



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDE
HÜCRE İSKELETİ PROTEİNLERİNDEN
***N-WASP*'İN ROLÜ**

Hazırlayan

Azize ÖZEN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr.Öğr.Üyesi Nihan BOZKURT

TOKAT-2022

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDE
HÜCRE İSKELET PROTEİNLERİNDEN
N-WASP'IN ROLÜ

Azize ÖZEN

TOKAT-2022

*Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:2021/60)

Her hakkı saklıdır

ETİK SÖZLEŞME

T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

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

22/02/2022

Azize ÖZEN

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle eğitim hayatıma yön veren ve desteğini her zaman hissettiğim ve bundan sonraki eğitim hayatım boyunca bilgi ve deneyimine ihtiyaç duyacağım sevgili danışmanım Dr Öğr.Üyesi Nihan BOZKURT'a,

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim dalı hocalarım Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e, Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ'a, Biyoistatistik Anabilim dalı hocam Dr.Öğr. Üyesi Osman DEMİR'e , Arş.Gör. Sadegül ŞAVKIN'a,

Tezimde doku toplanmasında yardım eden Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim dalı Dr.Öğr. Üyesi Esengül ŞEN'e, Arş.Gör. Gül SARITAŞ'a ve Arş.Gör. Yunus BALEL'e,

Tezimin deney ve yazım aşamasında beni sabırla dinleyen ve yardımlarını esirgemeyen Phd Kübra ŞAHİN'e,

Eğitim sürecinde beraber ders alıp, birbirimizi sürekli motive ederek her sorunun üzerinden beraber geldiğimiz çok sevgili çalışma arkadaşlarım, Asiye YANCI'ya, İrem YILDIZ'a, Mustafa KOÇAK'a ve Yusuf SELEN'e,

Sürekli yanımda olan ve beni sabırla dinleyen çok sevgili, Kübra YANCI'ya ve Neşe KARABAY'a,

Çocukluğumdan bu yana rol model olarak aldığım tüm hayatımda desteğini her zaman hissettiğim dayılarım Ferhat ve Zülfü'ye beni sürekli motive ederek hayatıma renk ve yön veren sevgili ablam Güner'e,

Varlıklarıyla hayatıma neşe katan sevgili kardeşlerim, Esengül, Yağmur ve Aysu'ya, her zaman arkamda duran ve beni maddi manevi destekleyen canım babam Adnan'a ve canım annem Selma'ya,

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...



Bilimin Işığına ve Bana Güvenen Çok Sergili

ANNEM VE BABAMA...

ÖZET
PERİODONTİTİS GELİŞİMİNDE HÜCRE İSKELET PROTEİNLERİNDEN
***N-WASP*'İN ROLÜ**

ÖZEN, Azize

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT

Şubat 2022, xv+ 71 sayfa

Periodontitis, dişeti bağ dokusunun tahribiyle oluşan enflamatuvar bir hastalıktır. Dişeti bağ dokusunda, immün yanıtın oluşturulamaması, yeterli miktarda antikor üretilmemesi durumunda doku yıkımı artarak devam etmekte ve bu süreç sonucunda diş kayıpları meydana gelmektedir. Hücre iskeleti; hücre içi şekil, organel dağılımı, hücre hareketi, makromolekül taşınması gibi hayati süreçlerde rol oynamaktadır. Hücre iskeleti temel olarak; mikrotübüller, aktin ve ara filamentlerden oluşmaktadır. Hücre göçü sitoplazmada hücre iskeleti olarak tabir edilen lifli protein filamentlerinin aracılık ettiği hücresel bir süreçtir. Aktin, hücre iskeletinde kilit rol oynamakla birlikte hücre proliferasyonu, hücre içi organel ve vezikül taşınması, sinyal iletimi, hücre göçü ve epitel dokuların polaritesinin korunmasında önemli rol almaktadır. Aktinin hücre çekirdeklenmesinde Wiskott-Aldrich sendromu proteinleri (*WASP*, *N-WASP*) görevlidir. *N-WASP* aktin hücre iskelet yapısını değiştirerek çeşitli sinyal molekülleriyle iletişim kurmaktadır. Hücre bölünmesinde ise, kontrol proteini 42 (*Cdc42*) ve aktin ilişkili protein 2/3 (*Arp2/3*) kompleksiyle etkileşim kurmaktadır. *N-WASP*'ın hücre göçünde rol aldığına dair bir çok literatür çalışması mevcuttur. Çalışmamızda periodontitis tanısı almış 20 hasta ve aynı hastaya ait 20 kontrol dokusunda, *N-WASP*'ın mRNA düzeyinde ekspresyonu RT-PZR kullanılarak araştırıldı. Hasta ve kontrol dokularında *N-WASP* geninin belirli düzeyde artışı gözlemlendi, fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. Hasta ve kontrol grupları arasında demografik verilerle yapılan analizlerde, kanama skoru, plak skoru ve diş eti çekilmesi yaşa bağlı olarak erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranlarda saptandı. Plak oluşumunda ise cinsiyete bağlı olarak bir değişim gözlemlendi ve plak oluşumunda kadınların erkeklere oranla daha yatkın olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Aktin, Arp2/3, Hücre göçü, *N-WASP*, Periodontitis, qt-PZR

ABSTRACT
THE ROLE OF N-WASP WITH CELL SKELETON PROTEIN IN
PERIODONTITIS DEVELOPMENT

OZEN, Azize

Master's Thesis, Department of Medical Biology

Advisor: Assistant Professor, Nihan BOZKURT

February 2022, xv+71 pages

Periodontitis is an inflammatory disease caused by the destruction of the gingival connective tissue. If the immune response cannot be formed and sufficient amount of antibodies cannot be produced in the gingival connective tissue, tissue destruction continues increasingly and tooth loss occurs as a result of the processes during this process. Cytoskeleton; it plays a role in vital process such as intracellular shape, organelle distribution cell movement, macromolecule transport. The cytoskeleton is basically; it consists of microtubules, actin and intermediate filaments. Cell migration is a cellular process mediated by fibrous protein filaments called the cytoskeleton in the cytoplasm. Although actin plays a key role in the cytoskeleton, it plays an important role in cell proliferation intracellular organelle and vesicle transport, signal transduction, cell migration and maintaining the polarity of epithelial tissues. Wiskott-Aldrich syndrome proteins (*WASP*, *N-WASP*) are involved in cell nucleation of actin. *N-WASP* communicates with various signaling molecules by changing the actin cytoskeleton structure. In cell division, it interacts with the control protein 42 (*Cdc42*) and actin-associated protein 2/3 (*Arp2/3*) complex. There are many literature studies on the role of *N-WASP* in cell migration. In our study, the expression of *N-WASP* at the mRNA level was investigated using RT-PZR in 20 patients diagnosed with periodontitis and 20 control tissues from the same patient. A certain increase in the *N-WASP* gene was observed in patient and control tissues, but this increase was not statistically significant. In the analyzes performed with demographic data between the patient and control groups, bleeding score, plaque score and gingival recession were found to be higher in men than in women, depending on age. A gender-related change was observed in plaque formation, and it was observed that women were more prone to plaque formation than men.

Keywords: Actin, *Arp2/3*, Cell migration, *N-WASP*, Periodontitis, qt-PCR

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	II
ÖNSÖZ	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
Şekiller Dizini	IIX
Tablolar Dizini	Hata! Yer işareti tanımlanmamış. X
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ.....	XI
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması.....	5
2.1.1. Kronik periodontitis.....	5
2.1.2. Agresif periodontitis	6
2.1.3. Sistemik hastalığın belirtisi olarak periodontitis	6
2.1.4. Nekrotizan periodontal hastalık	6
2.1.5 .Periodontal apse.....	7
2.2. Periodontitisin Etiyolojisi.....	7
2.3 .Periodontitisin Mikrobiyolojisi	8
2.4. Periodontitisin Patogenezi.....	9
2.5. Periodontitiste İltihaplanma Süreci ve Doku Yıkımı	10
2.6 .Periodontitis Gelişiminde Sitokinler	11
2.7 ..Periodontitis Gelişiminde İnterlökinler	13
2.8. HÜCRE İSKELETİ.....	17
2.9. HÜCRE GÖÇÜ	21
2.9.1. NF-kB Sinyal Yolu	22
2.9.2. MAP Kinaz Sinyal Yolağı	23
2.10. N-WASP GENİ.....	25
3. MATERYAL ve METOD	33
3.1. MATERYAL.....	33
3.1.1 .Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	33
3.1.2. Dokuların Saklanması	33
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	33
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Sarf ve Kimyasallar	34
3.1.4.1. RNA İzolasyon Kiti	34

3.1.4.2. cDNA izolasyon Kiti	34
3.1.4.1.3. Qubit ssDNA Test Kiti	35
3.1.4.1.4. Real time PZR Kiti	35
3.1.4.1.5. Kit Harici Malzemeler	35
3.2 METOD.....	36
3.2.1. RNA İzolasyon Protokolü (K0731)	36
3.2.2 RNA' dan cDNA sentezi	37
3.2.3. cDNA Konsantrasyonlarının Ölçümü.....	38
3.2.4. Gerçek Zamanlı PZR (RT-PCR).....	38
3.2.5 RT-PZR Aşaması	39
4.BULGULAR.....	41
4.1. Real-Time PZR Analiz Sonuçları	41
4.2. N-WASP Geni qRT-PZR Sonuçlarının İstatiksel Analizi	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	54
KAYNAKÇA.....	60
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Sağlıklı ve Periodontitis Dokusundaki Farklılıklar	9
Şekil 2.2 Sitokinlerin Etkileşimi	12
Şekil 2.3 Mikrotübül ve Ara Filament Yapısı	21
Şekil 2.4 Mitojenle Aktive olan Protein Kinaz (MAPK) Sinyal Yolları	24
Şekil 2.5 WASP'ın Moleküler Yapısı ile İlgili Proteinlerin Şematik Gösterimi.....	26
Şekil 2.6 WASP Etkileşimli Proteinler.....	27
Şekil 2.7 N-WASP Bağlanma ve Ayrılma Mekanizması.....	29
Şekil 2.8 T Hücresinin Aracılık Ettiği Sinyal Yolağı Diyagramı	30
Şekil 2.9 N-WASP'ın Kromozom Lokasyonu	30
Şekil 4.1 Çalışılan Hastalarda Cinsiyet Dağılımı	41
Şekil 4.2 N-WASP Amplifikasyon Grafiği	42
Şekil 4.3 ACTB Genine ait Erime Eğrisi.....	43
Şekil 4.4 N-WASP Geni Ekspresyon Düzeyleri.....	44
Şekil 4.5 N-WASP'ın $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Değeri ile Kontrol Doku Grubu Gen Ekspresyonu	54
Şekil 4.6 N-WASP Genine Ait Hasta Kontrol Gruplarına ait $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Grafiği.....	54

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1 Aktine Bağlanan Proteinler (Cooper ve Hausman, 2019)	20
Tablo 3.1 cDNA Sentezi için Kullanılan Bileşenler	37
Tablo 3.2 cDNA PZR döngüsü	38
Tablo 3.3 RT-PZR'ın Bileşen ve Miktarları (herbir örnek için)	39
Tablo 3.4 . Çalışma için Kullanılan Primerler	40
Tablo 3.5 qRT-PZR Programı	40
Tablo 4.1 Nitel Değişkenler Dağılımı	46
Tablo 4.2 Nicel Değişkenler Dağılımı	46
Tablo 4.3 Cinsiyete Göre Nitel Değişkenler Dağılımı	48
Tablo 4.4 Yaşın Nitel Değişkenlere Göre Dağılımı	49
Tablo 4.5 Bağımlı Değişkenlere Bağlı Nitel Değişkenler	50
Tablo 4.6 Yaşa Bağlı Plak Oluşumu	51
Tablo 4.7 Yaşa Bağlı Oluşan Dişeti Çekilmesi	51
Tablo 4.8 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Değerlerinin Nitel Değişkenlere göre Dağılımı	53

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
ABD	Amerika Birleşik Devleti
ACTB	Aktin
ADF	Aktin depolimerizasyon faktörü
AgP	Agresif Periodontitis
AP	Adaptör protein kompleksi
Arf	Adenozin difosfat ribosilasyon faktörü
Arp2/3	Aktin ilişkili protein kompleksi
ATP	Adenozin trifosfat
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
CapZ	Heterodimerik protein kompleksi
CD8	T hücresi ko-reseptörü
Cdc42	Hücre iskelet kontrol proteini
cDNA	mRNA' dan sentezlenen DNA
cREL	Protein
Crk1	Sikline bağımlı kinaz
dk	Dakika
DN	Baskın negatif
Dntp A-C-G-T	Adenin-Sitozin-Guanin-Timin nükleotitleri
DsDNA	Çift zincirli DNA antikoru
E2	Siklin proteini
ECM	Hücre dışı matris
EFC	Membran deformasyon sağlayan protein
ER	Endoplazmik retikulum
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinaz
ER- α	Östrojen reseptörü alfa
FAK	Fokal adezyon kinaz
F-BAR	Membran deforme edici protein

GAB	Yapı iskele adaptör proteini
GAP	GTPaz aktive edici protein
GCF	Dişeti oluğu sıvısı
GDP	Guanozin difosfat
GEF	Guanin nükleotid değişim fatörü
GFAB	Glial fibriller asit proteini
GPCR	G-protein bağlı reseptör
GTP	Guanozin trifosfat
GTPase	G protein ailesi enzimi
HDL-C	Kolesterol
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
IE	Epilepsi
IgE	İmmünoglobulin E
IgG	İmmünoglobulin G
IL	İnterlökin
JNK	Jun amino-terminal kinazlar
KAH	Konjenital Adrenal Hiperplazi
Las17	WASP maya homologu
LAT	Transmembran proteini
MAPK	Mitojen aktive edici protein kinaz
MMP	Matris metalloproteinkinazlar
mRNA	Mesajcı RNA
Mtb	Metabolik hastalıklar
MTLn3	Sıçan adenokarsinomu
Nck	Tirozin fosforilasyon adaptör proteini
NFAT	Uzun süreli aktive olmuş T hücre reseptörü
NF-K β	Aktifleştirilmiş B hücre nükleer faktörü
NPF	Çekirdeklenme teşvik edici faktör
N-WASP	Nöronal Wiskott Alderich Sendromu Proteini
P38/SAPK	Stresle aktive olan protein kinazlar

PH	Plekstrin homologisi
PIP2	Fosfoinositol 4-5 bi fosfat
PPR/PRB/PPP	Prolin açısından zengin bölge
PSTPIP	Prolin-serin-treonin fosfataz proteini
Rac	GTP'ye bağlı efektör protein
RANKL	Matür osteokalat oluşum stimülatörü
RelA	Nükleer transkripsiyon NF-kB faktörü
Rho	Ras protein homologisi
RNAase	RNA parçacıkları
rpm	Dakikada dönme sayısı
RTK	Reseptör tirozin kinaz
RT-PCR	Gerçek zamanlı Polimeraz zincir reaksiyonu
SDC	Ryudokan çekirdek proteini
SDF1-a	Stromal büyüme faktörü
Ser	Serin
SH3	Src homoloji alanı
ShRNA	Küçük kısa RNA'lar
SLP-76	Lökosit fosfo proteini
sn	Saniye
SNP	Tek nükleotid polimorfizm,
Src	Proto-onkogen protein kinazlar
T / B hücreleri	Bağıışıklık hücreleri
TCR	T hücresi reseptörü
TE buffer	Tris-EDTA (elektroforez tamponu)
TGY	Korunmuş treonin ve tirozin kinazlar
Th17	T yardımcı hücreler
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α
TPCA-1 tiyofenkarboksamid	2-(aminokarbonil)-amino-5(4-florofenil)-3-

VCA	Kofilin homoloji bölgesi
WAS	Wiskott-Aldreich sendromu proteini
WAVE	Verprolin homoloji proteini
WCA	SH2 asidik ve bağlantı bölgesi
WH2	WASP homoloji-2 alanı
WHD	WAVE homoloji alanı
μ l	Mikrolitre
$^{\circ}$ C	Santigrat derece



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Periodonsiyum, dişi çevreleyerek, destekleyen dokular bütünüdür. Dişeti periodontal ligament, kök sementi ve alveoler kemik yapısından oluşmaktadır. Periodontal hastalıklar diş ve dişeti çevresinde meydana gelen, bakteriyel birikime ve kemik bağ dokusunda inflamatuvar cevap oluşmasıyla gerçekleşen kronik ve enfeksiyöz hastalıklardır (Newman ve ark., 2018). Periodontal hastalıklar, toplumda gingivitis ve periodontitis olarak gözlenir. Gingivitis; diş eti iltihabı olarak ifade edilen ve diş hastalıkları arasında en sık gözlenen formudur. Periodontitis ise; dişi destekleyen periodontal ligament (dişin çene kemiğine tutunmasını sağlayan lifler) alveoler kemik ve yumuşak dokularda meydana gelen enflamasyon sonucu oluşmaktadır. Hastalığın görölmesinde, genetik faktörler, çevresel etmenler; beslenme, ağız içi temizliği gibi durumlara ek olarak diyabet, romatoid artrit, kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli sistemik hastalıklarda periodontitis gelişimini etkilemektedir. Periodontal hastalıkların çevresel etmenler ve çeşitli mikrobiyal ajanlara karşı ilk savunma hattı dişeti dokusunun kaybı olabilmektedir. Özellikle epitel hücreleri sıkı bağlantılar, yapışma bağlantıları, dezmozomlar ve boşluk bağlantıları ile birbirine bağlanır ve dişeti dokusunun yüzey tabakasında epitel bir bariyer oluşturur. Periodontitis tedavi edilmediğinde diş kaybı meydana gelmektedir (Chen ve ark., 2011).

Periodontitis her zaman gingivitis takiben oluşur ancak bütün gingivitisler periodontitise ilerlemez (Mariotti, 1994). “Konak savunma sistemi; bakteriler, antijenler, lipopolisakkaritler ve diğer viral etmenlere karşı antikor ve polimorfonükleer lökositlere cevaben gelişir” (Kuyucuklu, 2013). Bu etmenlerin birlikte etkili olmasıyla, sitokinler, prostanooidler, matriks metalloproteinazlar ve diğer molekül yapıları salgılanır. Bakteriler bu durumda konak savunma sistemini aktifleştirerek dolaylı yoldan bağ doku ve kemik yıkımını başlatmış olur. Bağışıklık hücreleri fibroblastlar ve osteoblastlar periodontal dokunun savunma ve korunmasından sorumlu olan yapılardır. Bağışıklık hücreleri bir yandan savunma ve koruma işlevini gerçekleştirirken diğer yandan dokunun hasar ve yıkımına neden olur (Graves ve ark., 2001).

Periodontal hastalıkta immünolojik cevabın oluşmasında ve düzenlenmesinde en önemli görevi sitokinler alır. IL-1, TNF- α ve IL-10 gibi sitokinler önemli görevleri üstlenirler, bunlar lökosit ve endotel hücre üzerindeki adhezyon moleküllerini artırıcı etki

göstererek damar dışına çıkması ve dokuya sızmasına neden olmaktadır. IL-1 ve TNF gibi uyarıcıların uyarılması, kemotaktik sitokinler ve prostaglandinler üreten siklooksijenazlarla işlev gören kemokinleri uyarmasıyla bağışıklık cevabı oluşur böylece bağ doku yıkımıyla kemik kaybında artış meydana gelmektedir(Graves ve Cochran, 2003).

Hücre göçü, gelişim, doku onarımı ve bağışıklık tepkileri gibi temel fizyolojik süreçler için gereklidir, ayrıca kronik inflamatuvar hastalıklar ve kanser istilası gibi çeşitli patolojik süreçlerde de rol almaktadır. Hücre göçünün kusursuz bir şekilde gerçekleşebilmesi için rolleri iyi tanımlanmış olan üç hücre iskelet elemanının koordineli bir şekilde çalışması gerekir. Bu iskelet elemanları, aktin, mikrotübüller ve ara filamentlerdir. Hücre iskelet ağı, hücre iskeleti çapraz bağlayıcıları veya dolaylı olarak sinyal kaskadı yoluyla etkileyebilir. Hücre iskelet elemanlarının dinamiklerini kordine etmenin en basit yolu üç ağı aynı anda düzenleyebilen sinyal kaskadlarından geçer. Küçük Rho-GTPaz ailesi, hücre iskeleti üzerindeki çoklu etkileriyle hücre göçünü düzenler. Ras ilişkili C3 botulinum toksin substratı 1-3 (Rac1-2-3) ve hücre bölünme döngüsü 42 (Cdc42) protein aktivitesiyle hücre çıkıntısındaki fosfoinositid sinyalleşmesi aktin polimerizasyonunu destekler. Ras homolog üyeleri ise A, B, C (RhoA, RhoB, RhoC) aktin filamentlerini stabilize eder ve aktomiyozin kontraktilitesini kontrol eder (Seetharaman ve Etienne-Manneville, 2020).

Arp2/3 kompleksi aktin filamentlerinin oluşumunu uyarır. Filament dallanması ökaryotik hücreler gibi daha yüksek organizmalarda inaktiftir ve aktifleşmesi için WASP ailesi proteinleri gibi aktivatör proteinlere ihtiyaç duymaktadır. WASP'ın etkileşime girmesiyle Arp2/3 kompleksi, G-aktin ile dallanmayı teşvik etmek için C-terminali VA alanı aktin filamentlerini oluşturur. N-WASP etkinliğiyle fosfatidilinositol bisfosfat gibi efektörlerin bağlanmasıyla yapı daha da güçlenir. Arp2/3 kompleksinin aktivasyonu, aktin polimerizasyonunu katalize eder ve N-WASP iki WH2 bağlanma alanı içerir, böylece memeli WASP protein ailesindeki diğer üyelere nazaran VCA bölgesiyle ilişkili olarak daha yüksek bir çekirdeklenme sergiler (Carlier ark., 2003).

WASP ve N-WASP'ın VCA alanının Cdc42/Rac etkileşimli bağlanma (CRIB) alanı tarafından otomatik inhibisyonuyla hücre içinde kapalı bir formdadır. Bu konformasyon VCA bölgesinin maskelemekte C ve A alanlarının Arp2/3 kompleksinin

aktifleşmesini önlemektedir. WASP ve N-WASP yapısındaki serin ve tirozin kalıntıları, aktivite ve lokalizasyonlarını etkileyebilen çok sayıda kinaz tarafından fosforillenir. WASP ve N-WASP salınması, CRIB bölgesine bitişik Src tirozin kinaz ailesi tarafından protein fosforilasyonunun ardında molekül içi etkileşimlerle gerçekleşir. Fokal yapışma kinazı (FAK), nükleer lokalizasyonunu etkileyen ve hücre göçünü destekleyen N-WASP'ın tirozin kalıntısı 256'yı fosforile eder. FAK ve N-WASP aktivasyonu arasındaki bu bağlantı N-WASP aktivasyonunu uyarır ve bu yolla uyarılan Arp2/3 hücre hücre hareketliliği için aktin polimerizasyonunu başlatmış olur (Lane ve ark., 2014). WASP/WAVE ailesi üyelerinin aktivasyonu, vezikül trafiği, mikrobiyal enfeksiyonu ve hücre substratı yapışması gibi aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi gereken birçok biyolojik süreçte yer almıştır (Bompard ve Caron, 2004).

