

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**DENEYSEL OLARAK PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN VE
RADYOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA AMİFOSTİN VE MELATONİNİN
PERİODONTAL DOKU YIKIMI ÜZERİNE ÖNLEYİCİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMALI OLARAK İNCELENMESİ**

Dt. Nur YORGANCILAR

Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Oğuz KÖSE

RİZE - 2024

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**DENEYSEL OLARAK PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN VE
RADYOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA AMİFOSTİN VE MELATONİNİN
PERİODONTAL DOKU YIKIMI ÜZERİNE ÖNLEYİCİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMALI OLARAK İNCELENMESİ**

Dt. Nur YORGANCILAR

Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Oğuz KÖSE

RİZE - 2024

KABUL ve ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında, Prof. Dr. Oğuz KÖSE danışmanlığında, Nur Yorgancılar tarafından hazırlanan Deneyisel Olarak Periodontitis Oluşturulan ve Radyoterapi Uygulanan Ratlarda Amifostin ve Melatoninin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Önleyici Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi adlı bu tez çalışması, 24.10.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunmuş ve jürimiz tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı Soyadı

Başkan	:	Prof. Dr. Oğuz KÖSE
Üye	:	Doç. Dr. Meltem ZİHNİ KORKMAZ
Üye	:	Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU

ETİK BEYAN

Periodontoloji programından mezun olmak üzere teslim ettiğim ‘‘Deneysel Olarak Periodontitis Oluşturulan ve Radyoterapi Uygulanan Ratlarda Amifostin ve Melatoninin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Önleyici Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi’’ adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfla bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nur YORGANCILAR

24/10/2024

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PERİODONTAL HASTALIKLAR	4
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	4
2.1.2. Periodontal Sağlık	6
2.1.3. Gingivitis	6
2.1.4. Periodontitis	7
2.1.4.1. Periodontitisin Patogenezi	12
2.2. OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM	18
2.2.1. Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi	19
2.2.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Periodontitis Patogenezindeki Rolü	19
2.3. BAŞ-BOYUN RADYOTERAPİSİ	21
2.4. PERİODONTİTİS VE BAŞ-BOYUN KANSERİ	22
2.5. PERİODONTİTİS VE BAŞ-BOYUN RADYOTERAPİSİ	23
2.6. AMİFOSTİN	24
2.6.1. Amifostin ve Özellikleri	24
2.6.2. Amifostinin Etkileri	25
2.6.2.1. Amifostinin Radyoprotektif Etkisi	26
2.7. AMİFOSTİN VE RADYOTERAPİ	26
2.8. AMİFOSTİN VE PERİODONTİTİS	27
2.9. MELATONİN	28
2.9.1. Melatonin Hormonu ve Özellikleri	28
2.9.2. Melatonin Hormonunun Etkileri	29
2.10. MELATONİN VE KANSER	30
2.11. MELATONİN VE PERİODONTİTİS	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. DENEY HAYVANLARININ TEMİNİ VE BARINDIRILMASI	34
3.1.1. Çalışma Grupları	35
3.2. LİGATÜR İLE PERİODONTİTİS İNDÜKSİYONU	37
3.3. BAŞ-BOYUN RADYOTERAPİSİ UYGULAMA PROTOKOLÜ	38
3.4. AMİFOSTİN UYGULAMA PROTOKOLÜ	39

3.5. MELATONİN UYGULAMA PROTOKOLÜ	39
3.6. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI	40
3.7. ALVEOLAR KEMİK KAYIPLARININ BELİRLENMESİ	42
3.7.1. Histomorfometrik Analiz	42
3.7.2. İmmünohistokimyasal Analiz	49
3.7.3. Semikantitatif Analiz	50
3.8. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	51
3.8.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler.....	51
3.8.2. Kullanılan Kimyasal Materyaller ve Marka Adları	51
3.8.3. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	52
3.8.4. Doku IL-1 β ve IL-10 Düzeylerinin Belirlenmesi.....	53
3.8.4.1. IL-1 β ve IL-10 Düzeylerinin ELISA Kitiyle Analiz Edilmesi	53
3.8.4.2. Serum TNF- α ve IL-6 Düzeylerinin Analiz Edilmesi	54
3.8.4.3. Serum b-ALP Düzeylerinin Analiz Edilmesi.....	54
3.8.5. Doku Oksidan-Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi	55
3.8.5.1. Doku Total Oksidan Düzeylerinin Belirlenmesi	55
3.8.5.2. Doku Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	55
3.8.5.3. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması.....	56
3.9. İSTATİKSEL ANALİZ	58
4. BULGULAR.....	59
4.1. MORFOMETRİK BULGULAR (ALVEOLAR KEMİK KAYIPLARI).....	59
4.2. İMMÜNOHISTOKİMYASAL BULGULAR	61
4.2.1. Doku RANKL ve OPG Bulguları.....	61
4.2.2. Doku Kaspaz-3 Bulguları	65
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR	67
4.3.1. Doku Pro-inflamatuar ve Anti-inflamatuar Sitokin ve Enzim Bulguları.....	67
4.3.1.1. Doku IL-1 β , IL-10, IL-1 β /IL-10 Bulguları.....	68
4.3.1.2. Serum IL-6 ve TNF- α Bulguları	70
4.3.1.3. Serum b-ALP Bulguları.....	71
4.3.2. Doku Oksidan - Antioksidan Parametrelerin Bulguları.....	72
4.3.2.1. Doku TOD, TAOK ve OSI Bulguları	72
5. TARTIŞMA.....	75
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
KAYNAKÇA	91
EKLER	122
EK-1: ÖZGEÇMİŞ.....	122
EK-2: ETİK KURUL ONAYI.....	123
EK-3: İNTİHAL RAPORU.....	124

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca hem klinik hem de akademik tecrübelerini esirgemeyen, özellikle akademik olarak her konuda bilgi ve tecrübeleri ile ışık tutan, yol gösteren çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Oğuz KÖSE'ye,

Kliniğimizde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Meltem ZİHNİ KORKMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU ve Öğr. Gör. Semih Alperen BOSTAN'a,

Tez kapsamında radyoterapi sürecindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Sema YILMAZ RAKICI'ya, gerçekleştirdikleri biyokimyasal incelemeler için Prof. Dr. Adnan YILMAZ ve Öğr. Gör. Kerimali AKYILDIZ'a ve histolojik incelemeler için Prof. Dr. Levent TÜMKAYA ve Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE'ye,

Birlikte çalıştığım, güzel dostluklar kurduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında her zaman desteklerini hissettiğim, bugünlere gelebilmemde çok büyük emekleri olan canım aileme,

Sonsuz teşekkürler...

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TSA-2024-1606 Nolu proje ile desteklenmiştir.

Nur YORGANCILAR

ÖZET

Deneyisel Olarak Periodontitis Oluşturulan ve Radyoterapi Uygulanan Ratlarda Amifostin ve Melatoninin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Önleyici Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, radyoterapi ile indüklenmiş deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda amifostin ve melatoninin koruyucu etkilerini oksidatif, biyokimyasal ve histomorfometrik olarak incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 40 adet dişi Sprague-Dawley rat 5 gruba ayrıldı: Kontrol, Deneysel periodontitis (DP), DP+Radyoterapi (DP+RT), DP+RT+Amifostin (DP+RT+AMİ), DP+RT+Melatonin (DP+RT+MEL). Ligatür ile periodontitis indüksiyonundan sonraki gün, tek doz 5 Gray radyoterapi uygulandı. Aynı gün, 3 gün boyunca amifostin (200 mg/kg) ve 15 gün boyunca melatonin (10 mg/kg) tedavisine başlandı. Deneyin sonunda, periodontal kemik kaybı histomorfometri ile ölçüldü. RANKL, OPG ve Kaspaz-3 aktiviteleri immünohistokimyasal olarak analiz edildi ve inflamatuvar sitokin (IL-1 β , IL-10, IL-6, TNF- α) seviyeleri ve oksidatif stres (TOD/TAOK) doku homojenatlarında biyokimyasal olarak analiz edildi.

Bulgular: Kontrol grubu ile DP+RT arasında, birçok biyokimyasal parametre ve oksidatif stres düzeyinde anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Melatonin profilaksisi uygulanan gruptaki alveolar kemik yıkımının, kontrol grubuna yakın seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir ($p>0,05$). Melatonin, ışınlanmış deneysel periodontitisli ratlarda; biyokimyasal, histokimyasal, apoptotik ve kemik kaybı düzeyinde anlamlı iyileşme sağlamıştır ($p<0,05$). İki ilaç grubu (DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL) karşılaştırıldığında ise, herhangi bir parametre düzeyinde istatistiğe yansıtacak kadar anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Sonuç: Radyoterapinin oksidatif, inflamatuvar ve apoptotik düzeyde periodontal hasarı şiddetlendirdiği ve koruyucu amifostin ve melatonin uygulamalarının bu yıkımı önemli ölçüde sınırlandırdığı tespit edilmiştir. Melatoninin sınırlı yan etkileri düşünüldüğünde, amifostine alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alveolar Kemik, Amifostin, Melatonin, Periodontitis, Radyoterapi, Rat

ABSTRACT

Comparative Investigation Of The Preventive Effects Of Amifostine and Melatonin On Periodontal Tissue Destruction In Rats With Experimental Periodontitis and Radiotherapy

Aim: The aim of this study was to investigate the protective effects of amifostine and melatonin oxidatively, biochemically and histomorphometrically in rats with radiotherapy-induced experimental periodontitis.

Material and Methods: 40 female Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups: Control, Experimental periodontitis (Ep), Ep+Radiotherapy (Ep+Rt), Ep+Rt+Amifostine (Ep+Rt+Ami), Ep+Rt+Melatonin (Ep+Rt+Mel). The day after induction of periodontitis by ligature, a single dose of 5 Gray radiotherapy was administered. On the same day, treatments with amifostine (200 mg/kg) for 3 days and melatonin (10 mg/kg) for 15 days were started. At the end of the experiment, periodontal bone loss was measured by histomorphometry. RANKL, OPG and Caspase-3 activities were analyzed immunohistochemically and inflammatory cytokine (IL-1 β , IL-10, IL-6, TNF- α) levels and oxidative stress (TOS/TAS) were analyzed biochemically in tissue homogenates.

Results: It was observed that there was a significant difference in many biochemical parameters and oxidative stress levels between the control group and Ep+Rt ($p < 0.05$). Alveolar bone destruction in the melatonin prophylaxis group was observed to be close to control ($p > 0.05$). Melatonin significantly improved biochemical, histochemical, apoptotic and bone loss levels in irradiated experimental periodontitis rats ($p < 0.05$). When comparing the two drug groups (Ep+Rt+Ami and Ep+Rt+Mel), no statistically significant difference was found at any parameter level ($p > 0.05$).

Conclusion: Radiotherapy has been shown to exacerbate periodontal damage at the oxidative, inflammatory and apoptotic levels, and preventive use of amifostine and melatonin significantly limits this destruction. Given the limited side effects of melatonin, it may be an alternative to amifostine.

