araştırmak amacıyla ortak olmayan genlerde yapılan analizlerin sonuçlarına baktığımızda ise, sadece AP grubuna özgü DEG'lerde yukarı regüle olan genler için, mitokondriyal enerji sentezinin basamaklarıyla ilişkili genlerin ifadesinde 4 ila 16 kat, hücresel savunma yanıtı ile ilişkili ifade de ise 16 kat artış gösterildi. Ayrıca yukarı regüle genler NK aracılı sitotoksite, antijen sunumu ve işlenmesi gibi yollar ile ilişkilendirilmiştir. Yukarı regüle olan genlerde yapılan alt küme analizi sonucunda sadece mitokondriyal enerji

üretim basamakları ve reaktif oksijen ürünleri ile ilişkili genlerin görülmesi bu bulguları güçlendirmektedir.

Agresif geçmişli olan sağlıklı dokuların, aktif hastalık döneminde alınan dokularla yapılan karşılaştırma sonucunda ise benzer şekilde kesişmeyen yukarı regüle genlerin mitokondriyal aktiviteyle ilişkili olduğu gösterildi. Ancak kesişen yukarı regüle genlerde ise antijen sunumu, mononükleer hücre farklılaşması, lökosit ve lenfosit aktivasyonları, myeloid hücre farklılaşması, apoptoz, Toll benzeri reseptörlerin sinyalizasyonu, NK aracılı sitotoksikite ve osteoklast farklılaşması gibi inflamatuvar yanıtın başlangıcı ve sonrasında doku hasarı süreçleriyle ilişkili genlerin ifadelerinde ciddi oranda artış izlendi. Aşağı regüle olan yollarda ise dikkat çeken bulgu epitel gelişiminin ve epitelyal hücre farklılaşmasına dair genlerin ifadesinde izlenen azalmadır (Çizelge 3.18). Bu süreçler ve yollar sonucunda, iyileşmiş de olsa agresif periodontitis geçmişli olan dokuların, tamamen sağlıklı dokulardan farklı olduğu görülmektedir. Bu bulgu, 2017 periodontal hastalık sınıflamasında Chapple ve ark. (2018)'nin belirttiği üzere; bir kere periodontitis geçirmiş hastaların ömür boyu periodontitis hastası olarak kaldığı ve tekrarı önlemek adına ömür boyu takip yapılması gerektiği görüşünü desteklemektedir.

İnflamasyon herhangi bir organizma için özel bir stres durumu olarak ele alınır; böyle bir durumda organizma hem inflamasyon belirtilerini ortadan kaldırmak hem de inflamasyonla tetiklenen artmış hücresel yükü karşılamak için mükemmel bir şekilde çalışmalıdır ve gerekli tüm biyokimyasal süreçleri yürütmek için enerjiye ihtiyaç duyar (Bullon ve ark., 2014). Mitokondri, hücresel biyoenerji, metabolizma düzenlenmesi ve ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi ile enerji kullanımı ve üretiminde merkezi bir role sahiptir (Starkov, 2008). Mitokondri, hücresel enerji sağlamaya ek olarak, kalsiyum homeostazı yoluyla sinyal gönderme, hücresel farklılaşma, apoptoz, hücre büyümesi gibi bir dizi başka işlemde de yer alır (Bullon ve ark., 2014). Çalışmamızda agresif periodontitis geçirmiş ve iyileşmiş olan sağlıklı dokularda inflamatuvar yanıtın artmış olduğu görülmüştür (Çizelge 3.16). Bu inflamatuvar yanıtın artması sağlıklı dokularda enerji ihtiyacını arttırarak, hücrelerin

mitokondriyal enerji üretim yollarını aktive ederek ihtiyacı karşılamaya çalıştığı şeklinde yorumlanabilir.

İnflamatuvar yanıt sırasında, polimorfonükleer lökositler ve makrofajlar gibi doğuştan gelen bağışıklık hücreleri, metabolizmayı kapsamlı bir şekilde artırma ve mevcut kaynakların kapasitesinin ötesinde oksijen için metabolik talebi artırma potansiyeline sahiptir (Lewis ve ark., 1999). Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı örneklerle ait DEG’lerde görülen mitokondriyal aktivite ve ROS (reaktif oksijen ürünleri) üretimi ile ilişki genlerin (NDUFA1, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA7, NDUFB1, NDUFB11, NDUFB3, NDUFB4, NDUFB5, NDUFB6, COX7A2, COA6, ATP5J2, ROMO1) bulunması (Şekil 3.4 ve Şekil 3.18) ve artmış hücresel savunma yanıtı; dokularda hala bağışıklık hücrelerinin savunma aktivitelerinin yüksek olduğuna ve hücrenin savunma durumuna hazır olup enerji düzeyinin yüksek seviyelerde tutulmaya çalışıldığına dair önemli bir kanıt oluşturur.

Literatür verileri değerlendirildiğinde, özellikle kronik periodontitis patogenezinde mitokondriyal aktiviteyi inceleyen çalışmalara rastlanmıştır (Bullon ve ark., 2014; Govindaraj ve ark., 2011 ve Liu ve ark., 2022). Bütün bu çalışmaların ortak yönü aktif inflamasyonla beraber artan enerji ihtiyacını karşılamak üzere mitokondriyal DNA ekspresyonunun arttığı, önemli bir periodontopatojen olan *Pg*’nin mitokondriyal fonksiyonu manipüle ettiği ve sistemik hastalıklarla periodontitis arasındaki çift yönlü bağlantıyı sağladığı yönündedir (Xu ve ark., 2021). Ancak agresif periodontitiste mitokondriyal aktiviteyi değerlendiren herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Agresif periodontitis patogenezinde periodonto-patojenlerin bilinen aktif rollerine rağmen periodonto-patojenler ve mitokondriyal aktivite arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmanın yapılmamış olması büyük bir eksikliktir. Diğer bir immün-inflamatuvar hastalık olan romatoid artirit patogenezinde mitokondrideki normal aktivitenin bozulması sonucunda mitokondriyal DNA gibi çeşitli antijenik yapıların Toll benzeri reseptörler tarafından tanındığı ve immün yanıtı uyardığı ortaya konmuştur (Clayton ve ark., 2021 ve Zhang ve ark., 2021). Her ne kadar agresif periodontitiste mitokondriyal aktiviteyi gösteren bir çalışma olmasa da benzer immün

mekanizmaların aktive olduđu bilinen romatoid artrit patogenezinde bu aktivitenin gösterilmiř olması aynı mekanizmanın agresif periodontitis patogenezinde de aktif olabileceđi hipotezini destekler nitelikte olduđu dűřűnűlebilir.

Mitokondriyal aktivite ve oksidatif fosforilasyon basamakları sırasında ROS űrűnlerinin arttıđı bilinmektedir. Bařlıca ROS űreticileri mitokondri, sitokrom p-450 reaksiyonları, peroksizomal yađ asidi metabolizması ve NADPH oksidaz aktivitesidir (Downey ve ark., 1995 ve Hyslop ve ark., 1988). Agresif periodontitis geđmiři olan dokularda gűrűlen mitokondriyal aktivite sonucu enerji űretim basamaklarında, űretim reaksiyonlarının dođal bir yan űrűn olan ROS űretimi oluřtuđu bildirilmiřtir (Downey ve ark., 1995 ve Hyslop ve ark., 1988). Bizim alıřmamızda ROS űretimi ile iliřkili ROMO1 geninin bu dokularda gűsterilmiř olması bu varsayımı desteklemektedir (řekil 3.4 ve řekil 3.18).

Çalıřmamızda artmıř mitokondriyal yanıt sonucu dokularda biriken ařırı ROS, oksidatif stres durumuna neden olarak, periodontal yıkım dűneminde inflamatuvar sűrecin bir basamađı olan osteoklast farklılařması ve apoptoz yolaklarının sađlık durumundaki dokularda ifadelerinde gűrűlen artıřın nedeni olabilir. Bu yolakların sađlık durumunda hala ifadelerinde gűrűlen artıř bir sonraki bakteriyel invazyonda dokuların abartılı yanıt vermesine neden olarak agresif periodontitiste gűrűlen ařırı yıkım paternini açıklayabilmektedir. Dođrudan bir sitotoksik etkiye sahip olmanın yanı sıra, ařırı ROS űretimi, osteoklastogenezdeki rolű aracılıđıyla dolaylı olarak sert doku dejenerasyonunu teřvik edebilir. Oksidatif stresin DNA ve protein hasarı, lipid peroksidasyonu ve enzimatik oksidasyon yoluyla dokularda yıkıma neden olduđu gűsterilmiřtir (Chapple ve Matthews, 2007). Literatűrde ROS'un periodontal doku yıkımında űnemli bir rolű olduđuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Chapple ve Matthews, 2007, D'aiuto ve ark., 2010; Galli ve ark., 2011 ve Saita ve ark., 2016). Ayrıca alveoler kemiđin yıkımında merkezi bir sinyal zinciri olan osteoklastogenezise aracılık eden hűcre içi sinyal molekűlleri arasında ROS da bulunduđu birçok arařtırmacı tarafından bildirilmiřtir (Bax ve ark., 1992 ve Ha ve ark., 2004).

Dişeti oluğu sıvısındaki ROS artışının periodontal inflamasyonun kronik lokal aktivasyonundan ve doku yıkımından sorumlu olduğunu gösterilmiştir (Chapple ve Matthews, 2007; Konopka ve ark., 2007 ve Tsai ve ark., 2005). Şiddetli periodontitis sırasında ve tedavi sonrasındaki oksidatif stres durumunu belirlemek için yapılan bir vaka kontrol çalışmasında serumda ROS, antioksidan potansiyeli, C-reaktif protein (CRP), IL-6 ve lipid profillerinin arttığını bulunmuştur (D'Aiuto ve ark., 2010). Bu çalışma serum örneklerinde yürütülmüşür ve sonucunda gösterilen bu inflamatuvar sürecin belirteçleri ise çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı örneklerde doku bazında gösterilmiştir.

Periodontal tedavi sonrası ROS ve antioksidan seviyelerini değerlendiren çalışmalarda, periodontal tedavinin pozitif etkileri bildirilmiştir (Bañasová ve ark. 2015; Chapple ve Matthews, 2007 ve Novakovic ve ark., 2013). Acquier ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada agresif periodontitis ile ROS arasındaki ilişkinin kronik periodontitisle ROS arasındaki ilişkiden daha güçlü olduğunu ve klinik periodontal durumla ilişkili önemli bir parametre olduğunu ortaya koymuşlardır. Her ne kadar bilginiz dahilinde agresif periodontitis vakalarında cerrahi olan veya olmayan periodontal tedavinin doku ROS seviyeleri üzerine etkisini değerlendiren in vivo çalışmaya rastlanmasa da hücre kültürü çalışmaları agresif periodontitis örneklerinden elde edilen makrofaj hücrelerinde periodontal tedaviden sonra ROS seviyelerinde tamamen sağlıklı örneklerle kıyasla hala yüksek olduğunu ve bu durumun Aa ilişkili otofaji ile ilgili olduğu vurgulanmıştır (Artese ve ark., 2011 ve Lee ve ark., 2020).

Tüm bu verilerin ışığında, bizim çalışmamızdaki veriler arasında agresif periodontitis geçmişi olan dokularda görülen artmış mitokondriyal aktivite ve inflamatuvar yanıt nedenli değişmiş doku ifadesi hiper-reaktif makrofaj türlerinin varlığı ve Aa gibi periodonto-patojenlerin erken kolonizasyonu ile açıklanabilir.

Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokuların ve aktif periodontal hastalıklı dokuların, kesişen genlerinin alt kümesinde görülen IL-6, TLR2, CD40, LY96, TNFSF11 gibi genler (Şekil 3.14), inflamatuvar yanıtta değişik görevlerde yer alırlar. Bu genlerin ürünleri birbirleriyle etkileşime girerek birçok inflamatuvar

mekanizmayı tetiklemektedir. Bu gruptan LY96 geni, TLR sinyalizasyon yolağında, inflamatuvar yanıtta ve doğal immün yanıtta önemli rol oynamaktadır (Dziarski ve ark., 2001). Literatürde LY96 geninin periodontal infeksiyon ile ilişkisine dair yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Romatizmal hastalıklar arasında ortak faktörlerin olup olmadığının test edildiği bir çalışmada, romatizmal hastalıklar için genel önem arz eden sekiz gen (TNFSF10, CX3CR1, LY96, TLR5, TXN, TIA1, PRKCH, PRF1) belirlenmiş olup PPE ve GO (Ashburner ve ark., 2000) analizleri ile bu sekiz genin, bağışıklık tepkisi ve bağışıklık düzenlenmesi ile ilgili işlevleri yerine getirmek için birbirleriyle etkileşime girdiği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2015). Periodontal hastalıklar ile romatizmal hastalıklar arasında paylaşılan benzer immün-inflamatuvar süreçlerin olması nedeniyle bu çalışmanın sonuçları LY96 geninin periodontitis patogeneziindeki olası rolüne dair bilgiler sağlayabilir.

Çalışmamızda GSE79705_AP grubunun aktif hastalık dönemiyle karşılaştırması sonucu alt kümenin analizinde NF-kB (nükleer faktör kappa B) yolağı, TLR sinyalizasyonu ve sitokin-sitokin etkileşimi ve ayrıca immün-inflamatuvar yanıt, LPS verilen yanıtta dair genlerde artmış ifade gösterilmiştir. Bu bulguların aktif hastalık dönemine dair doku örneklerinde görülmesi bakteri tehditi ile başlatılan inflamatuvar mekanizmalarla uyumludur. Ancak bu yolakların sağlıklı örnekler içinde kronik periodontitis örneklerinde değilde sadece agresif periodontitis geçmişi olan dokularda gösterilmesi bakteriyel tehditin olmadığı bir durumda dahi dokuda görülen abartılı yanıtın mekanizmasına ışık tutar. TLR'ler, patojenler üzerinde bulunan korunmuş patojenle ilişkili moleküler kalıpları tanır ve NF-kB yolağıyla inflamatuvar sitokinlerin sentezini ve yeniden salınmasını aktive eder. TLR2 ve TLR4 ekspresyonu periodontitisli hastaların diş eti dokularında gösterilmiş ve bu ekspresyon spesifik olarak hastalığın ciddiyeti ile ilişkilendirilmiştir (Mori ve ark.,2003 ve Ren ve ark., 2005). Bireysel konak yanıtlarına ve bakterilere karşı toleransa bağlı olarak, TLR aktivasyonu, pro-inflamatuvar mediatörlerin yüksek seviyelerde görülmesine neden olabilir, bu da periodontal yıkımı şiddetlendirebilir/hızlandırabilir (Shaddox ve ark., 2010). Çalışmamız sonucunda yukarıdaki literatür verileriyle uyumlu olarak aktif hastalık döneminde TLR2 ve 4 gen ifadesinin artması beklenmedik bir sonuç değildir. Ancak hastalık geçmişi olan iyileşmiş dokularda hala bu gen ifadelerinin artmış olarak

görülmesi mitokondriyal aktiviteyle birlikte gözlenen mitokondriyal DNA artıkları veya ROS gibi hasar ilişkili tehlike moleküllerinin ortamda hala yüksek seviyede bulunması ya da daha patojen bir mikrofloranın erken kolonizasyonu ile ilişkili olabilir. KP'e göre, AP'de görülen daha patojen floranın ROS ile ilişkisinin inceleneceği daha ileri çalışmalar olası yolları aydınlatmaya yardımcı olmakla birlikte bugünkü mevcut bilgilerimiz bu aktivasyonların özellikle agresif periodontitis patogenezinde eşik inflamatuvar yanıtın, sürecin önemli bir modülatörü olup olmadığını açıklayabilecektir.

TLR reseptörleri makrofajlardan TNF- α salımını indükleyerek NF-kB yolağını aktive ederler (Kim ve ark., 2015 ve Papadopoulos ve ark., 2013). TNF- α inflamatuvar genlerin ekspresyonunu sürdürerek ve interferon-yanıt genlerinin gecikmiş ekspresyonunu indükler ve aynı zamanda sitokinlerin ve TLR'lerin müteakip stimülasyonuna karşı makrofaj tepkilerini artıran bir otokrin döngü oluşturur. Bu TNF'ye bağlı ileri besleme döngüsünün, inflamasyonu sürdürmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Yarilina ve ark., 2008). Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda TLR'lere dair gösterilen artmış gen ifadesi, sağlık ortamında düzensiz sitokin salımı ile makrofajların sürekli uyarılarak, bu dokularda hiper-reaktif bir yanıt gelişmesine neden olabilir. Bu bulgular agresif periodontitisi hiper-reaktif mekanizmalarla ilişkilendiren çalışmalar (Bastos ve ark., 2009; Duarte ve ark., 2010 ve Shaddox ve ark., 2010) ve m1 makrofajların aşırı aktivasyonu sonucu kalıcı inflamasyon ve doku hasarına neden olduğunu gösteren çalışmalarca (Maasfeh ve ark., 2021; Nathan ve ark., 1987; Stein ve ark., 1992 ve Yu ve ark., 2016) desteklenmiştir.

Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı örnekler de; olgun osteoklastların işlevini ve hayatta kalmasını etkileyen, osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonunun fizyolojik bir hümmoral düzenleyicisi olan osteoprotegerin (OPG) için bir ligand olan ve osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu için anahtar bir faktör olarak işlev gören TNF sitokin ailesinin üyesi nükleer faktör k ligandının (RANK-L) reseptör aktivatörünü kodlayan TNFSF11 geninin ifadesi artmıştır (Şekil 3.14). T-hücreleri osteoklast progenitörlerinin, preosteoklastların ve osteoklastların hücre zarı üzerinde doğrudan RANK'a bağlanarak hem hücre farklılaşmasını hem de osteoklast soyundan

hücrelerin aktivasyonunu uyaran RANK-L'yi aktive eder (Nanci ve Bosshardt, 2006). Bu genler ve ürünlerinin agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda artmış olması kemik metabolizmasının osteoklastik aktiviteye doğru kaydığını öne sürer. Bu bağlamda, T-lenfositleri olmayan farelerde *Pg* aracılı oral enfeksiyondan sonra alveolar kemik kaybının azaldığı gösterilmiştir (Baker ve ark., 2002). Bununla birlikte, periodontitisli hastalarda hiper-reaktif periferik kan polimorfonükleer nötrofillerinden sitokinlerin (IL-8, IL-6, TNF- α ve interlökin-1beta) artan seviyelerde salındığını göstermişlerdir ve bu hiper-aktivitenin değişmediğini bildirmişlerdir (Ling ve ark., 2015). Çalışmamızda tedavi sonrası sağlıklı dönemde hem sitokin gruplarının hem de tetikleyici yolların agresif periodontitisli örnekler için gösterilmiş olması bu değişmeyen hiper-reaktif yanıtın bir göstergesidir.

Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan örneklerde aktif hastalık dönemiyle ortak genler arasında IL-6'nın artmış ifadesi gösterilmiştir. IL-6 periodontitiste doku yıkımı ve hastalığın şiddeti ile ilişki pro-inflamatuar bir sitokindir. IL-6'nın periodontitisli hastaların tükürüklerinde, serumlarında, dişeti oluğu sıvılarında ve dokularında yüksek seviyelerde bulunduğu ve bu seviyenin hastalığın şiddetiyle orantılı olduğu bilinmektedir (Gemmell ve Seymour, 1993; Lin ve ark., 2005 ve Shyu ve ark., 2015). IL-6'nın inflammatuar süreçlerdeki rolü literatürde oldukça geniş bir şekilde çalışılmıştır (Bettelli ve ark., 2006; Gemmell ve Seymour, 1993; Ishimi ve ark., 1990; Kishimoto, 2005; Kurihara ve ark., 1990; Lin ve ark., 2005; Okada ve Murakami, 1998; Shimizu ve ark., 2011 ve Van Snick, 1990).

Çalışmamızda kronik periodontitis geçmişi olan dokulardan farklı olarak IL-6 gen ifadesi sadece agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda gösterilmiştir. Agresif ve kronik periodontitis hastalarında *E.coli* lipopolisakkariti (LPS) ile stimülasyondan önce ve sonra cerrahi periodontal tedavinin periferik kan monositlerinin IL-6 üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışma; AP ve KP hastalarından alınan monositlerin periodontal tedavi sonucunda farklı davranışlar sergilediğini göstermiştir (Radvar ve ark., 2008). AP hastalarının tedavi sonrası uyarılmamış IL-6 seviyeleri, KP hastalarınınkinden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuş olup, tedaviden sonra, AP ve KP hastalarının LPS ile uyarılmış monosit

kültürlerinin, sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek bir yanıt gösterdiği bildirilerdir. Bu bulgu hem KP hem de AP hastalarında aktif hastalık döneminde LPS gibi bakteri plağına ait uyarıcılar ile temas halinde hiper-aktif davranış gösteren monosit kavramı ile tutarlıdır. Öte yandan, tedaviden sonra AP hastalarının uyarılmamış monositlerinin, tüm gruplara göre önemli ölçüde daha fazla IL-6 ürettiğini belirtmişlerdir (Radvar ve ark., 2008). Çalışmamızda agresif hastalarında uyarana bağlı olmadan görülen artmış ifade bu gruptaki dokuların hiper-reaktif olduğunu, kronik periodontitis grubun da ise uyarana bağlı ifadede artış görüldüğü düşüncesini desteklemektedir. Bu bulgularımız agresif periodontitisli dokuların hiper-reaktif yanıtı sahip olduğu görüşünü savunan çalışmalarla tutarlıdır (Guentsch ve ark., 2009; Li ve ark., 2021; Liu ve ark., 2001 ve Nibali ve ark., 2010).

Periodontal tedavinin IL-6 seviyelerine nasıl etki ettiğine dair literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Branco-de-Almeida ve ark., 2021; Chen ve ark., 2020; De Lima Oliveira ve ark. 2012; Marcaccini ve ark., 2009 ve Radvar ve ark., 2008). Periodontitisli hastalarla kontrol bireylerinde kronik inflamasyon belirteçlerinin karşılaştırıldığı ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden 3 ay sonra inflamatuvar hastalık belirteçlerinin etkilenip etkilemediğinin gözlemlendiği Marcaccini ve ark. (2009) yaptığı çalışmada, test edilen inflamatuvar belirteçler arasında, IL-6 konsantrasyonlarının, kontrollere kıyasla başlangıçta periodontal hastalık grubunda daha yüksek olup, tedaviden 3 ay sonra kan dolaşımındaki IL-6 ve hs-CRP konsantrasyonlarında bir düşüş gözlemlendiği ancak sağlıklı kontrollerle aynı seviyeye ulaşmadığı belirtilmiştir. Bunun yanında De Lima Oliveira ve ark. (2012), GAP hastalarında tedavi sonrası dişeti oluğu sıvısında IL-6 düzeyinin arttığını ancak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Yazarlar bu durumu, IL-6'nın aynı anda hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar sitokin olarak etki göstermesiyle ilişkilendirmişlerdir.

Çalışmamız sonucunda; agresif periodontitis geçmişi olanlarla aktif periodontitis grubunun karşılaştırmasında kesişen DEG'ler arasında IL-6 gen ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Hastalığın immün doğası göz önünde bulundurulduğunda aktif hastalık döneminde artmış IL-6 gen ifadesi literatür

bulgularıyla uyumludur. Periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokulardaki artmış ifade Marcaccini ve ark. (2009)'nın bulgularıyla benzerdir. Ancak ilgili çalışmadaki periodontitis tiplerine dair net bir ayrımın belirtilmemiş olması bu durumun agresif periodontitise özgü olup olmadığını açıklama noktasında yetersizdir. Bu nedenle agresif periodontitis hastalarında tedavi öncesi ve tedavi sonrası doku bazında IL-6 seviyelerinin değerlendirildiği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda periodontal tedavi sonrası, dokularda IL-6, TLR2, TNF, CD40 gibi yüksek derecede pro-inflamatuar etkileri olan genlerin bulunması, bu dokularda hala bağışıklık cevabının tetiklendiğinin göstergesidir. Bu sitokinlerin periodontal hastalık sırasında salınması bakteri lipopolisakkaritlerine karşı doğal bağışıklık tepkisini uyararak anti-inflamatuar etki oluşturur. Ancak biyofilm etkisinin olmadığı, sağlık durumunda olan dokularda hala ifadelerinde görülen artış agresif hastalarındaki değişmiş konak yanıtına işaret eder. Bu yanıtın hastalık sonrası mı değiştiği, yoksa gen polimorfizmleri nedeniyle değişmiş gen ifadesinden mi kaynaklandığı net değildir.

Proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinlerin periodontal hastalığındaki rolleri göz önüne alındığında, bu sitokinlerin transkripsiyonunu veya işlevini etkileyen genetik varyasyonların AP gelişimine katkıda bulunup bulunmadığı önemli bir sorudur. IL-6 (-174) gen polimorfizmi ile AP arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır (Brett ve ark., 2005; Erciyas ve ark., 2010; Moreira ve ark., 2007; Nibali ve ark., 2008 ve Nibali ve ark., 2009). Erciyas ve ark. (2010)'nın, Türk popülasyonunda AP'de IL-6 (-174) tek nükleotid polimorfizmlerini değerlendirdiği çalışmada herhangi bir ilişki bulunmadığı bildirilirken, Nibali ve ark. (2009) ve Brett ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmalar, IL-6 (-174) GG genotipi ile AP arasında bir ilişki bulunduğunu göstermiştir. Bir meta-analiz, IL-6 (-174) G alelinin KP riskini değiştirmedikçe ancak AP riskini artırdığını göstermiştir (Shao ve ark., 2009). GG genotipini taşıyan juvenil romatoid artrit hastalarının, CC genotipine sahip hastalara göre iki kat daha yüksek IL-6 serum düzeylerine sahip olduğu bildirilmiştir (Fishman ve ark., 1998). Ayrıca, IL-6 (-174) polimorfizmi, Aa ve Pg'in eşzamanlı saptanma olasılığının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Nibali ve ark., 2008). Buna karşılık, D'Aiuto ve ark. (2004), şiddetli periodontal hastalığı olan hastalarda, daha yüksek

serum IL-6 düzeylerinin, IL-6 (-174) polimorfizmi için allel C'nin taşınmasıyla ilişkili olduğunu gözlemlemiştir. Terry ve ark. (2000), IL-6 promoter bölgesindeki genetik polimorfizmin, haplotip tarafından belirlenen oldukça karmaşık etkileşimler yoluyla IL-6 gen transkripsiyonunu etkilediğini bildirmiştir. Sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki polimorfizmler, sitokin ekspresyon seviyelerini değiştirebilir. Bu nedenle, sitokin genlerinin polimorfizmleri, hastalığa yatkınlığın ve klinik sonuçların genetik belirteçleri olarak potansiyel açıdan önemlidir. Çalışmamızda inflamatuvar yollarda görülen ifade artışlarının gen polimorfizmi kaynaklı mı gerçekleştiği yoksa lokal mekanizmalarla mı tetiklendiği bilinmemektedir. Aynı bireylerde lokal mekanizmalarla birlikte dokularda polimorfizimlerin birlikte inceleneceği ileri çalışmalarla bu ayrımın yapılması periodontitis patogenezinin dair bilinmeyen noktaların aydınlatılıp tedavi hedeflerinin değişmesine yardımcı olabilir.

Çalışmamızın en önemli bulgularından biri kronik periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aşağı regüle olan genler arasında MHC sınıf Ib aracılı antijen sunumuna dair veri tabanındaki bu yolakla ilgili referans genlerin tamamının bu örneklerde görülmüş olmasıdır (Çizelge 3.11). Buna karşılık agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aşağı regüle olan genlerin alt kümesinde ise MHC sınıf II aracılı antijen sunumu azalmıştır (Çizelge 3.19). Bildiğimiz kadarıyla literatürde MHC'nin farklı sınıflarının agresif ve kronik periodontitis patogenezinde hastalıkla direkt ilişkisine dair bir yayın yoktur. MHC komplekslerinin periodontisteki rolleri T hücre farklılaşması üzerinden ilerlemektedir (Roche ve Furuta, 2015). MHC sınıf II ile ilişkili antijen sunumu, CD4+ T hücrelerine (T yardımcı) bağımlı bağışıklık tepkileri için esastır. Farklı antijen sunan hücreler (ASH), etkili ve spesifik bir bağışıklık tepkisi oluşturmak için gerekli olan çok çeşitli süreçlerde yer alır.

Dendritik hücreler (DH), bakteri veya virüslerden türetilen yabancı antijenleri yakalar ve CD4+ ve CD8+ T hücrelerini (T sitotoksik) aktive ederek bu antijenlere karşı adaptif bağışıklık tepkileri başlatırlar (Banchereau ve ark., 2000). ASH türünden bağımsız olarak tüm ASH'ler, yüzeylerinde antijene özgü T hücresi reseptörlerini ifade eden farklı T hücresi alt kümeleriyle spesifik olarak etkileşime girer. Bu etkileşimin özgüllüğü, ASH'lerin yüzeylerinde MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri tarafından

immobilize edilmiş antijenik peptitleri gösterme yeteneğine bağlıdır. MHC sınıf II'nin CD4+ T hücreleri tarafından tanınması, bunların aktivasyonunu ve T yardımcı hücre alt kümelerine farklılaşmasını uyarır ve ayrıca antijene özgü B hücreleri ile T yardımcı hücreleri arasındaki etkileşimlere aracılık eder. CD8+ T hücreleri tarafından MHC sınıf I komplekslerinin tanınması, CD8+ T hücrelerinin sitotoksik T hücrelerine farklılaşmasını uyarır (Roche ve Furuta, 2015).

Lappin ve ark. (1999), kronik ve agresif periodontitisli hastalarda periodontal lezyonlardan alınan biyopsilerdeki lenfosit alt popülasyonlarının dağılımını sondalama derinliğine göre incelemiştir ve agresif periodontitisli hastalarda kronik periodontitisli hastalara göre belirgin şekilde daha yüksek T ve B hücre sayıları göstermişlerdir. Sigusch ve ark. (2006), lokalize agresif periodontitisli, generalize agresif periodontitisli ve kronik periodontitisli hastaların gingival sulkuslarındaki T hücrelerinin (CD3+), T yardımcı hücrelerinin (CD4+), T baskılayıcı hücrelerin (CD8+) ve B hücrelerinin (CD20+) oranlarını analiz ettikleri çalışmalarında, generalize agresif periodontitisli hastalar, kronik periodontitisli hastalara kıyasla belirgin şekilde daha düşük bir CD4+/CD8+ lenfosit oranı sergilemiştir. Yazarlar dört grubun tamamındaki toplam T-hücresi (CD4+) sayısı neredeyse aynı medyan değerleri gösterdiği için CD4+/CD8+ oranındaki değişiklik daha yüksek sayıda T-baskılayıcı/sitotoksik hücre (CD8+) varlığıyla açıklamışlardır. Literatürdeki bu bulgular değerlendirildiğinde çalışmamızda kronik ve agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda birbirlerinden farklı olarak MHC sınıf Ib ve II aracılı mekanizmalarla antijen sunumunun azalması dokularda farklı T hücre diferansiyasyonunu tetikler. Antijen sunumunda iki hastalık arasında görülen bu farklı şekilde ilerleyen azalma doku cevabı açısından iki hastalık arasındaki farklara ışık tutabilir.

Çalışmamızda MHC sınıf II aracılı antijen sunumuna dair gen ifadesinin azalması agresif periodontitisli hastalarda (CD4+) T yardımcı hücre diferansiyasyon seviyesinin düşürülerek, T lenfosit farklılaşmasının T sitotoksik yönüne kaydığına işaret eder. Tam tersi şekilde kronik periodontitis geçmişi olan hastalarda ise T lenfosit farklılaşmasının T yardımcı yönünde değiştiği varsayılabilir. İncelenen dokular

sağlıklı bölgelerden elde edildiği için antijen sunumuna dair gen ifadesinin azalmış olması kronik periodontitis örnekleri için beklenmedik bir sonuç değildir. Ancak agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokuların aktif hastalık dönemi dokularla karşılaştırmasında antijen sunumuna dair artmış ifade de görülmüştür. Antijen sunumuna dair artan ifadede herhangi bir MHC sınıfına özgü bir bulgu yokken, gen ifadesinde görülen azalma MHC sınıf II aracılığıyla gelişmiştir. Agresif periodontitisli sağlıklı dokularda bakteriyel bir atak olmadığı için antijen sunumuna dair azalan ifade mantıklıdır ancak bir yandan da bu mekanizmaya dair artmış ifadenin olması antijen sunumunun dolaylı olarak T hücre aracılı konak cevabında değişikliklere neden olduğunu gösterir. Yaptığımız GO-BP analiz sonucunda bu dokularda lenfosit aktivasyonuna dair genlerde görülen 4 kat artış bu bulguyu desteklemektedir. Agresif periodontitiste, kronik periodontitis örneklerinden farklı olarak gelişen bu mekanizma agresif periodontitiste etkinliği bilinen periodonto-patejenlerin erken kolonizasyonu sonucu dokuda tetiklenmiş ve devam ettirilen inflamatuvar yanıtın etkisi ile açıklanabilir.

Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokular ve aktif hastalık dönemindeki dokularla ortak olarak EBV enfeksiyonu ve virüse verilen yanıt ile ilişkili genlerin ifadelerinin artmış olduğu gösterilmiştir (Çizelge 3.15 ve Çizelge 3.17). Aynı karşılaştırmanın alt küme analizinde ise bu bulguların yanında herpes simpleks virüs I enfeksiyonuna dair artmış ifade görülmüştür. Son yıllarda, herpes virüsleri, yıkıcı periodontal hastalık ile ilişkilendirilmiştir ve bu bağlamda, bu ve diğer zarflı virüslerin, hücrel bir bağışıklık tepkisini ve CD8+ T hücrelerinde bir artışı indüklediği iyi bilinmektedir (Eke, 2011; Rotola ve ark., 2008 ve Saygun ve ark., 2002). Ek olarak, Epstein-Barr virüsü, B hücrelerinin çoğalmasını teşvik eder ve virüslerin periodontal alandaki varlığına verilen bu tepkinin, gözlemlenen immünohistolojik değişiklikleri ve ilerleyici lezyonda B hücrelerinin baskınlığını açıklayabileceği öne sürülmüştür (Slots, 2005). Bazı çalışmalar Epstein-Barr virüsü DNA'sının periodontal ceplerde tükürük, dişeti oluğu sıvısı, subgingival plak ve diş eti dokusunda bulunduğunu göstermiştir (Eke, 2011; Rotola ve ark., 2008 ve Saygun ve ark., 2002). Çalışmamızda bu virüslerle ilişkili ifadenin aktif hastalık döneminde arttığının gösterilmesi şaşırtıcı değildir.