Son çalışmalarda, aktin hücre iskeletinin düzenlenmesinde rol oynayan proteinlerin yetersiz veya anormal ekspresyonu, giderek artan bir şekilde immün yetmezlik ve/veya otoimmün/inflamatuar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Aktin hücre iskeletinin düzenlenmesi, hücre içi etkileşimler, özellikle immün sinaps oluşumu ve sitotoksik T hücrelerinin yanı sıra inflammatuar hücre göçü için kritiktir (Lafouresse ve ark., 2013)

Çalışmamızda 20 hastanın periodontitis dokusu ve normal dişeti dokusunda N-WASP ekspresyonu için RNA izolasyonu yapılarak bu RNA'lar cDNA'ya çevrildi. Gerçek zamanlı PZR analizi ile N-WASP geni ifade düzeyindeki değişim saptandı. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırılarak N-WASP ifadesindeki değişimin periodontitis patogenezinde moleküler düzeyde bir rolü olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamıza ait verilerin, periodontitis moleküler mekanizmasının anlaşılmasında gelecek çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

Geçmişi muhtemelen 5000 yıl önceye dayanan periodontitis için eski Mısır ve Çin kaynaklarındaki yazılarda o dönem hekimlerinin tedaviye uygun çözümler üretmeye çalıştıkları gözlenmişti.19.yy ikinci yarısına kadar periodontitisin büyük ölçüde sistemik faktörlerle ilişkili olduğu düşüncesi yaygındı. Adolp Witzel, (1847-1906) bakterileri periodontal hastalığın nedeni olarak düşünmekteydi. Bunun yanı sıra periodontitisin gelişiminde birçok etmeninde yer alabileceği de bir çok kişi tarafından daha o dönemlerde kabul görmekteydi. Mark Twain periodontitis etiyolojisinde lokal iritanların önemli olduğunu ve sistemik faktörlerden ziyade lokal faktörlerin ortadan kaldırılmasının hastalık tedavisi için düşünülebileceğini bildirmiştir (Highield, 2009).

Uzun yıllar önce periodontitis Amerika’da “Riggs hastalığı” olarak bilinmekteydi. 19.yy periodontitisin etiyolojisi ve patogenezi hakkında çok az şey bilinmekteydi. Temel olarak sınıflandırmaları, klinik özellikleri ve etiyolojileri hakkında teorik olarak temellendirme yapılan periodontitis “ Pyorrhea alveolaris” terimiyle anıldı. Periodontitis prevelansı, coğrafi konum, etnik köken, yaş, eğitim düzeyi, sağlık hizmetlerinin mevcudiyeti ve sistemik hastalıklara göre değişim göstermektedir. ABD yetişkin popülasyonunun %40’ından fazlasını etkilemekte ve şiddetli periodontitis dünya çapında altıncı en yaygın hastalık olarak rapor edilmiştir. 2017’de şiddetli periodontitisin dünya nüfusunun yaklaşık %7,4’ünü etkilediği tahmin edilmektedir(Stødle ve ark., 2021). Periodontitisin önemli etkenlerinden biri olan ağız sağlığı konusunda son 25 yıl içerisinde net bir iyileşme gözlenememiş ve günümüzde ağız sağlığı tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Demografik değişimler nedeniyle nüfus artışı ve yaşlanma dahil olmak üzere oral rahatsızlıkların kümülatif yükü 1990-2015 yılları arasında çarpıcı bir şekilde artmıştır. Tedavi edilemeyen oral rahatsızlıklara sahip kişiler 1990’da 2,5 milyardan 2015’te 3,5 milyar kişiye yükselmiştir. Birçok ülkede nüfusta artış ve yaşlanma devam ettikçe istisnasız bu sayı artmaya devam edecektir (Kassebaum ark., 2017).

2.1 Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontitis, dişeti kanaması, periodontal cep oluşumu, bağ dokusu ataşmanın tahribatı ve alveolar kemik kaybı ile karakterize kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Doku ve kemik yıkımı, periodontal bakteriler ile konağın immun inflamatuvar yanıtları arasındaki etkileşimden kaynaklanır (Wu ve ark., 2022).

Periodontitisin ilk sınıflandırılması Armitage (1870-1920) tarafından yapılmıştır. Armitage; klinik özellikleri, klasik patoloji, enfeksiyon ve konak yanıtı olarak üç temel sisteme göre sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma yapılırken 1920'den 1970'e klasik patolojiye göre yapılırken 1970'den günümüze enfeksiyon/yanıt şeklinde düzenlenmiştir. 1999'da Uluslararası Periodontal Hastalıklar ve Durumların Sınıflandırılması Çalıştayıyla bir dişeti hastalığı kategorisinin ortaya çıkmasına, yetişkin periodontitisin kronik periodontitis olarak değiştirilmesine ve erken başlangıçlı periodontitis ise agresif periodontitis olarak değiştirildi. 2017 yılında güncellenen çalıştayla, Periodontitis güncel patofizyolojisine göre dişeti hastalıkları;

- Kronik periodontitis
- Agresif periodontitis
- Sistemik hastalıkların belirtisi olarak periodontitis
- Nekrozitan periodontal hastalıklar
- Periodonsiyum apseleri
- Endodontik lezyonlarla ilişkili periodontitis olarak 6 grupta sınıflandırmıştır (Highfield, 2009).
-

2.1.1 Kronik periodontitis

Dişlerin destekleyici yapılarında iltihaplanma, ilerleyici ataşman ve kemik kaybı ile sonuçlanan bulaşıcı bir hastalıktır. Periodontitisin en sık görülen formu olarak kabul edilir ve cep oluşumu veya dişeti çekilmesi ile karakterizedir. Yetişkinlerde yaygın olarak görülür, ancak çocuk ve ergenlerde de görülme olasılığı da vardır. Hastalığın prevalansı ve şiddeti yaşa bağlı olarak artmakta ve subgingival kalkülüs sık görülen bulgudur. Yavaş ve orta derecede ilerleme hızına sahiptir ancak kimi dönemler, ilerlemesi hızlanabilir. Hastalığın seyri ortamdaki faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Kronik

periodontitis gelişiminde sistemik hastalıkların yanı sıra (diyabet, HIV, kardiyovasküler hastalıklar vs.) sigara ve stres de etkili olabilmektedir(Highfield, 2009).

2.1.2 Agresif periodontitis

Hastalık, genellikle 30 yaş altı kişilerde gözlemlenmekte ancak daha üst yaşlarda da gözlemlenebilmektedir. Genetik kökenli de olabilmektedir. Hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı yaşanabilmektedir. Ataşman kaybı miktarına göre generalize veya lokalize olarak tanımlanmaktadır. Ataşman kaybı %30'dan az ise lokal , %30'dan fazla ise generalize olarak değerlendirilmektedir. Agresif periodontitiste, enfekte edici ajanlara karşı serum antikor yanıtı zayıftır, sigara, stres, kullanılan ilaçlar ve değişen cinsel hormonlar hastalık seyrini etkileyebilmektedir(Highfield, 2009).

2.1.3 Sistemik hastalığın belirtisi olarak periodontitis

Bu kategoride periodontal hastalığın hastalık sürecinin tezahürü hastalıkları içerecek şekilde yeniden tanımlanmıştır. Edinilmiş nötropeni ve lösemi gibi çeşitli hematolojik bozukluklar, ailesel ve siklik nötropeni, down sendromu, lökosit yapışma eksikliği sendromu, Papillon-Lefevre sendromu, Chediak-Higashi sendromu, histiositoz sendromları, hipofosfatazi gibi ve diğer genetik bozukluklar, HIV ve diyabet gibi hastalıklar hem agresif hem de kronik periodontitisin spesifik kanıtları olmasa dahi periodontitis gelişimini etkileyebilmektedir(Highfield, 2009).

2.1.4 Nekrotizan periodontal hastalık

Bu kategoride ataşman kaybının çok az veya hiç olmadığını gösteren ilk enfeksiyonların olduğu bir sürekliliğinin parçası olduklarını düşündürmekte, ancak hastaların yatkın olduğu tekrarlayan enfeksiyonlarda bağlanma kaybı bu kategoride daha belirgin hale gelmektedir(Highfield, 2009).

2.1.5 Periodontal apse

Çalıştayda periodontal apse ayrı bir kategoride eklenmiştir. Periodontal apse oluşumunun hem kronik hem de agresif periodontitisin klinik bir özelliği olmasına rağmen, spesifik tanı ve tedavi gerektiren farklı bir klinik antite olarak ortaya çıktığı ve bu nedenle farklı bir sınıflandırma yapılmasına gerek duyulmuştur. Çoğu durumda periodontal apse oluşumu, önceden var olan bir periodontal cebin akut alevlenmesi akut periodontitis olarak adlandırılır. Apseler, dikey ve yatay kök kırıklarına veya sement yırtıklarına neden olarak ortaya çıkabilir(Highfield, 2009).

2.2 Periodontitisin Etiyolojisi

Periodontal hastalıkların etiyolojisi bakterilerdir. Ağız boşluğu çeşitli mikrobiyal türleri barındıran, konak ve mikroplar arasında ekolojik etkileşimler sağlayarak hastalık seyrini belirlemektedir (Novak ve Novak, 2006). Periodontal hastalıklar, ekzojen bir patojenin aksine kommensal organizmanın aşırı büyüme ve gelişmesiyle gerçekleşir. Kommensal mikroorganizmaların aşırı büyümesi sonucu, enfeksiyon oluşabilmektedir. Periodontal dokulardaki ilk inflamasyon patolojiden ziyade mikrobiyal tehdide karşı fizyolojik bir savunma mekanizması olarak düşünülmelidir. Hastalığın bu evredeki, klinik bulguları, genellikle diş taşı oluşumu ve dişeti iltihabının eşlik ettiği supragingival ve subgingival plak oluşumunu içerir. 1976'da Page&Schroeder tarafından açıklanan dişeti iltihabı ve periodontitisin iyi bilinen aşamaları şöyle sıralanmaktadır (Page ve Schroeder, 1976).

İlk lezyon, erken lezyon, yerleşik lezyon ve ileri lezyon. İlerlemiş lezyona destrüktif faz da denir çünkü gingivitisten periodontitise geçişi temsil eder. İlk lezyon, yerleşik lökositlerin ve endotel hücrelerinin bakteriyel biyofilme verdiği yanıtı ancak bu dönemde inflamasyon belirtisinden çok değişiklikler histolojik olarak gözlemlenebilir. Bakterilerin metabolik ürünleri, sitokinler üretmek için bağlantı epitel hücrelerini tetikler, nötronları, lokal kan damarlarının vazodilatasyonuna neden olan nöropeptitleri üretmesi için uyarır. Böylece nötrofiller damardan ayrılır ve kemokinler yanıt olarak inflamasyon bölgesine doğru göç eder. Erken lezyon, bağ dokusunda artan sayıda nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin, plazma hücrelerinin ve mast hücrelerinin ortaya çıkmasıyla gerçekleşir(Cekici ark., 2014).

Bir sonraki aşama ise yerleşik lezyondur. Bu doğuştan gelen bağışıklık tepkisinden, kazanılmış bağışıklık tepkisine geçiş dönemidir. Makrofajlar, plazma hücreleri, T ve B lenfositleri baskındır. B lenfositlerinin IgG1 ve IgG3 alt sınıfları da mevcuttur. Bu evrede kan akışı bozulur ve kollajenolitik aktivite artar. Fibroblastlar tarafından artan kollajen üretimide bu dönemde devam eder. Klinik olarak bu evre, dişeti kanaması, renk, kontur değişimlerinin yaşandığı orta veya şiddetli dişeti iltihabıdır. Son aşama ise periodontitise geçiştir. Bu evre ilerlemiş lezyon, kemik ve ataşman kaybı, histolojik değişimler ve diş kaybı ile sonuçlanır (Cekici ark., 2014).

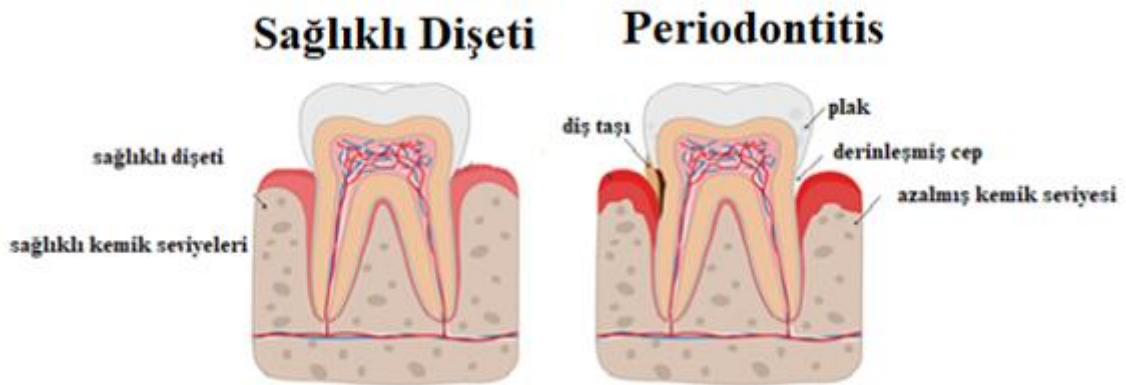
2.3 Periodontitisin Mikrobiyolojisi

Oral bakteriler arasındaki ilişkiler ile periodontitis gelişimine olan etkileri, kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili polimikrobiyal toplulukları anlamaya ve hastalığın tedavisine yardımcı olmaktadır. Periodontitiste de hastalığın ayırt edici özelliği olan diş kökü yüzeyleri çevresinde lokalize alveolar kemik kaybı yaşanmaktadır. Dişin kök yapısını destekleyen bu kemik kaybı sonunda diş kaybına yol açar ve bugün dünyada diş kaybının yaygın nedeni olmaya devam etmektedir. Klinik olarak sağlıklı ve hastalıklı bölgelerle ilişkili diş plağının kapsamlı analizi ile periodontitis anlayışı belirgin şekilde artmıştır (Socransky ve Haffajee, 1994). Bu süreçte plaklarda mikrobiyal konsorsiyumlar, insanlarda en yüksek düzeyde karakterize edilen mikrobiyal konsorsiyum haline gelmiştir. Diğer mikrobiyal hastalıklara benzer şekilde (Socransky ve Haffajee, 1994; Roberts ve ark.,1997)periodontitis, mevcut mikroorganizmalarda (çoğunlukla gram pozitif ve negatif türler) iyi karakterize edilmiş bir kayma nedeniyle mikrobiyal kayma hastalığı olarak karakterize edilmiştir (Socransky ve Haffajee, 1994). Sağlıklı dokudan periodontal dokuya geçişte (Roberts ve ark., 1997) birkaç bakteri kompleksi tanımlanmıştır ve bu hastalık “kırmızı kompleks” peritopatojenler olarak adlandırılan üç bakteri türünü içermektedir. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* hastalıklı bölgelerde (Socransky ve ark., 1998) birlikte gruplandı ve hastalıkla güçlü bir etki ortaya çıkardı. Dental plağın daha fazla karakterizasyonu, çok sayıda etkilenmeyen tür tanımlanmış ve periodontal dokuda bulunan bakteri türlerinin sayısı tahmini 500’ün üzerine çıkarmıştır. Bu etkilenmeyen bakterilerin bazılarının klinik olarak sağlıklı olanla ve hastalıklı bölgeyle güçlü bir etkileşimi bulunmuştur (Kumar ve ark., 2005; Lepp ve ark., 2004). Son olarak sağlıklı ve hastalıklı bölgelerde bulunan

mikrobiyal kayma, diş plak topluluğunun stabilitesinin periodontal sağlığın iyi bir göstergesi olduğunu gösterirken bu değişimler dokunun klinik durumdaki değişiklikleriyle ilişkilidir. Bununla birlikte, mikrobiyal bileşimde stabiliteyi koruyan veya değişikliklere neden olan mekanizmalar tam anlamıyla anlaşılamamıştır (Vianna ve ark., 2008) .

2.4 Periodontitisin Patogenezi

Erişkinlerde diş kayıplarının yaklaşık %70'inden fazlasına periodontal hastalıklar sebep olmaktadır (Kumar ve ark., 2005). Hastalıkta mikrobiyal virülanmanların sayısız bileşenleri, çevresel etmenler ve konak hücrenin oluşturduğu cevap hastalık patogenezinde önemli sonuçlara yol açar. Biyokimyasal birçok faktör periodontal iltihapta yer alır ancak her etmen diş kaybına neden olmaz. Bu etmenler zamanla tedavi edilmediği takdirde daha fazla kemik yıkımına sebep olmakta ve bu durum diş kaybıyla sonuçlanmaktadır. Hastalık patogenezi tam olarak anlaşılmassa da yapılan çalışmalar literatüre patogenezin anlaşılması için katkı sağlamaktadır. Periodontitis toplumda oldukça yaygın gözlenmektedir. Periodontitis patogenezinde; çevresel etmenler, mikrobiyal etmenler, buna bağlı olarak konak enflamatuar immün yanıt, bununla birlikte oluşan bağ doku, kemik metabolizmasının yıkımı, son olarak da hastalığın klinik seyri şeklinde ortaya çıkması hastalık oluşumunu gerçekleştirmektedir (Kumar ve ark., 2005).



Şekil 2.1 Sağlıklı ve Periodontitis Dokusundaki Farklılıklar
(<https://dhc.dental/periodontists-in-miami>)

2.5 Periodontitiste İltihaplanma Süreci ve Doku Yıkımı

Birleşim epitel, kök yüzeyi ile dişeti arasında benzersiz bir conta oluşturmakta ve ana işlevi alt dokulara oral mikropların ve yan ürünlerinin sürekli maruz kalmasına karşı korumaktır (Gürsoy ve ark., 2013). Adezyon, hücre-hücre etkileşimleri, kemotaksis, proinflatuar sitokinler, epitel büyümesi, MMP aktivasyonu ve antimikrobiyal peptit üretiminde yer alan çeşitli moleküler faktörler, bağlantı epitelinin işlevine katkıda bulunur. Bakteriyel virülans faktörlerinin (ör., *P.gingivalis*) uzun süreli inflamasyonda klinik olarak dişeti kanaması, yumuşak doku, kontur ve renk değişimlerine sebep olmaktadır. Birleşme epitel kök yüzeyinde apikal olarak göç eder ve sonunda periodontal cep oluşumuna yol açan kollajen yıkımını aktive eder (Akdoğan ve Yöntem, 2018). Dişeti iltihabının periodontitisin öncüsü ve hastalığın ilerlemesi için klinik olarak ilgili risk faktörü olmasına rağmen tüm dişeti iltihabı lezyonlarının periodontitise yol açmaması olasıdır. Periodontal cep oluşumu sırasında, yerleşik hücreler (keratinositler, fibroblastlar, osteoblastlar) tarafından yeni doku oluşumu baskılanırken, nötrofiller, makrofajlar ve osteoklastlar tarafından doku bozulması uyarılır ve böylece doku çıkarma ve rejenerasyon arasındaki denge bozulur (Gürsoy ve ark., 2013).

Keratinositler, fibroblastlar ve dendritik hücreler tarafından üretilen proinflatuar sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-23, TNF- α), kemokinler (IL-18) ve antimikrobiyal peptitler, iltihaplı dokulara göç eden nötrofiller için kemo-çekici gradyanlardır ve yerleşik olmayan hücrelerin (makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri ve mast hücreleri) enfeksiyon bölgesine kemotaksisini uyarır (Gürsoy ve ark., 2013; Akdoğan ve Yöntem, 2018). Fagositik hücreler esas olarak antimikrobiyal ajanlar, reaktif oksijen türleri ve enzimler üretilip salgılayarak istilacı patojenleri ortadan kaldırmayı amaçlar. Bununla birlikte bol miktarda kollajenolitik MMP ve elastaz doku konsantrasyonları, bağ dokusu ve periodontal ligamente tip I kollajenin bozulmasını aktive eder. Hastalık sırasında, MMP-8 periodontal dokulardaki ana kollajenazdır. Geri dönüşümsüz periodontal yıkım, ağırlıklı olarak plazma hücreleri içeren inflammatuar hücre infiltratı, bağ dokusunun daha derinlere uzanarak periodontal ligament ve alveolar kemikte doku hasarına yol açtığında meydana gelir (Gürsoy ve ark., 2013).

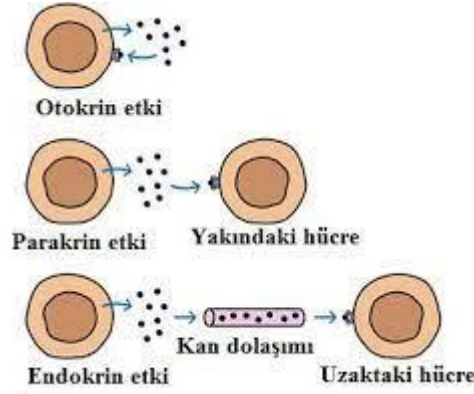
Alveoler kemik rezorpsiyonu, periodontitisin temel patolojik özelliğidir. Osteoklastların, çok çekirdekli kemik emen hücrelerinin aktivasyonu bir dizi inflammatuar proteinler (sitokinler) ve enzimler (MMP'ler) tarafından düzenlenir. IL-1 β , IL-6 ve TNF-

α , nükleer faktör-kappa ligand (RANKL) ekspresyonunun reseptörünü yukarı regüle ederek osteoblastların farklılaşmasını inhibe eder (Sandros ve ark., 2000; Mitani ve ark., 2015) RANKL aynı zamanda yeni kemik oluşumu için osteoklasın üretimini azaltarak elde edilen osteoklastogenez aktivasyonundaki başlıca inflamatuvar sitokindir. Yukarı regüle edilmiş RANKL (matür osteoklast oluşumunu stimülatörü) ve aşağı regüle edilmiş osteoprotegerin (RANKL eyleminin bloke edicisi) sayesinde kemik yıkımının ilerlemesi sağlanır. MMP-1-8-13 özellikle tip I kollajeni (periodonsiyumdaki ana kollajen türü) parçalayarak alveoler kemik yıkımında rol alırken, iki jeletinaz (MMP-2 ve MMP-9) denatüre kollajenin yıkımını gerçekleştirir. Ayrıca MMP-9, osteoklast göçüne yardım eder ve MMP-13 tümü tip I kollajen bozulmasını kolaylaştıran osteoklast aktivasyonunu tetikler. Hastalığın hızlı ve yavaş ilerleyen ve stabil periyotlarla gelişimi periodontal bölgeler ve bireyler arasında farklılık gösterir. Periodontitis teşhisi, periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybıyla ilgili klinik ve radyografik bilgilere dayanır. Periodontal hastalığın erken evresinde klinik belirti ve semptom eksik veya çok hafif olabilir. Tahribat ilerlediğinde alveoler kemik kaybıyla birlikte derinleşen cep derinlikleri, diş hareketliliği, sürüklenme, genişlenme ve nihayetinde diş kaybı ile sonuçlanır (Ksiazek ve ark., 2019).