Keywords: Alveolar Bone, Amifostine, Melatonin, Periodontitis, Radiotherapy, Rat

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
AADC	: Aromatik asit dekarboksilaz
AANAT	: Arilalkilamin N-asetiltransferaz
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
AK	: Alveolar kret
AKK	: Alveolar kemik kaybı
ALP	: Alkalen fosfataz
AMİ	: Amifostin
b-ALP	: Kemik alkalen fosfataz
cm	: Santimetre
Da	: Dalton
dk	: Dakika
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DO	: Distraksiyon osteogenezi
DOS	: Diş eti oluğu sıvısı
DP	: Deneysel periodontitis
DTNB	: 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit
EFP	: Avrupa Periodontoloji Federasyonu
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAK	: Furkal alveolar kret
FÇ	: Furkasyon çatısı
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
g	: Santrifüj kuvveti
gr	: Gram
Gy	: Gray
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HbA1c	: Hemoglobin A1c

HIOMT	: Hidroksiindol-O-metiltransferaz
HOCl	: Hipokloröz asit
hsCRP	: Yüksek duyarlılıklı C reaktif protein
hTERT	: İnsan telomeraz ters transkriptaz
IL-1	: İnterlökin-1
IL-1α	: İnterlökin-1 alfa
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
IL-3	: İnterlökin-3
IL-4	: İnterlökin-4
IL-6	: İnterlökin-6
IL-6R	: İnterlökin-6 reseptörü
IL-8	: İnterlökin-8
IL-10	: İnterlökin-10
IL-11	: İnterlökin-11
IL-12	: İnterlökin-12
IL-13	: İnterlökin-13
IL-17	: İnterlökin-17
INF-γ	: İnterferon gama
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
i.p.	: İntraperitoneal
KH₂PO₄	: Monopotasyum fosfat
K₂HPO₄	: Dipotasyum hidrojen fosfat
KAK	: Klinik ataşman kaybı
KAT	: Katalaz
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
KIBT	: Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KT	: Kemoterapi
L	: Litre

MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malondialdehit
MEL	: Melatonin
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MSS	: Mine sement sınırı
mg	: Miligram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
mL	: Mililitre
MV	: Milivolt
°C	: Santigrat derece
NaCl	: Sodyum klorür
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
Na₂HPO₄	: Disodyum hidrojen fosfat
NaH₂PO₄	: Monosodyum fosfat
NF-κβ	: Nükleer faktör kappa beta
NK	: Doğal öldürücü hücreler
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OD	: Optik yoğunluk
OH⁻	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OPG	: Osteoprotegerin
ORN	: Osteoradyonekroz
OS	: Oksidatif stres
OSİ	: Oksidatif stres indeksi

pg	: Pikogram
PG	: Prostoglandin
P. gingivalis	: Porphyromonas gingivalis
Ph	: Power of hydrogen
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RANK	: Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B
RANKL	: Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B ligandı
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RT	: Radyoterapi
RTEÜ	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
sn	: Saniye
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSPS	: İstatistiksel Analiz Yazılımı
TAOK	: Total antioksidan kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Tiyokarboksilik asit
TEP	: Tetrametoksipropan
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Th	: T helper
TIMP	: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TP5H	: Triptofan hidroksilaz
Trap 5b	: Tartrat rezistant asit fosfataz 5b
TOD	: Total oksidatif durum

VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WONCA	: Dünya Aile Hekimleri Örgütü
WR	: Walter Reed
%	: Yüzde



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Amifostin	25
Şekil 2.2. Melatonin	29
Şekil 3.1. Deney Şeması.....	36
Şekil 3.2. Her Grup İçin Deney Adımları	37
Şekil 3.3. Ratlara Ligatür Bağlanması	38
Şekil 3.4. Ratlara Baş-Boyun Radyoterapisi Uygulanması.....	39
Şekil 3.5. Hassas Tartı ile İlaç Dozlarının Hesaplanması	40
Şekil 3.6. Ratların Sakrifikasyona Hazırlanması	41
Şekil 3.7. -80 Derin Dondurucu.....	42
Şekil 3.8. Sol Mandibular Doku Örneği ve 1. Molar Diş Etrafının Ligatürlenmesi.....	42
Şekil 3.9. Doku Takip Cihazı	44
Şekil 3.10. Parafin Bloklama	46
Şekil 3.11. Rotary Mikrotom.....	46
Şekil 3.12. Etüv.....	47
Şekil 3.13. Hematoksilen-Eozin Boyama Cihazı.....	47
Şekil 3.14. Alveolar Kemik Kayıplarının Histomorfometrik Olarak Ölçülmesi.....	49
Şekil 3.15. İmmünohistokimya Boyama Cihazı	50
Şekil 3.16. Süpernatantların ELISA Kiti ile İncelenmesi	57
Şekil 3.17. ELISA Yıkayıcı Cihaz	57
Şekil 3.18. ELISA Okuyucu Cihaz	58
Şekil 4.1. Alveolar Kemik Kayıplarının Gruplar Arasında Karşılaştırılması	60
Şekil 4.2. Alveolar Kemik Kayıplarının Histolojik Kesitler Üzerinde Değerlendirilmesi	61
Şekil 4.3. Histolojik Kesitler Üzerinde RANKL Pozitif Hücreler	63
Şekil 4.4. Histolojik Kesitler Üzerinde OPG Pozitif Hücreler	64
Şekil 4.5. Histolojik Kesitler Üzerinde Kaspaz-3 Pozitif Hücreler	66
Şekil 4.6. IL-1 β , IL-10 ve IL-1 β /IL-10 Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması	70
Şekil 4.7. IL-6 ve TNF- α Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması	71
Şekil 4.8. b-ALP Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması.....	72
Şekil 4.9. TOD, TAOK, OSİ Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması.....	74

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumlarının Sınıflandırılması	5
Tablo 2.2. Periodontitis Evreleri	10
Tablo 2.3. Periodontitisin Derecelendirilmesi.....	12
Tablo 3.1. Deney Hayvanlarına Verilen Standart Pellet Rat Yeminin İçeriği	35
Tablo 3.2. Mandibula Dokusuna Ait Doku Takibi.....	45
Tablo 3.3. Hematoksilen Eozin Boyama Prosedürü.....	48
Tablo 3.4. Biyokimya Laboratuvarında Kullanılan Cihazlar ve Marka Adları	52
Tablo 4.1. Tüm Grupların Alveoler Kemik Kayıplarının Karşılaştırılması.....	60
Tablo 4.2. İmmün-Pozitif Hücrelerin Semi-Kantitatif Yöntemle Ölçüm Sonuçları (medyan-%25-%75 çeyreklikler arası değerler)	67
Tablo 4.3. İmmün-Pozitif Hücrelerin Semi-Kantitatif Yöntem ile Ölçümünde Skor Sistemi	67
Tablo 4.4. Tüm Grupların Biyokimyasal Parametrelere Ait Sonuçlarının Karşılaştırılması	67

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, diş destek dokularını (alveolar kemik, periodontal ligament, bağ dokusu ve diş eti) etkileyen, enflamatuvar ve kronik bir ağız hastalığıdır.¹ Periodontal hastalığın temel patolojik özelliği enflamasyondur. Periodontitis, diş ve destek dokuların enflamasyonu ile birlikte ataşman ve kemik kaybıyla karakterize, multifaktoriyel, kronik, inflamatuvar bir hastalıktır.² Dental biyofilm gelişmesinde ve ilerlemesinde etkili faktör olmakla beraber, patogenezinde konak cevabı merkezi bir rol oynamaktadır.³

Dünya çapındaki bütün ölümlerin %12'sine sebep olan kanser, her sene 10 milyonu aşkın yeni vaka ve ortalama 6 milyon kişinin ölümüyle sonuçlanan önemli, küresel bir sağlık sorunudur.^{4,5} Baş-boyun kanserleri ise, bütün kanserlerin %10-15'ini oluşturur.⁶ Baş-boyun kanserinin tedavisi için radyoterapi (RT) alan bireyler, genel popülasyona oranla periodontal hastalık bakımından daha riskli sayılırlar. RT ile tükürüğün yıkayıcı ve koruyucu etkilerinin azalması ve hiposalivasyon sonucu periodontitise eğilim artar. Ayrıca oral mikrobiom yapısının değişmesiyle, periodontal hastalığa daha yatkın bir flora hâkim olur.⁷ Yüksek doz RT ile periodontal ataşmanda ve dişlerde kayıplar hatta osteoradyonekroz (ORN) riski meydana gelir. Üstelik oral hijyenin yeterli olarak sağlanamadığı durumlarda, ciddi periodontal yıkımlar oluşabilir.⁸ Bu değişiklikler neticesinde periodontal hastalık riski artar, hasara uğramış kemik dokularının tamiri ve remodelinginde bozulmalar meydana gelir.⁹ Öncelikle, baş-boyun bölgesinde uygulanan RT, hiposalivasyon ve bakteri sayısında artış gibi oral dengede değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler, diyet değişiklikleri ve ağız hijyeni zorluklarıyla birlikte, diş çürüğü ve periodontal hastalık gelişimini destekler.^{10,11} İkinci olarak, radyasyon periodontal dokularda hiperemi, inflamasyon, tromboz, sitopeni, hipovaskülarizasyon ve fibrozise neden olur.¹² Bu tür değişiklikler periodontal hastalık

riskini artırır ve iyileşme sürecini değiştirir, böylece periodonsiyumun onarım ve yeniden şekillendirme kapasitesini azaltır.¹³

Radyasyon tedavisinin hem malign hem de normal hücreler üzerinde sitotoksik etkileri vardır. Oral dokularda, sıklıkla kemoterapi (KT) ve RT'den sonra doğrudan hasar meydana gelir; dolaylı hasar ise sistemik toksisiteden dolayı oluşabilir.¹⁴ RT'nin olumsuz etkilerini azaltmak ve sınırlandırmak amacıyla birçok ajan üzerinde çalışılmıştır.

Radyoprotektif etkinliği yönüyle öne çıkan temel ajanlardan birisi amifostindir (AMİ). AMİ, kanser RT ve KT'sinde kullanılan Deoksiribo nükleik asit (DNA) bağlayıcı kemoterapötik ajanları içeren sitoprotektif bir adjuvandır. AMİ, in vivo olarak aktif metaboliti Walter Reed (WR)-1065'e alkalen fosfat (ALP) tarafından hidrolize edilen organik bir tiyofosfat ön ilacıdır. AMİ, hücrelerin içinde, platin ve alkilleyici ajanların reaktif metabolitlerini detoksifiye eder ve ayrıca serbest radikalleri temizler.^{15,16} Diğer etkileri arasında hızlandırılmış DNA onarımı,¹⁵ hücrel hipoksi indüksiyonu,¹⁵ apoptoz inhibisyonu,¹⁶ gen ekspresyonunun değişmesi¹⁶ ve enzim aktivitesinin modifikasyonu¹⁶ yer alır. AMİ'nin, normal dokuları Warburg tipi etkiler yoluyla koruduğu düşünülmektedir.¹⁷ RT'ye bağlı olarak, kraniofasial ve uzun kemiklerin büyümesindeki gecikmede AMİ'nin radyoprotektör etkisi gösterilmiştir. Endotel, fibroblast ve osteoblast hücrelerinin sayısını korumada da AMİ'nin etkinliği gözlenmiştir.¹⁸ Yapılan çalışmalarda, AMİ'nin, normal kollajen ve mineral bileşimine doğru iyileşme sağlayarak, mandibulayı ORN ve patolojik kıraktan koruduğu gösterilmiştir.¹⁹ Ayrıca bir grup araştırmacı AMİ'nin, RT sonrası kırık iyileşmesinde osteoid oluşumunu ve osteosit sayısını koruduğunu göstermiştir.²⁰ Bir diğer araştırmada da, insan eşdeğeri RT ortamında AMİ profilaksisinin kemik kalitesini, gücünü ve birliğini koruma ve artırmadaki önemli etkisi ortaya konulmuştur.²¹

