

**T.C**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİS**  
**MODELİNDE ARJİNİN SİLİKAT İNOSİTOL**  
**KOMPLEKSİN PERİODONTAL**  
**DOKULARA ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,**  
**HİSTOPATOLOJİK VE RADYOGRAFİK**  
**OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**Serkan DÜNDAR**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ VE SELÇUK**  
**ÜNİVERSİTESİ PERİODONTOLOJİ**  
**ANABİLİMDALI**  
**ORTAK DOKTORA PROGRAMI**  
**DANIŞMAN**

**Doç.Dr. Abubekir ELTAS**

**MALATYA-2014**



**T.C**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİS**  
**MODELİNDE ARJİNİN SİLİKAT İNOSİTOL**  
**KOMPLEKSİN PERİODONTAL**  
**DOKULARA ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,**  
**HİSTOPATOLOJİK VE RADYOGRAFİK**  
**OLARAK İNCELENMESİ**

**Serkan DÜNDAR**

**Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Abubekir Eltas**

**Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sema Hakkı**

**Bu çalışma İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 2013/88 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2014**

*Annem Şerife Hanım, Babam Nevzat Bey'e*

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Periodontoloji Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU  
Selçuk Üniversitesi

Ortak Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sema HAKKI  
Selçuk Üniversitesi

Danışman

Doç. Dr. Abubekir ELTAS  
İnönü Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU  
Selçuk Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Kamile ERCİYAS  
Gaziantep Üniversitesi

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../ 20.... tarih ve 20.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü V.

## TEŞEKKÜR

*Doktora öğrenimim boyunca bilgi, hoşgörü ve sabır ile bana yol gösteren danışman hocam sayın Doç. Dr. Abubekir Eltas'a,*

*Bu günlere gelmemde deneyim ve birikimlerini benden esirgemeyen, her konuda desteğini hissettiğim, ortak tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Sema Hakkı'ya,*

*Yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Tamer Ataoğlu, Prof. Dr. Mihtikar Gürsel, Prof. Dr. İsmail Marakoğlu, Prof. Dr. Nilgün Ö. Alptekin'e,*

*Çalışmamım tüm aşamalarında yardımlarıyla yanımda olan sayın Prof. Dr. Kazım Şahin, Prof. Dr. Nurhan Şahin, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Tuzcu ve Arş. Gör. Oğuzhan Özdemir'e,*

*Tezimin hazırlanmasının her aşamasında yardımlarını ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli meslektaşım sayın Araş. Gör. M. Özay Uslu'ya,*

*Radyolojik bulguların değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Sıddık Malkoç'a,*

*Türkçe Dil Bilgisi açısından tezimin düzeltilmesinde yardımcı olan ve zor günlerimde yanımda olan sayın Yrd. Doç. Dr. Erol Gündüz'e,*

*Tüm çalışma arkadaşlarıma,*

*Aileme,*

*Moral ve motivasyon kaynağım biricik yeğenim Esmâ'ya,*

*Çalışmamı desteklediği için İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (proje numarası: 2013/88),*

*Teşekkürlerimi sunarım...*

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Arjinin silikat inositol (ASİ) kompleksi oluşturan arjininin ve silikonun; kemik mineral yoğunluğunu, kırık, bağ ve damar dokularının kollajen miktarını arttırabileceği yönündeki çalışmaların sonuçlarına dayanılarak periodontal hastalıklarda konak modülasyonu amacıyla alternatif olabileceği düşünülmektedir. Bu araştırmanın amacı önceden ASİ kompleks diyet ile beslenen ratlarda periodontitis oluşturarak bu kompleksin periodontal dokulara etkisini biyokimyasal, immünolojik, histopatolojik ve radyolojik değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntem:** Ağırlıkları ortalama 138 gr olan 8 haftalık dişi 52 sprague dawley rat 4 gruba ayrıldı. Gruplar; 1) Kontrol Grubu (n=13): Standart rat diyetiyle deney süresince beslenen ve hiçbir işlemin uygulanmadığı grup. 2) Periodontitis Grubu (n=13): Standart rat diyetiyle 8 hafta süresince beslendikten sonra 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup. 3) ASİ I Grubu (n=13): Arjinin silikat inositol kompleksin 8 hafta boyunca 1,81 gr / kg-yem ölçeğinde standart yeme katılarak verildiği ve 8. haftanın sonunda 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup. 4) ASİ II Grubu (n=13): Arjinin silikat inositol kompleksin 8 hafta boyunca 3,62 gr/ kg-yem ölçeğinde standart yeme katılarak verildiği ve 8. haftanın sonunda 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup. On bir günlük deneysel periodontitis süresince tüm ratların beslenmesine standart yem ile devam edildi. On birinci günün sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek doku ve kan örnekleri alındı. Ratların sağ alt çenelerinden alınan dişeti dokularından *western blot (WB)* yöntemiyle interlökin 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8), reseptör aktivatör nükleer faktör kapa  $\beta$  (RANK), reseptör aktivatör nükleer faktör kapa  $\beta$  ligand (RANKL), osteoprotegerin (OPG), myeloperoksidaz (MPO) ve kan serumlarından alkalen fosfataz (ALP), kalsiyum (Ca), fosfor (P), C-reaktif protein (CRP) değerlendirilmeleri yapıldı. Mikro-komputerize tomografi verileri ile kemik yıkımı ölçümü ve kemik mineral dansitesi analizleri sağ alt çenelerden yapıldı. Histopatolojik incelemeler sol alt çenede yapıldı.

**Bulgular:** C Reaktif protein, ASİ I ve II gruplarında periodontitis grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edilmiştir (p<0.01). İnterlökin-1 $\beta$  ve MPO seviyeleri periodontitis grubunda ASİ'li gruplardan fazla, ASİ II grubunda

ASİ I grubundan daha düşük tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Matriks metalloproteinaz-8, RANK, RANKL seviyeleri periodontitis grubunda ASİ'li gruplardan yüksek tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Osteoprotegerin seviyesi periodontitis grubunda ASİ'li gruplardan düşük, ASİ II grubunda ASİ I grubundan fazla tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Enflamatuvar hücre infiltrasyonu ASİ ile beslenen gruplarda periodontitis grubuna göre düşük tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). ASİ'li grupların mezial ve furkasyon bölgesindeki kemik yıkımı oranları periodontitis grubundan düşük tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ).

**Sonuç:** Bu çalışmanın bulguları ASİ kompleks içeren diyet ile beslenen hayvanlarda deneysel periodontitis sonrası periodontal doku yıkımı ile ilişkili enzim/sitokin ve mediyatörlerin daha az olduğunu göstermiştir. Sonuçlar bu kompleksin konak modülasyonunda bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Arjinin silikat inositol kompleks, deneysel periodontitis, konak modülasyonu, mikro komputerize tomografi, periodontal enfeksiyon.



## ABSTRACT

### **BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGIC AND RADIOGRAPHIC EXAMINATION OF THE EFFECT OF ARGININE SILICATE INOSITOL COMPLEX ON PERIODONTAL TISSUES IN AN RAT MODEL OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS**

**Introduction and Purpose:** Arginine and silicate that compromise arginine silicate inositol (ASI) is considered to be alternative to host modulation in periodontal diseases based on the results of studies pointing out that it could increase bone mineral density and the amount of collagen cartilage, connective and vessels tissue. The purpose of this study was to experimentally induce periodontitis in rats fed previously with diets of arginine silicate inositol (ASI) complex and examine the effect of this complex by biochemical, immunological, histopathological, and radiological evaluation.

**Materials and Methods:** Fifty-two 8-week-old female Sprague–Dawley rats, weighing 138 g, were equally divided into 4 groups. Groups; 1) The control group included animals fed a standard rat diet with no operation performed during the experiment. 2) The periodontitis group, 3) ASI I, and 4) ASI II groups were subjected to experimental periodontitis induction for 11 days after being fed a standard rat diet alone and that containing 1.81 g/kg and 3.62 g/kg ASI complex, respectively, for 8 weeks. Throughout the 11-day duration of experimental periodontitis induction, all rats were fed standard feed. At the end of the 11<sup>th</sup> day, all rats were killed and their tissue and blood samples were collected. Interleukin (IL)-1 $\beta$ , matrix metalloproteinase (MMP)-8, receptor activator of nuclear factor kappa - $\beta$  (RANK), receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$  ligand (RANKL), osteoprotegerin (OPG), myeloperoxidase (MPO) levels were evaluated using western blot analysis using the gum tissue obtained from the right mandible, and alkaline phosphatase (ALP), calcium (Ca), phosphor (P), C-reactive protein (CRP) levels were evaluated using blood samples. Bone resorption and bone mineral density were evaluated using microcomputed tomography of the right mandible. Tissues collected from the left mandible were subjected to histopathological evaluation.

**Results:** C- reactive protein levels have been found to be statistically significantly lower in the two ASI groups than in the periodontitis group ( $p < 0.01$ ). Interleukin -1 $\beta$  and MPO levels were higher in the periodontitis group than in the ASI groups, with the ASI II group showing lower levels than the ASI group ( $p < 0.05$ ). Matrix metalloproteinase -8, RANK, and RANKL levels were higher in periodontitis groups than in the ASI groups ( $p < 0.05$ ). Osteoprotegerin level was lower in periodontitis groups than in the ASI groups, with the ASI II group showing higher level than the ASI I group ( $p < 0.05$ ). Inflammatory cell infiltration and bone resorption rates in the mesial and furcation regions were lower in the ASI groups than in the periodontitis group ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** The findings of this study shows that enzyme / cytokines and mediators associated with periodontal tissue destruction is less in animals fed a diet containing ASI complex after experimental periodontitis. Results make experts think that this complex would be an alternative in host modulation.

**Key Words:** Arginine silicate inositol complex, experimental periodontitis, host modulation, micro computerized tomography, periodontal infection.

## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI.....</b>	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>iv</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>ix</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>xii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>	<b>xiv</b>
<b>TABLolar DİZİNİ.....</b>	<b>xviii</b>
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1.Periodontal Hastalık.....	4
2.2.Periodontal Hastalıkların Patogenezi.....	5
2.2.1 Başlangıç Lezyonu.....	8
2.2.2.Erken Lezyon.....	8
2.2.3.Yerleşmiş Lezyon.....	8
2.2.4.İlerlemiş Lezyon.....	9
2.3.Konak Cevabı.....	9
2.4.Sitokinler.....	11
2.4.1.İnterlökin-1 $\beta$ .....	14
2.5.Ekstrasellüler Matriks Yıkımı ve MMP'ler.....	16
2.5.1.Matriks Metalloproteinaz-8 (Kollajenaz Tip 2)..	17
2.6.Kemik Dokusu ve Kemik Yapımı.....	18
2.7.Osteoimmünoloji ve Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar.....	19
2.7.1.Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa- $\beta$ .....	20
2.7.2.Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa- $\beta$ Ligand.....	21
2.7.3.Osteoprotegerin.....	21
2.7.4.Kemik Dokusu Yıkımı ve RANKL / OPG Oranı.....	22

2.7.4.1.Periodontal Kemik Yıkımı ve RANKL/OPG Oranı.....	23
2.8.Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	25
2.8.1.Enflamatuvar Periodontal Hastalıklarda PMNL ve ROT'nin Üretimi.....	26
2.8.2.Enflamatuvar Periodontal Hastalıklarda Myeloperoksidaz (MPO) Enzimi ve PMNL Akümülayonu.....	26
2.9.Sistemik Enflamasyon ve Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar.....	28
2.9.1.Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar ve CRP ...	28
2.10.Konak Modülayonu.....	30
2.11.Arjinin Silikat İnositol Kompleks.....	32
2.11.1.Arjinin Silikat İnositol Kompleksin Üretimi...	40
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>42</b>
3.1.Deney Hayvanları.....	42
3.1.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Düzenek.....	42
3.2.Kan Örneklerinin Alınması.....	45
3.3.Doku Örneklerinin Alınması.....	47
3.4.Histopatolojik İncelemeler.....	49
3.5.Serum Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri.....	50
3.6.Dişeti Dokusunda WB ile IL1- $\beta$ , MMP-8, RANK, RANKL, OPG, MPO Analizleri.....	50
3.6.1.Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi.....	50
3.6.2.Total Protein Miktarının Spektro-fotometrik Analizleri.....	53
3.6.3.Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforez Analizleri.....	54
3.6.4.Western Blot Analizleri.....	55

3.7.Mikro Komputerize Tomografi	
Değerlendirmeleri.....	58
3.8.İstatistiksel Analizler.....	71
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>72</b>
4.1.Laboratuvar Bulguları.....	72
4.1.1.Serum Bulguları.....	72
4.1.2.Western Blot Bulguları.....	74
4.1.3.Histopatolojik Bulgular.....	77
4.2.Mikro Komputerize Tomografi Bulguları.....	87
4.2.1.Kemik Mineral Dansitesi Bulguları.....	87
4.2.2.Kemik Yıkımı Ölçümleri.....	88
4.2.3.Kemik Yıkımı Oranları.....	90
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>92</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>107</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>109</b>
<b>EK : Deney hayvanları etik kurul kararı.....</b>	<b>134</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>136</b>

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

ALP:	Alkale Fosfataz
AK:	Alveolar Kemik
APS:	Amonyum Persülfat
ASİ:	Arjinin Silikat İnositol
BD:	Bağ Dokusu
C:	Karbon
Ca:	Kalsiyum
CRP:	C Reaktif Protein
Cu <sup>+2</sup> :	Bakır
CuSO <sub>4</sub> :	Bakır Sülfat
D:	Diş
DAB:	Diaminobenzidin
DKAP:	Distal Kök Apeksi
DKK:	Distal Krestal Kemik
DMSS:	Distal Mine Sement Sınırı
DOS:	Dişeti Oluğu Sıvısı
ED:	Epitel Dokusu
EHİ:	Enflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu
FÇ:	Furkasyon Çatısı
FKAP:	Furkasyon Kök Apeksi
FKK:	Furkasyon Krestal Kemik

H:	Hidrojen
HE:	Hematoksilen Eozin
IL:	İnterlökin
İBBF:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
K:	Potasyum
KMD:	Kemik Mineral Dansitesi
LPS:	Lipopolisakkarit
MKAP:	Mezihal Kök Apeksi
MKK:	Mezihal Krestal Kemik
MKT:	Mikro Komputerize Tomografi
mmol:	Mili-mol
MMP:	Matriks Metalloproteinaz
MMSS:	Mezihal Mine Sement Sınırı
MO:	Mikro organizmalar
MPO:	Myeloperoksidaz
$\mu\text{m}$ :	Nano-metre
$\text{Na}_2\text{CO}_3$ :	Sodyumbi Karbonat
NaKTartarat:	Sodyum Potasyum Tartarat
NFk- $\beta$ :	Nükleer Faktör kappa- $\beta$
NO:	Nitrik Oksit
$\text{O}^{-2}$ :	Süperoksit
OH:	Hidroksil Radikali

OPG:	Osteoprotegerin
OS:	Oksidatif Stres
P:	Fosfor
P:	Pulpa
PG:	Prostaglandinler
PGE2:	Prostaglandin E2
PMNL:	Polimorfo Nükleer Lökositler
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> :	Fosfat
RANK:	Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör kappa β
RANKL:	Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör kappa β Ligand
ROT:	Reaktif Oksijen Türleri
SDS:	Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAJE:	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
Si:	Silikon
SSA:	Sığır Serum Albumini
TEMED:	Tetrametil-Etilendiamin
TGF-β:	Tissue Growth Factor-β
TIMP:	Tissue Inhibitör Metalloproteinazlar
TLR4:	Toll Like Reseptör 4
TNF-α :	Tümör Nekroz Faktör-α
WB:	Western Blot



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periodontal Hastalıkların Patogenezi.....	7
Şekil 2.2. Periodontal doku yıkımında enflamatuvar mediyatörler.....	11
Şekil 2.3. RANK / RANKL / OPG mekanizması ve periodontal kemik yıkımı.....	24
Şekil 2.4. Periodontal hastalık ve sistemik enflamasyon kardiyovasküler hastalık ilişkisi.....	30
Şekil 2.5. Konak modülasyonunda kullanılan materyaller.....	32
Şekil 2.6. ASİ Kompleks.....	34
Şekil. 3.1. Deneysel çalışma düzeneği.....	44
Şekil 3.2. A, B. Ratın sol ve sağ alt çene 1.molar dişlerine 4-0 ipek sütür bağlandıktan hemen sonraki görüntüleri.....	44
Şekil 3.3. A,B. On bir günlük deneysel periodontitis süresinin sonunda ratın sakrifize edilmeden önce sol ve sağ alt çene 4-0 ipek sütür bağlanan 1.molar dişlerinin görüntüleri.....	45
Şekil 3.4. Kan örneklerinin alınması.....	46
Şekil 3.5. Santrifüj cihazı.....	46
Şekil 3.6. Her iki alt çenenin ipek sütürlü görüntüsü.....	47
Şekil 3.7. İpek sütürler çıkarıldıktan sonra her iki alt çenenin görüntüsü..	48
Şekil 3.8. Dişeti örnekleri alınırken alt yarım çenenin lingualden görüntüsü.....	48
Şekil 3.9. Dişeti örnekleri alınırken alt yarım çenenin bukkalden görüntüsü.....	49
Şekil 3.10. Jel-Elektroforez için kullanılan düzenek.....	55
Şekil 3.11. Blotlama işleminde kullanılan tank ve nitrosellüloz membranlar.....	57
Şekil 3.12. MKT Cihazı.....	58
Şekil 3.13. MKT taraması sonrası elde edilen ham radyolojik görüntülerin N Recon 1.6.9.4 SkyScan, Contich, Belgium programı ile görüntü kirlilikleri ve radyolojik artefaktları elimine edilerek matematiksel analiz için hazır hale getirilmesi.....	59

Şekil 3.14. Radyolojik görüntüler ScyScan Data Wiever 1.5.0 64 bit SkyScan, Contich, Belgium programıyla uzayın her 3 düzleminde yeniden konumlandırıldı. Radyolojik görüntü alanları dışındaki alanlar uzaklaştırılarak boyutları matematiksel analizin daha hızlı yapılabilmesi için küçültüldü.....	60
Şekil 3.15. MMSS-MKAP arasındaki mesafenin ölçülmesi.....	61
Şekil 3.16. MMSS-MKK arasındaki mesafenin ölçülmesi.....	62
Şekil 3.17. FÇ-FKAP arasındaki mesafenin ölçülmesi.....	62
Şekil 3.18. FÇ-FKK arasındaki mesafenin ölçülmesi.....	63
Şekil 3.19. DMSS-DKAP arası mesafenin ölçülmesi.....	63
Şekil 3.20. DMSS-DKK arası mesafenin ölçülmesi.....	64
Şekil 3.21. CTAN programında alveolar kemik bölgesinin seçilmesi.....	65
Şekil 3.22. CTAN programında kemik alanlarının belirlenmesi.....	65
Şekil 3.23. CTAN programında kemik mineral yoğunluğunun belirlenmesi.....	66
Şekil 3.24. CTAN programında kemik mineral yoğunluğunun belirlenmesi.....	66
Şekil 3.25. Kontrol grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.....	67
Şekil 3.26. Periodontitis grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.....	68
Şekil 3.27. ASİ I grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.....	69
Şekil 3.28. ASİ II grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.....	70
Şekil 4.1. Grupların Ca ortalamaları.....	73
Şekil 4.2. Grupların CRP ortalamaları.....	74
Şekil 4.3. Grupların WB ortalamaları.....	75
Şekil 4.4. Elektroforezde yürütülen proteinlerin oluşturduğu bantlar.....	77
Şekil 4.5. Grupların EHİ'nin değerlendirilmesi.....	78
Şekil 4.6. Periodontal açıdan sağlıklı ve hiçbir işlemin uygulanmadığı kontrol grubunun histopatolojik görüntüsü.....	79
Şekil 4.7. Periodontal açıdan sağlıklı ve hiçbir işlemin uygulanmadığı kontrol grubunun histopatolojik görüntüsü.....	80
Şekil 4.8. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan periodontitis	

grubunun histopatolojik görüntüsü .....	81
Şekil 4.9. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan periodontitis grubunun histopatolojik görüntüsü.....	82
Şekil 4.10. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ I grubunun histopatolojik görüntüsü.....	83
Şekil 4.11. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ I grubunun histopatolojik görüntüsü.....	84
Şekil 4.12. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ II grubunun histopatolojik görüntüsü.....	85
Şekil 4.13. Onbir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ II grubunun histopatolojik görüntüsü.....	86
Şekil 4.14. Grupların KMD ortalamaları.....	87
Şekil 4.15. Grupların kemik yıkımı ortalamaları.....	88
Şekil 4.16. Grupların kemik yıkımı oranları.....	90

**TABLolar DİZİNİ**

Tablo 2.1. Sitokinler .....	13
Tablo.3.1. Hayvanların Ağırlık Ortalamaları. ....	43
Tablo 3.2. SDS-PAJE İçin Jellerin Hazırlanması. ....	52
Tablo 4.1. Gruplara göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....	72
Tablo 4.2. Gruplara göre WB parametrelerinin değerlendirilmeleri. ....	74
Tablo 4.3. Gruplara göre EHI'nin değerlendirilmesi. ....	78
Tablo 4.4. Gruplara göre KMD bulguları .....	87
Tablo 4.5. Gruplara göre kemik yıkım ölçümlerinin değerlendirilmeleri.....	88
Tablo 4.6. Gruplara göre kemik yıkımı oranlarının değerlendirilmeleri. ....	90

## 1.GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, periodontal patojen bakterilerin neden olduğu ataçman ve alveolar kemik kaybı görülen diş destek dokularının enflamatuvar hastalıklarıdır (1). Periodontal hastalıkların temel etiyolojik faktörü dental plak bakterilerine karşı konak dokularının immünolojik cevabıdır (2, 3). Patojen bakteriler ve ürünleri, konak hücrelerinden periodontal dokuların yıkımına neden olan çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin üretilmesine yol açar (2, 4).

Periodontal hastalıkların patogeneğinde konak immün cevabının önemi anlaşıldıktan sonra konak modülasyonu adı verilen tedavi yöntemi üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. Konak modülasyonu; hastalığa yatkın bireylerde doku yıkımını meydana getiren yıkıcı ve koruyucu mediyatörler arasındaki bozulan dengenin koruyucu mediatörler tarafına düzenlenerek doku yıkımını azaltan veya durduran tedavi yöntemidir (5, 6). Araştırmacılar tarafından günümüze kadar; tetrasiklinler, antienflamatuvar ilaçlar, kemik yıkımını önleyen bifosfonatlar, mine matriks proteinleri, antioksidanlar, kemik morfojenetik proteinler ve büyüme faktörleri ile birlikte pek çok materyal konak modülasyonu amacıyla incelenmiştir (5, 7-10). Bu konuda araştırmalar devam etmekle birlikte günümüzde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından tetrasiklinler ve mine matriks proteinleri dışında klinik kullanıma sunulmuş bir materyal bulunmamaktadır. Bu bakımdan konak modülasyonu ile ilgili çalışmalara devam edilmektedir.

Arjinin silikat inositol (ASİ) kompleksi oluşturan arjininin ve silikonun; kemik mineral yoğunluğunu, kırıkta, bağ ve damar dokularının kollajen miktarını arttırabileceği yönündeki çalışmaların sonuçlarına dayanarak konak modülasyonunda alternatif olabileceği düşünülmektedir (11-14).

Arjinin, çeşitli sağlık problemlerinin tedavisinde kullanılabilen temel aminoasitlerdendir (15). Diyetle arjinin desteğinin üreme, kardiyovasküler, pulmoner, renal, gastrointestinal, karaciğer ve immün fonksiyonlara yararlı etkileri rapor edilmiştir (15-18). Bunların yanında arjinin; obezite, diyabet ve metabolik

sendromun tedavisinde de kullanılan bir materyaldir (19-21). Arjinin yara iyileşmesini hızlandıran bir aminoasittir. Diyetle arjinin desteğinin yara iyileşmesi sırasında kollajen depozisyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (22). Arjinin kollajen sentezinde yer alan poliamin ve prolin ile büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörünün (İBBF) sentezinde de yer alır (13, 23).

Klinik ve deneysel çalışmalarda diyetle arjinin desteğinin osteoporotik ve osteopenik deneklerde kemik mineral dansitesi (KMD) artışı ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (24-27). Ayrıca hayvanlarda arjinin desteğinin kırık iyileşmesini hızlandırdığı rapor edilmiştir Arjinin kemik dokusunda hücre proliferasyonunu doğrudan etkileyebilen bir aminoasittir aynı zamanda bu aminoasit kemik dokusundaki matriks sentezinde etkileri olan nitrik oksit (NO), tip 1 kollajen, alkalen fosfataz (ALP) ve İBBF gibi mediyatörlerin üretimini arttırır (28, 29).

Silikon; kemik, deri ve kan damarlarındaki kollajen için önemli bir iz elementtir. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda diyetle verilen silikonun insanlarda KMD artışı ile sonuçlandığı ifade edilmektedir (30). Osteoporotik ve osteopenik hastalarda yapılan çalışmalarda da araştırmacılar; epidemiyolojik çalışmalara benzer şekilde diyetle silikon desteğinin KMD ve kemik hacmi artışı ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir (30, 31). Ratlarda silikon eksikliğinin, kollajen yıkımında artma, kemik mineral yoğunluğu ve kollajen sentezinde azalma meydana getirdiği ifade edilmiştir (32, 33). Ovariyektomi uygulanan ratlarda diyetle verilen silikonun kemik yıkımında azalmaya, kemik mineral içeriği ve kemik yapımında ise artışa sebep olduğu rapor edilmiştir (34-36). Osteoblast hücrelerinde silikonun kemik dokusu üzerine etkileri araştırılmış ALP ve osteokalsin gibi kemik yapım belirteçlerinde, hücre farklılaşmasında ve tip 1 kollajen sentezinde artış tespit edilmiştir (30, 37, 38).

İnositol, glikozun basit bir izomeridir ve B vitamin ailesinin bir üyesidir (39). Aynı zamanda serotonin ve asetilkolin gibi beyindeki çeşitli nörotransmitterlerin uygun çalışması için gerekli bir bileşiktir (40, 41). İnositol; psikiyatride depresyon, panik atak, obsesif kompulstif bozukluklar, otizm, postravmatik stres bozuklukları, alzheimer, respiratuvar distres sendromu ve lityumun yan etkilerinin tedavisinde kullanılabilen bir materyaldir (39, 42). İnositol, ASI kompleksinin oluşması için

gerekli bir bileşiktir. İnositol, arjinin ve silikon arasındaki hidrojen bağlarını oluşturarak ASI kompleksinin elde edilmesini sağlar (43).

Literatürde ASI kompleksi oluşturan arjinin ve silikonun kemik mineral dansitesi ve bağ dokusu kollajen miktarını arttırdığını rapor eden çalışmalar bulunmakla birlikte ASI kompleksin konak modülasyonuna etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Bu araştırmada ratlarda ASI kompleks kullanımının deneysel periodontitis oluşum sürecinde periodontal dokulara etkisini biyokimyasal, immünolojik, histopatolojik ve radyolojik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlandı.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Periodontal Hastalık**

Enflamatuvar periodontal hastalıklar; dental plaktaki periodontal patojen bakteriler ve ürünlerinin neden olduğu dişi destekleyen dokuların yıkımı ile karakterize hastalıklardır (1). Periodontal hastalıklar toplumda yaygın görülür ve erişkinlerdeki diş kayıplarının % 70' inin nedeni olduğu bilinmektedir (4, 44, 45).

1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin yaptığı çalışmada periodontal hastalıklar;

- I. Gingival Hastalıklar
- II. Kronik Periodontitis
- III. Agresif Periodontitis
- IV. Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olan Periodontal Hastalıklar
- V. Nekrozitan Periodontal Hastalıklar
- VI. Periodonsiyumun Apseleri
- VII. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Peridodontitis
- VIII. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar

şeklinde sınıflandırılmıştır (46).

1999 yılında yapılan son sınıflandırmaya göre tanımlanan plağa bağlı gingival hastalıklar ve kronik periodontitis, periodontal dokularda en çok görülen hastalıklardır. Dental plağın neden olduğu dişi çevreleyen yumuşak dokuların enflamasyonu, gingivitis terimi ile tanımlanmaktadır. Gingivitis, diş yüzeyinde biriken dental plaktaki mikroorganizmalara vücut savunma sisteminin verdiği cevap sonucunda meydana gelir; dişetinde kızamıklık, şişlik ve hafif bir dokunmada kanama ile kendini belli eder (47). Gingivitis, dünya nüfusunun %50-90'ında görülmektedir (48).



Gingivitisin ilerlemesi ile oluşan periodontitis, alveolar kemiği içerecek şekilde dişi çevreleyen dokuların kaybıyla sonuçlanan kronik enflamatuvar bir hastalıktır (3, 47). 1999 yılında yapılan son sınıflandırmada periodontitis üç ana gruba ayrılmıştır. Bunlar; kronik, agresif ve sistemik hastalıkların belirtisi olan periodontitistir. En yaygın görüleni ise kronik periodontitistir (46, 49). Dünya nüfusunun %5-15 lik kısmında periodontal doku yıkımının fazla olduğu generalize-şiddetli periodontitis görülmektedir. Nüfusun daha büyük bir kısmında ise doku yıkımının daha az olduğu periodontitis formları görülmektedir (4, 50, 51). Ülkemizin de dahil olduğu gelişmekte olan ülkeler genel olarak periodontitisten daha fazla etkilenmektedir. Bununla birlikte günümüzün gelişmiş ülkelerinden biri olan Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada toplum nüfusunun %22 lik kısmının hafif düzeyde, %13'lük kısmının ise orta ve ileri düzeyde periodontitisten etkilendiği bildirilmiştir. Yine Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda periodontitisin erkeklerde bayanlara göre, siyah ve Meksika kökenlilerde beyaz bireylere göre daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (48). Bu bilgiler bireylerin ve toplumların periodontal hastalıklara farklı yatkınlıkta olduğunu göstermektedir. Bu farklılıklar, bireylerin ve toplumların periodontal hastalıklar için farklı risk faktörlerine maruz kalmalarından kaynaklanmaktadır. Konak cevabını etkileyecek genetik yatkınlık, HIV-AIDS, sigara-alkol kullanımı, stres, diyabet gibi sistemik hastalıklar, sosyo-ekonomik seviye, obezite, yaş ve ağız hijyen düzeyi periodontal hastalıkların meydana gelmesinde risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir. Bu tür risk faktörlerine maruz kalan bireyler periodontal hastalıklara daha yatkın bireylerdir (50-52).

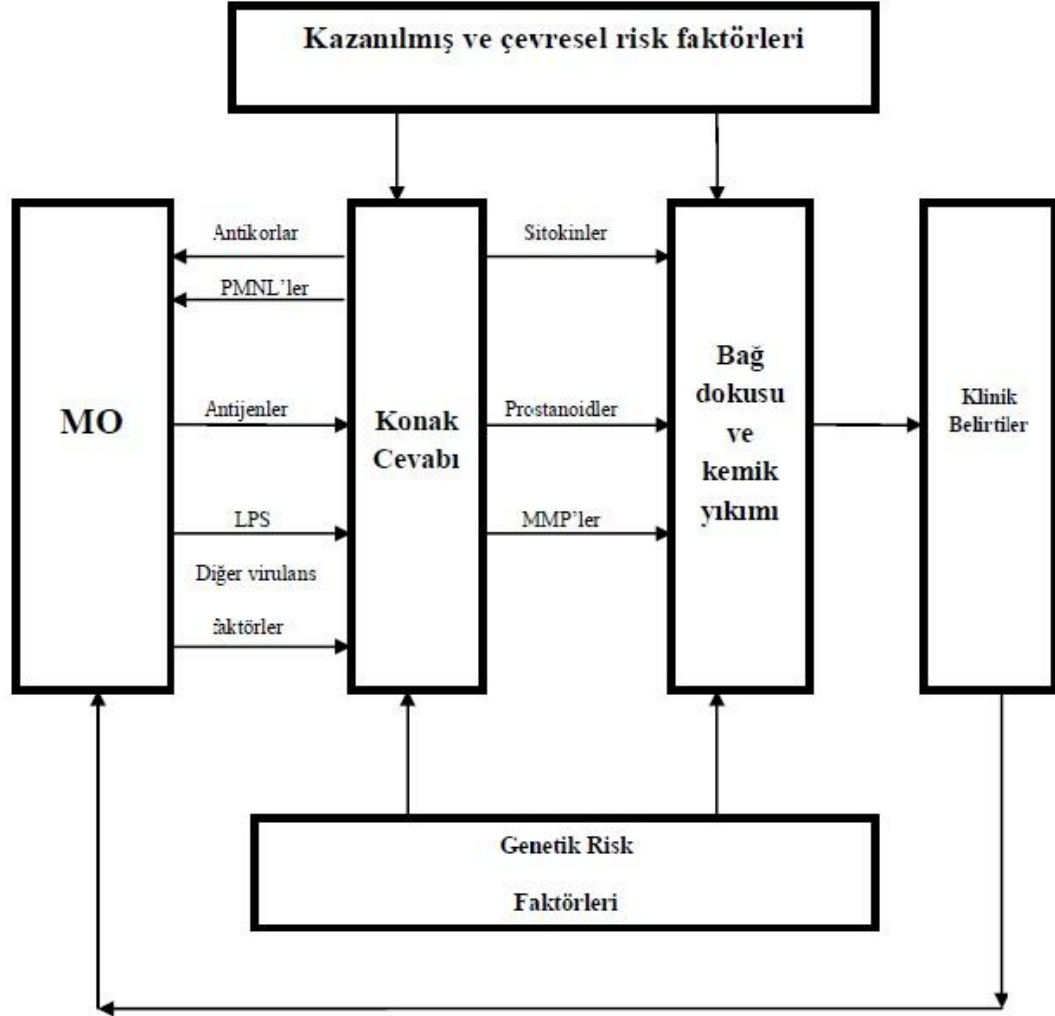
## **2.2. Periodontal Hastalıkların Patogenezi**

Normal dişeti sıkı kıvamdadır, stippling yapılarını içerir ve pembe renklidir. Sağlıklı dişeti bıçak sırtı gibi dişi sarar. Dişeti ne kadar sağlıklı görünse de dental plağın sürekli var olmasından dolayı histolojik olarak hafif bir enflamasyonun görülmesi kaçınılmazdır. Klinik olarak sağlıklı görünen dişetlerinde dahi dişeti oluşunda polimorfo nükleer lökositlerden (PMNL) oluşan bir enflamatuvar hücre infiltrasyonu vardır. Dişeti oluşundaki lökositlerin görevi bakterilerin fagosite edilmesidir. Polimorfo nükleer lökositler bakteriler tarafından salgılanılan

kemotaktik peptidler vasıtasıyla dişeti oluğunda toplanır. Süreç devam ettikçe bakteriler epitel hücrelerini yıkıma uğratar, epitel hücreleri de sitokin adı verilen molekülleri salgılayarak daha fazla lökosit (ağırlıklı olarak PMNL) birikimine zemin hazırlar. Bakterilerle birlikte nötrofil akümülyasyonu aşırı olursa nötrofillerde degranulasyon veya patlama olarak adlandırılan nötrofillerin toksik enzimlerinin ortama salındığı durum meydana gelir. Mikrobiyal dental plağın aşırı birikimi olursa nötrofiller ve bariyer görevi gören epitel hücreleri enfeksiyonu kontrol edemez hale gelir. Giderek dişeti iltihaplı bir hal alır, klinik olarak gingivitis meydana gelir (53). Çoğu olguda plak birikimini takiben 10-20 gün içerisinde gingivitisin klinik belirtileri görülmeye başlar. Gingivitisin erken aşamasında klinik semptomlar şiddetli değildir. Fakat belirgin histopatolojik değişiklikler göze çarpar. Kan akımında değişiklikler ve kapiller damarlarda çatlama görülmeye başlar. Kandaki serum transuda ve proteinler dokuda şişmeye neden olur, ayrıca dokuda enflamatuvar hücrelerin ve lökositlerin infiltrasyonu görülür. Enflamatuvar hücreler lökositleri, makrofajları ve nötrofilleri içermektedir. Makrofaj ve nötrofiller bakteriyi yutan ve sindiren hücrelerdir, lökositler immün destek hücreleri olarak görev yapar. Bu aşamada dişeti enflamasyonu etkin bir plak kontrolü ile önlenabilir, yatkın bireylerde ise ilerleyerek periodontitise dönüşebilmektedir (47, 53, 54). Gingivitisin başlangıç histopatolojik bulgularında yoğun bir enflamatuvar hücre infiltrasyonu varken plazma hücreleri daha azdır. İlerlemiş gingivite ise histopatolojik olarak plazma hücreleri lökosit infiltrasyonuna göre daha fazladır (47).

Periodontal hastalıklara yatkın bireylerde dişeti enflamasyonunun ilerlemesi ile oluşan periodontitis; klinik olarak dişetinde cep oluşumu, krestal kemik kaybı ve birleşim epitelinin kök yüzeyi boyunca daha apikale göç etmesi (ataçman kaybı) ile görülür. Histopatolojik olarak plazma hücreleri daha baskındır. Kronik gingivitis ile benzer özellikler gösterir (47). Periodontal doku yıkımı bakteriler tarafından başlatılır; fakat konak hücreleri tarafından arttırılarak devam ettirilir. Periodontal doku yıkımında anahtar faktör konak cevabıdır. Konağın ürettiği enzimler ve mediyatörler doku yıkımına neden olur. Bu süreç bakterinin konak dokularında başlattığı yıkımın durdurulması ve tamir edilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Bu patogenetik süreç konak dokularının dişi yabancı bir cisim gibi algılanması ve onu vücut dışına atarak enfeksiyonu durdurmak istemesine benzetilebilir. Periodontal

enfeksiyon sonucunda dişin kaybı aslında konak savunma sisteminin daha derin enfeksiyonları (osteomyelit) önleme stratejisidir (47, 55) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Periodontal hastalıkların patogenezi (55).

Yukarıda genel olarak bahsedilen periodontal hastalıkların patogenezinin histopatolojik evreleri; Page ve Schroder tarafından başlangıç, erken, yerleşik ve ilerlemiş lezyon olarak ifade edilmiştir (47, 56, 57).

### **2.2.1. Başlangıç Lezyonu**

Başlangıç lezyonu, plak birikiminin başlamasından itibaren ilk 4 günde ortaya çıkan tablodur. Bu subklinik lezyon sadece histolojik olarak görülebilir, ödem, dişeti oluşu sıvısı (DOS) akışı, damarlarda vasodilatasyon, PMNL'nin akümülyasyonunda artış ve bağ dokusu kaybı başlangıç lezyonunun karakteristik özellikleridir. Plak akümülyasyonu devam ettikçe bakteriyel enzim ve metabolik ürünler, birleşim epitelinin geçirgenliğini arttırır ve daha fazla bakteriyel ürünlerin girişine zemin hazır. Nötrofillerin dişeti oluşuna göç ederek lizozomal enzimlerini salgılaması bu aşamada bağ dokusu kaybının temelini oluşturur (47, 56, 57).

### **2.2.2. Erken Lezyon**

Erken lezyon, dental plak birikiminin ortalama 4-7. günlerinde oluşur. Bu aşamada PMNL'nin yanında lökosit ve makrofajlar da dokuya infiltre olmaya başlar. Kapiller proliferasyonda ve perivasküler enflamatuvar infiltratta artış meydana gelir. Böylece dişeti dokusunda sıvı akımı ve DOS artar. Birleşim epiteli hücreleri arasında meydana gelen genişleme bakteriyel ürünlerin dişeti dokusuna daha fazla girişine ve enflamatuvar cevabın artışına neden olur. Kollajen yıkımında artış görülse de ataçman kaybı görülmez. Plak uzaklaştırıldığı zaman dişeti dokusu iyileşir ve eski halini alır. Dişeti dokusunun yapısında ve bütünlüğünde kalıcı değişiklikler meydana gelmez (47, 56, 57).

### **2.2.3. Yerleşmiş Lezyon**

Periodontitise genetik ve çevresel faktörlerden dolayı yatkın bireylerde, konak cevabının bir neticesi olarak erken lezyon ilerleyerek B ve plazma hücrelerinin yoğun olarak infiltre olduğu interlökin (IL)-1 ve IL-6 gibi periodontal doku yıkımına yol açacak enflamatuvar mediyatörlerin salınımına neden olur. Dişin bağ dokusu ataçmanında yıkım oluştuğunda, birleşim epiteli apikale doğru göç etmeye devam eder, çevre bağ dokusu içinde rete peglerin girinti yaptığı periodontal cep epiteli meydana gelir. Cep epitelinin geçirgenliğinde artış meydana geldikçe mikrobiyolojik ürünlerin geçişi daha da artar ve daha fazla enflamatuvar mediyatörün (IL-1, IL-6, Tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Prostaglandin E2 (PGE2)) salınımına neden olarak

enflamatuvar sürecin ve doku yıkımının devam etmesine neden olur. Yerleşmiş lezyonun en belirgin özelliği adaptif immün cevabın göstergesi olarak periodontal bağ dokusunda plazma hücrelerinin baskın hücreler olmasıdır (47, 56, 57).

#### 2.2.4. İlerlemiş Lezyon

İlerlemiş lezyon temel olarak yerleşik lezyonla benzer hücresel mekanizmaya sahiptir. Ana fark klinik ve histolojik olarak ataçman kaybının belirgin olmasıdır. Fibroblast ve makrofajlar enflamatuvar mediyatörler tarafından stimüle edilmektedir. Bu aşamada kollajen molekülleri; küçük parçalara bölünerek, ekstrasellüler çevre tarafından denature edilerek veya çevredeki fibroblastlar tarafından fagosite edilerek yıkılır. Lezyon ilerledikçe alveolar kemik yıkımı görülmeye başlar. Fibröz bir band kemiğe yapışık halde kalır (47, 56, 57).