2.6 Periodontitis Gelişiminde Sitokinler

Sitokinler hücrelerde, immun ve inflamatuvar etki gösterebilen, uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ve diğer somatik hücreler tarafından sentezlenebilen genellikle küçük molar konsantrasyonlara sahip 20-30 kD ağırlığına sahip peptid veya glikoprotein yapıdaki moleküllerdir. Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan sitokinler, enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenler (Akdoğan ve Yöntem, 2018).

Sitokinler, bağışıklık, enflamasyon ve hematopeze aracılık eden ve bunları düzenleyen küçük salınan proteinlerdir ve uyarılan hücrelerden oldukça kısa sürede salgılanır, ancak depo edilmezler. Bir bağışıklık uyarısına istinaden üretilen küçük hormon benzeri proteinlerdir. Sitokinler polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücre üzerinde özel reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Otokrin, parakrin ve endokrin etkilere sahiptir (Akdoğan ve Yöntem, 2018).



Şekil 1.2 Sitokinlerin Etkileşimi (Akdoğan veYöntem, 2018)

Sitokinler; “lenfoid sistem ve diğer bazı hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını, yara iyileşmesini, inflamasyonda rol alan hücreleri aktive etme ve reaksiyon bölgesine çekme, kemik iliğine etki ederek hematopoietik düzenlemeye katılma, embriyogenezi ve sinir sisteminin gelişimine katılma, düşük konsantrasyonlarda ateş miyalji, baş ağrısı akut faz cevabı gibi genel enfeksiyon bulgularına, yüksek konsantrasyonlarda ise şok ve ölüme yol açar bazı hipofiz hormonlarının sentez ve salınımına neden olurlar, antiviral etkinlik gösterirler” (Akdoğan ve Yöntem, 2018).

Sitokinler, osteoklastik aktiviteyi ve alveolar kemik kaybı sitümüle eden birkaç sinyal yolunu aktive eder. Önceki çalışmalar sitokin gen polimorfizmlerinin periodontal hastalık riski ile ilişkili olabileceğini, aynı zamanda hastalığın ilerlemesi ve şiddetinde etkili olabileceğini göstermiştir (Alayan ve ark., 2007; Rudick ve ark., 2019).

Sitokinler, konakçı savunma sisteminin moleküllerini kodlayan genlerdeki genetik polimorfizmleri, hastalığa yatkınlığı ve hastalığın şiddetini etkiler (Mitani ve ark., 2015; Benjamin ve Baer, 1967). Periodontal dokularda, immün hücrelerde (makrofajlar, lenfositler), epitel hücrelerinde ve interlökin IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, dahil proinflamatuvar sitokinlerde IL-18, IL-35, matris metalloproteinazlar (MMP’ler) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) bağışıklık tepkileri oluşturabilir (Benjamin ve Baer, 1967). Periodontal hastalıkların patogeneğinde ve şiddetinde sitokinlerin olduğu birçok çalışma yapılmış ve agresif periodontal (AgP) hastalıklarda kronik periodontitise göre

(CP) hastalarında genetik faktörlerin çok daha önemli olduğu anlaşılmıştır (Reich ve Lander, 2001).

Korman ve ark, IL-1 gen polimorfizmleri, hafif ve şiddetli periodontitis hastalarında sigara içmeyenlerde periodontitis şiddeti açısından önemli bir korelasyon olduğunu gözlemlemiştir. Periodontal hastalıklar için genetik risk faktörlerinin tanımlanmasının bu tür hastalıkların tanı ve tedavi süreçleri açısından oldukça önemli olduğu düşünülmektedir (Kozak ve ark., 2020).

2.7 Periodontitis Gelişiminde İnterlökinler

IL-1 periodontal hastalıklar ve diğer birçok inflamatuvar hastalığın patogeneğinde interlökinler arasında önemli rol oynar. IL-1 bir inflamatuvar yanıtı başlatmak ve sürdürmek için önemli olan bir dizi süreçte yer alır. Proinflamatuvar ve kemik koruyucu özellikleri nedeniyle periodontal hastalıklar ile bağlantılı doku yıkımında önemli rol oynar. Araştırmalar, IL-1'i kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin daha yüksek, periodontal şiddeti olabileceğini göstermiştir (Patel ve ark., 2018).

IL-6, lenfositler, mast hücreleri, eozinofiller ve epitel hücreleri çeşitli hücreler tarafından salgılanan bir lenfosit kemotraktan faktördür. IL-6, periodontitis patogeneğinde hayati ve önemli rol oynayan bu pro- ve anti-inflamatuvar sitokin, IL-2 reseptör ekspresyonu ve diğer pro-inflamatuvar interlökinleri salgılanmasını uyarır (Klein ve ark., 2001). Ayrıca, pro-inflamatuvar sitokinler IL-1 ve TNF- α nın sentezini bloke eder (Laine e ark., 2001). IL-6, osteoklast farklılaşmasını ile kemik rezorpsiyonunu indükler ve kemik oluşumunu engeller. Düşük konsantrasyonlarda IL-6 öncüllerden osteoklast oluşumunu uyarır, ancak yüksek konsantrasyonlarda IL-6 çoğunlukla IL-6 olgun osteoklastların aktivasyonunu indükler. IL-6'nın osteoklastlar üzerindeki etkisinin yanı sıra, araştırmalar; IL-6'nın MMP'lerin salınması ve aktivasyonu ile bağlantılı olduğu ayrıca periodontal hücre dışı matrisin (ECM) patolojik bozulmasına yol açtığı gösterilmiştir (Rudick ve ark., 2019).

IL-8, periodontitis patogeneğinde rol alan bir kemokindir. Bu sitokin, inflamatuvar bölgelerde nötrofillerin göçünü aktive eder. Patel ve ark. sigaranın kemokin üretimi üzerinde, dişeti oluğu sıvısında azaltılmış bir IL-8 miktarıyla yansıtılan, engelleyici bir

etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Sigara içenlerde IL-8 seviyelerindeki azalma, nötrofil kemotaksisinin bozulmasına ve periodonsuyumda migrasyona neden olarak periodontitisin ilerlemesine yol açmaktadır (Patel ve ark., 2018).

IL-10, periodontitis patogenezinde önemli rol alan bir sitokindir (Yang ve Huang, 2019). IL-10, IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12 ve IL-18 üretimini baskılar. Bir klinik çalışmada, sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitis hastalarında dolaşımda IL-10 düzeylerinin fazlaca düştüğü gözlemlenmiştir (Zein Elabdeen ve ark., 2017) ayrıca düşük IL-10 üretimi olan hastalarda önemli ölçülerde artan CP ilerleme riski kaydedilmiştir (Lopes ve ark., 2017). Bir anti-inflamatuar düzenleyici olarak bilinen IL-10, pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini bloke eder. IL-10, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını güçlendiren B hücrelerini uyarır, aynı zamanda IL-1 reseptörü ve TNF reseptör antagonistleri (Borilova ve ark., 2013) gibi anti-inflamatuar mediyatörlerin salgılanmasını da yoğunlaştırır. Ayrıca IL-10, Th17 hücreleri ve Th1 hücreleri dahil olmak üzere CD4⁺ T hücrelerinin farklı alt kümelerini düzenleyebilir. IL-10, periodontitis patogenezinde baskılayıcı rol oynar (Kozak ve ark., 2020). Wang ve ark, IL-10 nakavt fareler, *Porphyromonas gingivalis* aşılama sonrası muhtemelen yüksek proinflamatuar sitokin üretimine bağlı olarak IL-10 sağlıklı farelere göre önemli ölçüde daha yüksek alveoler kemik kaybına sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu bilgiler ışığında IL-10'nun, periodontitis patogenezinde baskılayıcı rol oynadığı söylenebilir (Wang ve ark., 2019).

IL-16'nın bağışıklık tepkileri ve kronik inflammatuar hastalıkların patogenezi üzerinde düzenleyici bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. IL-16 T lenfositlerini değiştirerek ve monosit/makrofaj fonksiyonunu düzenleyerek bağışıklık sistemi üzerinde bir etkiye sahiptir (Glas ve ark., 2003). Monositler, periodontitisin yıkıcı süreçlerinde özellikle çok önemli roller alırlar ve IL-1 ile TNF- α 'nın monositik salgılanması periodontitis ile ilişkilidir (Reich ve ark., 2003).

IL-17, mikrobiyal organizmalara karşı konak savunmasında hayati öneme sahiptir ve kronik inflammatuar hastalıkların patogenezinde önemli roller üstlenir. Aynı zamanda yapılan in vivo çalışmalar IL-17'nin periodontitis patogenezinde önemli olduğunu göstermektedir (Koenders ve ark., 2011). IL-17A , TNF- α ve IL-1 β 'yi uyarır ve diğer proinflamatuar mediatörlerin ekspresyonunu artırır (Iyoda ve ark., 2010). IL-17A ayrıca

RANKL indüksiyonu yoluyla kemiğin yeniden şekillendirilmesini etkiler ve bu nedenle IL-17A periodontal dokuların yok edilmesi sürecinde yer alabilir. IL-17, osteoblastik hücrelerde RANKL'ı indükleyerek osteoklastogenezi arttırabilir. IL-17 'nin osteoblastlar tarafından kemokin salgılanması üzerindeki etkisinin periodontitis dahil birçok kemik hastalığı etiyojisinde önemli etkileri bulunmaktadır. IL-17'nin diğer sitokinler, kemokinler ve MMP'leri içeren şiddetli inflamatuvar yanıtı başlatma yeteneğine sahip olduğu da bilinmektedir (Batool ve ark., 2018).

Çiftçi ve ark. IL-17, IL-23 ile nötrofil enzimi miyeloperoxidaz seviyelerinin AgP hastalarında sağlıklı kontrollere göre önemli ölçüde yüksek olduğunu gözlemledi. Tedaviden sonra hem lokal hem de sistemik olarak bu seviyelerdeki önemli düşüşler periodontal dokuların iltihaplanmasında IL-17'nin spesifik rol aldığını göstermiştir (Çiftçi ve ark., 2015). Batool ve ark. IL-6 ve IL-17'nin tükürük düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla SP'li hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğunu, ve Shindo ve ark. ise IL-35'in IL-6 ve IL-8'in IL-17A ile indüklenen aşırı ekspresyonunu azaltarak periodontitisin ilerlemesini engelleyebileceğini bildirmiştir (Shindo ve ark., 2019; Batool ve ark., 2018).

IL-18, IL-1 sitokin ailesine aittir. Periodontitiste çok önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir. IL-18'in anti-enfeksiyon, anti-tümör ve anti-hipersensitivite etkileri vardır. Dokularda inflamatuvar lezyonların gelişimi ve otoimmün hastalıkların varlığı ile ilgilidir (Iyoda ve ark., 2010). IL-18'in, ana aktivitelerinden biri, IL-12 oluşumunda interferon üretimini uyarmak ve Th1 ve Th2 yanıtlarını teşvik etmektir. IL-18, enfeksiyon sırasında nötrofillerin genişlemesini, göçünü ve aktivasyonunu artıran TNF- α , IL-1 β ve IL-8 gibi diğer proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını indükler. IL-8'in kemik emilimini inhibe etme özelliğine sahiptir. Bu nedenle IL-8'in periodontitiste kemik metabolizmasının düzenlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Ayrıca IL-8, sinyal yolları ve kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu dahil olmak üzere farklı rollerde periodontal sağlık ve hastalık üzerinde ciddi bir etkiye sahip olabilir (Kim ve ark., 2009). Mahajani ve ark. GCF'deki IL-18 düzeylerinin periodontal hastalığı olan hastalarda sağlıklı deneklere göre daha yüksek olduğunu, Wang ve ark. kronik periodontitisli hastaların serumunda IL-18 ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır ve buna ek olarak tükürükte IL-18 'in matiks metalloproteinazların salınımını teşvik etmek için NF- κ B sinyalini başlatabildiğini gözlemlemiştir (Silva ve ark., 2015).

IL-35 düzenleyici B hücreleri, CD8+ düzenleyici T hücreleri ve CD4+ düzenleyici T hücreleri tarafından üretilir. Th17 hücreleri tarafından Th17 hücre aktivasyonu ve IL-17 üretimini baskılar (Kalburgi ve ark., 2013).

IL-35, GCF’de ve CP’de dişeti dokusunda tespit edilmiştir. Çalışmalar, IL-35 ‘in inflamatuvar sitokin üretimini inhibe ederek periodontitisin ilerlemesinin düzenlenmesinde rol aldığını ortaya koymuştur (Cai ve ark., 2017). Kalburgi ve ark, sağlıklı kontrollerin ve kronik agresif periodontitisli hastaların dişeti dokularındaki IL-35 düzeylerini karşılaştıran çalışmasında , IL-35 mRNA' nın agresif ve kronik periodontitis hastalarında dişeti dokularında eksprese edildiğini, ancak kronik periodontal hastalığı olan hastaların en yüksek düzeyde IL-35 ekspresyonunu sergilediğini göstermiştir (Kalburgi ve ark., 2013).

Jin ve ark. sağlıklı kontrollere kıyasla CP hastalarından alınan dokularda IL-35 protein ekspresyonunun yükseldiğini bulmuştur. Bu çalışmaya göre, IL-35 periodontal hastalığın ilerlemesini bloke edebilir ve dolaylı olarak sistemik hastalığı da yavaşlatabilir (Jin ve ark., 2017). Yapılan bir çalışmada IL-35’in dişeti iltihabında ve periodontal sağlığın korunmasında baskılayıcı rolü olduğu gösterilmiştir. Başka çalışmada da IL-35 ile IL-17A’nın neden olduğu, IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu azaltarak periodontitis gelişimini engelleyebileceği ortaya konulmuştur. IL-35’in CP’deki diğer sitokinlerin veya immün hücrelerin etkisini yoğunlaşp yoğunlaştırmadığı veya antagonize edip etmediği hala belirsizdir (Monteleone ve ark., 2010).

2.8 HÜCRE İSKELETİ

Hücre iskeleti temel olarak hücre için yapısal işlev gören, hücre içi şekil, organel dağılımı, hücre hareketi, makromolekül taşınımı gibi yaşamsal olaylarda rol almaktadır. Hücre iskeleti mikrotübüller, aktin filamentleri ve ara filamentler olmak üzere üç temel birimden meydana gelmektedir. Bu yapılarla birlikte çok sayıda motor protein bulunur. Motor proteinler aktin ve mikrotübüller boyunca hareket eden moleküllerdir. Bu yapılar aktin filamentlerinin artı uca doğru hareket eden süper miyozin ailesi, çoğunlukla pozitif uca yönelik mikrotübül motor protein olan kinesin ailesi ve negatif uca yönelik mikrotübül motor protein olan dynein ailesi olduğu düşünülmektedir. Çeşitli hücre tiplerinde aktin ve mikrotübüllerin hücrede çok çeşitli vezikül ve organel taşınması, hücre göçü, nükleer göç gibi süreçlerde aktif rol aldığı ve yıllar geçtikçe bu yapıların hücre iskelet sistemleri arasında bir köprü görevi gördüğü düşünülmektedir (Bhaskar ve ark., 2007).

Mikrotübüller, GTP varlığında tübülün dimerleriyle kendiliğinden birleşir. Temel yapısı 13 protofilamentten oluşur ve içi boş oldukça sert bir yapıdadır. Birçok hücrede mikrotübüller eksi uçlarından sentrozom gibi düzenleyici bir yapıya bağlanır bu da mikrotübül uçları hücre çevresine dışa doğru yayılan astral bir düzenlemeye yol açar. Hücrede doğru bir şekilde organize olmuş mikrotübüller; hücre iskeleti hücre bölünmesi sırasında kromozomların ayrılması, hücre içi vezikül ve organellerin taşınması, sinyal iletimi, göç eden hücrelerde ve epitel dokularda polaritenin korunmasından sorumludur. Aktin monomerleri ATP varlığında çift sarmala polimerize olur. Aktin filamentleri, mikrotübüllerden daha ince ve daha az bir sertliktedir. Dinamik aktin filamentleri hücre içinde görevlerinin yerine getirilmesini demetler veya ağlar şeklinde çapraz bağlanırlar. Aktin hücre iskeleti hücre göçünde oldukça önemlidir. Hücre korteksindeki zarı güçlendirir ve hücre bölünmesinin son aşaması olan sitokinezin uyarılmasını sağlamaktadır (Dogterom ve Koenderink, 2019).

Aktin-mikrotübül çapraz bağlanması ve mikrotübül büyümesinin yönlendirilmesi; mikrotübülleri aktin demetlerine çapraz bağlayan proteinler tarafından sağlanır. Bu bağlantıya çok büyük alanlı proteinler veya F-aktin mikrotübülleri için bağlanma bölgeleri olan protein kompleksleri aracılık eder. Bu çapraz bağlayıcı proteinlerin bazıları ayrıca mikrotübül artı uç bağlayıcı proteinler (EB proteinleri) ile etkileşime girme yeteneğine sahiptir ve hem aktin-mikrotübül çapraz bağlayıcılar hem de mikrotübül artı

uç izleyiciler olarak işlev görürler. Bu proteinler büyüyen mikrotübüllerin artı uçları ile aktin demetleri arasında dinamik bağlantılar sağlayabilir ve aktin demetleri boyunca mikrotübül büyümesinin yeniden yönlendirilmesini sağlamaktadır (Dogterom ve Koenderink, 2019).

Aktin ve mikrotübül uçlarının stabilizasyonu; genellikle hücre korteksinde gözlenen aktin ağları ile bağlantılı protein kompleksleri tarafından mikrotübül uçlarının sabitlenmesi ve stabilizasyonu ile meydana gelir. Bu tür bağlantılar mikrotübül uçlarını fiziksel olarak yakalamakla kalmaz aynı zamanda mikrotübüllerin dinamik özelliklerini de doğrudan baskılayarak aktin ağları ve mikrotübül uçları arasında stabil bağlantı sağlayan protein kompleksini içerebilir. Aynı zamanda hücre korteksinde mikrotübül uçlarının aktin aracılı sabitlenmesi, mikrotübüllerin kortikal mikrotübül düzenleyici faktöre maruz kalmasını teşvik edebilir. Mikrotübül büyümenin olması için aktin korteks mikrotübül davranışını sadece doğrudan etkileşimle değil aynı zamanda hücrenin şeklini kontrol ederek de etkileyebilir. Aktin korteksinde miyozin motor aktivitesi mitotik hücrede hücreyi katılaştıran ve yuvarlayan kortikal bir gerilim oluşturur. (Dogterom ve Koenderink, 2019)

Mikrotübüller, aktin polimerizasyonunu destekleyen faktörlerin lokalizasyonuna doğrudan katkıda bulunabilir. Aktin çekirdeklenmesinde hem doğrudan hem de dolaylı olarak mikrotübül uçlarıyla bağlantılı olarak; forminler, Wiskott-Aldrich sendromu proteinleri (WASP/N-WASP) aracılık eder. Aktin ve mikrotübüller birkaç farklı düzenleyici proteinler ile etkileşir. Bu etkileşimlerde küçük Rho-GTPaz ailesi üyeleridir. Rho-GTPazlar, aktif (GTP'ye bağlı) ve etkin olmayan (GDP'ye bağlı) durumlarda geçiş yapmalarıyla moleküler bir anahtar görevi görür. Guanin nükleotid değişim faktörleri (GEF'ler) tarafından aktive edilirler ve GTPaz aktive edici proteinler (GAP'lar) tarafından inaktive edilir. Aktin ve mikrotübüller, Rho-GTPaz sinyali ile iki şekilde birleştirilir ve her iki sistemde Rho-GTPazlar tarafından düzenlenir ve ek olarak mikrotübüller, GEF'ler ve GAP'lar ile etkileşime girerek Rho-GTP'azın aktivitesini düzenlemektedir. En iyi karakterize edilmiş proteinler; Rho-GTPazlar; Rho, RAC ve Cdc42'dir. Rho; lineer aktin demetlerinin formin aracılı birleşmesini ve miyozin II aktivasyonunu teşvik ederek, kontraktıl aktin dizilerinin birleşmesini uyarırken, RAC ve Cdc42, Arp2/3 aracılı dallı aktin filamentlerinin birleşimini ve çıkıntılı dizilerin birleştirilmesini teşvik eder. Rho-GTPazların mikrotübüller üzerindeki etkisi, öncelikle

mikrotübül uçlarında uygulanır ve serbest tübülün havuzunu modüle ederek mikrotübül dinamiklerine ince ayar yapan statmin gibi mikrotübül ilişkili proteinlerin (MAP'ler) modülasyonu ile gerçekleşir (Dogterom ve Koenderink, 2019).

Ökaryotlarda iyi karakterize edilmiş aktin çekirdeklenme mekanizması mevcuttur. Arp2/3 kompleksi hücrelerde dallı bir kortikal aktin ağı oluşturmayı sağlar ve genellikle demetlenmiş dalsız filamentlerden oluşur. Arp2/3 aktinde de novo çekirdeklenmesi için hem bir çekirdeklenme teşvik faktörü (NPF) hem de bir dal oluşmasıyla ve mevcut filaman oluşması için gereklidir. Birçok proteinin Arp2/3 için NPF'ler gibi davrandığı düşünülse de, bu proteinlerin en çok çalışılan grubu Wiskott-Aldrich sendromu proteini (WASP) ailesidir. Bu protein ailesi üyeleri daha çok ökaryotik organizmalarda bulunur ve her durumda aktin filament çekirdeklenmesi için Arp2/3 kompleksine ihtiyaç duyar. Arp2/3'ü aktive etmek için bu proteinlerin kritik kısmı C-terminal bölgesidir. N-terminal kısımları ise nispeten daha çeşitlidir (Tyler ve ark., 2016).

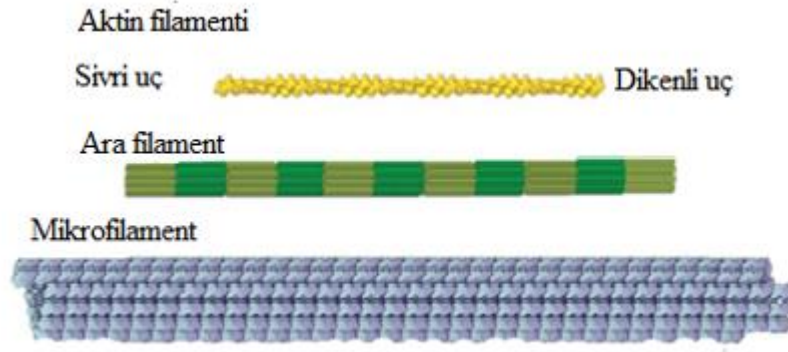
WASP protein ailesi, aktin hücre iskeletinde uygun değişikliklerin yönlendirilmesinde çeşitli yukarı akış sinyallerini entegre etmek için idealdir. Birçok çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Arp2/3'ün WASP ailesi proteinlerinin C-terminal asidik bölgesine bağlandığı ve aktine bağlanan motifi (WH2), WASP tarafından bağlanan bir monomeri almakla görevli olduğu bilinmektedir. Homoloji-2 (WH2) bu monomerin daha sonra polimerizasyon için bir çekirdek görevi görebilen bir trimeri taklit etmek üzere aktin ile ilgili olan Arp2 ve Arp3 ile birleşir ve Arp2/3 daha sonra monomer ile birleşen bir aktin dimerini etkili bir şekilde taklit eder. WASP tarafından çekirdekleştirici trimer oluşturmak için daha hızlı aktin polimerizasyonuna uğrayabilir. Aktin dinamiğinin düzenlenmesinde WASP proteini önemlidir ve WASP proteinlerinin prolin bakımından zengin (PRB) bölgesi sadece SH3 alan proteinlerini bağlamak için bir iskele bölgesi olarak değil aynı zamanda işlev görebilen bir alan olarak da önemlidir (Tyler ve ark., 2016).