Melatonin (MEL) (N-asetil-5-metoksitriptamin), insan vücudunda pek çok kaynak tarafından üretilen bir indol amindir. Esas olarak epifiz bezi tarafından üretilir.²² Yapılan araştırmalar sonucunda, MEL'in DP'li sıçanların periodontal dokularındaki oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir.²³ Ayrıca MEL'in DP üzerindeki terapötik etkileri araştırılmış ve periodontal yıkımı önlediği bulunmuştur.²⁴ Çeşitli deneysel çalışmalarda MEL'in ışınlanmış dokular üzerinde de radyoprotektif etkilere sahip olduğu görülmüştür.²⁵⁻²⁸ Ekibimiz tarafından gerçekleştirilen önceki bir çalışmamızda, DP uygulanan ışınlanmış sıçanlarda RT'nin oksidatif stresi (OS), periodontal ataşman düzeyini ve alveoler kemik kaybını artırdığını, koruyucu MEL uygulamasının oksidatif parametreleri önemli ölçüde azalttığını ve periodontal hasarı önlediğini açıkça göstermiştik.²⁹

Ancak ne yazık ki, mevcut çalışmalar AMİ'nin periodontal yıkımı koruyucu etkisini net olarak ifade edememiştir. Bu bağlamda yukarıda bahsedilen bu iki ajanın RT ile provake edilen periodontal doku yıkımı üzerine koruyucu etkilerine yönelik sınırlı miktarda bulguya sahip olduğumuz açıktır. Tüm bu bilgiler ışığında, bu çalışma, sistemik AMİ ve MEL uygulamasının RT ilişkili periodontal doku yıkımını sınırlandıracağı hipotezi temelinde planlandı. Bilgilerimize göre çalışmamız AMİ'nin periodontal protektif etkinliğini inflamatuvar ve oksidatif parametreler temelinde araştıran ve MEL ile karşılaştıran ilk çalışma olma özelliğindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalıklar

Dental biyofilm aracılığıyla dişetinde enflamasyonla başlayan ve periodontal doku yıkımının AKK'ye neden olduğu kronik seyreden mikrobiyal, inflamatuvar durum periodontal hastalığı tanımlamaktadır.³⁰ Çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinlerin yer aldığı konak-mikrobiyal etkileşimine sebep olmaktadır. Primer etiyolojik faktör özellikle subgingival florada bulunan fakültatif ve gram negatif anaerob bakterilerdir.^{31,32} Periodontal hastalığın oluşması için bakteriler kadar duyarlı bir konakçı da gereklidir. Plak yapısında bulunan bakterilerin varlığına cevap olarak gelişen kronik, immün-inflamatuvar yanıt; periodonsiyumun yapısal komponentlerinin zarar görmesine ve sonuçta periodontal hastalığın klinik belirtilerine neden olur.³³⁻³⁸ Gingivitis ve periodontitis en iyi bilinen periodontal hastalıklardır.³⁹ Gingivitis, diş eti oluğunda biriken bakteriler ve onlara karşı konak cevabı arasındaki dengenin bozulması ile karakterize, enfeksiyonel, lokal bir hastalıktır.⁴⁰ Gingivitiste yalnızca diş eti ile sınırlı bir iltihabi yanıt söz konusudur. Ancak tedavi edilmediği takdirde, periodontitise ilerleyebilir. Periodontitis, biyofilmin birikmesi sonucu diş destek dokularında yıkım ile karakterize edilen, inflamatuvar, kronik, multifaktöriyel bir hastalıktır.^{41,42} Doku yıkımı periodontitisin en karakteristik özelliğidir. Bu yıkımda proteolitik enzimler ve inflamatuvar mediatörlerin son ürünleri ana mekanizmayı oluştururlar. İmmün sistem hücreleri, inflamatuvar moleküller ve sitokinler doku yıkımında rol oynarlar.⁴³

2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıklar ve durumlar, Avrupa Sivil Toplum Kuruluşları Federasyonu aracılığıyla düzenlenen çalıştayda Periodontoloji ve Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından 2017 yılında yeniden sınıflandırılmıştır. Yeni sınıflandırma, agresif ve kronik periodontitis varlığını ortadan kaldırmış,⁴² periodontitisin

ilerlemesine, karmaşıklığına ve şiddetine göre aşamalar ve dereceler şeklinde karakterize etmiştir.²

Güncel sınıflandırma; periodontal sağlık, gingival hastalık ve durumları, periodontitis ve periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar olmak üzere üç ana başlık altında toplanmıştır. Periodontitisin sınıflandırılması ise hastalığın patofizyolojisine uygun olarak 3 başlık altında incelenmiştir. Bunlar; periodontitis, nekrotizan periodontitis ve sistemik hastalıkların belirtisi olarak periodontitis şeklindedir. Ayrıca peri-implant hastalıkları ve durumları ise periimplant sağlıklı, periimplant mukozitis, periimplantitis, periimplant yumuşak ve sert dokudaki yetersizlikler olarak incelenmiştir (Tablo2.1).⁴⁴

Tablo 2. 1. Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumlarının Sınıflandırılması

Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumlarının Sınıflandırılması			
Periodontal Hastalıklar ve Durumlar			
Periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar	Periodontitis	Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar	
Periodontal sağlık ve gingival sağlık			
Dental biyofilmlle ilişkili gingivitis			
Dental biyofilmlle ilişkili olmayan gingival hastalıklar			
Nekrotizan periodontal hastalıklar			
	Periodontitis		
	Sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis		
	Sistemik hastalıkların veya durumların periodontal destek dokuları etkilemesi		
	Periodontal apseler ve endodontik periodontal lezyonlar		
	Mukogingival deformiteler ve durumlar		
	Travmatik oklüzyal kuvvetler		
	Diş ve protezle ilişkili faktörler		
Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar			
Peri-implant sağlık	Peri-implant mukozitis	Peri-implantitis	Peri-implant yumuşak ve sert doku eksiklikleri

2.1.2. Periodontal Sağlık

“Sağlık yalnızca sakatlığın veya hastalığın olmaması değil; sosyal, fiziksel ve ruhsal açıdan tam anlamıyla iyilik halidir”.⁴⁵ Dünya Sağlık rgt'nün bu tarifine bakıldığında periodontal sağlık, herhangi bir iltihabi periodontal hastalığın bulunmadığı ve kişinin normal fonksiyonlarını yapabilmesi ve geçmiş bir periodontal hastalık sonucunda fiziksel veya ruhsal sonuçtan etkilenmediği durum olarak yorumlanmaktadır.

Periodontal sağlık, sağlıklı ve azalmış periodonsiyumda olabilmektedir. Sağlıklı periodonsiyumda; ataşman kaybı, kemik kaybı ve diş etinde enflamasyon klinik olarak yoktur. Azalmış periodonsiyum ise, geçmişte periodontitis hastası olup mevcut durumda periodontal açıdan stabil olan ve periodontitis olmayan ancak gingival çekilme sonucu veya kron boyu uzatma gibi cerrahi işlemler uygulanan hastalar şeklinde ikiye ayrılabilir. Klinik tabloda enflamasyon yoksa, azalmış periodonsiyum klinik periodontal sağlıklı olarak sayılmaktadır.

2.1.3. Gingivitis

Yapılan son sınıflamaya göre gingivitis iki kategoriye ayrılır:⁴⁶

- 1) Dental plak biyofilminden kaynaklanan diş eti iltihabı
- 2) Diş plağı kaynaklı olmayan diş eti hastalıkları

Dental plak kaynaklı diş eti iltihabı, "plak biyofilmi ve konak immün-inflamatuar cevabı arasındaki etkileşimler sonucu oluşan inflamatuvar lezyon" olarak ifade edilir. Bu tür bir iltihaplanma sadece diş etinde kalır, mukogingival bileşkenin ilerisine geçmez. Diş eti marjinde plağın uzaklaştırılmasıyla geri döndürülebilir.⁴⁶ Diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) artış ve sondalamada kanama gingivitisin klinik en erken bulgusudur.⁴⁷ Gingivitis, diş kaybına doğrudan neden olmaz; fakat gingivitis tedavisi periodontitis adına temel önleyici stratejidir.⁴⁸

Dental plak orijinli olmayan diş eti hastalıkları, plağın neden olmadığı ve çoğunlukla plak uzaklaştırılsa bile düzelmeyen durumları içerir.⁴⁹ Bu lezyonlar dental plağa bağlı olarak oluşmasalar da; plağın varlığı, birikimi ve sonunda iltihaba neden olması klinik bulguların ciddiyetini belirlemektedir.⁵⁰ Lezyonların etiolojisine dayanarak; enflamatuvar ve immün durumlar, genetik / gelişimsel bozukluklar, belirli enfeksiyonlar, reaktif lezyonlar; neoplazmlar, endokrin bozukluklar, beslenme ve metabolik hastalıklar, travmatik lezyonlar ve gingival pigmentasyon başlıkları altında bir sınıflama yapılmıştır.⁴⁹

2.1.4. Periodontitis

Periodontitis, çoğunlukla diş eti iltihabına, cep oluşumuna, alveoler kemik kaybına ve sonunda mobiliteye sebep olan, periodontal dokuların yıkımı ile karakterize, kronik bir inflamatuvar hastalıktır.^{41,42} Hastalık; spesifik patojen mikroorganizmalar, yıkıcı konakçı tepkisi, sigara gibi periferik faktörleri içeren komplike ve dinamik bir yapıya sahiptir.^{41,51} Periodontitis; diş eti iltihabını, AKK'nin radyografik bulgularını, klinik ataşman kaybını (KAK), sondalamada derin ceplere sahip bölgeleri, sondalama esnasında kanamayla, patolojik migrasyon ve mobilitayı içerir.^{42,52,53}

2017 yılında yapılan Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıkları ve Durumlarının Sınıflandırılmasına ilişkin Dünya Çalıştay'ına göre, yeni periodontitis sınıflaması, çok geniş bir evreleme ve derecelendirme sistemine göre hastalığı kategorize etmektedir. Hastalığın ilk teşhis anındaki ciddiyetine ve hastalık kontrolünün karmaşıklığına göre evreleme belirlenir.⁴² Derecelendirme ise, periodontitis için risk faktörlerinin olması ve öykü ile belirlenen hastalığın ilerleme hızının göstergesi olarak kabul edilir.⁴²

Yapılan bu son sınıflamada periodontitis, komşu olmayan iki veya daha fazla dişte interdental KAK ya da iki veya daha fazla dişte 3mm'den fazla periodontal cep ile oral ya da bukkal KAK'ın 3 mm veya daha fazla olması şeklinde tanımlanmaktadır.²

Periodontitisin teşhisi için yapılan KAK ölçümüne, periodontal sebeplerle oluşmayan durumlar dahil edilmez.²

Evre I Periodontitis: Evre I periodontitis, dişeti iltihabı ile periodontitis arasındaki sınır bölgesidir ve ataşman kaybının erken aşamalarını temsil eder. Bu nedenle, evre I periodontitisli hastalarda diş eti iltihabının ve biyofilm disbiyozunun devam etmesine yanıt olarak periodontitis gelişmiştir.² Evre I periodontitiste KAK en fazla 1-2 mm.dir. Radyografik kemik kaybı koronal üçlüde %15'ten azdır. Periodontal nedenle diş kaybı yoktur. Maksimum sondalama derinliği 4 mm ya da daha azdır. Genellikle horizontal kemik kaybı vardır (Tablo 2.2). Periodontitisin tanımlanmasında mevcut altın standart olan erken KAK'ı tahmin etmek için periodontal sondalama hatalı olabilir. Tükürük biyobelirteçlerinin ve/veya yeni görüntüleme teknolojilerinin değerlendirilmesi, çeşitli ortamlarda evre I periodontitisin erken tespitini artırabilir.²