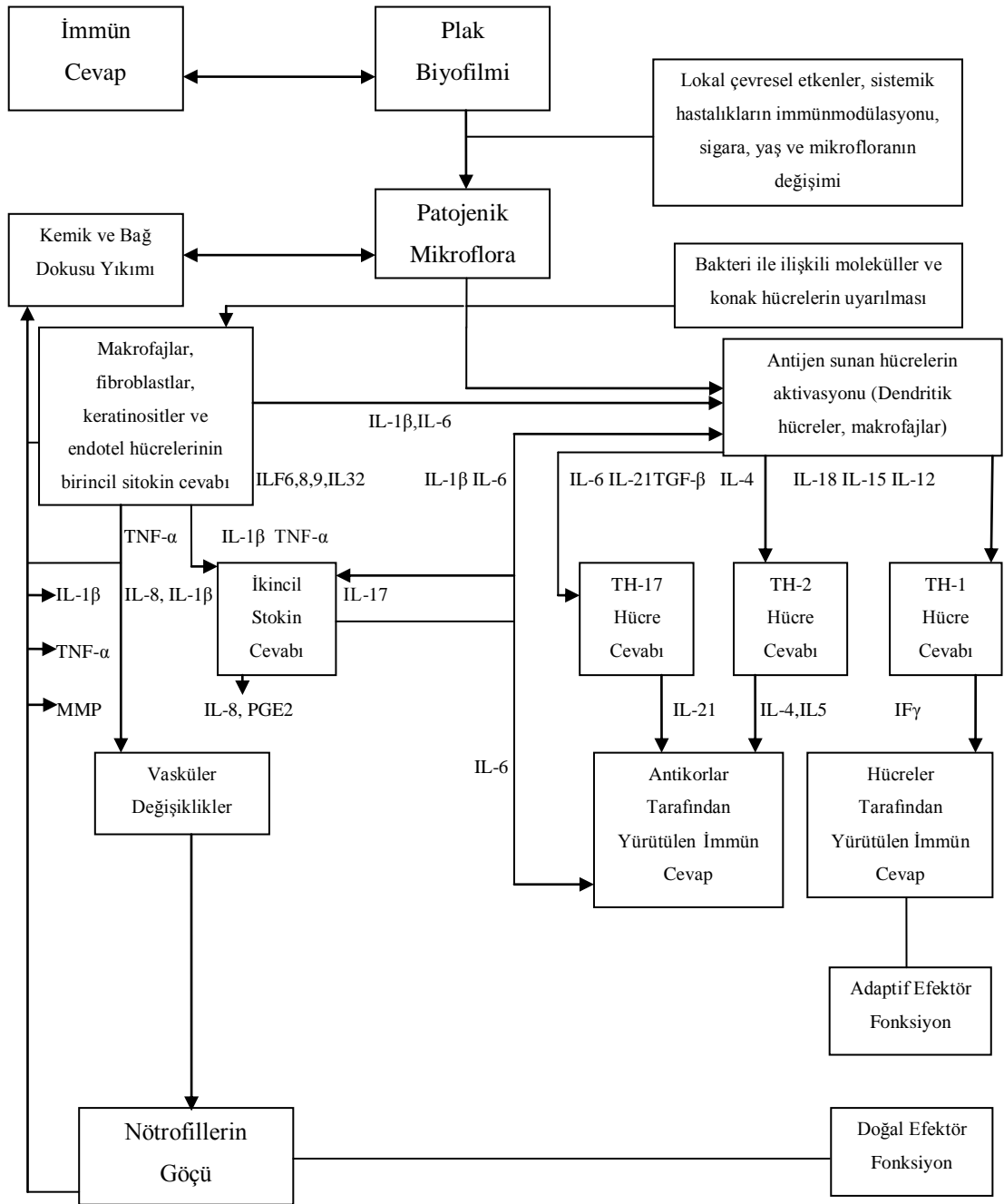
#### 2.3. Konak Cevabı

Dental plaktaki çeşitli bakteri türleri periodontitisle yakından ilişkilidir. *Porphyromonas gingivalis*, *aggregatebacter actinomycetemcomitans*, *tannerella forsythus*, çeşitli spiroketler, *provetella intermedia*, *campylobacter rectus*, *eubacterium nodatum*, *treponema denticola*, *streptococcus intermedia*, *provetella nigrescens*, *peptostreptococcus micros*, *fusobacterium nucleatum* ve *eikinella corrodens* periodontal hastalık oluşturma kapasitesine sahip patojen bakteri türleridir (2, 3, 49). Konak dokularında kolonizasyon, invazyon ve doku yıkım kapasitesi olarak adlandırılan virülans faktörleri yüksek bakteriler, kırmızı kompleks bakterileri olarak adlandırılır. Bunlar *porphyromonas gingivalis*, *tannerella forsythia* ve *treponema denticola* bakterileridir. Bu bakteriler periodontitiste en çok izole edilen patojen bakterilerdir (58, 59). Hastalığa yatkın bireylerde adı geçen bakteriler ve ürünlerinin neden olduğu konak cevabı, periodontal doku yıkımının asıl etkenidir (2, 3, 49).

Periodontal patojen bakteriler; lipopolisakkaritler (LPS), peptidoglikanlar, lipoteikoik asitler, fimbrialar, proteazlar, ısı şok proteinleri, formil leusyl fenilalanin ve toksinler gibi doku yıkımını meydana getirecek ürünler salgılar. Bu ürünler konakta periodontal doku yıkımını başlatır. Periodontal yumuşak ve sert doku

yıkımını sağlayan ana faktör konağın bu ürünlere verdiği immüno-enflamatuvar cevaptır. Enflamatuvar cevabın temelinde yatan biyolojik mekanizmalar; endotelyal hücre salgılarının, intersellüler adezyon moleküllerinin, nötrofiller, lenfositler, monositler ve fibroblastlar tarafından üretilen konak kaynaklı enflamatuvar mediyatörlerin tanımlanmalarına bağlıdır (2). Bozulan konak – mikroorganizma dengesi, konak hücrelerinden proenflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), proteazlar (matriks metalloproteinazlar (MMP)) ve prostaglandinler (PG) gibi periodosiyumun yıkımına neden olacak çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin üretilmesine yol açar (2, 4) (Şekil 2.2).

Periodontal doku yıkımında yer alan konak kaynaklı enflamatuvar mediyatörler sadece periodontal enfeksiyonlarla değil, sistemik enfeksiyon ile de ilişkilendirilmektedir. Peridontal patojenler, lokal immün cevabın yanında sistemik immüno-enflamatuvar cevabı da başlatır. Konak doku yıkımında yer alan mediyatörler aynı zamanda akut faz cevabını da neden olur (60).



Şekil 2.2. Periodontal doku yıkımında enflamatuvar mediyatörler (61).

## 2.4. Sitokinler

Sitokinler, immün cevabın düzenlenmesinde biyolojik olarak etkili, proteinlerden oluşan, doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminin vazgeçilmez mediyatörleridir. Sitokinler; IL'ler, interferonlar, kemokinler, TNF aileleri, büyüme faktörleri ve koloni stimüle edici faktörleri içermektedir (61). Sitokinler, pek çok hücre tarafından üretilebilmesine rağmen temel olarak makrofajlar ve T hücreleri tarafından üretilen mediyatörlerdir (62).

Sitokinler, düşük dozlarda dahi etki gösterirler; dokulardan geçici olarak salınırlar ve üretildikleri dokuda etkindirler. Otokrin veya parakrin etkilerinin yanında pek çok hücreye de etki edebilme kapasitesine sahiptir. Sitokinler, periodontal hastalıkların patogenezinin de dahil olduğu pek çok enflematuvar hastalığın mekanizmasında rol oynamaktadır (63).

Sitokinler periodontitisin karakteristik immünoenflamatuvar cevabının önde gelen belirleyicileridir (54). Bu mediyatörler, immuno-enflamatuvar sürecin meydana getirdiği periodontal hastalıklarda enflamasyonun akut ve kronik fazında fibroblastlar, epitel hücreleri ve fagositler (nötrofiller ve makrofajlar) tarafından, yerleşik ve ilerlemiş lezyon safhasında ise lenfositler tarafından üretilmektedir (64). Periodontitisli bölgelerde farklı sitokin türlerine rastlanılmış olması, sitokinlerin aktif ve durağan lezyonların spesifik düzenleyicileri olduğunun bir göstergesidir (54).

Periodontal hastalıkların patogenezinde IL'ler, başlıca rol oynayan sitokinlerdir. İnterlökinler lökositler tarafından üretilen mediyatörlerdir. Bu mediyatörler immünoenflamatuvar cevap sırasında, lökositler ile (epitel hücreleri, endotel hücreler ve fibroblast hücreleri gibi) vücudun diğer hücreleri arasındaki iletişimi sağlayan hücrelerdir (65). Güncel bilgilere göre 35 IL çeşidi bulunmaktadır. Bunların çoğu yapı ve fonksiyonları birbirine benzeyen, ayrı genler tarafından kodlanan IL ailelerinden oluşmaktadır (4, 61, 64). İnterlökin-1, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler, proenflamatuvar etki göstererek periodontal doku yıkımına neden olurken, IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi IL'ler ise proenflamatuvar sitokinleri baskılayarak antienflamatuvar etkileri ile periodontal doku yıkımını baskırlar (61, 66).



Periodontal doku yıkımında IL-6 ve TNF- $\alpha$  ile birlikte IL-1  $\beta$  en dikkat çekici IL' lerdendir (4, 56, 61, 67).

Tablo 2.1. Sitokinler (61).

Sitokin Grubu	Sitokinlerin Görevi	Sitokinler
<b>Proenflamatuvar Sitokinler</b>	Primer doğal immün cevap ve enflamasyonun aktive edilmesi	IL-1 ailesi (IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra) TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-23, IL-32
<b>Sinyal sitokinler</b>	Lökosit farklılaşması ve büyümesi, akut faz reaksiyonları	IL-6, IL-11, oncostatin- M, Lösemi inhibitör faktör.
<b>T-Hücre düzenleyici sitokinler</b>	T-hücre alt kümelerinin düzenlenmesi, adaptif immüitenin düzenlenmesi, enflamatuvar cevabın düzenlenmesi	T-helper-1sitokinler: IFN $\gamma$ , IL-12, IL-15, IL-8 T-helper-2 sitokinler: IL-4, IL-5, IL-25, IL-33. T-helper-17 sitokinler: IL-17, IL-21, IL-23, IFN- $\gamma$ , IL-6. Düzenleyici T: IL-2, TGF- $\beta$ , IL-10
<b>Anti-enflamatuvar sitokinler</b>	İmmün cevabın ve enflamasyonun baskılanması	IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ , IL-1Ra, IL-1F5
<b>Kemokinler</b>	Nötrofil kemotaksisi	IL-8
<b>Tip-1 interferonlar</b>	Antiviral immün cevap	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$
<b>Kemik hücre aktivatörleri</b>	Kemik hücre gelişimi ve fonksiyonu	RANKL
<b>Büyüme faktörleri</b>	Doku tamirinin düzenlenmesi	TGF- $\beta$ Süper ailesi, çeşitli büyüme faktörleri
<b>Adibokinler</b>	Metabolik ve immün düzenleme	Leptin, adiponektin, visfatin, TNF- $\alpha$ , IL-6
<b>Koloni stimüle edici faktörler</b>	Hematopoiezis, lokalize immün hücre farklılaşması	IL-3, IL-7, Granülosit stimüle faktörler

### 2.4.1. İnterlökin-1 $\beta$

İnterlökin-1 sitokin ailesi, yapısal olarak birbirine benzerlik gösteren bir proenflamatuvar sitokin grubudur. Bu sitokin ailesi, hücre içi düzenleyici özellikleriyle geniş bir biyolojik etkinliğe sahiptir (61). İnterlökin-1'in temel görevi, erken doğal ve adaptif immün cevabın düzenlenmesini sağlayarak romatoid artrit ve periodontitis gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda doku yıkımının yönlendirilmesidir (61, 68, 69). İnterlökin-1, ilk olarak osteoklast aktive edici faktör olarak tanımlanmıştır. Daha sonra IL-1- $\alpha$ , - $\beta$  ve reseptör antagonist olmak üzere üç tip olarak belirlenmiştir (61, 70, 71).

İnterlökin-1 $\beta$ 'nın, immün sistemin başlattığı hastalıklarda temel rol oynadığı belirlenmiştir. İnterlökin-1 $\beta$ , ayrıca diğer mediyatörlerin (TNF- $\alpha$ , IL-6, MMP v.s) üretilmesini indüklemekle de görevlidir. İnterlökin-1 $\beta$  bu görevini; immün sistem kaynaklı hastalıkların temelini oluşturan adaptif immünite, iyileşme, doku enflamasyonu gibi çeşitli moleküler ve hücresele mekanizmaları başlatarak yerine getirir (61, 72).

İnterlökin-1 $\beta$  bağ dokusu yıkımının başlangıç ve ilerleme safhasında rol alır (73). Bunun yanı sıra bu sitokin, doksandan fazla geni etkileyerek diğer sitokinlerin, sitokin reseptörlerinin, büyüme faktörlerinin, doku remodelasyonunda yer alan enzimlerin, ekstrasellüler matriks komponentleri için üretilen genlerin ve adezyon moleküllerinin üretimini etkileme kapasitesine sahiptir (73). İnterlökin-1 $\beta$  enfeksiyon ve yara alanında PGE2, platelet aktive edici faktör ve NO gibi mediyatörlerin üretilmesini de sağlar. Bu mediyatörler enflamasyonun vasküler değişiklikleri ile ilgili mediyatörlerdir. Bunlar enfeksiyon ve yara alanında kan akımını kolaylaştırır. İnterlökin-1 $\beta$  ayrıca endotelial hücreler üzerindeki intersellüler adezyon molekülleri ve e- selektinler gibi membran bağlı adezyon moleküllerinin salgılanmasını artırır. İnterlökin-1 $\beta$ , keratinosit gibi hücrelerden IL-8 gibi nötrofillerin etkilenen hücreye infiltrasyonunu sağlayan kemokinlerin salımını başlatır (61, 72).

Periodontal hastalıkların patogeneğinde IL-1 $\beta$ 'nın temel işlev gören sitokin olduğu yönünde bir fikir birliği vardır (61, 70). İnterlökin-1 $\beta$ 'nın doku miktarı ile periodontal hastalığın şiddeti doğru orantılıdır (61, 74). İmmünohistolojik

çalışmalarda dişeti bağ dokusunda makrofaj kaynaklı IL-1 $\beta$  pozitif hücrelere rastlanmıştır. İn vitro çalışmalar periodontal dokulardaki çoğu hücrenin, IL-1 $\beta$  salgılama kapasitesi olduğunu ortaya çıkarmıştır (61). İnterlökin-1 $\beta$ , kemik dokusunu yıkıma kapasitesine sahip bir proenflamatuvar sitokindir (70). İnterlökin-1 $\beta$ , diğer sitokinleri etkileyerek kemik yıkımına dolaylı olarak katkıda bulunur. Periodontal kemik yıkımında IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ile sinerjistik etki gösterir. Bu proenflamatuvar sitokinin RANK (Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa  $\beta$ ) / RANKL (Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa  $\beta$  Ligand) / OPG (Osteoprotegerin) mekanizmasını stimüle ederek doğrudan osteoklastogenezisin dolayısıyla kemik yıkımının güçlü bir indükleyicisi olduğu da bilinmektedir. Ayrıca IL-1 $\beta$  gingival ve periodontal ligament fibroblastlarından PGE2 salınımını stimüle ederek de kemik kaybına sebep olur. Kemik kaybı periodontitisin belirgin özelliğidir (61, 72, 75, 76). Bu özelliklerinin yanında IL-1 $\beta$ , ekstrasellüler matriks yıkımını sağlayan MMP'leri aktive eden bağ doku yıkımının güçlü bir mediyatörüdür (75).

İnterlökin-1 $\beta$  ile ilgili yapılan deneysel periodontitisli hayvan çalışmalarında, bu sitokinin periodontal dokularda artmasıyla enflamasyonun ve doku yıkımının arttığı tespit edilmiştir (61). İnterlökin-1 $\beta$  ile ilgili klinik çalışmalar periodontal hastalığı bulunan bireylerden elde edilen dişeti dokusu ve DOS ile ilgili olmuştur. Elde edilen sonuçlar IL-1 $\beta$ 'nin hastalıklı alanlardan elde edilen doku ve DOS örneklerinde artış gösterdiğini, periodontitisli bölgelerin tedavisinden sonra ise hastalıklı alanlarda hem DOS'da hem de dişeti dokusunda azalmaya uğradığını ifade etmektedir (63). Klinik çalışmalarda ayrıca DOS'daki IL-1 $\beta$  miktarının, plak indeksi, dişeti kanama indeksi, sondlama cep derinliği ve klinik ataçman kaybı gibi periodontal hastalığın klinik parametrelerindeki artış ile doğru orantılı olduğu belirtilmiştir (74). Son dönemlerde tükrükteki IL-1 $\beta$  miktarı ve periodontal hastalığın şiddetinin doğru orantılı olduğunu ifade eden çalışmalar da yapılmıştır (77).

Bu çalışmalar IL-1 $\beta$ 'nin periodontal doku yıkımının ve sağlığının bir belirteci olarak değerlendirilmesini mantıklı kılmaktadır.

## 2.5. Ekstrasellüler Matriks Yıkımı ve MMP'ler

Matriks metalloproteinaz ailesi, Zn ve Ca bağımlı endopeptidazlardan oluşan, yapısal olarak benzer, genetik olarak farklı alt grupların oluşturduğu tüm ekstrasellüler matriks bileşimlerini yıkım ve şekillendirme kapasitesine sahip proteolitik enzimlerdir (78-80). Bu enzim ailesi, kollajen ve proteoglikanlar gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerinin şekillendirilmesi için önemli mediyatörlerdir. Matriks metalloproteinazlar bu özellikleri ile organ morfogenezi, kemik formasyonu, üreme, diş sürmesi, anjiogenezis ve yara iyileşmesi gibi gelişim süreçlerinde yer aldığı gibi enflamasyon, kronik dejeneratif hastalıklar ve tümör invazyonu gibi patolojik süreçlerde de yer almaktadır (81, 82)

Matriks metalloproteinazlar fibroblastlar, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri tarafından üretilir (54, 82). Matriks metalloproteinazlar aynı zamanda antiinflamatuvar ve proinflamatuvar süreci yönlendirecek sitokinler (kemokinler, büyüme faktörleri v.s) gibi immünolojik mediyatörlerin üretimine yön verir (80, 81, 83). Matriks metalloproteinazların sahip oldukları yıkıcı özelliklerinden dolayı aktiviteleri ve üretimleri sıkı bir şekilde kontrol edilir ve düzenlenir (54). Endojenaz doku inhibitörleri olan tissue inhibitör metalloproteinazlar (TIMP), MMP'lerin aktivitelerinin kontrol edilmesinde önemli mediyatörlerdir. Doku yıkımı TIMP'lar ve MMP'ler arasındaki dengenin MMP'ler lehine bozulması ile doğru orantılıdır (82). Özellikle TIMP-1 MMP'lerin aktivitelerinin düzenlenmesinde en önemli TIMP'tır. Tissue inhibitör metalloproteinazlar MMP'lere bağlanarak MMP'lerin enzim aktivitelerini geri dönüşümsüz olarak durdurur (54).

Matriks metalloproteinazlar temel olarak altı gruba ayrılır (84):

1. **Kollajenazlar;** MMP-1 (Fibroblast), MMP-8 (Nötrofil-Kollajenaz 2), MMP-13 (Kollajenaz-3) , MMP-18 (Kollajenaz-4)
2. **Jelatinazlar;** MMP-2, MMP-9
3. **Stromelisinler;** MMP-3, MMP-10, MMP-11
4. **Matrilisinler;** MMP-7, MMP-26
5. **Membran tip;** MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25.

**6. Diğerleri; MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23**

Ekstrasellüler matriksin sağlığı ve devamlılığı, dişetin normal gelişimini ve sağlığını sürdürebilmesi için vazgeçilmezdir (4). Dişeti ve periodontal ligament kollajenlerinin yıkımı periodontal hastalıkların oluşum ve ilerlemesinde anahtar rol oynar (85). Matriks metalloproteinazlar, enflamatuvar hücreler ile birlikte periodontal dokular tarafından da üretilen mediyatörlerdir (81). Periodontal dokularda MMP'ler ve TIMP'lar arasındaki MMP'ler lehine bozulan denge, periodontitiste ekstrasellüler matriks yıkımının temel nedenidir (80, 81, 83).

Kollajenazlar dört farklı molekülden oluşan MMP'lerin bir alt ailesidir. Bunlar; MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18'dir (kollajenaz-4) (84). Bu moleküller ekstrasellüler matriksin kollajen fibrillerinin yıkımına neden olan proteinazlardır (86). Bu moleküller tip-1, 2 ve 3 kollajeni terminal bölümlerine ayırarak yıkıma uğratar (87).

Dişeti oluğu sıvısı ve ağız sıvılarında kollajenaz seviyesinin ölçümü, periodontal hastalığın doku yıkım aktivitesini göstermesi ve iyi bir teşhis parametresi olması açısından değerlidir. Klinik çalışmalara göre periodontitisli dişlerde kollajenaz seviyeleri, dişeti dokuları ve DOS'da sağlıklı dişlere göre artarken, tedavi sonrasında ise azalmaktadır (82, 85, 88, 89).

**2.5.1. Matriks Metalloproteinaz-8 (Kollajenaz Tip 2)**

Matriks metalloproteinaz-8, enflamatuvar doku yıkımının görüldüğü hastalıklarda doku yıkımından sorumlu en önemli MMP'dir (88, 90). Polimorfo nükleer lökositler, MMP-8'in başlıca üreticileridirler ve MMP-8, nötrofil tip kollajenaz veya kollajenaz 2 olarak da adlandırılmaktadır (90-92). Matriks metalloproteinaz-8'in doku seviyesindeki artış, başta periodontitis olmak üzere romatoid artrit, ateroskleroz, kanser ve anevrizma gibi patolojilerle ilişkilendirilmektedir (93).

Periodontal hastalıkların patogeneğinde en dikkat çeken proteolitik enzim MMP-8'dir (80, 85, 90, 94). Matriks metalloproteinaz-8 enflamasyonlu periodontal

dokularda tespit edilebilen aktif kollajenzdır. Matriks metalloproteinaz-8, tip 1 ve tip 3 kollajenin her ikisini de yıkıma uğratabilmekle birlikte tip 1 kollajeni daha hızlı yıkıma uğratar (84, 85). Tip-1 kollajen, periodontal dokularda en çok bulunan kollajen tipidir (95). Tümör nekroz faktör- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$  gibi proenflamatuvar sitokinler, nötrofilleri uyararak MMP-8 salınımında ve periodontitisin patogeneğinde yer alır (96). Matriks metalloproteinaz-8, periodontal hastalıklarda dişeti ve DOS'da en çok rastlanan MMP'dir. Gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri, sulkuler epitel hücreleri, odontoblast hücreleri, kıkırdak kondrositleri, sinoviyal fibroblastlar, endotelial hücreler, plazma hücreleri ve makrofajlar, nötrofiller ile birlikte MMP-8 enzimini üretebilirler (91, 95).

Matriks metalloproteinaz-8'in doku seviyesi, periodontal hastalığın şiddeti ile doğru orantılıdır (80, 91). Bu enzimin periodontal yıkımdaki etkilerinin araştırıldığı çeşitli klinik çalışmalarda, DOS ve tükürükteki MMP-8 seviyesi ile hastalığın klinik parametreleri doğru orantılıdır (80, 90-92, 97, 98). Aynı zamanda klinik çalışmalarda araştırmacılar, kronik periodontitisli hastaların DOS örneklerinde MMP-8 seviyesinin periodontal tedavi sonrasında azaldığını rapor etmişlerdir (99-101).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda da MMP-8'in ekstrasellüler matriks yıkımında önemli rolü olduğu ifade edilmektedir. Bu çalışmalarda araştırmacılar gingival dokudaki MMP-8 seviyesini periodontal doku yıkımının şiddeti ile doğru orantılı bulmuşlardır (95, 102).

Bu bilgiler periodontal hastalıklardaki doku yıkımı ile MMP-8 arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. MMP-8'in periodontal hastalık aktivitesini belirleyen önemli bir teşhis aracı olabileceği düşünülmektedir (80, 85, 95, 98, 102).

## **2.6. Kemik Dokusu ve Kemik Yapımı**

Kemik dokusu, yapım ve yıkım sürecinin devamlı olduğu bir sert dokudur. Yapım sürecinden mezenkimal kökenli osteoblastlar yıkım sürecinden ise hemotopietik kökenli osteoklastlar sorumludur (103, 104). Kemik oluşumu sırasında osteoblastlar matriks üretirler bu esnada osteoblastlar matriks üretirlerken kollajen hemen polimerize olur ve kollajen iplikleri meydana gelir. Kollajen iplikleri

ve matriksin meydana getirdiği dokunun içine osteoblastlar da tutunmuştur. Osteoblastlar, yeni şekillenen kemik dokusu ile çevrelendiklerinde osteosit adını alır. Kemik oluşurken bir kaç gün içinde kalsiyum (Ca) kristalleri kollajen iplikler üzerine çökmeye başlar (103). Kemikleşmiş dokudaki çökmüş minerallerin oluşturduğu kristallere hidroksiapatit kristalleri denir. Hidroksi apatit kristalleri,  $Ca^{2+}_{10-x} (H_3O^+)_{2x} (PO_4^{3-})_6 (OH)_2$  kimyasal yapısından oluşmaktadır. Yeni oluşan kemikte hidroksiapatit kristallerinin %75'i birkaç gün içinde büyümesini tamamlamış olur. Kemiğin tam olarak kalsifiye olması aylar alır (103).

Kalsiyum ve fosfat ( $PO_4^{-3}$ ) kemiğin inorganik içeriğini oluşturmaktadır. Kemik oluşurken fosfatın çökmesi  $Ca^{2+}$  ve  $PO_4^{-3}$  iyonlarının miktarına bağlıdır. Kalsiyum ve  $PO_4^{-3}$  iyonları belirli bir yoğunluğa ulaştığında  $Ca^{2+}$  ve  $PO_4^{-3}$  çöker; bu da kemik dokusunun mineralizasyonunu arttırır. Kemik dokusu mineralize olurken osteoblastlarda bulunan ALP fosfat esterlerini hidrolize eder. Hidroliz reaksiyonu ile serbest kalan fosfat osteoblastlar civarında fosfat yoğunluğunu arttırır ve kalsiyum fosfat çöker (103). Bu yüzden osteoblastlarda bulunan ALP, kemik yapımının bir belirteçidir (103-105).

Kalsiyum, kemiğin mineral kısmının çoğunluğunu oluşturur ve kan plazmasında üç formda bulunur. Kan plazmasındaki Ca'un % 50 kadarı iyonize formdadır ve kapilleri geçer. İyonize olabilen bu Ca kemik şekillenmesinde ve mineralizasyonunda görev alır. Bunun yanında iyonize Ca, kas ve sinir fonksiyonları, kan pıhtılaşması, hormon ve nörotransmitter salınımı, mikrotübül fonksiyonu, yumurta hücresi döllenişmesi, endositoz ve eksositoz gibi önemli biyolojik olaylarda da yer alır. Plazmadaki Ca %41 kadarı proteinlere bağlı olarak bulunur. Proteinlere bağlı olduğu için kılcal damarları geçebilecek büyüklüğe sahip değildir. Kandaki Ca %9 kadarı proteinden başka moleküllere (sitrata, fosfata, bikarbonata) bağlı olarak bulunur. Fakat bu özellikteki Ca, kılcal damar çeperini geçebilmesine rağmen diffüze olamaz. İyonize olabilen; fakat diffüze olamayan Ca'dır (103).

## 2.7. Osteoimmünoloji ve Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar

Kemik dokusunun yeniden şekillenmesi osteoblast ve osteoklast hücrelerinin oluşturduğu yapım ve yıkım süreci ile meydana gelir. Kemik yapımı ve yıkımı

arasında fizyolojik bir denge vardır (106, 107). Bu denge kemik dokusunun yapısal bütünlüğünün ve Ca metabolizmasının devamlılığının sağlandığı, kemik homeostazi olarak adlandırılır. Bu denge kemik yapımı lehine bozulduğunda osteopetrozis, kemik yıkımı lehine bozulduğunda ise osteoporozis gibi hastalıklar görülebilmektedir (66). Diş destek dokularından alveol kemiği yapım-yıkım sürecinin yaşandığı iskelet sisteminin bir parçasıdır. Bu süreç sadece diş sürmesi, okluzal kuvvetler gibi fizyolojik olgularda değil, ortodontik diş hareketi, periapikal patolojiler ve periodontal hastalık gibi durumlarda da meydana gelmektedir (106, 107).

Osteoimmünoloji, hücre sel ve moleküler düzeyde iskelet sistemi ve immün sistem arasındaki etkileşimleri inceler (108-110). Periodontitis enflamatuvar kemik yıkımının görüldüğü bir hastalıktır. Periodontitiste görülen bu kemik yıkımı patofizyolojik olarak osteoimmünoloji terimi ile açıklanabilir (111, 112). Osteoimmünoloji içerisinde kemik yapım ve yıkım sürecinde TNF ailesine ait RANK, RANKL ve OPG adı verilen bir dizi sitokin grubu tanımlanmıştır. Bu moleküller kendi aralarında etkileşim ile kemik metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir işlev gören RANK/RANKL/OPG mekanizmasını meydana getirir (64, 108, 113).

Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$ , RANKL ve OPG'nin tanımlanmaları ve karakterizasyonları periodontal kemik dokusunun yeniden şekillenme mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına büyük katkıda bulunmuştur (106). Periodontal hastalıklarda IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-8 gibi çok sayıda proenflamatuvar sitokin, RANK/RANKL/OPG mekanizmasını aktive ederek kemik yıkımı meydana getirir (64, 114).

### **2.7.1. Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa- $\beta$**

Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa- $\beta$ , önceleri sadece osteoklast prekürsörlerinde, olgun osteoklastlarda ve dendritik hücrelerde tespit edilebilen TNF ailesine ait tip 1 transmembran proteini olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları RANK'ın monositler, makrofaj türleri, B ve T hücreleri, fibroblastlar, meme bezi hücreleri, kemik metastazı yapan kanser hücreleri (göğüs kanseri, prostat kanseri gibi



kanser hücrelerinde) tarafından üretildiği de tespit edilmiştir (115). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$ , kalsemi ve osteoklast hücrelerinin dokuda çoğalmaları için gerekli olan kalsiyum hormonları ve prorezorptif sitokinler için önemli bir moleküldür. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$ 'nin aktivasyonu kendisi gibi bir TNF ailesi alt grubu olan RANKL ile gerçekleşmektedir (114).

### **2.7.2. Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa- $\beta$ Ligand**

Tümör nekroz faktör ailesine ait bir protein olan RANKL, hücre membran bağlantı faktörü olarak osteoklastların aktivasyonunu ve farklılaşmasını sağlar ve kemik yıkımında görev alır (106). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand'ın osteoklast hücrelerinden üretilen RANK'a bağlanması ile osteoklastların farklılaşması ve aktivasyonu gerçekleşir. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand aynı zamanda osteoklastların apoptozisini baskılar (114). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand; ligand halinde osteoblastlar, fibroblastlar, aktive T ve B hücrelerinden salınır. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand'ın üç tipi vardır. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand 1, hücre içi, transmembran ve hücreler arası etkiye sahiptir. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand 2 ise hücre içi etki alanına sahipken, RANKL 3 ise hem hücreler arası hem de transmembran etki özelliğinden yoksundur. Bu üç molekülün de osteoklastogenezisin düzenlenmesinde farklı etkileri vardır (106). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand ve RANK osteoklastogeneziz kadar immün sistemin gelişmesinde de önemli role sahiptir (112).

### **2.7.3. Osteoprotegerin**

Osteoprotegerin, TNF ailesine ait RANKL'ın baskılayıcı reseptörüdür. Osteoklast baskılayıcı faktör adıyla da bilinen OPG, osteoblastlardan başka kemik iliği, böbrek, karaciğer, dalak ve kalp gibi birçok dokuda üretilir. Osteoprotegerin, osteoklastogenezisi baskılayan çözünür bir proteindir (114, 116).

Osteoprotegerin ve kemik dokusu ilişkisinin incelendiği insan genetik çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde otozomal çekinik bir kemik rahatsızlığı olan idiyopatik hiperfosfatazyaya hastalığı tespit edilen üç kerdeşte OPG

geninin üçüncü eksonunda silinme olduğu tespit edilmiştir (117). İnsanlarda yapılan başka bir klinik çalışmada da otozomal çekinik bir rahatsızlık olan iki juvenil paget hastasının OPG genlerinde meydana gelen silinmenin bu hastalığa neden olduğu ifade edilmektedir (118). Bu sonuçlar OPG'nin insanlarda kemik dokusunu koruyucu bir rolü olduğunu desteklemektedir.

Osteoprotegerin ile ilgili yapılan deneysel hayvan çalışmalarında genetik insan çalışmalarında olduğu gibi OPG'nin fizyolojik kemik kütlesinin korunması için gerekli bir molekül olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda deneklerde OPG yokluğunda kemik yoğunluğu ve hacminde azalma, kırık ve kemik deformitesi ile seyreden osteoporozis görülmüştür. Osteoporozisin intravenöz OPG enjeksiyonu ile tedavi edildiği tespit edilmiştir. Osteoprotegerin genetiği değiştirilen deneklerde ise osteoklastogenezin baskılanması ile karakterize osteopetrozis görülmüştür (108).

#### **2.7.4. Kemik Dokusu Yıkımı ve RANKL / OPG Oranı**

Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand ve OPG moleküllerinin doku dengesi, kemik yıkımında RANKL'in lehine bozulur (108). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand ve OPG'nin üretilmesi, enflamatuvar mediyatörler, bakteriyel ürünler ve hormonlar gibi sistemik ve lokal faktörlerin etkisi ile gerçekleşmektedir. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand'ın lokal salınımının artış göstermesi veya OPG'nin lokal salınımının düşüş göstermesi, iskelet sisteminin çeşitli bölgelerinde kemik yıkımı ile sonuçlanır. Bunun tam tersi olacak şekilde OPG oranında artış veya RANKL oranında düşüş görülmesi de kemik yapımında artış ile kendini göstererek osteopetrotik duruma neden olur. Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand-OPG sistemi ile multiple myelom gibi kemik malignensilerinin, paget hastalığı, romatoid artrit, postmenopozal osteoporozis ve periodontitis gibi kemik dokusunu ilgilendiren hastalıkların patogenez ilişkisi iyi tanımlanmıştır (64, 106, 119).

Osteoklastlar tarafından üretilen RANKL, OPG'den daha fazla üretildiğinde RANK'a daha fazla oranda bağlanabilir, böylece osteoklastların oluşması ve kemik yıkımı lehine bozulur ve kemik yıkımı görülür (112). Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa- $\beta$  ligand'ın RANK'a bağlanması, sadece osteoklastogenez için değil

aynı zamanda kemik yıkımı ile sonuçlanacak osteoklast hücrelerinin yaşam ve aktivasyon sürecini de destekler. Osteoprotegerin konsantrasyonu RANKL'a göre fazla olduğunda ise OPG RANKL'a bağlanarak RANKL-RANK etkileşimini engeller. Osteoprotegerin RANK-RANKL ikilisinin bağlanmasını azaltarak osteoklastogeneziz yoğunluğu ve hızını azaltır. Böylece daha önce farklılaşan ve aktif hale geçen osteoklastlarda apoptozis görülür ve kemik yıkımı baskılanır (111, 112).

#### **2.7.4.1. Periodontal Kemik Yıkımı ve RANKL/OPG Oranı**

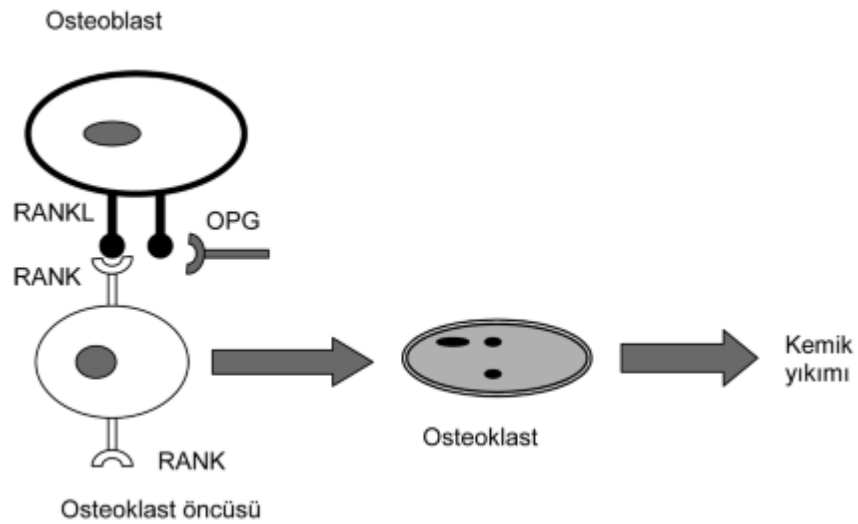
Fizyolojik durumlarda, periodonsiyumda RANKL mezenkimal hücrelerden, osteoblastlardan ve periodontal ligament hücrelerinden üretilmektedir. Fizyolojik olarak RANKL'ın üretilmesi, periodonsiyumun okluzal kuvvetlere karşı adaptasyon mekanizması, diş sürmesi veya ortodontik hareket mekanizmasına bağlıdır (106). Periodontal hastalık durumunda RANKL'ın birincil kaynağı B hücrelerinin yanı sıra Th1 veya Th 17 hücreleridir. Bununla birlikte periodontal dokulardaki mezenkimal hücreler bakteriyel atak karşısında RANKL üretme kapasitesine sahiptir (106).

Dokuda RANKL seviyesinin artması ve OPG seviyesinin azalması başta periodontal hastalıklar olmak üzere çeşitli enflamatuvar kemik hastalıklarında görülmektedir (114, 120). Periodontal kemik yıkımının asıl nedeni, periodontal patojen bakterilere karşı periodontal dokulardaki aktif lenfositler tarafından üretilen RANKL'dır (106).

Dişeti oluşu sırasında bulunan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, IL-17 gibi proenflamatuvar sitokinler ve TNF- $\alpha$ , RANKL salınımına neden olurken OPG salınımını ise baskılamaktadır (121). Bu sitokinler RANKL/OPG oranını arttırarak kemik yıkıcı etki gösterirler (114, 120). İnsanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda kemik yıkımının görüldüğü periodontitisli bölgelerden elde edilen dişeti örneklerinde RANKL'ın sağlıklı dişeti dokularından alınan örneklerle göre belirgin şekilde fazla salındığı tespit edilmiştir. Bunun yanında OPG'nin periodontal hastalıklı dişeti dokularında sağlıklı dokulara göre daha az seviyede salındığı tespit edilmiştir (120, 122). Gingivitisli bireylerde DOS'dan elde edilen örneklerle yapılan çalışmalarda da sağlıklı bireylere göre RANKL/OPG oranının arttığı rapor edilmiştir (120, 123).

Başka bir çalışmada periodontitisli bireylerde dokulardaki RANKL/OPG oranının sağlıklı ve gingivitisli bireylere göre belirgin derecede artış gösterdiği ifade edilmiştir (119). Klinik ataçman kaybı ve periodontal cep derinliği ile RANKL/OPG oranı korelasyonunun incelendiği diğer bir çalışmada ise RANKL/OPG oranı ve periodontal hastalığın klinik parametreleri arasında pozitif korelasyon rapor edilmiştir (119). Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar hayvan ve laboratuvar çalışmalarında da elde edilmiştir. RANKL/OPG oranının dental biyofilme maruz bırakılan pulpa hücrelerinde arttığı rapor edilmiş, benzer şekilde hayvan çalışmalarında da dokudaki RANKL/OPG oranı artışının periodontal doku yıkımını arttırdığı tespit edilmiştir (121, 124).

Sonuç olarak son dönemlerdeki çalışmalar, periodontal dokularda meydana gelen RANKL/OPG oran artışının periodontal hastalıklar için diagnostik bir öneminin olabileceğini göstermektedir (66). Bu nedenle periodontitis gibi RANKL'in fazla salındığı hastalıklarda RANKL'in baskılanmasının yeni tedavi seçenekleri arasında olabileceği vurgulanmaktadır (108) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. RANK / RANKL / OPG mekanizması ve periodontal kemik yıkımı (108).

## 2.8. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Reaktif oksijen türleri (ROT), moleküler oksijenden köken alan bir dizi aktif kimyasal molekül grubu olup, çeşitli hücrel mekanizmaların düzenlenmesinde sinyal molekülleri olarak görev yaparlar. Reaktif oksijen türlerinin en önemli etkisi oksidatif stres (OS) olarak adlandırılan canlı dokulardaki biyomoleküllerde (DNA ve proteinler gibi) meydana getirdiği zararlıdır. Oksidatif stres, ROT ve ROT'nin zararlı etkilerini baskılayan antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanır. Bozulan bu denge artrit, respiratuar distres sendromu, kalp krizi, inme, parkinson, alkolizm, vasküler hastalıklar, tip-2 diyabet ve periodontal hastalıklar gibi pek çok hastalığın patogeneğinde yer alır. Vücut hücrelerinin fizyolojik fonsiyonlarına bağlı olarak günlük 1-3 milyon kadar ROT üretilmesi, antioksidan savunma sisteminin sağlık için ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (74, 125, 126).

Reaktif oksijen türlerinin üretimi oksijen metabolizması ile ilgilidir. Reaktif oksijen türleri çok çeşitli kaynaklardan oluşabilmektedir. Tüm memeli hücreleri ROT üretebilmektedir. Ultraviyole ışınlar, X-gama ışınları ve ilaçlar dış çevre kökenli ROT kaynaklarıdır (127). Doğal yolla ROT, mitokondrilerin fonksiyonu, PMNL'nin aktivasyonu ve oksidasyon mekanizması sonucunda oluşmaktadır (127, 128). Sigara ve kronik aşırı egzersiz gibi alışkanlıklar ROT'nin üretimini arttırarak oksidatif hasara katkıda bulunur (127).

Reaktif oksijen türleri serbest oksijen radikalleri ve radikal olmayan bileşikler olmak üzere iki kategoride değerlendirilebilir. Serbest oksijen radikalleri bağımsız halde bulunabilen, bir yada daha fazla eşlenmemiş elektronu olan çeşitli kimyasal moleküllerdir. En çok bilinen serbest oksijen radikalleri, hidroksil radikali (OH), NO ve süperoksittir ( $O^{2-}$ ). Hidroksil radikali doğada oldukça reaktiftir. Radikal olmayan ROT ise hidrojen peroksit içeren moleküller olarak ifade edilebilir. Bu moleküllerin çoğu DNA gibi hücrel makromoleküllerle reaksiyona girerek hücrel düzeyde önemli hasarlar meydana getirir (125).