Daha ileri çalışmalar, virüs varlığı ve periodontal cep derinliği arasında pozitif korelasyonlar olduğuna dair bulgular sunmuştur (Kato ve ark., 2013 ve Kato ve ark., 2015). Alzharani ve ark. (2017), tarafından herpes virüsleri ve agresif periodontitis üzerinde yapılan altı çalışmanın sistematik bir incelemesi, AP hastalarında artmış Epstein-Barr virüsü saptandığını bildirilmiştir. Li ve ark. (2017)'nın meta analizinde Epstein-Barr virüsü ve agresif periodontitis arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir, bu Zhu ve ark. (2015), tarafından Epstein-Barr virüsü ve kronik periodontitis meta-analizinde de belirtilmiştir. Olivieri ve ark. (2020)'na göre, derin periodontal ceplerde periodontitis için standart prosedürler olarak başlangıç tedavisi veya cerrahi olmayan prosedürler, Epstein-Barr virüsü'nü periodontal bölgelerden uzaklaştırmak için yeterince etkili değildir. Aksine, Kato ve ark. (2020) başlangıç periodontal tedavisinin, periodontitis hastalarının subgingival plaklarında Epstein-Barr virüsü ve P.gingivalis'in bir arada bulunmasını azaltmada etkili olduğunu, ancak bunu tamamen ortadan kaldıramadığını ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı örneklerde, Epstein-Barr virüsü ve Herpes simpleks virüs enfeksiyonlarına dair görülen artmış ifade tedavi sonrası dokulardan tamamen kaybolmadıkları ve T sitotoksik lenfosit aracılı konak yanıtını tetiklemeye devam ettikleri şeklinde açıklanabilir.

Bu çalışmanın temel bulgularından bir diğeri, agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda NK hücre aracılı sitotoksikite yolağının gen ekspresyonu artarken, KP geçmişi olan sağlıklı dokularda bu ifade azalmış olmasıdır (Çizelge 3.3, Çizelge 3.13 ve Çizelge 3.15). Bu hücreler, birçok fizyolojik ve patolojik koşul altında başlıca sitokin üreticileri olarak kabul edilmiştir ve diğer inflamatuvar hücreleri ve ayrıca antijene özgü T ve B hücresi yanıtlarını regüle edebilirler (Vivier ve ark., 2011). Bazı araştırmalar, bir enfeksiyon tarafından veya başka nedenlerle aktive edildikten sonra, NK hücrelerinin daha yüksek hücre degranülasyonu ve sitokin üretimi gibi daha büyük bir yanıt gösterebileceğini bildirmişlerdir (Brodin ve ark., 2009; Joncker ve ark., 2009 ve Vivier ve ark., 2011). NK hücrelerinin bu etkileri, bu hücrelerin sadece patojenlere karşı bir savunma olarak değil, aynı zamanda bir adaptif bağışıklık tepkisinin başlatılması ve otoimmün mekanizmaların düzenlenmesi için de gerekli olduklarına işaret eder.

NK hücreleri, MHC sınıf I moleküllerinin varlığı veya yokluğu ile kendi antijenlerini ve yabancı antijenleri ayırt edebilir. Sağlıklı hücrelerin yüzeylerinde MHC sınıf I molekülleri bulunur, ancak bu tür ifade, virüs ile enfekte ve kontrolsüz çoğalan hücrelerde büyük ölçüde azalır (Vivier ve ark., 2011). Bu veriye göre çalışmamızda gösterdiğimiz kronik periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda MHC Ib aracılı antijen sunumunun ve NK aracılı sitotoksikite yanıtının azalmış olması şaşırtıcı değildir. Birçok araştırmacı, NK hücrelerinin neden olduğu sitotoksik reaksiyonların doku yıkımına neden olduğunu göstermiştir (Fujita ve ark. 1992; Komiyama ve ark., 1988; Kopp ve ark. 1988 ve Stelin ve ark., 2009). Kikuchi ve ark. (2004), *Aa*'nın dendritik hücreler üzerindeki TLR-4 ile etkileştiğini ve NK hücreleri tarafından interferon gama (IFN- γ) üretimine yol açan yolları başlattığını göstererek, NK hücrelerinin periodontisteki rolünü belirtmiştir. IFN- γ , makrofajları inflamatuvar sitokinler üretmesi için uyarır ve sitotoksik T hücrelerinin ve NK hücrelerinin aktivasyonunda ve büyümesinde önemli bir rol oynar. Ek olarak, T-yardımcı 2 sitokinleri tarafından indüklenen aktivitelerin çoğunu inhibe eder (Gemmell ve Seymour, 1994). Yukarıda bahsedilen bu bulgu çalışmamızda gösterdiğimiz agresif geçmişi olan sağlıklı dokularda görülen MHC sınıf II aracılı antijen sunumuna dair ifadenin azalması sonucu T yardımcı hücrelerin aktivasyonunda baskılanma olduğu görüşümüzü destekler niteliktedir. Ayrıca bu dokulardaki NK aracılı artmış sitotoksikite, aktive olduğunda inflamatuvar süreci tetikleyen IFN-gamma üretiminin artması ile bu baskılanmayı daha da arttırarak doku kaynaklı yıkım mekanizmalarını aktive edebilir.

NK hücrelerinin infiltrasyonu, inflamme dişeti dokularında gösterilmiştir (Fujita ve ark., 1992; Muthukuru, 2012 ve Stelin ve ark., 2009) ve sınırlı veriler, NK hücrelerinin kronik periodontitis lezyonlarında aktive olduğunu göstermektedir (Muthukuru, 2012). NK hücreleri tarafından IFN üretiminin, *Pg* (Kikuchi ve ark., 2005) veya *Aa* (Kikuchi ve ark., 2004) ile uyarılan dendritik hücreler yoluyla tetiklendiği gösterilmiştir. Periodontal patojen *Fusobacterium nucleatum*'un doğrudan NK tarafından tanındığını ve NK hücre aktivasyonunun in vivo periodontal kemik kaybı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Chaushu ve ark., 2012). Agresif periodontitisle ilişkili bu periodonto-patojenlerin NK aktivasyonundaki etkileri göz önünde

bulundurulduğunda, agresif periodontitisli dokularda gösterilen birçok mekanizma ile tetiklenmiş NK aracılı sitotoksitenin artmasına dair bulgumuz (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.15) literatürle uyumludur.

Çalışmamızda kronik periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda NCR1 (Doğal sitotoksiteyi tetikleyen reseptör 1) gen ifadesinin azaldığı gösterilmiştir (Şekil 3.10). Chaushu ve ark. (2012), farelerde *Fusobacterium nucleatum* infeksiyonu ile deneysel bir periodontal hastalık yaratarak, *Fusobacterium nucleatum* ile infeksiyondan sonra NCR1 varlığında alveolar kemik kaybını bildirmişlerdir. Ek olarak, *Fusobacterium nucleatum* doğrudan NCR1'e bağlanarak proinflamatuvar bir aracı olarak TNF- α 'nın salgılanmasını tetiklemiştir. Çalışmamızda gösterilen kronik periodontitis geçmişi olan dokularda NCR1 ifadesinin azalmasıyla doku cevabının baskılanarak yıkım mekanizmalarının inhibe edilmeye çalışıldığı sonucuna varılabilir. İncelenen dokular sağlıklı dokular olduğu için bu bulgu makuldür. Otoimmünitenin yönünü düşünen Gonzalez ve ark. (2014), rhesus maymunlarının doku örneklerini alarak ve gen ekspresyonunun bir mikrodizi analizinde periodontitis dokularında antijen sunan hücrelerle NK hücre etkileşimleri ile ilgili gen ekspresyonunda önemli bir artış olduğunu kanıtlamıştır. Yukarıdaki bilgiler ışığında NK hücre aracılı patolojinin mekanizmasının, bir otoimmün reaksiyon ile periodontal patojenlerin hücre istilasının değiştirilmiş bir durumu olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan dokularda NK aracılı sitotoksitenin ifadesinde artış gösterilmiştir. Farklı periodonto-patojenlerin etkin olduğu farklı hastalık antitelerinde periodonto-patojenler dokularda farklı mekanizmalarla inflamatuvar yanıtı tetiklemektedir. Bu mekanizmalar iki farklı hastalık antitesinde görülen birbirine benzemeyen klinik fenotipi açıklayabilir.

Hem agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda hem de aktif periodontitisli dokularda NK aracılı sitotoksiteye dair güçlü gen ifadesinin olması, bu hücrelerin iyileşmiş de olsa aktif hastalığa benzer inflamatuvar mekanizmalara sahip olduğu görüşünü destekler. Bu bulgular bir yandan 2017 periodontal hastalık sınıflamasında belirtilen ömür boyu periodontal hastalığa yatkın hasta profili olgusunu

desteklerken, diğer yandan da aynı sınıflamada bildirilen agresif ve kronik periodontitisin aynı hastalığın farklı tezahürleri olduğu görüşüne karşı çıkmaktadır.

Çalışmamızın bir diğer ilginç bulgusu agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aktif hastalık dönemiyle ortak olarak epitelyal gelişim ve epitelyal hücre farklılaşması ile ilgili ifadenin beklenenden 4 kat fazla azalmış olmasıdır (Çizelge 3.18). Diş eti epiteli, bakteriyel invazyona karşı mekanik bir bariyer ve periodontal dokuda infeksiyöz inflamasyona karşı doğal immün yanıtın bir parçası olarak önemli bir rol oynar. Hücre-hücre etkileşimlerinin düzensizliği ve inflamasyonun, periodontal hastalığın başlamasına katkıda bulunduğu literatürde gösterilmiştir (Bosshardt ve Lang, 2005; Schroeder ve Listgarten, 2003 ve Shimono ve ark., 2003). Periodontal inflamasyonun başlangıcında bağlantı epitel bütünlüğünün bozulmasını takiben IL-8 gibi sitokinler ve kemokinlerin salgılanması, bağlantı epitelinde nötrofillerin birikmesine neden olurken, nötrofiller tarafından salgılanan proteazlar bağlantı epitelinin bariyer özelliğini bozar (Schroeder ve Listgarten, 1997). Bir yandan epitelyal bariyerin bozulması yıkım mekanizmalarıyla ilişkili sitokinlerin salınımına neden olurken, diğer yandan salınan sitokinler aynı zamanda epitelyal bariyerin daha da bozulmasına aracılık eder. Bu çift yönlü etki periodontal hastalığın aktif dönemindeki bulgularla uyumludur.

Ancak çalışmamızda gen ifadesi seviyesinde sağlıklı dokularda değişmiş epitel fonksiyonlarının gösterilmiş olması önemli bir bulgudur (Çizelge 3.18). Agresif periodontitiste görülen uzun süreli devam eden inflamatuvar yanıt epitelyal farklılaşmayı bozarak, epitelin bariyer fonksiyonunun bozulmasına ve abartılı sitokin yanıtına katkıda bulunur. Epitel hücrelerinde apoptoz, periodontitisin başlaması ve ilerlemesi için önemli olan epitel bariyer fonksiyonunun yıkımını tetikler (Schroeder ve Listgarten, 1997 ve Abuhussein ve ark., 2014). Bu bariyer fonksiyonu matür epitel hücrelerinin önemli fonksiyonlarından biridir. Diş eti epitelinin bazal hücre tabakaları, dokunun dış yüzeyine doğru göç eden, hızla çoğalan hücrelerden oluşur. Bu süreçte epitel hücreleri farklılaşır ve olgunlaşır. Bu dışa doğru olan hareket aynı zamanda dokuya invaze olmaya çalışan bakteri ve virüslerin daha derin dokulara ilerlemesini engeller. Agresif geçmişi olan sağlıklı dokularda görülen epitelyal farklılaşmanın ve

gelişimin ifadesindeki azalma immatur epitelyal gelişime işaret edebilir. Böyle bir durumda turnover oranı düşmüş ve olgunlaşmamış epitel, bakteriyel invazyona yatkın hale gelip, inflamatuvar yanıtın abartılı şekilde tetiklenmesine sebep olarak gereğinden fazla sitokin üretimine neden olabilir. Bu durum da artmış konak cevabına neden olarak yıkım prosesinin uzaması ile sonuçlanabilir.

Çalışmamızda agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda görülen epitel gelişimi ve epitelyal hücre farklılaşması ile ilişkili genlerin ifadesindeki azalma, doku homeostazında bir bozulmayı temsil edebilir ve hastalığın klinik gelişimine katkıda bulunabilir. Agresif ve kronik periodontitis geçmişi sahip dokularda görülen bu farklı ifade profili, doku inflamasyonunun ve biyofilmin doğrudan etkisinin olmadığı koşullarda incelendiğinden, gen ifadesindeki bu farklılıkların, hastalar tarafından sunulan genetik polimorfizmlerden veya epigenetik değişiklikten kaynaklandığını tahmin etmek mümkündür; bu durum periodontal tedaviden sonra sürekli yeniden şekillenme/geç aktif yanıt durumunu veya bunların bir kombinasyonunu temsil edebilir. Epitelyal gelişim ve adezyonla ilgili genlerin daha düşük ekspresyonunun, fenotip ve hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğuna dair literatürde kanıtlar bulunmaktadır (Demmer ve ark., 2008; Guzeldemir-Akcakanat ve ark., 2016 ve Kim ve ark., 2006).

Çalışmamızda; GESE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmalarda hem agresif hem de kronik peridontitisli dokuların örnekleri birleştirildiği için GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmayla yapılan karşılaştırmalarda görülen farklı gen ifadelerinin ne kadarının agresif periodontitisli dokulardan kaynaklandığını anlamak amacıyla; GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmalarda karşılaştırma yapıp bulunan DEG'ler incelenmiştir. GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışma sadece kronik periodontitis teşhisli hastalara ait dokuları incelediği için bu karşılaştırmada bulunan ortak genlerin kronik periodontitisin akut durumunu temsil ettiği varsayıldı.

Bu karşılaştırma sonucunda; MAPK1, PDGFRA, IFNA1, CD44, MMP17 genlerinin ifadesinde artış görülürken tip VI kollajenle ilişki genlerin ifadesinde ise azalma gösterilmiştir (Şekil 3.28 ve Şekil 3.30). IFNA1 geni; güçlü antiviral, antiproliferatif ve immünomodülatör özellikleri ile doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin önemli bir parçası olarak viral enfeksiyona yanıt olarak üretilen tip I interferon ailesinin bir üyesini kodlamaktadır (Stelzer ve ark., 2016). Wright ve ark. (2008), kronik periodontitis hastalarından alınan aşırı duyarlı periferik kan nötrofillerinde periodontal olarak sağlıklı kontrollere göre farklı şekilde eksprese edilen genleri belirlemek ve bu verileri aşırı duyarlı nötrofil fenotipine katkıda bulunan potansiyel yolları belirlemek için yaptıkları çalışmada; Tip I IFN'nin nötrofillerin oksidatif patlamasını "başlatma" yeteneği, hastalık sırasında hastaların kanında bulunan yüksek IFN- α seviyeleri ile birleştiğinde, bu molekülün belirli hasta alt kümelerinde patogeneze potansiyel olarak yer aldığını göstermişlerdir. Tip I IFN'nun, PI3K, protein kinaz C- δ , NF- κ B ve STAT3 sinyal yolları aracılığıyla apoptozu inhibe ederek nötrofil ömrünü uzatabildiği başka çalışmalarda belirtilmiştir (Wang ve ark., 2003 ve Sakamoto ve ark., 2005). Çalışmamızda bu gene ve ilişkili yollarda PI3K yolağına dair ifadenin artmış olması bu mekanizmaları desteklerken bu bulgular aktif periodontal hastalık süreçleriyle uyumludur.

MMP17 geni; peptidaz M10 ailesinin bir üyesini ve matris metaloproteinazların membran tipi alt ailesini kodlar. Matriks metalloproteinazlar, hücre-matriks kompozisyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan ekstraselüler proteazlardır, periodontal hastalıklarla ilişkili en belirgin ve yaygın olarak çalışılan proteinaz ailesine ait pro-inflamatuar araçlardır (Kubota ve ark., 2008). Özellikle, nötrofillerden türetilen aktif MMP-8'in (aMMP-8, kollajenaz-2), diş eti ve periodontal kollajeninin bozulmasının bir sonucu olarak periodontal doku yıkımına yol açan konak hücre kaynaklı kollajenaz olduğu gösterilmiştir (Charles ve ark., 2014 ve Kraft-Neumärker ve ark., 2012). Bu genin ve ifadesinin periodontal yıkımın aktif fazlarındaki görevleri bilinmektedir ve çalışmamızda kronik periodontitisin aktif dönemine ait analizlerde bu genin ifadesinin gösterilmiş olması olağan bir bulgudur.

Çalışmamızda kronik periodontitisin aktif fazında Tip VI kollajenle ilişkili genlerin ifadesi azalmıştır. Tip VI kollajenin, diğer ECM molekülleri ile etkileşime girerek ECM yapısının düzenlenmesinde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (Bönnemann, 2011; Cescon ve ark., 2015; Keene ve ark., 1988; Wu ve ark., 1987). Komori ve ark. (2022)'nın ağız dokularında Tip VI kollajenin rolünü incelemek için $\alpha 2(VI)$ zincir eksikliği olan fare (Col6a2-KO) modeli kullandıkları çalışmalarında; Col6a2-KO farelerinin daha az alveoler kemik, dentin ve pulpa hacmine sahip olduğunu, periodontal ligament genişliğinin ise normal farelerden daha büyük olduğunu, uyarılmış periodontitiste, Col6a2-KO farelerinin, normal fareler ile karşılaştırıldığında daha fazla alveolar kemik kaybına sahip olduğunu göstermişlerdir. Tip VI kollajen alveolar kemikte biyomineralizasyonu kontrol etmede rol oynarken, alveolar kemiğin ECM'sindeki değişiklikler periodontitise bağlı daha fazla kemik kaybıyla ilişkilendirilebilir (Komori ve ark., 2022). Bu bilgiler çalışmamızda kronik periodontitisin aktif döneminde alınan dokularda sitokin aracılı uyarılmış inflamatuvar sürecin devam ettiğini, doku proteazlarıyla periodontal dokularda yıkımın gerçekleştiğini doğrulamaktadır. Tüm bu veriler aktif periodontitis dönemine ait dokularda çalışan üç mikrodizi çalışmasında (GSE16134, GSE10334 ve GSE23586) toplanan dokuların periodontal hastalığın aktif fazını temsil ettiğini gösterir.