Evre II Periodontitis: Aşama II, dikkatli bir şekilde yapılan klinik periodontal muayenenin periodontitisin diş desteğine neden olduğu karakteristik hasarları tanımladığı yerleşik periodontitisi temsil eder. Bununla birlikte, hastalık sürecinin bu aşamasında, bakterilerin düzenli olarak kişisel ve profesyonel olarak uzaklaştırılması ve izlenmesini içeren standart tedavi ilkelerinin uygulanmasının, hastalığın ilerlemesini durdurması beklendiğinden, birçok vaka için yönetim nispeten basit kalır.² Evre II periodontitiste KAK en fazla 3-4 mm.dir. Radyografik kemik kaybı koronal üçlüde %15-33 arasındadır. Periodontal nedenle diş kaybı yoktur. Maksimum sondalama derinliği 5 mm ya da daha azdır. Genellikle horizontal kemik kaybı vardır (Tablo 2.2). Evre II hastanın standart tedavi prensiplerine yanıtının dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi önemlidir ve vaka derecesi ile tedavi yanıtı, belirli hastalar için daha yoğun tedaviye yönlendirebilir.²

Evre III Periodontitis: Evre III periodontitiste, periodontal ataşmanda önemli hasara yol açmıştır ve ileri tedavi olmadığında diş kaybı meydana gelebilir. Bu evre,

kökün orta kısmına uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ile karakterize edilir ve bu lezyonların tedavisi, derin kemik içi defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu, periodontal diş kaybı / eksfoliasyon öyküsü ve lokalize sırt defektlerinin varlığı nedeniyle karmaşıklaşır.² Evre III periodontitiste KAK 5 mm ve daha fazladır. Radyografik kemik kaybı kökün ortasına ya da apikal üçlüye kadar uzanır. Periodontal nedenle 4 ya da daha az diş kaybı mevcuttur. Sondalama derinliği 6 mm ya da daha fazladır. Vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha fazladır (Tablo 2.2).

Evre IV Periodontitis: Evre IV periodontitis, periodontal destekte ciddi hasara neden olur ve önemli miktarda diş kaybına neden olabilir ve bu da çiğneme fonksiyonunun kaybına yol açar. Periodontitisin uygun şekilde kontrol altına alınmaması ve yeterli rehabilitasyonun yapılmaması durumunda diş kaybı riski vardır.² Evre IV periodontitiste KAK 5 mm ve daha fazladır. Radyografik kemik kaybı kökün ortasına ya da apikal üçlüye kadar uzanır. Periodontal nedenle 5 ya da daha fazla diş kaybı mevcuttur (Tablo 2.2). Bu aşama, kökün apikal kısmına uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ve/veya çoklu diş kaybı öyküsü ile karakterize edilir; sıklıkla sekonder oklüzal travmaya bağlı diş hipermobilitesi ve diş kaybı vardır. Vaka yönetimi sıklıkla çiğneme fonksiyonunun stabilizasyonunu/restorasyonunu gerektirir.²

Tablo 2. 2. Periodontitis Evreleri

Periodontitis Evre		Evre 1	Evre II	Evre III	Evre IV
Hastalık Şiddeti	En Fazla				
	Kayıp				
	Bölgesinde	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	İnterdental				
	Klinik				
	Radyografik	Koronal 1/3	Koronal 1/3	Kök Yüzeyinin	Kök Yüzeyinin
Kompleksite	Kemik Kaybı	<%15	%15-%33	orta/apikal 1/3'üne uzanan	orta/apikal 1/3'üne uzanan
	Diş Kaybı	Periodontitise Bağlı	Periodontitise Bağlı	Periodontitise Bağlı	Periodontitise Bağlı
		Yok	Diş Kaybı ≤4	Diş Kaybı ≤4	Diş Kaybı ≥5
				Evre II'ye ek olarak:	Evre III'e ek olarak:
					Kompleks
					rehabilitasyon
Kapsam ve Dağılım	Lokal	Maksimum Sondlama Derinliği ≤4	Maksimum Sondlama Derinliği ≤5	Sondlama Derinliği ≥ 6 mm	gerekten durumlar;
				Vertikal Kemik Kaybı ≥ 3 mm	Çiğneme Disfonksiyonu
		Genellikle Horizontal Kemik Kaybı	Genellikle Horizontal Kemik Kaybı	Sınıf II veya Sınıf III Furkasyon Problemi	Sekonder Okluzal travma (diş mobilite derecesi ≥2
				Orta Derecede Kret Defekti	Şiddetli Kret Defekti
					Kapanış bozukluğu
					Dişlerde Sürüklenme
Tanımlayıcı Olarak Eklenecek		Her Bir Evre İçin Dağılımın, Lokalize (<%30), Generalize veya Molar / İnsizor Karakterde Olduğu Belirtilir			

Hastalık ilerleme hızlarının farklı olduğu olguların belirlenmesinin faydalı olabileceği ve evre tanımının, gelecekte tanısal testlerle de periodontitis ilerlemesinin “derecesinin” tanımlanmasını sağlayabileceği öngörülmektedir.² Derece, her birey için evre tanımının A, B, C notuyla hassaslaştırılmasıyla elde edilebilir. Artan skorlar,

periodontal sağlığın bozulmasının farklı oranlarını ve risk faktörlerinin olup olmasını ifade edecektir.² Periodontitisin biyolojik özelliklerini gösteren, ilerleme hızının varlığı veya riski, sistemik sağlık etkileri ve muhtemel tedavi yanıtı gibi hastalığın derecelere bağlı olarak sınıflandırılmasını kapsayan skala geliştirilmiştir (Tablo 2.3).⁴²

Derece A: Periodontitisin ilerleme hızı yavaştır. KAK ve radyografik kemik kaybı 5 yıldan fazla sürede yoktur. Kemik kaybı yüzdesinin yaşı oranı 0,25'ten azdır. Biyofilm miktarı fazla olmasına rağmen yıkım düşük seviyededir. Hastalarda sigara kullanımı ve Diabetes Mellitus (DM) öyküsü yoktur. Yüksek duyarlılıklı C reaktif protein (hsCRP) seviyesi ise 1 mg/L'den azdır (Tablo 2.3).²

Derece B: Periodontitisin ilerleme hızı orta derecedir. 5 yıldan fazla sürede, 2 mm'den az KAK veya radyografik kemik kaybı görülmelidir. Kemik kaybı yüzdesinin yaşı oranı 0,25-1,0 arasındadır. Yıkım, biyofilm birikim miktarı ile orantılıdır. Bireyler, günlük 10 adetten az sigara kullanmaktadır. DM'li bireylerde hemogloblin A1c (HbA1c) değeri %7'nin altındadır. hsCRP seviyesi ise 1-3 mg/L arasındadır (Tablo 2.3).²

Derece C: Periodontitis hızlı ilerlemektedir. KAK ve radyografik kemik kaybı, 5 yıldan fazla sürede, 2 mm ve üzerindedir. Kemik kaybı yüzdesinin yaşı oranı 1'den fazladır. Yıkım, biyofilm birikimine oranla beklenenden fazladır. Kemik yıkımı hızlı ilerlemektedir. Günlük sigara kullanımı 10 adetin üzerindedir. DM'li bireylerde HbA1c değeri %7'nin üstündedir. hsCRP seviyesi ise 3 mg/L'den fazladır (Tablo 2.3).²

Tablo 2. 3. Periodontitisin Derecelendirilmesi

Periodontitis Derecesi			Derece A	Derece B	Derece C
	İlerlemenin Direkt Kanıtları	Longitudinal Veriler (Radyografik Kemik Kaybı veya KAK)	5 yılın üzerinde kayıp bulgusu yok	5 yılın üzerinde < 2 mm	5 yılın üzerinde ≥ 2 mm
Primer Kriter		% Kemik Kaybı / Yaş	<0,25	0,25- 1,0	>1,0
	İlerlemenin İndirekt Kanıtları	Vaka Fenotipi	Biyofilm miktarına göre dokularda yıkım düşük	Biyofilm miktarıyla dokularda yıkım orantılı	Biyofilm miktarına göre dokularda yıkım fazla
Derece Belirleyicisi	Risk Faktörleri	Sigara	Sigara Kullanmayan	Sigara <10/gün	Sigara ≥ 10/gün
		Diabet	Normoglisemi k/Diabet Teşhisi konmamış	HgAlc < %7 Diabetli Bireyler	HgAlc ≥ %7 Diabetli Bireyler
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	İnflamatuvar Yük	Yüksek Duyarlı C Reaktif Protein	< 1 mg/L	1-3 mg/L	> 3 mg/L
Biyobelirteçler	KAK/Kemik Kaybı Göstergeleri	Tükürük, DOS, Serum	?	?	?

2.1.4.1. Periodontitisin Patogenezi

Periodontal hastalıklar; diş plağı biyofilminde bulunan periodontopatojenik mikroorganizmalar ve konak immün-inflamatuvar yanıtı arasındaki karmaşık etkileşimler sonucu oluşan ve dişlerin etrafındaki bağ dokusu ve kemikte yıkıma sebep olan multifaktöriyel rahatsızlıklardır.^{54,55}

Mikroorganizma-Konak Etkileşiminde Yer Alan İmmünolojik Faktörler ve Mediyatörler

Bakteri, ekstraselüler matriks bileşenleri ve konak arasındaki etki mekanizmaları, histopatolojik temele dayandırılarak 3 fazda incelenmektedir. Bunlar; akut ve kronik faz

ve immün yanıtıdır.⁵⁶ Gingival sağlık durumundan erken inflamatuvar değişimlere geçiş prosesi; polimorfonükleer lökositlerin (PMNL; nötrofiller) aktivasyonu, vasküler geçirgenlikte artış, hiperemi ve  demi içermektedir. Akut faz boyunca, prostaglandin ve bradikinin gibi birçok vazodiladatasyon ürünleri ortaya çıkarken, vasküler permeabilite ve kemotaksis esnasında inflamatuvar hücrelerin dizilimi gerçekleşmektedir.⁵⁷ Akut faz sonunda, antijen sunucu hücreler, T lenfositler gibi komponentlere antijenleri ya da mikroorganizmaları sunduğunda ise immün cevap başlar. Bu durum plazma hücrelerinin oluşmasına ve kronik fazın gelişimine neden olur.^{56,58} Hemostaz mekanizmasında, uygun sitokinlerin rol alması ve mikroorganizmaların nötralizasyonu ya da fagosit edilmesi başarılı inflamatuvar cevaba neden olmaktadır. Bununla beraber kronik süreç sonrasında yıkım olduğunda, evre dokularda bazı mediatörlerin arttığı gözlenmiştir.^{56,58} Bunlar, TNF-alfa (Tümör nekroz faktörü- ) ve IL ( nterl kin)-1 gibi sitokinleri, araşidonik asit ürünleri gibi akut faz proteinlerini ve kompleman komponentlerini içermektedir. Diğer yandan, konak yanıtı sırasında inflamasyonu baskılamak amacıyla açığa çıkan endojenöz lipid bağlayıcı mediatörlerin (lipoksinler) inflamasyonun çözülmesinde rol aldığı gösterilmiştir.^{56,59}

Subgingival plakta bulunan mikrobiyal tehlike; prostanoidler (prostaglandin E2), inflamatuvar sitokinler (TNF- , IL'ler), reaktif oksijen türleri (ROT) ve enzimlerin [matriks metalloproteinazlar (MMP'ler)] aşırı üretimine sebep olarak periodontal yapılarıdaki konak immün-inflamatuvar cevabı tetiklemektedir. Bu mediatörler, periodontal yumuşak ve sert doku yıkımından esas olarak sorumludur.⁶⁰⁻⁶⁵

Enzimler ve anti-inflamatuvar ve pro-inflamatuvar sitokinler arasındaki denge periodontal hastalıkların patogenezinde çok önemlidir. Periodontal sağlık durumunda; prostaglandinler, ROT, çoğu sitokinleri içeren pro-inflamatuvar mediatörler, lipoksinler, antioksidanlar ve anti-inflamatuvar sitokinler tarafından dengelenmiştir.^{59,60,62} Bunun

dışında MMP'lerin yıkıcı etkinlikleri MMP doku inhibitörü (TIMP) ile denetlenmektedir.