### **2.8.1. Enflamatuvar Periodontal Hastalıklarda PMNL ve ROT'nin Üretimi**

Periodontal dokulardaki enflamatuvar cevapta patojenik bakterilere karşı PMNL, konak cevabının birincil hücreleridir. Enflamatuvar periodontal hastalık sırasında PMNL, patojenik bakterileri fagozite ederken ROT'nin de dahil olduğu bir dizi antimikrobiyal üretebilmektedir. Böylece periodontal dokularda patojenik bakterilerin uyarımı ile büyük miktarda ROT üretilir ve salınır (127, 129).

Periodontal hastalıklardaki doku yıkımı enflamasyonlu dokularda artan ROT'den kaynaklanmaktadır (127, 129, 130). Periodontal dokularda artan ROT oksidatif hasarın artmasına neden olur. Reaktif oksijen türleri, ekstrasellüler matriks bileşenlerinin yıkılmasında, lipid peroksidasyonunda, protein denaturasyonunda, anti proteinazlar gibi enzimlerin okside edilmesinde, epitel hücrelerinin apoptozisinde, proenflamatuvar sitokinlerin aktive edilmesinde ve DNA hasarında yer alarak periodontal doku yıkımına neden olur (127, 129). Bu yüzden OS periodontal hastalık için bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (129, 131).

### **2.8.2. Enflamatuvar Periodontal Hastalıklarda Myeloperoksidaz (MPO) Enzimi ve PMNL Akümülayonu**

Patojenleri ekstrasellüler enzimleri ile öldürebilen nötrofiller, periodontal dokuların korunmasında doğal ve adaptif bağışıklık sistemi için vazgeçilmez immün sistem hücreleridir. Nötrofiller, antimikrobiyal fonksiyonlarını sahip oldukları güçlü salgılama kapasitesi (ROT ile bakteriosidal proteinler) ve patojenleri fagosite edebilme yetenekleri ile yerine getirir (128).

Nötrofiller, antimikrobiyal fonksiyonlarını granüllerinde ürettiği ROT ve bakteriosidal proteinlerle meydana getirir. Granüller, nötrofillerin hücresel farklılaşması sırasında üretilir ve depolama için kullanılır. İnsan nötrofil granülleri fonksiyon ve enzim içeriklerine göre temel olarak üç gruba ayrılmıştır. Bunlar azurofilik, spesifik ve küçük depolama granülleridir. Bu granüllerin görevi sadece enzim üretmek değil, aynı zamanda bakterilerin yok edilmesi, enflamatuvar cevap gibi pek çok patolojik ve fizyolojik süreçte içeriklerini salgılamaktır (132).

Myeloperoksidaz (MPO), nötrofillerin azurofilik granüllerinde üretilen ve bakteri ve ürünlerinin nötrofilleri uyarılmasıyla hücrelerarası ortama salınan bir enzimdir. Myeloperoksidaz nötrofil akümülyasyonunun bir belirteci olarak kullanılır ve enflamasyonlu bölgelerde artış göstermektedir (133).

Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve klorit ile birlikte nötrofillerin en önemli antibakteriyel aktivitesini oluşturur, antibakteriyel etkinliğini hidrojenperoksiti ( $H_2O_2$ ) bakterisidal ve aynı zamanda DNA hasarı oluşturabilen hipokloröz aside dönüştürerek gösterir. Dokuda MPO aktivitesi ile OS seviyesi doğru orantılıdır. Hipokloröz asit oldukça reaktif ve pek çok molekülü okside edebilme kapasitesine sahip bir moleküldür (134, 135).

Klinik çalışmalar periodontal hastalıklı bireylerde MPO'nun periodonsiyumda arttığını göstermektedir (132). Periodontitisin şiddeti ile doğru orantılı olarak DOS'da MPO seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (74, 134, 136, 137). Myeloperoksidaz ve periodontal hastalık aktivitesi arasındaki anlamlı ilişkinin rapor edildiği hayvan çalışmaları da yapılmıştır (9, 121, 133, 138, 139).

Myeloperoksidaz, nötrofil akümülyasyonunun ve periodontal doku yıkımının bir göstergesi olmasının yanında proteaz aktivitesine de önemli katkıları olan bir enzimdir (134). Ayrıca bu mediyatör anti-proteinazları baskılayarak proteinazların aktive olmasına doğrudan katkı sağlar ve bağ dokusu yıkımında görev alır (133). İn vitro çalışmalarda MPO'nun latent formdaki MMP-8 ve MMP-9'u aktive ettiği ve TIMP'ları da baskıladığı gösterilmiştir (140). Klinik bir çalışmada kronik periodontitisli bireylerde DOS'da sağlıklı bireylere göre artan MMP-8, MMP-9 ve MPO miktarı ve bu enzimler arasında yakın ilişki rapor edilmiştir. Bu çalışmada periodontitisli bireylerde DOS'da MMP-8, MMP-9 ve MPO'nun sağlıklı bireylere göre daha fazla olduğu, periodontal tedaviden sonra da DOS'da MPO ile birlikte MMP-8 ve MMP-9 seviyelerinde düşüş izlendiği ifade edilmiştir (141).

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak MPO'nun periodontal hastalık şiddetinin, OS'nin ve nötrofil akümülyasyonunun bir belirteci olarak kullanılabileceği söylenilebilir.

## 2.9. Sistemik Enflamasyon ve Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar

Periodontal patojenler lokal / sistemik immün ve enflamatuvar cevabı başlatarak periodontal doku yıkımına neden olur. Periodontal doku yıkımında görev alan sitokinler ve mediyatörler aynı zamanda sistemik akut faz cevabını da meydana getirir (142, 143). Akut faz cevabı periodontal enfeksiyona karşı doğal bağışıklık sisteminin aktivitesi ile oluşur ve periodontal enfeksiyonun sistemik enfeksiyonla ilişkisini açıklar (143).

Periodontal hastalık ve sistemik enfeksiyon arasındaki ilişki incelendiğinde, konak cevabının sadece periodontal doku yıkımına neden olmadığı bununla birlikte lokal periodontal enfeksiyonun sistemik enfeksiyona da neden olduğu ortaya çıkmaktadır (144). Enflamasyonlu ve ülser cep epitelinden köken alan bakterilerin, dolaşıma katılarak bakteriyemiye neden olduğu ve enfeksiyonun daha uzak dokulara taşınabildiği de bilinen bir gerçektir (145). Son dönemlerde sağlıklı bireylere göre periodontal enfeksiyon bulunan bireylerde sistemik enflamasyonun artış gösterdiği, buna paralel çeşitli serum enflamatuvar belirteçlerinde de artış meydana geldiği belirtilmektedir (146). Güncel bilgiler, kronik enflamatuvar periodontal hastalıkların kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, respiratuvar hastalıklar ve düşük doğum ağırlığı gibi hastalıklar için bir risk faktörü olabileceği yönündedir (147).

Akut faz proteinleri doğal bağışıklık sisteminin bir parçasıdır. Bu reaktifler, sistemik enflamasyonun bir göstergesidir ve periodontal hastalıklarda artış gösterir. Akut faz proteinleri, pro-enflamatuvar özellikleri ile komplement faktörlerin aktive edilmesinde, invaziv patojenlerin yok edilmesinde, çeşitli dokuların yapım ve tamir sürecinde görev alır. Akut faz proteinleri arasında en dikkati çekenler, C reaktif protein (CRP), plazminojen aktivatör-1 ve fibrinojendir (143).

### 2.9.1. Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar ve CRP

C reaktif protein, karaciğer hücreleri tarafından sentezlenen ve akut faz proteini olarak adlandırılan, enfeksiyon ve enflamasyon varlığında artan ve sistemik enflamasyonun belirlenmesinde kullanılabilen değerli bir belirteçtir, aynı zamanda doğal bağışıklık cevabının bir belirtecidir (143, 144).



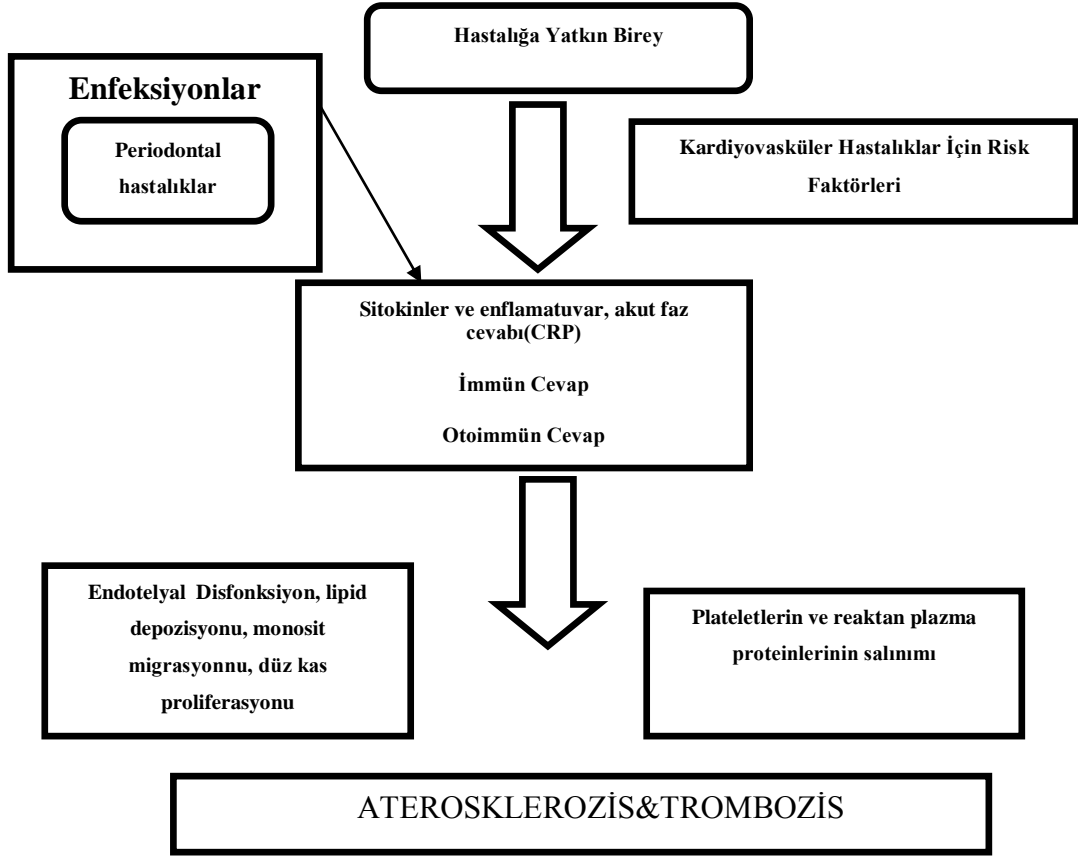
C reaktif protein, sistemik enflamasyonun belirlenmesinde en çok kullanılan mediyatördür. C reaktif protein, konsantrasyonu akut doku yaralanmaları ve enflamasyon sonrası 4-6 saat gibi kısa sürede yükselirken, enflamasyonun çözülmesi ile hızlı bir şekilde azalır. Sağlıklı bireylerde normal CRP oranı 3mg/L den küçüktür. Düşük dereceli enflamasyon CRP miktarında 3-10 mg/L aralığında küçük bir değişim meydana getirir. C reaktif proteinin 10 mg/L den büyük olduğu durumlarda altta yatan neden daha ciddi enflamatuvar bir rahatsızlıktır. C reaktif proteinin majör kaynağı IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi mediyatörler tarafından uyarılan hepatositlerdir. Bunun dışında endotelyumun aterosklerotik plakları, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından da CRP üretilmektedir (147, 148).

Enflamatuvar periodontal hastalıkların patogeneğinde yer alan sitokinler sistemik akut faz cevabına da neden olur (142, 149). Sistemik enflamasyon ve periodontal hastalıkların birbiri ile ilişkisinin incelendiği çeşitli çalışmalarda periodontal enfeksiyonun artışına paralel olarak artan serum CRP düzeyi üzerinde durulmaktadır (143, 146). Periodontal hastalığın şiddeti ile serum CRP seviyesinin paralellik gösterdiği sadece klinik çalışmalarda değil epidemiyolojik çalışmalarda da bildirilmiştir (142, 150, 151). Aynı zamanda, Noack ve ark. (142) subgingival patojen bakterilerin varlığı ve serum CRP seviyesinin artışı arasında güçlü bir ilişki tespit etmişlerdir. Bu çalışmada Noack ve ark. (142) patojen pozitif bireylerde serum CRP seviyesini patojen negatif bireylere göre belirgin derecede yüksek bulmuşlardır.

Periodontal ve kardiyovasküler hastalıklar ilişkisinde patojen ağız bakterilerinin kandaki plateletlerin çökmesini sağlayarak meydana getirdiği tromboembolik etki üzerinde durulmaktadır. C reaktif proteinin monositler ve makrofajlardan doku faktörlerinin üretilmesini sağlayarak kandaki pıhtılaşmayı arttırdığı da bilinmektedir (152). Serumunda artan CRP, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür (147, 148). Bu açıdan periodontal hastalıklardaki doku yıkım seviyesi ve serum CRP miktarının doğru orantılı olduğunu belirten çalışmaların sonuçları, periodontal hastalıkların kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir (148) (Şekil 2.4).

Tüm bu veriler doğrultusunda serum CRP değerinin sistemik enflamasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilebileceği, bununla birlikte periodontal hastalığın

bir göstergesi olduğu, periodontal enfeksiyonun ve yıkımın şiddeti ile de arttığı ifade edilebilir.



Şekil 2.4. Periodontal hastalık ve sistemik enflamasyon-kardiyovasküler hastalık ilişkisi (153).

## 2.10.Konak Modülasyonu

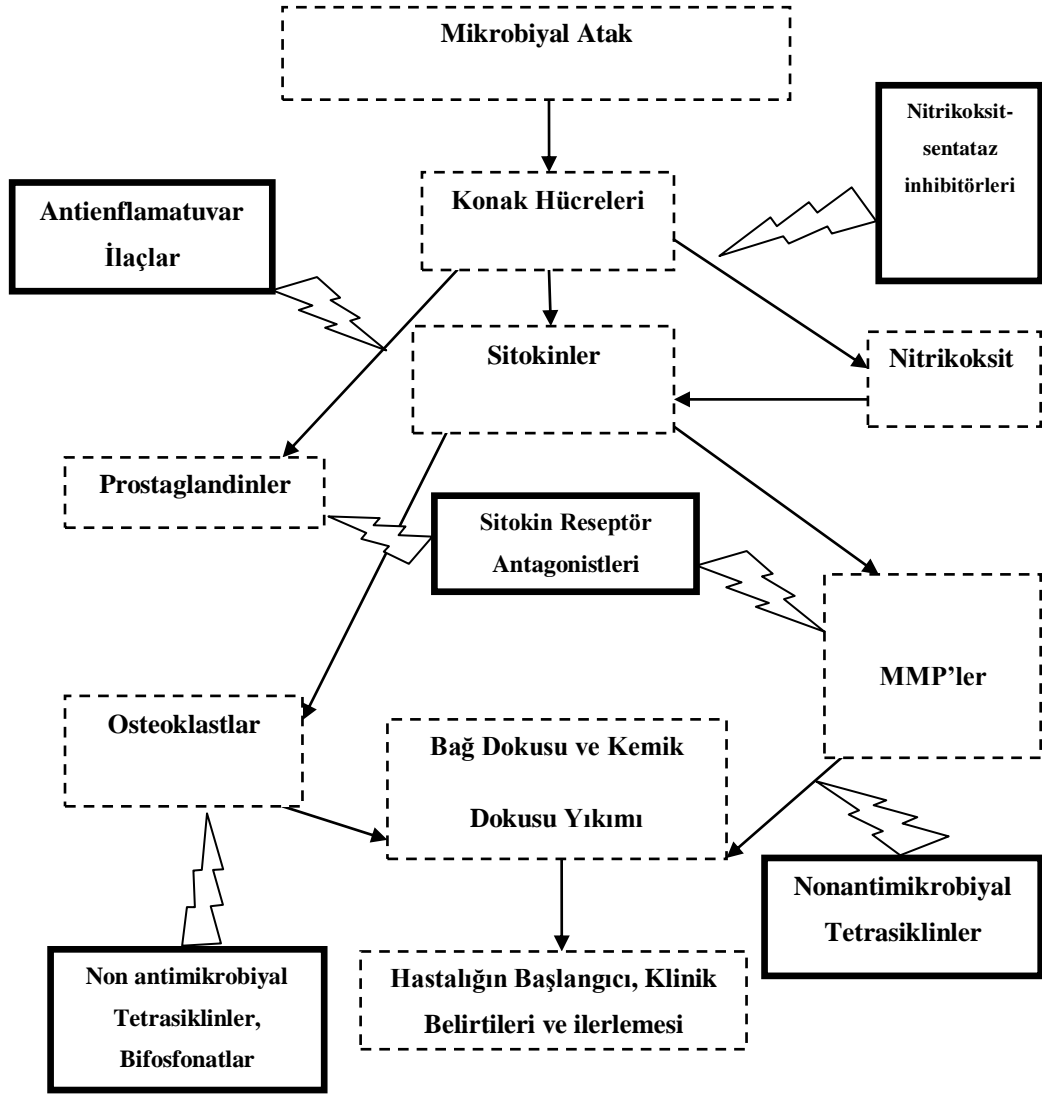
Dental plaktaki patojen mikroorganizmalar, periodontal hastalıkların etyolojik faktörüdür. Bunun yanında bu patojen bakteriler ve ürünlerine karşı konağın verdiği immünoenflamatuvar cevap, periodontal doku yıkımını meydana getirir. Periodontal hastalıklarda her birey, patojen bakterilere karşı aynı konak cevabını göstermez. Konak cevabı; çevresel, kazanılmış (sigara, diyabet) ve genetik (IL-1 gen

polimorfizmi) faktörler tarafından değiştirilebilmektedir. Bunun sonucunda bazı bireylerde periodontal patojenlere karşı aşırı konak cevabıyla şiddetli doku yıkımı görülürken, bazı bireylerde ise daha az doku yıkımı görülür (2, 154).

Konak cevabının doku yıkımındaki rolü, son dönemlerde geleneksel periodontal tedavinin yanında araştırmacıları, konak modülasyonu adı verilen; hastalığa yatkın bireylerin patojen bakterilere karşı cevabını değiştirerek, doku yıkımını azaltacak ve önleyecek yöntem veya materyalleri araştırmaya yöneltmiştir (6). Konak modülasyonunun asıl amacı, hastalığa yatkın bireylerde doku yıkımının ana nedeni olan proenflamatuvar (yıkıcı) mediyatörler ve antienflamatuvar (koruyucu) mediyatörler arasındaki bozulan dengenin antienflamatuvar mediyatörler lehine düzenlenmesidir (5). Bu güne kadar konak cevabını değiştirebilecek çeşitli materyaller üzerinde çalışılmıştır (6).

Konak modülasyonunda kullanılan materyaller, genel olarak antiproteinaz-antikollajenaz etkisiyle tetrasiklinler, sitokin ve prostaglandinleri inhibe etme etkisiyle antienflamatuvar ilaçlar, bifosfonatlar, mine matrix proteinleri, büyüme faktörleri, kemik morfogenetik proteinler ve antioksidanlardır (5, 7-10). Ayrıca TNF antagonisti gibi RANK/RANKL/OPG mekanizmasını durduran materyaller, mouse anti-insan IL-6 reseptör antibody gibi materyaller insan çalışmalarında, NO sentez inhibitörleri, rekombinant insan IL-11, omega-3 yağ asidi gibi materyaller hayvan çalışmalarında, nükleer faktör kappa- $\beta$  (Nf $\kappa$ - $\beta$ ) ailesi inhibitörleri ve mitojen aktive edilmiş protein kinaz gibi hücre sinyal yolağını durduran materyaller de hücre kültürü çalışmalarında konak modülasyonu açısından değerlendirilmiştir (7) (Şekil 2.5).

Periodontal hastalıkların patogenezinde konak modülasyonu açısından bu güne kadar çeşitli materyaller araştırılmış olsa da günümüzde Amerikan Gıda ve İlaç dairesi tarafından düşük doz doksisisiklin ve mine matriks türevleri dışında klinik kullanımına izin verilmiş başka bir materyal bulunmamaktadır. Konak modülasyonu için kullanılacak materyaller üzerinde çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 2.5. Konak modülasyonunda kullanılan materyaller (153).

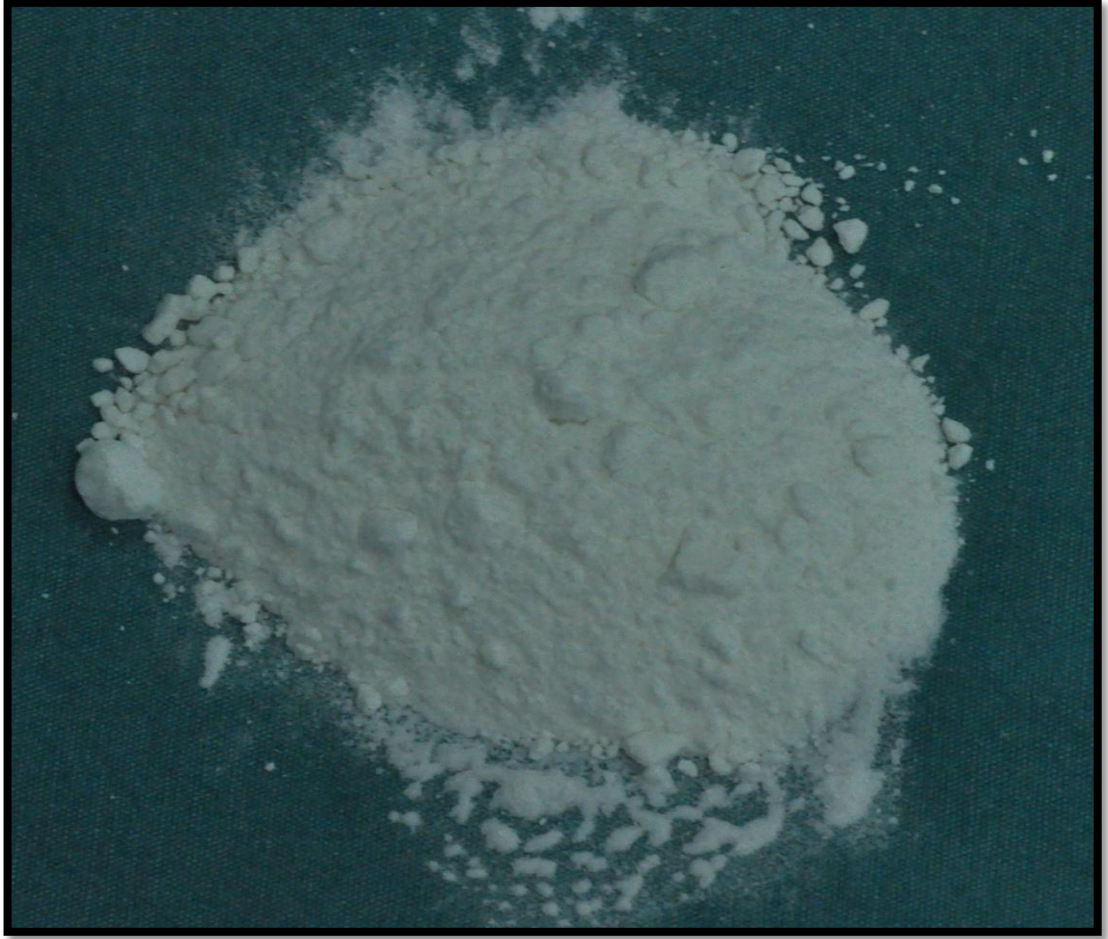
## 2.11.Arjinin Silikat İnositol Kompleks

Periodontal hastalıkların önlenmesinde konak modülasyonu için yan etkisi bulunmayan, klinikte rutin olarak kullanılabilir doğal veya sentetik materyaller araştırılmaya devam etmektedir. Lokal veya sistemik olarak kullanıldığında periodontal dokuların sağlığını etkileyebilecek materyaller bu açıdan incelenebilir.

Arjinin silikat inositol kompleks; kemik mineral yoğunluğunu ve vasküler dokuların kollajen miktarını arttıran, biyoyararlanımı yüksek bir bileşimdir. Arjinin

(49,47 %), silikat (8,2 %) ve inositol (25 %) bileşenlerinden oluşmaktadır. Arjinin silikat inositol kompleksin patent çalışmaları Amerika Birleşik Devletlerinde yapılmıştır. Nutrition 21, Inc.(New York) şirketi tarafından patenti alınmıştır (Juturu. ve arkadaşları. Patent no: US,7,576,132 B2. Patent tarihi:18.08.2009). Fabrika şartlarında, toz şeklinde, sentetik olarak üretilen bir materyaldir (13, 14, 43) (Şekil 2.6). Araştırmacılar ASİ kompleksin ratlarda ağız yoluyla verilerek 8 haftalık sürede herhangi bir yan etki göstermediğini bildirmiştir (14, 155). Juturu ve Komorovski'nin 3 ayrı genotoksisite çalışmalarında da ASİ kompleksinin mutajenik özellik göstermediği rapor edilmiştir (155-157).

Arjinin silikat inositol kompleks hakkında yapılan çalışmalarda bu materyalin kemik mineral dansitesini ve vasküler sistem fonksiyonları arttırabileceği ortaya konulmuştur (11-14). Özellikle diyabetik deneklerde vasküler sistem fonksiyonlarını arttırması dikkat çekicidir (12). Arjinin silikat inositol kompleksin bu özelliği; arjinin ile silikonun bağ, kemik, kıkırdak ve vasküler dokulara etkilerinden kaynaklanmaktadır (11-14). Mineraller ve besinler arasındaki etkileşim diğer besinlerin biyolojik olarak kullanılabilirliğini belirleyen unsurdur (14). Arjinin ve silikon ASİ kompleksin kemik ve bağ dokusu üzerindeki iyileşmeyi arttırıcı etkilerinin temel unsurları olabilir. İnositol ise arjinin ve silikon arasında bağlayıcı görevi yapar (43).



Şekil 2.6. ASİ Kompleks

Arjinin fizyolojik sıvılarda yer alan temel aminoasittir. İnsan ve memelilerde glutamin, glutamat ve prolinden sentezlenir. Arjininin yıkımı arjinaz, nitrik oksit sentetaz (NOS), amidinotransferaz ve arjinin dekarboksilazla başlayan çeşitli yollarla gerçekleşmektedir. Bu yıkım mekanizmaları ile yaşam için büyük önemi olan NO, polyamin, prolin, glutamat, kreatin ve agmatin gibi moleküller üretilmektedir. Arjinin, aynı zamanda merkezi sinir sistemi için oldukça zararlı olan amonyağın detoksifikasyonunda da rol alır (15).

Arjinin, çeşitli hormonların salgılanması, hücre proliferasyonu, nörotransmisyon, vazodilatasyon, kalsiyumun serbestlenmesi, immün cevap, enflamasyon, yara iyileşmesi sırasında kollajen sentezi ve tümör biyolojisi gibi yaşamsal olaylara katılan bir aminoasittir. Arjinin, vasküler hemostas,

nörotransmisyon, immün regülasyon ve konak cevabında önemli bir sinyal molekülü olan NO'nun prekürsörüdür, immün hücreler ve lenfositlerin normal fonksiyonunu yerine getirebilmeleri için de temel bir moleküldür (158, 159).

Arjinin, pek çok gelişim ve sağlık probleminin tedavisinde kullanılır. Deneysel ve klinik çalışmalar arjininin spermatogeneziz (16), embriyonik sağkalım (17), fetal ve neonatal büyüme (17, 160), vasküler tonus ve hemodinamiğin sağlanması (18, 161) için besinle alınması gereken temel amino asit olduğunu rapor etmektedir. Bunun yanı sıra arjinin desteğinin yara iyileşmesini hızlandırması, insülin duyarlılığını ve yara doku bütünlüğünü artırması gibi etkilerinden de bahsedilmektedir (19-23). Bunlara ek olarak arjinin; obezite, diyabet ve metabolik sendrom gibi metabolik hastalıkların tedavisi için etkili bir materyaldir. (15, 18-21).

Arjininin vasküler sistemi ilgilendiren kalp hastalıklarında (162), hiperkolesteromi (163), hipertansiyon (164) ve periferel arteriel tıkanıklıklarında (165) kullanıldığını belirten çalışmalar yapılmıştır (166). Klinik çalışmalarda parenteral veya ağız yoluyla arjinin desteğinin vasküler NO sentezini arttırdığı ifade edilmektedir (43). Nitrik oksit, vazodilatatör olarak salınır; antiaterosklerotik, antitrombotik ve antioksidan olarak görev yapar. Endotel hücrelerinden üretilen NO yetersizliği ise ateroskleroz, diyabet ve hipertansiyonun patogeneğinde önemli rol alır. Yapılan bir çalışmada hiperkolestromik genç bireylerde ağız yoluyla arjinin desteği ile artan NO sentezinin, damar endotellerinde gevşeme sağladığı görülmüştür (43).

Arjinin, kollajen sentezinde yer alan substratlar polyamin ve prolin ile birlikte büyüme hormonu ve İBBF sentezinde de görev alır (13). Arjinin, yara iyileşmesini hızlandıran en önemli aminoasittir (22). Diyetle arjinin desteğinin yara iyileşmesinde kollajen depozisyonunu artırdığını rapor eden insan ve hayvan çalışmaları yapılmıştır (22, 167). Özellikle arjinin desteğinin diyabetik böbrek hastalarında ayak yaralarında iyileşmeyi hızlandırması dikkat çekicidir (22).

Arjinin; metabolik kalsiyum emilimi bozukluğu, raşitizm, osteomalazi, kemik defektlerinin tedavisi, dekalsifikasyon, kemik kırıkları, osteoporoz gibi kemik dokusunu ilgilendiren olgularda da kullanılmaktadır (13, 24, 25).

Araştırmacılar, osteoporotik hastalarda arjinin desteğinin kemik mineral yoğunluğunda artışla sonuçlandığı belirtmişlerdir (24, 25). Hayvan çalışmalarında da osteopenik ve osteoporotik ratlarda diyetle arjinin desteğinin kemik mineral yoğunluğunda artışla sonuçlandığı bildirilmiştir (26, 27). Başka bir çalışmada araştırmacılar tavşanlarda fibula kemiğinde oluşturulan kırığın iyileşmesinde arjinin desteğinin iyileşmeyi hızlandırdığını rapor etmişlerdir (28). İnsan osteoblastlarında yapılan bir çalışmada kemik yapım belirteçleri olan ALP, NO, tip 1 kollajen ve İBBF gibi belirteçlerin arjinin ile arttığı bildirilmiştir (29).

Araştırmacılar, arjininin kemik dokusundaki bu etkilerinin onun hücre proliferasyon mekanizmasına doğrudan etkisi ile ilgili olduğunu belirtmektedir (29). Bunun yanında arjinin matris sentezinde etkileri olan NO, tip 1 kollajen, ALP, İBBF gibi belirteçlerin üretimini arttırarak da kemik dokuya etki eder. Ayrıca araştırmacılar, arjininin son dönemlerde sadece osteoporoz ve kırık iyileşmesi değil aynı zamanda steroid tedavisi nedeniyle meydana gelen osteopenide de kullanılabileceğini düşünmektedir (29).

Silikon, yer kürede en çok bulunan ikinci elementtir. Doğada oksijene yatkınlığından dolayı büyük çoğunlukla silika ve silikat mineralleri halinde bulunur (30). İnsan vücudunda silikon; demir ve çinkodan sonra en çok bulunan üçüncü iz elementtir, özellikle kemik, deri ve kan damarlarındaki kollajen ile yakından ilgilidir. Silikon, ağırlıklı olarak bitkisel besinlerden sağlanır ve genel olarak ortosilisilik asit formunda gastrointestinal sistemde kolayca yıkılır ve emilir. Silikonun, büyük kısmı böbrek yoluyla atılırken geri kalan kısmı dokular tarafından tutulmaktadır tahıl ürünleri ve bazı mineral suları önemli silikon kaynağıdır (30, 168).

1970'li yıllardan günümüze yapılan çalışmalar, silikonun kemik oluşumunu ve KMD'ni arttırdığını rapor etmektedir. Kesitsel epidemiyolojik çalışmalar, kemik mineral dansitesinin diyetle silikon alımı ile birlikte arttığını ifade etmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan diğer çalışmalarda diyetle silikon alımı arttıkça erkeklerde, menapoz öncesi ve menapoz sonrası kadınlarda iliyak ve omurga kemik mineral dansitesinlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir (30, 31). Osteoporotik deneklerde yapılan klinik çalışmalarda ağız yoluyla silikonun bir formu olan monometil trislanol desteğinin trabeküler kemik hacminde artış meydana getirdiği,



benzer şekilde kas içi verildiğinde femur ve lumbar vertebra KMD artışla sonuçlandırıldığı ifade edilmektedir. Kas içi silikon desteğinin femur KMD’de kemik yıkımını inhibe eden sodyum florid ve etidronatdan daha etkili olduğu rapor edilmiştir (30, 169, 170). Benzer sonuçlar osteopenik ve osteoporotik bayanlarda yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Araştırmacılar silikonun bir formu olan ortosilisilik asidi ağız yoluyla çeşitli dozlarda uygulamışlardır. Doza bağımlı olarak serumda; özellikle tip-1 kollajen sentezi ile ilgili bir belirteç olan prokollajen tip-1 N terminal telopeptid gibi, kemik yapım belirteçlerinde artış tespit edilmiştir. Aynı çalışmada femur KMD artışının orta düzeyde silikon desteğinin verildiği deneklerde meydana geldiği ifade edilmiştir (30).

Literatürde insanlar üzerinde silikon yetersizliği ile ilgili çalışmalara rastlanılmamaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda silikon eksikliğinin iskeletsel anomaliler ve defektlerle sonuçlandırıldığı ifade edilmektedir. Kanatlı hayvanlarda silikon eksikliği ile birlikte bacak-gagada zayıflık, incelme, daha esnek bir hal alma ve kolay kırılabilirlik görülmektedir (30). Rat çalışmalarında silikon eksikliği ile birlikte kafa kemiği, kesici dişlerde defektler ve bozulmalar görülmüştür. Ratlarda silikon eksikliğinin KMD, kemik mineral içeriği, kollajen sentezinde azalma ve kollajen yıkımında artma ile birlikte seyrettiğini ifade eden çeşitli çalışmalar da literatürde bulunmaktadır (32, 33). Ovariyektomi uygulanan ratlarda, silikon veya ortosilisilik asit desteğinin kemik rezorpsiyonunu azalttığını, kemik yapımını ve kemik mineral içeriğini ise arttırdığını ifade eden deneysel çalışmalar bulunmaktadır (30, 34, 35, 171).

Silikon ve kemik metabolizması arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik in-vitro düzeyde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Kanatlı hayvan embriyosundan alınan tibia epifizi ve kondrositlerinde silikonun kemik matriksi ve kollajen sentezini arttırdığı ortaya konulmuştur. Son dönemlerde insan osteoblastları üzerinde yapılan çalışmalarda silikonun bir formu olan zeolitin etkisi araştırılmış; osteoblastik proliferasyonda, ALP aktivitesinde, ekstrasellüler matriks ve osteokalsin sentezinde artış meydana geldiği ifade edilmiştir. Ortosilisilik asitle ilgili yapılan hücrel çalışmalarında, ortosilisilik asitin kullanıldığı grupta tip 1 kollajen sentezi, hücrel farklılaşma ve ALP-osteokalsin gibi kemik yapım belirteçlerinin sentezinde artış

görülmüştür (37). Doku ve hücre kültürü çalışmaları, silikonun matris sentezi ve osteoblast farklılaşmasındaki etkileri ile kemik formasyonunda yer aldığını ifade etmektedir (30, 38).

Araştırmacılar, silikonla desteklenmiş implant ve seramiklerde silikon içermeyen kontrol gruplarına göre daha iyi kemik bağlantısı göstermişlerdir. İmplant ve seramiklerde çözünerek amorf bir tabaka oluşturan silikonun, osteoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını arttıran tip 1 kollajen sentezini ve kemik mineralizasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (172, 173).

İnsanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda diyetle silikon alımının koroner kalp hastalığı riskini azalttığı bildirilmektedir (43, 174, 175). Hayvan çalışmalarında çeşitli silikon türlerinin ağız yoluyla verildiğinde sadece kemik ve kıkırdak dokusu değil, vasküler dokuların sağlığını da olumlu etkilediği ifade edilmektedir (175, 176). Tavşanlarda yapılan çalışmada kolesterolle indüklenen ateroskleroz modelinde oral veya parenteral yolla verilen silikonun aterosklerozu inhibe ettiği gösterilmiştir (176). Enjekte edilebilen veya besin olarak alınabilen çeşitli silikon türlerinin aterosklerozda görülen intima tabakası kalınlaşmasını ve damarların elastik fibrillerin parçalanmasını önlediği ortaya koyulmuştur (43, 176, 177).

İnositol arjinin ve silikatın sıvı bir karışım haline gelmesinde etkilidir. Arjinin ve silikat, inositol yokluğunda sıvı bir karışım meydana getiremez. İnositolün bu çözücü etkisi ile arjinin ve silikat biyoyararlanımlı bir kompleks oluşturabilirler (43). İnositol, altı karbonlu basit bir karbonhidrattır. Temel besin maddelerindedir ve vitamin B ailesinin bir üyesidir (178). Doğada en çok myo-, chiro-, epi- ve siklo inositol halinde bulunur. Myo-inositol izomeri en çok bulunan şeklidir ve ökaryotik hücrelerin bütününde bulunan bir bileşiktir. Hücre membranı için önemli bir fosfolipid olan aynı zamanda ikincil haberci sistemler için önemli bir molekül olan fosfadilinositolün oluşumunda yer alır. Vücutta santral sinir sisteminde, özellikle beyinde en çok bulunur (39). İnositol bakımından zengin yiyecekler tahıl, baklagiller, fındık, sebze ve meyveler sayılabilir (179).

İnositol serotonine özgü geri alım inhibitörü olarak, depresyon, panik, obsesif kompulstif bozukluklar, otizm, alzheimer, posttavmatik stres bozuklukları, respiratuvar distres sendromu ve lityum kullanımına bağlı yan etkilerin giderilmesi gibi psikiyatrik hastalıkların tedavisinde yan etki oluşturmadan kullanılmaktadır (39, 42).

İnositol, serotonin ve asetilkolin gibi beyindeki bir çok nörotransmitterin uygun çalışması için gerekli bir bileşiktir. Yapılan çalışmalar beyin dokusundaki inositol miktarındaki azalmanın depresyonu başlattığı, hem bipolar hem de unipolar depresif hastalarda beyin omurilik sıvısındaki inositol miktarının azaldığı yönündedir. Psikiyatri çalışmalarında insanlarda günlük 12 gr inositol kullanımının belirgin bir yan etkisi gözlemlenmemiştir. Tüm bu çalışmalarla birlikte inositol analjezik olarak da kullanılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarda inositolün bazı merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarında başarılı bir şekilde kullanımı değerlendirilmiştir (40, 41).

Yapılan çalışmalar, vücutta azalan inositol değeri ile tip-2 diyabet insülin direnci ve poli kistik over sendromu arasında bağlantı olduğu yönündedir (39, 180). İnositol; polyalkol kökenli, insülin duyarlılığını arttıran bir bileşiktir. Metabolik enzimler üzerine ikincil haberci özelliği ile etki eden inositol, insülin benzeri etki göstererek insülin duyarlılığını attırmaktadır. Alfa lipoik asitle kullanıldığında insülin dirençli hastalarda insülin duyarlılığını attıran diyet desteği olarak kullanılmaktadır (180).

Bahsedilen özelliklerinin yanında inositolün fosfatla birleşerek meydana getirdiği fitik asit veya inositol hekzafosfat, son dönemlerde kanser önleyici özelliğiyle dikkatleri üzerine çekmektedir. Fitik asit yani inositol hekzafosfat mısır, soya fasülyesi, buğday kepeği, baklagiller ve fındıkta bulunur. Bu güne kadar buğday kepeğinin antineoplastik kapasitesi üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda buğday kepeğinde bol miktarda bulunan fitik asit, fitat veya inositol hekzafosfatın sahip olduğu potansiyel özelliklerinin bu konuda etkili olduğu ifade edilmektedir. Hayvan çalışmalarında araştırmacılar; inositolün fosfatla birleşerek oluşturduğu fitik asitin ve inositolün göğüs kanseri (181), kolon kanseri (182), karaciğer kanseri (183), prostat kanseri (184) ve deri kanseri (185) gibi kanser türlerinde antineoplastik etki

gösterdiğini rapor etmişlerdir. Fitik asitin yani inositol hegzafosfatın antineoplastik etkisi; onun doğal öldürücü hücrelerin aktivitesini arttırmasından, sinyal iletimini değiştirmesinden, immün cevabı arttırmasından ve antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır (186).

### 2.11.1. Arjinin Silikat İnositol Kompleksin Üretimi

Arjinin silikat inositol kompleks arjinin (serbest bazlı), potasyum silikat ve inositol kombinasyonunun reaksiyonundan oluşmaktadır. Arjinin (3,8 gr, 21,8 mmol) kuvvetlice karıştırılarak inositol ( 1,25 gr, 6,9 mmol) ve potasyum silikata (5ml,29,8° Be, 8,3% K<sub>2</sub>O (0,52 gr, 5,5 mmol), 20,8% SiO<sub>2</sub> (1,3 gr, 21,8 mmol) eklenir, son derece viskos bir süspansiyon elde edilir ( Mol oranları, arjinin/ silikat:1/1, inositolün arjinin ve silikata oranı 1/3). Karışım 95 dereceye kadar ısıtılır. Isıtma ve karıştırma işlemi karışımın homojenize olduğu ve kristalleşmeye başladığı safhada bitirilir.

Karışım oda sıcaklığında bir gece kristalleşmesi için bırakılır. Dağınık halde bulunan kristaller etanolle (5ml) karıştırılır, 30 dakika bekletilir. Kalan kristaller tekrar 5ml etanolle karıştırılarak tamamen kristalleşmesi için oda ısısında bir gün daha bekletilir. Son olarak geriye kalan arjinin silikat inositol kompleks filtrelenerek toplanır, etanolle yıkanır ve vakumla kurutulur. Elde edilen ürün 90 derecede 1 saat süreyle vakumlanır, kütesinin %11,5 ini içindeki suyun uzaklaşmasından dolayı kaybeder. Elemental analizinde: %25,13 C (karbon), %6,24 H (hidrojen), %14,11 N (azot), %8,25 Si (silikon) (%17,68 SiO), %5,4 K (potasyum) bulunur (43).