Karşılaştırmalı transkriptom çalışmalarının en büyük kısıtlaması verilerin orijinal araştırmacıların yaptıkları örnek seçimlerinin özelliklerine bağlı olmasıdır. Tüm transkriptom karşılaştırma çalışmalarındaki kısıtlamalar orijinal mikrodizi çalışmalarının kısıtlamalarından zincirleme olarak etkilenmektedir. Bu bağlamda, GSE10334 (Demmer ve ark., 2008), kodu çalışmada sistemik hastalık, ilaçlar ve sigara gibi maruziyetlerden arınmış, iyi karakterize edilmiş, periodontitisli hastaların nispeten büyük bir örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı şekilde GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) kodlu çalışma da büyük bir örnek sayısına sahiptir. GSE10334 (Demmer ve ark., 2008), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) ve GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışmaların kısıtlamaları sağlıklı ve hastalıklı doku örneklerinin aynı kişilerden toplanmış olmasıdır. Elde edilen diş eti dokusu örneklerinin klinik durumu ile ilgili olarak, periodontitis hastalarının sağlıklı ve

bozulmamış diş eti dokularının transkriptomlarının, yıkıcı periodontitis yaşamamış deneklerdeki sağlıklı bölgelerinkilerle aynı olmayabileceği unutulmamalıdır.

GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) kodlu çalışmaların bir diğer kısıtlaması ise agresif ve kronik periodontitis teşhisi alan hastalara ait örneklerin birleştirilerek analizlerin yapılmış olmasıdır. Bu durum iki hastalık arasındaki farkların tespit edilmesine izin vermemekle birlikte veri kaybına neden olmuştur. Benzer şekilde çalışmamızda deney özelliklerini optimize etmek ve veri kaybı olup olmadığını anlamak adına GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmanın hastalıklı örnekleri tek bir grupta birleştirilerek analizler yapılmıştır (Şekil 3.11 ve Şekil 1.12), aşağı ve yukarı regüle edilen DEG'ler diğer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlara göre agresif ve kronik periodontitisin birleştirilerek analiz yapıldığı durumda, diğer çalışmalarla kesişen gen sayısının ayrı ayrı analizlerin yapıldığı karşılaştırmaların toplamına denk gelmesi beklenmekteydi. Ancak hastalık grupları birleştirildiğinde GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışma için daha az sayıda DEG tespit edilmiştir. Diğer çalışmalarla karşılaştırmalar yapıldığında agresif periodontitisin karşılaştırmasında, birleştirilmiş gruba göre daha fazla kesişen DEG bulunmuştur. Bu da agresif ve kronik periodontitis gruplarına ait örneklerin birleştirilerek yapıldığı analizlerde veri kaybına uğranıldığını göstermektedir.

Çalışmamızın kısıtlamalarından bir diğeri ise; verilerini kullandığımız GSE10334 (Demmer ve ark., 2008), GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009), GSE23586 (Abe ve ark., 2011) ve GSE79705 (Taiete ve ark., 2018) kodlu çalışmalardan sadece GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) ve GSE16134 (Papapanou ve ark., 2009) kodlu çalışmalar farklı zaman diliminde olsa da aynı araştırmacılar tarafından yürütülmüşken, diğer çalışmalar ise farklı merkezlerde farklı araştırmacılar tarafından tamamlanmıştır. Bu durum; farklı araştırmacıların yürüttüğü bu çalışmaların örnek alma metodları, kullanılan cihazların optimizasyonu, örnek alan araştırmacıların kalibrasyonu, verilerin normalizasyonundaki (GSE23586 için geçerli) farklı yöntemlerin kullanılmış olması açısından sonuçlarda görülen farklılıkları açıklayabilir. Aktif hastalık dönemine ait çalışmaların karşılaştırmasında görülen sonuç, aynı araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalar olan GSE16134 (Papapanou

ve ark., 2009) ve GSE10334 (Demmer ve ark., 2008) kodlu çalışmalar arasındaki benzerlikleri açıklar. GSE23586 (Abe ve ark., 2011) kodlu çalışma tamamen kronik periodontitisli örneklerde çalışılmasına rağmen diğer iki aktif hastalık dönemine ait çalışmalara olan benzerliği düşüktür (Şekil 3.26). Bu farklılık, örnek sayısının az olması veya normalizasyon yöntemindeki farklılık nedeniyle oluşmuş olabilir ya da diğer iki çalışma arasında görülen benzerliklerin çoğunun agresif periodontitisli örneklerle ait sonuçlar olması olasılık dahilindedir.

Tez çalışmamızda kullanılan bir diğer çalışma olan Taiete ve ark. (2018)'lerinin çalışmasında (GSE79705) ise inceleme için alınan dokular dişsiz bölgelerdendi. Biyofilmin etkisinden kaçınmak için dişsiz bölgelere ait dişeti dokularının transkriptomlarının farklılıklarını değerlendiren ilk çalışmadır (Taiete ve ark., 2018). Bu çalışmanın kısıtlaması örnek sayısının azlığıdır. Araştırmacılar diş eti gen ekspresyonunun, subgingival biyofilm ve doku inflamasyonu gibi çeşitli faktörlerden etkilendiğinde, hastalıklı bölgelerin çalışmaya dahil edilmesinin, agresif ve kronik periodontitis arasındaki temel biyolojik farklılıkların belirlenmesine izin vermeyeceğini belirtmişlerdir (Kebschull ve ark., 2013 ve Papapanou ve ark., 2009). Dişsiz bölgelerde biyofilm etkisinden arındırılmış sağlıklı dokularda farklı bulunan artmış veya azalmış hücresel fonksiyonlar agresif ve kronik periodontitis geçmişi olan dokulardaki ifadeleri daha da özgün kılmaktadır.

Kullanılan çalışmalarda araştırmaya dahil edilen denek sayısının azlığı, aktif kronik ve agresif periodontitis hastalarına ait örneklerin havuzlanması gibi detaylar, elde ettiğimiz sonuçların daha ileri çalışmalarla desteklememiz gerektiğini gözler önüne sermektedir. Aynı araştırmacılar tarafından, farklı hastalık antitelerine sahip olduğunu düşündüğümüz hastalıklı ve sağlıklı dokulardan örnek alınarak analizlerin yeniden yapılması ve bu çalışmalarla birleştirilmesi ortaya koyduğumuz hipotezi daha da güçlendirecek ve daha keskin kanıtlara ulaşmamıza zemin hazırlayacaktır.

Periodontitisteki doku hasarının çoğunluğu, subgingival plak bakterilerinin varlığına yanıt olarak çeşitli inflamatuvar mediatörlerin ve yıkıcı enzimlerin aşırı ve düzensiz üretiminden kaynaklanmaktayken biyofilmden etkilenmemiş agresif

periodontitis geçmişi olan klinik olarak sağlıklı dokularda görülen bu inflamatuvar mediatörlerin varlığı periodontitis geçmişi olan dokuların artık sağlıklı olarak kabul edilemeyeceğini gösterir. Alternatif olarak, periodontal hastalığın genetiğinin ve ilerleyişinin anlaşılması ve olası genetik değişikliklerin ortaya konması; hastalık belirteçlerinin tanımlanması, kişiye özgü tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi ve koruyucu diş hekimliği uygulamaları için değerli bilgiler sağlayacaktır. Ancak sağlıklı doku değişiklikleri ile genetik/epigenetik faktörler arasındaki ilişki ve periodontal hastalık/tedavinin “kalıntı etkisi” gelecekteki çalışmalarda incelenmelidir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1- Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aktif hastalık dönemi ile benzer olarak inflamatuvar yanıt ile ilişkili genlerin ifadesinde gözlenen artış, klinik olarak sağlıklı olsa da doku cevabı açısından artık sağlıklı olarak kabul edilemeyeceğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, yeni sınıflamaya göre (2017 periodontal hastalık ve durumların sınıflaması) bir kere periodontitis geçiren bir bireyin sağlıklı olarak kabul edilemeyeceği ifadesini desteklemektedir.

2- Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aktif hastalık döneminden farklı olarak mitokondriyal aktivite, oksidatif fosforilasyon ve ROS üretiminde aktif rolü olan genlerin ifadelerinde ciddi oranda artış gözlenmesi agresif periodontitis patogeneğinde konak kaynaklı cevabın, hastalığın esas modülatörü olduğu ve kronik periodontitisten daha hiper-reaktif bir cevabın gözlemlendiğini vurgulamaktadır.

3- Aktif kronik periodontitis örneklerinde, ifadesi değişen genler yara iyileşmesi, hücre farklılaşması, hücre-hücre bağlantıları gibi dokunun normal homeostazisini sağlamaya yönelik aktiviteleri ifade ederken, agresif periodontitis örneklerinde antijen işleme, apoptoz, NK aracılı sitotoksiste ve TLR aktivasyonu gibi konak immün yanıtıyla ilişkili genlerin ifadesinde artış gözlenmesi bu iki hastalığın benzer klinik bulgulara sahip ama farklı immün-inflamatuvar mekanizmaların baskın olduğu farklı antiteler olduğu fikrini destekler niteliktedir.

4- Transkriptom karşılaştırmasında kullandığımız aktif hastalık fazını değerlendiren çalışmalar, her iki hastalığa ait örnekleri havuzlayarak değerlendirmeler yaptığı için olası bulgu kayıpları göz önünde bulundurularak, 1999 sınıflamasına göre agresif ve kronik periodontitis örneklerinin tek bir araştırma ekibi tarafından elde edildiği ve havuzlamadan değerlendirmelerin yapıldığı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Kronik ve Agresif Periodontitis Hastalarına Ait Doku Örneklerinin Transkriptomlarının Karşılaştırması

Periodontal hastalıktaki yıkım, duyarlı bir konağın immün tepkisini tetikleyen bir bakteriyel tehdit ile başlar. Genetik faktörler, periodontitis duyarlılığını belirlemek için bireylerin biyofilm dahil olmak üzere birçok çevresel ajanla nasıl etkileşime girdiğini modüle eder.

2017 periodontal hastalık sınıflamasına göre “periodontitis” başlığı altında birleştirilen agresif ve kronik periodontitisin doku cevabında farklılıklar olabileceği, klinik olarak iyileşme gözlenirse dahi genetik altyapısı nedeniyle gen ekspresyonlarında farklılıklar olabileceği hipotezinden hareketle çalışmamızın amacı; agresif ve kronik periodontitis hastalarında, hastalığın aktif döneminde ve klinik olarak iyileşmenin gözlemlendiği dönemde elde edilen doku örneklerinin transkriptomlarının karşılaştırılarak gen ekspresyonu seviyesinde bu iki hastalık arasındaki benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkarılmasıdır.

GEO veri tabanındaki periodontitis tanısı konmuş, dişeti dokusunda çalışmış mikrodizi veri setleri arasında “Periodontitis”, “Homo sapiens”, “gingival tissue” anahtar kelimeleri kullanılarak, “diziye göre ifade profili oluşturma” çalışma türü seçilerek çıkan sonuçlar arasından dişeti dokusunda çalışmış veri setleri bulundu. Dahil edilme kriterlerine uyan dört veri setinde, GSE79705, GSE10334, GSE16134 ve GSE23586, GEO2R’da örnek gruplarının ikili karşılaştırmaları yapıldı. Tanımlanan DEG’ler içindeki keşisen ve ortak olmayan genleri belirlemek için Venn şeması kullanıldı. Diferansiyel gen ekspresyonu (kat değiştirme), gen ontolojisi (GO; biyolojik süreç), yolak zenginleştirme ve protein-protein etkileşim ağı analizleri yapıldı.

Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda mitokondriyel aktivite, oksidatif fosforilasyon, ROS üretimi ile ilişkili genlerin (NDUFA1, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA7, COX7A2, COA6, ROMO1) ifadelerinde artış gözlemlendi. Bunun yanında aktif hastalık dönemiyle ortak olarak; antijen işleme ve sunumu, osteoklast farklılaşması, apoptoz, NK aracılı sitotoksitesite ile ilişkili genlerin (IL-6, TLR2, IFNAR1, TNFSF11, LY96, CD40, FCGR2A) ifadesinde artış izlenirken epitelyal farklılaşma, epitel gelişimi, hücre-hücre sinyalizasyonuna dair ifadede azalma görüldü. Kronik periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda ise inflammatuar süreçlere dair artmış bir yanıt rastlanılmamışken, antijen işlenmesi ve sunumu, lökosit aracılı sitotoksitesitenin düzenlenmesi ve sistemsal süreçlere dair yolakların ifadesinde azalma görüldü.

Agresif periodontitis geçmişi olan sağlıklı dokularda aktif hastalık dönemi ile benzer olarak inflammatuar yanıt ile ilişkili genlerin ifadesinde gözlenen artış, klinik olarak sağlıklı olsa da doku cevabı açısından bu dokuların artık sağlıklı olarak kabul edilemeyeceğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: agresif periodontitis, karşılaştırmalı transkriptom analizi, kronik periodontitis

SUMMARY

Comparison of Transcriptomes of Tissue Samples from Chronic and Aggressive Periodontitis Patients

The destruction in periodontal disease begins with a bacterial challenge that triggers the immune response of a susceptible host. Genetic factors modulate how individuals interact with many environmental agents, including biofilm, to determine periodontitis susceptibility.

Based on the hypothesis that there may be differences in the tissue response of aggressive and chronic periodontitis, which are combined under the title of "periodontitis" according to the 2017 periodontal disease classification, and that there may be differences in gene expressions due to the genetic background even if clinical improvement is observed, the aim of our study is; to reveal the similarities and differences between these two diseases at the level of gene expression by comparing the transcriptomes of the tissue samples obtained in the active period of the disease and in the period of clinical improvement in patients with aggressive and chronic periodontitis.

Among the microarray datasets that were diagnosed with periodontitis and studied on gingival tissue in the GEO database, using the keywords "Periodontitis", "Homo sapiens", "gingival tissue", the datasets were found among the results obtained by selecting the study type "expression profiling by sequence". Pairwise comparisons of sample groups in the GEO2R were performed for the four datasets GSE79705, GSE10334, GSE16134 and GSE23586 that met the inclusion criteria. Venn diagram was used to identify overlapping and non-shared genes within the identified DEGs. Differential gene expression (fold change), gene ontology (GO; biological process), pathway enrichment and protein-protein interaction network analyzes were performed.

An increase in the expression of genes (NDUFA1, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA7, COX7A2, COA6, ROMO1) associated with mitochondrial activity, oxidative phosphorylation and ROS production was observed in healthy tissues with a history of aggressive periodontitis. In addition, in common with the active disease period; antigen processing and presentation, osteoclast differentiation, apoptosis, NK-mediated cytotoxicity-related genes (IL-6, TLR2, IFNAR1, TNFSF11, LY96, CD40, FCGR2A) increased expression, while decreased expression of epithelial differentiation, epithelial development, cell-cell signaling was observed. In healthy tissues with a history of chronic periodontitis, there was no increased response to inflammatory processes, but decreased expression of pathways related to antigen processing and presentation, regulation of leukocyte-mediated cytotoxicity, and systemic processes.

The increase in the expression of inflammatory response-related genes in healthy tissues with a history of aggressive periodontitis, similar to the active disease period, revealed that although it is clinically healthy, it can no longer be considered healthy in terms of tissue response.

Keywords: aggressive periodontitis, chronic periodontitis, comparative transcriptome analysis

KAYNAKLAR

- ABE D, KUBOTA T, MOROZUMI T, SHIMIZU T, NAKASONE N, ITAGAKI M, YOSHIE H (2011). Altered gene expression in leukocyte transendothelial migration and cell communication pathways in periodontitis-affected gingival tissues. *J Periodontol Res.* **46**(3):345-53.
- ABUHUSSEIN H, BASHUTSKI JD, DABIRI D, HALUBAI S, LAYHER M, KLAUSNER C, MAKHOUL H, KAPILA Y (2014). The role of factors associated with apoptosis in assessing periodontal disease status. *J Periodontol.* **85**(8):1086-95.
- ACQUIER AB, DE COUTO PITA AK, BUSCH L, SÁNCHEZ GA (2017). Parameters of oxidative stress in saliva from patients with aggressive and chronic periodontitis. *Redox Rep.* **22**(3):119-126.
- AINAMO J, BAY I (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* **25**:229-235.
- ALBANDAR JM (2014). Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. *Periodontol 2000.* **65**(1):13-26.
- ALBANDAR JM, DENARDIN AM, ADESANYA MR, DIEHL SR, WINN DM (2001). Associations between serum antibody levels to periodontal pathogens and early-onset periodontitis. *J Periodontol* **72**: 1463–1469.
- ALTSHULER D, DALY MJ, LANDER ES (2008). Genetic mapping in human disease. *Science* **322**(5903):881-8.
- ALZAHIRANI AA (2017). Association between human herpes virüs and aggressive periodontitis: A systematic review. *The Saudi Journal for Dental Research.* **8**(1–2):97–104.
- American Academy of Periodontology task force report on the update to the 1999 classification of periodontal diseases and conditions (2015). *J Periodontol.* **86**:835–838.
- ARMITAGE GC (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* **4**(1):1-6.
- ARMITAGE GC (2010). Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* **53**: 70–88.
- ARMITAGE GC, CULLINAN MP (2010). Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000.* **53**: 12-27.
- ARTESE L, SIMON MJ, PIATTELLI A, FERRARI DS, CARDOSO LAG, FAVERI M, ONUMA T, PICCIRILLI M, PERROTTI V, SHIBLI JA (2011). Immunohistochemical analysis of inflammatory infiltrate in aggressive and chronic periodontitis: a comparative study. *Clin Oral Investig.* **15**(2): 233-40.
- ASHBURNER M, BALL CA, BLAKE JA, BOTSTEIN D, BUTLER H, CHERRY JM, DAVIS AP, DOLINSKI K, DWIGHT SS, EPPIG JT, HARRIS MA, HILL DP, ISSEL-TARVER L, KASARSKIS A, LEWIS S, MATESE JC, RICHARDSON JE, RINGWALD M, RUBIN GM, SHERLOCK G (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nature genetics.* **25**(1), 25–29.
- BABU MM (2004). Introduction to Microarray Data Analysis. In Computational Genomics - Theory and Application, R. Grant ed. *Horizon Bioscience*, pp. 225–249.
- BAER PN (1971). The case for periodontosis as a clinical entity. *J Periodontol* **42**: 516–520.
- BAKER PJ, HOWE L, GARNEAU J, ROOPENIAN DC (2002). T cell knockout mice have diminished alveolar bone loss after oral infection with *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* **34**(1):45-50.