Özet olarak, anti-inflamatuar ve pro-inflamatuar aktiviteler arasındaki dengesizlik periodontal doku tahribatında temel etkindir.^{59,60,62}

Periodontal hastalıktaki mevcut doku yıkımında MMP'ler anahtar rol oynamaktadır. Nötrofiller, fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler, osteoklastlar ve endotelial hücreleri içeren diş destek dokularındaki hücrelerden fizyolojik ve patolojik durumlarda salınmaktadırlar.⁶⁰ İnhibitörleri ile arasındaki mevcut dengenin bozulması doku yıkımına neden olmaktadır.^{60,66,67} Ayrıca TNF- α , IL-1 α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuar moleküllerin, periodontal hastalık göstergelerinden biri olarak AKK'yi desteklemeleri nedeniyle, patogeneiz mekanizmasındaki görevleri dikkat çekicidir.^{68,69}

ROT, serbest oksijen radikallerini ve radikal oluşturma yeteneğine sahip diğer reaktif türleri içeren bir terimdir.⁶² ROT, bir yandan patojenik bakterilerde antimikrobiyal bir etki gösterirken, diğer yandan konak üzerinde ise hasar oluşturmaktadır.⁶² OS, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması sonucu meydana gelmektedir. OS, apoptotik hücre ölümü ve inflamasyonda rol oynamakta ve bağışıklık sisteminin fonksiyonlarında azalmaya sebep olmaktadır. Protein oksidasyonu, DNA hasarı, enzimlerin oksidasyonu, pro-inflamatuar sitokinlerin uyarılması ve lipid peroksidasyonu gibi çeşitli olaylar ROT'a bağlı hasarda önemli bir rol oynamaktadır.^{62-65,70-72}

Periodontal Hastalıkta Doku Yıkım Mekanizması

Periodontitis oluşması için bakteri varlığı zorunlu fakat yeterli değildir.⁵¹ Bakteriler, savunma sisteminin farklı bileşenlerini aktive ederek periodontal yıkıma dolaylı yoldan sebep olabilmektedir. Bununla beraber, bazı sistemik hastalıklar yanı sıra sigara ve kalıtım gibi çevresel faktörlerden oluşan değişkenler, hastalığın şiddetini ve görülme ihtimalini belirleyen konağa bağlı faktörlerdir.⁷³

Periodontitis etiyolojisinde kemik metabolizmasındaki değişikliklere inflamatuvar sürecin eşlik etmesi, kemik biyolojisi ve immünolojinin beraber bulunduğu “osteoimmünoloji” adlı disiplinlerarası alanın oluşmasına sebep olmuştur.^{74,75} Kemik metabolizmasında yapım-yıkım dengesinde yer alan temel moleküller vardır: Reseptör aktivator nükleer kappa B (RANK), RANK ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG). Bunlardan RANKL, T hücreleri ve osteoblastik hücreler tarafından üretilen, TNF ailesine ait çözünür membran proteinidir. Osteoklast apoptozisini inhibe ederken, farklılaşmasını ve aktivasyonunu stimüle eder. Osteoklast aktivasyonu ve farklılaşması RANKL’ın, RANK sunan hücrelere bağlanması ile olmaktadır.⁷⁶ OPG ise, TNF reseptörlerinden çözünebilir bir proteindir. RANKL’a zıt biyolojik etkiler gösterir ve osteoklastogeneziste azalmaya sebep olur.^{77,78} Periodontal kemik formasyonu ve rezorpsiyonu çeşitli hücrelerde yer alan RANKL, osteoklast prekürsör hücrelerinde bulunan RANKL reseptörü RANK ve çözünür tuzak reseptörü OPG tarafından sağlanmaktadır. RANKL seviyesi arttığında, osteoklast öncü hücrelerindeki RANK ile bağlanarak, osteoklast formasyonu ile dengeyi kemik yıkımı lehine değiştirmektedir.⁷⁹ İnflamatuvar cevap sırasında TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-11 ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinler, stromal hücre ve osteoblastlardaki OPG yapımını azaltarak ve RANKL ekspresyonunu stimüle ederek osteoklastogenezisi indüklemektedir.⁸⁰ Aksine İnterferon gama (IFN- γ) ve IL-3 gibi anti-inflamatuvar moleküller RANKL ekspresyonunu düşürerek ya da OPG seviyesini artırarak osteoklastogenezisi engellemektedir.⁸⁰

Sitokinler

İmmün-inflamatuvar yanıtta yer alan hücrelerin faaliyetlerinin artırılması amacıyla; uyarılmış makrofajlar, lenfositler ve monositler ile diğer somatik hücrelerce sentezlenen glikoprotein ya da peptid yapısında maddelerdir.⁸¹ Sitokinler; hücre büyümesi,

enflamasyon ve yaralanma durumunda sistemik yanıtı içeren enflamatuvar olayları ve immüniteyi düzenlerler.⁸¹ Hormona benzemekle birlikte tam olarak hormon değildirler.⁸¹

Başlıca proinflamatuvar sitokinler; IL-1, IL-6, IFN'lar, TNF- α ve TNF- β 'den oluşur. Bugünkü bilgilerimize göre, periodontal hastalık patogeneğinde IL-1, en önemli sitokinlerden biridir ve pek çok biyolojik etkinliği bulunmaktadır. Enflamasyonda sentezlenen pek çok geni regüle eder.⁸² IL-4, IL-10, Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) ve IL-13 ise başlıca anti-inflamatuvar sitokinlerdir. Nötrofil aktivasyonu ve aynı zamanda kemotaksisinden de sorumlu mediyatör ise kemokin adıyla bilinen IL-8'dir.

İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 doku onarımında, hücre büyümesinde ve inflamatuvar hastalıklarda temel rol oynar.⁸²⁻⁸⁴ İnflamatuvar cevabı başlatmak ve devam ettirmek için gereken bir dizi olaya katılır. Lökosit migrasyonunu ve adezyon moleküllerinin yapımını artırır, metaloproteinazların ve inflamatuvar mediatörlerin üretimini uyarır, lenfositlerin aktivasyonunu sağlar, kemik rezorpsiyonunda rol alan osteoklastları uyarır, bazı hücrelerin apoptozisini uyarak dokuların yenilenme yeteneklerini sınırlandırır.⁸⁵

Periodontitis patogeneğinde yapılan hayvan çalışmalarında IL-1 β 'nin rolü araştırılmıştır. DP'li rat modellerinde, hastalığın ilerlemesi esnasında özellikle erken aşamada TNF- α , IL-6, IL-1 β , OPG ve RANKL gen ekspresyonlarının arttığı görülmüştür.^{86,87} Ayrıca klinik çalışmalarda da, periodontitis olan alanlarda DOS'ta IL-1 β seviyelerinin artışı ile hem kırmızı komplekste bulunan bakterilerin hem de IL-1 β (3954)-*SNP* polimorfizminin bağımsız bir bağlantısı gösterilmiştir.⁸⁸ Çalışmalar, periodontitis şiddetinin ve varlığının teşhisinde, tükürükte bulunan prostoglandin (PG)E2 ve IL-1 β 'nin periodontitisin tanımlanmasındaki biyobelirteçler olarak potansiyel olduğunu düşündürmektedir.⁸⁹

İnterlökin-10 (IL-10)

CD4+ yardımcı T hücrelerinin Th (T helper)2 grubu tarafından ve bunun dışında aktive makrofajlar, non-lenfositik hücre çeşitleri (keratinositler) ve bazı Th1 hücreleri ve aktive B hücreleri tarafından üretilir. IL-10'un iki temel etkisi vardır: Makrofajlar tarafından TNF, IL-1, IL-8, IL-12 gibi sitokinlerin üretimini ve T hücre aktivasyonundaki makrofajların işlevlerini engellemektir. Ayrıca IL-10, humoral ve hücrel immün yanıtta önemli rol oynamaktadır.⁹⁰

Yapılan bir çalışmada, IL-10 eksikliği olan fareler, hem ligatürün indüklemesiyle oluşan AKK'de hem de *Porphyromonas gingivalis* (*p. gingivalis*)'in indüklediği DP modelinde kontrol grubu farelerle karşılaştırıldığında, IL-17 aracılı kemik kaybını daha fazla gösterdiği görülmüştür.⁹¹ Periodontal hastalıkların patogenezinde, IL-10 önemli bir rol oynamaktadır.^{92,93} Yapılan bir çalışmada, periodontal tedaviyi takiben klinik tablonun iyileşmesi ile birlikte DOS'taki IL-10 düzeylerinin azaldığı görülmüştür.⁹⁴ Benzer şekilde, birçok çalışma da periodontitisli bireylerde serum IL-10 seviyelerinin periodontal olarak sağlıklı bireylere kıyasla artmış olduğunu bildirmiştir.^{95,96}

TNF- α

TNF- α , önemli bir immün yanıt ve inflamatuvar sitokin modülatörüdür. Periodontitis patogenezinde de rol oynadığı bilinmektedir. Uyarıldıktan sonra nötrofiller, makrofajlar, NK (doğal öldürücü hücreler), keratinositler, T ve B lenfositler, fibroblastlar gibi çeşitli hücreler aracılığıyla üretilir. Çalışmalar, TNF- α düzeyinin periodontitis patogenezinde rol oynadığını⁹⁶ ve periodontitis hastalarında serum TNF- α seviyelerinin daha yüksek seyrettiğini göstermiştir.^{97,98}

İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, doku yıkım prosesini artırarak, periodontal doku hasarı ile alakalı başlıca sitokinler arasında yer almaktadır.⁹⁹ IL-6 ve onun reseptörü IL-6R'nin, DOS'ta, iltihaplı

diş eti dokusunda ve periodontitisli bireylerin plazmasında arttığı görülmüştür.^{100,101} Ayrıca, periodontal tedaviyi takiben serum IL-6 düzeyinin de düştüğü görülmüştür.^{102,103}

2.2. Oksidan ve Antioksidan Sistem

Reaktif oksijen, kükürt ve nitrojen türlerinin; lipitlerde, DNA'da ve proteinlerde oksidatif hasara sebep olduğu bilinmektedir.¹⁰⁴ Reaktif türler radikal olmayan oksidanlar veya serbest radikaller olabilir. Serbest radikaller ise, eşleşmemiş elektron içeren potansiyel zararlı kimyasal türler şeklinde tanımlanabilir. Genellikle, serbest radikaller elektrik yüklüdür ve kendilerini nötrleştirme eğilimindedirler. Bunu diğer maddelerle tepkimeye girerek ve oksidasyona sebep olarak yaparlar.¹⁰⁵ ROT'lar arasında başlıca moleküller hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$), süperoksit radikalleri ($\text{O}_2\cdot^-$) gibi serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl) gibi radikal olmayan oksidanlardır.¹⁰⁶

Antioksidanlar ise, oksidanların ve serbest radikallerin etkisini azaltan, geciktiren, engelleyen ya da tamamen temizleyen ve oksidatif hasardan vücudu koruyan moleküllerdir.¹⁰⁷ Hücresel antioksidan sistemi, hücrelerde mevcut doğal dengeyi (redoks homeostazisi), korumak amacıyla reaktif türleri kontrol eder. Bu sistem, başlıca süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), enzimatik türler olarak glutatyon peroksidaz ve enzimatik olmayan antioksidan olarak glutatyonu içeren bileşenlerden oluşur. Plazma total antioksidan kapasitesinin (TAOK) ve bu değişikliklerin ölçülmesi, kişinin sağlık durumunu yorumlamak adına faydalı ipuçları verebilir. Çünkü insan vücudundaki total reaktif türler ile TAOK konsantrasyonu arasında çoğunlukla negatif korelasyon vardır.¹⁰⁸ Bu antioksidan-oksidan balansın bozulması sonucu yıkım meydana gelebilir.