Silikat, sulu çözeltilerde çözünmez. İnositolün kullanımı arjinin ve silikatın sıvı bir karışım haline gelmesinde etkilidir. İnositolün yokluğunda arjinin ve silikat sıvı bir karışım meydana getiremez. İnositolün bu çözücü etkisi ile arjinin ve silikat maddeleri biyoyararlanımlı bir kompleks oluşturabilirler. İnositol arjinin ve silisilik asit arasındaki hidrojen bağlarını arttırarak bu materyallerden bir sıvı karışım elde edilmesini kolaylaştırır. Mannitol ve sorbitol gibi daha başka polihidroksi bileşimleri de aynı görevi gerçekleştirebilmesine rağmen inositol tercih edilmiştir (43).

Arjinin silikat inositol kompleksin temel etkili materyalleri arjininin ve silikonun kemik mineral dansitesi ve bağ dokusu kollajen miktarını arttırdığını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (11-14). Bununla birlikte ASİ kompleksin periodontal

dokularda meydana getirdiği etkileri hakkında literatürde çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırmanın amacı ASİ kompleks ile beslenen ratlarda deneysel periodontitis oluşturarak bu materyalin periodontal dokulara etkisini biyokimyasal, immünolojik, histopatolojik ve radyolojik metodlarla değerlendirmektir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

İnönü Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan 2013/A-12 Nolu etik kurul onayı (EK) alınan bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2013/88 proje nosu ile desteklendi. Deney ve analiz aşamaları İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ve Bilimsel Teknolojik Araştırma Merkezi ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ve Veteriner Fakültesi Hayvan Beslenme Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 52 adet 8 haftalık sprague dawley dişi rat kullanıldı. Ratlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Tüm ratlara deney süresince aynı şartlar altında bakıldı (12 saat gün ışığı-12 saat karanlık, 25 derece sıcaklık, çeşme suyu, standart yem). Deney süresince tüm hayvanlar havalandırma tertibatı olan odalarda özel kafeslerde barındırıldı.

##### 3.1.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Düzenek

Deneysel düzeneğin hayvan seçimi, beslenme süresi ve beslenme yönteminde Proctor ve ark.'nın (12) yaptığı çalışma esas alındı. Gruplar arası tahmini maksimum fark 105  $\mu\text{m}$ , standart sapma 75  $\mu\text{m}$ , grup sayısı 4,  $\alpha:0.05$ ,  $\beta:0,02$  olarak alındığında her bir grupta en az 13 deneğin gerektiği güç analizi ile hesaplandı. Ağırlıkları ortalama 138 gr olan 8 haftalık dişi 52 sprague dawley rat önce 4 gruba ayrıldı (Tablo 3.1), (Şekil 3.1).

**Konrol Grubu (n=13):** Standart rat (Elazığ Yem Fabrikası) diyetiyle deney süresince beslenerek hiç bir işlemin uygulanmadığı sağlıklı grup.

**Periodontitis Grubu (n=13):** Standart rat diyetiyle 8 hafta süresince beslendikten sonra 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup.

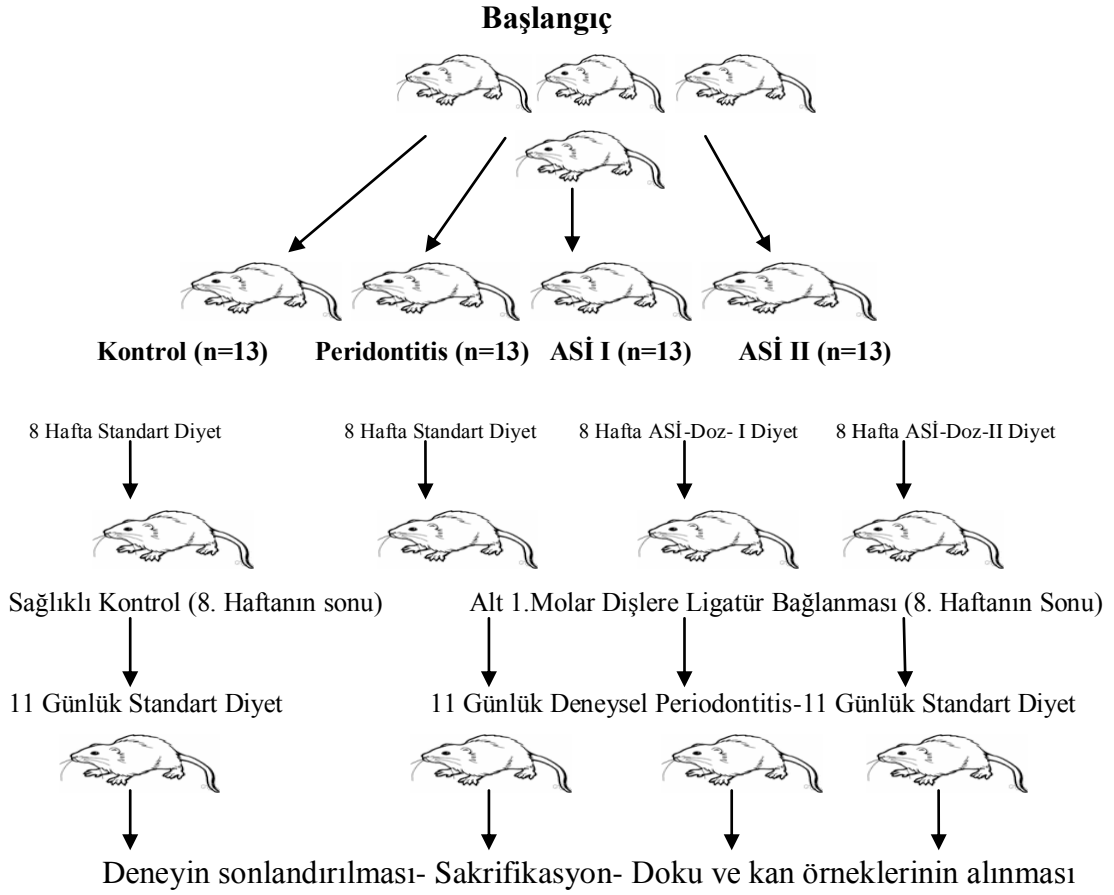
**ASİ I Grubu (n=13):** Arjinin silikat inositol kompleksin Proctor ve ark.'nın çalışmasına uygun olarak 8 hafta boyunca 1,81 gr / kg-yem ölçeğinde standart yeme katılarak verildiği ve 8. haftanın sonunda 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup (12).

**ASİ II Grubu (n=13):** Arjinin silikat inositol kompleksin 8 hafta boyunca 3,62 gr/ kg-yem ölçeğinde standart yeme katılarak verildiği ve 8. haftanın sonunda 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan grup.

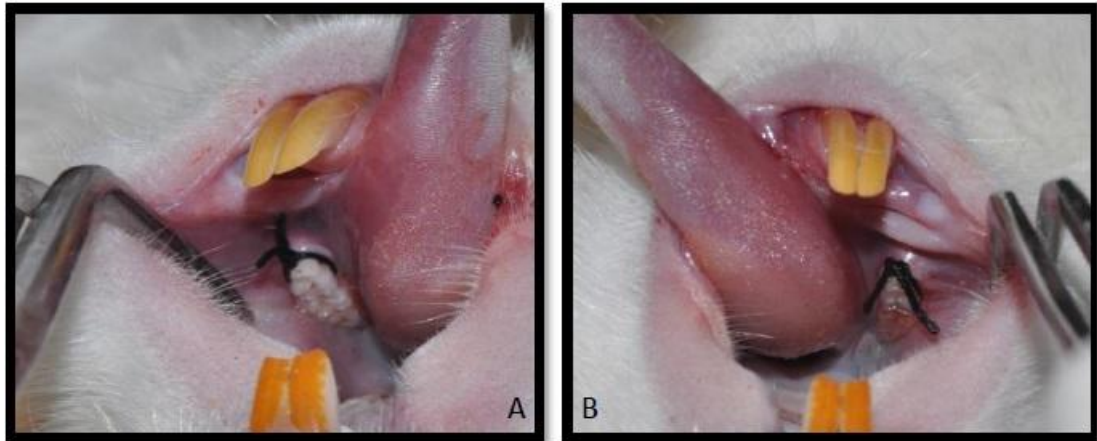
Sekiz haftalık beslenme döneminden sonra periodontitis, ASİ I ve ASİ II gruplarındaki ratlara, insülün enjektörü ile yapılan intraperitoneal enjeksiyonla derin anestezi (Rompun®, 10 mg/kg ve Xylazine®, 40 mg/kg ketamin) sağlandı. Anestezi altındaki ratların deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla her iki alt çene birinci molar dişlerinin etrafına 4-0 ipek sütür dişeti kenarının altında olacak şekilde yerleştirildi ve dişlerin mezialinde düğümlendi (Şekil 3.2 A, B, Şekil 3.3. A, B). Kontrol grubundaki ratlara ise hiçbir işlem uygulanmadı. On bir günlük deneysel periodontitis süresince tüm ratların beslenmesine standart yem ile devam edildi. On birinci günün sonunda tüm ratlar derin anestezi altında sakrifiye edilerek doku ve kan örnekleri alındı (Tablo 3.1), (Şekil 3.1).

Tablo.3.1. Hayvanların Ağırlık Ortalamaları.

<b>Gruplar</b>	<b>Başlangıç (gr)</b>	<b>Sakrifikasyon (gr)</b>
<b>Kontrol (n=13)</b>	137,4	206,8
<b>Periodontitis (n=13)</b>	138,6	205,3
<b>ASİ I (n=13)</b>	135,8	210,1
<b>ASİ II (n=13)</b>	135,1	215,3

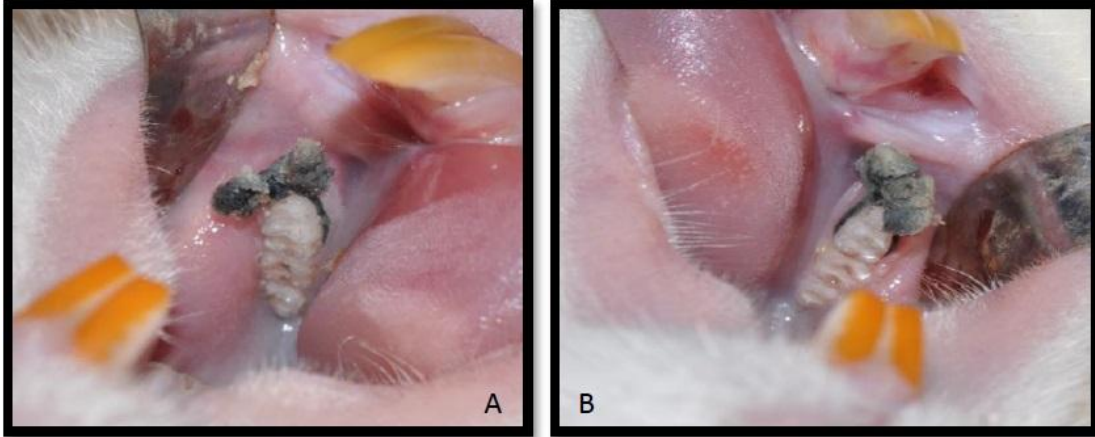


Şekil. 3.1. Deneysel çalışma düzeneği.



Şekil 3.2.A, B. Ratın sol ve sağ alt çene 1.molar dişlerine 4-0 ipek suture bağlandıktan hemen sonraki görüntüleri.





Şekil 3.3.A, B. On bir günlük deneysel periodontitis süresinin sonunda ratın sakrifiye edilmeden önce sol ve sağ alt çene 4-0 ipek suture bağlanan 1.molar dişlerinin görüntüleri.

### 3.2. Kan Örneklerinin Alınması

Derin anestezi altında ratların önce batınları daha sonra göğüs kafesleri cerrahi makasla açılarak kalplerine ulaşıldı. Kalplerinden 10 cc'lik enjektörlerle intrakardiyak olarak kanları alındı (Şekil 3.4). Alınan kanlar 10 ml'lik jelli tüplere konularak 10 dk. süreyle santrifüj edildi (3000 devir/dk) (Şekil 3.5). Kanlar santrifüj edildikten sonra örnekler serum ve plazma olarak ayrıldı. Serum kısımları eppendorf tüplere alınarak analiz gününe kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.



Şekil 3.4. Kan örneklerinin alınması.



Şekil 3.5. Santrifüj cihazı.

### 3.3. Doku Örneklerinin Alınması

Ratların alt çeneleri cerrahi makasla kas ve deri dokularından ayrılarak bir bütün halinde çıkarıldı. Çıkarılan çenelerden kas dokuları ve dilleri cerrahi makasla uzaklaştırıldı (Şekil 3.6, Şekil 3.7). Çeneler önce keser dişler bölgesinden girilerek bistürü ile 2'ye ayrıldı. Ayrılan çenelerden sağ alt çene 1. molar diş etrafındaki dişeti dokusu, dişeti kenarından 3 mm uzaklıkta dişi çevreleyecek şekilde bukkal ve lingualden bistürü ile alındı ve western blot (WB) incelemesi yapılmak üzere eppendorf tüplerde  $-80^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuya kondu (Şekil 3.8, Şekil 3.9) (187). Dişeti dokuları alındıktan sonra sağ alt çene mikro komputerize tomografi (MKT) incelemeleri yapılmak üzere %10' luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

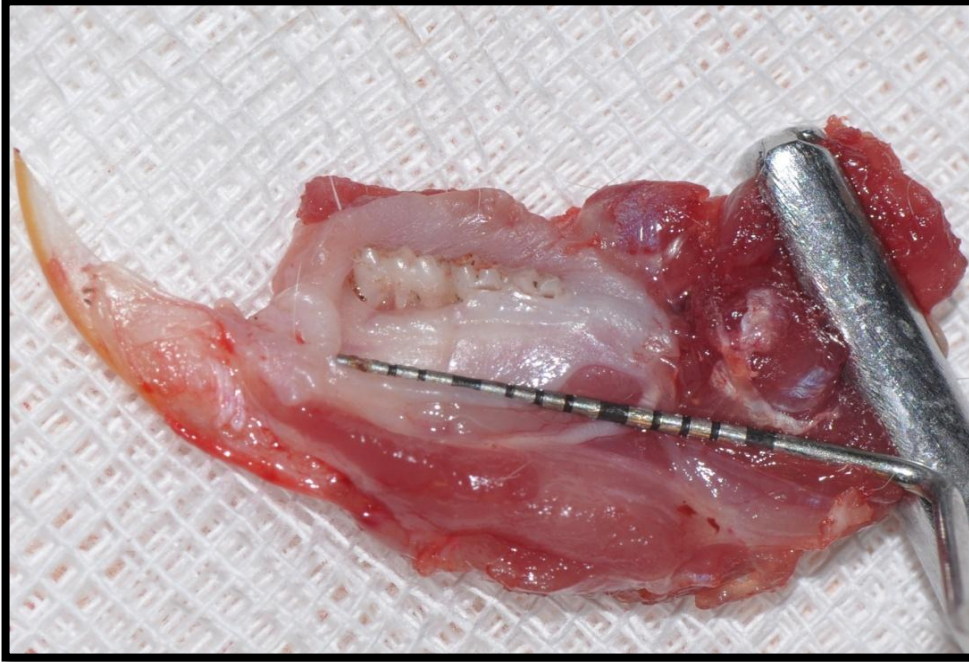


Şekil 3.6. Her iki alt çenenin ipek sütürlü görüntüsü.

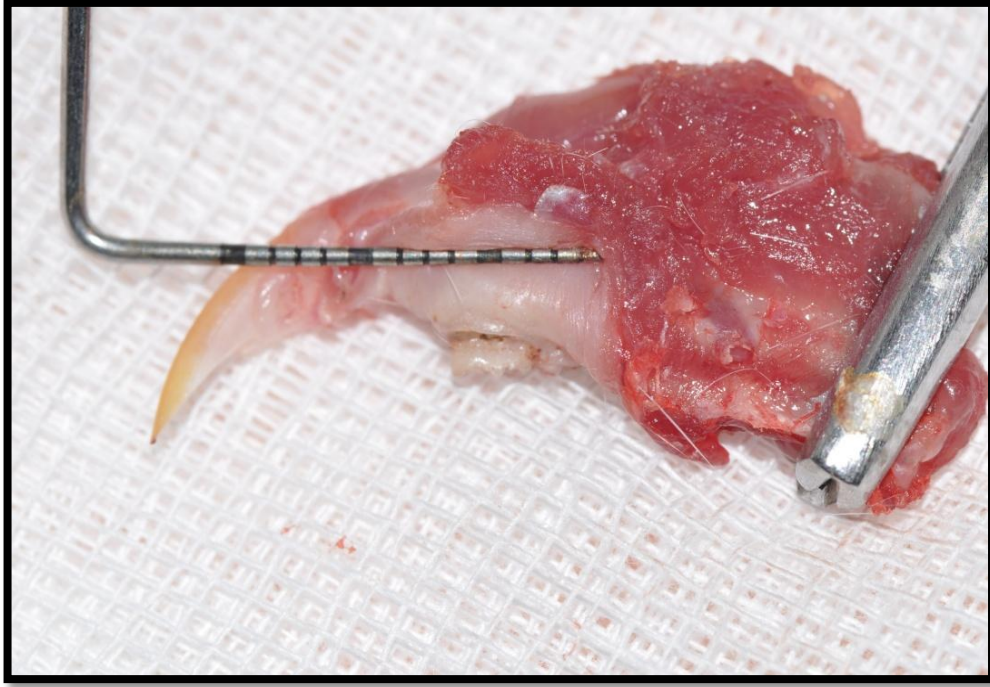




Şekil 3.7. İpek sütürler çıkarıldıktan sonra her iki alt çenenin görüntüsü.



Şekil 3.8. Dişeti  rnekleri alınırken alt yarım çenenin lingualden görüntüsü.



Şekil 3.9. Dişeti örnekleri alınırken alt yarım çenenin bukkalden görüntüsü.

### 3.4. Histopatolojik İncelemeler

Sol alt çene örnekleri %10'luk formik asitte 3 gün süreyle plastik bir kaptaki demineralize edildi. Daha sonra örnekler rehidrate edildi, fazla dokular uzaklaştırıldı ve plastik kasetler içerisinde parafine gömüldü. Parafin içerisinde gömülen örneklerden molar bölgeden mesiodistal olarak longitudinal 6 µm kalınlığında bukkolingual yönde kesitler alınarak hematoksilin-eozin (HE) ile boyandı (188).

Değerlendirmeler ipek sütürün yerleştirildiği 1. ve 2. molar dişler arasındaki bölgede gerçekleştirildi. İnterdental septum bölgesi ışık mikroskopunda analiz edildi. Analizler; periodontal dokulara enflamatuvar hücre infiltrasyonunun (EHİ) değerlendirilmesi ile yapıldı.

Enflamatuvar hücre infiltrasyonu Toker ve ark. yaptıkları çalışma referans alınarak hücrelerin varlığının semikantitatif skorlanması ile değerlendirildi (188).

**Skor 0:** Enflamatuvar hücrelerin az-hafif düzeyde varlığı

**Skor 1:** Enflamatuvar hücrelerin orta düzeyde varlığı

**Skor 2:** Enflamatuvar hücrelerin yüksek düzeyde varlığı (188).

### **3.5. Serum Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri**

Ratlardan elde edilen serum örneklerinden; CRP nefelometrik yöntemle (Beckman Coulter Image Kit, Amerika Birleşik Devletleri), alkalen fosfataz (ALP) (Beckman Coulter Kit, Amerika Birleşik Devletleri), kalsiyum (Ca) (Beckman Coulter Olympus Kit, Amerika Birleşik Devletleri) ve fosfor (P) (Beckman Coulter Kit, Amerika Birleşik Devletleri) ise fotometrik yöntemle analiz edildi (Cihaz, Olympus AU 2700 Otoanalizör, Amerika Birleşik Devletleri). Nefelometri bir çözeltinin bulanıklık derecesini bulanık ortama gelen ışığın difraksiyonunu ölçmek suretiyle, bulanıklığı oluşturan maddenin konsantrasyonunu tayin etme yöntemidir. Çözelti içindeki madde miktarını çözülden geçen veya çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme yöntemine de fotometri denir (189).

### **3.6. Dişeti Dokusunda WB ile IL1- $\beta$ , MMP-8, RANK, RANKL, OPG, MPO Analizleri**

#### **3.6.1. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAJE)**

Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAJE) jel sistemi, akrilamid monomerlerden yararlanılarak uygulanabilen bir yöntemdir. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile tetrametil-ethilendiamin (TEMED) gibi stabilizasyon sağlayan ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler yapacak şekilde polimerleşir, polimerleşmenin ardından bu uzun zincirler arasında yan bağlantılar oluşur ve jel meydana gelir. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez analiz yönteminde; jelin içindeki sodyum dodesil sülfat (SDS) deterjanı, proteinleri monomer alt birimlerine ayırır, böylece protein agregasyonu önlenerek SDS moleküllerine bağlanan denatüre edilmiş polipeptidlere negatif yük kazandırılmış olur (Tablo 3.2). Sodyum dodesil sülfat bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına göre jelin içerisinde hareket eder. Hareket eden bu polipeptid moleküllerin ağırlıkları; aynı jelde bulunan bir standartla kıyaslanarak tespit edilir. Bu jel sisteminde mutasyona uğramış, parça ilavesi yapılmış veya bazı

proteinlerin yeterince sentezlenmemesi ya da olumsuz çevre şartları neticesinde organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması gibi durumlar tespit edilmeye çalışılır. Protein moleküllerinin hareketi güç kaynağından verilen elektrik akımına göre eksi (-) kutuptan artı (+) kutba doğrudur. İncelenecek protein molekülleri, 0–43 kDa ağırlığında ise akrilamidin konsantrasyonu %15, 40 kDa'dan daha ağır ise akrilamidin konsantrasyonu %10 veya daha aşağı düşürülür. Yani molekülün ağırlığı arttıkça akrilamidin konsantrasyonu düşürülür. Akrilamid konsantrasyonunun artışı, jel içerisindeki ara boşlukların daha sık olmasını sağlar. Böylece protein moleküllerinin hareket etme hızı da azalmış olacaktır (190).

### **Kullanılan çözeltiler**

- 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)
- 0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)
- % 10 Sodyum dodesilsülfat çözeltisi (SDS)
- %30 Akrilamid / Bisakrilamid çözeltisi
- %10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)
- N, N, N', N', -tetrametil-ethilendiamin (TEMED)
- Gliserin
- 2-β-merkaptoethanol
- %0,05 Bromofenol blue çözeltisi
- Boyama çözeltisi (Stain solusyon/100 ml):  
%45 Metanol  
%45 Distile su  
%0.1 Coomassie blue R-250  
% 10 Glasiyal asetik asit
- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):

%45 Distile su

% 10 Glasiyal asetik asit

%45 Metanol

•Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):

Distile su 600 ml

Glisin 43.0 gr

Tris base 9.0 gr

Tablo 3.2. SDS-PAJE İçin Jellerin Hazırlanması.

<b>Ayırıcı jel içeriği (%12)</b>	<b>Miktar</b>
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
% 10 SDS	100 µl
TEMED	5 µl
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
Distile su	3.35 ml
Toplam	10.0 ml
<b>Stacking jel içeriği (%4)</b>	<b>Miktar</b>
TEMED	10 µl
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	100 µl
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
Distile su	6.1 ml
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Toplam	10.0 ml



### 3.6.2. Total Protein Miktarının Spektro-fotometrik Analizleri

Alınan dişeti dokularının parçalanmasından sonra örneklere ait homojenatların içerdiği toplam protein miktarı, Lowry yöntemine göre tespit edilmiştir (191).

#### Kullanılan Çözeltiler

**Alkali Bakır:** 48ml % 2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisine 1 ml % 1'lik Na-K Tartarat çözeltisi ve 1 ml % 0.5'lik  $\text{CuSO}_4$  çözeltisi ilave edilir.

**Sığır Serum Albumin (SSA):** 1 mg/ mL olacak şekilde  $\text{dH}_2\text{O}$  ile çözülür.

**Na-K Tartarat (Sodyum Potasyum Tartarat)(%1):** 1 g Na-K Tartarat üzeri 100 ml'ye  $\text{dH}_2\text{O}$  ile tamamlanır.

**$\text{CuSO}_4$  (Bakır Sülfat) (% 0.5) :** 0.5 g  $\text{CuSO}_4$  üzeri 100 ml'ye  $\text{dH}_2\text{O}$  ile tamamlanır.

**Folin:** 1:1 oranında  $\text{dH}_2\text{O}$  ile seyreltilir.

**$\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Sodyumbi Karbonat )(%2):** 2 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  üzeri 100 ml'ye 0.1 N NaOH ile tamamlanır.

Alkali ortamdaki bakır iyonu ( $\text{Cu}^{+2}$ ) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks meydana getirerek  $\text{Cu}^{+1}$  e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirindeki Cys, Trp ve Tyr aminoasitleri folin reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna sebep olur. Rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılı olur ve 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Bu amaçla; her bir tüpe 0, 20, 40, 60, 80, 100  $\mu\text{l}$  SSA, 2 ml alkali bakır eklenerek 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Ardından her tüpe 0.2 ml folin reaktifi eklenerek vorteks edildi. Oda sıcaklığında 30 dk. süreyle inkübe edildi. 600 nm dalga boyunda her bir örneğin absorbansı belirlendi ve standart olarak kullanılan bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standartlar ve örneklerin spektrofotometrik analizleri, hata payını en aza indirmek amacıyla iki tekrarlı gerçekleştirildi. Spektrofotometrik analiz için her bir homojenattan 75  $\mu\text{l}$  alınarak üzerine 975  $\mu\text{l}$   $\text{dH}_2\text{O}$  eklenip seyreltilerek üzerlerine alkali bakır çözeltisi ilave edildi, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle inkübasyonun ardından her bir örneğe folin belirteci ilave edilerek 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu sürecin sonunda 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Spectronic Unicam Helios  $\alpha$ ,

Birleşik Krallık) değerler okundu. Spektrofotometredeki sonuçlar regresyon yöntemi aracılığıyla değerlendirildi ve her bir homojenatın toplam protein miktarı hesaplandı.

### 3.6.3. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforez Analizleri

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli'ye göre hazırlanan SDS-PAJE ile incelendi (190). Jel oluşturmak için uygun olarak birleştirilen iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml' lik ayırma jel solusyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırılarak uygun bir otomatik pipetle belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam blok arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilavesi yapılırken üst tarafta tarak dişlerinin yüksekliği kadar (yaklaşık 1cm) boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset halindeki bu iki cam levha arasındaki jel, yaklaşık 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Ardından iki cam levhanın üst kısmına örnek sayısına uygun sayıda dişleri olan bir tarak yerleştirildi. Tarak dişlerinin ara dolgu maddesi olan yükleme jeli, 10 ml kadar hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu, iyice karıştırılarak bir otomatik pipet yardımıyla jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Bu dolgu, iki camın en üst seviyesine kadar tamamlandı. Yükleme jelinin hızlı polimerize olmasından dolayı işlemler kısa sürede yapıldı. 25–30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesini tamamlamış jelden ayrıldı. Ayırma işlemi sırasında jelde meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı yuvaların bozulmamasına dikkat edildi. Cam levhaların oluşturduğu kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8), %2'lik SDS, %0.002 oranında bromofenol mavisi, %20'lik gliserol, %10'luk merkaptolanol olarak hazırlandı. Yaklaşık 150'ye 1 olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solusyon ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tarak dişinin genişliğine göre, hazırlanan karışım 10–20'de 1 kadar transfer edildi. Tankın içine yeteri kadar tank solusyonundan ilave edildi. Güç kaynağından ilk olarak düşük voltaj (150 V) akım elektroforeze verildi. 5–10 dakika sonra voltaj yükseltildi (180–200 V) (Şekil 3.10). Gözle görülebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı devre dışı bırakıldı. Elektroforez işleminin tamamlanmasının ardından kaseti oluşturan iki cam levha birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı.



Şekil 3.10. Jel-Elektroforez için kullanılan düzenek (Bio Rad-Amerika Birleşik Devletleri)

#### 3.6.4. Western Blot Analizleri

Western blot analizleri, elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde hareket ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana aktarılıp membrandaki proteinlerin immünojenik olarak gösterilmesidir. Blotlama yapılmadan önce analiz yapılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilir. Proteinlerin elektroforez işlemi SDS-PAJE'de gerçekleştirilmektedir. Western blot tekniği, elektroforez işlemi takiben 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar;

1. **Blotlama:** Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarılması.
2. **Bloklama:** Spesifik olmayan reaksiyonları önlemek için nitroselüloz membrandaki protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması işlemi.
3. **Özgül antikorlarla tepkime.**
4. **Proteinlerin görüntülenme** aşamalarıdır.

Nitroselüloz membrana transfer aşamasında jel ile nitroselüloz membran karşı karşıya getirilir ve bunlar filtre kağıtları arasına yerleştirilir. Jelin büyüklüğü ile orantılı olacak şekilde belirli bir süre elektrik akımı verilerek proteinlerin transferi sağlanır. Nitroselüloz membranın spesifik olmayan proteinlerle bloklanması aşamasında albumin proteini tercih edilir. Spesifik antikorlar monoklonal ya da

poliklonal olabilir. Monoklonal antikorlar, yalnızca tek bir epitopa özgül olmaları ve çok güçlü immünokimyasal köprüler oluşturma özelliğinden dolayı avantaj sağlar. Monoklonal antikorlar bu özelliklerinden dolayı antijene özgül bağlanma gösterir. Fakat, çalışılan proteinler arasında benzer epitop bölgeleri var ise çapraz reaksiyonlar gelişerek yalancı pozitiflikler oluşabilmektedir. Poliklonal antikorlar kullanıldığında ise aynı nedenden dolayı şekillenen yalancı pozitiflik ihtimalinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Western blotta monoklonal antikorların en önemli dezavantajı, SDS-PAJE ve blotlama sırasında polipeptid yapılarındaki epitopların ortadan kaldırılmasıdır. Belirlenmeye çalışılan epitopun ortadan kaldırılması halinde monoklonal antikor-epitop bağlantısı şekillenemez. Bu yüzden monoklonal antikor kullanıldığında, poliklonal antikorlara kıyasla, yalancı negatiflik ihtimali artar. Özgül antikorlarda genellikle radyoaktif izotoplar veya enzimler raportör madde olarak kullanılır. Alkalin fosfataz ve peroksidaz enzim olarak tercih edilir. Bu enzimlerin substratları ve kromojen maddeleri birbirinden farklıdır. Enzimle işaretlemeye, testin duyarlılığını arttırmak amacıyla son dönemlerde peroksidazla işaretli avidin biyotin sistemi yaygınlaşmıştır. Kullanılan kromojenlerin en dikkati çeken özelliği çözünmeyen renkli ürünler oluşturabilmeleridir. Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., A.B.D), aktarımının (blotlama) SDS-PAJE tamamlanmasının ardından poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi amacıyla poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak şekilde karşı karşıya getirildi. Daha sonra bunlar filtre kağıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzeneğe 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı verilerek proteinlerin transferi sağlandı. Spesifik olmayan reaksiyonların önüne geçmek için nitroselüloz membrandaki protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Blotlama işleminin ardından petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solusyonla  $[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.025 M),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (0.075 M),  $\text{NaCl}$  (1.45 M)], çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika süreyle yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM  $\text{NaCl}$ , 20 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 20 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini (SSA) ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı. Primer antikor olarak; IL1- $\beta$ , MMP-8,

RANK, RANKL, OPG, MPO (Santa Cruz, Amerika Birleşik Devletleri, Rabbit Poliklonal) kullanıldı. Primer antikorlar, % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlandı. Nitroselüloz membranlar primer antikorlar ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Bir sonraki aşamada, nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işleminin ardından nitroselüloz membranlar, % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Bantların görüntülenmesi amacıyla 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03–0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solüsyonu kullanıldı. Diaminobenzidinle reaksiyonun ardından nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar, kısa süre sonra görünür hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresinin ardından DAB'la renklendirilen bantlar, net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı (Şekil 3.11). Nitroselüloz membranlar, iyice kurutulmalarının ardından bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunluk analizlerinde Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, A.B.D) yazılım programı kullanıldı.



Şekil 3.11. Blotlama işleminde kullanılan tank ve nitrosellüloz membranlar.

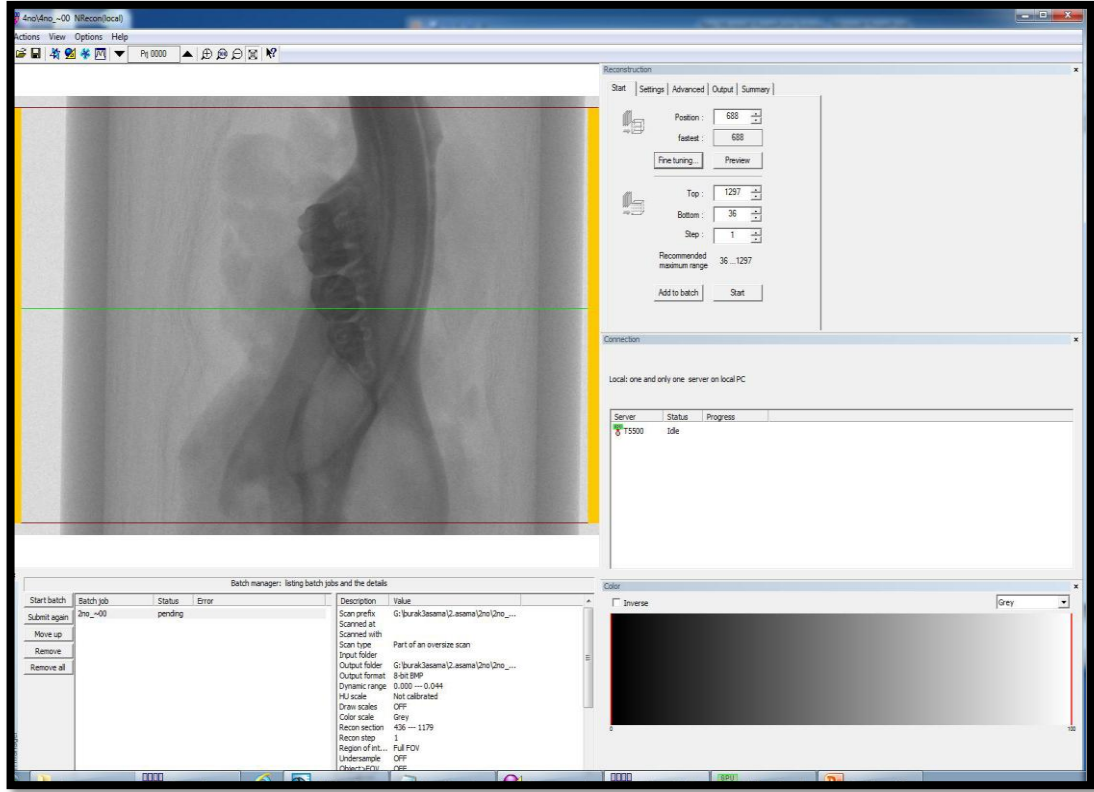
### 3.7. Mikro Komputerize Tomografi Değerlendirmeleri

Sakrifikasyondan sonra dişeti dokuları alınan sağ alt çeneler, %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Deneklerin 1. molar periodontal dokularının alveol kemiği boyut ve mineral yoğunluğunun ölçülmesi MKT yöntemi ile yapıldı. Rotasyonel tarama sırasında x ışın tüpü ile incelenen örnek arasındaki mesafeyi değiştirecek ve incelenen örneğin ekspoz alanının dışına çıkmasına neden olabilecek aksiyel konumlardaki sapmaları önlemek için sabitleme işlemi sırasında incelenen örneğin vertikal olarak olabildiğince merkezi, açılanma yapmadan yerleştirilmesine dikkat edildi. Daha sonra tarama işlemine geçildi.

Örnekler SkyScan1172 Compact MKT (Kontich, Belçika) (Şekil 3.12) cihazına yerleştirilerek 100 kV güç, 0,5 mm aliminyum filtre, 11 Mega Piksel kamera yardımıyla, her bir örnekten 13-14 mikron kalınlığında toplam 400-450 kesit alınarak tarandı. Örnekler 360<sup>0</sup> rotasyon ile taranırken, rotasyon adımı 0.40<sup>0</sup> olarak belirlendi. Kesitlerden alınan Digital Imaging and Communication in Medicine (DICOM) uyumlu görüntüler Bit Map Picture formatına dönüştürüldü. Mikro Komputerize Tomografi taraması sonrası elde edilen ham radyolojik görüntülerde N Recon 1.6.9.4 SkyScan, Contich, Belgium programı kullanılarak görüntü kirlilikleri ve radyolojik artefaktlar elimine edildi ve matematiksel analiz için hazır hale getirildi (Şekil 3.13).

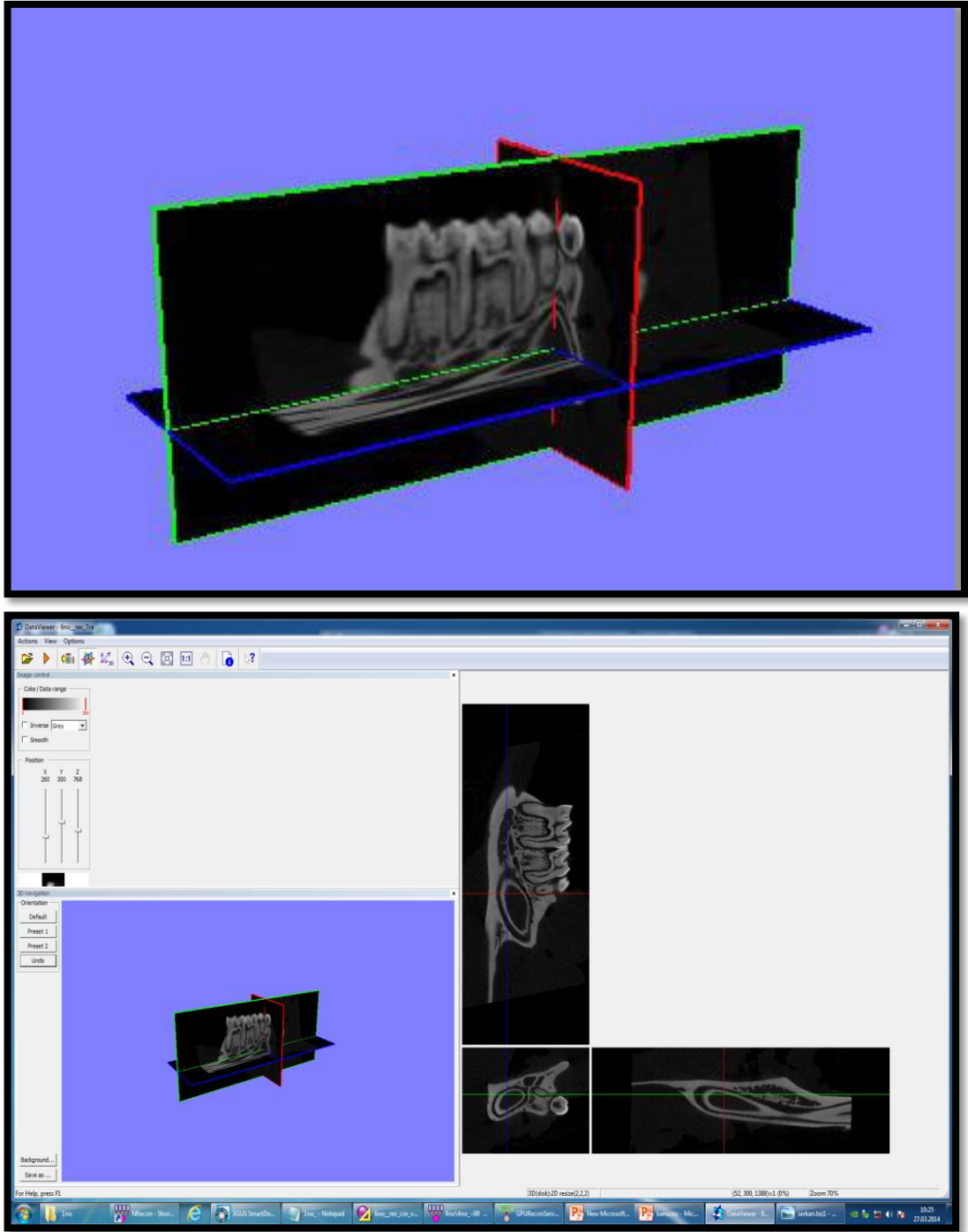


Şekil 3.12.MKT Cihazı (SkyScan 1172, Belçika, 2012).



Şekil 3.13. MKT taraması sonrası elde edilen ham radyolojik görüntülerin N Recon 1.6.9.4 SkyScan, Contich, Belgium programı ile görüntü kirlilikleri ve radyolojik artefaktları elimine edilerek matematiksel analiz için hazır hale getirilmesi.

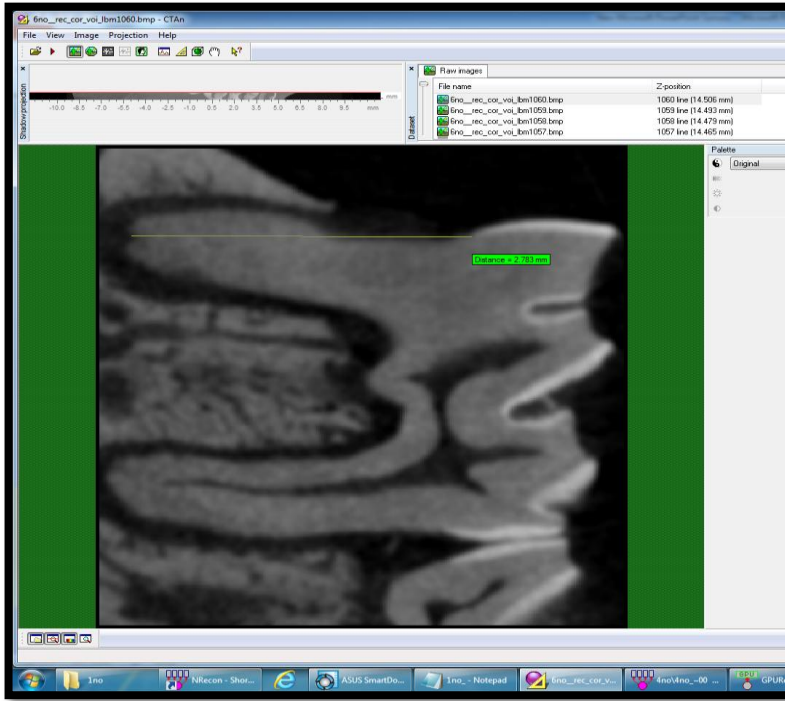
İşlenen radyolojik görüntüler ScyScan Data Wiever 1.5.0 64 bit SkyScan, Contich, Belgium programı kullanılarak uzayın her 3 düzleminde yeniden konumlandırıldı ve radyolojik görüntü alanları dışındaki alanlar uzaklaştırılarak boyutları matematiksel analizin daha hızlı yapılabilmesi için küçültüldü (Şekil 3.14).