- BANÁSOVÁ L, KAMODYOVÁ N, JANŠÁKOVÁ K, TÓTHOVÁ Ľ, STANKO P, TURŇA J, CELEC P (2015). Salivary DNA and markers of oxidative stress in patients with chronic periodontitis. *Clin Oral Investig.* **19**(2):201-7.
- BANCHEREAU J, BRIERE F, CAUX C, DAVOUST J, LEBECQUE S, LIU YJ, PULENDRAN B, PALUCKA K (2000). Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* **18**:767-811.
- BANTEL H, BEIKLER T, FLEMMIG TF, SCHULZE-OSTHOFF K (2005). Caspase activation is involved in chronic periodontitis. *FEBS Lett.* **579**(25):5559-64.
- BARABASI AL, OLTVAI ZN (2004) Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat. Rev. Genet.*, **5**:101–113.
- BASTOS MF, LIMA JA, VIEIRA PM, MESTNIK MJ, FAVERI M, DUARTE PM (2009). TNF-alpha and IL-4 levels in generalized aggressive periodontitis subjects. *Oral diseases.* **15**(1):82-7.
- BAUER-MEHREN A, RAUTSCHKA M, SANZ F, FURLONG LI (2010). DisGeNET: a Cytoscape plugin to visualize, integrate, search and analyze gene-disease networks. *Bioinformatics.* **26**(22):2924-6.
- BAX BE, ALAM AS, BANERJI B, BAX CM, BEVIS PJ, STEVENS CR, MOONGA BS, BLAKE DR, ZAIDI M (1992). Stimulation of osteoclastic bone resorption by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun.* **183**(3):1153-8.
- BEATY TH, BOUGHMAN JA, YANG P, ASTEMBORSKI JA, SUZUKI JB (1987). Genetic analysis of juvenile periodontitis in families ascertained through an affected proband. *Am J Hum Genet.* **40**(5):443-52.
- BEIKLER T, PETERS U, PRIOR K, EISENACHER M, FLEMMIG TF (2008). Gene expression in periodontal tissues following treatment. *BMC Med Genomics.* **7**:1:30.
- BERGLUNDH T, LILJENBERG B, LINDHE J (1999). Some effects of periodontal therapy on local and systemic immunological parameters. *J Clin Periodontol* **26**:91-98.
- BETTELLI E, CARRIER Y, GAO W, KORN T, STROM TB, OUKKA M, WEINER HL, KUCHROO VK (2006). Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* **441**(7090):235-8.
- BONNEMANN CG (2011). The collagen VI-related myopathies: Muscle meets its matrix. *Nat. Rev. Neurol.* **7**, 379–390.
- BOSSHARDT DD, LANG NP (2005). The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res.* **84**(1):9—20.
- BRANCO-DE-ALMEIDA LS, CRUZ-ALMEIDA Y, GONZALEZ-MARRERO Y, KUDSI R, DE OLIVEIRA ICV, DOLIA B, HUANG H, AUKHIL I, HARRISON P, SHADDOX LM (2021). Treatment of localized aggressive periodontitis alters local host immunoinflammatory profiles: A long-term evaluation. *J Clin Periodontol.* **48**(2):237-248.
- BRETT PM, ZYGOGIANNI P, GRIFFITHS GS, TOMAZ M, PARKAR M, D'AIUTO F, TONETTI M (2005). Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J Dent Res.* **84**(12):1149-53.
- BRODIN P, KÄRRE K, HÖGLUND P (2009). NK cell education: Not an on-off switch but a tunable rheostat. *Trends Immunol.* **30**:143–149.
- BROWN LJ, LÖE H (1993). Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol* **2000.** **2**:57-71.
- BROWN LJ, ALBANDAR JM, BRUNELLE JA, LOE H (1996). Early-onset periodontitis: progression of attachment loss during 6 years. *J Periodontol* **67**: 968–975.

- BULLON P, NEWMAN HN, BATTINO M (2014). Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction?. *Periodontology* 2000. **64**: 139-153.
- CALIFANO JV, PACE BE, GUNSOLLEY JC, SCHENKEIN HA, LALLY ET, TEW JG (1997). Antibody reactive with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin in early-onset periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* **12**: 20–26.
- CAMACHO DM, COLLINS KM, POWERS RK, COSTELLO JC, COLLINS JJ (2018) Next-generation machine learning for biological networks. *Cell*, **173**: 1581–1592.
- CARVALHO BS, IRIZARRY RA (2010). A framework for oligonucleotide microarray preprocessing. *Bioinformatics* **26**:2363-2367.
- CEKICI A, KANTARCI A, HASTURK H, VAN DYKE TE (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. **64**(1):57-80.
- CESCON M, GATTAZZO F, CHEN P, BONALDO P (2015). Collagen VI at a glance. *J Cell Sci.* 128(19):3525-31.
- CHAPPLE IL, MATTHEWS JB (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol* 2000. **43**:160-232.
- CHAPPLE ILC, MEALEY BL, VAN DYKE TE, BARTOLD PM, DOMMISCH H, EICKHOLZ P, GEISINGER ML, GENCO RJ, GLOGAUER M, GOLDSTEIN M, GRIFFIN TJ, HOLMSTRUP P, JOHNSON GK, KAPILA Y, LANG NP, MEYLE J, MURAKAMI S, PLEMONS J, ROMITO GA, SHAPIRA L, TATAKIS DN, TEUGHEL S W, TROMBELLI L, WALTER C, WIMMER G, XENOUDI P, YOSHIE H (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* **89** Suppl 1:S74-S84.
- CHARLES K, HONIBALD EN, RAGHAVENDRA RN, PALANI AKP, RAMAMURTHY RD, SANKARALINGAM T (2014). Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in periodontitis and its management. *J. Indian Acad. Dent. Spec. Res.* **1**, 65–69.
- CHAUSHU S, WIENSKY A, GUR C, SHAPIRA L, ELBOIM M, HALFTEK G, POLAK D, ACHDOUT H, BACHRACH G, MANDELBOIM O (2012). Direct recognition of *Fusobacterium nucleatum* by the NK cell natural cytotoxicity receptor Nkp46 aggravates periodontal disease. *PLoS Pathog.* **8**(3):e1002601.
- CHEN MX, LU CC, SUN PC, NIE YX, TIAN Y, HU QJ, DAS D, HOU XX, GAO B, CHEN X, LIU SX, ZHENG CC, ZHAO XY, DAI L, ZHANG J, LIU YG (2021). Comprehensive transcriptome and proteome analyses reveal a novel sodium chloride responsive gene network in maize seed tissues during germination. *Plant Cell Environ.* **44**(1):88-101.
- CHO RJ, CAMPBELL MJ (2000). Transcription, genomes, function. *Trends in Genetics* **16**: 409–415.
- CHOOBDAR S, AHSEN M, CRAWFORD J, TOMASONI M, FANG T, LAMPARTER D, LIN J, HESCOTT B, HU X, MERCER J, NATOLI T, NARAYAN R, AICHELER F, AMOROSO N, ARENAS A, AZHAGESAN K, BAKER A, BANF M, BATZOGLOU S, COWEN L (2018). Assessment of network module identification across complex diseases. *Nature Methods.* **16**: 843–852.
- CLARK AG, GLANOWSKI S, NIELSEN R, THOMAS PD, KEJARIWAL A, TODD MA, TANENBAUM DM, CIVELLO D, LU F, MURPHY B, FERRIERA S, WANG G, ZHENG X, WHITE TJ, SNINSKY JJ, ADAMS MD, CARGILL M (2003). Inferring nonneutral evolution from human-chimp-mouse orthologous gene trios. *Science.* **302**(5652):1960-3.
- CLAYTON SA, MACDONALD L, KUROWSKA-STOLARSKA M, CLARK AR (2021). Mitochondria as Key Players in the Pathogenesis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* **12**:673916.

- CONTE F, FISCON G, LICURSI V, BIZZARRI D, D'ANTO T, FARINA L, PACI P (2020) A paradigm shift in medicine: A comprehensive review of network-based approaches. *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.*, **1863**(6): 194416.
- COOPER-KNOCK J, KIRBY J, FERRAIUOLO L, HEATH PR, RATTRAY M, SHAW PJ (2012). Gene expression profiling in human neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol.* **8**(9):518–30.
- COWEN L, IDEKER T, RAPHAEL BJ, SHARAN R (2017) Network propagation: a universal amplifier of genetic associations. *Nat. Rev. Genet.*, **18**: 551–562.
- D'AIUTO F, NIBALI L, PARKAR M, PATEL K, SUVAN J, DONOS N (2010). Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res.* **89**(11):1241-6.
- D'AIUTO F, PARKAR M, ANDREOU G, SUVAN J, BRETT PM, READY D, TONETTI MS (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res.* **83**(2):156-60.
- DE LIMA OLIVEIRA AP, DE FAVERI M, GURSKY LC, MESTNIK MJ, FERES M, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS, TELES RP (2012). Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *J Clin Periodontol.* **39**(3):295-302.
- DEGUCHI T, MASHIMO M, SUZUKI T (1990). Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J Biol Chem.* 265(22):12757-60.
- DEMMER RT, BEHLE JH, WOLF DL, HANDFIELD M, KEBSCHULL M, CELENTI R, PAVLIDIS P, PAPAPANOU PN (2008). Transcriptomes in healthy and diseased gingival tissues. *J Periodontol.* **79**(11):2112-24.
- DOMMISCH H, KEBSCHULL M (2014). Chronic Periodontitis. *Carranza's Clinical Periodontology*, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editor. 12th Ed. in press. "Chapter 23".
- DOWNEY GP, FUKUSHIMA T, FIALKOW L (1995). Signaling mechanisms in human neutrophils. *Curr Opin Hematol.* **2**:76-88.
- DUARTE PM, DA ROCHA M, SAMPAIO E, MESTNIK MJ, FERES M, FIGUEIREDO LC, BASTOS MF, FAVERI M (2010). Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol.* **81**(7):1056-63.
- DZIARSKI R, WANG Q, MIYAKE K, KIRSCHNING CJ, GUPTA D (2001). MD-2 enables Toll-like receptor 2 (TLR2)-mediated responses to lipopolysaccharide and enhances TLR2-mediated responses to Gram-positive and Gram-negative bacteria and their cell wall components. *J Immunol.* 166(3):1938–44.
- EDGAR R, DOMRACHEV M, LASH AE (2002). Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Res.* **30**(1):207-10.
- EDWARDS J, JOHNSON C, SANTOS-MEDELÍN C, LURIE E, PODISHETTY NK, BHATNAGAR S, EISEN JA, SUNDARESAN V (2015). Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **112**(8):E911-20.
- EKE PI (2011). High PCR copy-counts of periodontal pathogens in saliva are associated with periodontal disease status. *J Evid Based Dent Pract.* **11**(4):208-9.
- EL-GEHALI S, MISTRY J, BATEMAN A, EDDY SR, LUCIANI A, POTTER SC, QURESHI M, RICHARDSON LJ, SALAZAR GA, SMART A, SONNHAMMER ELL, HIRSH L, PALADIN L, PIOVESAN D, TOSATTO SCE, FINN RD (2019). The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic Acids Res* **47**(D1):D427-D432.
- ENRIGHT AJ, OUZOUNIS CA (2001). Functional associations of proteins in entire genomes by means of exhaustive detection of gene fusions. *Genome Biol.*, **2**, RESEARCH0034.

- ERCIYAS K, PEHLIVAN S, SEVER T, IGCİ M, ARSLAN A, ORBAK R (2010). Association between TNF-alpha, TGF-beta1, IL-10, IL-6 and IFN-gamma gene polymorphisms and generalized aggressive periodontitis. *Clin Invest Med.* **33**(2):E85.
- FINE DH, PATIL AG, LOOS BG (2018). Classification and diagnosis of aggressive periodontitis. *J Periodontol.* **89**(Suppl 1):S103–S119.
- FISHMAN D, FAULDS G, JEFFERY R, MOHAMED-ALI V, YUDKIN JS, HUMPHRIES S, WOO P (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* **102**(7):1369–76.
- FLEMMIG TF (1999). Periodontitis, *Ann Periodontol* **4**:32–38.
- FORD PJ, GAMONAL J, SEYMOUR GJ (2010). Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* **53**:111-23.
- FU YP, LIANG Y, DAI YT, YANG CT, DUAN MZ, ZHANG Z, HU SN, ZHANG ZW, LI Y (2016). De Novo Sequencing and Transcriptome Analysis of *Pleurotus eryngii* subsp. *tuoliensis* (Bailinggu) Mycelia in Response to Cold Stimulation. *Molecules.* **21**(5):560.
- FUJITA S, TAKAHASHI H, OKABE H, OZAKI Y, HARA Y, KATO I (1992). Distribution of natural killer cells in periodontal diseases: an immunohistochemical study. *J. Periodontol.* **63**:686–689.
- GALLI C, PASSERIG, MACALUSO GM (2011). FoxOs, Wnts and oxidative stress-induced bone loss: new players in the periodontitis arena? *J Periodontal Res.* **46**(4):397-406.
- GAUDET P, LIVSTONE MS, LEWIS SE, THOMAS PD (2011). Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium. *Briefings in bioinformatics,* **12**(5), 449–462.
- GAUTIER L, COPE L, BOLSTAD BM, IRIZARRY RA (2004). affy--analysis of Affymetrix GeneChip data at the probe level. *Bioinformatics.* **20**(3):307-15.
- GEMMELL E, SEYMOUR GJ (1993). Interleukin 1, interleukin 6 and transforming growth factor-beta production by human gingival mononuclear cells following stimulation with *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *J Periodontal Res* **28**(2):122-9.
- GEMMELL E, SEYMOUR GJ (1994). Cytokines and T cell switching. *Crit Rev Oral Biol Med.* **5**: 249–279.
- GEMMELL E, YAMAZAKI K, SEYMOUR GJ (2007). The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000* **43**: 14–40.
- GJERMO P, BELLINI HT, PEREIRA SANTOS V, MARTINS JG, FERRACYOLI JR (1984). Prevalence of bone loss in a group of Brazilian teenagers assessed on bite-wing radiographs. *J Clin Periodontol* **11**:104–113.
- GLIGORIJEVIC V, BAROT M, BONNEAU R (2018). deepNF: deep network fusion for protein function prediction. *Bioinformatics.* **34**(22):3873-3881.
- GOMEZ RS, DUTRA WO, MOREIRA PR (2009). Epigenetics and periodontal disease: future perspectives. *Inflamm Res.* **58**(10):625-9.
- GONZALEZ OA, NOVAK MJ, KIRAKODU S, ORRACA L, CHEN KC, STROMBERG A, GONZALEZ-MARTINEZ J, EBERSOLE JL (2014). Comparative analysis of gingival tissue antigen presentation pathways in ageing and periodontitis. *J Clin Periodontol.* **41**(4):327-39.
- GOVINDARAJ P, KHAN NA, GOPALAKRISHNA P, CHANDRA RV, VANNIARAJAN A, REDDY AA, SINGH S, KUMARESAN R, SRINIVAS G, SINGH L, THANGARAJ K (2011). Mitochondrial dysfunction and genetic heterogeneity in chronic periodontitis. *Mitochondrion.* **11**(3):504-12.
- GUALA D, OGRIS C, MULLER N, SONNHAMMER ELL (2020). Genome-wide functional association networks: background, data & state-of-the-art resources. *Brief. Bioinform.,* **21**, 1224–1237.