İnflamatuar sürecin dahil olduğu pek çok kronik hastalığın patogenezinde de OS'nin rol aldığı gösterilmiştir. İnflamasyon ve OS birçok patolojik olayda birbirlerine eşlik eden patofizyolojik süreçlerdir.¹⁰⁹ İnflamatuar süreç esnasında, makrofajlar ve

nötrofiller gibi aktive olmuş fagositik hücreler, bazı istilacı türleri öldürmek için O_2^- , $\cdot OH$, H_2O_2 , Nitrik oksit (NO), HOCl ve peroksinitrit ($ONOO^-$) üretirler. Patolojik inflamatuvar durumda, reaktif türlerin üretimi aşırı olabilir ve reaktif türlerin bazıları doku hasarına ve OS'e sebep olabilirler.^{110,111}

2.2.1. Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi

OS, antioksidan ve oksidatif ajanların düzeyleri arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Büyük miktarlarda reaktif ürünler sistemik veya lokal inflamatuvar hastalıklara yol açar.¹¹² OS; hücre ve doku düzeyinde DNA, lipit ve proteinlerin irreversibl apoptotik mekanizmaları ve oksidatif modifikasyonu tetikleyerek birçok kronik inflamatuvar olayın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır.¹¹³ İnflamatuvar bir mekanizmaya sahip olan periodontitis de, nötrofillerde ROT'un çok yoğun sentezi ve sistemik inflamatuvar göstergeler ile karakterizedir.¹¹²

Bir vücut içinde oksidanların etkileri aditif özelliktedir ve total oksidatif durum (TOD), genel oksidatif tabloyu yansıtabilir.¹¹⁴ TAOK ise, serbest radikallerin antioksidanlar tarafından temizleme kapasitesini göstermektedir.^{115,116}

TOD, TAOK'a bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanabilir. Oksidanların artışına cevap olarak antioksidanların artışı, oksidatif hasar bakımından yalnızca TOD ölçümüne bakılması yanıltıcı olabilmektedir. TOD/TAOK oranına bakılması ile, oksidatif hasar açısından yanıltıcı olabilecek antioksidan reaktif cevap devreden çıkarılarak karşılaştırma yapmak daha doğru olacaktır.¹¹⁷

2.2.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Periodontitis Patogeneindeki Rolü

ROT'ların üretimi, "iki ucu keskin bir bıçak" gibi düşünülebilir; çünkü sağlıklı durumda patojenik mikroorganizmaları yok etmeye yardımcı olmakta, fakat aşırı aktif duruma geldiğinde ise konakçı için sitotoksik olabilmektedir. ROT'lar gen

regülasyonunda, antimikrobiyal savunmada ve hücre sinyallemesinde önemli rol oynar,¹¹⁸ ancak aşırı olmaları durumunda, azalmış ya da değişmemiş antioksidan kapasiteyle beraber oksidan yükün artışına yol açar ve bu da etkilenen yapılarda OS'ye sebep olur. Günümüzde, periodontitis patogenezinde OS'nin merkezi rolüne yönelik çok sayıda kanıt sahibiz.^{29,119-121} ROT, hücre zarlarına ve biyomoleküllere zarar verir.¹²² Bu da proinflamatuvar mekanizmaları, daha önemlisi osteoklastogenezi tetikleyen bir oksidatif dengesizliğe ve dolayısıyla periodontitisli hastalarda kemik kaybına neden olur.^{28,65,123,124} ROT'ların aracılık ettiği RANKL/OPG oranındaki artışın bir sonucu olarak kemik yapım-yıkım dengesi bozulur ve sonunda periodontitisin önemli özelliklerinden olan kemik kaybı gerçekleşir.¹²⁵ Bununla birlikte, ROT'lardan etkilenen fibroblastlar neticesinde kollajen seviyeleri azalır ve aşırı salınan MMP'ler de kemik matrisi ve bağ dokusunun bozulmasını teşvik eder.¹²⁶⁻¹²⁸ Ayrıca, hücre dışı bağ dokusuna da direkt hasar verilmesi sonucunda ROT üretimi, periodontal yıkıma neden olan ataşman kaybından da sorumludur.^{122,129-131}

Farklı çalışmalardan kaydedilen raporlar, periodontitisli bireylerden alınan serum, DOS ve tükürük örneklerinde OS gösterge seviyelerinin arttığını, bunun da periodontal inflamasyon ile OS arasındaki ilişkiyi güçlendirdiğini belirtmektedir.^{121,132,133} Periodontitiste, periodontal sağlık durumunda veya periodontitisin cerrahi olmayan tedavisinden önce ve sonra çeşitli antioksidan belirteçlerin düzeylerinin karşılaştırıldığı birçok çalışma vardır; hepsi de yüksek düzeyde ROT veya aşırı OS ile periodontitisin mevcudiyeti veya şiddeti ya da tedavi sonrası olumlu klinik tablo arasında doğrudan ilişki olduğunu işaret etmiştir.^{62,133,134} ROT seviyelerinin yükselmesi, artan serbest radikaller ve azalan antioksidan durumla beraber periodontitis patogenezinde, ilerlemesinde merkezi rol oynar.¹³⁵⁻¹³⁷

2.3. Baş-Boyun Radyoterapisi

Baş-boyun kanserleri, dünyada en çok görülen 6. sıradaki kanser türüdür.¹³⁸ Genellikle ileri yaşlarda görülmesine karşın çocuklarda da ortaya çıkabilir. Alkol ve sigara bağımlılığı, meydana gelmesinde önemli etkenlerdendir. Ayrıca genetik yatkınlık, bazı virüsler (Epstein Bar Virüsü), yetersiz oral hijyen, beslenme bozuklukları ve uyumsuz protezler etyolojisinde yer almaktadır.¹³⁹ Baş-boyun kanserlerinin insidansı çok olmamasına rağmen, beslenme ve solunum yollarıyla yakın ilişkisi sebebiyle tüm kanserler içinde önemli yere sahiptir.¹⁴⁰ Baş-boyun kanserleri ağız boşluğu, dudaklar, larinks, orofarinks, hipofarinks, nazofarinks, paranazal sinüsler, burun boşluğu, tükürük bezleri ve tiroid bezinde lokalize olabilir.⁶ Baş-boyun bölgesinde en çok görülen tümör tipi ise Skuamöz Hücreli Karsinom (SCC)'dur; bütün tümör tiplerinin %90'ını oluşturmaktadır.¹⁴¹

Baş-boyun kanserlerinde tedavi yöntemi olarak genellikle KT, RT ve/veya cerrahi vardır. RT, baş-boyun kanserlerinin tedavisinde uygulanan önemli bir tedavi metodudur. Birçok erken dönem malignitenin primer tedavisinde, KT ile birlikte küratif tedavi amacıyla veya cerrahi rezeksiyonun ardından destek tedavi şeklinde uygulanır.¹⁴²

RT ile tümör dokusuna yakın normal dokulara az hasar verecek şekilde, kişinin sağkalım süresinin ve yaşam kalitesinin artırılması amaçlanır.¹⁴³ Fakat, RT ile komşu sağlıklı dokularda birtakım toksik etkiler de meydana gelir.

RT, uygulama sırasında veya sonrasında sağlıklı dokuları da etkileyerek, bireyin yaşam kalitesini azaltan, hatta bazen tedavinin sonlandırılmasına veya tedaviye ara verilmesine neden olabilen birtakım yan etkilere neden olur. Bu durum özellikle örtücü mukoza, cilt, kas, tükürük bezleri, kemik ve dişler gibi yapıların beraber bulunduğu baş-boyun bölgesinde çok daha fazla ortaya çıkar.¹⁴⁴ Sağlıklı dokularda meydana gelen bu etkiler erken ve geç dönem yan etkiler şeklinde olabilir. Erken dönem yan etkiler

uygulama sırasında veya hemen sonrasında oluşur. Bunlar tat almada bozukluk, bulantı, kusma, mukozit ve psikososyal sorunlardır. Geç dönem yan etkiler ise RT uygulandıktan aylar sonra görülür.¹⁴⁵ Geç dönem etkiler, kemik ve yumuşak dokudaki değişimler sonucu olan kollajen sentezinin artması ve fibrozis ile oluşur. Bu değişimlerle birlikte dokuda hipoksi, hiposelülerite ve hipovaskülerite oluşur. Etkilenmiş kemik ve yumuşak dokuda yeniden yenilenme ve şekillenme yeteneği azalır; sonuç olarak enfeksiyon ve nekroz olma riski artar. Trismus, disfaji, fibrozis, ORN, diş çürükleri ve periodontal problemler en sık görülen geç dönem yan etkilerdir.¹⁴⁶

2.4. Periodontitis ve Baş-Boyun Kanseri

Oral mikrobiyom, cavitas oris'te prekanseröz lezyonların ve neoplazmaların oluşumu ve gelişimi ile ilişkilidir.¹⁴⁷ Mikrobiyom bileşimi bakımından, aynı hastanın sağlıklı dokularıyla kıyaslandığında oral SCC örneklerinde *Streptococcus* düzeyinin arttığı ve *Rothia* düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir.¹⁴⁸ Ayrıca, kontrollerle kıyaslandığında SCC'li bireylerde *Prevotella melaninogenica*, *Capnocytophaga gingivalis* ve *Streptococcus mitis*'in daha yüksek oranda tükürükte bulunduğu rapor edilmiştir.¹⁴⁹ Yakın zamanda yayınlanan bir raporda ise, sağlıklı kontroller ile laringeal SCC'li hastalar arasında boğazdaki mikrobiyal floranın bileşiminin önemli miktarda farklılaştığı bulunmuştur.¹⁵⁰ Periodontal inflamasyonda da disbiyotik mikro ortam vardır ve bu temel olarak *P. gingivalis* tarafından tetiklenmektedir. *P. gingivalis*'in; normal mikrobiyomu, hastalığı uyaran bir mikrobiyoma çevirerek homeostazisi parçalamak amacıyla konak modülasyonu aracılığıyla bu olayda kilit taşı olduğu düşünülmektedir.¹⁵¹ Ek olarak, *P. gingivalis* suşlarının, skuamöz karsinom hücrelerinde ve insan diş eti keratinositlerinde B7-DC ve B7-H1 reseptörlerinin ekspresyonunu indüklediği bulunmuştur. B7-H1 ekspresyonu,

aktive T hücrelerinde apoptoza ve anergiye yol açar ve tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışını kolaylaştırır.¹⁵²

Çeşitli genler de karsinogenezle ilişkilendirilebilir. Kornman ve ark.,¹⁵³ periodontitis şiddeti ile IL-1 geninin polimorfizmi arasındaki bağlantıyı araştırmış ve IL-1 artışının periodontitise duyarlılığın önemli bir belirteci olduğunu bulmuşlardır. Xu ve ark.,¹⁵⁴ da kanser ile IL-1 β polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Ayrıca, insan telomeraz ters transkriptaz (hTERT) enziminin periodontitisli hastalarda yüksek ekspresyon gösterdiği görülmüştür.¹⁵⁵ Bu, hem kanserin hem de periodontitisin, hücrel farklılaşma ile bağlantılı önemli bir ortak yola sahip olduğunu düşündürülebilir.