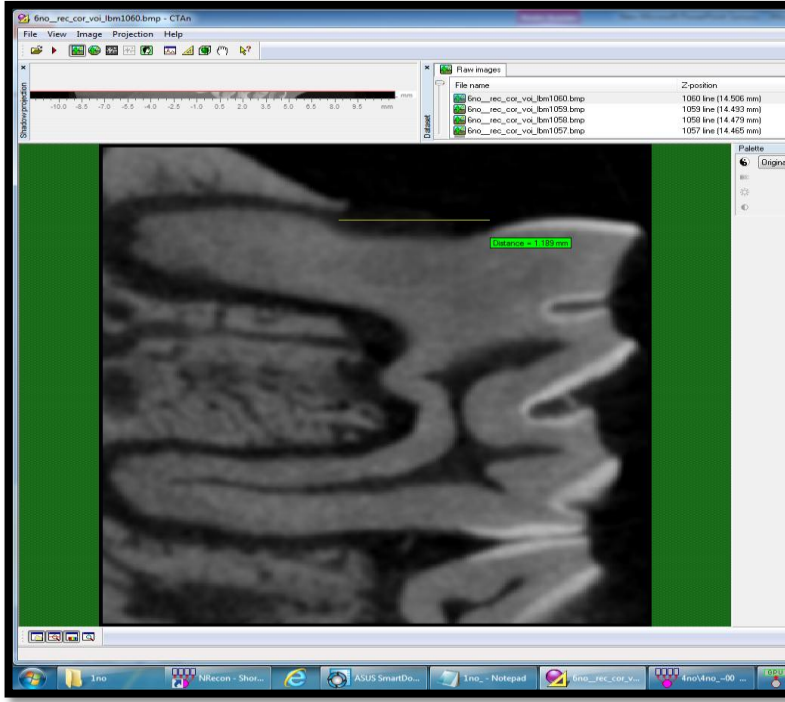
Şekil 3.14. Radyolojik görüntüler ScyScan Data Wiever 1.5.0 64 bit SkyScan, Contich, Belgium programıyla uzayın her 3 düzleminde yeniden konumlandırıldı. Radyolojik görüntü alanları dışındaki alanlar uzaklaştırılarak boyutları matematiksel analizin daha hızlı yapılabilmesi için küçültüldü.



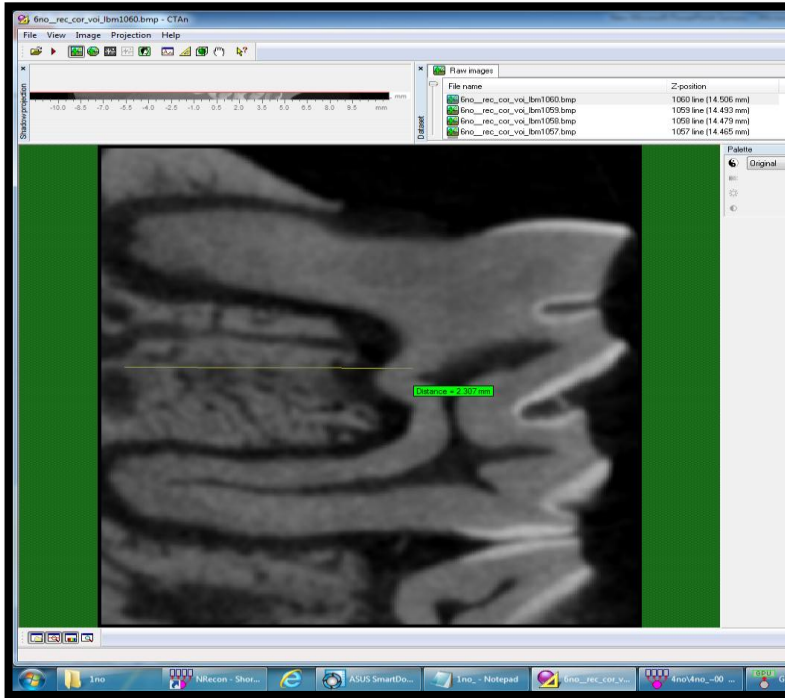
Elde edilen yeni veri serisi CT-AN 1.13.5.1 (SkyScan, Contich, Belgium) programına yüklendi ve sağıttal kesitlerde ilk ve son kesit belirlendi. İlk aşamada; seçilen kesit aralığındaki kesit sayısı dikkate alınarak, 10 adet kesitte programın lineer uzaklık ölçüm fonksiyonu kullanılarak meziyal mine sement sınırı (MMSS)-meziyal kök apeksi (MKAP) (Şekil 3.15), MMSS- meziyal krestal kemik (MKK) (Şekil 3.16), furkasyon çatısı (FÇ)- furkasyon kök apeksi (FKAP) (Şekil 3.17), FÇ-furkasyon krestal kemik (FKK)- (Şekil 3.18), distal mine sement sınırı (DMSS)-distal kök apeksi (DKAP) (Şekil 3.19), DMSS –DKK (distal krestal kemik) (Şekil 3.20) arası mesafeler ölçüldü. Her bir örnekten 10 adet ölçüm yapılarak ortalamaları alındı.



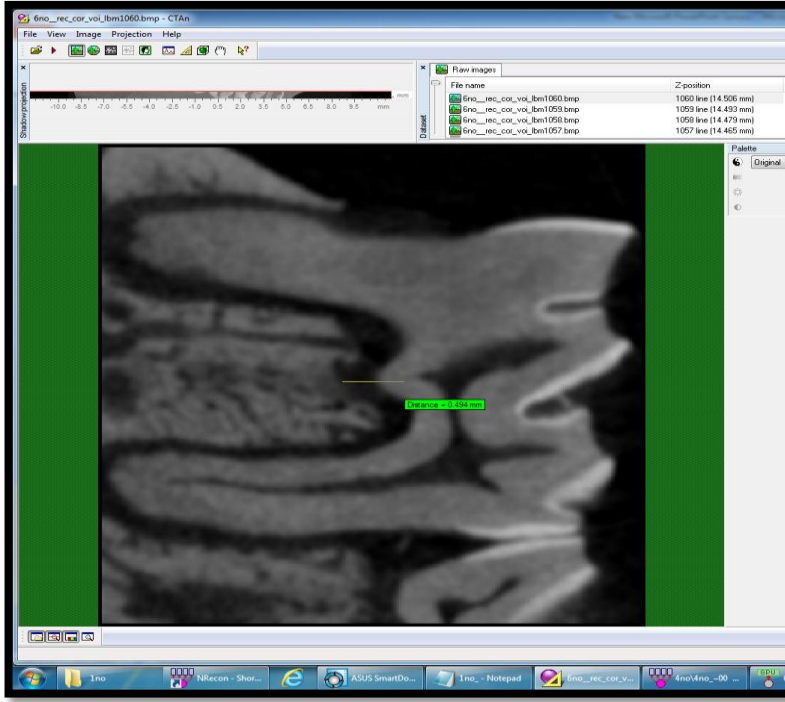
Şekil 3.15. MMSS-MKAP arasındaki mesafenin ölçülmesi.



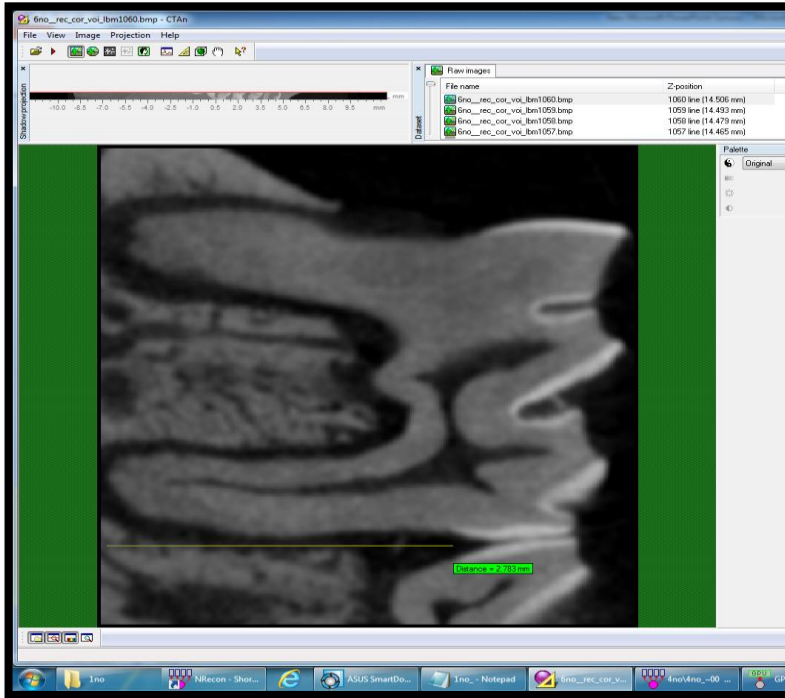
Şekil 3.16.MMSS-MKK arasındaki mesafenin ölçülmesi.



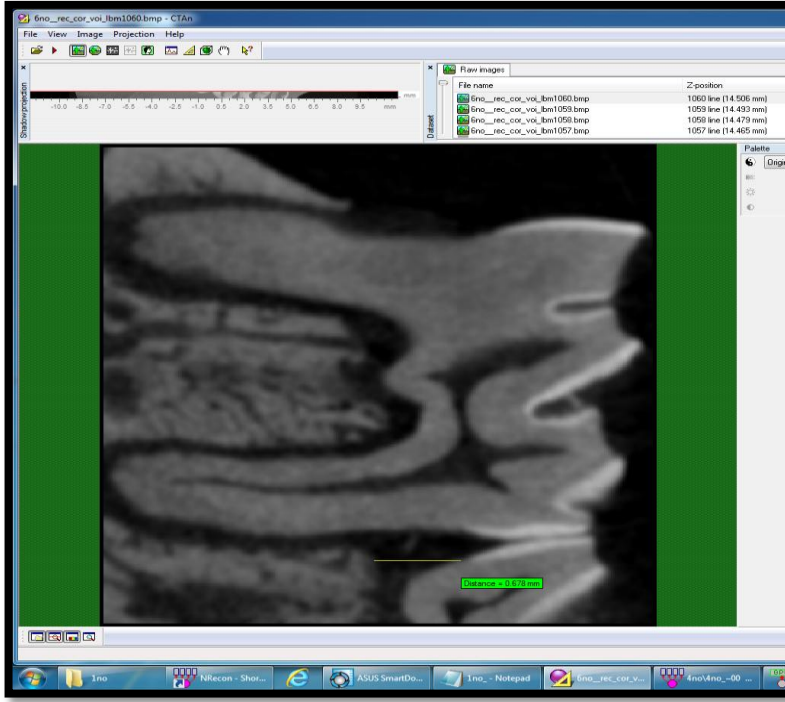
Şekil 3.17. FÇ-FKAP arasındaki mesafenin ölçülmesi.



Şekil 3.18. FÇ-FKK arasındaki mesafenin ölçülmesi.

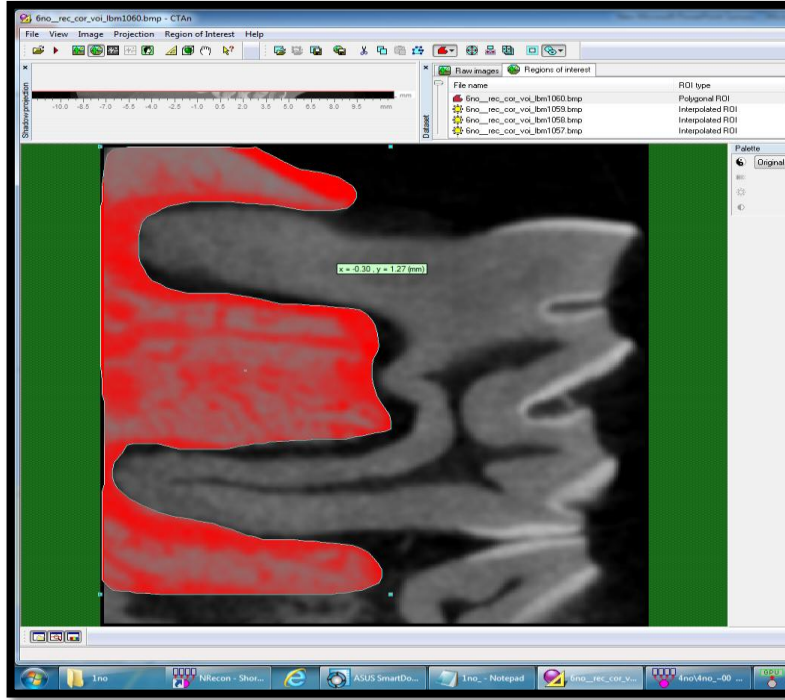


Şekil 3.19. DMSS-DKAP arası mesafenin ölçülmesi.

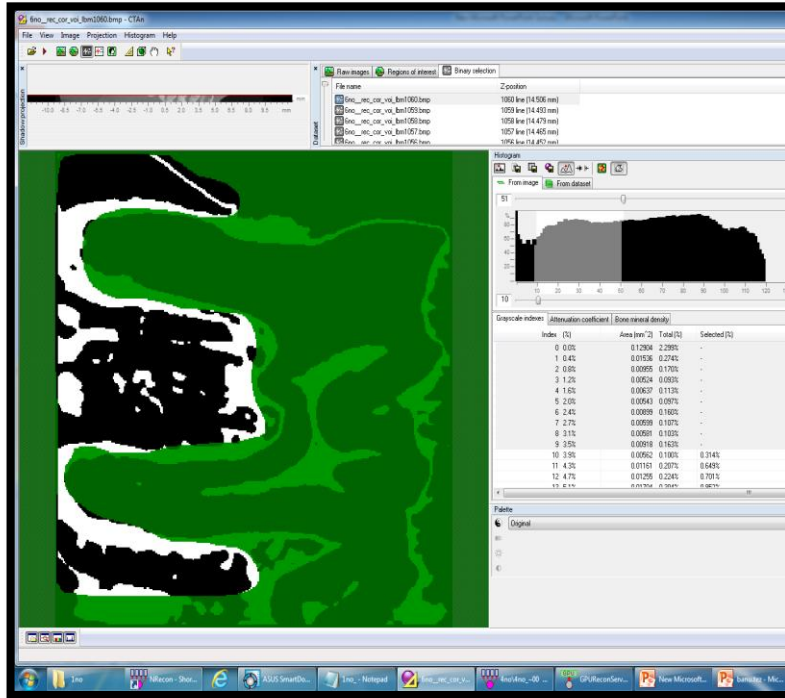


Şekil 3.20. DMSS-DKK arası mesafenin ölçülmesi.

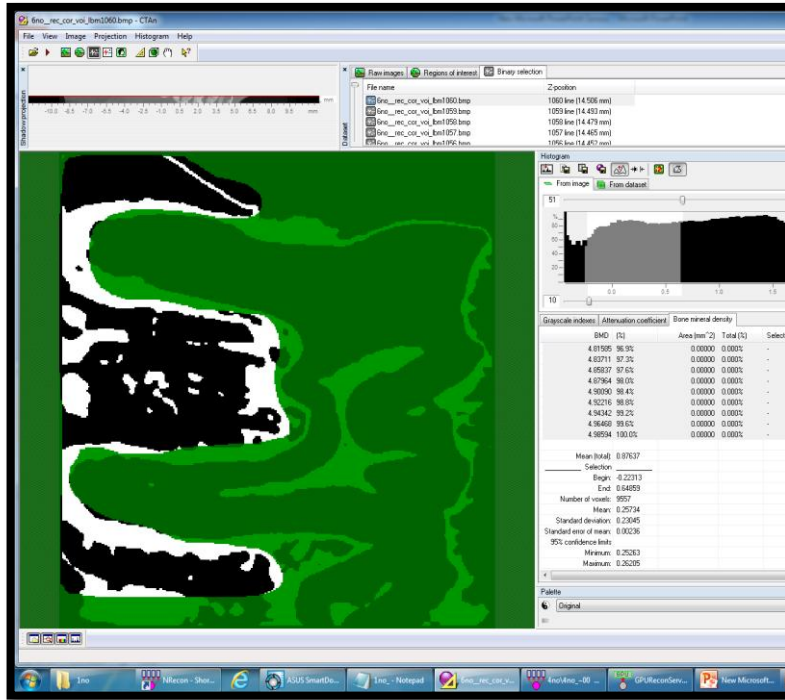
İkinci aşamada; alveolar kemik bölgesi CTAN programında Bölgesel Ayırıştırma (Region of Interest) fonksiyonu seçilerek ilgili kemik bölgesi belirlendi (Şekil 3.21). Daha sonra Binary Page sayfasına geçilip uygun Thresholding fonksiyonuyla kemik alanları belirlendi (Şekil 3.22) ve kemik mineral yoğunluğu tespit edildi (Şekil 3.23, Şekil 3.24).



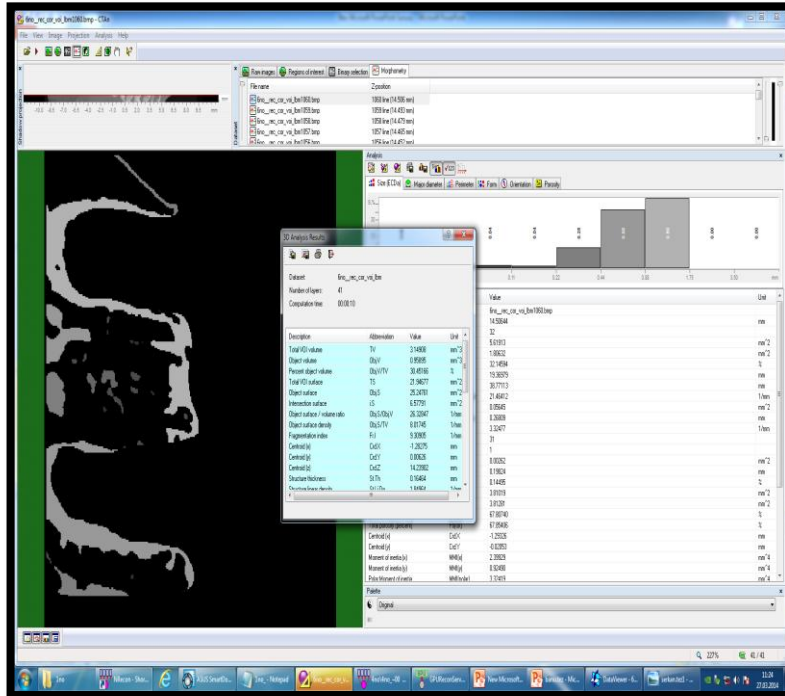
Şekil 3.21. CTAN programında alveolar kemik bölgesinin seçilmesi.



Şekil 3.22. CTAN programında kemik alanlarının belirlenmesi.



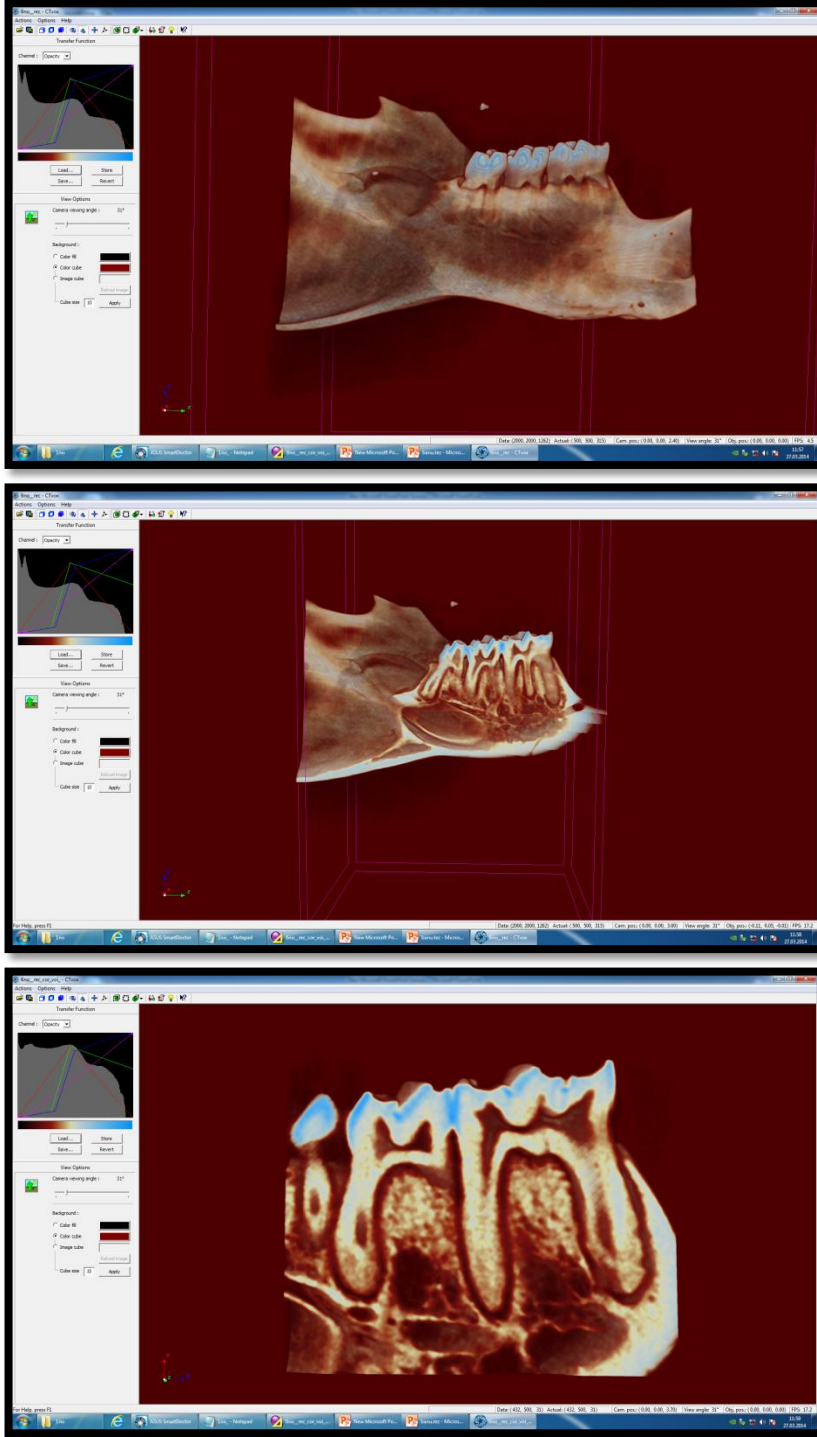
Şekil 3.23. CTAN programında kemik mineral yoğunluğunun belirlenmesi.



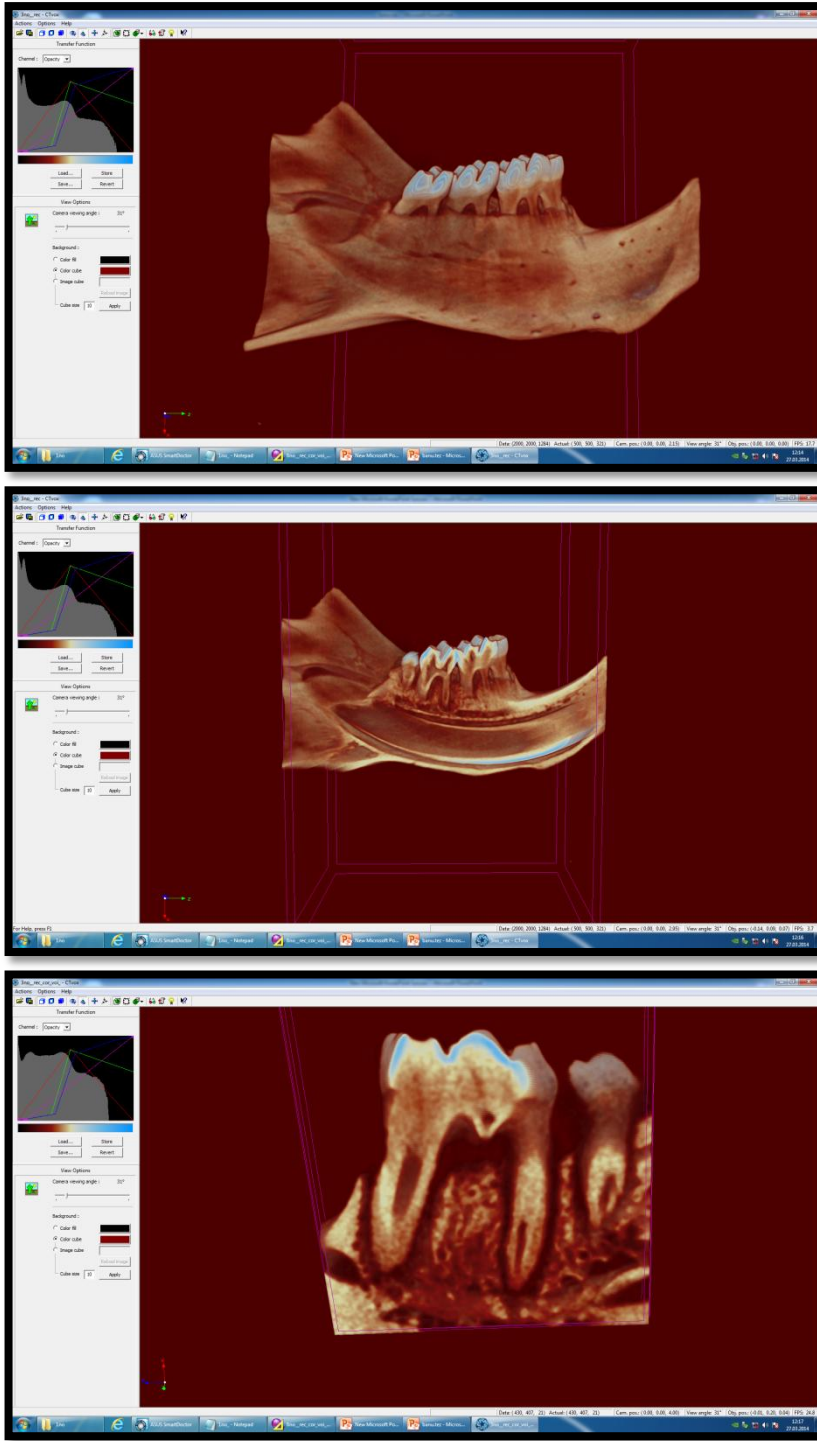
Şekil 3.24. CTAN programında kemik mineral yoğunluğunun belirlenmesi.



Elde edilen radyolojik görüntü serisi CT VOX 2.6.0 (SkyScan, Contich, Belgium ) kullanılarak 3 boyutlu modeller oluşturuldu (Şekil 3.25, Şekil 3.26, Şekil 3.27, Şekil 3.28).

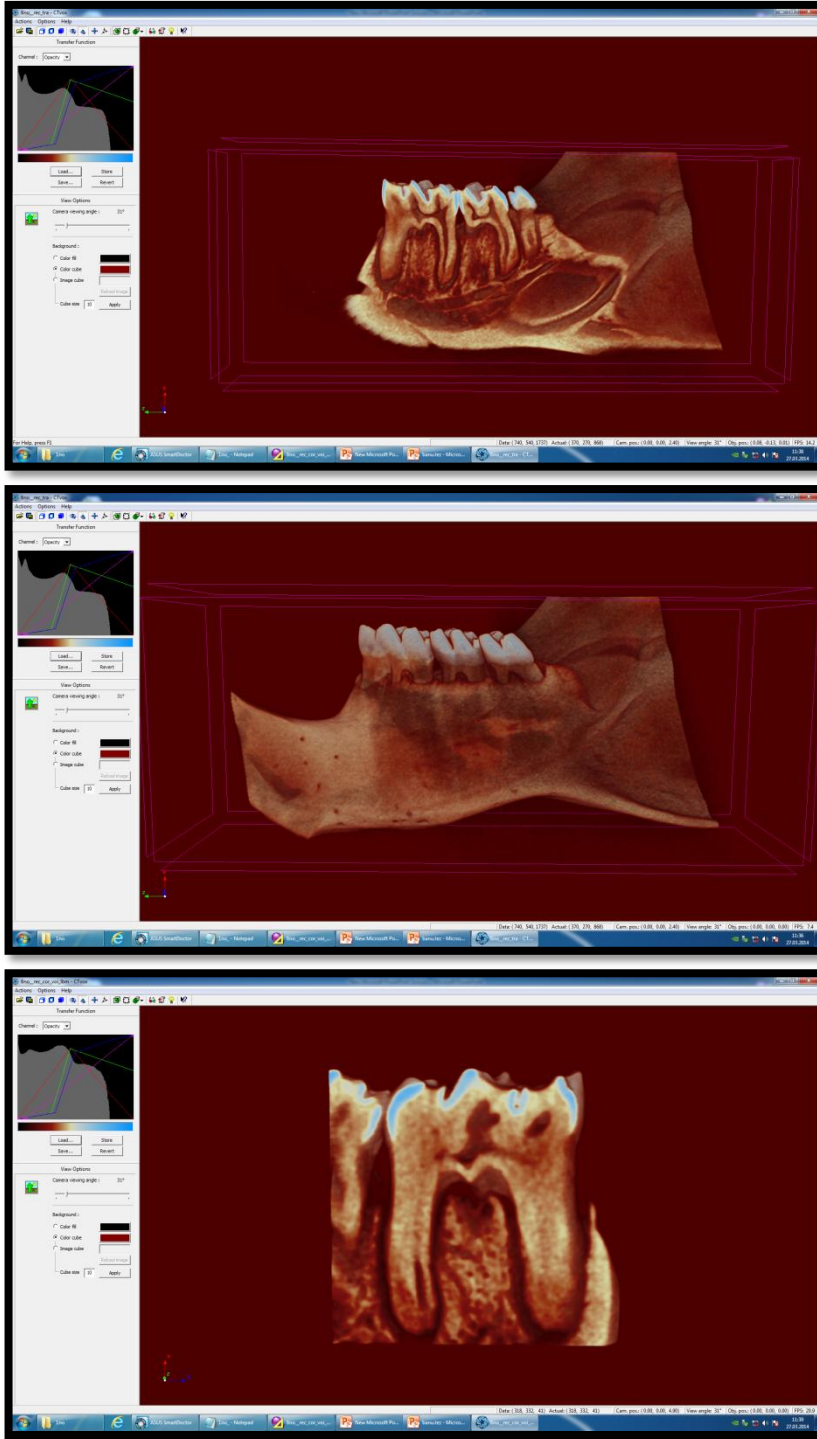


Şekil 3.25. Kontrol grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.

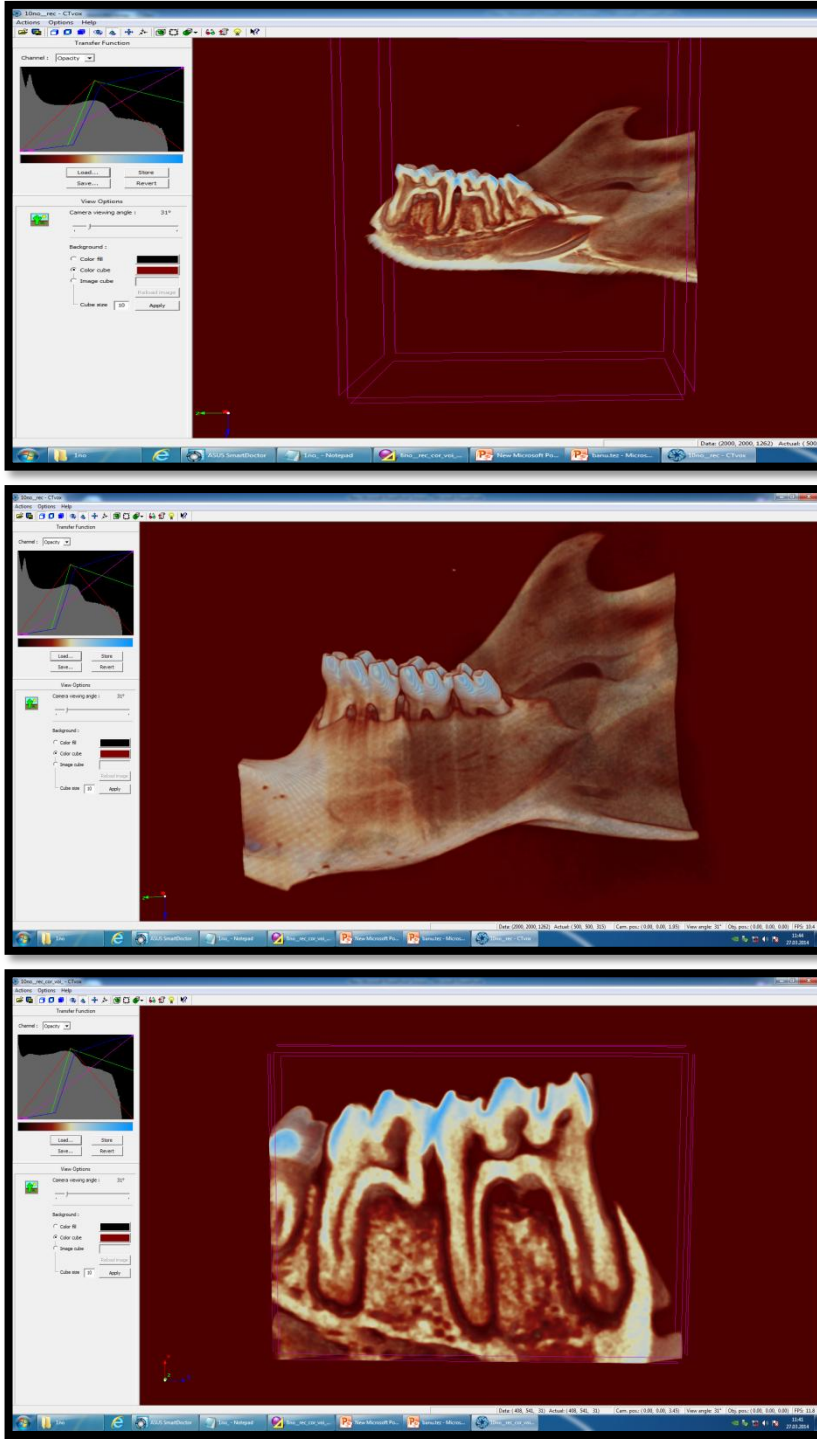


Şekil 3.26. Periodontitis grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.





Şekil 3.27. ASİ I grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.



Şekil 3.28.ASİ II grubunun 3 boyutlu MKT görüntüleri.

### 3.8. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tukey HSD testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Laboratuvar Bulguları

#### 4.1.1. Serum Bulguları

Tablo 4.1. Gruplara göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.

	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
<b>ALP</b> (U/L)	410,29±162,44	323,77±124,98	440,31±69,93	380,54±85,36	<b>0,061</b>
<b>P</b> (mg/dl)	7,69±1,65	7,98±1,59	8,35±1,82	7,82±1,61	<b>0,813</b>
<b>Ca</b> (mg/dl)	9,66±1,17	10,17±0,57	10,37±0,32	9,78±0,66 <sup>c</sup>	<b>0,050*</b>
<b>CRP</b> (mg/dl)	0,13±0,05	0,26±0,05 <sup>a</sup>	0,16±0,07 <sup>b</sup>	0,18±0,06 <sup>b</sup>	<b>0,001**</b>

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p < 0,05$ ) ( $p < 0,01$ ).

<sup>b</sup> Periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p < 0,05$ ) ( $p < 0,01$ ).

<sup>c</sup> ASİ I grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p < 0,05$ ).

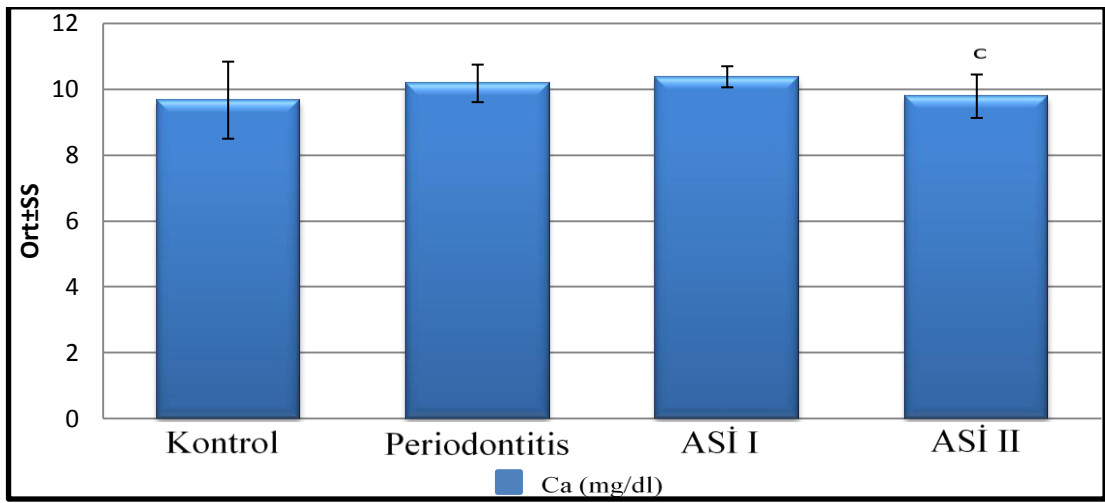
Bu parametrelerin istatistiksel analizinde Oneway ANOVA, Kruskall Wallis ve Man Whitney U testleri kullanılmıştır.

**ALP:** Alkalen Fosfataz, **P:** Fosfor, **Ca:** Kalsiyum, **CRP:** C Reaktif Protein.

Grupların ALP ortalamaları arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ). Farklılık anlamlı bulunmasa da, yapılan ikili karşılaştırmalarda ASİ I grubunun ALP düzeyinin periodontitis grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ( $p: 0.042$ ;  $p < 0.05$ ). Diğer grupların ALP ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ), (Tablo 4.1).

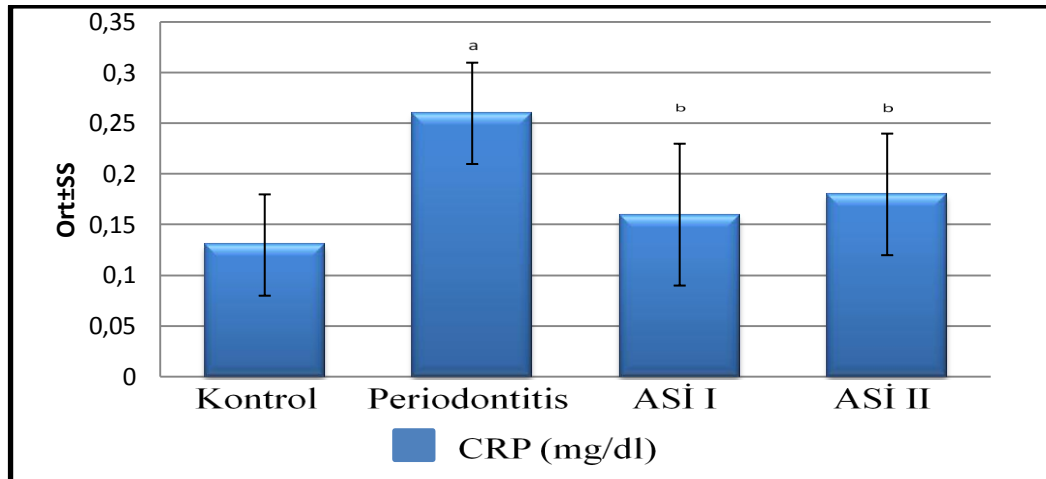
Grupların P ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.1).

Grupların Ca düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, ASİ I grubunun Ca ortalaması, ASİ II grubundan anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır ( $p:0.004$ ;  $p<0.01$ ). Diğer grupların Ca ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.1), (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Grupların Ca ortalamaları.

Grupların CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun CRP ortalaması, kontrol grubundan ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ), ASİ I grubundan ( $p:0.002$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II grubundan ( $p:0.002$ ;  $p<0.01$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. Kontrol grubu, ASİ I ve ASİ II grubunun CRP ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.1), (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Grupların CRP ortalamaları.

#### 4.1.2. Western Blot Bulguları

Tablo 4.2. Gruplara göre WB parametrelerinin değerlendirilmeleri.