Tablo 2.1 Aktine Bağlanan Proteinler (Cooper ve Hausman, 2019)

Hücresel rol	Temel proteinler
Monomer bağlanması	Profilin, twinfilin
Filaman oluşumunun başlaması ve polimerizasyonu	Arp2/3, formin
Ucun kapatılması	CapZ, tropomodulin,
Filaman stabilizasyonu	Nebulin, tropomiyozin
Aktin filamanının diğer proteinlere bağlanması	Distrofin, spektirin, talin, vinkulin
Filaman koparılması\ Depolimerizasyonu	Kofilin, gelsolin
Filaman çapraz bağlanması	α -aktin, filamin, fimbrin, vilin

Ara filamanlar boyut olarak aktin ve mikrotübül proteinleri olarak sınıflandırılan ve diğer yapılara nazaran daha sert ve daha kararlı bir yapı oluşturan hücre iskelet elemanıdır. Yapısal olarak hücreye özgüdür ve hemen hemen tüm dokularda bulunur. Tüm ara filament proteinleri, oldukça esnek, strese dayanıklı hücre iskeletine sahip çift sarmal şeklinde oluşmaya meyilli ve belirgin şekilde organize olmuş bir α - sarmal yapı gösterir. En bilinen örnekleri, vimentinler, keratinler ve nükleer laminlerdir (Hermann ve Aebi, 2016).

Ara filamentlerin ana görevi hücrede mekanik bir koruma sağlamaktır. Son dönemdeki çalışmalarda ara filamentlerin taşıma mekanizmalarına katıldıkları saptanmış olup, aminoasit ve DNA dizi benzerliklerine göre çeşitli kategorilerine göre alt birimlere ayrılmaktadır. Tip 1 ve Tip2 ara filamentleri keratinler, Tip3 ara filamentleri vimentin, desmin, glial fibriller asit proteini (GFAB), periferin ve nükleer lamin içerir. Ara filamentlerin hücre içi taşınmasına ve glikosfingolipidlerin sınıflandırılmasına katıldığı öne sürülmüştür. Gliard ve ark. yaptığı çalışmalarda vimentinin endozom/lizozom yolları ile golgi aygıtı ve ER arasında glikolipid ve sfingolipid taşıdığı kanıtlanmıştır Ara filamentler bu işlevlerini hücre altı organellerin organizasyonuna katkıda bulunarak veya taşıma işlemine katılan proteinleri bağlayarak gerçekleştirmektedir (Bhaskar ve ark., 2007).



Şekil 2. 2 Mikrotübül ve Ara Filament Yapısı (Pollard & Goldman, 2018)

2.9. HÜCRE GÖÇÜ

Hücrede yapışma ve hücre göçü, sitoplazmada hücre iskeleti olarak tabir edilen lifli protein filamentleri ağının aracılık ettiği hücresel bir işlemdir. Protein lifleri olarak, mikrotübüller, mikrofilamentler ve ara filamentlerden oluşur. Özellikle aktin mikrofilamenti, hücre morfolojisi, hareketlilik, endositoz, sitokinez ve apoptozun korunmasında hayati rol alır. Aktin öncelikle, aktin filamentlerinin monomerik G (küresel) aktin ve filamentli F (filamentli) aktin formlarına dinamik olarak birleşip ayrılması prensibine dayanmaktadır. Aktin filamenti hareketi, aktin dimerlerinin ve trimerlerinin oluşumu, aktin monomerlerinin iki farklı ucu olan, dikenli uç ve sivri uçlu sağ el sarmalı bir polimer uzanması şeklinde tetiklenir (Cooper ve Hausman).

Hücre göçünde aktin hücre iskeletinin yeniden şekillenmesiyle hücre ön yüzey kenarında zar çıkıntıları oluşur. Bu çıkıntılar; morfolojik, yapısal ve işlevsel özelliklerine bağlı olarak invadopodia, filopodia ve lamellipodia olarak adlandırılmaktadır. Invadopodia, hücre dışı matrisi (ECM) parçalama kapasitesine sahiptir ve özellikle hücre istilası ile bağlantılıdır. Filopodia, paralel dalsız aktin filamentlerinin sıkı bir şekilde demetlendiği uzun ince zar çıkıntılarıdır. Lamellipodia, dallanmış aktin yapılarına sahip düz tabaka benzeri zar çıkıntılarıdır. Bu yapı aktin yapılarının önemli bir bileşeni, aktin nükleatörü olarak işlev gören ve aktin filament dallanmasına aracılık eden Arp2/3 kompleksidir (Rauhala ve ark., 2013).

“Aktinin polimerizasyonu dikenli uçta, depolimerizasyonu ise sivri uçta meydana gelir Bu işlemlerde; Arp2\3, forminler, WASP süper ailesi ve Rho-GTPaz gibi çeşitli moleküller tarafından kodlanmakta ve bu olay bir süreç olarak devam etmektedir. Aynı şekilde polimerizasyonda Kofilin ve kapak proteinleri de görev almaktadır” (Cooper ve Hausman). F-aktin bağlayıcı ve demetleyici protein, aktin filamentlerinin yaşamsal süreç ve işlevini belirlemektedir. G-aktin monomerinin F-aktin polimerizasyonu, hücre göçünde kritik bir öneme sahiptir. Transmembran reseptörlerinden olan integrinler trans membran reseptörler ile etkileşime girer ve aktin dinamikliğinde nc rol alırlar. Aktive olmuş integrinler, fokal adezyon kinazlar, Src, Paxillin, α -aktinin, kindlin, talin gibi pek çok yapı aracılığıyla aşağı akış yönüne doğru hareket eder. FAK, WASP ve Arp2\3 proteinleri aracılığıyla aktin dallanması ve polimerizasyonu kontrol eden Rho\Rac\Cdc42’yi aktive eder. RhoA’nın ayrıca hücre göçü sırasında nc, zar kabarması ve lamel oluşumunda aktif olarak rol almaktadır ve bu yapılara ek olarak alternatif hücre hareketliliğini azaltan stres lifinin oluşumunda düzenlemektedir (Devi ve ark., 2011).

2.9.1. NF-kB Sinyal Yolu

NF-K β sinyal yolu, hücre proliferasyonu, hücre sağkalımı, doğuştan gelen bağışıklık ve inflamasyon yanıtının düzenlenmesi gibi olaylarda rol almaktadır. NF-K β ailesi, NFkB1, NFkB2, p65(RelA), RelB ve cRel gibi birçok transkripsiyon faktöründen oluşur. Normal şartlarda NF-K β transkripsiyon faktörleri, I κ B inhibitör proteinlerine bağlanır ve hücre sitoplazmasında inaktif durumda kalır. Kanonik NF-K β yolundaki tipik uyarıcı moleküller, LPS, IL-1 β ve TNF- α ’dır ve bu moleküllere tümör nekroz faktör reseptörü (TNF), interlökin-1 reseptörü (IL-1R) ve Toll benzeri reseptör (TLR) aracılık eder. NF-K β yolu aktivasyonu I κ B fosforilasyonu, ubiquitinasyon ve degradasyonu artırır ve p50 içeren dimerlerin DNA’ya bağlanmasını teşvik ederek nispi olarak gen ekspresyonunu artırır. NF-K β aktivasyonu, bağışıklık savunmasının bir parçasıdır. TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi pro-inflamasyon sitokinleri ve adezyon molekülleri NF-K β sinyal yolu tarafından indüklenir böylece lökositlerin inflamasyon bölgesine alınmasını teşvik eder. Wang ve ark, TPCA-1 kronik periodontitisli farelerde dişeti dokularında proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu, NF-kB sinyal yolu aktivasyonu ile, farelerde

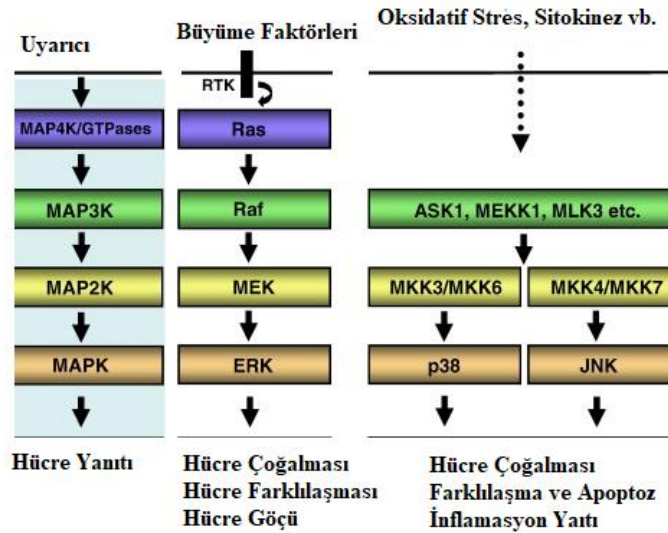
kronik periodontitis oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2021).

2.9.2. MAP Kinaz Sinyal Yolağı

Mitojenle aktive olan protein kinaz(MAPK) ökaryotlarda, mayadan insanlara, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi hayati süreçleri düzenleyen sinyal yolunun önemli bir bileşenidir. MAPK tipik olarak küçük bir GTPaz ile etkileşimleri ve hücre yüzey reseptörlerinden aşağı akış yönünde protein kinazlar fosforilasyonu tarafından aktive edilir. MAPK aktive edildikten sonra protein fonksiyonunda ve uygun biyolojik yanıtla gen ekspresyonunda değişiklikler meydana getirmek için sitozol ve çekirdekte çeşitli substratları fosforile eder. MAP kinazlar üç ana ailede gruplandırılmaktadır. Memelilerde bunlar ERK'ler (hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar), JNK'ler (Jun amino-terminal kinazlar) ve p38/SAPK'lardır (stresle aktive olan protein kinazlar). ERK ailesi üyeleri, aktivasyon segmentinde TEY motifine sahiptir ve iki gruba ayrılmaktadır. Esas olarak klasik ERK'ler (ERK1 ve ERK2) ve daha çok uzun dizi içeren daha büyük ERK'ler (ERK5). ERK1/2 modülü hücre büyümesini ve farklılaşmasını indüklemek için öncelikle büyüme faktörü ve mitojene yanıt verir. Bu modülün önemli yukarı akış düzenleyicileri, reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler), G-protein- bağlı reseptörler (GPCR'ler) ve integrinler gibi hücre yüzey reseptörlerinin yanı sıra küçük GTPazlar Ras ve Rap içerirler (Wang ve ark., 2021).

Küçük GTPazlar, aktif GTP'ye bağlı ve aktif olmayan GDB'ye bağlı formlar arasında geçiş formudur. Büyüme, hücresel farklılaşma, hücre hareketliliği ve hücre sağkalımıyla çeşitli hücresel sinyalleri düzenler. GTPazların en iyi karakterize edileni Ras protein ailesidir. Ras ailesi üyeleri hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenlerken, Rho alt ailesi üyeleri ise aktin hücre iskeletini, gen ekspresyonunu ve proliferasyonu kontrol eden GTPazlardır. Rho GTPazlar Ras ile yüksek oranda homologdur ve GTP'ye bağlı moleküler anahtar görevi görür. RhoA, Rac1 ve Cdc42 Rho ailesinin en çok çalışılan üyeleridir. RhoA'nın en iyi bilinen görevi aktin stres liflerinin oluşumu ve fokal adezyonların oluşumunu teşvik etme yeteneğiyle bilinirken; Cdc42 ve Rac sırasıyla filopodia ve lamellipodia oluşumunu düzenlemektedir. Bu yapılar aktin dinamiği kontrolüyle, hücre göçüne, gen ekspresyonuna, hücre sağkalımına ve hücre döngüsünün ilerlemesini modüle ederler. Rho-GTPazların aktivasyonu, hücre yapışması, hücre hareketliliğinde eş zamanlı olarak değişime neden olurlar (Soriano ve ark., 2021).

JNK ailesi üyeleri, aktivasyon segmentinde TPY motifi içerirler. JNK1, JNK2 ve JNK3 yapılarından oluşmaktadırlar. JNK modülü, çevresel stres (iyonize radyasyon, ısı, oksidatif stres ve DNA hasarı) ve inflamatuvar sitokinlerin yanı sıra büyüme faktörleri tarafından da aktive edilirler. JNK modülünde sinyali, Rho ailesi, GTPaz, Cdc42 ve Rac içerir. JNK modülü apoptoz, iltihaplanma, sitokin üretimi ve metabolizmada önemli rol oynamaktadır. P38 ailesi üyeleride JNK modülleri gibi çevresel stresler ve inflamatuvar sitokinler tarafından güçlü bir şekilde aktive edilirler. Hücre döngüsü, hücre farklılaşması, apoptoz ve iltihaplanma olaylarının düzenlenmesinde rol almaktadır. Aktivasyon segmentinde bir TGY motifine sahiptir ve p38 ailesi p38 α , p38 β , p38 γ , p38 δ yapılarını barındırır (Morrison, 2012).

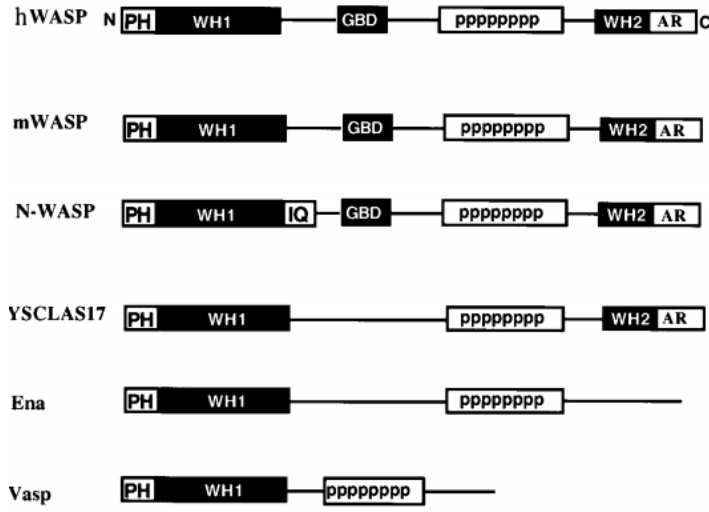


Şekil 2. 3 Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz (MAPK) Sinyal Yolları (Kim ve Choi, 2010)

2.10. N-WASP GENİ

Wiskott-Aldrich sendromu proteini (WASP) geni, WASP ve WAVE ailelerinden tanımlanan X'e bağılı resesif bir hastalık olarak tanımlanmıştır. WASP geni klinik olarak incelendiğinde; immün yetmezlik, trombositopeni, egzama, lenfosit ve trombosit fonksiyonundaki değişimlere neden olduğu bilinmektedir. Bir başka WASP ailesi üyesi olan nöronal (N-) WASP büyüme reseptör bağlayıcı protein 2'nin, Src homolojisi (SH3) alanı ile etkileşime giren proteomik bir memeli proteini olarak tanımlanmış ve en çok beyinde bulunan bu yapı ilk olarak WAVE adını almıştır. Daha sonraları ise başka bir grup tarafından bağımsız olarak WASP benzeri bir molekül olarak tanımlanmıştır. WASP ve WAVE ailesi proteinleri, WASP, N-WASP, WAVE\SCAR1, WAVE2 ve WAVE3 için beş gene sahip olduğu kabul edilmektedir (Kurusu ve Takenawa, 2009).

WASP ve WAVE yapısal olarak benzer bir yapı sergilemektedir. Bu yapı, prolin açısından zengin bir bölge ve karboksil terminal bölgede yer alan VCA bölgesi yapısından meydana gelmektedirler. VCA bölgesinin ana görevi aktin polimerizasyonunu tetiklemektir. V alanı aktin monomerine (G-aktin'e), CA alanı ise Arp2\3 kompleksine bağlanır. Aktin polimerizasyonu için hız sınırlayıcı adım ise Arp2\3 kompleksine bağlanma adımıdır. VCA bölgesi, aktin monomerine yaklaşma ve aktin çekirdeklenmesinde kilit rol oynamaktadır. C alanı yaklaşık 20 aminoasitten oluşan hidrofobik bir yüzeye sahip Arp2\3 kompleksi ile etkileşime girerek, aktive olmakla birlikte α -sarmal bir yapı oluşturur (Kurusu ve Takenawa, 2009).

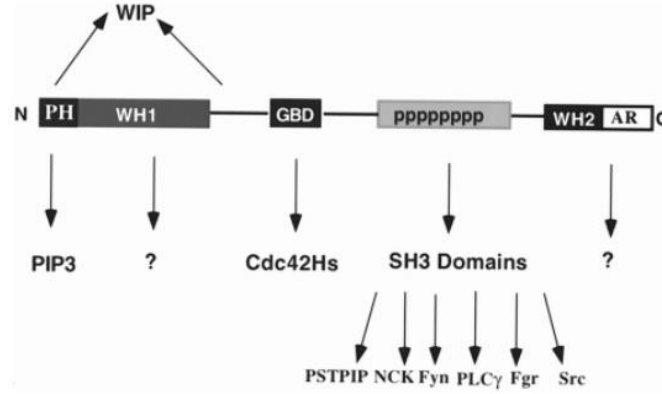


Şekil 2.5 WASP'ın Moleküler Yapısı ile İlgili Proteinlerin Şematik Gösterimi (Abo, 1998)

PH (plekstrin homolojisi); GBD (GTPase bağlanma alanı); PPPPPP (prolin açısından zengin bölge) ve AR (asidik kalıntılar). hWASP insan, mWASP fare, N-WASP nöron, YSCLAS17 *S.cerevisia* WASP homoloğu

WASP proteinlerindeki amino terminal bölge WAVE ailesinden farklıdır. WASP'te proteinlerin amino terminali bir temel bölgeyi ve bir GTPaz bağlanma alanı (GBD; Cdc42/Rac etkileşimi) ve CRIB alanı olarak bilinen diğer bağlanma alanını izleyen WH1/EVH1 alanının memelilerde WIP, (CR16-homolog protein\ WIP) içeren WASP etkileşimli protein ailesine bağlanmaktadır. NMR çalışmalarında; WIP ligandlarının N-WASP WH1/EVH1 domainin etrafına sarıldığı ve WH1/EVH1'in etkileşimli yüzeyinin WAS hastalarında mutasyonlar için önemli bir nokta olduğu bu da WAS-WIP bağlanmasının bozulmasına ve sonuçta oluşan WASP'ın bozulmasına neden olabileceğini öne sürülmektedir. WASP fonksiyonu ve WAS'ta immün hücrelerin, aktin morfolojilerindeki değişimler sebebiyle oluşabileceği düşünülmektedir. GBD\CRIB alanları, VCA bölgesine bağlandıkları ve engelledikleri için WASP ve N-WASP aktivitesinin kontrolü için önemlidir. GBD\CRIB alanları hidrofobik yarığı, C bölgesinin amfipatik sarmalının hidrofobik yüzü molekül içi bir etkileşim oluşturur ve böylece VCA aktivitesi üzerinde bir oto-inhibitör kontrol görevi görür. İnhibisyon GTP'ye bağlı Cdc42'nin GBD\CRIB alanına bağlanmasıyla serbest olarak salınır ve Arp2/3 kompleksi

aktivasyonu sağlanır. Fosfatidilinositol- (4,5)-bisfosfat (PIP2) bağlanmasıyla WASP ve N-WASP için Cdc42 ile etki alanı oluşturur (Kurusu ve Takenawa, 2009).



Şekil 2 4 WASP Etkileşimli Proteinler (Abo, 1998)

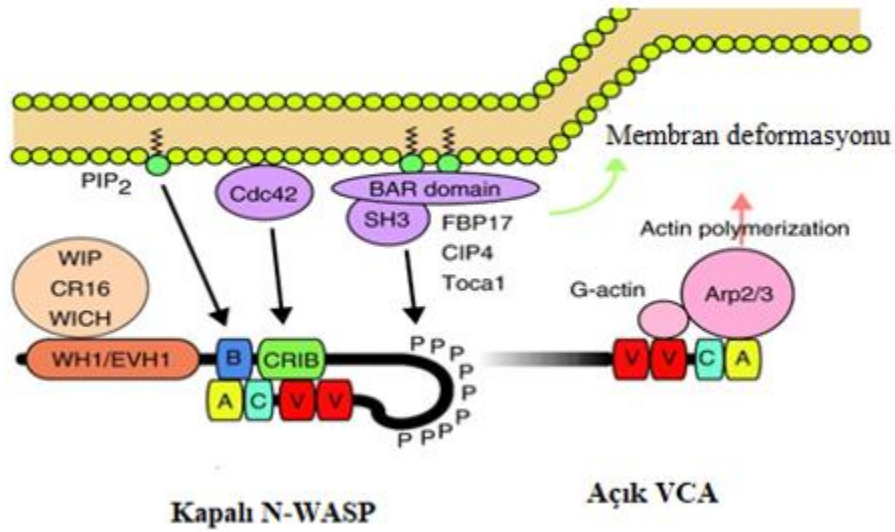
SH3 bölgesi WASP prolin bölgesi ile etkileşime girer, GTPaz Cdc42Hs, WASP'ı GBD aracılığıyla bağlar. PH ve WH1 alanları dahil olmak üzere WASP'ın N-terminal PH, WH1 bu fosfoinositid PIP3, PH alanı ile etkileşime girer.