- GUENTSCH A, PUKLO M, PRESHAW PM, GLOCKMANN E, PFISTER W, POTEMPA J, EICK S (2009). Neutrophils in chronic and aggressive periodontitis in interaction with *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Periodontol Res.* **44**(3):368-77.
- GUZELDEMIR-AKCAKANAT E, SUNNETCI-AKKOYUNLU D, ORUCGUNEY B, CINE N, KAN B, YILMAZ EB, GUMUSLU E, SAVLI H (2016). Gene-Expression Profiles in Generalized Aggressive Periodontitis: A Gene Network-Based Microarray Analysis. *J Periodontol.* **87**(1):58-65.
- HA H, KWAK HB, LEE SW, JIN HM, KIM HM, KIM HH, LEE ZH (2004). Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *Exp Cell Res.* **301**(2):119-27.
- HAFFAJEE AD, TELES RP, SOCRANSKY SS (2006). The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000*, **42**: 219–258.
- HAIJSHENGALLIS G (2014). Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol.* **35**(1):3-11.
- HART TC (1994). Genetic considerations of risk in human periodontal disease. *Curr Opin Periodontol.* 3-11.
- HASSELL TM, HARRIS EL (1995). Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med.* **6**(4):319-42.
- HAW R, HERMJAKOB H, D'EUSTACHIO P, STEIN L (2011). Reactome pathway analysis to enrich biological discovery in proteomics data sets. *Proteomics*, **11**(18): 3598–3613.
- HØRMAND J, FRANDSEN A (1979). Juvenile periodontitis. Localization of bone loss in relation to age, sex, and teeth. *J Clin Periodontol* **6**: 407–416.
- HU JX, THOMAS CE, BRUNAK S (2016). Network biology concepts in complex disease comorbidities. *Nat. Rev. Genet.*, **17**, 615–629.
- HUANG DA W, SHERMAN BT, LEMPICKI RA (2009). Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.* **37**(1):1-13.
- HUANG AC, JIANG T, LIU YX, BAI YC, REED J, QU B, GOOSSENS A, NUTZMANN HW, BAI Y, OSBOURN A (2019). A specialized metabolic network selectively modulates Arabidopsis root microbiota. *Science.* **364**(6440):eaau6389.
- HYSLOP PA, HINSHAW DB, HALSEY WA JR, SCHRAUFSTÄTTER IU, SAUERHEBER RD, SPRAGG RG, JACKSON JH, COCHRANE CG (1988). Mechanisms of oxidant-mediated cell injury. The glycolytic and mitochondrial pathways of ADP phosphorylation are major intracellular targets inactivated by hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* **263**(4):1665-75.
- JACOB F, PATHER SR, HUANG WK, ZHANG F, WONG SZH, ZHOU H, CUBITT B, FAN W, CHEN CZ, XU M, PRADHAN M, ZHANG DY, ZHENG W, BANG AG, SONG H, CARLOS DE LA TORRE J, MING GL (2020). Human Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Cells and Brain Organoids Reveal SARS-CoV-2 Neurotropism Predominates in Choroid Plexus Epithelium. *Cell Stem Cell.* **27**(6):937-950.e9.
- JASSAL B, MATTHEWS L, VITERI G, GONG C, LORENTE P, FABREGAT A, SIDIROPOULOS K, COOK J, GILLESPIE M, HAW R, LONEY F, MAY B, MILACIC M, ROTHFELS K, SEVILLA C, SHAMOVSKY V, SHORSER S, VARUSAI T, WEISER J, WU G, STEIN L, HERMJAKOB H, D'EUSTACHIO P (2020). The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* **48**(D1):D498-D503.
- JEFFCOAT MK, REDDY MS (1991). Progression of probing attachment loss in adult periodontitis. *J Periodontol* **62**:185-189.
- JIA A, XU L, WANG Y (2021). Venn diagrams in bioinformatics. *Brief Bioinform* **22**(5):bbab108.
- JIN J, GUANG M, OGBUEHI AC, LI S, ZHANG K, MA Y, ACHARYA A, GUO B, PENG Z, LIU X, DENG Y, FANG Z, ZHU X, HUA S, LI C, HAAK R, ZIEBOLZ D, SCHMALZ G, LIU L, XU B, HUANG X

- (2021). Shared Molecular Mechanisms between Alzheimer's Disease and Periodontitis Revealed by Transcriptomic Analysis. *BioMed Research International*. **2021**: 6633563. 1-22.
- JIN S, ZONG Y, GAO Q, ZHU Z, WANG Y, QIN P, LIANG C, WANG D, QIU JL, ZHANG F, GAO C (2019). Cytosine, but not adenine, base editors induce genome-wide off-target mutations in rice. *Science*. **364**(6437):292-295.
- JONCKER NT, FERNANDEZ NC, TREINER E, VIVIER E, RAULET DH (2009). NK cell responsiveness is tuned commensurate with the number of inhibitory receptors for self-MHC class I: The rheostat model. *J Immunol*. **182**:4572–4580.
- JONSSON D, RAMBERG P, DEMMER RT, KEBSCHULL M, DAHLEN G, PAPAPANOU PN (2011). Gingival tissue transcriptomes in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. **38**(7):599-611.
- IRIZARRY RA, BOLSTAD BM, COLLIN F, COPE LM, HOBBS B, SPEED TP (2003). Summaries of Affymetrix GeneChip probe level data. *Nucleic Acids Res*. **31**(4):e15.
- ISHIMI Y, MIYAURA C, JIN CH, AKATSU T, ABE E, NAKAMURA Y, YAMAGUCHI A, YOSHIKI S, MATSUDA T, HIRANO T (1990). IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *Journal of immunology*. **145**(10), 3297–3303.
- KANEHISA M, FURUMICHI M, SATO Y, KAWASHIMA M, ISHIGURO-WATANABE M (2022). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Res*. **27**:gkac963. Advance online publication.
- KANG MG, BYUN K, KIM JH, PARK NH, HEINSEN H, RAVID R, STEINBUSCH HW, LEE B, PARK YM (2015). Proteogenomics of the human hippocampus: The road ahead. *Biochimica et biophysica acta*, **1854**(7): 788–797.
- KATO A, IKEDA Y, IMAI K, OGATA Y (2020). Effects of Initial Periodontal Therapy on the Prevalence of Epstein-Barr Virus DNA and Porphyromonas gingivalis in Japanese Chronic Periodontitis Patients. *Int J Oral-Med Sci*. **19**(1):30–7.
- KATO A, IMAI K, OCHIAI K, OGATA Y (2013). Higher prevalence of Epstein-Barr virus DNA in deeper periodontal pockets of chronic periodontitis in Japanese patients. *PLoS One*. **8**(8):e71990.
- KATO A, IMAI K, OCHIAI K, OGATA Y (2015). Prevalence and quantitative analysis of Epstein-Barr virus DNA and Porphyromonas gingivalis associated with Japanese chronic periodontitis patients. *Clin Oral Investig*. **19**(7):1605-10.
- KEBSCHULL M, GUARNIERI P, DEMMER RT, BOULESTEIX AL, PAVLIDIS P, PAPAPANOU PN (2013). Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. *J Dent Res*. **92**(12):1081-8.
- KEENE DR, ENGVALL E, GLANVILLE RW (1988). Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *J Cell Biol*. **107**(5):1995-2006.
- KERRIEN S, ARANDA B, BREUZA L, BRIDGE A, BROACKES-CARTER F, CHEN C, DUESBURY M, DUMOUSSEAU M, FEUERMANN M, HINZ U, JANDRASITS C, JIMENEZ RC, KHADAKE J, MAHADEVAN U, MASSON P, PEDRUZZI I, PFEIFFENBERGER E, PORRAS P, RAGHUNATH A, ROECHERT B, ORCHARD S, HERMJAKOB H (2012). The IntAct molecular interaction database in 2012. *Nucleic Acids Res*. **40**(Database issue):D841-6.
- KIKUCHI T, HAHN CL, TANAKA S, BARBOUR SE, SCHENKEIN HA, TEW JG (2004). Dendritic cells stimulated with Actinobacillus actinomycetemcomitans elicit rapid gamma interferon responses by natural killer cells. *Infect Immun*. **72**(9):5089-96.
- KIKUCHI T, WILLIS DL, LIU M, PURKALL DB, SUKUMAR S, BARBOUR SE, SCHENKEIN HA, TEW JG (2005). Dendritic-NK cell interactions in P. gingivalis-specific responses. *J. Dent. Res*. **84**:858–862.
- KIM DM, RAMONI MF, NEVINS M, FIORELLINI JP (2006). The gene expression profile in refractory periodontitis patients. *J Periodontol*. **77**(6):1043-50.

- KIM PD, XIA-JUAN X, CRUMP KE, ABE T, HAJISHENGALLIS G, SAHINGUR SE (2015). Toll Like Receptor 9-Mediated Inflammation Triggers Alveolar Bone Loss in Experimental Murine Periodontitis. *Infect Immun.* **83**:2992–300.
- KINANE DF, HART TC (2003). Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* **14**(6):430-49.
- KINANE DF, PETERSON M, STATHOPOULOU PG (2006). Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases. *Periodontol 2000.* **40**:107-19.
- KISHIMOTO T (2005). Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu Rev Immunol.* **23**:1-21.
- KOMIYAMA K, HIRSCH HZ, MORO I, UMEMURA S, MESTECKY J (1988). HNK-1+ (Leu-7) cells and natural killer cell activity in inflamed human gingival tissue. *J Oral Pathol.* **17**(3):118-23.
- KOMORI T, PHAM H, JANI P, PERRY S, WANG Y, KILTS TM, LI L, YOUNG MF (2022). The Role of Type VI Collagen in Alveolar Bone. *Int J Mol Sci.* **23**(22):14347.
- KONOPKA T, KROL K, KOPEC W, GERBER H (2007). Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* **55**:417-422.
- KOPP W (1988). Density and localization of lymphocytes with natural-killer (NK) cell activity in periodontal biopsyspecimens from patients with severe periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **15**, 595–600.
- KOSHI R, SUGANO N, ORII H, FUKUDA T, ITO K (2007). Microarray analysis of nicotine-induced changes in gene expression in a macrophage-like human cell line. *J Periodontal Res.* **42**(6):518-26.
- KOTERA M, HIRAKAWA M, TOIIMATSU T, GOTO S, KANEHISA M (2012). The KEGG databases and tools facilitating omics analysis: latest developments involving human diseases and pharmaceuticals. *Methods Mol Biol.* **802**:19–39.
- KRAFT-NEUMÄRKER M, LORENZ K, KOCH R, HOFFMANN T, MÄNTYLÄ P, SORSA T, NETUSCHIL L (2012). Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients. *J Periodontal Res.* **47**(1):121-8.
- KRAMARZ B, LOVERING RC (2019). Gene Ontology: A Resource for Analysis and Interpretation of Alzheimer's Disease Data. In: Wisniewski T, editor. *Alzheimer's Disease* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; Dec 20. "Chapter 2".
- KUBOTA T, ITAGAKI M, HOSHINO C, NAGATA M, MOROZUMI T, KOBAYASHI T, TAKAGI R, YOSHIE H (2008). Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue. *J Periodontol.* **79**(1):166-73.
- KURIHARA N, BERTOLINI D, SUDA T, AKIYAMA Y, ROODMAN GD (1990). IL-6 stimulates osteoclast-like multinucleated cell formation in long term human marrow cultures by inducing IL-1 release. *J Immunol.* **144**(11):4226-30.
- LAKE BB, AI R, KAESER GE, SALATHIA NS, YUNG YC, LIU R, WILDBERG A, GAO D, FUNG HL, CHEN S, VIJAYARAGHAVAN R, WONG J, CHEN A, SHENG X, KAPER F, SHEN R, RONAGHI M, FAN JB, WANG W, CHUN J, ZHANG K (2016). Neuronal subtypes and diversity revealed by single-nucleus RNA sequencing of the human brain. *Science.* **352**(6293):1586-90.
- LANG N, BARTOLD PM, CULLINAN M, JEFFCOAT M, MOMBELLI A, MURAKAMI S, PAGE R, PAPAPANOU P, TONETTI M, VAN DYKE T (1999). Consensus report – aggressive periodontitis. *Ann Periodontol* **4**: 53.
- LAPPIN DF, KOULOURI O, RADVAR M, HODGE P, KINANE DF (1999). Relative proportions of mononuclear cell types in periodontal lesions analyzed by immunohistochemistry. *J Clin Periodontol.* **26**(3):183-9.
- LEDDER RG, GILBERT P, HUWS SA, ARONS L, ASHLEY MP, HULLPS, MCBAIN AJ (2007). Molecular analysis of the subgingival microbiota in health and disease. *Appl Environ Microbiol* **73**: 516–523.

- LEE HA, PARK MH, SONG Y, NA HS, CHUNG J (2020). Role of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced autophagy in inflammatory response. *J Periodontol.* **91**(12):1682-1693.
- LETUNIC I, BORK P (2018). 20 years of the SMART protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Res.* **46**, D493–D496.
- LEWIS JS, LEE JA, UNDERWOOD JC, HARRIS AL, LEWIS CE (1999). Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms. *J. Leukoc. Biol.* **66**(6):889–900.
- LI X, WANG X, LUAN QX (2021). Hyperresponsiveness of human gingival fibroblasts from patients with aggressive periodontitis against bacterial lipopolysaccharide. *Exp Ther Med.* **21**(5):417.
- LI F, ZHU C, DENG FY, WONG MCM, LU HX, FENG XP (2017). Herpesviruses in etiopathogenesis of aggressive periodontitis: A meta-analysis based on case-control studies. *PLoS One.* **12**(10):e0186373.
- LIN SJ, CHEN YL, KUO MY, LI CL, LU HK (2005). Measurement of gp130 cytokines oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. *Cytokine.* **30**(4):160-7.
- LINDHE J, RANNEY R, LAMSTER I, CHARLES A, CHUNG CP, FLEMMIG T, KINANE D, LISTGARTEN M, LOE H, SCHOOR R, SEYMOUR G, SOMERMAN M (1999). Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Annals of Periodontology*, **4**: 38-38.
- LING MR, CHAPPLE IL, MATTHEWS JB (2015). Peripheral blood neutrophil cytokine hyper-activity in chronic periodontitis. *Innate Immun.* **21**(7):714-725.
- LIU RK, CAO CF, MENG HX, GAO Y (2001) . Polymorphonuclear neutrophils and their mediators in gingival tissues from generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* **72**(11):1545-53.
- LIU J, WANG X, XUE F, ZHENG M, LUAN Q (2022). Abnormal mitochondrial structure and function are retained in gingival tissues and human gingival fibroblasts from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* **57**(1):94-103.
- LIU T, YU L, LIU L, LI H, LI Y (2015). Comparative Transcriptomes and EVO-DEVO Studies Depending on Next Generation Sequencing. *Comput Math Methods Med.* **(2)**:896176.
- LLORENTE MA, GRIFFITHS GS (2006). Periodontal status among relatives of aggressive periodontitis patients and reliability of family history report. *J Clin Periodontol* **33**:121–125.
- LOOS BG, PAPANTONOPOULOS G, JEPSEN S, LAINE ML (2015). What is the Contribution of Genetics to Periodontal Risk? *Dent Clin North Am.* **59**(4):761-80.
- LOVERING RC, DIMMER EC, TALMUD PJ (2009). Improvements to cardiovascular Gene Ontology. *Atherosclerosis.* **205**(1):9–14.
- LOVERING RC, RONCAGLIA P, HOWE DG, LAULEDERKIND SJF, KHODIYAR VK, BERARDINI TZ, TWEEDIE S, FOULGER RE, OSUMI-SUTHERLAND D, CAMPBELL NH, HUNTLEY RP, TALMUD PJ, BLAKE JA, BRECKENRIDGE R, RILEY PR, LAMBIASE PD, ELLIOTT PM, CLAPP L, TINKER A, HILL DP (2018). Improving Interpretation of Cardiac Phenotypes and Enhancing Discovery With Expanded Knowledge in the Gene Ontology. *Circ Genom Precis Med.* **11**(2):e001813.
- LOWE R, SHIRLEY N, BLEACKLEY M, DOLAN S, SHAFEE T (2017). Transcriptomics technologies. *PLoS computational biology*, **13**(5), e1005457.
- LUO F, YANG Y, CHEN CF, CHANG R, ZHOU J, SCHEUERMANN RH (2007). Modular organization of protein interaction networks. *Bioinformatics*, **23**, 207–214.
- MAASFEH L, HÄRTLOVA A, ISAKSSON S, SUNDIN J, MAVROUDIS G, SAVOLAINEN O, STRID H, OHMAN L, MAGNUSSON MK (2021). Impaired Luminal Control of Intestinal Macrophage Maturation in Patients With Ulcerative Colitis During Remission. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* **12**(4):1415-1432.
- MAHAJAN A, GO MJ, ZHANG W, BELOW JE, GAULTON KJ, FERREIRA T, HORIKOSHI M, JOHNSON AD, NG MCY, PROKOPENKO I, SALEHEEN D, WANG X, ZEGGINI E, ABECASIS