	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
<b>IL-1β</b>	100±5,24	189,82±1,84 <sup>a</sup>	142,5±2,53 <sup>a,b</sup>	111,24±2,35 <sup>a,b,c</sup>	<b>0,016*</b>
<b>MMP-8</b>	100±2,72	208,72±11,14 <sup>a</sup>	166,79±7,86 <sup>a,b</sup>	150,256±11,6 <sup>a,b</sup>	<b>0,019*</b>
<b>RANK</b>	100±4,31	202,18±2,83 <sup>a</sup>	189,27±5,3 <sup>a,b</sup>	174,31±9,82 <sup>a,b</sup>	<b>0,023*</b>
<b>RANKL</b>	100±8,06	167,06±10,72 <sup>a</sup>	150,11±6,34 <sup>a,b</sup>	138,35±13,6 <sup>a,b</sup>	<b>0,022*</b>
<b>OPG</b>	100±2,3	47,25±2,33 <sup>a</sup>	72,87±4,67 <sup>a,b</sup>	91,13±3,04 <sup>a,b,c</sup>	<b>0,016*</b>
<b>MPO</b>	100±6,9	228,86±1,13 <sup>a</sup>	180±2,97 <sup>a,b</sup>	159,59±13,09 <sup>a,b,c</sup>	<b>0,016*</b>

\*  $p < 0,05$

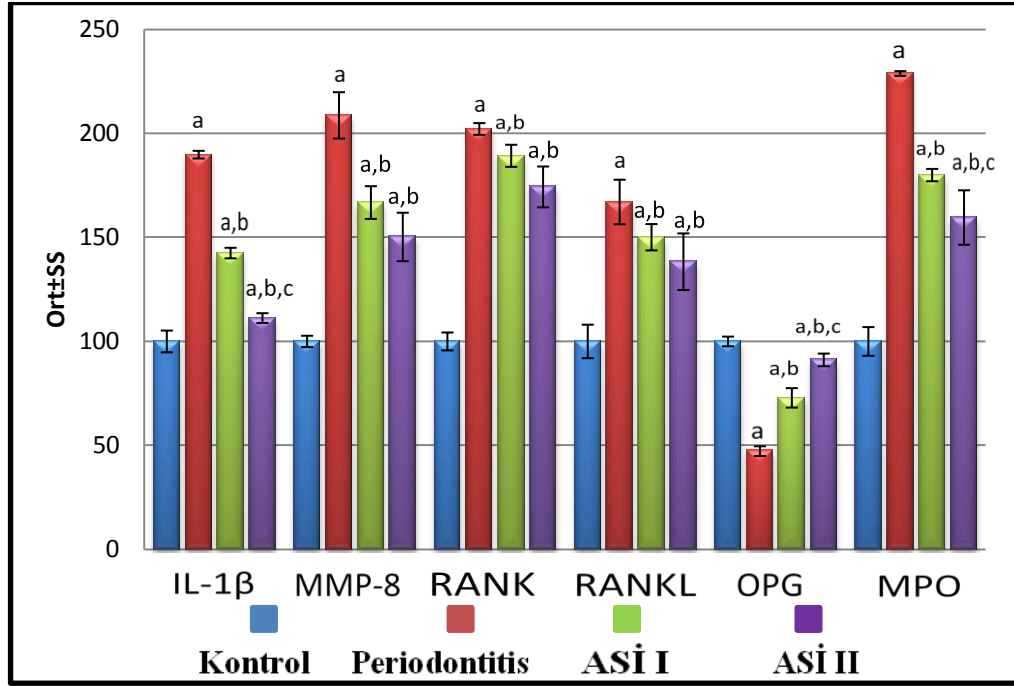
<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık,  $p < 0,05$ .

<sup>b</sup> Periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık,  $p < 0,05$ .

<sup>c</sup> ASİ I grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık,  $p < 0,05$ .

Bu parametrelerin istatistiksel analizinde Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. Değerler, ortalama±std. sapma olarak verilmiştir.

**IL-1 β**: İnterlökin 1 β; **MMP-8**: Matris metalloproteinaz-8; **RANK**: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa β; **RANKL**: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa β Ligand; **OPG**: Osteoprotegerin **MPO**: Myeloperoksidaz.



Şekil 4.3. Grupların WB ortalamaları.

Grupların IL-1 $\beta$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II gruplarından ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I grubunun IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II gruplarından ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ II grubunun IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol grubundan ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Grupların MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun MMP-8 seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II gruplarından ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. Kontrol grubunun MMP-8 seviyesi, ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II gruplarının MMP-8 seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ), (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Grupların RANK seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, kontrol grubunun RANK seviyesi, periodontitis ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Periodontitis grubunun RANK seviyesi, ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) grubundan anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II gruplarının RANK seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ). Periodontitis ve ASİ I gruplarının RANK seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ), (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

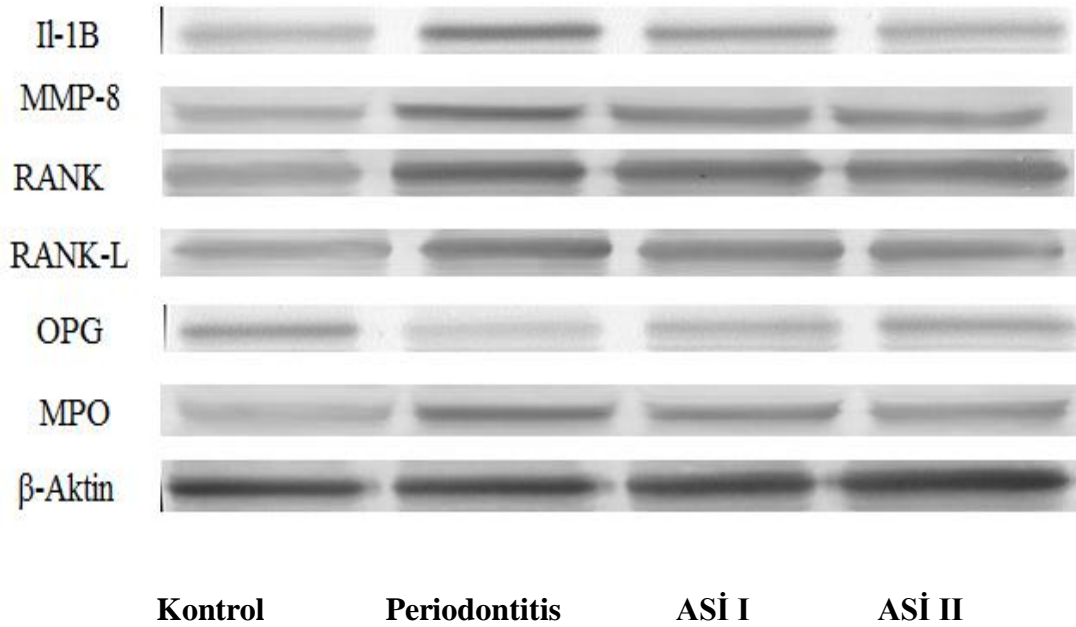
Grupların RANKL seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun RANKL seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. Kontrol grubunun RANKL seviyesi, ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II gruplarının RANKL seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ), (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Grupların OPG seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun OPG seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. ASİ I grubunun OPG seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. ASİ II grubunun OPG seviyesi, kontrol grubundan ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) anlamlı şekilde düşük saptanmıştır (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Grupların MPO seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, periodontitis grubunun MPO seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ), ASİ I ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I grubunun MPO seviyesi, kontrol ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.050$ ;  $p < 0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde



yüksek saptanmıştır. ASİ II grubunun MPO seviyesi, kontrol grubundan ( $p:0.050$ ;  $p<0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır (Tablo 4.2), (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Elektroforezde yürütülen proteinlerin oluşturduğu bantlar.

#### 4.1.3. Histopatolojik Bulgular

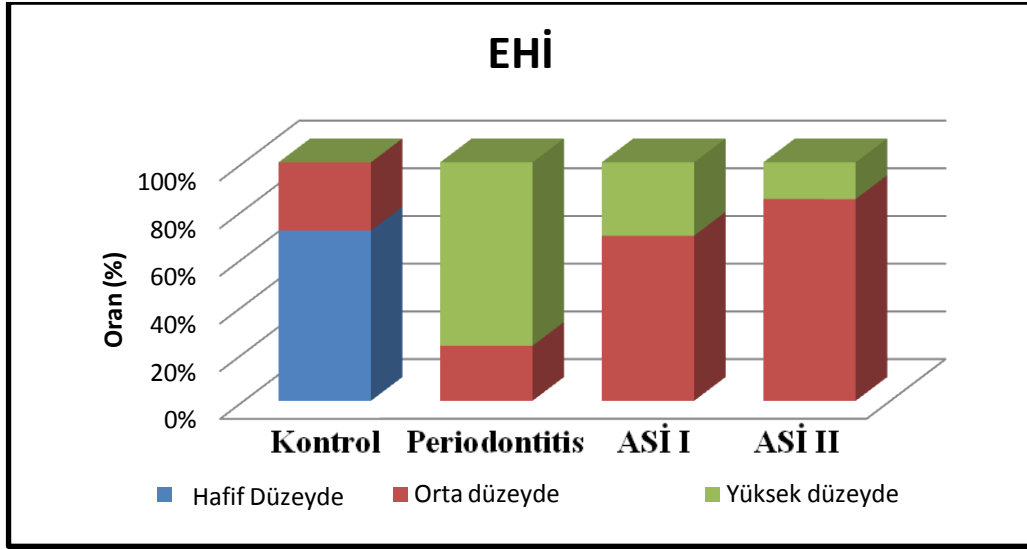
Tablo 4.3. Gruplara göre EHİ'nin değerlendirilmesi.

EHİ	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Hafif düzeyde	9 (%69,2)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Orta düzeyde	4 (%30,8)	3 (%23,1)	9 (%69,2)	11 (%84,6)	<b>0,001**</b>
Yüksek düzeyde	0 (%0)	10 (%76,9)	4 (%30,8)	2 (%15,4)	

\*\* $p<0.01$

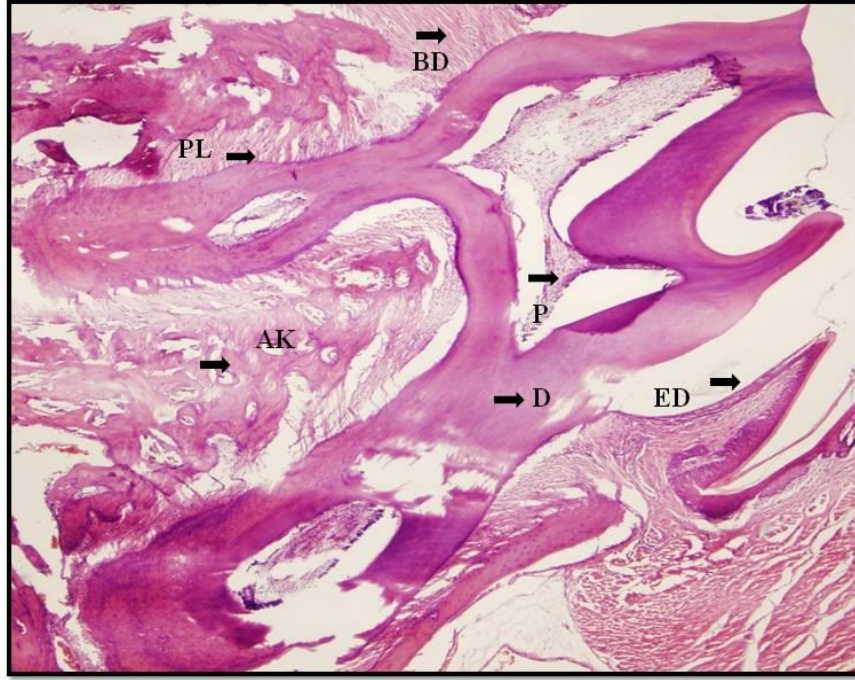
Bu parametrenin istatistiksel analizinde Ki-kare Testi kullanılmıştır.

**EHİ:** Enflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu.



Şekil 4.5. Grupların EHI'nin değerlendirilmesi.

Grupların EHI düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.3) ( $p < 0.01$ ). Kontrol grubunda EHI'nin çok az olma oranı yüksekken, ASİ I ve ASİ II gruplarında orta düzeyde, periodontitis grubunda ise yüksek düzeyde olma oranı yüksektir (Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13).



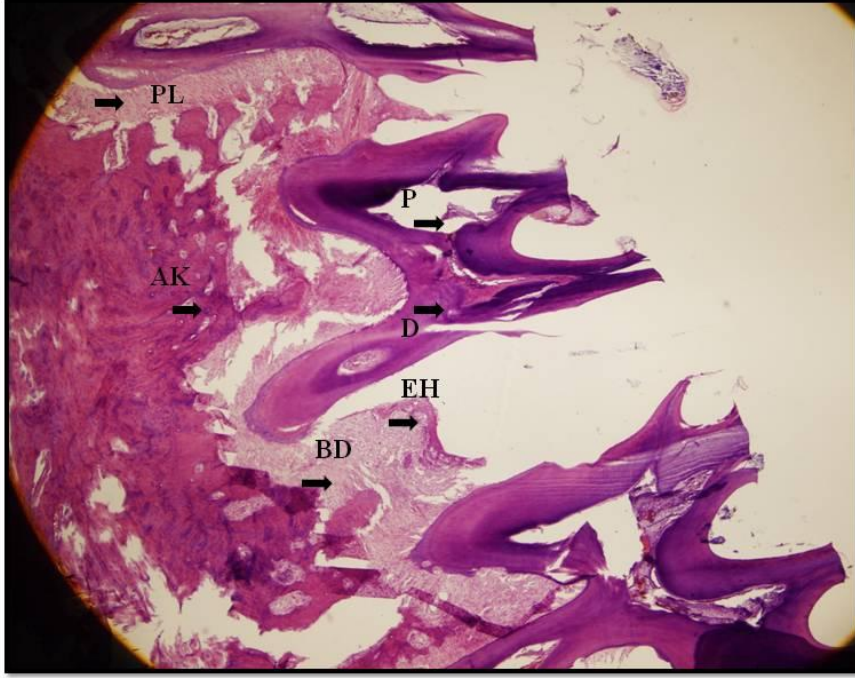
**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **ED:** Epitel Dokusu  
**P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.6. Periodontal açıdan sağlıklı ve hiçbir işlemin uygulanmadığı kontrol grubunun histopatolojik görüntüsü (H.E×40). Hafif düzeyde EHİ tespit edilmiştir.



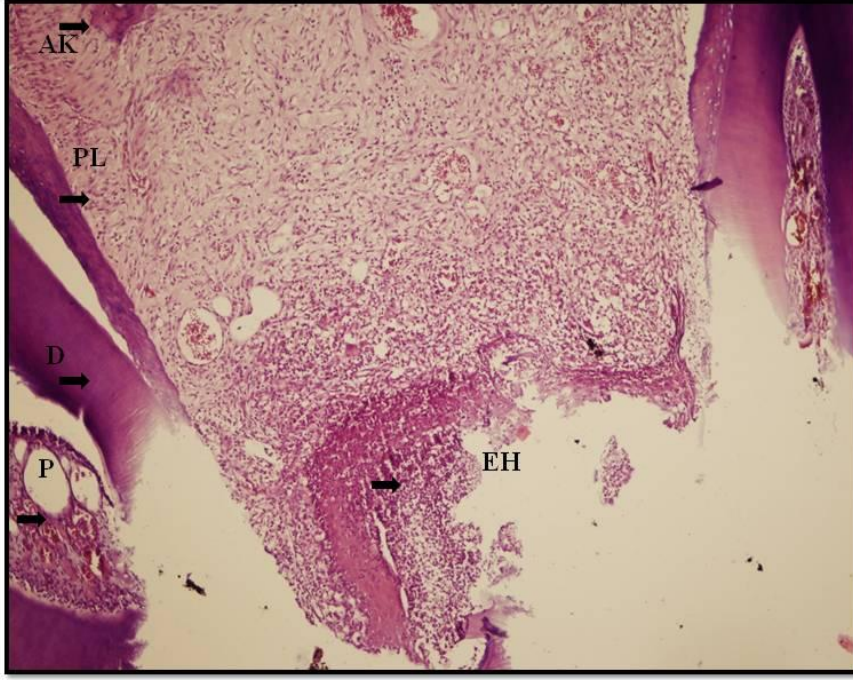
**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **ED:** Epitel Dokusu  
**P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.7. Periodontal açıdan sağlıklı ve hiçbir işlemin uygulanmadığı kontrol grubunun histopatolojik görüntüsü (H.E×100). Hafif düzeyde EHI tespit edilmiştir.



**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **EH:** Enflamatuvar Hücreler  
**P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

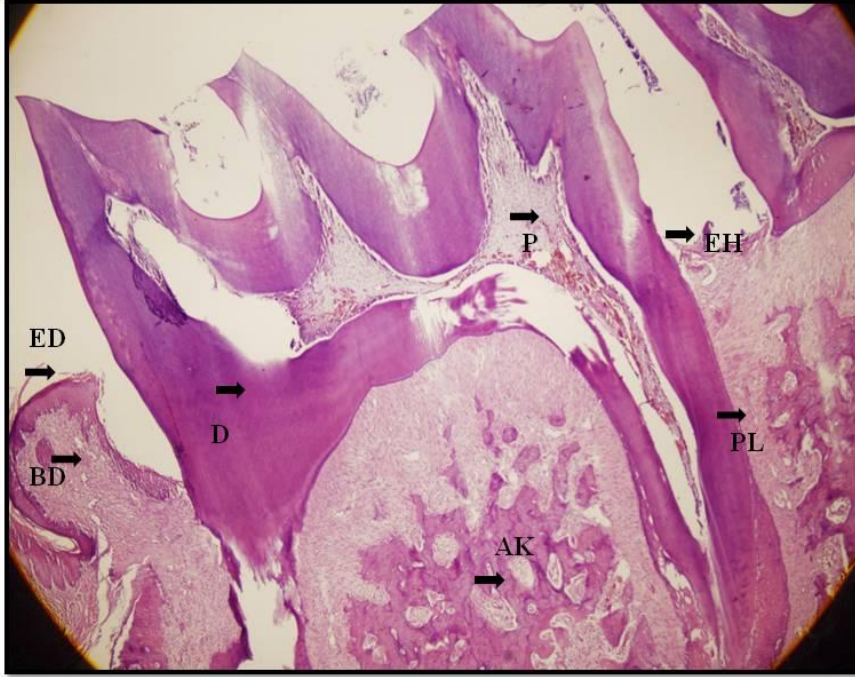
Şekil 4.8. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan periodontitis grubunun histopatolojik görüntüsü. Şiddetli düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×40).



**AK:** Alveolar Kemik, **D:** Diş, **EH:** Enflamatuvar Hücreler **P:** Pulpa,  
**PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.9. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan periodontitis grubunun histopatolojik görüntüsü. Şiddetli düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×100).





**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **ED:** Epitel Dokusu **EH:** Enflamatuvar Hücreler, **P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

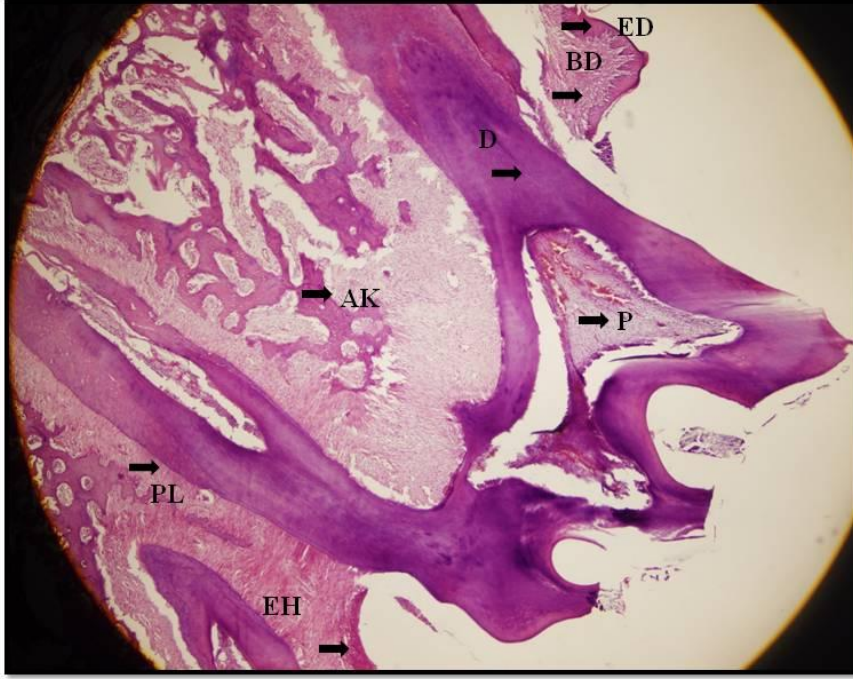
Şekil 4.10. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ I grubunun histopatolojik görüntüsü. Orta düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×40).



**AK:** Alveolar Kemik, **D:** Diş, **EH:** Enflamatuvar Hücreler, **P:** Pulpa,  
**PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.11. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ I grubunun histopatolojik görüntüsü. Orta düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×100).





**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **ED:** Epitel Dokusu,  
**EH:** Enflamatuvar Hücreler, **P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.12. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ II grubunun histopatolojik görüntüsü. Orta düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×40).



**AK:** Alveolar Kemik, **BD:** Bağ Dokusu, **D:** Diş, **EH:** Enflamatuvar Hücreler,  
**P:** Pulpa, **PL:** Periodontal Ligament.

Şekil 4.13. On bir günlük deneysel periodontitis uygulanan ASİ II grubunun histopatolojik görüntüsü. Orta düzeyde EHİ tespit edilmiştir (H.E×100).

## 4.2. Mikro Komputerize Tomografi Bulguları

### 4.2.1. Kemik Mineral Dansitesi Bulguları

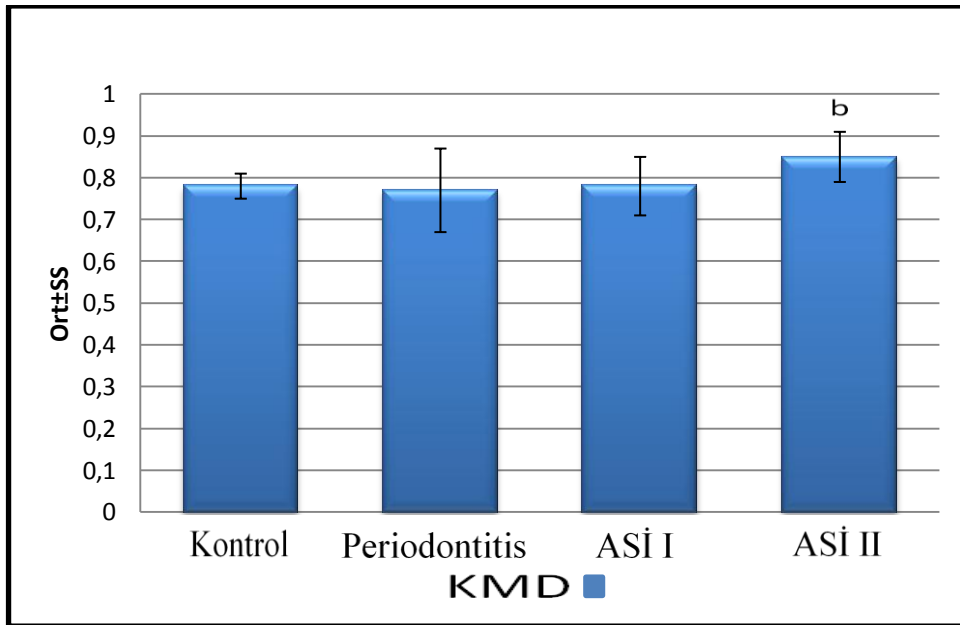
Tablo 4.4. Gruplara göre KMD bulguları

	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
<b>KMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	0,78±0,03	0,77±0,1	0,78±0,07	0,85±0,06 <sup>b</sup>	<b>0,045*</b>

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

<sup>b</sup> Periodontitis grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p < 0,05$ )  
Bu parametrenin istatistiksel analizinde Oneway ANOVA ve Man Whitney U testi kullanılmıştır.

**KMD:** Kemik Mineral Dansitesi



Şekil 4.14. Grupların KMD ortalamaları.

Grupların KMD ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (Tablo 4.4) ( $p < 0.05$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Tukey HSD testi sonucunda, periodontitis grubunun KMD ortalaması, ASİ II grubundan anlamlı şekilde düşük saptanmıştır ( $p:0.048$ ;  $p < 0.05$ ).

Diğer grupların KMD ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Şekil 4.14).

#### 4.2.2. Kemik Yıkımı Ölçümleri

Tablo 4.5. Gruplara göre kemik yıkım ölçümlerinin değerlendirilmeleri.

	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
<b>MMSS-MKK</b> (mm)	0,91±0,15	1,54±0,14 <sup>a</sup>	1,35±0,22 <sup>a,b</sup>	1,39±0,12 <sup>a,b</sup>	<b>0,001**</b>
<b>FÇ-FÇKK</b> (mm)	0,20±0,07	0,63±0,11 <sup>a</sup>	0,46±0,10 <sup>a,b</sup>	0,53±0,12 <sup>a,b,c</sup>	<b>0,001**</b>
<b>DMSS-DKK</b> (mm)	0,97±0,37	1,29±0,24	1,05±0,21	1,26±0,28	<b>0,061</b>

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$

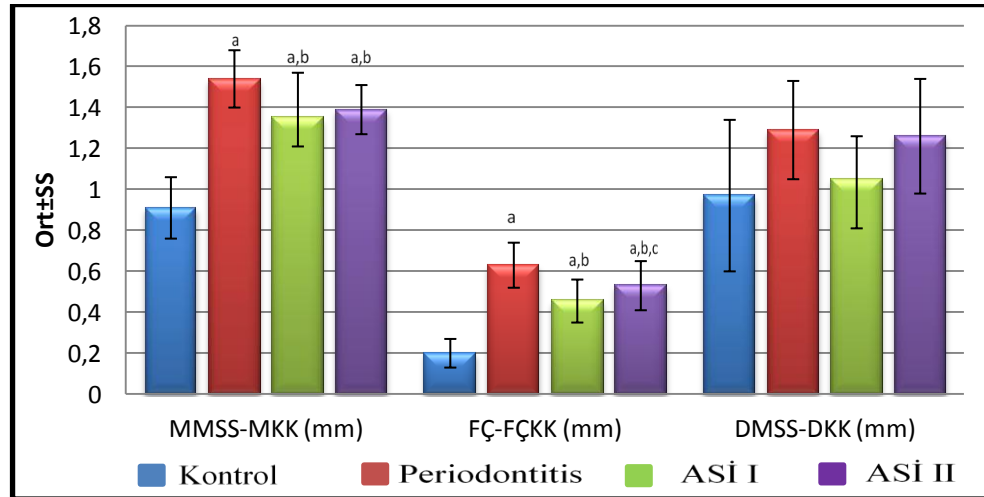
<sup>a</sup> Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p:0,001$ ,  $p<0,01$ ).

<sup>b</sup> Periodontitis grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p:0,001$ ,  $p<0,01$ ).

<sup>c</sup> ASİ I grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p:0,001$ ,  $p<0,01$ ).

Bu parametrelerin istatistiksel analizinde Kruskal Wallis ve Man Whitney U testleri kullanılmıştır.

**MMSS:** Meziyal Mine Sement Sınırı, **MKK:** Meziyal Krestal Kemik, **FÇ:** Furkasyon Çatısı, **FÇKK:** Furkasyon Çatısı Krestal Kemik, **DMSS:** Distal Mine Sement Sınırı, **DKK:** Distal Krestal Kemik.



Şekil 4.15. Grupların kemik yıkımı ortalamaları.

Grupların MMSS-MKK uzunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, kontrol grubunun MMSS-MKK ortalaması, periodontitis ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ), ASİ ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Periodontitis grubunun MMSS-MKK ortalaması, ASİ I ( $p:0.004$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.003$ ;  $p<0.01$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II gruplarının MMSS-MKK ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.5), (Şekil 4.15).

Grupların FÇ-FÇKK uzunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, kontrol grubunun FÇ-FÇKK ortalaması, periodontitis ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ), ASİ I ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Periodontitis grubunun FÇ-FÇKK ortalaması, ASİ I ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.020$ ;  $p<0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ II grubunun FÇ-FÇKK ortalaması, ASİ I grubundan ( $p:0.043$ ;  $p<0.05$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır (Tablo 4.5), (Şekil 4.15).

Grupların DMSS-DKK uzunlukları arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Farklılık anlamlı bulunmasa da, yapılan ikili karşılaştırmalarda periodontitis grubunun DMSS-DKK ortalamasının, ASİ I grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ( $p:0.020$ ;  $p<0.05$ ). Diğer grupların DMSS-DKK ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.5) (Şekil 4.15).

### 4.2.3. Kemik Yıkımı Oranları

Tablo 4.6. Gruplara göre kemik yıkımı oranlarının değerlendirilmeleri.

	Kontrol	Periodontitis	ASİ I	ASİ II	P
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
MMSS-MKK/ MMSS-MKAP	0,28±0,05	0,54±0,04 <sup>a</sup>	0,49±0,10 <sup>a,b</sup>	0,50±0,10 <sup>a,b</sup>	<b>0,001**</b>
FÇ-FÇKK/ FÇ-FÇKAP	0,07±0,02	0,26±0,05 <sup>a</sup>	0,21±0,04 <sup>a,b</sup>	0,22±0,05 <sup>a,b</sup>	<b>0,001**</b>
DMSS-DKK/ DMSS-DKAP	0,32±0,12	0,42±0,09	0,41±0,12	0,42±0,08	<b>0,190</b>

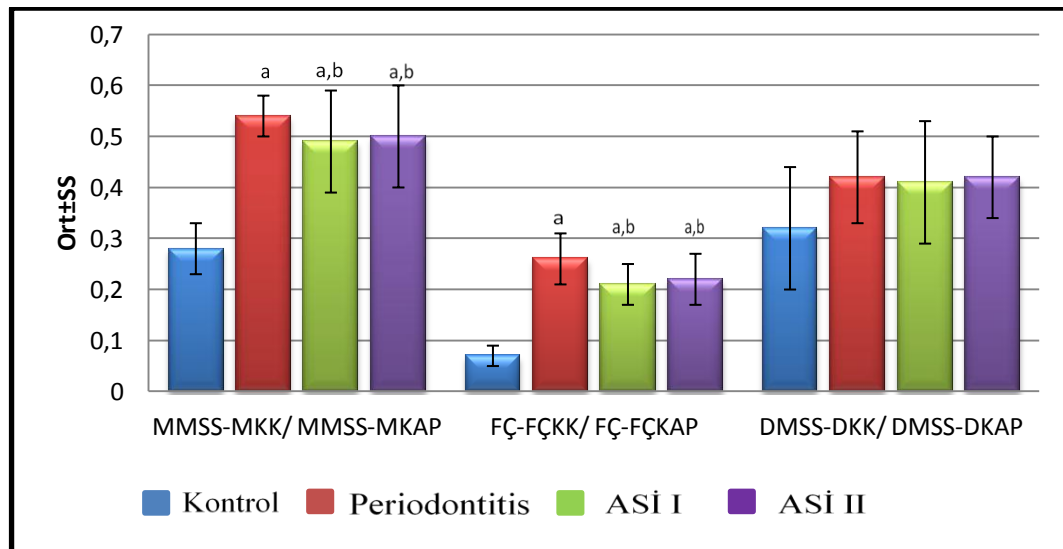
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

<sup>a</sup> Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p:0,001$ ,  $p < 0,01$ ).

<sup>b</sup> Periodontitis grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ( $p:0,001$ ,  $p < 0,01$ ).

Bu parametrelerin istatistiksel analizinde Kruskal Wallis ve Man Whitney U testleri kullanılmıştır.

**MMSS:** Meziyal Mine Sement Sınırı, **MKK:** Meziyal Krestal Kemik, **MKAP:** Meziyal Kök Apeksi, **DMSS:** Distal Mine Sement Sınırı, **DKK:** Distal Krestal Kemik, **DKAP:** Distal Kök Apeksi, **FÇ:** Furkasyon Çatısı, **FÇKK:** Furkasyon Çatısı Krestal Kemik, **FÇKAP:** Furkasyon Çatısı Kök Apeksi.



Şekil 4.16. Grupların kemik yıkımı oranları.

Grupların MMSS-MKK/ MMSS-MKAP oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını

öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, kontrol grubunun MMSS-MKK/ MMSS-MKAP oranı, periodontitis ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ), ASİ I ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II gruplarından ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Periodontitis grubunun MMSS-MKK/ MMSS-MKAP oranı, ASİ I ( $p:0.045$ ;  $p<0.05$ ) ve ASİ II ( $p:0.014$ ;  $p<0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II grubunun MMSS-MKK/ MMSS-MKAP oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.6), (Şekil 4.16).

Grupların FÇ-FÇKK/ FÇ-FÇKAP oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için yapılan Mann Whitney U testi sonucunda, kontrol grubunun FÇ-FÇKK/ FÇ-FÇKAP oranı, periodontitis ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ), ASİ I ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.001$ ;  $p<0.01$ ) gruplarından anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Periodontitis grubunun FÇ-FÇKK/ FÇ-FÇKAP oranı, ASİ I ( $p:0.004$ ;  $p<0.01$ ) ve ASİ II ( $p:0.049$ ;  $p<0.05$ ) gruplarından anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. ASİ I ve ASİ II grupları arasında FÇ-FÇKK/ FÇ-FÇKAP oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.6), (Şekil 4.16).

Grupların DMSS-DKK/DMSS-DKAP oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ), (Tablo 4.6), (Şekil 4.16).

## 5.TARTIŞMA

Arjinin silikat inositol bileşiminin, kemik dokusunun osteoblastik aktivitesini, Ca ve P mineral miktarını arttırabileceği çeşitli çalışmaların sonuçları ile ortaya koyulmuştur. Ayrıca ASI bağ, kemik, kıkırdak ve vasküler dokuların kollajen miktarını arttırabilmektedir. Periodontal hastalıklar, kemik ve bağ dokusunun kaybıyla ilişkili hastalıklardır. Bu hastalıkların önlenmesinde kemik ve bağ dokusu oluşumunu arttırabileceği rapor edilen bu bileşim etkili olabilir. Bununla birlikte, literatürde periodontal hastalıkların önlenmesinde ASI'nin etkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada 4 grupta toplam 52 rat üzerinde periodontal doku yıkımının önlenmesinde ASI kompleksin etkilerinin biyokimyasal, histopatolojik ve radyolojik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, ASI kompleksin periodontal dokulardaki hücresel ve moleküler düzeydeki etkileri ile enflamatuvar periodontal hastalıklardaki doku yıkımını önleyebileceğini ve konak modülasyonunda değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Dental plaktaki patojen bakteriler ve konak cevabı arasındaki denge, periodontal doku yıkımında anahtar rol oynamaktadır. Periodontal hastalıkların doku yıkım patogenezinde meydana gelen biyolojik mekanizmaların işleyişi, araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Hayvan çalışmaları, periodontal hastalıkların kompleks doku yıkım mekanizmasının araştırılması ve uygun tedavi yöntemlerinin ortaya çıkarılması açısından değerli yöntemlerdir (192). Bu çalışmada bakteri-konak etkileşimi, doku yıkım patogenezini ve tedavi çalışmalarında sıkça kullanılan bir model olan hayvan çalışması tercih edilmiştir. Literatürde deneysel periodontitis çalışmalarında maymun, köpek, tavşan, hamster, fare ve rat gibi hayvan türlerinin kullanıldığı görülmektedir (192-194). Ratlar ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları, steril ortamlarda üretilibilmeleri, dayanıklı olmaları, bakım kolaylığı ve kedi, köpek gibi diğer hayvanlara göre uygulanan ilaca doku cevabının hızlı olmasından kaynaklanan kısa çalışma süresi gibi avantajlarından dolayı deneysel periodontitiste yaygın olarak kullanılan hayvanlardır (192, 195-198). Hayvan çalışmalarında wistar



veya spraque dawley rat türleri en yaygın kullanılan rat türleridir (194, 199). Bu çalışmada spraque dawley dişi ratlar kullanılmıştır.

Deneyel periodontitis çalışmalarında LPS uygulaması, oral bakteriyel gavaj, cerrahi defekt oluşturulması ve ligatür bağlanması gibi yöntemler uygulanmıştır (188, 193, 200-204). İpek sütürün ligatür olarak kullanıldığı model literatürde kullanışlı bir model olarak yerini almıştır. Bu modelde ipek sütürün bağlanması ile birlikte dentogingival alanda meydana gelen mekanik travma sonucunda doku bütünlüğü bozulur, akut bir enflamasyon tablosu görülür ve yoğun konak-plak etkileşimi ile doku yıkımı meydana gelir. Akut enflamasyon zamanla kronik hal alır. Bakteriyel kolonizasyona karşı meydana gelen konak cevabıyla enflamatuvar hücre birikimi, osteoklast oluşumu, kemik kaybı ve periodontal ataçman kaybı meydana gelir (188, 205). Ligatür bağlanarak oluşturulan periodontitiste plak birikimiyle birlikte meydana gelen doku yıkımı doğala daha yakın bir periodontitis modelinin elde edilmesini sağlar (188, 205). Bu çalışmada literatürdeki verilere dayanarak ligatür bağlama yöntemiyle deneyel periodontitis modeli uygulanmıştır. Bu çalışmadaki deneyel periodontitis oluşturulan II. Gruba (periodontitis grubu) ait doku yıkım parametrelerinin (RANK, RANKL, MMP-8, IL-1 $\beta$ , MPO, PMNL infiltrasyonu, alveolar kemik yıkımı, CRP) kontrol grubuna göre daha yüksek, yapım parametresinin (OPG) ise daha düşük olması daha önce rapor edilen ve ligatürle deneyel periodontitis oluşturulmasını öneren çalışmalarla uyumludur (74, 119, 133, 144, 188, 205-207).

De Lima ve ark. (208), ratlarda yaptıkları deneyel periodontitis çalışmasında alveolar kemik yıkımının önemli kısmının ligatür bağlanmasından 7 gün sonra başladığını, 7. ve 11. günler arasında en yüksek seviyeye ulaştığını ve 14. günden itibaren azaldığını ifade etmişlerdir. Sallay ve ark. (209), ratlarda yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde ederek ligatür bağlanmasının ardından 9 gün sonra maksimum kemik yıkımının görüldüğünü belirtmişlerdir. Toker ve ark. (188, 205) da ratlarda yaptıkları çalışmalarında 11 günlük deneyel periodontitis uygulayıp en fazla yıkımın ilk 11 günde meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Kuhr ve ark. (210), rat molar dişlerinde ipek sütürle periodontitis oluşturarak 1., 15., 30. ve 60. günlerde aldıkları kesitlerde alveolar kemik yıkımını inceleyerek, en fazla kemik kaybının ilk

15 günlük sürede meydana geldiğini, 30. ve 60. günlerde kemik kaybının düşük düzeyde artışla meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada De Lima ve ark.'nın (208) yaptıkları çalışmaya uygun olarak ilk 11 gün alveolar kemik yıkımının maksimum seviyede olmasından dolayı 11 günlük deneysel periodontitis oluşturulan model uygulanmıştır.

Periodontal hastalıkların tedavisinde konak modülasyonu; hastalığa yatkın bireylerde doku yıkımına neden olan yıkıcı mediyatörler ve koruyucu mediyatörler arasındaki bozulan dengenin koruyucu mediyatörler lehine düzenlenmesidir. Tetrasiklinler, antiinflamatuvar ilaçlar, bifosfonatlar, mine matriks proteinleri, büyüme faktörleri, kemik morfogenetik proteinleri ve antioksidanlar ile birlikte pek çok materyal konak modülasyonu amacıyla araştırmacılar tarafından incelenmiştir (5, 7-10). Günümüzde konak modülasyonunda yeni materyaller ile ilgili çalışmalar devam etmesine rağmen sadece düşük doz doksisisiklin ve mine matriks proteinleri konak modülasyonu için Amerikan Gıda İlaç Dairesi tarafından klinik kullanıma onay verilmiş materyallerdir. Arjinin silikat inositol kompleksin kemik, bağ ve vasküler dokuların kollajen miktarını ve osteoblastik aktiviteyi arttırabileceğini rapor eden sınırlı sayıda çalışma vardır. Diğer taraftan ASI'yi oluşturan arjinin ve silikonun immün sistem fonksiyonlarını, kemik ve bağ dokusu üzerine iyileşmeyi artırıcı etkilerini rapor eden daha güçlü bilimsel kanıtlar mevcuttur (221, 223, 169). Bu bilimsel veriler ışığında, bu çalışmada periodontal hastalıkların önlenmesinde konak modülasyonu amacıyla ASI'nin etkilerini araştırmayı amaçladık.

Seaborn ve ark. (211), arjinin ve silikonun birlikte kullanıldıklarında emilimlerini ve kemik mineralizasyonuna etkilerini incelemişlerdir. Dört grupta 21 günlük ratlarda yapılan çalışmada I. Grup, kontrol grubu olarak kabul edilerek standart diyetle beslenmiş (2,3 mikro-g/g silikon ve yeteri kadar arjinin), II. Gruba standart diyete 5 mg/g arjinin, III. Gruba 35 mikro-g/g silikon ve IV. Gruba ise 35 mikro-g/g silikon ve 5mg/g arjinin katılarak 8 hafta verilmiştir. Çalışmada arjinin ile silikon verilen grupta femur ve vertebralarda Ca mineral yoğunluğu diğer gruplardan daha fazla tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, aynı çalışmada arjinin ve silikonun birlikte verildiği grupta silikonun emiliminin diğer gruplara göre daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Proctor ve ark. (11, 12), obez insüline dirençli ratlarda arjinin ile

ASİ'nin emilimini karşılaştırmışlar ve ASİ kompleksin sadece arjinin verilen ratlara göre gastrointestinal sistemde daha etkin emilebildiğini, plazmadaki arjinin ve silikon seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, aynı zamanda ASİ'nin endotelial hücre fonksiyonunu üzerinde iyileşmeyi artırıcı önemli etkileri olabileceğini de belirtmişlerdir. Bu sonuçlar arjinin ve silikonun birlikte kullanıldıklarında sadece silikon ve sadece arjinine göre daha iyi emilebildiğini ve daha etkin olduğunu doğrulamaktadır. Arjinin silikat inositol kompleksin temel etkili materyalleri arjinin ve silikondur. Bu iki materyalin birlikte kullanımının daha etkili olduğunu gösteren çalışma sonuçları sebebiyle bunlar için bağlayıcı olabilecek maddeler üzerinde durulmuştur. Bu amaçla literatürde sorbitol ve mannitol gibi ürünlerinde kullanılabileceği rapor edilmesine rağmen araştırmacılar tarafından inositol tercih edilmektedir. İnositol glikozun basit bir izomeri olup arjinin ve silikonu hidrojen bağlarıyla birbirine bağlayıcı görevi yapmaktadır. Literatürde ilk kez arjinin ve silikonu bir kompleks halinde elde etmek amacıyla inositolün kullanımını rapor eden Mc Carty ve ark. (212)'dir. Bu yüzden biz de çalışmamızda arjinin ve silikonun birlikte kullanıldıklarında tek başlarına kullanımına göre daha etkin sonuçlar elde edilebilmesinden yola çıkarak konak modülasyonu amacıyla ASİ'yi kullanmayı tercih ettik.