WASP ailesi Arp2/3 kompleksi olmak üzere diğer birçok faktörle etkileşim kurarak aktin dinamiklerini düzenler. Arp2/3 WASP proteinin C-terminalindeki CA bölgesine bağlandığında aktive olur ve V bölgesine bağlanan aktin monomeriyle bağlandığında aktin polimerizasyonunu başlatır. Bu etkileşimler WASP işlevi açısından oldukça önemlidir. Dinlenme durumunda N-WASP ve WASP, N-terminal bölgesinde GBD alanı ile C-terminali arasında bir etkileşim VCA bölgesinde engellenmiş bir konformasyonda bulunur. Bu etkileşim, Arp2/3 kompleksinin CA bölgesinin erişimini engeller, WASP ve N-WASP inaktif kalır. Rho GTPaz, Cdc42 ve fosfotidilinositol 4,5-bifosfat (PIP2) gibi ligandlar WASP bağlanması ve VCA bölgesindeki C-terminali ile N-terminali arasındaki etkileşimi bozar. Cdc42, GBD'ye bağlanır ve PIP2, temel bölge ile etkileşime girebilir. Bu etkileşimlerden herhangi biri WASP'ın otomatik olarak inhibe edildiği konformasyonunu kararsızlaştırabilir ve diğer ligandların bağlanmasını güçleştirerek VCA bölgesinin açığa çıkmasını ve WASP ailesi proteinlerinin aktivasyonunu sağlar. WASP/WAVE ailesinin üyeleri aktif olduğunda, VCA bölgesi açığa çıkar ve Arp2/3 kompleksine bir aktin monomerinin bağlanmasıyla yeni bir aktin filamentinin çekirdeklenmesine yol açar. WASP/WAVE ailesi üyelerinin aktivasyonu,

vezikül trafiği, mikrobiyal enfeksiyon ve hücre substrat yapışması gibi aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi gibi biyolojik süreçlerde rol almaktadır (Frugtniet ve ark., 2015).

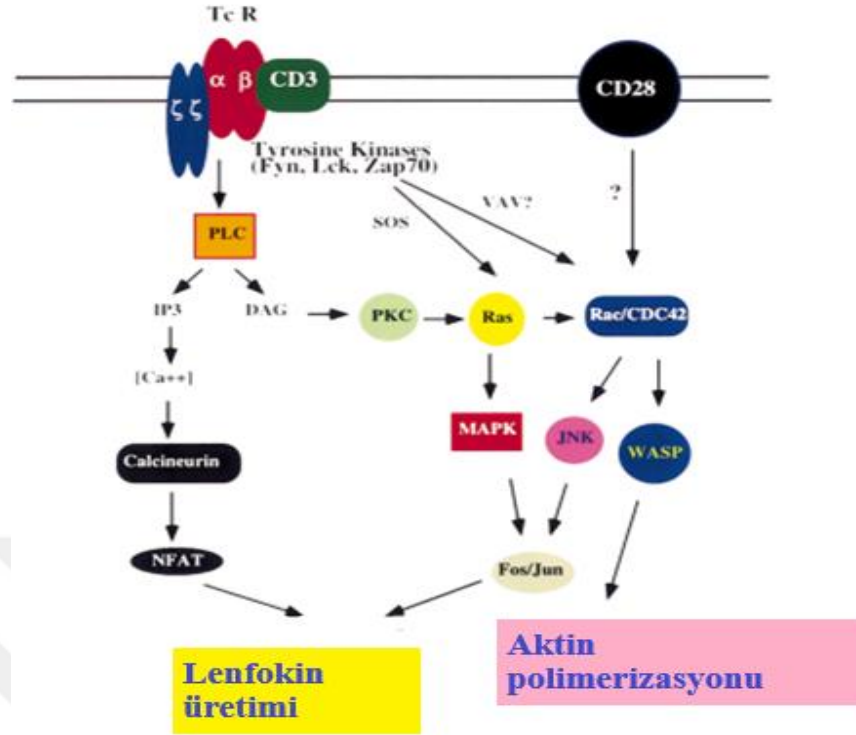
Aktin filamentlerinin organizasyonu, hücre hareketliliğini sağlayan çeşitli çıkıntılarda farklılık gösterir. Aktin filamentleri lamellipodiada bir dallanma ağında toplanırken filopodiada uzun paralel demetler oluşturur. WASP/WAVE ailesi proteinleri, aktin filamentlerinin, lamellipodia oluşumundan sorumlu ana yapılar olan önceden var olan filamentlerin kenarından 70'lik bir açıyla bir araya getirildiği dallı aktin ağlarının oluşumunu indüklemek için Arp2/3 kompleksi ile etkileşime girer. WASP/WAVE ailesi proteinleri hücre motilitesindeki rolünü araştıran bir çalışmada, filopodiada görülen aktin yapılarını oluşturmak için Cdc42 sinyalinin N-WASP aktivitesi gerektirdiğini ve lamellipodia oluşumu için Rac'ın aşağı akış WAVE1 aktivitesinin gerekli olduğunu bildirmişlerdir(Frugtniet ve ark., 2015).

WASP ve WAVE proteinleri karmaşık aktin yapı işlev şekillenmesinde birlikte görev alırlar. N-WASP, endositik veziküller, filopodia ve podozomlar\invadopodia gibi farklı hücresel yapıların oluşması için gereklidir. N-WASP fosfolipidlere bağlanan ve zarları eğri yüzeylere deforme edebilen protein sınıfında yer almaktadır. Bu proteinler üç yapısal ailede sınıflanır; BAR alanı, EFC\F-BAR alanı ve RCB\MIM alanı ve bu yapılar hem WASP hem de WAVE proteinleri ile iletişime giren SH3 alanlarına sahiptir. Zarı deforme eden proteinler, WASP'leri ve WAVE'leri zara alır ve aynı zamanda benzersiz zar hücre iskeletinin şekillendirilmesinde zarın kavisli olmasını modüle eder. EFC\F-BAR içeren protein FBP17 örneğin membran invaginasyonu ve N-WASP aktivasyonunun kordinasyonu ile endositoz kolaylaşır. Yapılan bir çalışmada, N-WASP'ın yıkımı ile artan inflamatuvar sitokin üretimi NF-kB ve ERK\MAP kinaz sinyal yolları ile düzenlenmekte olduğu belirtilmiştir (Kurusu ve Takenawa, 2009).



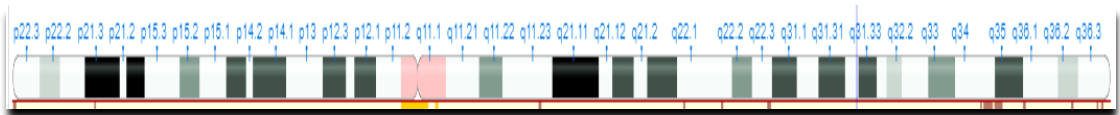
Şekil 2. 5 N-WASP Bağlanma ve Ayrılma Mekanizması (Kurusu ve Takenawa, 2009)

WASP ifadesi eritrosit olmayan hematopoietik hücrelerle sınırlandırırken, N-WASP ve WAVE üyeleri hemen hemen her dokuda ifade edilir. Yapılan bir çalışmada, WASP nakavt farelerde T-hücre aktivasyonundaki değişimler periferik kan lenfositlerinde ve trombosit sayılarında azalma gösterdiği, oysa N-WASP nakavt fare embriyonik hücrelerde ölümcül etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca N-WASP'ın fare beyinde ekspresyonunun durdurulması farelerde şiddetli hidrosefali ve doğum sonrası ölüme neden olmuştur. N-WASP, N-terminalde iki V domainine sahiptir, bu nedenle C-terminal (VVCA) iki aktin monomeri ile etkileşime girebilir bu WASP ile karşılaştırıldığında N-WASP'ın üstün aktin polimerizasyonu sonuçlanır. Böylece WASP ve N-WASP benzer bağlanma alanlarıyla ve karşılaştırılabilir temel fonksiyonlarına sahip olarak %50'den fazla dizi homolojisine sahiptirler. WASP ve N-WASP Arp2/3 kompleksiyle dinlenme durumunda VCA bölgesiyle etkileşimi önleyen bir oto-inhibitör kapalı konformasyonda bulunur. WASP ve N-WASP otomatik engelleme durumundan kurtarmak için Rac1 (GTPase Rho ailesi üyesi) WAVE 1-3 'ü etkinleştirir ve Rac1'in N-WASP'ın daha etkili bir aktivatörü olduğu, Cdc42'nin ise WASP ile daha güçlü aktivatörü olduğu bilinmektedir. PIP2; Cdc42 ile sinerji oluşturduğunda WASP ve N-WASP aktivasyonuna aracılık etmektedir. Tomaseviç ve ark. PIP2'nin WASP'ı negatif olarak düzenlediği, ancak Cdc42'nin aracılık ettiği N-WASP aktivasyonunu düzenlemediği bildirilmiştir (Jain ve Thanablu, 2015).



Şekil 2. 6 T Hücresinin Aracılık Ettiği Sinyal Yolağı Diyagramı (Jain ve Thanablu, 2015)

Nöronal Wiskott—Aldrich sendromu proteini (N-WASP), WASP protein ailesinin bir üyesidir. Kromozom üzerinde 7q31.32 lokalizasyonunda yer alan 11 ekzonluk bir proteindir. Hemen hemen her dokuda eksprese olmakla birlikte en fazla nöronal dokularda daha fazla eksprese olmaktadır. Literatürde; WASL, NWASP, WASPB ve N-WASP olarak da bilinmektedir. Yapısal olarak; N-terminalde; WASP homoloji alanı (WH1), ardından bir temel bölge (BR), GTPaz bağlanma alanı (GBD), prolin açısından zengin bölge (PRR) ve C-terminalinde verprolin-kofilin-asidik bölgesi (VVCA) yapısından oluşmaktadır N-WASP, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesinde yer alan WASP ailesinin önemli bir bileşenidir. Arp2/3 kompleksinin aktivasyonunu modüle ederek aktin polimerizasyonunu düzenlemektedir (Wang ve ark., 2020).



Şekil 2. 7 N-WASP'ın Kromozom Lokasyonu (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8976>)

İmmün hücre göçünün temel rolü, kusurlu mobilizasyonun neden olduğu birçok farklı bozukluktan kaynaklanmaktadır. İmmün aracılı inflamatuvar bozukluklar, anormal sitokin üretimi ve belirsiz derecede verilen bağışıklık tepkilerinden kaynaklanan çözölemeyen inflamasyon ile karakterize heterojen hastalık grubudur. Bu hastalıklar otoimmün hastalıklar, hepatit, tip I diyabetes mellitus, romatoid artrit (RA), sedef hastalığı ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Otoimmün hastalıklarda, bağışıklık sistemi kendine karşı tepki vererek doku yıkımına ve sonunda fonksiyon kaybına neden olur. Hücre göçünde hücre iskeleti, ilişkili proteinler tarafından yönlendiren, polarize şekil değişikliği ve hücre dış ortamla mekanik etkileşimi sağlar. Hücre göçünde Rho-GTPase ve Cdc42 ana hücre iskeleti elemanlarıdır. Cdc42, göç, polarite, yapışma membran kabarması ve hücre içi kaçakçılık gibi çeşitli süreçlere katılır. Lamellipodia ve filopodia oluşumu için Cdc42 gereklidir. WASP doğrudan Cdc42'yi hedef alarak aşağı akış efektörlerini hedeflemektedir. Hematopoietik WASP, immün hedef hücre etkileşimleri, apoptoz, sinyalleşme ve lökosit göçünde immün hücrelerde önemli olan bir hücre iskelet düzenleyicisidir. Bir çalışmada, N-WASP'ın inhibisyonu ile RA'lı hastalardan alınan sinovyal doku kullanılarak yapılan in vitro deneyde tedavinin hücresel göç ve invazyon azalmasıyla sitoskeletin yeniden düzenlemelerle sonuçlandığı bildirilmiştir. Peterson ve ark. aynı prosedürü kullanarak wiskostatini keşfettiler. Wiskostatin, N-WASP aktivitesini inaktif durumda stabilize ederek benzer şekilde Arp2/3 kompleksinin aktivasyonunu önleyen başka bir N-WASP inhibitörüdür (Biro ve ark., 2014) .

Psoriasis epiderminin belirgin şekilde kalınlaşması ve keratinosit farklılaşmasının değişimiyle ilişkili dermis ve epidermin iltihaplanması ile karakterize kronik inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Sedef hastalığının tahmini prevalansı genel popülasyonda %2-4'tür ancak Asya popülasyonunda bu oran daha düşüktür (%0,4). Sedef hastalığının etiyolojisi karmaşıktır. Spesifik olarak, derinin otoimmün benzeri iltihabı, güçlü genetik bir arka plana sahip olduğunu göstermektedir ve aynı zamanda çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Bu çevresel faktörler, travma, ilaçlar, UV maruziyeti, metabolik ve psikojenik faktörlerin yanı sıra alkol, sigara kullanımı, yaşam tarzı gibi etmenlerden etkilenmektedir. Ayrıca streptokok enfeksiyonları da sedef hastalığını etkilemektedir. Patofizyolojisi nedeniyle sedef hastalığının kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, romatoid artrit, sigara, alkol ve

stresle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Hem sedef hastalığı hem de periodontitis epitelyal yüzeylerde bulunan mikrobiyotaya karşı yoğun bir bağışıklık tepkisi ile karakterize edilir. Th-17 hücreleri ve düzenleyicileri T hücreleri, yoğun bağışıklık tepkisini yönlendirmede önemli rol alır. Hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklığı başlatmak ve düzenlemek için önemlidir. Çalışmalar, psoriasis ciltte ve periodontitisli hastaların TLR-2 'nin yukarı regüle edildiğini ifade etmişlerdir (Wu ve ark., 2022).

Sedef hastalığının nedeni bilinmemekle birlikte hastalığın gelişimi ve sürdürülmesi, bağışıklık hücreleri ve keratinositler arasındaki etkileşimle gerçekleşir. Timosit gelişimi N-WASP tarafından yukarı akışta hücre iskeleti moleküllerinin düzenlenmesiyle yakından ilişkilidir. Bu nedenle N-WASP, T hücresi gelişimi için kritik bir öneme sahiptir. Yapılan bir çalışmada nakavt N-WASP'ın farelerde atopik benzeri iltihaplanmaya neden olduğu ve deride sistemik bağışıklık tepkisine yol açtığı bulunmuştur. Epidermiste; N-WASP nakavt immün hücrelerde aktive edildiği, IL-6 ve IL-17 ekspresyonları dermal T hücreleri tarafından indüklenmiştir. N-WASP geninin susturulması, farelerde erken embriyonik ölüme neden olduğu ancak filopodia oluşumunun bozulmadığı gözlemlenmiştir. Li ve ark. her yaştan N-WASP nakavt farelerde deri bölümlerinde sırt, kuyruk, göz kapağı, kulak, burun ve yüz derisinde hafif ila orta derecede epidermal hiperplazi ve dermal hücre proliferasyonu olduğunu göstermiştir (Li ve ark., 2018). N-WASP nakavt farelerin dişeti epitel ve bağ dokusunda deride benzer orta derecede bir inflamatuvar reaksiyon göstermiştir. N-WASP'ın yıkımı artan inflamatuvar sitokin üretimini NF-kB ve ERK-MAPK sinyal yolları ile düzenlediği ve N-WASP fare dişetinin immünopatogenezinde kritik bir rol aldığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2020).

N-WASP, periodontitisle aynı patogeneze ve risk faktörlerine sahip sedef hastalığı ile ilişkilidir. Periodontitis gelişiminin bakteriyel enfeksiyonlar sonucu meydana geldiği ve WASP protein ailesi hücre göçü sinyal iletiminde, hücre polimerizasyonunda ve fagositoz olaylarında görev aldığı göz önünde bulundurulduğunda periodontitis gelişiminde yaşanan diş kayıplarında N-WASP proteinlerinin etkili olabileceği düşünülebilir. Yaptığımız literatür taramasında N-WASP'ın insan dişeti üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlamadık. N-WASP'ın periodontitis patogenezinde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. MATERİYAL

3.1.1 Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Hastanesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı polikliniğine periodontitis nedeniyle ileri diş destek doku kaybı oluşumuna bağlı diş çekimi için başvuran periodontitis tanısı almış 20 hasta (13 erkek, 7 kadın) dahil edildi. Çalışma için gerekli izin Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 28.01.2021(2021/02) tarihli toplantısında 21-KAEK-008 proje numarası ile alındı. Çalışmanın tamamı Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bu tez çalışması, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığınca 2021/60 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1.2. Dokuların Saklanması

Çalışmaya dahil olan katılımcıların izni ve bilgisi dahilinde ameliyat sırasında doku örnekleri alındı ve sonrasında çalışılmak üzere -80°C’de muhafaza edildi.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Homojenizatör (Heildolph Silent Crusher, Almanya)
- Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Otomatik pipetler µl (Transferpette, Almanya)
- -20° C derin dondurucu(Arçelik, 2052dy Türkiye)
- Vorteks (Velp, Scientifica, F20220176, İtalya)
- Etüv (Memmert, Almanya)
- Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- -80 Derin Dondurucu (Nuair, Nu9483e, ABD)
- PZR (Termal Döngü Cihazı, Biometra, Almanya)
- Real Time PZR (Applied Biosystems, İngiltere)
- Distile su cihazı(Elgaooption Q7, İngiltere)
- Qubit 2.0° Fluormeter (Invitrogen by life technologies, Avustralya)

- Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Plate (Applied Biosystems, 4346907, İngiltere)
- Plate Yapıştırıcı (Applied Biosystems, 20145092, İngiltere)
- Ph Metre (Hanna Instruments, HI2020W, ABD)
- Otoklav (HMC, HV25, Almanya)
- Distile Su Cihazı (Elgaoption Q7, İngiltere)

3.1.4 Çalışmada Kullanılan Sarf ve Kimyasallar

3.1.4.1 RNA İzolasyon Kiti

RNA izolasyonunda Thermo Scientific marka GeneJET RNA Purification Kit (Lot: 01125929)

- Lizis solüsyonu
- Yıkama solüsyonu 1
- Yıkama solüsyonu 2
- Water Nuklease Free
- RNA Purification Columun Collection Tube
- Proteinaz K

3.1.4.2 cDNA izolasyon Kiti

RNA yı cDNA çevirmek için Thermo Fisher Scientific marka Applied biosystems High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Lot: 01152470)

- RT-Random Primers
- dNTP mix
- Multi Scribe Revers Transkriptaz
- dH₂O Nuklease Free Water

3.1.4.1.3 Qubit ssDNA Test Kiti

cDNA'ların miktar tayininin yapılması için Thermo Fisher Scientific marka Invitrogen Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kit (Lot: 2346191)

- Çalışma solüsyonu
- Standart 1
- Standart 2

3.1.4.1.4 Real time PZR Kiti

- 1X ROX Dye (50X) (A.B.T™ 2X qPCR SYBR Green Master Mix) (with ROX)
- Forward Primer
- Reverse Primer
- Template cDNA
- RNaz-free Water

3.1.4.1.5 Kit Harici Malzemeler

- TE Buffer
- B-mercaptoethanol
- Etanol
- Bisturi
- Deney tüpü
- Ependorf
- Pastör pipeti
- Distile su

3.2 METOD

Hastalardan periodontitisli ve sağlıklı dişeti dokuları toplandı ve çalışma zamanına kadar dokular 80°C’de muhafaza edildi. Hasta ve kontrol gruplarına ait doku örneklerinde RNA izolasyon kit (Thermo, Lot: 01125929, Lithuania) protokolü uygulanarak RNA’lar elde edildi. Daha sonra cDNA sentez kit protokolü uygulanarak elde edilen RNA’lar cDNA’ya çevrildi. Gerçek zamanlı PZR analizi kullanarak N-WASP genine ait ekspresyon değişiklikleri saptandı.

3.2.1. RNA İzolasyon Protokolü (K0731)

- Çalışma yapılacak alan %70’lik etanol ve RNaseZap ile RNAaz’lardan arındırılarak temizlendi.
- -80°C’de saklanan periodontitis dokuları 30 gr tartılarak bisturiyle daha ufak parçalara ayrıldı.
- Her bir örnek için deney tüpüne 300 l lizis tamponu (B-merkaptoetanol eklenmiş) eklendi ve örnekler 10 sn vortekslendi.
- Her rnek 20.000 rpm’de homojenizatörde parçalandı.
- Parçalanan her doku 1,5 l ependorf tüpe alındı
- 600 l Proteinaz K (10 l Proteinaz K + 590 l TE buffer) eklendi
- 25 C de 10 dk inkübe edildi
- 12.000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi
- Süpernatantlar RNAase içermeyen mikrosantrifüj tüpe alındı
- 450 l etanol (%70’lik) eklendi ve pipetaj yapıldı
- Örnekler filtreli tüpe alındı ve 700 l lizat eklendi ve 12.000 rpm’de 1 dk santrifüjlendi
- Tüpler atılarak filtreler 2 l yeni tüpe alındı zerlerin 700 l yıkama solüsyonu 1 eklendi ve 12.000 rpm’de santrifüjlendi.
- Tüpler atıldı ve 2 l tüplere yerleştirildi ve tüplere 600 l yıkama solüsyonu 2 eklendi ve 12.000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi
- Filtreler 2 l tüpe takıldı üzerine 250 l Wash Buffer 2 eklendi ve 12.000 rpm’de 2 dk santrifüj edildi (kolon temizliğinden emin olmak için yapıldı).

- Tüpler 12.000 rpm de dk santrifüj edildi.
- Filtreler 1.5 µl tüpe takıldı ve üzerlerine 100 µl RNAase Free Water eklendi ve 12.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilerek RNA hazır hale getirildi.

3.2.2 RNA' dan cDNA sentezi

İzole edilen RNA örneklerinin cDNA' ya çevrilmesi Applied Biosystems Thermo Fisher Scientific marka High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (lot; 01152470) kullanılarak yapıldı. Sentez işleminde üretici firma kit protokolü uygulandı. Kit bileşenleri önerilen oranlarda mikrotüpte karıştırıldı. Hava kabarcıklarının giderilmesi için kitler 10 sn santrifüjlendi.

cDNA sentezi için kit miktarları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. Tabloda, 10X reaksiyon şeklinde verilen kit içeriği 2X olacak şekilde bileşenler eklenerek mix hazırlandı. 20 periodontitis ve 20 sağlıklı dokudan izole edilen RNA örnekleri aşağıda verilen miktar ve PZR prosedürü uygulanarak cDNA'ya çevrildi.

Tablo 3.1 cDNA Sentezi için Kullanılan Bileşenler

Bileşenler	Mix (2X)
Nüklease Water free / d H2O	4,2 µl
10X Reaction Buffer	2 µl
Enzim (Reverse Transkriptaz)	1 µl
Dntp	0,8 µl
Primer	2 µl
Total Hacim	10 µl

Tablo 2.2 cDNA PZR döngüsü

PZR Sıcaklık Değerleri	Süre
25°C	10 dk
37°C	120 dk
85°C	5 dk
+4°C	∞

3.2.3. cDNA Konsantrasyonlarının Ölçümü

cDNA ölçümleri için Qubit® 2.0 fluorometer cihazı kullanıldı. Qubit için Invitrogen marka Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kit (lot 2346191) kullanıldı. Ölçümün doğru yapılabilmesi için çalışma solüsyonundan 190 µl ve 10 µl standart 1 ve standart 2 eklenerek cihazda kör alındı. Ölçüm yapmak için çalışılacak her örnekten 5 µl cDNA ve çalışma solüsyonu eklenerek 200 µl'ye tamamlandı. Pipetaj yapılarak örnek ve çalışma solüsyonun karışması sağlandı. Sonrasında sırasıyla cihazda ölçümleri yapıldı ve değerler yazıldı. cDNA miktarı her bir reaksiyonda 60 ng olacak şekilde hesaplama yapılarak cDNA miktarları her bir örnek için ayrı ayrı hesaplandı.