GR, ADAIR LS, ALMGREN P, ATALAY M, AUNG T, BALDASSARRE D, BALKAU B, BAO Y, BARNETT AH, BARROSO I, BASIT A, BEEN LF, BEILBY J, BELL GI, BENEDIKTSSON R, BERGMAN RN, OBOEHM B, BOERWINKLE E, BONNYCASTLE LL, BURTT N, CAI Q, CAMPBELL H, CAREY J, CAUCHI S, CAULFIELD M, CHAN JCN, CHANG LC, CHANG TJ, CHANG YC, CHARPENTIER G, CHEN CH, CHEN H, CHEN YT, CHIA KS, CHIDAMBARAM M, CHINES PS, CHO NH, CHO YM, CHUANG LM, COLLINS FS, CORNELIS MC, COUPER DJ, CRENSHAW AT, VAN DAM RM, DANESH J, DAS D, DE FAIRE U, DEDOUSSIS G, DELOUKAS P, DIMAS AS, DINA C, DONEY ASF, DONNELLY PJ, DORKHAN M, VAN DUIJN C, DUPUIS J, EDKINS S, ELLIOTT P, EMILSSON V, ERBEL R, ERIKSSON JG, ESCOBEDO J, ESKO T, EURY E, FLOREZ JC, FONTANILLAS P, FOROUHI NG, FORSEN T, FOX C, FRASER RM, FRAYLING TM, FROGUEL P, FROSSARD P, GAO Y, GERTOW K, GIEGER C, GIGANTE B, GRALLERT H, GRANT GB, GROOP LC, GROVES CJ, GRUNDBERG E, GUIDUCCI C, HAMSTEN A, HAN BG, HARA K, HASSANALI N, HATTERSLEY AT, HAYWARD C, HEDMAN AK, HERDER C, HOFMAN A, HOLMEN OL, HOVINGH K, HREIDARSSON AB, HU C, HU FB, HUI J, HUMPHRIES SE, HUNT SE, HUNTER DJ, HVEEM K, HYDRIE ZI, IKEGAMI H, ILLIG T, INGELSSON E, ISLAM M, ISOMAA B, JACKSON AU, JAFAR T, JAMES A, JIA W, JÖCKEL KH, JONSSON A, JOWETT JBM, KADOWAKI T, KANG HM, KANONI S, KAO WHL, KATHIRESAN S, KATO N, KATULANDA P, KEINANEN-KIUKAANNIEMI SM, KELLY AM, KHAN H, KHAW KT, KHOR CC, KIM HL, KIM S, KIM YJ, KINNUNEN L, KLOPP N, KONG A, KORPI-HYÖVÄLTI E, KOWLESSUR S, KRAFT P, KRAVIC J, KRISTENSEN MM, KRITHIKA S, KUMAR A, KUMATE J, KUUSISTO J, KWAK SH, LAAKSO M, LAGOU V, LAKKA TA, LANGENBERG C, LANGFORD C, LAWRENCE R, LEANDER K, LEE JM, LEE NR, LI M, LI X, LI Y, LIANG J, LIJU S, LIM WY, LIND L, LINDGREN CM, LINDHOLM E, LIU CT, LIU JJ, LOBBENS S, LONG J, LOOS RJF, LU W, LUAN J, LYSSENKO V, WMA RC, MAEDA S, MÄGI R, MÄNNISTÖ S, MATTHEWS DR, MEIGS JB, MELANDER O, METSPALU A, MEYER J, MIRZA G, MIHAILOV E, MOEBUS S, MOHAN V, MOHLKE KL, MORRIS AD, WMÜHLEISEN T, MÜLLER-NURASYID M, MUSK B, NAKAMURA J, NAKASHIMA E, NAVARRO P, NG PK, NICA AC, NILSSON PM, NJØLSTAD I, NÖTHEN MM, OHNAKA K, ONG TH, OWEN KR, PALMER CNA, PANKOW JS, PARK KS, PARKIN M, PECHLIVANIS S, PEDERSEN NL, PELTONEN L, PERRY JRB, PETERS A, PINIDIYAPATHIRAGE JM, PLATOU CGP, POTTER S, PRICE JF, QI L, RADHA V, RALLIDIS L, RASHEED A, RATHMANN W, RAURAMAA R, RAYCHAUDHURI S, RAYNER NW, REES SD, REHNBERG E, RIPATTI S, ROBERTSON N, RODEN M, ROSSIN EJ, RUDAN I, RYBIN D, SAARISTO TE, SALOMAA V, SALTEVO J, SAMUEL M, KSANGHERA D, SARAMIES J, SCOTT J, SCOTT LJ, SCOTT RA, SEGRÈ AV, SEHMI J, SENNBLAD B, SHAH N, SHAH S, SHERA AS, SHU XO, SHULDINER AR, SIGUROSSON G, SIJBRANDS E, SILVEIRA A, SIM X, SIVAPALARATNAM S, SMALL KS, SO WY, STANČÁKOVÁ A, STEFANSSON K, STEINBACH G, STEINTHORSDDOTTIR V, STIRRUPS K, STRAWBRIDGE RJ, STRINGHAM HM, SUN Q, SUO C, SYVÄNEN AC, TAKAYANAGI R, TAKEUCHI F, TAY WT, TESLOVICH TM, THORAND B, THORLEIFSSON G, THORSTEINSDOTTIR U, TIKKANEN E, TRAKALO J, TREMOLI E, TRIP MD, TSAI FJ, TUOMI T, TUOMILEHTO J, UITTERLINDEN AG, VALLADARES-SALGADO A, VEDANTAM S, VEGLIA F, VOIGHT BF, WANG C, WAREHAM NJ, WENNAUER R, WICKREMASINGHE AR, WILSGAARD T, WILSON JF, WILTSHIRE S, WINCKLER W, WONG TY, WOOD AR, WU JY, WU Y, YAMAMOTO K, YAMAUCHI T, YANG M, YENGO L, YOKOTA M, YOUNG R, ZABANEH D, ZHANG F, ZHANG R, ZHENG W, ZIMMET PZ, ALTSHULER D, BOWDEN DW, CHO YS, COX NJ, CRUZ M, HANIS CL, KOONER J, LEE JY, SEIELSTAD M, TEO YY, BOEHNKE M, PARRA EJ, CHAMBERS JC, TAI ES, MCCARTHY MI, MORRIS AP (2014). 'Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility', *Nature Genetics*, **46**(3); pp. 234-244.

MANN HB, WHITNEY DR (1947). On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *The Annals of Mathematical Statistics* **18**, 50–60 .

MARCACCINI AM, MESCHIARI CA, SORGI CA, SARAIVA MC, DE SOUZA AM, FACCIOLO LH, TANUS-SANTOS JE, NOVAES AB, GERLACH RF (2009). Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol.* **80**(4):594-602.

- MARKS H, KALKAN T, MENAFRA R, DENISSOV S, JONES K, HOFEMEISTER H, NICHOLS J, KRANZ A, STEWART AF, SMITH A, STUNNENBERG HG (2012). The transcriptional and epigenomic foundations of ground state pluripotency. *Cell*. **149**(3):590-604.
- METZKER ML (2010). Sequencing technologies — the next generation. *Nature Rev. Genet.* **11**, 31–46.
- MI H, EBERT D, MURUGANUJAN A, MILLS C, ALBOU LP, MUSHAYAMAHA T, THOMAS PD (2021). PANTHER version 16: a revised family classification, tree-based classification tool, enhancer regions and extensive API. *Nucleic Acids Res.* **49**(D1):D394-D403.
- MI H, MURUGANUJAN A, CASAGRANDE JT, THOMAS PD (2013). Large-scale gene function analysis with the PANTHER classification system. *Nat Protoc.* **8**(8):1551-66.
- MI H, MURUGANUJAN A, EBERT D, HUANG X, THOMAS PD (2019a). PANTHER version 14: more genomes, a new PANTHER GO-slim and improvements in enrichment analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **47**(D1):D419-D426.
- MI H, MURUGANUJAN A, HUANG X, EBERT D, MILLS C, GUO X, THOMAS PD (2019b). Protocol Update for large-scale genome and gene function analysis with the PANTHER classification system (v.14.0). *Nature protocols*, **14**(3), 703–721.
- MI H, THOMAS P (2009). PANTHER pathway: an ontology-based pathway database coupled with data analysis tools. *Methods Mol Biol.* **563**:123-40.
- MICHALOWICZ BS (1993). Genetic and inheritance considerations in periodontal disease. *Curr Opin Periodontol.* 11-7.
- MITCHELL AL, ATTWOOD TK, BABBITT PC, BLUM M, BORK P, BRIDGE A, BROWN SD, CHANG HY, EL-GEHALI S, FRASER MI, GOUGH J, HAFT DR, HUANG H, LETUNIC I, LOPEZ R, LUCIANI A, MADEIRA F, MARCHLER-BAUER A, MI H, NATALE DA, NECCI M, NUKA G, ORENGO C, PANDURANGAN AP, PAYSAN-LAFOSSSE T, PESSEAT S, POTTER SC, QURESHI MA, RAWLINGS ND, REDASCHI N, RICHARDSON LJ, RIVOIRE C, SALAZAR GA, SANGRADOR-VEGAS A, SIGRIST CJA, SILLITOE I, SUTTON GG, THANKI N, THOMAS PD, TOSATTO SCE, YONG SY, FINN RD (2019). InterPro in 2019: improving coverage, classification and access to protein sequence annotations. *Nucleic Acids Res.* **47**(D1):D351-D360.
- MOREIRA PR, LIMA PM, SATHLER KO, IMANISHI SA, COSTA JE, GOMES RS, GOLLOB KJ, DUTRA WO (2007). Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol.* **148**(1):119-26.
- MORI Y, YOSHIMURA A, UKAI T, LIEN E, ESPEVIK T, HARA Y (2003). Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* **18**(1):54-8.
- MOOTHA VK, LEPAGE P, MILLER K, BUNKENBORG J, REICH M, HJERRILD M, DELMONTE T, VILLENEUVE A, SLADEK R, XU F, MITCHELL GA, MORIN C, MANN M, HUDSON TJ, ROBINSON B, RIOUX JD, LANDER ES (2003). Identification of a gene causing human cytochrome c oxidase deficiency by integrative genomics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100**(2):605-10.
- MUHLEMANN HR, SON S (1971). Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* **15**(2):107-13.
- MUTHUKURU M (2012). Technical advance: decreased helper T cells and increased natural killer cells in chronic periodontitis analyzed by a novel method for isolating resident lymphocytes. *J. Leukoc. Biol.* **92**:683– 692.
- NAGALAKSHMI U, WAEM K, SNYDER M (2010). RNA-Seq: a method for comprehensive transcriptome analysis. *Curr Protoc Mol Biol.* Chapter 4:Unit **4.11**.1-13.
- NAGALAKSHMI U, WANG Z, WAERN K, SHOU C, RAHA D, GERSTEIN M, SNYDER M (2008). The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing. *Science*, **320**(5881), 1344-1349.

- NANCI A, BOSSHARDT DD (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol* 2000. **40**:11-28.
- NATHAN CF (1987). Secretory products of macrophages. *J Clin Invest*. **79**(2):319-26.
- NIBALI L, D'AIUTO F, DONOS N, GRIFFITHS GS, PARKAR M, TONETTI MS, HUMPHRIES SE, BRETT PM (2009). Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine*. **45**(1):50-4.
- NIBALI L, GRIFFITHS GS, DONOS N, PARKAR M, D'AIUTO F, TONETTI MS, BRETT PM (2008). Association between interleukin-6 promoter haplotypes and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. **35**(3):193-8.
- NIBALI L, O'DEA M, BOUMA G, PARKAR M, THRASHER AJ, BURNS S, DONOS N (2010). Genetic variants associated with neutrophil function in aggressive periodontitis and healthy controls. *J Periodontol*. **81**(4):527-34.
- NOVAKOVIĆ N, CAKIĆ S, TODOROVIĆ T, RAICEVIĆ BA, DOZIĆ I, PETROVIĆ V, PERUNOVIĆ N, GOSTOVIĆ SS, SRETENOVIĆ JK, COLAK E (2013). Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal treatment. *Srp Arh Celok Lek*. **141**(3-4):163-8.
- OKADA H, MURAKAMI S (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. **9**:248-266.
- OLIVIERI CV, RAYBAUD H, TONOYAN L, ABID S, MARSAULT R, CHEVALIER M, DOGLIO A, VINCENT-BUGNAS S (2020). Epstein-Barr virus-infected plasma cells in periodontitis lesions. *Microb Pathog*. **143**:104128.
- ORCHARD S, AMMARI M, ARANDA B, BREUZA L, BRIGANTI L, BROACKES-CARTER F, CAMPBELL NH, CHAVALI G, CHEN C, DEL-TORO N, DUESBURY M, DUMOUSSEAU M, GALEOTA E, HINZ U, IANNUCELLI M, JAGANNATHAN S, JIMENEZ R, KHADAKE J, LAGREID A, LICATA L, LOVERING RC, MELDAL B, MELIDONI AN, MILAGROS M, PELUSO D, PERFETTO L, PORRAS P, RAGHUNATH A, RICARD-BLUM S, ROECHERT B, STUTZ A, TOGNOLLI M, VAN ROEY K, CESARENI G, HERMJAKOB H (2014). The MIntAct project--IntAct as a common curation platform for 11 molecular interaction databases. *Nucleic Acids Res* **42**(Database issue):D358-63.
- PAGE RC, SCHROEDER HE (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* **33**:235-249.
- PAPADOPOULOS G, WEINBERG EO, MASSARI P, GIBSON FC 3RD, WETZLER LM, MORGAN EF, GENCO CA (2013). Macrophage-specific TLR2 signaling mediates pathogen-induced TNF-dependent inflammatory oral bone loss. *J Immunol*. **190**(3):1148-57.
- PAPAPANOU PN, ABRON A, VERBITSKY M, PICOLOS D, YANG J, QIN J, FINE JB, PAVLIDIS P (2004). Gene expression signatures in chronic and aggressive periodontitis: a pilot study. *Eur J Oral Sci*. **112**(3):216-23.
- PAPAPANOU PN, BEHLE JH, KEBSCHULL M, CELENTI R, WOLF DL, HANDFIELD M, PAVLIDIS P, DEMMER RT (2009). Subgingival bacterial colonization profiles correlate with gingival tissue gene expression. *BMC Microbiol*. **18**;9:221.
- PETERSEN D, CHANDRAMOULI, GEOGHEGAN J, HILBURN J, PAARLBERG J, KIM C, MUNROE D, GANGI L, HAN J, PURI R, STAUDT L, WEINSTEIN J, BARRETT C, GREEN J, KAWASAKI E (2005). Three microarray platforms: an analysis of their concordance in profiling gene expression. *BMC genomics*. **5**;6:63.
- POLIS B, SAMSON AO (2019). A New Perspective on Alzheimer's Disease as a Brain Expression of a Complex Metabolic Disorder. In: Wisniewski T, editor. Alzheimer's Disease [Internet]. *Brisbane (AU): Codon Publications*; Dec 20. Chapter 1.

- PROBST AV, ALMOUZNI G (2011). Heterochromatin establishment in the context of genome-wide epigenetic reprogramming. *Trends Genet.* **27**(5):177-85.
- RADVAR M, TAVAKKOL-AFSHARI J, BAJESTAN MN, NASEH MR, ARAB HR (2008). The effect of periodontal treatment on IL-6 production of peripheral blood monocytes in aggressive periodontitis and chronic periodontitis patients. *Iran J Immunol.* **5**(2):100-6.
- REN L, LEUNG WK, DARVEAU RP, JIN L (2005). The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* **76**(11):1950-9.
- RITCHIE ME, PHIPSON B, WU D, HU Y, LAW CW, SHI W, SMYTH GK (2015). Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* **43**(7):e47.
- ROCHE PA, FURUTA K (2015). The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol.* **15**(4):203-16.
- ROTOLO A, CASSAI E, FARINA R, CASELLI E, GENTILI V, LAZZAROTTO T, TROMBELLI L (2008). Human herpesvirus 7, Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in periodontal tissues of periodontally diseased and healthy subjects. *J Clin Periodontol.* **35**(10):831-7.
- SAITA M, KANEKO J, SATO T, TAKAHASHI SS, WADA-TAKAHASHI S, KAWAMATA R, SAKURAI T, LEE MC, HAMADA N, KIMOTO K, NAGASAKI Y (2016). Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption. *Biomaterials.* **76**:292-301.
- SAKAMOTO E, HATO F, KATO T, SAKAMOTO C, AKAHORI M, HINO M, KITAGAWA S (2005). Type I and type II interferons delay human neutrophil apoptosis via activation of STAT3 and up-regulation of cellular inhibitor of apoptosis 2. *J Leukoc Biol.* **78**(1):301-9.
- SAVAGE A, EATON KA, MOLES DR, NEEDLEMAN I (2009). A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of clinical periodontology*, **36**(6), 458–467.
- SAXEN L (1980). Heredity of juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* **7**:276–288.
- SAYGUN I, SAHIN S, OZDEMIR A, KURTIS B, YAPAR M, KUBAR A, OZCAN G (2002). Detection of human viruses in patients with chronic periodontitis and the relationship between viruses and clinical parameters. *J Periodontol.* **73**(12):1437-43.
- SCHAFER AS, JEPSEN S, LOOS BG (2011). Periodontal genetics: a decade of genetic association studies mandates better study designs. *J Clin Periodontol.* **38**(2):103-7.
- SCHENA M, SHALON D, DAVIS RW, BROWN PO (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* **270**(5235):467-70.
- SCHENKEIN HA (1998). Inheritance as a determinant of susceptibility for periodontitis. *J Dent Educ.* **62**(10):840-51.
- SCHROEDER HE, LISTGARTEN MA (1997). The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000.* **13**:91—120.
- SCHROEDER HE, LISTGARTEN MA (2003). The junctional epithelium: from strength to defense. *J Dent Res.* **82**(3):158-61.
- SCHUSTER SC (2008). Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nat Methods* **5**(1):16-8.
- SERBAN M (2020). Exploring modularity in biological networks. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **375**(1796):20190316.