Epigenetik değişikliklerin, periodontitiste inflamasyona ait genleri düzenlediği bilinmektedir.¹⁵⁶ Bazı bulgular, bakterilerin DNA metilasyonunda farklılıklara sebep olma potansiyeli kazandığını göstermektedir.¹⁵⁷ Ek olarak Loo ve ark.,¹⁵⁸ kanser riski ile alakalı DNA hipermetilasyonu ve periodontitis arasında ilişki olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu bulgular, kronik inflamasyon ve kanser hastalığının benzer epigenetik yapıda olabileceğini göstermiş; aralarındaki bu bağlantının DNA metilasyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

2.5. Periodontitis ve Baş-Boyun Radyoterapisi

Periodontitis, baş-boyun kanserli hastalarda ORN'yi tetikleyebilir.¹⁵⁹ Baş-boyun kanseri tedavisi için radyasyon dozu alan hastalar, genel popülasyona göre periodontal hastalık bakımından daha fazla riske sahiptir. Tükürük salgısının ve koruyucu etkilerinin azalması periodontitise ortam hazırlayabilir. Ayrıca baş-boyun bölgesinde RT kullanımı, periodontal hastalık ile ilişkili olarak floraya geçişle beraber oral mikrobiyomda değişimlere neden olur.^{7,160} Ammajan ve ark. yaptıkları bir çalışmada,¹⁶¹ RT öncesi ve

sonrası hastaları karşılaştırırken diş eti çekilmesi ile birlikte periodontal ataşmanda kayda değer bir kaybın da olduğunu bildirmişlerdir.¹⁶¹

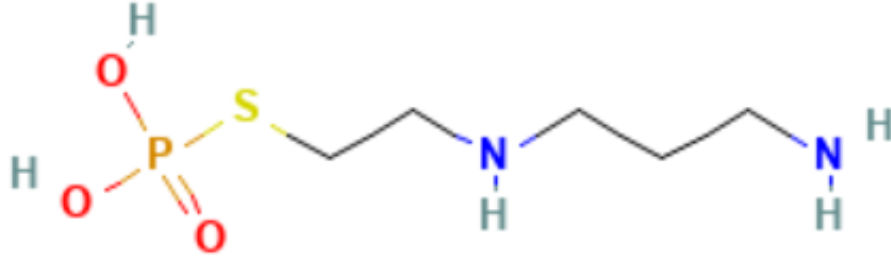
RT'nin periodontal dokular üzerindeki etkisi radyasyon dozuna bağımlıdır ve bu da periodontal sağlığın bozulmasıyla ilişkilidir.¹⁶² Periodontal hastalık, oral mukozit¹⁵⁹ ve aynı zamanda artan ORN riski^{163,164} nedeniyle onkoloji hastalarının aldıkları tedavi ile ilgilidir. Yetişkinlerde mevcut periodontitis tablosunun kanser tedavisi ile daha da ilerlemesi muhtemeldir. Ayrıca ileri evre periodontitis sonucunda, diş çekimi olabilir; bu da ORN ile sonuçlanabilir.

Schuurhuis ve ark. yaptığı bir çalışma, RT'den önce şiddetli periodontal hastalığa sahip hastaların, kemik dokusunda RT sonrası iyileşme sorunları yaşamaya daha yatkın olduğunu göstermiştir.¹⁶⁵ Pan ve ark.nın bir çalışmasında, RT'nin, ataşman ve AKK artışına neden olarak, periodontal hastalığın iyileşme sürecini değiştirebileceği sonucuna varılmıştır.¹⁶⁶ D Gull ve ark. ise, dentoalveolar yapılarda ve oral kavitede RT sonrası periodontitis, kemik kaybı ve olası risk faktörlerini içeren bir çalışma yapmışlardır.¹⁶⁷

2.6. Amifostin

2.6.1. Amifostin ve Özellikleri

AMİ (S-(N-(3-aminopropil)-2-aminoetiyol) 214,22 Da ağırlığında, sisteamin benzeri, beyaz kristalize toz şeklinde, suda çözünebilen bir moleküldür.¹⁶⁸ Soğuk savaş zamanında Amerika Birleşik Devletleri ordusuna bağlı Walter Reed Ordu Araştırma Enstitüsü tarafından yürütülen ve askerleri cephedeki nükleer silah kaynaklı radyasyondan korumak amacını taşıyan çalışmaların ürünüdür. Bu program tarafından geliştirilen ve tiyol içeren bileşikler “WR” ön eki ile tanımlanmışlardır. Öngörülen amaçla kullanıma uygun olmadığı anlaşıldıktan sonra AMİ tıbbi araştırmalar için kullanılmış, KT ve RT'ye bağlı doku hasarlarının engellenmesinde efektif olduğu görülmüştür.¹⁶⁹⁻¹⁷¹



Şekil 2.1. Amifostin

AMİ, RT ve KT’de kullanılan, DNA bağlayıcı kemoterapötik ajanları içeren sitoprotektif bir adjuvandır. AMİ, ALP tarafından aktif metaboliti WR-1065'e hidrolize edilen, organik bir tiyofosfat ön ilacıdır. AMİ, radyasyonun yıkıcı etkilerini, pH'ın daha yüksek olması ve ALP’ye sahip olmaması sebebiyle tümör hücrelerini ayrı tutarak normal hücrelerde selektif olarak yatıştırır. AMİ, dokuya ve yerel vaskülariteye zarar veren, RT’ye ilişkin serbest oksijen radikallerini temizleyen bir antioksidan olarak da görev yapar.^{172,173}

Ek olarak, bu ilaç düşük miktarda bir toksisiteye de sahiptir ve hipotansiyon, alerjik reaksiyon, mide bulantısı ve kusma bazı yan etkileridir.¹⁷² AMİ, baş-boyun kanseri olan hastalarda RT kaynaklı mukozit ve kserostominin önlenmesi amacıyla Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır.^{172,173} AMİ ağız kuruluşunun önlenmesi için onaylanmış olsa da, bazı çalışmalar AMİ’nin kemik düzeyinde korumaya yönelik olumlu etkilerine odaklanmıştır.¹⁷⁴⁻¹⁷⁹

2.6.2. Amifostinin Etkileri

AMİ’nin aktif metaboliti WR-1065, sitoprotektif etkisini bilinen üç farklı mekanizmayla gerçekleştirir. Bu mekanizmalardan ilki, direkt bağlanmayla

antineoplastik ögelerin aktif türevlerini detoksifiye etmesidir.^{168,180,181} İkincisi radyasyon ya da ilaçla indüklenmiş ROT'u etkin kılmasıdır.^{168,180-184} Üçüncüsü ise antineoplastik ilaç veya radyasyon uygulaması sonrası oluşan hasarın uyardığı apoptozisi azaltmasıdır.^{168,180,185,186}

2.6.2.1. Amifostinin Radyoprotektif Etkisi

Tümörler nispeten hipovaskülerdir ve düşük pH'a ve hipoksik bir ortama sahiptirler. Ayrıca ALP ekspresyonunun malign dokularda azaldığı bilinmektedir. İşte bu kombinasyon, aktif ilaç birikiminin tümör dokusundaki hücrelerde düşük olmasını sağlamaktadır. Bu nedenle AMİ farklı hücre içi serbest tiyol konsantrasyonu nedeniyle, tümör dokularına göre normal dokuları 100 kat daha fazla koruyabilmektedir.¹⁸⁷

AMİ, radyasyonun tümör dokusunda etkinliğini azaltmaz; ancak normal dokuda azaltır ve böylece hedeflenen tümör kontrolü de sağlanmış olmaktadır.¹⁸⁸

2.7. Amifostin ve Radyoterapi

Baş-boyun kanserinin tedavisinde, kraniyofasiyal iskeletin de ışınlanması hemen hemen kaçınılmazdır.¹⁸⁹ Hedef bölge içinde kalan hem kemik hem de yumuşak doku üzerinde radyasyonun yan etkileri vardır. Radyasyon hasarı, önce hipoksik ortama, peşine hücre gruplarının azalmasına, sonra kemik gibi dokuların atrofisine ve devaskülarizasyonuna, nihayetinde de generalize fibrozise neden olan serbest radikal türlerinin oluşumuyla başlar.¹⁸⁹⁻¹⁹²

RT'nin olumsuz etkilerini azaltmak ve sınırlandırmak amacıyla birçok ajan üzerinde çalışılmış olup, öne çıkan ajanlardan biri de AMİ'dir.

Peters ve ark., farelerde AMİ'nin tümör dokusuna göre normal dokuda daha hızlı biriktiğini bildirmiş ve böylece AMİ'nin normal dokuları anti-tümör etkileri hafifletmeden koruyabileceğini iddia etmişlerdir.¹⁹³

AMİ, baş-boyun kanseri hastalarında ağız kuruluğu ve mukozitin önlenmesi için bir radyokoruyucu olarak etkin bir profile sahiptir.^{172,194} Gen ekspresyonunu ve hücre döngüsünde yer alan kontrol noktalarını düzenleyen bir serbest radikal temizleyicidir. Veriler, AMİ uygulamasıyla ilgili genel sağkalımda ve radyasyon tedavisinin etkinliğinde bir azalma, tümör nüksünde bir artış olmadığını göstermektedir.^{172,173,194}

2.8. Amifostin ve Periodontitis

Baş-boyun karsinomasının klinik yönetiminde ortaya koyulan pek çok çalışma, RT'nin genellikle yararlı olmasına karşın, rejenere selülarite ve vaskülariteyi azalttığını ve yüksek sekel oranlarına neden olduğunu göstermiştir.¹⁹⁵⁻¹⁹⁸ Ayrıca, radyasyon tedavisinin sonucu olarak hipovaskülarite ve iskemi,¹⁹⁹ hastaları patolojik kırık ve ORN gibi komplikasyonlara da yatkın duruma getirmektedir.^{12,200}

Radyasyon, alveolar kemiğin mekanik yapısını, kalan osteoblastlarını, mineralizasyonunu, neoanjiyogenezini ve vaskülaritesini etkilemektedir.^{197,201-207}

Ne yazık ki, radyasyona bağlı oluşan komşu çevre dokulardaki bu yıkım, morbiditelerin gelişiminde tetikleyici bir faktör haline gelmeye devam etmektedir.²⁰⁸ Radyasyon tedavisinin, osteositlerin işlevlerinin azalması ve tükenmesi ile kemik dokudaki zararlı etkilere neden olduğu tespit edilmiştir.^{209,210}

Radyasyonun kemik üzerindeki hasarını önlemeye yönelik çok sayıda ajan araştırılmış olup, AMİ bunlardan biridir. AMİ gibi radyokoruyucuların kullanımı, radyasyonun osteositlerin hayatta kalması üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak için uygun bir yöntemi temsil etmektedir.