3.2.4. Gerçek Zamanlı PZR (RT-PCR)

Hücrede RNA miktarı bir genin ne kadar miktarda eksprese olduğunu belirtir. Ekspresyon seviyeleri, genden gene, hücreden hücreye ve deneysel koşullara göre değişim gösterebilir. Kantitatif gen ekspresyon çalışmalarında; protein seviyeleri, transkripsiyonunun doğrulanması için sağlıklı doku ile hastalıklı dokuda gen ekspresyonlarının kıyaslanması, hücre farklılaşması ve gelişimi sırasında gen ifadesindeki değişimler, kimyasal bir maddeye (ilaç, toksin hormon veya sitokin) maruz kalan hücreler için ekspresyon değişikliği, kodlanmayan RNA gen ekspresyon miktarı tayini veya antisens oligonükleotitlerinin etkinliğinin doğrulanması için kullanılan bir araçtır. Reverse- Transkriptaz Polimeraz Zincir reaksiyonu (RT-PZR), hücrelerde RNA moleküllerinin reverse-transkriptaz enzimiyle cDNA'ya çevrilmesi işlemidir. Real-Time PZR gen ekspresyon çalışmalarında kullanılan güçlü bir araçtır. RNA miktarı az olsa dahi

RNA kolayca saptanabilir. Çalışma prensibinde; DNA'ya bağlanan boyalarla (SYBR Green, SYTO9 vs) sinyal aracılığıyla ekspresyonun tespit edilmesi temeline dayanır (Schmittgen ve Livak, 2008).

3.2.5 RT-PZR Aşaması

İzole edilen RNA'ların cDNA'ya çevrilmesiyle real time PZR ile gen ekspresyonunun saptanması aşamasına geçildi. Real-Time PZR analizinde hedef gen olarak N-WASP geni ile housekeeping gen olarak beta-aktin kullanıldı.

Tablo 3.3 RT-PZR'ın Bileşen ve Miktarları (herbir örnek için)

Bileşenler	Miktar (µl)
RealQ Master Mix	12,5 µl
Primer (R)	0,5 µl
Primer (F)	0,5 µl
dH2O	8,5 µl
cDNA	3 µl
Total	25 µl

Tablo 3.4 Çalışma için Kullanılan Primerler

Primerler	
Beta-Aktin	5'-GCATGGGTCAGAAGGATTCC-3' 5'-CACGCAGCTCATTGTAGAAGG-3'
N-WASP Forward	5'-AGGGTCACCAACGTGGGGTC-3'
N-WASP Reverse	5'-TGCAGGCCAAAGTCAGAGTC-3'

Tablo 3. 5 qRT-PZR Programı

Basamaklar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Başlangıç	50	20sn	1
Denatürasyon	95	10dk	1
Yapışma	95	15sn	40
Uzama	55	1dk	40

4.BULGULAR

Bu çalışmada Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD'na başvurarak periodontitis tanısı alan ve opere edilen 20 bireye ait periodontitisli dokular ve bu hastalara ait sağlıklı dişeti dokuları kullanıldı. Çalışma grubu yaş aralığı 34-65 (ortalama 51,15) olan 8 kadın ve 12 erkekten oluşmuştur. Çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

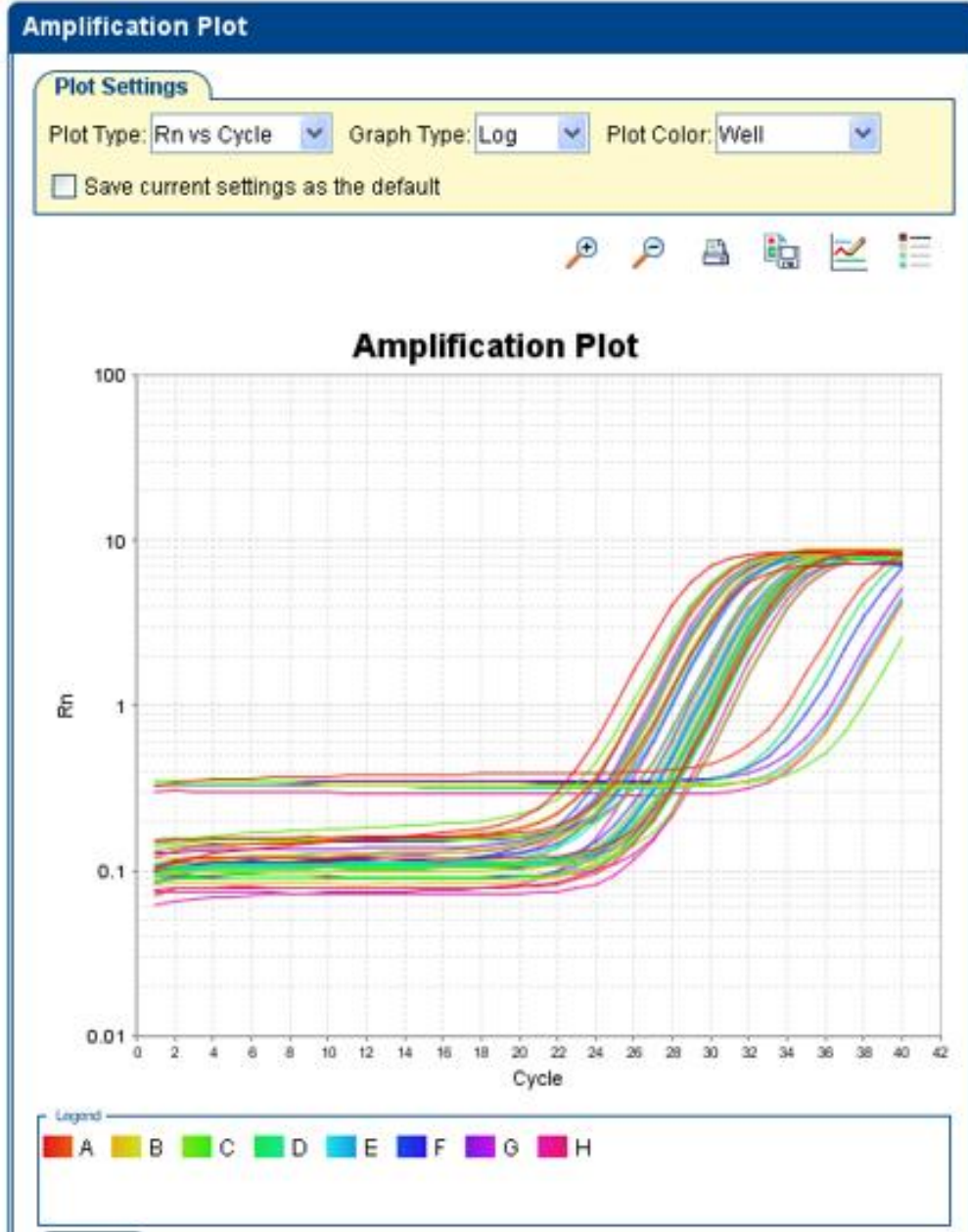


Şekil 4.1 Çalışılan Hastalarda Cinsiyet Dağılımı

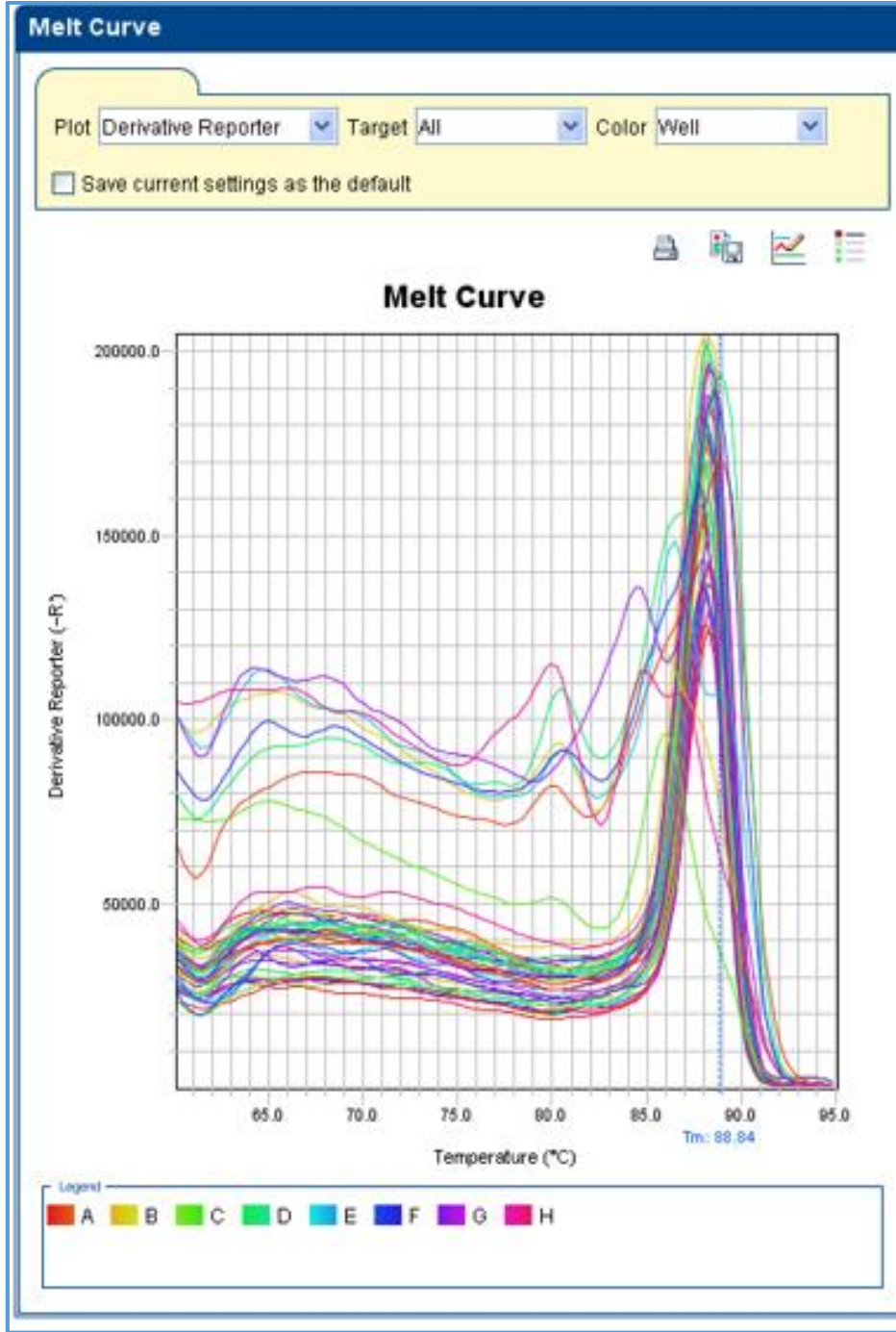
4.1. Real-Time PZR Analiz Sonuçları

N-WASP mRNA ekspresyon ifade düzeyinin belirlenmesi için SYBR Green temelli kantitatif Real-Time PZR tekniği kullanıldı. Çalışmada hedef gen olarak N-WASP ve referans gen olarak beta-aktin (ACTB) kullanıldı.

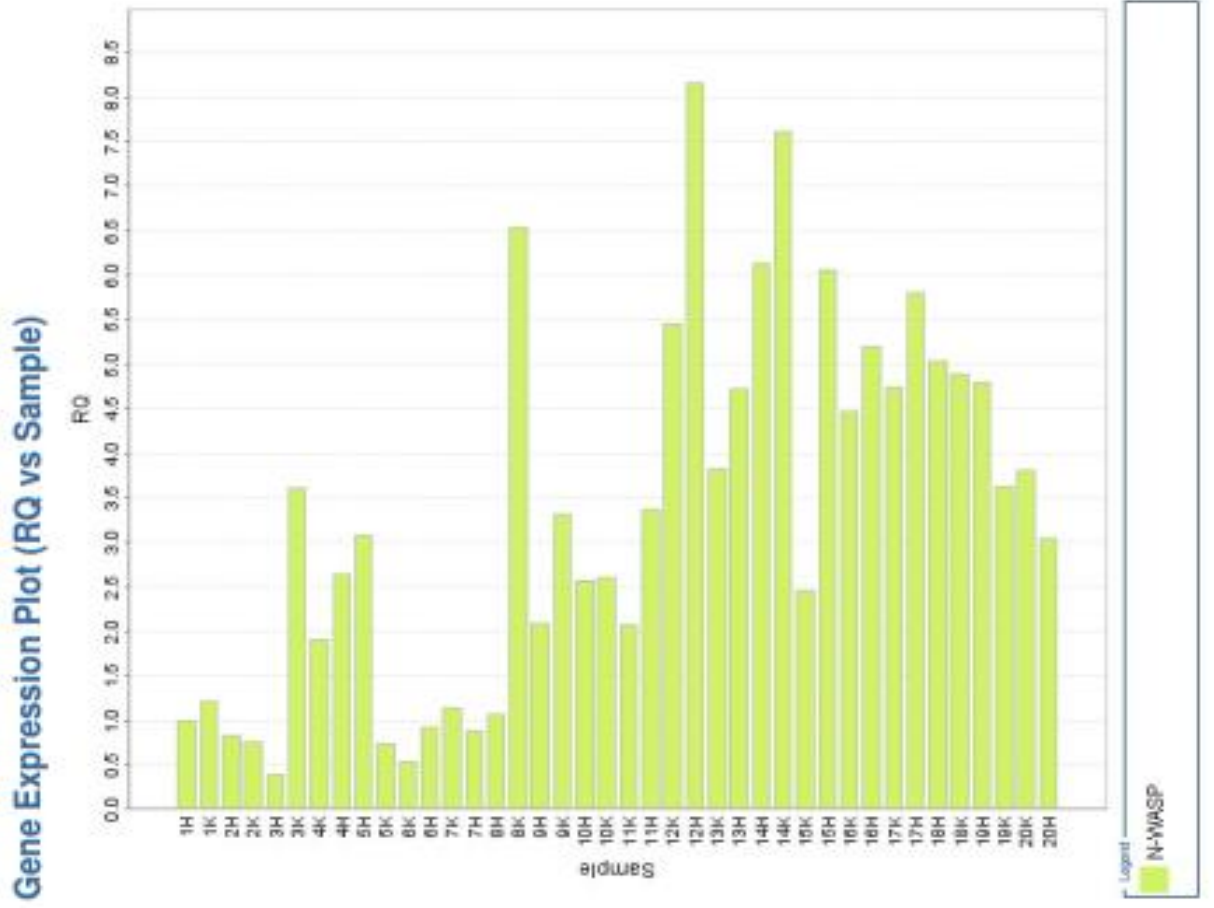
RT-PZR sonucunda gözlemlenen ACTB ve N-WASP genine ait amplifikasyon eğrisi, erime piki ve ekspresyon düzeyi sırasıyla aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



Şekil 4.2 N-WASP Amplifikasyon Grafiği



Şekil 4.3 ACTB Genine ait Erime Eğrisi



Şekil .4.4 N-WASP Geni Ekspresyon Düzeyleri

4.2. N-WASP Geni qRT-PZR Sonuçlarının İstatiksel Analizi

Periodontitis ve kontrol dokularındaki N-WASP geninin RNA düzeyindeki ekspresyonu qRT-PZR kullanılarak gerçekleştirildi. N-WASP ve ACTB genlerinin qRT-PZR sonuçları step one plus software v2.3 programı ile kantifikasyonu yapıldı. N-WASP gen verileri ACTB geniyle standardize edildi. Ekspresyon düzeyi belirlenmesinde N-WASP ve β -aktin genlerinin Ct değerleri kullanılarak, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerini hesaplamak için kullanıldı. Elde edilen değerlerin referans aralığı 0,9-1,1 aralığı olarak kabul edilmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda dokularda N-WASP ekspresyonu 0,9 aralığından N-WASP'ın ifade düzeyinin azaldığını 0,9-1,1 aralığında ise ideal ekspresyon olduğu ve 1,1'in üzerinde olduğunda ise yüksek ekspresyon olduğu anlamına gelmektedir. Elde edilen verilerin daha sonra istatistiksel analizi gerçekleştirildi. Çalışma gruplarının genel özellikleri hakkında bilgi vermek amacı ile tanımlayıcı analizler yapılmıştır. Sürekli değişkenlere ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde; kategorik değişkenlere ilişkin veriler ise n (%) şeklinde verilmektedir. Nicel değişkenlerin gruplar arasındaki ortalamalarını karşılaştırırken İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik testi ve Tek Yönlü Varyans Analizinden yararlanılmaktadır. Nitel değişkenler arasındaki ilişki olup olmadığını değerlendirmek için çapraz tablolardan ve ki-kare testlerinden yararlanılmaktadır. p değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS istatistik yazılımı kullanılmıştır (SPSS 22.0 Chicago, IL, USA).

Çıkan sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ methodu ile hesaplandı (Schmittgen ve Livak, 2008).

ΔCt (periodontitis dokusu)= N-WASP Geni (Ct ortalama)- Aktin Geni (Ct ortalama)

Ct (kontrol dokusu)= N-WASP Geni (Ct ortalama)-Aktin Geni (Ct ortalama)

= $2^{-\Delta Ct}$ (periodontitis dokusu)- ΔCt (kontrol grubu)

Tablo 4.1 Nitel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler		n	%
Grup	Hasta	20	50,0
	Kontrol	20	50,0
Cinsiyet	Kadın	16	40,0
	Erkek	24	60,0
Kanama skoru	0	2	6,3
	1	2	6,3
	2	16	50,0
	3	8	25,0
	4	4	12,5
	2	20	62,5

Plak	3	6	18,8
	4	6	18,8
Diş eti çekilmesi	2	4	11,8
	3	4	11,8
	4	12	35,3
	5	8	23,5
	7	4	11,8
	8	2	5,9

Tablo 4.2 Nicel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler	Ort.	SS	Min.	Maks.
Yaş	51,15	9,95	34,00	65,00
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	3,24	2,14	0,028	8,16

Tablo 4.3 Cinsiyete Göre Nitel Değişkenler Dağılımı

Değişkenler		Cinsiyet				χ^2	P
		Kadın		Erkek			
n	%	n	%				
Kanama skoru	0	2	14,3	0	0,0	5,587	0,232
	1	0	0,0	2	11,1		
	2	8	57,1	8	44,4		
	3	2	14,3	6	33,3		
	4	2	14,3	2	11,1		
Plak	2	12	85,7	8	44,4	7,077	0,029
	3	0	0,0	6	33,3		
	4	2	14,3	4	22,2		
Diş eti çekilmesi	2	2	12,5	2	11,1	3,227	0,665
	3	2	12,5	2	11,1		
	4	4	25,0	8	44,4		
	5	4	25,0	4	22,2		
	7	2	12,5	2	11,1		
	8	2	12,5	0	0,0		

*Pearson ki-kare testi kullanıldı.

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

Tablo 4.4 Yaşın Nitel Değişkenlere Göre Dağılımı

Değişkenler		Yaş		t,F	P
		Ort.	SS		
Grup	Hasta	51,15	10,08	0,000	1,000
	Kontrol	51,15	10,08		
Cinsiyet	Kadın	52,88	8,24	0,797	0,378
	Erkek	50,00	10,96		
Kanama skoru	0	48	0	3,472	0,021
	1	39	0		
	2	55,12	7,29		
	3	50,25	12,43		
	4	63	1,15		
Plak skoru	2	52,7	6,52	7,842	0,002
	3	45,67	14,38		
	4	63,67	1,37		
Diş eti çekilmesi	2	42	3,46	4,617	0,003
	3	57,5	1,73		
	4	49,5	9,51		
	5	56,25	8,15		
	7	63	1,15		
	8	58	0		

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

Demografik veriler neticesinde hastalar yaşlarına göre gruplandırılarak analiz yapıldı. Analizde hastaların yaşlarının artmasıyla plak skoru ($p=0.002$), kanama skoru ($p=0.021$) ve dişeti çekilmesinin ($p=0.003$) anlamlı olduğu saptandı. ($p<0.05$) Yaşın artmasıyla birlikte plak oluşumu, kanama ve dişeti çekilmesinin yaşanması muhtemeldir

Tablo 4.5 Bağımlı Değişkenlere Bağlı Nitel Değişkenler

LSD							
Bağımlı Değişken	(I) Kanama Skoru	(J) Kanama Skoru	Ortalama Fark (I-J)	SH.	P	%95 Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
Yaş	0	1	9,000	8,352	0,291	-8,136	26,136
		2	-7,125	6,264	0,265	-19,977	5,727
		3	-2,250	6,603	0,736	-15,797	11,297
		4	-15,000*	7,233	0,048	-29,840	-0,160
	1	0	-9,000	8,352	0,291	-26,136	8,136
		2	-16,125*	6,264	0,016	-28,977	-3,273
		3	-11,250	6,603	0,100	-24,797	2,297
		4	-24,000*	7,233	0,003	-38,840	-9,160
	2	0	7,125	6,264	0,265	-5,727	19,977
		1	16,125*	6,264	0,016	3,273	28,977
		3	4,875	3,616	0,189	-2,545	12,295
		4	-7,875	4,669	0,103	-17,454	1,704
	3	0	2,250	6,603	0,736	-11,297	15,797
		1	11,250	6,603	0,100	-2,297	24,797
		2	-4,875	3,616	0,189	-12,295	2,545
		4	-12,750*	5,114	0,019	-23,244	-2,256
	4	0	15,000*	7,233	0,048	0,160	29,840
		1	24,000*	7,233	0,003	9,160	38,840
		2	7,875	4,669	0,103	-1,704	17,454
		3	12,750*	5,114	0,019	2,256	23,244
		1	-,37975	,92488	0,685	-2,2774	1,5179
		2	,56325	,59701	0,354	-0,6617	1,7882
		3	,37800	,65399	0,568	-0,9639	1,7199

*:0,05 düzeyinde anlamlılık.