Şahin ve ark. (13) ile Önderci ve ark. (14), kanatlı hayvanlarda ASİ kompleksi 500 mg/kg ve 1000 mg/kg olarak diyet ile verdikleri çalışmalarında ASİ'nin kemik dokusuna etkisini incelemişlerdir. Çalışmada her iki grupta doza bağlı olarak kontrol gruplarına göre tibiaadaki KMD, Ca, P, serumdaki osteokalsin ve ALP miktarlarında artış tespit etmişlerdir. Küçükbaş ve ark. (213), balıklarda yaptıkları çalışmada kontrol grubunu 500 mg/kg ve 1000 mg/kg ASİ verilen iki gruba karşılaştırmışlardır. Doza bağlı olarak ASİ desteğinin balıklarda solungaçdaki KMD, serumdaki ALP, Ca, P ve vücuttaki Ca, P, Mg, Mn ve Zn mineral konsantrasyonunda artışla sonuçlandığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise serum Ca, P ve ALP miktarları değerlendirildiğinde sadece ASİ I grubunun serum Ca miktarı, ASİ II grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla tespit edilmiştir. Alkalen fosfataz ve P miktarları arasında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda serumdaki kemik yapım belirteçleri olan ALP, Ca ve P seviyelerinde gruplar arasında belirgin farkların

olmaması ASI'nin serumdaki kemik yapım belirteçlerini arttırdığını rapor eden Şahin ve ark. (13), Önderci ve ark. (14) ve Küçükbay ve ark.'nın (213) çalışmalarının sonuçları ile çelişmektedir. Diğer taraftan kemik metabolizmasının değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda bizim sonuçlarımıza benzer olarak, klinik ve bazı laboratuvar parametrelerinde anlamlı değişimler gözlenmesine rağmen serumdaki Ca, P ve ALP seviyelerinde önemli değişimlerin olmadığını rapor eden çalışmalar mevcuttur. Hejdova ve ark. (214), 18 osteoporotik kadın üzerinde bir yıllık kalsitonin desteğinin kemik dokusuna etkilerini biyokimyasal yöntemlerle serumda incelemiştir. Çalışmada kalsitoninin kemik dokusu üzerine etkilerini başlangıç ve 6. ayda serum kemik belirteçleri olan ALP, osteokalsin ve deokspiridinolin/kreatin oranı ile değerlendirmiş, kemik yapım belirteçleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edememişlerdir. Goez ve ark. (215), deneysel periodontitisin önlenmesinde bifosfonatların etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında ratlarda 11 gün deri altından bifosfonat enjekte ederek serum total ALP miktarının bifosfonat verilen gruplarda düştüğünü rapor etmişlerdir. Spolidorio ve ark. (216), immün sistem baskılayıcı siklosporinin yan etki olarak kemik dokusu yıkımına neden olduğunu belirterek siklosporinin alledronatla birlikte sistemik olarak verildiğinde (deri altından) alveolar kemik yıkımına ve serumdaki kemik belirteçleri ALP, Ca, osteokalsin ve tartar rezistant asit fosfataz'a etkilerini kontrol grubuyla karşılaştırarak incelemiştir. Araştırmacılar, 60 günlük çalışmanın sonunda kontrol grubuyla birlikte yalnızca alledronat ve siklosporinin alledronatla birlikte verildiği gruplar arasında serum ALP, Ca ve tartar rezistant asit fosfataz seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edememişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir. Mevcut literatüre göre bu farklılığın sebebi bizim kullandığımız çalışma modelinden kaynaklanabilir. Şahin ve ark. (13), Önderci ve ark. (14) ve Küçükbay ve ark. (213), çalışmalarında denekleri besledikten hemen sonra sakrifiye ederek serumlarını değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise ASI kompleks ile beslendikten sonra 11 günlük normal diyetle beslenme süresinin ardından denekler sakrifiye edilmiştir. Alkalen fosfataz serum yarılanma ömrü 1-2 gündür (217). Bu bakımdan ALP'nin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaması serum yarılanma ömrünün kısa olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca bizim çalışmamızda serum ALP, Ca ve P

seviyelerinin gruplar arasında belirgin fark göstermemesi, Yılmaz ve ark.'nın (218) çalışmalarında elde ettikleri sonuçlara benzerdir. Yılmaz ve ark. (218), osteoporotik ve osteoporotik olmayan 77 kadında kemik yapım-yıkım döngüsünü değerlendirmiş; serum ALP, Ca ve P seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı bulmamış, kemik yapım-yıkım döngüsünün değerlendirilmesinde yıkım belirteçlerinin yapım belirteçlerinden daha etkin olduğunu rapor etmişlerdir. Dolayısıyla gruplar arasında serum ALP, Ca ve P seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olmamasını bu bulgular izah edebilir. Bizim çalışmamız Spilodorio ve ark.'nın (216) çalışmasına benzer olarak kemik dokusuna etki ettiği düşünülen ASİ'nin deneklere sistemik (diyetle) olarak verildiği bir çalışma modelidir. Bizim çalışmamızda da Spilodorio ve ark.'nın (216) çalışmasına benzer şekilde kemik belirteçleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu açıdan da değerlendirildiğinde bizim sonuçlarımız literatürdeki bu çalışmayı desteklemektedir.

Toker ve ark. (188, 205), rat molar dişlerinin etrafına ipek sütür bağlayarak periodontitis oluşturdukları çalışmalarında, ipek sütürün doku ile temas ettiği bölgelerde meydana gelen plak birikimi ile bakteri birikiminin arttığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, patojen bakterilere karşı oluşan konak cevabı ile lökosit ve mononükleer hücreler gibi enflamatuvar hücrelerin çoğaldığını, böylece doku yıkımının oluştuğunu belirtmişlerdir. Toker ve ark. (188, 205), rat periodontal dokularında lokal enflamatuvar cevabı histolojik olarak EHI'yi inceleyerek değerlendirmişlerdir. Hemmerle ve ark. (219), ratlara siklosporin vererek dolaşımdaki PMNL sayısını ve periodontal dokulara bakteri invazyonunu incelemişlerdir. Araştırmacılar, siklosporin verilen deneklerde bakterilerin periodontal dokulara invazyonunun ve doku yıkımının arttığını, PMNL sayısının azaldığını rapor etmişlerdir. Sallay ve ark. (209) da çalışmalarında immünsüpresif ratların periodontal dokularında bakteriyel invazyonun ve doku yıkımının daha fazla olduğunu, sistemik olarak lökosit ve mononükleer hücre sayılarındaki azalmanın dişetinde de meydana geldiğini, bu durumun doku yıkımına zemin hazırladığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ASİ'nin periodontal dokulardaki lokal enflamatuvar cevaba etkilerini incelemek amacıyla EHI histolojik olarak değerlendirilmiştir.

Arjinin patojenlere karşı PMNL, makrofaj ve mononükleer hücrelerin antimikrobiyal etkinliği için ihtiyaç duyulan NO'nun prekürsörüdür ve üretiminde gerekli bir aminoasittir (220). Moffat ve ark. (221), yaptıkları in-vitro çalışmada arjininin NOS (nitrik oksit sentataz) üretimini etkileyerek PMNL'nin stafilokokkus aureus bakterisine karşı fagositik etkilerinde artış meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Lökositler, LPS ile uyarıldıklarında NO'dan indüklenebilir NOS üretir. Bu mekanizma doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminin önemli bir parçasıdır. Makrofaj ve nötrofillerde indüklenebilir NOS'nin üretilmesi virüslere, bakterilere, mantarlara, malign hücrelere, hücre içi protozoalara, parazitlere karşı bu hücrelerin antimikrobiyal fonksiyonlarında temel rol oynar (222). Henrotte ve ark. (223), yaptıkları hücre kültürü çalışmasında 10 mg/l silikon içeren çözeltide lenfositlerin çoğalma aktivitelerinin uyarıldığını rapor etmişlerdir. Schiano ve ark. (169) da insanlarda, silikonun ağız yoluyla veya kas içine enjekte edilerek verildiğinde serumdaki lenfosit ve immünoglobulinlerde (özellikle IgG) artış meydana getirdiğini, bu artışın immün fonksiyonlara katkıda bulunabileceğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları, ASİ'yi oluşturan bileşiklerin immün cevabı arttırarak konak savunmasında rol oynayabileceklerini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda ASİ gruplarında EHI'nin periodontitis grubundan daha az olduğu görülmüştür. ASİ II grubunda ise ASİ I'den daha az EHI tespit edilmiştir. Bu bulgular, literatürdeki ASİ kompleksi oluşturan arjinin ve silikonun enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini rapor eden çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Ayrıca lokal enflamasyondaki azalmanın doku yıkımını da azaltmasından dolayı bu bulgular ASİ'nin periodontal doku kaybının daha az meydana gelmesine etkilerini açıklayabilir.

Myeloperoksidaz enzimi, nötrofillerin azurofilik granüllerinde üretilir. Periodontal hastalık şiddetini, nötrofil akümülyasyonunu ve OS'yi değerlendirmekte önemlidir (133, 140). Dolayısıyla bu çalışmada gruplar arasında OS'nin değerlendirilmesinde MPO tercih edilmiştir. Arjininin ROT'nin zararlı etkilerini önleyen bir antioksidan olduğu yönünde çalışmalar yapılmıştır (224, 225). Arjininin metabolize edilmesi ile üretilen NO, OS'nin artmasına sebep olan serbest radikalleri bağlayarak antioksidan etki göstermektedir (224). Huang ve ark. (225), ratlarda yaptıkları egzersiz çalışmalarında arjinin desteğinin OS parametreleri üzerine olan

etkilerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar egzersiz grubunda arjinin desteğinin kas, karaciğer ve böbrek dokularında xanthine oxidase, MPO ve malondialdehit seviyelerini azaltarak antioksidan etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Chen ve ark. (224), peritonitis oluşturdıkları ratlarda parenteral yolla verilen arjininin antioksidan etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada toplam kalori miktarının % 4'ü olacak şekilde parenteral yolla verilen arjininin lipid peroksidasyonunu azalttığı ve antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir. Montinaro ve ark. (226), silikonun bir formu olan zeolitin antioksidan etkilerini ratlarda ve hücre kültüründe değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, nöron benzeri hücrelerde zeolitin ROT'nin üretimini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada farelerde zeolitin hipokampusta bir antioksidan olan süperoksit dismutazın üretimini arttırarak OS'nin nörodejeneratif etkisinin önlenmesinde rol aldığı rapor edilmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçlarında ASİ ürünlerinin antioksidan aktiviteyi artırarak, oksidan aktiviteyi ise azaltarak dokuların korunmasında faydalı etkileri olabileceği görülmektedir. Bu çalışmada periodontitis grubunun MPO seviyesinin istatistiksel olarak ASİ I ve II gruplarından fazla olması da daha önceden yapılan bu çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Ayrıca ASİ I grubunun MPO seviyesinin ise ASİ II grubundan fazla olması da ASİ'nin OS üzerine etkilerinin doza bağlı olarak değişebileceğini gösteren bulgulardır.

Tan ve ark. (227) arjinin diyetle besledikleri kanatlı hayvanlara LPS enjekte ederek sistemik enflamasyonu değerlendirmişlerdir. Timusta CD11+, CD14+ ve B hücre sayılarını, TLR4 ve IL-1  $\beta$  seviyelerini, tonsillerde NFk- $\beta$ , TLR4, IL-10 ve IL-1  $\beta$  seviyelerini arjinininle desteklenmeyen deneklere göre belirgin şekilde düşük tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu durumun arjininin TLR4 mekanizmasını baskılayarak ve CD14+ hücre yüzdesini azaltarak proenflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımını engellemesinden kaynaklanabileceğini ifade etmiştir. Ayrıca, arjinin verilen deneklerde dolaşımdaki B hücresi sayısının daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Torricelli ve ark. (29), arjininin osteoblast hücrelerine etkilerini incelemiş ve kemik dokusunun yıkımında rol oynayan IL-6'nın üretiminin arjinin uygulanan osteoblastlarda azaldığını rapor etmişlerdir. Akuginowa ve ark. (228), silikondan eksik diyetle beslenen fare lenfositlerinin mikobakteriyel antijenlere karşı çoğalma aktivitesinin bozulduğunu, diyete katılan silikon ile bu fonksiyonun

düzelmesini rapor etmişlerdir. Bunlara ek olarak Seaborn ve ark. (229), ratlarda yeteri kadar silikon ve normal düzeyde arjinin desteğinin maksimum lenfosit çoğalması sağladığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada IL-1 $\beta$  seviyesinin ASİ I ve II gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde periodontitis grubundan az olduğu, ASİ II grubunda ise ASİ I grubundan daha az olduğu bulundu. Bu sonuçlar, ASİ'yi oluşturan bileşiklerin lenfosit artışı ve proenflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımının engellenmesi gibi önemli mekanizmalarla immün sistem üzerinde etkili olduğunu rapor eden çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

Barbul ve ark. (230), politetrafloroetilen tüpleri deri altına yerleştirdikleri insanlarda, 14 günlük 25 gr diyetle verilen arjininin tüpün etrafındaki kollajen akümülyasyonuna etkilerini incelemişlerdir. Kirk ve ark. (231) da benzer bir çalışmada iki haftalık 30 gr arjinin desteğinden sonra deri altına yerleştirdikleri politetrafloroetilen tüpün etrafındaki hidroksiprolin akümülyasyonunu değerlendirmişlerdir. Her iki çalışmada da araştırmacılar arjinin desteği verilen gruplarda kollajen sentezinin belirteci olan hidroksiprolin akümülyasyonunu daha fazla bulmuşlardır. Ayrıca aynı çalışmalarda, arjinin verilen gruplarda serum lenfositlerinin çoğalma aktivitelerinde ve antimikrobiyal etkilerinde artış meydana geldiği rapor edilmiştir. Calomne ve ark. (36), hayvanlarda düşük doz silikon desteğinin deneklerin derilerinde kollajen akümülyasyonunda artış meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Reffitt ve ark. (37) da deri fibroblast kültüründe silikon ile kollajen sentezinin arttığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da MMP-8 seviyesinin ASİ I ve II gruplarında periodontitis grubundan istatistiksel olarak daha az olması, kollajen yıkımının daha az olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Arjinin ve silikonun hidroksiprolin akümülyasyonunu artırarak veya proenflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımını engelleyerek kollajenaz üretiminin azalmasına sebep olabilebileceğini rapor eden çalışmaların sonuçları bu çalışmada elde edilen MMP-8 seviyesinin ASİ kullanılan gruplarda daha az olmasını açıklamaktadır. Diğer taraftan ASİ kullanılan gruplar arasında farklılık olmaması bu etkinin sınırlı olabileceğini işaret etmektedir.

Toricelli ve ark. (29), insan osteoblastlarında arjininin kemik yapım belirteçleri olan ALP, NO, tip 1 kollajen ve İBBF gibi parametreleri belirgin derece



arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu belirteçler kemik dokusuna hücresel düzeyde etki ederek kemik matriks sentezini arttırmaktadır. Torricelli ve ark. (29), arjininin kemik dokusundaki etkilerinin hücre proliferasyon mekanizmasına doğrudan etkisi ile ilgili olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada IL-6'nın üretiminin arjinin uygulanan osteoblastlarda azaldığı belirlenmiştir. Schroder ve ark. (232) ve Wiens ve ark. (233), silikat uygulanan osteoblast benzeri hücrelerde OPG üretiminin arttığını RANKL üretiminde ise bir değişiklik meydana gelmediğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, OPG salınımlarında artmanın RANKL'in aktivitesini dolayısıyla osteoklastogenezisi baskıladığını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Maehira ve ark. (234), fare osteoblastlarında silikonun OPG/RANKL oranında belirgin bir artış meydana getirerek osteoklastogenezisi baskıladığını bildirmişlerdir. Schutze ve ark. (235), hücre kültüründe silikonun osteoklast aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir. Hung ve ark. (236), silikonun fare osteoblastlarında RANKL'ı baskılayarak osteoklast baskılayıcı etkisini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda periodontitis grubunun RANK ve RANKL seviyesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ASİ I ve II gruplarından yüksek tespit edilirken, OPG seviyesi ise düşük tespit edilmiştir. Reseptör aktivatör nükleer faktör kapp- $\beta$  ligand/OPG oranları radyolojik ölçümlerdeki kemik yıkımı ile benzer biçimde periodontitis grubunda ASİ verilen gruplardan fazla tespit edilmiştir. Arjinin silikat inositol I ve II gruplarında OPG'nin RANKL'a göre fazla üretilmesi, RANKL'ın RANK'a bağlanarak meydana getirdiği kemik yıkımını baskılayabilir. Bu yüzden ASİ'li gruplarda kemik yıkımındaki azalma, arjinin ve silikonun hücresel düzeydeki osteoblastik etkilerinden kaynaklanmış olabilir. Arjinin silikat inositol'ün, osteoblastik etkilerini arjininin osteoblast hücrelerinin proliferasyonunu ve kemik matriks sentezini doğrudan arttırması (29), IL-6 üretimini baskılaması ile (29) ve silikonun da OPG üretimini arttırması ve/veya RANKL üretimini baskılaması ile (232, 233, 236) meydana getirdiğini ifade edebiliriz.

Reseptör aktivatör nükleer faktör kapp- $\beta$  ve RANKL değerleri ASİ I ve II grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmemiştir. Osteoprotegerin değeri ise ASİ II grubunda ASİ I grubundan daha fazla tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki silikonun RANKL salınımlarını değiştirmedeğini ve/veya baskıladığını ve OPG salınımlarını ise arttırdığını rapor eden çalışmalarla benzerdir (232, 233, 236).

Diğer taraftan insan osteoblastlarında arjininin, kemik yapım belirteçleri olan tip 1 kollajen, ALP, NO ve İBBF gibi parametreleri belirgin derece arttırdığı rapor edilmiştir. Bu belirteçler kemik dokusuna hücresel düzeyde etki ederek kemik matriks sentezini arttırmaktadır (29). Arjinin, OPG seviyesinin ASİ II grubunda, ASİ I grubundan fazla olmasına katkı sağlamış olabilir. Bu yüzden ASİ'nin doza bağlı olarak OPG salınımını arttırabileceğini fakat RANKL salınımına etkilerinin sınırlı olduğunu ifade edebiliriz.

Kemik yıkımını değerlendirmek için morfometrik, histomorfometrik, periapikal film ve MKT gibi değişik yöntemler kullanılabilir (9, 188, 237, 238). Mikro komputerize tomografi ile mesafe ölçümü daha ayrıntılı ve hassas sonuçlar vermektedir (239). Dolayısıyla bu çalışmada kemik yıkımı ölçümünde MKT kullanılmıştır. Kuhr ve ark. (210), ratlarda periodontitis oluşturarak periodontal kemik yıkımının değerlendirilmesinde mesafe ölçümü (mine sement sınırı ve alveolar kemik kreti arasındaki mesafe) ve alan ölçümü (kemik yıkımı görülen kök yüzeyindeki alanların ölçümü) yöntemlerini karşılaştırmış, alan ölçüm yönteminde kemik yıkımının gruplar arasında anlamlı olmadığı halde mesafe ölçümünde anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. Kuhr ve ark. (210), alan ölçümü metodunda ligatürün 2. molar dişe bağlandığı için ligatürün uygulanmadığı 1.molar dişin distal, 3.molar dişin de mezial kısımlarındaki kemik alanlarının değerlendirilmeye katıldığını, mesafe ölçüm yönteminde ise ligatürün uygulandığı alanlarda her bir diş için çok sayıda mesafe ölçümü yapılabilmesinin kemik yıkımının tam olarak değerlendirilmesini sağladığını belirterek sonuçların farklı çıkmasını bu şekilde açıklamışlardır. Bu çalışmada Kuhr ve ark.'nın (210) çalışmalarına uygun şekilde örneklerin herbirinden alınan bukkal-lingual yönde 10'ar adet sagittal kesit ölçümlerinin ortalamaları alınarak mesafe ölçümü yapılmış ve kemik yıkımı değerlendirilmiştir. Mikro komputerize tomografi ölçümlerinde mezial ve furkasyon bölgelerinde alveolar kemik kaybı miktarının periodontitis grubunda ASİ verilen gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildiği görülmektedir. Arjinin silikat inositol I grubunda ise ASİ II grubundan daha az kemik yıkımı ölçülmüştür. Distalde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Daha hassas bir değerlendirme yapmak için mezial, furkasyon ve distal kısımda kemik yıkımı oranları değerlendirildiğinde mezial ve furkasyon kemik yıkım oranlarının ASİ I ve

II gruplarında periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak daha az olduğu, ASİ'li gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Distal kemik yıkım oranlarının ise gruplar arasında benzer olduğu görülmüştür. Arjinin silikat inositol kompleks verilen gruplarda meziyal ve furkasyon bölgesi kemik yıkım oranlarının periodontitis grubundan daha az olmasında ASİ ürünlerinin etkili olduğu söylenebilir. Arjinin kemik yapım belirteçleri İBBF, ALP, NO ve tip 1 kollajeni arttırarak kemik dokusunu hücresel düzeyde etkilemiş böylece kemik matriks sentezini ve hücre çoğalmasını arttırarak osteoblastik etki göstermiş olabilir (29). Ayrıca arjininin osteoblast hücrelerinde IL-6 üretimini baskılaması ASİ'li gruplarda kemik yıkımını azaltan diğer etken olabilir (29). Diğer taraftan silikonun OPG salınımını arttıran ve/veya RANKL salınımını baskılayan antiosteoklastik özelliği de kemik dokusunun yıkımını engelleyerek meziyal ve furkasyon bölgesinde kemik yıkım oranlarının ASİ'li gruplarda periodontitis grubuna göre daha az olmasını sağlamış olabilir. Bununla birlikte ASİ verilen gruplar arasında kemik yıkımı oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiş olması, ASİ'nin kemik dokusu üzerine etkilerinin sınırlı olabileceğini gösterebilir. Ayrıca ASİ II grubuna ASİ I grubunun iki katı olacak şekilde ASİ verilmiştir. Kullanılan iki farklı dozun kemik yıkım oranlarına etkilerinin benzer olması ASİ için optimal etkin dozun tespit edilebilmesi amacıyla çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Mikro komputeze tomografi değerlendirmelerinde periodontitis grubunun KMD'sinin ASİ II grubundan anlamlı düzeyde daha düşük saptanması ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farkın olmaması ASİ desteğinin KMD'yi doza bağlı olarak arttırdığını rapor eden Şahin ve ark. (13), Önderci ve ark. (14) ve Küçükbay ve ark.'nın (213) çalışmalarıyla uyumlu değildir. Bu sonuçlar Hejdova ve ark.'nın (214) postmenapozal osteoporozlu kadınlarda kalsitonin vererek yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri sonuçlara benzerdir. Araştırmacılar, 18 osteoporozlu kadında bir yıllık kalsitonin tedavisinden sonra dual enerji X ray abzorbometri ile femurun KMD'sini değerlendirilmiş, bir yıllık süre sonunda vertebra KMD'sinde artış tespit ederken, femur KMD'nin değişmediğini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kemik dokusuna etki ettiğini düşündüğümüz ASİ 8 haftalık sürede deneklere verilmiştir. Hejdova ve ark. (214) ise kemik dokusunda kalsitoninin etkinliğini bir yıllık tedavi döneminden sonra incelemelerine

rağmen femurun KMD'sinde belirgin bir artış elde edememişlerdir. Araştırmacılar bu sonucun vertebranın trabeküler kemik miktarının femura göre fazla olmasından kaynaklandığını, femurdaki kortikal kemik miktarının fazla olmasının ise kalsitonin gibi kemik dokusunu etkileyen materyallerin femuru etkileyebilmesi için daha uzun süre kullanılması gerektiğini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda Hejdova ve ark.'nın (214) çalışmalarına göre kısa bir süre olan 8 haftalık sürede ASİ deneklere verilmiş ve KMD alt çenede değerlendirilmiştir. Bu nedenle ratların alt çeneleri Hejdova ve ark.'nın (214) çalışmalarındaki gibi femura benzer metabolik özellik göstererek ASİ'den 8 haftalık sürede KMD'yi değiştirecek kadar etkilenmemiş olabilir. Ayrıca kemik dokusunu etkilediği düşünülen materyaller iskelet sisteminin farklı bölgelerini metabolik özelliklerine göre farklı düzeyde etkileyebilir.

Peridodontal doku yıkımında yer alan patojenler sadece lokal enflamasyona ve doku yıkımına sebep olmaz, aynı zamanda CRP'nin de dahil olduğu akut faz proteinlerinin üretimini arttırarak sistemik enflamasyona da sebep olabilmektedir (148, 240, 241). Araştırmalarda cep derinliğinde artış ve klinik ataçman kaybı görülen bireylerin serum CRP seviyesinin arttığı (148, 242), peridontal tedaviden sonra ise azaldığı rapor edilmiştir (143, 242, 243). Tan ve ark. (227), kanatlı hayvanlarda diyetle birlikte verilen arjininin sistemik enflamasyona etkilerini deneklere LPS enjekte ederek değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, timusta CD11+, CD14+ ve B hücre sayılarını, TLR4 ve IL-1  $\beta$  seviyelerini, tonsillerde NF $\kappa$ - $\beta$ , TLR4, IL-10 ve IL-1  $\beta$  seviyelerini arjinininle desteklenmeyen deneklere göre belirgin şekilde düşük düzeyde tespit etmişlerdir. Tan ve ark. (227) arjininin sistemik enflamasyonu azaltmasında CD14+ hücre yüzdesini ve TLR4 mekanizmasını baskılayarak proenflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımını azaltmasının etkili olabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada araştırmacılar, arjinin verilen deneklerde dolaşımdaki B hücresi sayısının daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Toricelli ve ark. (29), arjininin osteoblast kültüründe IL-6 salınımını baskıladığını rapor etmişlerdir. Akuginowa ve ark. (228), silikondan eksik diyetle beslenen fare lenfositlerinin mikobakteriyel antijenlere karşı çoğalma aktivitesinin bozulduğunu, diyete katılan silikon ile bu fonksiyonun düzeldiğini rapor etmişlerdir. Seaborn ve ark. (229), ratlarda silikon ve arjinin desteğinin maksimum lenfosit çoğalması sağladığını rapor etmişlerdir. Literatürde arjinin ve silikon kullanımının sistemik

enflamasyonu önleyici etkileri olabileceğinin sınırlı kanıtları olduğu görülmektedir. Arjinin silikat inositol bileşiminin sistemik enflamasyona etkisini inceleyen ise tek çalışma bulunmaktadır. Şahin ve ark. (13), kanatlı hayvanlarda ASİ desteğinin serum CRP ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde kontrol grubuna göre belirgin derecede azalma meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda serum CRP değerlerinin ASİ'li gruplarda daha düşük olduğu görülmüştür. Literatürdeki arjininin proenflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayarak ve B hücre sayısını arttırarak (227), silikonun ise lenfosit aktivitesini uyararak sistemik enflamasyonun azaltılmasına katkı sağlayabileceğini rapor eden çalışmaların sonuçları bizim sonuçlarımızla uyumludur. Arjinin silikat inositol verilen gruplarda serum CRP seviyesinin daha az tespit edilmesinde ASİ bileşiğinin, lokal enflamatuvar mediyatörlerin üretimini baskılamasından dolayı karaciğer hepatositlerinden daha az CRP üretilmesinin etkili olabileceği söylenebilir. Çalışmamızda ASİ kullanımının doku yıkım parametrelerinin (MMP-8, RANK, RANKL, MPO, IL-1  $\beta$  seviyeleri ve EHİ) azalmasında etkili olabileceği görülmektedir. Radyolojik bulgular da bu parametrelere benzerlik göstererek ASİ'nin kemik yıkımını azalttığını desteklemektedir. Lokal enflamasyon ve doku yıkımının değerlendirilmesinde kullanılan mediyatörlerdeki değişimlerle CRP seviyelerindeki değişimlerin benzer olması, ASİ'nin faydalı proenflamatuvar etkileri olabileceğini rapor eden çalışma sonuçlarını desteklemektedir.

Literatürde arjininin ve silikonun antioksidan etkilerini rapor eden sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. (224-226). Diğer taraftan lokal enflamasyona bağlı OS artışının ise sistemik enflamasyonu artırabileceğini rapor eden çok sayıda çalışma bulunmaktadır (130, 146, 244). Bu çalışmada ASİ'li gruplarda MPO ve CRP seviyelerinin daha fazla azalmaları, ASİ'nin OS'yi azaltarak sistemik enflamasyonun da azalmasında etkili olabileceğini gösteren bulgulardır.

İnsanlarda diyetle arjinin tüketiminin serum CRP seviyesi ile ilişkisini inceleyen Wells ve ark. (245), besinle alınan arjinin miktarındaki artışla doğru orantılı olarak serum CRP değerlerinde düşüş meydana geldiğini, arjinin tüketiminin ortalamanın altında olduğu bireylerde yüksek, üstünde olduğu bireylerde ise düşük düzeyde serum CRP değerleri tespit edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, arjinin

tüketimi ile kardiyovasküler hastalık riskinin azaldığını da rapor etmişlerdir. Şahin ve ark. (13), kanatlı hayvanlarda yaptıkları 21 günlük çalışmalarında iki gruba birbirinin iki katı miktarda ASİ vererek serum CRP seviyelerini kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, serum CRP seviyelerini yüksek doz ASİ verilen grupta daha düşük düzeyde tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ASİ'li gruplar arasında serum CRP seviyelerinin benzer olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar Şahin ve ark.'nın (13) sonuçlarının aksine ASİ'nin sistemik enflamasyonun baskılanmasındaki etkilerinin sınırlı düzeyde olabileceğini işaret etmektedir.

Bu çalışmada sadece ASİ kompleks değerlendirilmiş; fakat arjininin ve silikonun etkileri ayrı ayrı değerlendirilmemiştir. Bu nedenle çalışmamızda materyallerin kendine özgü etki düzeyleri ile materyallerin birlikte kullanımının oluşturduğu sinerjistik etkileşimin arasındaki farkın incelenmemiş olması, bulguları değerlendirirken sınırlamalara sebep olmaktadır.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma ASI'nin periodontal dokulara etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır.
2. Çalışmamızda periodontitis grubuna ait doku yıkım parametrelerinin (CRP, alveolar kemik yıkımı, RANK, RANKL, MMP-8, IL-1 $\beta$ , MPO, PMNL infiltrasyonu) kontrol grubuna göre daha yüksek, yapım parametresinin (OPG) ise daha düşük olması ligatürle deneysel periodontitis oluşturulan çalışmaların sonuçları ile uyumluydu.
3. Arjinin silikat inositol kompleksin biyokimyasal kemik belirteçleri (ALP, Ca, P) ve KMD üzerine belirgin bir etkisi görülmedi.
4. Arjinin silikat inositol kullanılan gruplarda EHİ periodontitis grubundan istatistiksel olarak daha düşüktü, ASI'li gruplar arasında ise fark tespit edilemedi.
5. Periodontitis grubunda MPO seviyesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ASI'li gruplardan fazla tespit edilirken, ASI II grubunda ASI I grubundan daha düşük tespit edildi.
6. İnterlökin-1 $\beta$  ASI verilen gruplarda periodontitis grubundan daha düşüktü. Ayrıca, ASI II grubunda ise ASI I grubundan anlamlı düzeyde düşük tespit edildi.
7. Dişetinde MMP-8 seviyesi ASI'li gruplarda periodontitis grubundan düşük tespit edilirken, ASI kullanılan gruplar arasında ise fark bulunmadı.
8. Arjinin silikat inositol verilen gruplarda periodontitis grubuna göre dişetinde RANK ve RANKL seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı, OPG seviyelerinin ise arttığı görüldü. Ayrıca, ASI'li gruplarda RANK/RANKL seviyeleri birbirine benzerken, OPG seviyesi ASI II grubunda en yüksekti.
9. Arjinin silikat inositol verilen gruplarda mezial ve furkasyon bölgesi kemik yıkımı oranları periodontitis grubundan daha az tespit edildi.

ASİ'li gruplar arasında ise kemik yıkımı oranlarının benzer olduğu görüldü.

10. Serum CRP seviyesi periodontitis grubunda ASİ kullanılan gruplardan daha yüksek tespit edilirken, ASİ'li gruplar arasında serum CRP seviyeleri açısından istatistiksel fark tespit edilemedi.
11. Lokal enflamatuvar cevabın değerlendirilmesinde kullanılan EHİ, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyelerinin ASİ verilen gruplarda daha düşük tespit edilmesi ASİ'nin antienflamatuvar ve immün sistemi düzenleyici etkilerini destekleyen bulgulardır.
12. Bu çalışmada MPO seviyeleri ile ilgili elde edilen sonuçlar ASİ'nin oksidatif stresi azaltarak periodontal doku yıkımını engelleyebileceğini ve/veya azaltabileceğini işaret edebilir.
13. Çalışmamızda ASİ'li gruplarda kemik yıkımı oranlarının, RANKL ve RANK seviyelerinin daha az ve OPG seviyelerinin ise daha fazla tespit edilmesi ASİ'nin kemik yıkımını baskılayan ve kemik yapımını arttıran etkileri ile kemik kaybının önlenmesinde etkili olabileceğini desteklemektedir.
14. Bu çalışmanın sonuçları ASİ'nin periodontal hastalıkların sebep olduğu sistemik enflamasyonun önlenmesinde sınırlı düzeyde etkili olabileceğine işaret etmektedir.
15. Arjinin silikat inositol kompleksi oluşturan materyallerin insanlarda kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmış olmasına rağmen ASİ kompleksin insanlarda kullanımı ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca çalışmaların hayvanlarda yapıldığı ve toksikolojik etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığı görüldü. Bu bakımdan ASİ'nin insan dokularına etkilerini araştıran daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.
16. Arjinin silikat inositol kompleksin periodontal hastalıklarda konak modülasyonuna etkisi ile ilgili daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.



**KAYNAKLAR**

1. Gumus, P., Nizam, N., Nalbantsoy, A., Ozcaka, O., and Buduneli, N. (2014). Saliva, Serum Levels of Pentraxin-3 and Interleukin-1beta in Generalised Aggressive or Chronic Periodontitis. *J Periodontol*.85,3,40-46.
2. Salvi, G.E., and Lang, N.P. (2005). Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6,108-129.
3. Hasturk, H., Kantarci, A., and Van Dyke, T.E. (2012). Oral inflammatory diseases and systemic inflammation: role of the macrophage. *Front Immunol*,3 (118),1-17.
4. Yucel-Lindberg, T., and Bage, T. (2013). Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med*, 15,1-7.
5. Elavarasu, S., Sekar, S., and Murugan, T. (2012). Host modulation by therapeutic agents. *J Pharm Bioallied Sci*, 4(Suppl 2), 256-259.
6. Ustun, K., Erciyas, K., Kisacik, B., Sezer, U., Pehlivan, Y., Oztuzcu, S., Gundogar, H., and Onat, A.M. (2013) Host Modulation in Rheumatoid Arthritis Patients with TNF Blockers Significantly Decreases Biochemical Parameters in Periodontitis. *Inflammation*, 36(5), 1171-1177.
7. Tariq, M., Iqbal, Z., Ali, J., Baboota, S., Talegaonkar, S., Ahmad, Z., and Sahni, J.K. (2012) Treatment modalities and evaluation models for periodontitis. *Int J Pharm Investig*, 2(3), 106-122.
8. Kara, A., Akman, S., Ozkanlar, S., Tozoglu, U., Kalkan, Y., Canakci, C.F., and Tozoglu, S. (2013). Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med*, 55,21-26.
9. Akman, S., Canakci, V., Kara, A., Tozoglu, U., Arabaci, T., and Dagsuyu, I.M. (2013). Therapeutic effects of alpha lipoic acid and vitamin C on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: a biochemical, histochemical, and stereologic study. *J Periodontol*, 84(5), 666-674.
10. Hakki, S.S., Foster, B.L., Nagatomo, K.J., Bozkurt, S.B., Hakki, E.E., Somerman, M.J., and Nohutcu, R.M. (2010). Bone morphogenetic protein-7 enhances cementoblast function in vitro. *J Periodontol*, 81(11), 1663-1674.

11. Proctor, S.D., Kelly, S.E., and Russell, J.C. (2005). A novel complex of arginine-silicate improves micro- and macrovascular function and inhibits glomerular sclerosis in insulin-resistant JCR:LA-cp rats. *Diabetologia*, 48(9), 1925-1932.
12. Proctor, S.D., Kelly, S.E., Vine, D.F., and Russell, J.C. (2007). Metabolic effects of a novel silicate inositol complex of the nitric oxide precursor arginine in the obese insulin-resistant JCR:LA-cp rat. *Metabolism*, 56(10), 1318-1325.
13. Sahin, K., Onderci, M., Sahin, N., Balci, T.A., Gursu, M.F., Juturu, V., and Kucuk, O. (2006). Dietary arginine silicate inositol complex improves bone mineralization in quail. *Poult Sci*, 85(3), 486-492.
14. Onderci, M., Sahin, N., Sahin, K., Balci, T.A., Gursu, M.F., Juturu, V., and Kucuk, O. (2006). Dietary arginine silicate inositol complex during the late laying period of quail at different environmental temperatures. *Br Poult Sci*, 47(2), 209-215.
15. Wu, G., Bazer, F.W., Davis, T.A., Kim, S.W., Li, P., Marc Rhoads, J., Carey Satterfield, M., Smith, S.B., Spencer, T.E., and Yin, Y. (2009). Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids*, 37(1), 153-168.
16. Scibona, M., Meschini, P., Capparelli, S., Pecori, C., Rossi, P., and Menchini Fabris, G.F. (1994). [L-arginine and male infertility]. *Minerva Urol Nefrol*, 46(4), 251-253.
17. Zeng, X., Wang, F., Fan, X., Yang, W., Zhou, B., Li, P., Yin, Y., Wu, G., and Wang, J. (2008). Dietary arginine supplementation during early pregnancy enhances embryonic survival in rats. *J Nutr*, 138(8), 1421-1425.
18. Wu, G., Collins, J.K., Perkins-Veazie, P., Siddiq, M., Dolan, K.D., Kelly, K.A., Heaps, C.L., and Meininger, C.J. (2007). Dietary supplementation with watermelon pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*, 137(12), 2680-2685.
19. Kohli, R., Meininger, C.J., Haynes, T.E., Yan, W., Self, J.T., and Wu, G. (2004). Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr*, 134(3), 600-608.

20. Lucotti, P., Setola, E., Monti, L.D., Galluccio, E., Costa, S., Sandoli, E.P., Fermo, I., Rabaiotti, G., Gatti, R., and Piatti, P. (2006). Beneficial effects of a long-term oral L-arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese, insulin-resistant type 2 diabetic patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 291(5), E906-912.
21. Fu, W.J., Haynes, T.E., Kohli, R., Hu, J., Shi, W., Spencer, T.E., Carroll, R.J., Meininger, C.J., and Wu, G. (2005). Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*, 135(4), 714-721.
22. Sipahi, S., Gungor, O., Gunduz, M., Cilci, M., Demirci, M.C., and Tamer, A. (2013). The effect of oral supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, arginine and glutamine on wound healing: a retrospective analysis of diabetic haemodialysis patients. *BMC Nephrol*, 14(8),1-6.
23. Chevalley, T., Rizzoli, R., Manen, D., Caverzasio, J., and Bonjour, J.P. (1998). Arginine increases insulin-like growth factor-I production and collagen synthesis in osteoblast-like cells. *Bone*, 23(2), 103-109.
24. Bellati, U., and Liberati, M. (1994). Experience regarding the use of arginine-lysine-lactose treatment in menopausal osteoporosis. *Minerva Med*, 85(6), 327-332.
25. Abate, G., Taormina, F., Brillante, C., and Fracalaglio, L. (1994). The effects of the carbocalcitonin + arginine-lysine-lactose combination in senile involutional osteoporosis. *Minerva Med*, 85(5), 253-259.
26. Clementi, G., Fiore, C.E., Mangano, N.G., Cutuli, V.M., Pennisi, P., Caruso, A., Prato, A., Matera, M., and Amico-Roxas, M. (2001). Role of soy diet and L-arginine in cyclosporin-A-induced osteopenia in rats. *Pharmacol Toxicol*, 88(1), 16-19.
27. Fini, M., Giardino, R., Mongiorgi, R., Cantelli Forti, G., Gnudi, S., Nicoli Aldini, N., Valdre, C., Piotti, D., Giavaresi, G., Orienti, L., et al. (1996). Experimental osteoporosis caused by estrogen deficiency in rats. Role of a lactose, L-arginine and L-lysine combination in the prevention and therapy. *Minerva Med*, 87(3), 81-88.

28. Fini, M., Aldini, N.N., Cane, V., Zaffe, D., Giavaresi, G., Rocca, M., Guzzardella, G.A., and Giardino, R. (1999). Effects of essential amino acids and lactose on bony fractures and defects in rabbits: a preliminary histomorphometric study. *Arch Orthop Trauma Surg*, 119(1-2), 39-45.
29. Torricelli, P., Fini, M., Giavaresi, G., Giardino, R., Gnudi, S., Nicolini, A., and Carpi, A. (2002). L-arginine and L-lysine stimulation on cultured human osteoblasts. *Biomed Pharmacother*, 56(10), 492-497.
30. Jugdaohsingh, R. (2007). Silicon and bone health. *J Nutr Health Aging*, 11(2), 99-110.
31. Jugdaohsingh, R., Tucker, K.L., Qiao, N., Cupples, L.A., Kiel, D.P., and Powell, J.J. (2004). Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort. *J Bone Miner Res*, 19(2), 297-307.
32. Seaborn, C.D., and Nielsen, F.H. (2002). Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver. *Biol Trace Elem Res*, 89(3), 251-261.
33. Seaborn, C.D., and Nielsen, F.H. (1994). Effects of germanium and silicon on bone mineralization. *Biol Trace Elem Res*, 42(2), 151-164.
34. Hott, M., de Pollak, C., Modrowski, D., and Marie, P.J. (1993). Short-term effects of organic silicon on trabecular bone in mature ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*, 53(3), 174-179.
35. Rico, H., Gallego-Lago, J.L., Hernandez, E.R., Villa, L.F., Sanchez-Atrio, A., Seco, C., and Gervas, J.J. (2000). Effect of silicon supplement on osteopenia induced by ovariectomy in rats. *Calcif Tissue Int*, 66(1), 53-55.
36. Calomme, M.R., and Vanden Berghe, D.A. (1997). Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the Si, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. *Biol Trace Elem Res*, 56(2), 153-165.
37. Reffitt, D.M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H.F., Evans, B.A., Thompson, R.P., Powell, J.J., and Hampson, G.N. (2003). Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone*, 32(2), 127-135.