- SHADDOX L, WIEDEY J, BIMSTEIN E, MAGNUSON I, CLARE-SALZLER M, AUKHIL I, WALLET SM (2010). Hyper-responsive phenotype in localized aggressive periodontitis. *J Dent Res.* **89**(2):143-8.
- SHAPIRA L, SMIDT A, VAN DYKE TE, BARAK V, SOSKOLNE AW, BRAUTBAR C, SELA MN, BIMSTEIN E (1994). Sequential manifestation of different forms of early-onset periodontitis. A case report. *J Periodontol* **65**: 631–635.
- SHAO MY, HUANG P, CHENG R, HU T (2009) . Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B.* **10**(12):920-7.
- SHIMIZU T, KUBOTA T, NAKASONE N, ABE D, MOROZUMI T, YOSHIE H (2011). Microarray and quantitative RT-PCR analyses in calcium-channel blockers induced gingival overgrowth tissues of periodontitis patients. *Arch Oral Biol.* **56**(3):277-84.
- SHIMONO M, ISHIKAWA T, ENOKIYA Y, MURAMATSU T, MATSUZAKA K, INOUE T, ABIKO Y, YAMAZA T, KIDO MA, TANAKA T, HASHIMOTO S (2003). Biological characteristics of the junctional epithelium. *J Electron Microsc (Tokyo).* **52**(6):627-39.
- SHYU KG, CHOY CS, WANG DC, HUANG WC, CHEN SY, CHEN CH, LIN CT, CHANG CC, HUANG YK (2015) . Change of scaling-induced proinflammatory cytokine on the clinical efficacy of periodontitis treatment. *Scientific World Journal.* **2015**:289647.
- SIGUSCH BW, WUTZLER A, NIETZSCH T, GLOCKMANN E (2006) . Evidence for a specific crevicular lymphocyte profile in aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* **41**(5):391-6.
- SLOTS J (2005). Herpesviruses in periodontal diseases. *Periodontol 2000.* **38**: 33–6
- SMITH M, SEYMOUR GJ, CULLINAN MP (2010). Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000,* **53**: 45–54.
- SMYTH GK (2005). Limma: linear models for microarray data, in Bioinformatics and computational biology solutions using R and Bioconductor. *New York: Springer*; p. 397–420.
- SNEL B, LEHMANN G, BORK P, HUYNEN MA (2000). STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. *Nucleic Acids Res.* **28**(18):3442-4.
- SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, GOODSON JM, LINDHE J (1984). New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* **11**:21-32.
- SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, SMITH GL, DZINK JL (1987). Difficulties encountered in the search for the etiologic agents of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* **14**: 588–593.
- SONG L, YAO J, HE Z, XU B (2015). Genes related to inflammation and bone loss process in periodontitis suggested by bioinformatics methods. *BMC Oral Health.* **4**;15:105.
- SØRENSEN LK, HAVEMOSE-POULSEN A, SØNDER SU, BENDTZEN K, HOLMSTRUP P (2008). Blood cell gene expression profiling in subjects with aggressive periodontitis and chronic arthritis. *J Periodontol.* **79**(3):477-85.
- SPEEDY HE, DI BERNARDO MC, SAVA GP, DYER MJ, HOLROYD A, WANG Y, SUNTER NJ, MANSOURI L, JULIUSSON G, SMEDBY KE, ROOS G, JAYNE S, MAJID A, DEARDEN C, HALL AG, MAINOU-FOWLER T, JACKSON GH, SUMMERFIELD G, HARRIS RJ, PETTITT AR, ALLSUP DJ, BAILEY JR, PRATT G, PEPPER C, FEGAN C, ROSENQUIST R, CATOVSKY D, ALLAN JM, HOULSTON RS (2014). A genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet.* **46**(1):56-60.
- STARKOV AA (2008). The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Ann N Y Acad Sci.* **1147**:37-52.
- STEIN M, KESHAV S, HARRIS N, GORDON S (1992). Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med.* **176**(1):287-92.

- STELIN S, RAMAKRISHNAN H, TALWAR A, ARUN KV, KUMAR TS (2009). Immunohistological analysis of CD1a langerhans cells and CD57 natural killer cells in healthy and diseased human gingival tissue: A comparative study. *J Indian Soc Periodontol.* **13**(3):150-4.
- STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, ZIMMERMAN S, TWIK M, FISHILEVICH S, STEIN TI, NUDEL R, LIEDER I, MAZOR Y, KAPLAN S, DAHARY D, WARSHAWSKY D, GUAN-GOLAN Y, KOHN A, RAPPAPORT N, SAFRAN M, LANCET D (2016). The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *Curr Protoc Bioinformatics.* **54**:1.30.1-1.30.33.
- STOREY JD, TIBSHIRANI R (2003). Statistical significance for genomewide studies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100**(16):9440-5.
- SUZUKI A, HORIE T, NUMABE Y (2019). Investigation of molecular biomarker candidates for diagnosis and prognosis of chronic periodontitis by bioinformatics analysis of pooled microarray gene expression datasets in Gene Expression Omnibus (GEO). *BMC Oral Health.* **19**(1):52.
- SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, JUNGE A, WYDER S, HUERTA-CEPAS J, SIMONOVIC M, DONCHEVA NT, MORRIS JH, BORK P, JENSEN LJ, MERING CV (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res.* **47**(D1):D607-D613.
- SZKLARCZYK D, GABLE AL, NASTOU KC, LYON D, KIRSCH R, PYYSALO S, DONCHEVA NT, LEGEAY M, FANG T, BORK P, JENSEN LJ, VON MERING C (2021). The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Res.* **49**(D1):D605-D612.
- TABA JR M, KINNEY J, KIM AS, GIANNOBILE WV (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* **49**(3):551-71, vi.
- TABOR H, RISCH NJ, MYERS RM (2002). Opinion: Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: Practical considerations. *Nat Rev Genet* **3**:391-7.
- TAIETE T, CASARIN RCV, RUIZ KGS, NOCITI FH JR, SALLUM EA, CASATI MZ (2018). Transcriptome of healthy gingival tissue from edentulous sites in patients with a history of generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* **89**(1):93-104.
- TERRY CF, LOUKACI V, GREEN FR (2000). Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem.* **275**(24):18138-44.
- TEUGHEL W, DHONDT R, DEKEYSER C, QUIRYNEN M (2014). Treatment of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* **65**(1):107-33.
- The Gene Ontology Consortium. (2019) The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res.*, **47**, D330–D338.
- The UniProt Consortium (2019) UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *NucleicAcidsRes.*, **47**, D506–D515.
- THOMAS PD, CAMPBELL MJ, KEJARIWAL A, MI H, KARLAK B, DAVERMAN R, DIEMER K, MURUGANUJAN A, NARECHANIA A (2003). PANTHER: a library of protein families and subfamilies indexed by function. *Genome Res.* **13**(9):2129-41.
- THOMAS PD, EBERT D, MURUGANUJAN A, MUSHAYAHAMA T, ALBOU LP, MI H (2022). PANTHER: Making genome-scale phylogenetics accessible to all. *Protein Sci.* **31**(1):8-22.
- THOMAS PD, KEJARIWAL A, GUO N, MI H, CAMPBELL MJ, MURUGANUJAN A, LAZAREVA-ULITSKY B (2006). Applications for protein sequence-function evolution data: mRNA/protein expression analysis and coding SNP scoring tools. *Nucleic Acids Res.* **34**(Web Server issue):W645-50.
- TIAN W, ZHANG LV, TASAN M, GIBBONS FD, KING OD, PARK J, WUNDERLICH Z, CHERRY JM, ROTH FP (2008). Combining guilt-by-association and guilt-by-profiling to predict *Saccharomyces cerevisiae* gene function. *Genome Biol.*, **9**(Suppl.1), S7.

- TILFORD CA, SIEMERS NO (2009). Gene Set Enrichment Analysis. *Protein Networks and Pathway Analysis*, **563**:99-121.
- TIROSH I, BILU Y, BARKAI N (2007). Comparative biology: beyond sequence analysis. *Curr Opin Biotechnol.* **18**(4):371-7.
- TONETTI MS, GREENWELL H, KORNMAN KS (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol* **89** Suppl 1:S159-S172.
- TRICK M, LONG Y, MENG J, BANCROFT I (2009). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in the polyploid *Brassica napus* using Solexa transcriptome sequencing. *Plant Biotechnol J.* **7**(4):334-46.
- TSAI CC, CHEN HS, CHEN SL, HO YP, HO KY, WU YM, HUNG CC (2005). Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* **40**(5):378-84.
- VAN DONGEN S, (2000). A Cluster Algorithm For Graphs. Tech. Rep., National Research Institute For Mathematics And Computer Science In The Netherlands, Amsterdam.
- VAN SNICK J (1990). Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol.* **8**:253–278.
- VENN JI (1880). On the diagrammatic and mechanical representation of propositions and reasonings, *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, **10**:59, 1-18.
- VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW, LI PW, MURAL RJ, SUTTON GG, SMITH HO, YANDELL M, EVANS CA, HOLT RA, GOCAYNE JD, AMANATIDES P, BALLEW RM, HUSON DH, WORTMAN JR, ZHANG Q, KODIRA CD, ZHENG XH, CHEN L, SKUPSKI M, SUBRAMANIAN G, THOMAS PD, ZHANG J, GABOR MIKLOS GL, NELSON C, BRODER S, CLARK AG, NADEAU J, MCKUSICK VA, ZINDER N, LEVINE AJ, ROBERTS RJ, SIMON M, SLAYMAN C, HUNKAPILLER M, BOLANOS R, DELCHER A, DEW I, FASULO D, FLANIGAN M, FLOREA L, HALPERN A, HANNENHALLI S, KRAVITZ S, LEVY S, MOBARRY C, REINERT K, REMINGTON K, ABU-THREIDEH J, BEASLEY E, BIDDICK K, BONAZZI V, BRANDON R, CARGILL M, CHANDRAMOULISWARAN I, CHARLAB R, CHATURVEDI K, DENG Z, DI FRANCESCO V, DUNN P, EILBECK K, EVANGELISTA C, GABRIELIAN AE, GAN W, GE W, GONG F, GU Z, GUAN P, HEIMAN TJ, HIGGINS ME, JI RR, KE Z, KETCHUM KA, LAI Z, LEI Y, LI Z, LI J, LIANG Y, LIN X, LU F, MERKULOV GV, MILSHINA N, MOORE HM, NAIK AK, NARAYAN VA, NEELAM B, NUSSKERN D, RUSCH DB, SALZBERG S, SHAO W, SHUE B, SUN J, WANG Z, WANG A, WANG X, WANG J, WEI M, WIDES R, XIAO C, YAN C, YAO A, YE J, ZHAN M, ZHANG W, ZHANG H, ZHAO Q, ZHENG L, ZHONG F, ZHONG W, ZHU S, ZHAO S, GILBERT D, BAUMHUETER S, SPIER G, CARTER C, CRAVCHIK A, WOODAGE T, ALI F, AN H, AWE A, BALDWIN D, BADEN H, BARNSTEAD M, BARROW I, BEESON K, BUSAM D, CARVER A, CENTER A, CHENG ML, CURRY L, DANAHER S, DAVENPORT L, DESILETS R, DIETZ S, DODSON K, DOUP L, FERRIERA S, GARG N, GLUECKSMANN A, HART B, HAYNES J, HAYNES C, HEINER C, HLADUN S, HOSTIN D, HOUCK J, HOWLAND T, IBEGWAM C, JOHNSON J, KALUSH F, KLINE L, KODURU S, LOVE A, MANN F, MAY D, MCCAWLEY S, MCINTOSH T, MCMULLEN I, MOY M, MOY L, MURPHY B, NELSON K, PFANNKOCH C, PRATTS E, PURI V, QURESHI H, REARDON M, RODRIGUEZ R, ROGERS YH, ROMBLAD D, RUHFEL B, SCOTT R, SITTER C, SMALLWOOD M, STEWART E, STRONG R, SUH E, THOMAS R, TINT NN, TSE S, VECH C, WANG G, WETTER J, WILLIAMS S, WILLIAMS M, WINDSOR S, WINN-DEEN E, WOLFE K, ZAVERI J, ZAVERI K, ABRIL JF, GUIGÓ R, CAMPBELL MJ, SJOLANDER KV, KARLAK B, KEJARIWAL A, MI H, LAZAREVA B, HATTON T, NARECHANIA A, DIEMER K, MURUGANUJAN A, GUO N, SATO S, BAFNA V, ISTRAIL S, LIPPERT R, SCHWARTZ R, WALENZ B, YOOSEPH S, ALLEN D, BASU A, BAXENDALE J, BLICK L, CAMINHA M, CARNES-STINE J, CAULK P, CHIANG YH, COYNE M, DAHLKE C, DESLATTES MAYS A, DOMBROSKI M, DONNELLY M, ELY D, ESPARHAM S, FOSLER C, GIRE H, GLANOWSKI S, GLASSER K, GLODEK A, GOROKHOV M, GRAHAM K, GROPMAN B, HARRIS M, HEIL J, HENDERSON S, HOOVER J, JENNINGS D, JORDAN C, JORDAN J, KASHA J, KAGAN L, KRAFT C, LEVITSKY A, LEWIS M, LIU X, LOPEZ J, MA D, MAJOROS W, MCDANIEL J, MURPHY S, NEWMAN M, NGUYEN T, NGUYEN N, NODELL M, PAN S, PECK J, PETERSON M, ROWE W, SANDERS R, SCOTT J, SIMPSON M, SMITH T, SPRAGUE

- A, STOCKWELL T, TURNER R, VENTER E, WANG M, WEN M, WU D, WU M, XIA A, ZANDIEH A, ZHU X (2001). *The sequence of the human genome. Science.* **291**(5507):1304-51.
- VIVIER E, RAULET DH, MORETTA A, CALIGIURI MA, ZITVOGEL L, LANIER LL, YOKOYAMA WM, UGOLINI S (2011). Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science.* **331**(6013):44-9.
- WAERHAUG J (1976). Subgingival plaque and loss of attachment in periodontitis as observed in autopsy material. *J Periodontol.* **47**(11):636-42.
- WANG Z, GERSTEIN M, SNYDER M (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature reviews genetics*, **10**(1), 57-63.
- WANG K, SCHEEL-TOELLNER D, WONG SH, CRADDOCK R, CAAMANO J, AKBAR AN, SALMON M, LORD JM (2003). Inhibition of neutrophil apoptosis by type 1 IFN depends on cross-talk between phosphoinositol 3-kinase, protein kinase C-delta, and NF-kappa B signaling pathways. *J Immunol.* **171**(2):1035-41.
- WANG L, WU LF, LU X, MO XB, TANG ZX, LEI SF, DENG FY (2015). Integrated Analyses of Gene Expression Profiles Digs out Common Markers for Rheumatic Diseases. *PLoS One.* **10**(9):e0137522.
- WRIGHT HJ, MATTHEWS JB, CHAPPLE IL, LING-MOUNTFORD N, COOPER PR (2008). Periodontitis associates with a type 1 IFN signature in peripheral blood neutrophils. *J Immunol.* **181**(8):5775-84.
- WOLFF L, DAHLÉN G, AEPPLI D (1994). Bacteria as risk markers for periodontitis. *Journal of periodontology*, **65**(5 Suppl), 498–510.
- WU JJ, EYRE DR, SLAYTER HS (1987). Type VI collagen of the intervertebral disc. Biochemical and electron-microscopic characterization of the native protein. *Biochem J.* **248**(2):373-81.
- XU T, DONG Q, LUO Y, LIU Y, GAO L, PAN Y, ZHANG D (2021). Porphyromonas gingivalis infection promotes mitochondrial dysfunction through Drp1-dependent mitochondrial fission in endothelial cells. *Int J Oral Sci.* **13**(1):28.
- XYNOGALA I, VOLGINA A, DIRIENZO JM, KOROSTOFF J (2009). Evaluation of the humoral immune response to the cytolethal distending toxin of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 in subjects with localized aggressive periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* **24**: 116–123.
- YARILINA A, PARK-MIN KH, ANTONIV T, HU X, IVASHKIV LB (2008). TNF activates an IRF1-dependent autocrine loop leading to sustained expression of chemokines and STAT1-dependent type I interferon-response genes. *Nat Immunol.* **9**(4):378-87.
- YEAGER M, ORR N, HAYES RB, JACOBS KB, KRAFT P, WACHOLDER S, MINICHELLO MJ, FEARNHEAD P, YU K, CHATTERJEE N, WANG Z, WELCH R, STAATS BJ, CALLE EE, FEIGELSON HS, THUN MJ, RODRIGUEZ C, ALBANES D, VIRTAMO J, WEINSTEIN S, SCHUMACHER FR, GIOVANNUCCI E, WILLETT WC, CANCEL-TASSIN G, CUSSENOT O, VALERI A, ANDRIOLE GL, GELMANN EP, TUCKER M, GERHARD DS, FRAUMENI JF JR, HOOVER R, HUNTER DJ, CHANOCK SJ, THOMAS G (2007). Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet.* **39**(5):645-9.
- YU T, ZHAO L, HUANG X, MA C, WANG Y, ZHANG J, XUAN D (2016). Enhanced Activity of the Macrophage M1/M2 Phenotypes and Phenotypic Switch to M1 in Periodontal Infection. *J Periodontol.* **87**(9):1092-102.
- ZHANG X, JIANG Y, MAO J, REN X, JI Y, MAO Y, CHEN Y, SUN X, PAN Y, MA J, HUANG S (2021). Hydroxytyrosol prevents periodontitis-induced bone loss by regulating mitochondrial function and mitogen-activated protein kinase signaling of bone cells. *Free Radic Biol Med.* **176**:298-311.
- ZHOU Y, CHEN L, FAN X, BIAN Y (2014). De novo assembly of *Auricularia polytricha* transcriptome using Illumina sequencing for gene discovery and SSR marker identification. *PLoS One* **9**(3):e91740.,
- ZHU C, LI F, WONG MC, FENG XP, LU HX, XU W (2015). Association between Herpesviruses and Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis Based on Case-Control Studies. *PLoS One.* **10**(12):e0144319.

ZITZMANN NU, BERGLUNDH T, LINDHE J (2005). Inflammatory lesions in the gingiva following resective/non-resective periodontal therapy. *J Clin Periodontol* **32**(2):139-46.