Tablo 4.6 Yaşa Bağlı Plak Oluşumu

LSD							
Bağımlı Değişken	(I) Plak	(J) Plak	Ortalama fark (I-J)	SH.	P	%95 Güven aralığı	
						Alt sınır	Üst sınır
Yaş	2	3	7,033	3,719	0,069	-0,572	14,639
		4	-10,967*	3,719	0,006	-18,572	-3,361
	3	2	-7,033	3,719	0,069	-14,639	0,572
		4	-18,000*	4,612	0,001	-27,433	-8,567
	4	2	10,967*	3,719	0,006	3,361	18,572
		3	18,000*	4,612	0,001	8,567	27,433

Tablo 4.7 Yaşa Bağlı Oluşan Dişeti Çekilmesi

LSD							
Bağımlı değişken	(I) Diş eti çekilmesi	(J) Diş eti çekilmesi	Ortalama fark (I-J)	SH.	P	%95 Güven aralığı	
						Alt sınır	Üst sınır
	2	3	-15,500*	5,192	0,006	-26,135	-4,865
		4	-7,500	4,239	0,088	-16,183	1,183
		5	-14,250*	4,496	0,004	-23,460	-5,040
		7	-21,000*	5,192	0,000	-31,635	-
		8	-16,000*	6,359	0,018	-29,025	-2,975
		2	15,500*	5,192	0,006	4,865	26,135

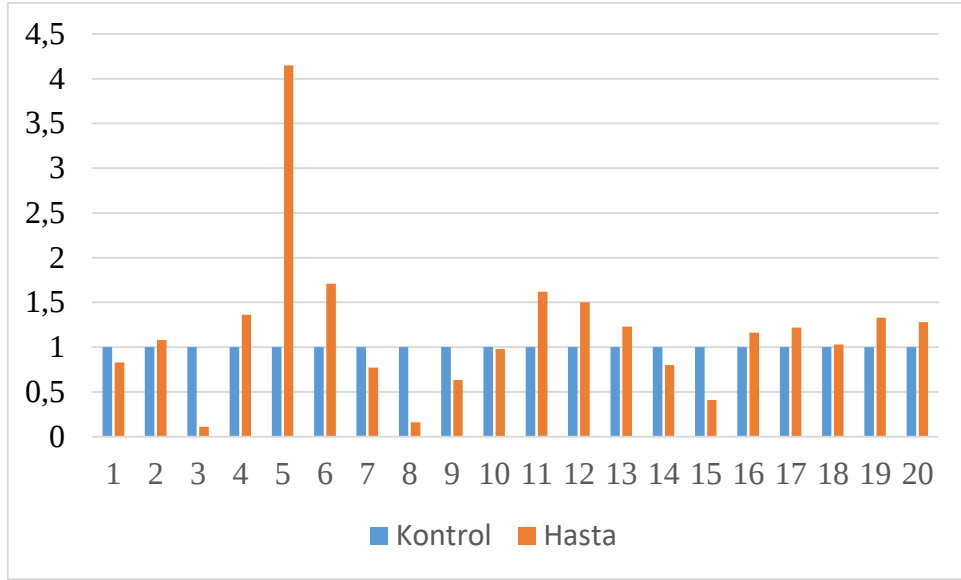
Yaş	3	4	8,000	4,239	0,070	-,683	16,683
		5	1,250	4,496	0,783	-7,960	10,460
		7	-5,500	5,192	0,298	- 16,135	5,135
		8	-,500	6,359	,938	- 13,525	12,525
	4	2	7,500	4,239	,088	-1,183	16,183
		3	-8,000	4,239	0,070	- 16,683	0,683
		5	-6,750	3,351	0,054	- 13,615	0,115
		7	-13,500*	4,239	0,004	- 22,183	-4,817
		8	-8,500	5,608	0,141	- 19,987	2,987
	5	2	14,250*	4,496	0,004	5,040	23,460
		3	-1,250	4,496	0,783	- 10,460	7,960
		4	6,750	3,351	0,054	-,115	13,615
		7	-6,750	4,496	0,144	- 15,960	2,460
		8	-1,750	5,805	0,765	- 13,640	10,140
	7	2	21,000*	5,192	0,000	10,365	31,635
		3	5,500	5,192	,298	-5,135	16,135
		4	13,500*	4,239	,004	4,817	22,183
		5	6,750	4,496	,144	-2,460	15,960
		8	5,000	6,359	,438	-8,025	18,025
	8	2	16,000*	6,359	,018	2,975	29,025
		3	0,500	6,359	,938	- 12,525	13,525
		4	8,500	5,608	0,141	-2,987	19,987
		5	1,750	5,805	0,765	- 10,140	13,640
		7	-5,000	6,359	0,438	- 18,025	8,025

*:0,05 düzeyinde anlamlılık.

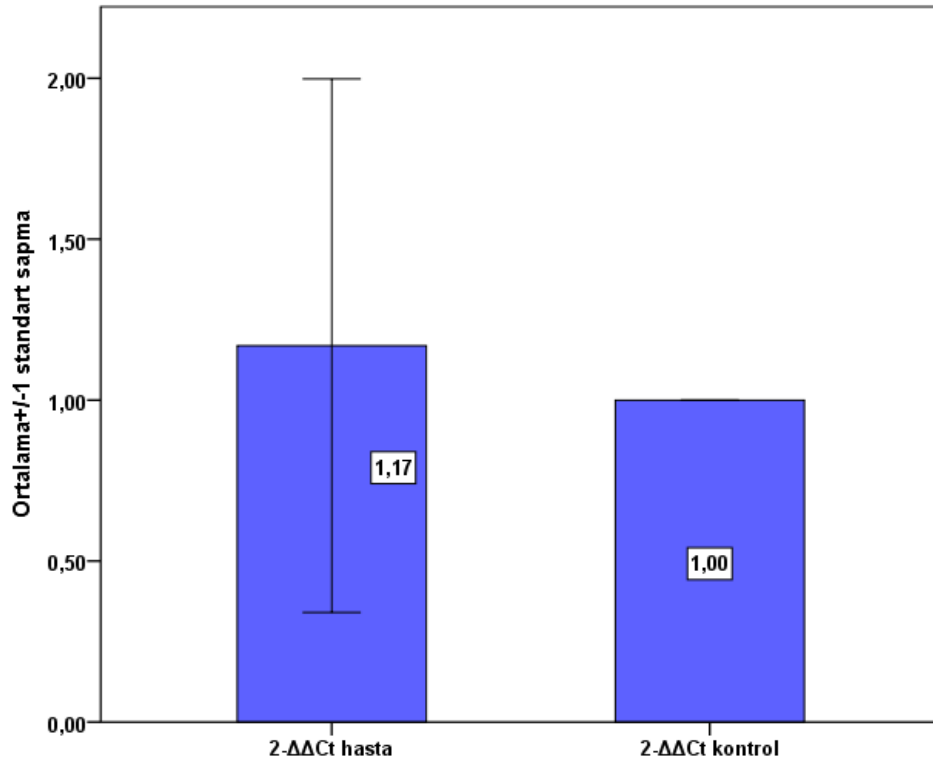
Tablo 4.8 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Değerlerinin Nitel Değişkenlere göre Dağılımı

Değişkenler	Ort	SS	t	P
Hasta	1,17	0,83	0,911	0,374
Kontrol	1,00	0,00		

RT-PZR analiz sonucuna göre periodontitis dokusundan N-WASP gen ifadesinin sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında periodontitis dokusundan elde edilen gen ekspresyonunda arttığı ($p= 0,347$) ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$).



Şekil 4.5 N-WASP'ın 2^{-ΔΔCt} Değeri ile Kontrol Doku Grubu Gen Ekspresyonu



Şekil 4.6 N-WASP Genine Ait Hasta Kontrol Gruplarına ait 2^{-ΔΔCt} Grafiği

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Periodontitis, oral mikrobiyomdaki değişimler sonucu meydana gelen ve yaygın olarak gözlemlenen bir dişeti hastalığıdır. Periodontitis gelişiminde *Aggregatibacter acinomyetemcomitans* önemli rol oynamaktadır. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* türleri periodontitisin en patojenik türleri olarak kabul edilmekle birlikte, farklı periodontitis formlarında da benzer bir prevalans gösterebilmektedir. Periodontitisten kaynaklanan kronik inflamasyonun diyabet, kardiyovasküler ve solunum yolu gibi sistemik hastalıkları da etkilediği gözlemlenmiştir. Bu nedenle tedavisi sistemik düzeyde önemlidir (Canut-Delgado ve ark., 2021).

Periodontitis, dünyadaki en yaygın altıncı kronik durum olarak nitelendirilmektedir. ABD’de yapılan bir çalışmada, periodontitisin yaş ilerledikçe prevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir. Şiddetli periodontitis yetişkinlerde ve 65 yaş üzeri bireylerde yaygın olarak gözlenmektedir. Garcia ve ark. 30-34 yaş aralığı ve 65 yaş üstü grupları periodontitis açısından kıyasladığında iki grup arasındaki farkın yedi kat olduğunu gözlemlemiştir. İstatiksel analiz sonuçlarına göre yaşa bağlı olarak periodontitis gelişim gösterebildiği bulunmuştur (Eke ve ark., 2016). Yaptığımız çalışmada benzer sonuçlar olarak hastaları grupladığımızda, 34-39 yaş arası %20, 40-59 yaş arası %60 ve 60 yaş üzeri bireyler %20 oranında periodontitis gelişim göstermiştir.

Ataşman kaybının ciddiyetine bağlı olarak genel ve lokalize olarak alt gruplara ayrılmaktadır. Kronik inflamasyon, enfeksiyona veya çevresel etmenlere karşı gelişen ve doku hasarına neden olan karmaşık bir süreçtir. Kronik periodontitis de doku yıkımı, sitokinlerin konsantrasyon yoğunluklarına göre gerçekleşebilir. Kronik inflamasyonun önemli bir kısmı, sitokin ağları içindeki çeşitli araçlar tarafından düzenlenmektedir. IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinler, akut, kronik inflamasyon ve doku hasarına neden olurken, IL-10 sitokini antagonist etkili sitokindir (Cardoso ve ark., 2018).

Periodontal tedaviler, diş çevresindeki periodontal cep derinliğine ve alveolar kemik yıkımının derecesine bağlı olarak ölçekleme, subgingival küretaj ve periodontal cerrahiye içermektedir. Ağız hijyenine dikkat edilmemesi, kronik periodontitis oluşumunu büyük ölçüde etkilemekte, aynı zamanda KAH, diyabet, hipertansiyon vb dahil olmak üzere bazı sistemik hastalıklara da sebep olabilmektedir. Tayvan

popülasyonunda yapılan çalışmada, osteoporoz ve periodontitis oluşum riski pozitif bir korelasyon göstermiştir. Ağız içi hijyende ise periodontitis hastalarında ağız içi bakımı iyi olan kişinin kötü olana oranla daha yüksek osteoporoz riskine sahip olduğu, periodontitis şiddeti ve osteoporoz riski yüksek düzeyde ilişkili olabileceği bulunmuştur (Huang ve ark., 2016).

Periodontitis ve metabolik hastalıklar arasında ilişkinin varlığının tespiti için Pekin’de orta yaş ve yaşlı nüfusta periodontal muayene ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. İleri evre periodontitisli hastalarda sistolik kan basıncı ve açlık glukozu başlangıç düzeyindeki periodontitis hastalarına göre daha yüksek bulunmuştur. Periodontitis şiddeti atıkça MS, yüksek kan şekeri ve düşük HDL-C prevelansı önemli ölçüde artmıştır (Yu ve ark., 2012).

Aktin hücre iskeleti, hücre polarizasyonu, morfogenez, hareket ve bölünme dahil olmak üzere birçok hücresel süreçte önemli rol alan karmaşık bir ağıdır. Patojen organizmalar, aktin hücre iskeletinin yeniden şekillenmesini kontrol ederek konakçı hücreleri istila edebilir. Patojenler konakçı hücrelere girmek için, Cdc42, RhoA ve Rac1’in aktivasyonunu düzenleyerek aktin polimerizasyonunu indükler. Arp2/3 kompleksi, dallı aktin filament ağı oluşturabilen tek mevcut moleküldür (Wen ve ark., 2022).

N-WASP yaygın olarak ifade edilen WASP ailesi proteindir ve Arp2/3 kompleksinin aktivasyonunu modüle ederek aktin polimerizasyonunu düzenler (Prehoda ve ark., 2000). N-WASP’ın en iyi bilinen işlevlerinden biri invaziv ve invadozomdur (Gaetner ve ark., 2021). Podozomlar ve invadopodia, hücre dışı matrise bağlanma ve bozunma bölgeleriyle temsil edilen metazoan hücrelerinin plazma zarının aktin bazlı dinamik çıkıntılarıdır (Murphy ve Courtheidge, 2011).

İnsan kanserlerinde N-WASP ekspresyonu ile pankreas adenokarsinomu, hepatosellüler karsinom, özafagus skuamöz karsinom ve memenin invaziv duktal karsinomunda kötü prognoz veya ileri evre arasında bir korelasyon gözlenmiştir. N-WASP seviyeleri metastatik karaciğer lezyonlarında primer kolon tümörlerine göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur Berrak hücreli renal karsinomda azalmış N-WASP ekspresyonu saptanmış olmakla birlikte, yüksek N-WASP düzeyi kötü bir prognozla

ilişkilendirilmiştir. Birçok kanser çalışmasında yüksek düzey N-WASP ekspresyonu sağkalım ile negatif bir korelasyon göstermiştir (Morris ve ark., 2018).

İnflamasyon aracılı otoimmünite ile ilişkili olarak, WASP eksikliği, hücrel göç ve adezyon, aktivasyon ve bağışıklık sisteminin T hücrelerini, B hücrelerini ve dendritik hücrelerini etkileyen antijen sunumunda kusurlara neden olur (Goyal ve ark., 2009).

Yapılan bir çalışmada, N-WASP nakavt fare dişeti epiteli ve bağ dokusunun deride benzer şekilde orta derecede bir inflamatuvar reaksiyon sergilediği bulunmuştur. N-WASP eksikliği periodontal dokuda inflamatuvar yanıtla ilişkili olabileceği düşünülmüş olup, N-WASP yıkımı p65, p38, JNK ve NF- κ B'nin fosforilasyonunun, N-WASP nakavt keratinositlerde kontrol hücrelerine oranla arttığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2020).

Li ve ark. her yaş grubundan N-WASP nakavt farelerin deri bölümlerinin sırt, kuyruk, göz kapağı, kulak, burun ve yüz derisinde hafif ve orta derecede epidermal hiperplazi ve dermal hücre proliferasyonu göstermiştir (Li ve ark., 2018). N-WASP T hücresi gelişimi için kritik öneme sahiptir ve timosit gelişimi, N-WASP tarafından yukarı akışta aktin hücre iskeletinin düzenlenmesiyle ilişkilidir (Cotta -de Almeida ve ark., 2007).

Wen ve ark. yaptıkları bir çalışmada, Mtb enfeksiyonunda N-WASP, Cdc42 ve Arp2/3 sinyal yollarının rol oynadığını bildirmiştir. Cdc42 ve N-WASP ifadesindeki bir azalmanın yanı sıra Cdc42, N-WASP ve Arp2/3 sinyal yolları inhibisyonunun akciğer epitel hücrelerindeki enfeksiyonu ile Mtb'yi artırdığı bulunmuştur. Bu nedenle Mtb enfeksiyonunun Cdc42, N-WASP ve Arp2/3 sinyal yolları aktivasyonu ile yakından ilişkili olabileceğini kuvvetle doğrulanmıştır. SDC4 ifadesinin Cdc42 sinyal yolu aktivasyonunu etkilediği ve Cdc42, N-WASP ve Arp2/3 inhibisyonu ile Mtb istilasını artırdığı bulunmuştur (Wen ve ark., 2022).

Lefever ve ark., yaptığı çalışmada, N-WASP mutant farelerde saç dökülmesi fenotipine sebep olduğu ve erken katajende saç folikülünde apoptoz artışına neden olabileceği bulunmuştur. Aynı zamanda N-WASP mutant farelerin mekanik strese karşı artan bir duyarlılık gösterdiği, enflamasyon ve ayak tabanında ise aşırı kalınlaşma olduğu gözlenmiştir (Lefever, ve ark., 2010).

N-WASP podositlerde stabilizasyon için gereklidir. Çünkü spesifik olarak podositlerde N-WASP içermeyen fareler, normal böbrek fonksiyonu ile doğmuş ancak doğumdan 3 hafta sonra önemli ölçüde proteinüri meydana gelmiştir. Yetişkin farelerde N-WASP'ın yokluğu ciddi proteinüri ve böbrek yetmezliğine sebep olmaktadır. N-WASP aracılı aktin çekirdeklenmesi filtrasyon bariyerinin mekanik direncini sürdürür ve podosit için gereklidir ayrıca N-WASP filtrasyon bariyerinin mekanik direncini sürdürmesi sebebiyle podosit için özel olarak gereklidir (Schell ve ark., 2013).

N-WASP'ın yukarı akışta, Cdc42 inatçı epilepsi hastalarında (IE) beyinde önemli ölçüde yukarı regüle olduğu ve cDNA mikrodizi analizi N-WASP'ın ekspresyonunda epileptik beyinde belirgin şekilde artış göstermiştir. 40 hasta ve 20 kontrol beyin dokusu incelenmiş ve N-WASP ekspresyonu IE hasta beyinlerinde önemli ölçüde daha yüksek seyretmiş ayrıca Arp2/3 düzeyi belirgin düzeyde yükselmiştir (Xiao ve ark., 2008). N-WASP hematopoietik hücrelerde eksprese edilen WASP'a yapısal olarak oldukça benzer. N-WASP, WASP gibi hem çekirdek hem de sitoplazmada bulunmakta ve burada histon değiştirici proteinlerle etkileşebilmektedir. Hematopoietik olmayan hücrelerde nükleer N-WASP'ın benzer işlevi, tümör oluşumu ve malign ilerleme için önemli olabilir. Anaplastik büyük hücreli lenfomada, WASP ekspresyonu sıklıkla azalır ve N-WASP yokluğunda artan Cdc42 yoluyla mitojenle aktive olan protein kinaz aktivitesini kontrol ederek tümör baskılayıcı olarak işlev görebilir (Li ve Brakebusch, 2019).

Periodontal hastalıklar, toplumda yaygın olarak gözlenen dişeti hastalığıdır. Dişeti bağ dokularında meydana gelen tahribat kemik yıkımına ve tedavi edilmediği takdirde diş kaybına neden olmaktadır. N-WASP, hücre iskeletinde Arp2/3 kompleksini modüle ederek aktin polimerizasyonunu sağlamaktadır. Çalışmamızda; dişeti bağ dokusunda yaşanan yıkımın N-WASP proteiniyle ilgili olabileceğini düşündük ve bu nedenle periodontitis tanısı almış 20 hasta ve aynı hastaların sağlıklı dişeti dokusunu çalıştık. Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, periodontitis ve N-WASP arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,374$) bir ilişki bulunamamıştır ($p<0,05$). Analiz sonuçlarımızı demografik olarak incelediğimizde, yaş durumuna bağlı olarak erkeklerde kadınlara oranla; kanama skoru ($p=0,021$), plak skoru ($p=0,002$) ve dişeti çekilmesi ($p=0,003$) açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca hastalarda cinsiyet durumuna göre yapılan analizde plak oluşumunun kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek olduğu saptandı bu da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p=0,029$) olduğunu göstermektedir. Bu

sonuca göre plak oluşumunun kadınlarda daha fazla yatkınlık gösterdiği sonucuna varabiliriz.

Çalışma sonuçlarımıza göre 7 hastada ekspresyon düzeyinin düşük olduğu, 4 hastada ideal bir ekspresyon olduğu ve 9 hastada ise N-WASP ekspresyonunun yüksek olduğu saptandı. N-WASP ekspresyonu yüksek tespit edilen hastalarda dişeti ekilmeside yüksektir.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir değer elde edemesek de periodontitis dokusunda N-WASP geninin ekspresyon düzeyinde belirli miktarda bir artışın gerçekleştiğini gözlemledik. Hastalarda yaş, plak oluşumu, kanama skoru ve dişeti çekilmesi gibi daha birçok parametreyle ve hasta sayısının artırılarak yapılacak çalışmaların hastalığın patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunacağına inanmaktayız. Sonuçlarımız hasta sayısının artırılarak yapılacak ileri çalışmalarla desteklenebilir.

Çalışmamız hücre iskelet proteinlerinden olan N-WASP ile periodontitis arasındaki ilişkinin incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır. Bu alışma ile periodontitis ve N-WASP arasındaki bağlantıya moleküler düzeyde bir temel oluşturulmuştur. Çalışmamızın daha fazla parametre ve örneklem gruplarıyla genişletilerek yapılacak olan ileri ki çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz. Aynı zamanda, periodontitis gibi inflamatuvar otoimmün bir hastalığın moleküler mekanizmasının anlaşılması, aynı süreçlerle gelişen diğer hastalıkların da teşhis ve tedavisine faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKÇA

- Abo, A. (1998). Understanding the molecular basis of Wiskott-Aldrich syndrome. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 54(10), 1145-1153.
- Akdoğan, M., & Yöntem, M. (2018). Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 36-45.
- Alayan, J., Gemmel, E., Ford, P., Hamlet, S., Bird, P., Ivanovski, S., & Farah, C. (2007). The role of cytokines in a Porphyromonas gingivalis-induced murine abscess model. *Oral Microbiol. Immunol*, 22:304–312.
- Andia, D., Letra, A., Casarin, R. C., Casati, M., Line, S., & de Souza, A. (2012). Genetic analysis of the IL-8 gene polymorphism (rs4073) in generalized aggressive periodontal disease. *Arch. Oral Biol*, 58:211–217.
- Batool, H., Nadeem, A., Kashif, M., Shahzad, F., Tahir, R., & Afzal, N. (2018). Salivary Levels of IL-6 and IL-17 Could Be an Indicator of Disease Severity in Patients with Calculus Associated Chronic Periodontitis. *Biomed. Res. Int.* 2018, 8531961.
- Benjamin, S., & Baer, P. (1967). Familial patterns of advanced alveolar bone loss in adolescence (periodontosis). *Periodontics*, 5:82–88.
- Bhaskar, L., Krishnan, V., & Thampan, R. (2007). Cytoskeletal elements and intracellular transport. *Journal of cellular biochemistry*, 101(5), 1097-1108.
- Biro, M., Munoz, M., & Weninger, W. (2014). Targeting Rho-GTPases in immune cell migration and inflammation. *British journal of pharmacology*, 171(24), 5491-5506.
- Bompard, G., & Caron, E. (2004). Regulation of WASP/WAVE proteins: making a long story short. *The Journal of cell biology*, 166(7), 957.
- Bora, G., Koyunoğlu, D., Sunguroğlu, M., & Yurter, H. (2019). Mikrotübül Yapı, Organizasyon ve Hataları: Spinal Müsküler Atrofi ve Amyotrofik Lateral Skleroz. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 39(2), 221-230.
- Borilova, L. P., Vokurka, J., Poskerova, H., Fassmann, A., & Izakovicova, H. L. (2013). . Haplotype analysis of interleukin-8 gene polymorphisms in chronic and aggressive periodontitis. *Mediat. Inflamm*, 342–351.
- Cai, S., Liu, X., Li, H., Freng, L., Cao, L., Huang, J., Shi, B. (2017). Elevated interleukin (IL)-35-related sCD14 but not IL-23 is associated with the severity of chronic periodontitis. *Int. J. Clin. Exp. Med*, 10:4119.
- Canut-Delgado, N., Giovannoni, M., & Chimenos-Küstner, E. (2021). Are probiotics a possible treatment of periodontitis? Probiotics against periodontal disease: a systematic review. *British dental journal*, 1-7.
- Cardoso, E., Reis, C., & Manzanares-Cespedes, M. (2018). Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgraduate medicine*, 130(1), 98-104.