38. Sripanyakorn S, J.R., Thompson R.P.H, Powell J.J. (2005). Dietary silicon and bone health. *British Nutrition Foundation, Nutrition Bulletin*(30), 222-230.
39. Fenili, D., Brown, M., Rappaport, R., and McLaurin, J. (2007). Properties of scyllo-inositol as a therapeutic treatment of AD-like pathology. *J Mol Med (Berl)*, 85(6), 603-611.
40. Levine, J. (1997). Controlled trials of inositol in psychiatry. *Eur Neuropsychopharmacol*, 7(2), 147-155.
41. Levine, J., Aviram, A., Holan, A., Ring, A., Barak, Y., and Belmaker, R.H. (1997). Inositol treatment of autism. *J Neural Transm*, 104(2-3), 307-310.
42. Colodny, L., and Hoffman, R.L. (1998). Inositol--clinical applications for exogenous use. *Altern Med Rev*, 3(6), 432-447.
43. Juturu, V., Ferry, D., Komorowski J.R. (2009). United States Patent: Arginine silicate inositol complex and use thereof. *United States Patent; Patent No:US 7,576,132 B2*
44. Loesche, W.J., and Grossman, N.S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 727-752, table of contents.
45. Orbak, R., Zihni, M. (2006). Periodontal hastalığın başlangıç tedavisi, karşılaşılan komplikasyonlar ve bu komplikasyonların giderilme stratejileri *Atatürk Üniv.DişHek. Fak. Derg.*, 16(3), 33-41.
46. Armitage, G.C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, 4(1), 1-6.
47. Kinane, D.F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 25,8-20.
48. Pihlstrom, B.L., Michalowicz, B.S., and Johnson, N.W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809-1820.
49. Flemmig, T.F. (1999). Periodontitis. *Ann Periodontol*, 4(1), 32-38.
50. Burt, B. (2005). Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol*, 76(8), 1406-1419.
51. Slots, J. (2013). Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol 2000*, 62(1), 7-19.

52. Reynolds, M.A. (2014). Modifiable risk factors in periodontitis: at the intersection of aging and disease. *Periodontol 2000*, 64(1), 7-19.
53. Lindhe, J., Lang, N.P., Karring, T. (2008). Clinical Periodontology and Implant Dentistry. *Fifth Edition, Pathogenesis of Periodontitis UK:Blackwell Munksgaard*,286-287.
54. Page, R.C., Offenbacher, S., Schroeder, H.E., Seymour, G.J., and Kornman, K.S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*, 14,216-248.
55. Page, R.C., and Kornman, K.S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 14,9-11.
56. Ohlrich, E.J., Cullinan, M.P., and Seymour, G.J. (2009). The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*, 54 Suppl,2-10.
57. Page, R.C., and Schroeder, H.E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34(3), 235-249.
58. Micheal G. Newman, H.H.T., Fermin A. Carranza (2005). Carranza's Clinical Periodontology. *USA:Saunders, Ninth Edition*,133.
59. Holt, S.C., and Ebersole, J.L. (2005). Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000*, 38,72-122.
60. Kanaparthi, A., Kanaparthi, R., and Niranjan, N. (2012). Evaluation of serum C-reactive protein levels in subjects with aggressive and chronic periodontitis and comparison with healthy controls. *Dent Res J (Isfahan)*, 9(3), 261-265.
61. Taylor, J.J. (2010). Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000*, 54(1), 160-194.
62. Seymour, G.J., and Gemmell, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand*, 59(3), 167-173.
63. Preshaw, P.M., and Taylor, J.J. (2011). How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol*, 38 Suppl 11,60-84.

64. Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., and Van Dyke, T.E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 64(1), 57-80.
65. Lindhe, J., Lang, N.P., Karring, T. (2003). Clinical Periodontology and Implant Dentistry [Elektronik Sürüm]. UK:Blackwell Munksgaard,166-167.
66. Cochran, D.L. (2008). Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*, 79(8 Suppl), 1569-1576.
67. Garlet, G.P. (2010). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*, 89(12), 1349-1363.
68. Sawada, S., Chosa, N., Ishisaki, A., and Naruishi, K. (2013). Enhancement of gingival inflammation induced by synergism of IL-1beta and IL-6. *Biomed Res*, 34(1), 31-40.
69. Dinarello, C.A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508.
70. Toker, H., Akpınar, A., Aydın, H., and Poyraz, O. (2012). Influence of smoking on interleukin-1beta level, oxidant status and antioxidant status in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment. *J Periodontal Res*, 47(5), 572-577.
71. Ebersole, J.L., and Cappelli, D. (2000). Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, 23(19-49).
72. Graves, D. (2008). Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 79(8 Suppl), 1585-1591.
73. Boch, J.A., Wara-aswapati, N., and Auron, P.E. (2001). Interleukin 1 signal transduction--current concepts and relevance to periodontitis. *J Dent Res*, 80(2), 400-407.
74. Wei, P.F., Ho, K.Y., Ho, Y.P., Wu, Y.M., Yang, Y.H., and Tsai, C.C. (2004). The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontal Res*, 39(5), 287-293.
75. Birkedal-Hansen, H. (2011). Role of matrix-metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 64(474-484).

76. Okada, H., and Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9(3), 248-266.
77. Gursoy, U.K., Kononen, E., Uitto, V.J., Pussinen, P.J., Hyvarinen, K., Suominen-Taipale, L., and Knuutila, M. (2009). Salivary interleukin-1beta concentration and the presence of multiple pathogens in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 36(11), 922-927.
78. Newman G.M., T.H.H., Carranza F.A. (2002). Treatment of periodontal disease. *Carranza's Clinical Periodontology, Chapter 34*(500).
79. Westermarch, J., Kahari, V.M. (1999). Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *The FASEB Journal*, 13, 781-792.
80. Buduneli, N., and Kinane, D.F. (2011). Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 38 Suppl 11, 85-105.
81. Chang, Y.C., Yang, S.F., Lai, C.C., Liu, J.Y., and Hsieh, Y.S. (2002). Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. *J Periodontal Res*, 37(3), 196-203.
82. Mouzakiti, E., Pepelassi, E., Fanourakis, G., Markopoulou, C., Tseleni-Balafouta, S., and Vrotsos, I. (2012). Expression of MMPs and TIMP-1 in smoker and nonsmoker chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment. *J Periodontal Res*, 47(4), 532-542.
83. Kuula, H., Salo, T., Pirila, E., Tuomainen, A.M., Jauhiainen, M., Uitto, V.J., Tjaderhane, L., Pussinen, P.J., and Sorsa, T. (2009). Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infect Immun*, 77(2), 850-859.
84. Palosaari, H., Wahlgren, J., Larmas, M., Ronka, H., Sorsa, T., Salo, T., and Tjaderhane, L. (2000). The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF-beta1. *J Dent Res*, 79(1), 77-84.
85. Kiili, M., Cox, S.W., Chen, H.Y., Wahlgren, J., Maisi, P., Eley, B.M., Salo, T., and Sorsa, T. (2002). Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-



- 13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol*, 29(3), 224-232.
86. Uitto, V.J., Airola, K., Vaalamo, M., Johansson, N., Putnins, E.E., Firth, J.D., Salonen, J., Lopez-Otin, C., Saarialho-Kere, U., and Kahari, V.M. (1998). Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) expression is induced in oral mucosal epithelium during chronic inflammation. *Am J Pathol*, 152(6), 1489-1499.
87. Ravanti, L., Hakkinen, L., Larjava, H., Saarialho-Kere, U., Foschi, M., Han, J., and Kahari, V.M. (1999). Transforming growth factor-beta induces collagenase-3 expression by human gingival fibroblasts via p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 274(52), 37292-37300.
88. Sorsa, T., Tjaderhane, L., and Salo, T. (2004). Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, 10(6), 311-318.
89. Konopka, L., Pietrzak, A., and Brzezinska-Blaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1beta, interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res*, 47(6), 681-688.
90. Hanemaaijer, R., Sorsa, T., Konttinen, Y.T., Ding, Y., Sutinen, M., Visser, H., van Hinsbergh, V.W., Helaakoski, T., Kainulainen, T., Ronka, H., et al. (1997). Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem*, 272(50), 31504-31509.
91. Biyikoglu, B., Buduneli, N., Kardesler, L., Aksu, K., Pitkala, M., and Sorsa, T. (2009). Gingival crevicular fluid MMP-8 and -13 and TIMP-1 levels in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory periodontal disease. *J Periodontol*, 80(8), 1307-1314.
92. Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D.F., Konttinen, Y.T., and Sorsa, T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 23(12), 1127-1132.

93. Kahari, V.M., and Saarialho-Kere, U. (1999). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Ann Med*, 31(1), 34-45.
94. Passoja, A., Ylipalosaari, M., Tervonen, T., Raunio, T., and Knuuttila, M. (2008). Matrix metalloproteinase-8 concentration in shallow crevices associated with the extent of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 35(12), 1027-1031.
95. Yang, D., Wang, J., Ni, J., Shang, S., Liu, L., Xiang, J., and Li, C. (2013). Temporal expression of metalloproteinase-8 and -13 and their relationships with extracellular matrix metalloproteinase inducer in the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 48(4), 411-419.
96. Hardy, D.C., Ross, J.H., Schuyler, C.A., Leite, R.S., Slate, E.H., and Huang, Y. (2012). Matrix metalloproteinase-8 expression in periodontal tissues surgically removed from diabetic and non-diabetic patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 39(3), 249-255.
97. Gursoy, U.K., Kononen, E., Pradhan-Palikhe, P., Tervahartiala, T., Pussinen, P.J., Suominen-Taipale, L., and Sorsa, T. (2010). Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 37(6), 487-493.
98. Mantyla, P., Stenman, M., Kinane, D.F., Tikanoja, S., Luoto, H., Salo, T., and Sorsa, T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res*, 38(4), 436-439.
99. Marcaccini, A.M., Meschiari, C.A., Sorgi, C.A., Saraiva, M.C., de Souza, A.M., Faccioli, L.H., Tanus-Santos, J.E., Novaes, A.B., and Gerlach, R.F. (2009). Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol*, 80(4), 594-602.
100. Chen, H.Y., Cox, S.W., Eley, B.M., Mantyla, P., Ronka, H., and Sorsa, T. (2000). Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 27(5), 366-369.
101. Kinane, D.F., Darby, I.B., Said, S., Luoto, H., Sorsa, T., Tikanoja, S., and Mantyla, P. (2003). Changes in gingival crevicular fluid matrix

- metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodontal Res*, 38(4), 400-404.
102. Hernandez, M., Gamonal, J., Salo, T., Tervahartiala, T., Hukkanen, M., Tjaderhane, L., and Sorsa, T. (2011). Reduced expression of lipopolysaccharide-induced CXC chemokine in *Porphyromonas gingivalis*-induced experimental periodontitis in matrix metalloproteinase-8 null mice. *J Periodontal Res*, 46(1), 58-66.
  103. Noyan, A. (1998). Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Ankara: Meteksan, 10.Baskı,1046-1047.
  104. Christenson, R.H. (1997). Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem*, 30(8), 573-593.
  105. Delmas, P.D., Eastell, R., Garnero, P., Seibel, M.J., and Stepan, J. (2000). The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int*, 11 Suppl 6(S2-17).
  106. Belibasakis, G.N., and Bostanci, N. (2012). The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*, 39(3), 239-248.
  107. Lerner, U.H. (2004). New Molecules in the Tumor Necrosis Factor Ligand and Receptor Superfamilies with Importance for Physiological and Pathological Bone Resorption. *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(2), 64-81.
  108. Babür, C., Özcan, G. (2010). OPG/RANK/RANKL'in periodontolojideki yeri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 27(2), 137-144.
  109. Takayanagi, H. (2010). New immune connections in osteoclast formation. *Ann N Y Acad Sci*, 1192(117-123).
  110. Lorenzo, J., Horowitz, M., and Choi, Y. (2008). Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev*, 29(4), 403-440.
  111. Boyle, W.J., Simonet, W.S., and Lacey, D.L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937), 337-342.
  112. Kajiya, M., Giro, G., Taubman, M.A., Han, X., Mayer, M.P., and Kawai, T. (2010). Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. *J Oral Microbiol*, 2(5532),1-16.

113. Lio, P., Paoletti, N., Moni, M.A., Atwell, K., Merelli, E., and Viceconti, M. (2012). Modelling osteomyelitis. *BMC Bioinformatics*, 13 Suppl 14, S12, 1-14.
114. Lu, H.K., Chen, Y.L., Chang, H.C., Li, C.L., and Kuo, M.Y. (2006). Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontol Res*, 41(4), 354-360.
115. Boyce, B.F., and Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*, 9 Suppl 1, S1, 1-7.
116. Wada, T., Nakashima, T., Hiroshi, N., and Penninger, J.M. (2006). RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med*, 12(1), 17-25.
117. Cundy, T., Hegde, M., Naot, D., Chong, B., King, A., Wallace, R., Mulley, J., Love, D.R., Seidel, J., Fawcner, M., et al. (2002). A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet*, 11(18), 2119-2127.
118. Whyte, M.P., Obrecht, S.E., Finnegan, P.M., Jones, J.L., Podgornik, M.N., McAlister, W.H., and Mumm, S. (2002). Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med*, 347(3), 175-184.
119. Bostanci, N., Ilgenli, T., Emingil, G., Afacan, B., Han, B., Toz, H., Atilla, G., Hughes, F.J., and Belibasakis, G.N. (2007). Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*, 34(5), 370-376.
120. Liu, D., Xu, J.K., Figliomeni, L., Huang, L., Pavlos, N.J., Rogers, M., Tan, A., Price, P., and Zheng, M.H. (2003). Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med*, 11(1), 17-21.
121. Araujo, A.A., Souza, T.O., Moura, L.M., Brito, G.A., Aragao, K.S., Araujo, L.S., Medeiros, C.A., Alves, M.S., and Araujo, R.F., Jr. (2013). Effect of telmisartan on levels of IL-1, TNF-alpha, down-regulated COX-2, MMP-2, MMP-9 and RANKL/RANK in an experimental periodontitis model. *J Clin Periodontol*, 40(12), 1104-1111.

122. Walsh, N.C., Crotti, T.N., Goldring, S.R., and Gravallesse, E.M. (2005). Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. *Immunol Rev*, 208,228-251.
123. Mogi, M., Ootogoto, J., Ota, N., and Togari, A. (2004). Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res*, 83(2), 166-169.
124. Belibasakis, G.N., Meier, A., Guggenheim, B., and Bostanci, N. (2011). Oral biofilm challenge regulates the RANKL-OPG system in periodontal ligament and dental pulp cells. *Microb Pathog*, 50(1), 6-11.
125. Pradeep, A.R., Ramchandraprasad, M.V., Bajaj, P., Rao, N.S., and Agarwal, E. (2013). Protein carbonyl: An oxidative stress marker in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects. *Contemp Clin Dent*, 4(1), 27-31.
126. Abou Sulaiman, A.E., and Shehadeh, R.M. (2010). Assessment of total antioxidant capacity and the use of vitamin C in the treatment of non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 81(11), 1547-1554.
127. Canakci, C.F., Cicek, Y., and Canakci, V. (2005). Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc)*, 70(6), 619-628.
128. Scott, D.A., and Krauss, J. (2012). Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol*, 15,56-83.
129. Dede, F.O., Ozden, F.O., and Avci, B. (2013). 8-hydroxy-deoxyguanosine levels in gingival crevicular fluid and saliva in patients with chronic periodontitis after initial periodontal treatment. *J Periodontol*, 84(6), 821-828.
130. D'Aiuto, F., Nibali, L., Parkar, M., Patel, K., Suvan, J., and Donos, N. (2010). Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*, 89(11), 1241-1246.
131. Tamaki, N., Hayashida, H., Fukui, M., Kitamura, M., Kawasaki, K., Nakazato, M., Maeda, T., Saito, T., and Ito, H.O. (2014). Oxidative stress and antibody levels to periodontal bacteria in adults: the Nagasaki Islands study. *Oral Dis*.20,49-56.

132. Singh, S., Acharya, A.B., and Kumar, S.C. (2011). Myeloperoxidase staining in the diagnosis of aggressive periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, 15(2), 152-155.
133. Gomes, D.A., Pires, J.R., Zuza, E.P., Muscara, M.N., Herrera, B.S., Spolidorio, L.C., Toledo, B.E., and Spolidorio, D.M. (2009). Myeloperoxidase as inflammatory marker of periodontal disease: experimental study in rats. *Immunol Invest*, 38(2), 117-122.
134. Yamalik, N., Caglayan, F., Kilinc, K., Kilinc, A., and Tumer, C. (2000). The importance of data presentation regarding gingival crevicular fluid myeloperoxidase and elastase-like activity in periodontal disease and health status. *J Periodontol*, 71(3), 460-467.
135. Wheatley-Price, P., Asomaning, K., Reid, A., Zhai, R., Su, L., Zhou, W., Zhu, A., Ryan, D.P., Christiani, D.C., and Liu, G. (2008). Myeloperoxidase and superoxide dismutase polymorphisms are associated with an increased risk of developing pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, 112(5), 1037-1042.
136. Kaner, D., Bernimoulin, J.P., Kleber, B.M., Heizmann, W.R., and Friedmann, A. (2006). Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res*, 41(2), 132-139.
137. Aras, H., Caglayan, F., Guncu, G.N., Berberoglu, A., and Kilinc, K. (2007). Effect of systemically administered naproxen sodium on clinical parameters and myeloperoxidase and elastase-like activity levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontol*, 78(5), 868-873.
138. de Araujo Junior, R.F., Souza, T.O., de Moura, L.M., Torres, K.P., de Souza, L.B., Alves Mdo, S., Rocha, H.O., and de Araujo, A.A. (2013). Atorvastatin decreases bone loss, inflammation and oxidative stress in experimental periodontitis. *PLoS One*, 8(10), e75322.
139. de Araujo Junior, R.F., Souza, T.O., de Medeiros, C.A., de Souza, L.B., Freitas Mde, L., de Lucena, H.F., do Socorro Costa Feitosa Alves, M., and de Araujo, A.A. (2013). Carvedilol decrease IL-1beta and TNF-alpha, inhibits MMP-2, MMP-9, COX-2, and RANKL expression, and up-regulates OPG in a rat model of periodontitis. *PLoS One*, 8(7), e66391.

140. Hernandez, M., Gamonal, J., Tervahartiala, T., Mantyla, P., Rivera, O., Dezerega, A., Dutzan, N., and Sorsa, T. (2010). Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J Periodontol*, *81*(11), 1644-1652.
141. Marcaccini, A.M., Meschiari, C.A., Zuardi, L.R., de Sousa, T.S., Taba, M., Jr., Teofilo, J.M., Jacob-Ferreira, A.L., Tanus-Santos, J.E., Novaes, A.B., Jr., and Gerlach, R.F. (2010). Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, *37*(2), 180-190.
142. Noack, B., Genco, R.J., Trevisan, M., Grossi, S., Zambon, J.J., and De Nardin, E. (2001). Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol*, *72*(9), 1221-1227.
143. Paraskevas, S., Huizinga, J.D., and Loos, B.G. (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol*, *35*(4), 277-290.
144. Ramamoorthy, R.D., Nallasamy, V., Reddy, R., Esther, N., and Maruthappan, Y. (2012). A review of C-reactive protein: A diagnostic indicator in periodontal medicine. *J Pharm Bioallied Sci*, *4*(Suppl 2), S422-426.
145. Forner, L., Larsen, T., Kilian, M., and Holmstrup, P. (2006). Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*, *33*(6), 401-407.
146. D'Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P.M., Ready, D., and Tonetti, M.S. (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*, *83*(2), 156-160.
147. Skaleric, E., Petelin, M., Gaspirc, B., and Skaleric, U. (2012). Periodontal inflammatory burden correlates with C-reactive protein serum level. *Acta Odontol Scand*, *70*(6), 520-528.
148. Chopra, R., Patil, S.R., and Mathur, S. (2012). Comparison of cardiovascular disease risk in two main forms of periodontitis. *Dent Res J (Isfahan)*, *9*(1), 74-79.

149. Ebersole, J.L., Machen, R.L., Steffen, M.J., and Willmann, D.E. (1997). Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol*, 107(2), 347-352.
150. Wu, T., Trevisan, M., Genco, R.J., Falkner, K.L., Dorn, J.P., and Sempos, C.T. (2000). Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *Am J Epidemiol*, 151(3), 273-282.
151. Slade, G.D., Offenbacher, S., Beck, J.D., Heiss, G., and Pankow, J.S. (2000). Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *J Dent Res*, 79(1), 49-57.
152. Kumar, S., Shah, S., Budhiraja, S., Desai, K., Shah, C., and Mehta, D. (2013). The effect of periodontal treatment on C-reactive protein: A clinical study. *J Nat Sci Biol Med*, 4(2), 379-382.
153. Bartold, P.M., and Narayanan, A.S. (2006). Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000*, 40(29-49).
154. Kornman, K.S., and di Giovine, F.S. (1998). Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol*, 3(1), 327-338.
155. Juturu, V., Komorowski, J.R. & Gudi, R. (2004). Orally Administered arginine silicate inositol complex is not clastogenic in Chinese hamster ovary cells. *FASEB Journal*, 18: A869 (Abstr 581.6).
156. Juturu, V., Komorowski, J.R. & Rao, K.S. (2004). Arginine silicate inositol complex does not induce mutation in the AMES bacterial reverse mutation test. *FASEB Journal*, 18: A869 (Abstr. 581,5).
157. Komorowski, J.R., Juturu, V., & Gudi, R. (2004). Arginine silicate inositol complex is not toxic in mouse micronucleus assay. *FASEB Journal*, 18: A869 (Abstr. 581,7).
158. Koppelman, T., Pollak, Y., Mogilner, J., Bejar, J., Coran, A.G., and Sukhotnik, I. (2012). Dietary L-arginine supplementation reduces Methotrexate-induced intestinal mucosal injury in rat. *BMC Gastroenterol*, 30,12(41),1-9.



159. Stechmiller, J.K., Childress, B., and Cowan, L. (2005). Arginine supplementation and wound healing. *Nutr Clin Pract*, 20(1), 52-61.
160. Xiao, X.M., and Li, L.P. (2005). L-Arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. *Int J Gynaecol Obstet*, 88(1), 15-18.
161. Lin, C.C., Tsai, W.C., Chen, J.Y., Li, Y.H., Lin, L.J., and Chen, J.H. (2008). Supplements of L-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress. *Int J Cardiol*, 127(3), 337-341.
162. Tousoulis, D., Davies, G., and Crake, T. (1997). Coronary vasoreactivity in humans. *Circulation*, 95(6), 1667.
163. Creager, M.A., Gallagher, S.J., Girerd, X.J., Coleman, S.M., Dzau, V.J., and Cooke, J.P. (1992). L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*, 90(4), 1248-1253.
164. Panza, J.A., Casino, P.R., Badar, D.M., and Quyyumi, A.A. (1993). Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal subjects and in patients with essential hypertension. *Circulation*, 87(5), 1475-1481.
165. Boger, R.H., Bode-Boger, S.M., Thiele, W., Creutzig, A., Alexander, K., and Frolich, J.C. (1998). Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol*, 32(5), 1336-1344.
166. Preli, R.B., Klein, K.P., and Herrington, D.M. (2002). Vascular effects of dietary L-arginine supplementation. *Atherosclerosis*, 162(1), 1-15.
167. Schwentker, A., Vodovotz, Y., Weller, R., and Billiar, T.R. (2002). Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? *Nitric Oxide*, 7(1), 1-10.
168. Barel, A., Calomme, M., Timchenko, A., De Paepe, K., Demeester, N., Rogiers, V., Clarys, P., and Vanden Berghe, D. (2005). Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on skin, nails and hair in women with photodamaged skin. *Arch Dermatol Res*, 297(4), 147-153.
169. Schiano, A., Eisinger, F., Detolle, P., Laponche, A.M., Brisou, B., and Eisinger, J. (1979). Silicon, bone tissue and immunity. *Rev Rhum Mal Osteoartic*, 46(7-9), 483-486.

170. Eisinger, J., and Clairet, D. (1993). Effects of silicon, fluoride, etidronate and magnesium on bone mineral density: a retrospective study. *Magnes Res*, 6(3), 247-249.
171. Calomme, M., Geusens, P., Demeester, N., Behets, G.J., D'Haese, P., Sindambiwe, J.B., Van Hoof, V., and Vanden Berghe, D. (2006). Partial prevention of long-term femoral bone loss in aged ovariectomized rats supplemented with choline-stabilized orthosilicic acid. *Calcif Tissue Int*, 78(4), 227-232.
172. Porter, A.E., Patel, N., Skepper, J.N., Best, S.M., and Bonfield, W. (2004). Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodelling processes at the bone-implant interface. *Biomaterials*, 25(16), 3303-3314.
173. Hench, L.L., Xynos, I.D., and Polak, J.M. (2004). Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed*, 15(4), 543-562.
174. Schwarz, K., Ricci, B.A., Punsar, S., and Karvonen, M.J. (1977). Inverse relation of silicon in drinking water and atherosclerosis in Finland. *Lancet*, 1(8010), 538-539.
175. Bassler, T.J. (1978). Hard water, food fibre, and silicon. *Br Med J*, 1(6117), 919.
176. Loeper, J., Goy-Loeper, J., Rozensztajn, L., and Fragny, M. (1979). The antiatheromatous action of silicon. *Atherosclerosis*, 33(4), 397-408.
177. Loeper, J., Goy-Loeper, J., Rozensztajn, L., and Fragny, M. (1979). [Antiatheromatous action of silicon]. *Bull Acad Natl Med*, 163(6), 530-534; discussion 534.
178. Vucenik, I., and Shamsuddin, A.M. (2006). Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutr Cancer*, 55(2), 109-125.
179. Singh, R.P., and Agarwal, R. (2005). Prostate cancer and inositol hexaphosphate: efficacy and mechanisms. *Anticancer Res*, 25(4), 2891-2903.
180. Capasso, I., Esposito, E., Maurea, N., Montella, M., Crispo, A., De Laurentiis, M., D'Aiuto, M., Frasci, G., Botti, G., Grimaldi, M., et al. (2013). Combination of inositol and alpha lipoic acid in metabolic syndrome-affected women: a randomized placebo-controlled trial. *Trials*, 14(27), 1-14.

181. Estensen, R.D., and Wattenberg, L.W. (1993). Studies of chemopreventive effects of myo-inositol on benzo[a]pyrene-induced neoplasia of the lung and forestomach of female A/J mice. *Carcinogenesis*, *14*(9), 1975-1977.
182. Jenab, M., and Thompson, L.U. (2000). Phytic acid in wheat bran affects colon morphology, cell differentiation and apoptosis. *Carcinogenesis*, *21*(8), 1547-1552.
183. Hirose, M., Ozaki, K., Takaba, K., Fukushima, S., Shirai, T., and Ito, N. (1991). Modifying effects of the naturally occurring antioxidants gamma-oryzanol, phytic acid, tannic acid and n-tritriacontane-16, 18-dione in a rat wide-spectrum organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis*, *12*(10), 1917-1921.
184. Singh, R.P., Sharma, G., Mallikarjuna, G.U., Dhanalakshmi, S., Agarwal, C., and Agarwal, R. (2004). In vivo suppression of hormone-refractory prostate cancer growth by inositol hexaphosphate: induction of insulin-like growth factor binding protein-3 and inhibition of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res*, *10*(1 Pt 1), 244-250.
185. Gupta, K.P., Singh, J., and Bharathi, R. (2003). Suppression of DMBA-induced mouse skin tumor development by inositol hexaphosphate and its mode of action. *Nutr Cancer*, *46*(1), 66-72.
186. Fox, C.H., and Eberl, M. (2002). Phytic acid (IP6), novel broad spectrum anti-neoplastic agent: a systematic review. *Complement Ther Med*, *10*(4), 229-234.
187. Sakallioğlu, E.E., Ayas, B., Lutfioglu, M., Keles, G.C., Acikgoz, G., and Firatli, E. (2008). Gingival levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in diabetes mellitus and periodontitis: an experimental study in rats. *Clin Oral Investig*, *12*(1), 83-89.
188. Toker, H., Ozan, F., Ozer, H., Ozdemir, H., Eren, K., and Yeler, H. (2008). A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, *79*(6), 1089-1094.

189. Altınışik, M. (2008). Laboratuvarıda Ölçümler Ve Analiz Yöntemleri, Spektrofotometri, 05.04.2014 (erişim tarihi) [www.mustafaaltinisik.org.uk/0809-1-1-04laboratuvardaolcumlerveanaliz...](http://www.mustafaaltinisik.org.uk/0809-1-1-04laboratuvardaolcumlerveanaliz...)
190. Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
191. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
192. Oz, H.S., and Puleo, D.A. (2011). Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 754857.
193. Hasturk, H., Goguet-Surmenian, E., Blackwood, A., Andry, C., and Kantarci, A. (2009). 1-Tetradecanol complex: therapeutic actions in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 80(7), 1103-1113.
194. Weinberg, M.A., and Bral, M. (1999). Laboratory animal models in periodontology. *J Clin Periodontol*, 26(6), 335-340.
195. Nishikawa, S., Nagata, T., Morisaki, I., Oka, T., and Ishida, H. (1996). Pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. A review of studies in the rat model. *J Periodontol*, 67(5), 463-471.
196. Klausen, B. (1991). Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*, 62(1), 59-73.
197. Ozdemir, H., Kara, M.I., Erciyas, K., Ozer, H., and Ay, S. (2012). Preventive effects of thymoquinone in a rat periodontitis model: a morphometric and histopathological study. *J Periodontol Res*, 47(1), 74-80.
198. Demirer, S., Kara, M.I., Erciyas, K., Ozdemir, H., Ozer, H., and Ay, S. (2012). Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Arch Oral Biol*, 57(1), 60-65.
199. Struillou, X., Boutigny, H., Soueidan, A., and Layrolle, P. (2010). Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J*, 4, 37-47.
200. Higuchi, T., Kinoshita, A., Takahashi, K., Oda, S., and Ishikawa, I. (1999). Bone regeneration by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in

- rat mandibular defects. An experimental model of defect filling. *J Periodontol*, 70(9), 1026-1031.
201. Tani-Ishii, N., Minamida, G., Saitoh, D., Chieda, K., Omuro, H., Sugaya, A., Hamada, N., Takahashi, Y., Kiyohara, S., Kashima, I., et al. (2003). Inhibitory effects of incadronate on the progression of rat experimental periodontitis by porphyromonas gingivalis infection. *J Periodontol*, 74(5), 603-609.
  202. Polak, D., Wilensky, A., Shapira, L., Halabi, A., Goldstein, D., Weiss, E.I., and Houry-Haddad, Y. (2009). Mouse model of experimental periodontitis induced by Porphyromonas gingivalis/Fusobacterium nucleatum infection: bone loss and host response. *J Clin Periodontol*, 36(5), 406-410.
  203. Tokunaga, K., Seto, H., Ohba, H., Mihara, C., Hama, H., Horibe, M., Yoneda, S., and Nagata, T. (2011). Topical and intermittent application of parathyroid hormone recovers alveolar bone loss in rat experimental periodontitis. *J Periodontal Res*, 46(6), 655-662.
  204. Rogers, J.E., Li, F., Coatney, D.D., Rossa, C., Bronson, P., Krieder, J.M., Giannobile, W.V., and Kirkwood, K.L. (2007). Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide-mediated experimental bone loss model for aggressive periodontitis. *J Periodontol*, 78(3), 550-558.
  205. Toker, H., Ozdemir, H., Eren, K., Ozer, H., and Sahin, G. (2009). N-acetylcysteine, a thiol antioxidant, decreases alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 80(4), 672-678.
  206. Vardar-Sengul, S., Buduneli, E., Turkoglu, O., Buduneli, N., Atilla, G., Wahlgren, J., Sorsa, T., and Baylas, H. (2008). The effects of selective COX-2 inhibitor/celecoxib and omega-3 fatty acid on matrix metalloproteinases, TIMP-1, and laminin-5gamma2-chain immunolocalization in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 79(10), 1934-1941.
  207. Napimoga, M.H., Benatti, B.B., Lima, F.O., Alves, P.M., Campos, A.C., Pena-Dos-Santos, D.R., Severino, F.P., Cunha, F.Q., and Guimaraes, F.S. (2009). Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. *Int Immunopharmacol*, 9(2), 216-222.

208. de Lima, V., Bezerra, M.M., de Menezes Alencar, V.B., Vidal, F.D., da Rocha, F.A., de Castro Brito, G.A., and de Albuquerque Ribeiro, R. (2000). Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. *Eur J Oral Sci*, 108(2), 123-129.
209. Sallay, K., Sanavi, F., Ring, I., Pham, P., Behling, U.H., and Nowotny, A. (1982). Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontal Res*, 17(3), 263-274.
210. Kuhr, A., Popa-Wagner, A., Schmoll, H., Schwahn, C., and Kocher, T. (2004). Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 39(2), 101-106.
211. Seaborn, C.D., and Nielsen, F.H. (2002). Dietary silicon and arginine affect mineral element composition of rat femur and vertebra. *Biol Trace Elem Res*, 89(3), 239-250.
212. Mark F. McCarty, J.Z. (Dec. 5, 2000). Arginine silicate inositol complex and use thereof. In United States Patent, P. Nutrition 21, N.Y., ed. (United States).
213. Küçükbay FZ. Yazlak H, S.N., Akdemir F, Orhan C, Juturu V, Sahin K. (2008). Effects of dietary arginine silicate inositol complex on mineral status on rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). *Aqua Culture Nutrition*, 14(257-262).
214. Hejdova, M., Palicka, V., Kucera, Z., and Vlcek, J. (2005). Effects of alendronate and calcitonin on bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women. An observational study. *Pharm World Sci*, 27(3), 149-153.
215. Goes, P., Melo, I.M., Dutra, C.S., Lima, A.P., and Lima, V. (2012). Effect of alendronate on bone-specific alkaline phosphatase on periodontal bone loss in rats. *Arch Oral Biol*, 57(11), 1537-1544.
216. Spolidorio, L.C., Marcantonio, E., Jr., Spolidorio, D.M., Nassar, C.A., Nassar, P.O., Marcantonio, R.A., and Rossa, C., Jr. (2007). Alendronate therapy in cyclosporine-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res*, 42(5), 466-473.
217. Swaminathan, R. (2001). Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta*, 313(1-2), 95-105.

218. Yilmaz, N., Bayram, M., Erbagci, A.B., and Kilincer, M.S. (1999). Diagnostic value of biochemical markers of bone turnover and postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem Lab Med*, 37(2), 137-143.
219. Hemmerle, J., and Frank, R.M. (1991). Bacterial invasion of periodontal tissues after experimental immunosuppression in rats. *J Biol Buccale*, 19(4), 271-282.
220. Popovic, P.J., Zeh, H.J., 3rd, and Ochoa, J.B. (2007). Arginine and immunity. *J Nutr*, 137(6 Suppl 2), 1681S-1686S.
221. Moffat, F.L., Jr., Han, T., Li, Z.M., Peck, M.D., Jy, W., Ahn, Y.S., Chu, A.J., and Bourguignon, L.Y. (1996). Supplemental L-arginine HCl augments bacterial phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Physiol*, 168(1), 26-33.
222. Li, P., Yin, Y.L., Li, D., Kim, S.W., and Wu, G. (2007). Amino acids and immune function. *Br J Nutr*, 98(2), 237-252.
223. Henrotte, J.G., Viza, D., Vich, J.M., and Gueyne, J. (1988). The regulatory role of silicon in cell division. *C R Acad Sci III*, 306(17), 525-528.
224. Chen, Y.H., Lee, C.H., Hsiao, C.C., Hsu, L.S., and Lo, H.C. (2014). Diverse effects of parenteral arginine on systemic and local oxidant-antioxidant homeostasis and nitrosative stress in rats with subacute peritonitis. *J Surg Res*, 187(1), 134-141.
225. Huang, C.C., Lin, T.J., Lu, Y.F., Chen, C.C., Huang, C.Y., and Lin, W.T. (2009). Protective effects of L-arginine supplementation against exhaustive exercise-induced oxidative stress in young rat tissues. *Chin J Physiol*, 52(5), 306-315.
226. Montinaro, M., Uberti, D., Maccarinelli, G., Bonini, S.A., Ferrari-Toninelli, G., and Memo, M. (2013). Dietary zeolite supplementation reduces oxidative damage and plaque generation in the brain of an Alzheimer's disease mouse model. *Life Sci*, 92(17-19), 903-910.
227. Tan, J., Liu, S., Guo, Y., Applegate, T.J., and Eicher, S.D. (2014). Dietary l-arginine supplementation attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response in broiler chickens. *Br J Nutr*, 111(8), 1394-1404.

228. Akuginova, Z.D., Akuginova, G.E., Mezhlumova, M.B., Avdienko, V.G., and Nikonenko, B.V. (1995). Development of protective antituberculosis immunity after BCG vaccination in mice with silicon deficiency in water and feed. *Probl Tuberk2*, 23-24.
229. Seaborn, C.D., Briske-Anderson, M., and Nielsen, F.H. (2002). An interaction between dietary silicon and arginine affects immune function indicated by con-A-induced DNA synthesis of rat splenic T-lymphocytes. *Biol Trace Elem Res*, 87(1-3), 133-142.
230. Barbul, A., Lazarou, S.A., Efron, D.T., Wasserkrug, H.L., and Efron, G. (1990). Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. *Surgery*, 108(2), 331-336; discussion 336-337.
231. Kirk, S.J., Hurson, M., Regan, M.C., Holt, D.R., Wasserkrug, H.L., and Barbul, A. (1993). Arginine stimulates wound healing and immune function in elderly human beings. *Surgery*, 114(2), 155-159; discussion 160.
232. Schroder, H.C., Wang, X.H., Wiens, M., Diehl-Seifert, B., Kropf, K., Schlossmacher, U., and Muller, W.E. (2012). Silicate modulates the cross-talk between osteoblasts (SaOS-2) and osteoclasts (RAW 264.7 cells): inhibition of osteoclast growth and differentiation. *J Cell Biochem*, 113(10), 3197-3206.
233. Wiens, M., Wang, X., Schroder, H.C., Kolb, U., Schlossmacher, U., Ushijima, H., and Muller, W.E. (2010). The role of biosilica in the osteoprotegerin/RANKL ratio in human osteoblast-like cells. *Biomaterials*, 31(30), 7716-7725.
234. Maehira, F., Inuma, Y., Eguchi, Y., Miyagi, I., and Teruya, S. (2008). Effects of soluble silicon compound and deep-sea water on biochemical and mechanical properties of bone and the related gene expression in mice. *J Bone Miner Metab*, 26(5), 446-455.
235. Schutze, N., Oursler, M.J., Nolan, J., Riggs, B.L., and Spelsberg, T.C. (1995). Zeolite A inhibits osteoclast-mediated bone resorption in vitro. *J Cell Biochem*, 58(1), 39-46.
236. Hung, C.J., Kao, C.T., Chen, Y.J., Shie, M.Y., and Huang, T.H. (2013). Antiosteoclastogenic activity of silicate-based materials antagonizing



- receptor activator for nuclear factor kappaB ligand-induced osteoclast differentiation of murine macrophages. *J Endod*, 39(12), 1557-1561.
237. Aghaloo, T.L., Kang, B., Sung, E.C., Shoff, M., Ronconi, M., Gotcher, J.E., Bezouglaia, O., Dry, S.M., and Tetradis, S. (2011). Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res*, 26(8), 1871-1882.
238. Yagan, A., Kesim, S., and Liman, N. (2014). Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 85(3), 478-489.
239. Anderson, P., Yong, R., Surman, T., Rajion, Z., and Ranjitkar, S. (2014). Application of three-dimensional computed tomography in craniofacial clinical practice and research. *Aust Dent J*. 59 Suppl 1:174-185.
240. Salzberg, T.N., Overstreet, B.T., Rogers, J.D., Califano, J.V., Best, A.M., and Schenkein, H.A. (2006). C-reactive protein levels in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol*, 77(6), 933-939.
241. Lim, L.P., Tay, F.B., Sum, C.F., and Thai, A.C. (2007). Relationship between markers of metabolic control and inflammation on severity of periodontal disease in patients with diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, 34(2), 118-123.
242. D'Aiuto, F., Nibali, L., Parkar, M., Suvan, J., and Tonetti, M.S. (2005). Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res*, 84(3), 269-273.
243. Joseph, R., Narayan, V., Krishnan, R., and Melemadathil, S. (2011). Non-surgical periodontal therapy improves serum levels of C-reactive protein and edematous states in female patients with idiopathic edema. *J Periodontol*, 82(2), 201-209.
244. Masi, S., Salpea, K.D., Li, K., Parkar, M., Nibali, L., Donos, N., Patel, K., Taddei, S., Deanfield, J.E., D'Aiuto, F., et al. (2011). Oxidative stress, chronic inflammation, and telomere length in patients with periodontitis. *Free Radic Biol Med*, 50(6), 730-735.
245. Wells, B.J., Mainous, A.G., 3rd, and Everett, C.J. (2005). Association between dietary arginine and C-reactive protein. *Nutrition*, 21(2), 125-130.

**EK : Deney hayvanları etik kurul kararı.**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 07-02-2013  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2013/A-12  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Ratus novexcicus  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı :36 Adet  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 150-200 gram

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç.Dr.Abubekir Eltas'ın yürütücüsü olduğu "Ratlarda deneysel periodontitis modelinde arjinin silikat inositol (ASI) kompleksin periodontal dokulara etkisinin biyokimyasal, histopatolojik ve radyografik olarak incelenmesi." isimli 2013/A-12 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geöen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.ANİ ALADAĞ Başkan	Doç. Dr. Yılmaz ÇİGREMİŞ Üye	Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Üye
Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
Salih AVCI Sivil Üye	Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL BAŞKANLIĞI**



Sayı : B.30.2.İNÜ.0.20.05.05/02  
Konu :2013/A-12 nolu çalışma

19.12.2013

Sayın: Yrd.Doç.Dr.Abubekir Eltas  
Periodontoloji A.B.D

2013/A-12 protokol nolu “Ratlarda deneysel periodontitis modelinde arjinin silikat nositol (ASI) kompleksin periodontal dokulara etkisinin biyokimyasal, histopatolojik ve radyografik olarak incelenmesi” İsimli projeye 4. Grup olarak negatif kontrol grubunun kullanılması ve deneysel protokol kısmında yapılan değişiklikler Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafınca uygun görülmüştür.

Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ  
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

## **ÖZGEÇMİŞ**

08.12.1982 tarihinde Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da üniversite öğrenimini Konya Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde 2009 yılında tamamladı. 2010 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji anabilim dalında doktora öğrenimine başladı. Halen aynı anabilim dalında çalışmalarına devam etmektedir.