- Carlier, M., Clainche, C., Wiesner, S., & Pantaloni, D. (2003). Actin-based motility: from molecules to movement. *Bioessays*, 25(4), 336-345.
- Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van, D., & T., E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 64(1), 57-80.
- Chen, D., Zhang, T., & Wang, X. (2016). *Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population*. Biomed. Res.
- Chen, H., Yu, S., Shen, X., Chen, D., Qui, X., Song, C., & Ding, C. (2011). The *Mycoplasma gallisepticum* α -enolase is cell surface-exposed and mediates adherence by binding to chicken plasminogen. *Microbial pathogenesis*, 51(4), 285-290.
- Ciftcibaşı, E., Koyuncuoglu, C., Ciblak, M., Badur, S., Kasali, K., Firatli, E., & Cintan, S. (2015). Evaluation of Local and Systemic Levels of Interleukin-17, Interleukin-23, and Myeloperoxidase in Response to Periodontal Therapy in Patients with Generalized Aggressive Periodontal disease. *Inflammation.*, 38:1959–1968.
- Cooper GM, & Hausman, R. (tarih yok). Hücre İskeleti ve Hücre Hareketi. A. N., K. E., & S. M. (Dü) içinde, *Hücre Moleküler Yaklaşım* (A. N., K. E., & S. M., Çev., s. 480). İzmir: İzmir Tıp Kitapevi.
- Cooper, G., & Hausman , R. (2016). Hücre Sinyal İletimi. C. G.M, R. Hausman, N. Atabey, E. Kalay, & M. Sakızlı (Dü) içinde, *Hücre Moleküler Yaklaşım* (N. Atabey, E. Kalay, & M. Sakızlı, Çev., s. 629-630). İzmir: İzmir Tıp Kitapevi.
- Corbi, S., Anovazzi, G., Finoti, L., Kim, Y., Capela, M., Secolin, R., . . . Cirelli, J. (2012). Haplotypes of susceptibility to chronic periodontal disease in the Interleukin 8 gene do not influence protein level in the gingival crevicular fluid. *Arch. Oral Biol*, 57:1355–1361.
- Cotta -de -Almeida, V., Westerberg, L., Maillard, M., Onaldi, D., Wachtel, H., Meelu, P., & Snapper, S. (2007). Wiskott–Aldrich syndrome protein (WASP) and N-WASP are critical for T cell development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(39), 15424-15429.
- Darveau, R. (2010). Periodontitis: A polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat. Rev. Microbiol*, 8:481–490.
- Demmer, R., & Papapanou, P. (2010). Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*, 53:28–44.
- Devi, S., Yadav, R., & Arya, R. (2011). Altered Actin Dynamics in Cell Migration of GNE Mutant Cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 396.
- Dogterom, M., & Koenderink, G. (2019). Actin–microtubule crosstalk in cell biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(1), 38-54.

- Dominguez, R., & Holmes, K. (2011). Actin structure and function. *Annual review of biophysics*, 40, 169-186.
- Eke, P., Wei, L., Borgnakke, W. S., Thornton-Evans, G., Zhang, X., Lu, H., & Genco, R. J. (2016). Periodontitis prevalence in adults ≥ 65 years of age, in the USA. *Periodontology 2000*, 72(1), 76-95.
- Escalona, L., Mastromatteo-Alberga, P., & Correnti, M. (2016). Cytokine and metalloproteinases in gingival fluid from patients with chronic periodontal disease. *Investig. Clin*, 57:131–142.
- Frugtniet, B., Jiang, W., & Martin, T. (2015). Role of the WASP and WAVE family proteins in breast cancer invasion and metastasis. *Breast Cancer: Targets and Therap*, 7, 99.
- Gaetner, F., Reis-Rodrigues, P., de Vries, I., Hons, M., Aguilera, J., Reidl, M., & Sixt, M. (2021). WASp triggers mechanosensitive actin patches to facilitate immune cell migration in dense tissues. *Developmental cell*.
- Glas, J., Török, H., Unterhuber, H., Radlmayr, M., & Folwaczyn, C. (2003). The -295T-to-C promoter polymorphism of the IL-16 gene is associated with crohn's disease. *Clin. Immunol*, 106:197–200.
- Gligorijevic, B., Wyckoff, J., Yamaguchi, H., Wang, Y., Roussos, E., & Condeelis, J. (2012). N-WASP-mediated invadopodium formation is involved in intravasation and lung metastasis of mammary tumors. *Journal of cell science*, 125(3), 724-734.
- Graves, D., Oskoi, M., Valeinikova, S., Naguib, G., Cai, S., Desta, T., & Jiang, Y. (2001). Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *Journal of dental research*, 80(10), 1875-1879.
- Graves, D., & Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*, 74(3), 391-401.
- Graves, P., Kabesch, M., Halonen, M., Holberg, C., Baldini, M., Fritzsche, C., . . . Martinez, F. (2016). A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *Allergy. Clin. Immunol. 2000*;, 105:506–513.
- Gürsoy, U., Könönen, E., Humonen, S., Tervahartiala, T., & Pussinen, P. (2013). Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 40(1), 18-25.
- He, K., Jian, F., Tang, H., Huang, B., & We, N. (2020). Analysis of the association of TNF- α , IL-1A, and IL-1B polymorphisms with peri-implantitis in a Chinese non-smoking population. *Clin. Oral Investig*, 24:693–699.

- Hermann, H., & Aepli, U. (2016). Intermediate filaments: structure and assembly. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(11), a018242.
- Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian dental journal*, 54, S11-S26.
- Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian dental journal*, 54, S11-S26.
- <https://dhc.dental/periodontists-in-miami>. (tarih yok).
- <https://dhc.dental/periodontists-in-miami>. (tarih yok).
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8976>. (tarih yok). NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8976> adresinden alındı
- Huang, Y., Chang, C., Liu, S., Tsai, C., Hong, H., & Wu, C. (2016). The impact of oral hygiene maintenance on the association between periodontitis and osteoporosis: a nationwide population-based cross sectional study. *Medicine*, 95(6).
- Iyoda, M., Shibata, T., Kawaguchi, M., Hizawa, N., Yamaoka, T., Kokubu, F., & Akizawa, T. (2010). IL-17A and IL-17F stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK1/2 and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: Synergy with TNF-alpha and IL-1beta. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*, 298:F779–F787.
- Jain, N., & Thanablu, T. (2015). Molecular difference between WASP and N-WASP critical for chemotaxis of T-cells towards SDF-1 α . *Scientific reports*, 5(1), 1-12.
- Jin, Y., Liu, D., & Lin, X. (2017). . L-35 may maintain homeostasis of the immune microenvironment in periodontitis. *Exp. Ther. Med*, 14:5605–5610.
- Kalburgi, N., Muley, A., Shivaprasad, B., & Koregol, A. (2013). Expression profile of IL-35 mRNA in gingiva of chronic periodontitis and aggressive periodontitis patients. *A semiquantitative RT-PCR study. Dis. Markers*, 35:819–823.
- Kalburgi, N., Muley, A., Shivaprasad, B., & Koregol, A. (2013). Expression profile of IL-35 mRNA in gingiva of chronic periodontitis and aggressive periodontitis patients: A semiquantitative RT-PCR study. *Dis. Markers*, 35:819–823.
- Kashiwagi, Y., Takedachi, M., Muri, K., Kubota, M., Yamada, S., Kitamura, M., & Mukarakami, S. (2016). High glucose-induced oxidative stress increases IL-8 production in human gingival epithelial cells. *Oral Dis*, 22:578–584.
- Kassebaum, N., Smith, A., Bernabe, E., Fleming, T., Reynolds, A., & Vos, T. (2017). GBD 2015 Oral Health Collaborato Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. *Journal of dental research*, 96(4), 380-387.

- Kim, E., & Choi, E. (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1802(4), 396-405.
- Kim, Y., Viana, A., Curtis, K., Orrico, S., Cirelli, J., & Scarel-Caminaga, R. (2009). Lack of association of a functional polymorphism in the interleukin 8 gene with susceptibility to periodontal disease. *DNA Cell Biol*, 28:185–190.
- Kirchhausen, T., & Rosen, F. (1996). Disease mechanism: unravelling Wiskott–Aldrich syndrome. *Current Biology*, 6(6), 676-678.
- Klein, W., Troman, A., Griga, T., Fricke, H., Folwaczny, C., Hokke, M., Epplen, J. (2001). The polymorphism at position– 174 of the IL-6 gene is not associated with inflammatory bowel disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*, 13:45–47.
- Koenders, M., Marijinissen, R., Devesa, I., Lubberts, E., Joosten, L., Roth, J., van den Berg, W. (2011). Tumor necrosis factor-interleukin-17 interplay induces S100A8, interleukin-1 β , and matrix metalloproteinases, and drives irreversible cartilage destruction in murine arthritis: Rationale for combination treatment during arthritis. *Arthritis Rheum*, 63:2329-2339.
- Kornman, K., Crane, A., Wang, H., Giovine, F., Newman, M., Pirk, F., & Duff, G. (1997). The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J. Clin. Periodontol*, 24:72–77.
- Kozak, M., Dabrowska-Zamojcin, E., Mazurek-Mochol, M., & Pawlik, A. (2020). Cytokines and their genetic polymorphisms related to periodontal disease. *Journal of Clinical Medicine*, 9(12), 4045.
- Ksiazek, K., Blaszcak, J., & Buraczynska, M. (2019). IL4 gene VNTR polymorphism in chronic periodontitis in end-stage renal disease patients. *Oral diseases*, 25(1), 258-264.
- Kumar, P., Griffen, A., Moeschberger, M., & Leys, E. (2005). Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *Journal of clinical microbiology*, 43(8), 3944-3955.
- Kurusu, S., & Takenawa, T. (2009). The WASP and WAVE family proteins. *Genome biology*, 10(6), 1-9.
- Kuyucuklu, G. (2013). Periodontitisli Hastalarda Matriks Metalloproteinaz-9 ve Tümör Nekrozis Faktör-Reseptör 2 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). *Periodontitisli Hastalarda Matriks Metalloproteinaz-9 ve Tümör Nekrozis Faktör-Reseptör 2 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi. Biyoloji Anabilim Dalı.
- Lafouresse, F., Vasconcelos, Z., Cotta-de-Almeida, V., & Dupre, L. (2013). Actin cytoskeleton control of the comings and goings of T lymphocytes. *Tissue Antigens*, 82(5), 301-311.

- Laine, M., Forre, M., Gozalez, G., Dijk, L., Ham, A., Winkel, E., . . . Pena, A. (2001). Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontal disease. *J. Dent. Res*, 80:1695–1699.
- Lane, J., Martin, T., Weeks, H., & Jiang, W. (2014). Structure and role of WASP and WAVE in Rho GTPase signalling in cancer. *Cancer genomics & proteomics*, 11(3), 155-165.
- Lefever, T., Pedersen, E., Basse, A., Paus, R., Quondamatteo, F., Stanley, A., & Brakebusch, C. (2010). N-WASP is a novel regulator of hair-follicle cycling that controls antiproliferative TGF β pathways. *Journal of cell science*, 123(1), 128-140.
- Lefever, T., Pedersen, E., Basse, A., Paus, R., Quondamatteo, F., Stanley, A., & Brakebusch, C. (2010). N-WASP is a novel regulator of hair-follicle cycling that controls antiproliferative TGF β pathways. *Journal of cell science*, 123(1), 128-140.
- Lepp, P., Brinig, M., Quverney, C., Palm, K., Armitage, G., & Relman, D. (2004). Methanogenic Archaea and human periodontal disease. *Proceedings of the national academy of sciences*, 101(16), 6176-6181.
- Li, H., & Brakebusch, C. (2019). Senescence regulation by nuclear N-WASP: a role in cancer? *Oncoscience*, 6(7-8), 354.
- Li, H., Luo, H., Zhao, J., & Zhang, G. (2018). Sequence-selective terpolymerization from monomer mixtures using a simple organocatalyst. *ACS Macro Letters*, 7(12), 1420-1425.
- Li, H., Yao, Q., Mariscal, A., Wu, X., Hülse, J., Pedersen, E., & Brakebusch, C. (2018). Epigenetic control of IL-23 expression in keratinocytes is important for chronic skin inflammation. *Nature communications*, 9(1), 1-18.
- Lopes, C., Barroso, R., Burbano, R., Garcia, P., Pinto, P., Santos, N., & Ribeiro-Dos-Santos, A. (2017). Effect of ancestry on interleukin-10 haplotypes in chronic periodontal disease. *Front. Biosci.*, 9:276–285.
- Mariotti, A. (1994). Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*, 5(1), 27-53.
- Martin, T., Pereira, G., Watkins, G., Mansel, R., & Jiang, W. (2008). N-WASP is a putative tumour suppressor in breast cancer cells, in vitro and in vivo, and is associated with clinical outcome in patients with breast cancer. *Clinical & experimental metastasis*, 25(2), 97-108.
- Mathy, N., Schuer, W., Lanzendörfer, M., Honold, K., Ambrosius, D., Norley, S., & Kurth, R. (2000). Interleukin-16 stimulates the expression and production of proinflammatory cytokines by human monocytes. *Immunology*, 100:63–69.

- Mitani, A., Niedbala, W., Fujimura, T., Magi, M., Miyamae, S., Higuchi, N., . . . Ishihara, Y. (2015). Increased expression of interleukin (IL)-35 and IL-17, but not IL-27, in gingival tissues with chronic periodontal disease. *J. Periodontol*, 86:301–309.
- Monteleone, G., Pallone, F., & Macdonald, T. (2010). Interleukin-25: A two-edged sword in the control of immune-inflammatory responses. *Cytokine Growth Factor Rev*, 21:471–475.
- Morris , H., Fort, L., Spence, H. J., Patel, R., Vincent, D. H., Park, J. h., & Machesky, L. m. (2018). Loss of N-WASP drives early progression in an Apc model of intestinal tumorigenesis. *The Journal of pathology*, 245(3), 337-348.
- Morris, H., Fort, L., Spence, H., Patel, R., Vincent, D., Park, J., & Machesky, L. (2018). Loss of N-WASP drives early progression in an Apc model of intestinal tumorigenesis. *The Journal of pathology*, 245(3), 337-348.
- Morrison, D. (2012). MAP kinase pathways. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(11), a011254.
- Murphy , D., & Courtheidge, S. (2011). The'ins' and'outs' of podosomes and invadopodia: characteristics, formation and function. Nature reviews. *Molecular cell biology*, 12(7), 413-426.
- Newman, M., Takei, h., Kolokkevold, P., & Carranza, F. (2018). Carranza's clinical periodontology E-book. *Elsevier health sciences*.
- Novak, J., & Novak, K. (2006). *Chronic periodontitis. Clinical periodontology*. (C. FA, Çev.) Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Ochs, H., & Thrasher, A. (2006). The wiskott-aldrich syndrome. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(4), 725-738.
- Page, R., & Schroeder, H. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34:235–249.
- Patel, R., Amirsetty, R., Kalakonda, B., Penumatsa, N., & Koppolu, P. (2018). Influence of Smoking on Gingival Crevicular Fluid Interleukin 1 β and Interleukin-8 in Patients with Severe Chronic Periodontitis among a Rural Population in India. *Niger Med. J*, 59:33–38.
- Pollard, T. (2016). Actin and actin-binding proteins. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(8), a018226.
- Pollard, T., & Goldman, R. (2018). Overview of the cytoskeleton from an evolutionary perspective. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(7), a030288.
- Prehoda, K., Scott, J., Mullins, R., & Lim, W. (2000).). Integration of multiple signals through cooperative regulation of the N-WASP-Arp2/3 complex. *Science*, 290(5492), 801-806.

- Rauhala, H., Teppo, S., Niemela, S., & Kallioniemi, A. (2013). Silencing of the ARP2/3 complex disturbs pancreatic cancer cell migration. *Anticancer research*, 33(1), 45-52.
- Reich, D., & Lander, E. (2001). On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genet. TIG*, 17:502–510.
- Reich, K., Westphal, G., König, I., Mössner, R., Krüger, U., Ziegler, A., . . . Schnuch, A. (2003). A. Association of allergic contact dermatitis with a promoter polymorphism in the IL16 gene. *J.Allergy Clin. Immunol.*, 112:1191–1194.
- Roberts, F., Hockett, J. R., Bucy, R., & Michalek, S. (1997). Quantitative assessment of inflammatory cytokine gene expression in chronic adult periodontitis. *Oral microbiology and immunology*, 12(6), 336-344.
- Rottner, K., & Schaks, M. (2019). N-WASP Guides Cancer Cells Toward LPA. *Developmental cell*, 51(4), 415-417.
- Rudick, C., Lang, M., & Miyamoto, T. (2019). Understanding the pathophysiology behind chairside diagnostics and genetic testing for IL-1 and IL-6. *Oral Dis*, 25:1879–1885.
- Rudick, C., Lang, M., & Miyamoto, T. (2019). Understanding the pathophysiology behind chairside diagnostics and genetic testing for IL-1 and IL-6. *Oral diseases*, 25(8), 1879-1885.
- Sandros, J., Karlsson, C., Lappin, D., Madianos, P., Kinane, D., & Papapanou, P. (2000). Cytokine responses of oral epithelial cells to Porphyromonas gingivalis infection. *Journal of dental research*, 79(10), 1808-1814.
- Scarel-Caminaga, R., Kim, Y., Viana, A., Curtis, K., Corbi, S., Sogumo, P., . . . Cirelli, J. (2011). Haplotypes in the interleukin 8 gene and their association with chronic periodontal disease susceptibility. *Biochem. Genet*, 49:292–302.
- Schell, C., Baumhagl, L., Salou, S., Conzelmann, A., Meyer, C., Helmstadter, M., & Huber, T. (2013). N-wasp is required for stabilization of podocyte foot processes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(5), 713-721.
- Schmittgen, T., & Livak, K. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols*, 3(6), 1101-1108.
- Schmittgen, T., & Livak. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*, 3.(6):1110-1108.
- Seetharaman, S., & Etienne-Manneville, S. (2020). Cytoskeletal crosstalk in cell migration. *Trends in Cell Biology*, 30(9), 720-735.
- Shindo, S., Hosokawa, Y., Hosokawa, I., & Shiba, H. (2019). . Interleukin (IL)-35 Suppresses IL-6 and IL-8 Production in IL-17A-Stimulated Human Periodontal Ligament Cells. *Inflammation*, 42:835–840.

- Shortrede, J., Uzair, I., Neira, F., Flamini, M., & Sanchez, A. (2006). (2016). Paxillin, a novel controller in the signaling of estrogen to FAK/N-WASP/Arp2/3 complex in breast cancer cells. *Molecular and cellular endocrinology*, 430, 56-67.
- Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., . . . Gamonal, J. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *J. Appl. Oral Sci*, 23:329–355.
- Socransky, S., & Haffajee, A. (1994). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000*, 5(1), 7-25.
- Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C., & Kent, J. R. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134-144.
- Song, L., Yao, J., He, Z., & Xu, B. (2015). Genes related to inflammation and bone loss process in periodontal disease suggested by bioinformatics methods. *BMC Oral Health*, 15:105.
- Soriano, O., Alcon-Peez, M., Vicente-Manzanares, M., & Castellano, E. (2021). The Crossroads between RAS and RHO Signaling Pathways in Cellular Transformation. *Motility and Contraction. Genes*, 12(6), 819.
- Stødle, I., Verket, A., Høvik, H., Sen, A., & Koldsland, O. (2021). Prevalence of periodontitis based on the 2017 classification in a Norwegian population: The HUNT study. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(9), 1189-1199.
- Sullivan, K., Mullen, C., Blaese, R., & Winkelstein, J. (1994). A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome. *The Journal of pediatrics*, 125(6), 876-885.
- Tyler, J. J., Allowod, E. G., & Ayscough, K. R. (2016). WASP family proteins, more than Arp2/3 activators. *Biochemical Society Transactions*, 44(5), 1339-1345.
- Vianna, M., Holthrawe, J., Seyfarth, I., Conrads, G., & Horz, H. (2008). Quantitative analysis of three hydrogenotrophic microbial groups, methanogenic archaea, sulfate-reducing bacteria, and acetogenic bacteria, within plaque biofilms associated with human periodontal disease. *Journal of bacteriology*, 190(10), 3779-37.
- Wang, B., Bai, S., Wang, J., Ren, N., Xie, R., Cheng, G., & Yu, Y. (2021). TPCA-1 negatively regulates inflammation mediated by NF-κB pathway in mouse chronic periodontitis model. *Molecular Oral Microbiology*.
- Wang, Y., Kang, W., Shang, L., Song, A., & Ge, S. (2021). N-WASP knockdown upregulates inflammatory cytokines expression in human gingival fibroblasts. *Archives of oral biology*, 110, 104605.
- Wang, Y., Kang, W., Shang, L., Song, A., & Ge, S. (2020). N-WASP knockdown upregulates inflammatory cytokines expression in human gingival fibroblasts. *Archives of oral biology*, 110, 104605.

- Wang, Y., Kang, W., Shang, L., Song, A., & Ge, S. (2020). N-WASP knockdown upregulates inflammatory cytokines expression in human gingival fibroblasts. *Archives of Oral Biology*, 110, 104605.
- Wang, Y., Kang, W., Shang, L., Song, A., & Ge., S. (2020). N-WASP knockdown upregulates inflammatory cytokines expression in human gingival fibroblasts. *Archives of Oral Biology*, 110, 104605.
- Wang, Z., Li, Y., Zhou, Y., & Qiao, Y. (2019). Association between the IL-10 rs1800872 polymorphisms and periodontitis susceptibility: A meta-analysis. *Medicine.*, 98:e17113.
- Wen, D., Cui, J., Li, P., Xiong, Q., Chen, G., & Wu, C. (2022). Syndecan-4 assists Mycobacterium tuberculosis entry into lung epithelial cells by regulating the Cdc42, N-WASP, and Arp2/3 signaling pathways. *Microbes and Infection*, 104931.
- Wen, D., Cui, J., Li, P., Xiong, Q., Chen, G., & Wu, C. (2022). Syndecan-4 assists Mycobacterium tuberculosis entry into lung epithelial cells by regulating the Cdc42, N-WASP, and Arp2/3 signaling pathways. *Microbes and Infection*, 104931.
- Wu, K., Tu, C., Hu, J., Chu, P., Ma, K., Chiu, H., & Chem, Y. (2022). Severity of periodontitis and salivary interleukin-1 β are associated with psoriasis involvement. *Journal of the Formosan Medical Association*.
- Xiao, F., Wang, X., Li, J., Xi, Z., Lu, Y., Wang, L., & Yuan, J. (2008). Overexpression of N-WASP in the brain of human epilepsy. *Brain research*, 1233, 168-175.
- Yang, S., & Huang, S. (2019). Interleukin-10 polymorphisms (rs1800871, rs1800872 and rs1800896) and periodontal disease risk: A meta-analysis. *Arch Oral Biol*, 97:59–66.
- Yu, Z., Liu, L., Luan, Q., Wang, X., Li, P., Sha, Y., & Liu, X. (2012). Correlation between periodontitis and metabolic syndrome of the middle-aged and aged population in Shijingshan community of Beijing. *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences*, 44(4), 633-638.
- Zein Elabdeen, H., Mustafa, M., Ali, R., & Bolstad, A. (2017). Cytokine profile in gingival crevicular fluid and plasma of patients with aggressive periodontal disease. *Acta Odontol. Scand*, 75:616–622.