Felice ve ark.²¹¹ çalışmalarında radyasyonun kemiğin biyomekanik özelliklerini bozduğunu ve profilaktik AMİ'nin ise radyasyonun neden olduğu bu morbiditelere karşı doğal kemiği koruduğunu görmüşlerdir. Raman spektroskopisi kullanılan bir çalışmada,²¹² profilaktik AMİ kullanımının radyasyonun yol açtığı hasarın zararlarından

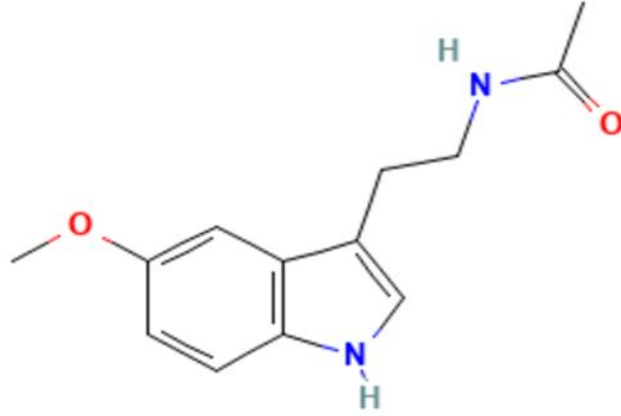
özellikle de mandibulanın inorganik kısmını koruma kabiliyeti gösterilmiştir. Distraksiyon osteogenezi (DO) modeli kullanılarak yapılan bir dizi çalışmada, Tchanque-Fossuo ve ark.²¹³ profilaktik AMİ uygulamasının kemik hacmi fraksiyonunun tüm radyomorfometrik parametrelerini, doku ve kemik mineral yoğunluğunu önemli miktarda iyileştirdiğini göstermişlerdir. Monson ve ark.,²¹⁴ yine bir kemirgen DO modeli kullanmışlar ve kemik oluşumunda RT'nin sebep olduğu hasarı hafifletmek için AMİ'yi kullanmışlardır. Benzer metodolojili bir diğer çalışmada ise,²¹⁵ radyokoruyucu AMİ ve anjiyojenik deferoksamin'in ve bunların kombine tedavisinin, bir murin DO modelinde RT etkisiyle oluşan kemik hasarını azaltma yeteneğini araştırmışlardır. Tüm ilaç gruplarının da, RT grubuyla karşılaştırıldığında osteosit proliferasyonunda anlamlı artışlar gösterdiği görülmüştür.

2.9. Melatonin

2.9.1. Melatonin Hormonu ve Özellikleri

MEL, insan vücudunda sentezlenebilen bir indol amindir. Esas olarak epifiz bezi tarafından karanlığa tepki olarak üretilir. Gastrointestinal sistem, kemik iliği, lenfositler, deri ve retina ise MEL sentezleyen diğer yapılardır.²² Hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeği, MEL sentezini 24 saatlik döngü boyunca düzenleyen bir biyolojik saattir.²¹⁶ MEL seviyesi geceleri yükselir, sabah saatlerinde ve gün boyu düşüşe geçer. MEL seviyesinin gece yükselmesiyle, hedef organları uygun homeostatik ve metabolik ritimlerde tutmaya teşvik eder.²¹⁷

İnsanlarda, MEL sentezi esansiyel bir aminoasit olan triptofan ile başlar. Aromatik asit dekarboksilaz (AADC) ve triptofan hidroksilaz (TP5H) ile triptofan, nörotransmitter serotonine dönüştürülür. Sonraki adımda serotonin, hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) ve arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) enzimleriyle MEL'e dönüştürülür.²¹⁸



Şekil 2.2. Melatonin

2.9.2. Melatonin Hormonunun Etkileri

MEL sirkadiyen döngü düzenleme,²¹⁹ antioksidan savunma,²²⁰ immünomodülasyon,²²¹ kanseri önleme²²² ve kemik döngüsünün düzenlenmesi²²³ gibi birçok görevi yerine getirir. MEL, oral kavitede güçlü bir immünomodülatör ajan ve antioksidan olarak kabul edilmektedir.

MEL'in güçlü antitümör, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri vardır.²²⁴ Savunma sisteminin ROT'a karşı ana unsurudur.²²⁵⁻²²⁷ MEL ve metabolitleri güçlü antioksidanlardır. Doğrudan serbest radikal temizleme özellikleri olmakla birlikte çeşitli diğer mekanizmalarla da OS'yi azaltırlar. MEL, öncelikle elektron vererek reaktif oksidanları verimli şekilde ve seçici olarak detoksifiye eder.²²⁸ MEL ayrıca antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak ve pro-oksidan enzimleri baskılayarak, gen regülasyonunu ve mitokondriyal homeostazı geliştirir.²²⁹ MEL, glutatyon ve SOD gibi antioksidan enzimleri de destekler ve hücreleri korur.

Ayrıca MEL'in, yaşlı hayvanlarda enerji dengesi ve vücut ısısı üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma yapılmıştır.²³⁰ Çeşitli çalışmalar da MEL immünomodülatör rolüne

ışık tutmuştur. Pinealektomi işlemine tabi tutulan farelerde, MEL'in B ve T hücrelerinin etkinliğini doza bağlı olarak düzenleyebileceği bildirilmiştir.²³¹ Ayrıca, farmakolojik Alzheimer hastalığı geliştirilen bir fare modelinde, MEL nöroprotektif ve immünmodülasyon potansiyeli göstermektedir.²³² Ek olarak, MEL'in kemik homeostazı ile de ilişkili olduğu bilinmektedir. MEL uygulaması, osteoporoz ile bozulmuş kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik potansiyelini önceki haline getirdiği görülmüştür.²³³ Aynı zamanda MEL, kemik dengesini de korur; osteoklastogenezi baskılar ve kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını artırır.²³⁴ Son zamanlarda yapılan bir klinik araştırma, MEL tüketiminin tip 2 DM hastalarındaki etkisini incelemiştir. Müdahale grubunda ortalama arter basıncı, nabız basıncı, konisite indeksi ve ortalama sistolik basıncı önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür.²³⁵ Ayrıca MEL'in kronobiyotik etkisi değerlendirilmiştir. MEL uygulamasının değişken zamanlama ile ilgili uyku bozukluklarını (vardiyalı çalışma, gecikmiş uyku fazı sendromu, jetlag gibi) düzenleyebileceği görülmüştür.²³⁶ Ek olarak MEL'in, depresyonu hafifletebildiği ve nöroinflamasyonu inhibe edebildiği görülmüştür.²³⁷ Son zamanlarda da MEL, korona virüs tedavisinde aday ilaç olarak incelenmektedir.²³⁸

2.10. Melatonin ve Kanser

Apoptotik mekanizmanın kontrolden çıkması, kanserin ayırt edici özelliklerinden biridir. Böylece tümör hücrelerinin sınırsız büyümesini teşvik eder.^{239,240} Literatüre göre MEL, Kaspaz, p53, Apaf-1 ve BAX/BAK gibi pro-apoptotik faktörlerin ekspresyonunu artırmıştır.²⁴¹ Kaspaz-9'a bağlı apoptozu indükleyerek, pro-apoptotik protein yapımını artırmıştır.²⁴² Ayrıca MEL, mide kanseri hücrelerinde Bcl-xL üretimini azaltmış, BAX ekspresyonunu artırmış, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9'u aktive etmiştir.²⁴³ Bunlar dışında çok sayıda çalışma, MEL'in antiapoptotik yeteneğini ortaya koymuştur.²⁴⁴⁻²⁴⁹

MEL'in antioksidan rolü, DNA'nın oksidatif yıkımdan korunmasında etkili ve önemlidir. Doğrudan serbest radikallerin temizlenmesi yoluyla veya dolaylı olarak antioksidan enzimleri uyararak, DNA hasarını önleyerek, pro-oksidatif enzimleri inhibe ederek ve DNA onarım sistemini güçlendirerek bunu başarır.²⁵⁰ MEL, ya DNA hasarını azaltarak²⁵¹ ya DNA onarım yollarını uyararak²⁵² ya da DNA bütünlüğünü koruyarak²⁵³ sitotoksik etkiyi azaltmıştır. Birçok çalışma, melatoninin kanser hücrelerinde ROT'u aktive ederek ve telomeraz aktivitesini engelleyerek mitokondriyal aktivite üzerindeki fonksiyonunu bildirmiştir.^{22,254-256}

Kanser hücreleri, sinyal yollarının modülasyonu ve protein ekspresyonu yolu ile aşırı çoğalma kabiliyetleriyle tanınır. MEL'in bu yeteneği inhibe edebileceği pek çok çalışma ile gösterilmiştir.²⁵⁷⁻²⁶⁴

Anjiyogenez, metastatik yayılım ve hücre proliferasyonuna ortam hazırladığından kanser hücreleri adına çok önemlidir.²⁶⁵ MEL'in antianjiyojenik etkisi²⁶⁶ ve vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) baskılanması yoluyla²⁶⁷⁻²⁷⁰ tümör anjiyogenezini modüle edebilme etkisi de vardır.

MEL, sitokin salınımını değiştirerek ve tümör dokusu etrafındaki hücre metabolizmasını iyileştirerek bağışıklık hücreleri üzerinde bir etkiye sahiptir.²⁷¹ İn vivo bir çalışmada MEL'in, NK ve T hücre yapımını uyarabildiği bildirilmiştir.²⁷² Diğer çalışmalar ise, tümör taşıyan farelerde MEL tedavisi ile TH l'in uyarıldığını göstermiştir.^{273,274}

Tümör gelişimi ile kronik enflamasyon arasında kuvvetli bir ilişki vardır.²⁷⁵ Enflamatuvar sürecin neticesinde, kanser gelişiminde ve DNA hasarında görev alan ROT'un oluşumuyla karsinogenez tetiklenebilir.²⁷⁶ MEL ise antienflamatuvar rolü ile etki gösterir.^{277,278}

Kanser hücreleri, glikozun çoğunu oksijen varlığında bile laktata dönüştürme eğilimindedir. Bu, Warburg etkisi olarak bilinir. Bu etki, tümör hücrelerinin apoptozunu azaltmasını, hızlı hücresel çoğalma için gereken makromolekülleri sentezlemesini ve hatta metastaz için uygun ortamı sağlar.^{279,280} MEL'in bu etkiyi azalttığı ya da inhibe ettiği gösterilmiştir.^{281,282}

MEL; hücre iskeletinin okunması, MMP'ler tarafından hücre dışı matriks remodelingi, hücre-matriks ve hücre-hücre etkileşiminin modülasyonu, anjiyogenez ve epitelyal-mezenkimal geçiş gibi çeşitli mekanizmalarla metastazı sınırlamıştır.²⁸³ MEL'in antimetastatik etkisi birçok çalışma ile gösterilmiştir.²⁸⁴⁻²⁸⁶

Ayrıca, çeşitli deneysel çalışmalarda MEL'in ışınlanmış dokular üzerinde de radyoprotektif etkilere sahip olduğu bulunmuştur.²⁵⁻²⁸

2.11. Melatonin ve Periodontitis

MEL, in vitro olarak insan osteoblastlarında, tip I kollajenin, diğer kemik belirteçlerinin (ALP, osteokalsin ve osteopontin) ve kemik matriks proteinlerinin sentezini ve çoğalmasını uyarabilir. Ayrıca osteoblast hücrelerinde farklılaşma süresini kısaltır.²⁸⁷⁻²⁹⁰ Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, MEL'in kemik hücrelerini oksidatif hasardan koruduğunu ve kemik iliğindeki hücrelerin öncüllerini etkilediği gösterilmiştir.^{223,291} MEL ayrıca hipokalsemi ve osteoporozu önleyerek, kalsiyum metabolizmasında da görev almaktadır.²⁹² Kemik dahil olmak üzere dokularda etkili bir pro-anjiyojenik etkiyle VEGF ekspresyonunu artırmaktadır.²⁹³ Başka bir çalışmada MEL'in fibroblastlar, sitokinler, monositler ve anjiyogenez üzerinde etkisi olduğu görülmüştür.²⁹⁴ Takechi ve ark.,²⁹⁵ Calvo-Guirado ve ark.²⁹⁶ ve Koyama ve ark.²⁹⁷ MEL ile tedavi edilen implantların, antirezorptif özelliği sayesinde, etrafında mineralize kemik hacminin daha fazla oluştuğunu belirtmişlerdir.

MEL düzeylerinin tükürük,²⁹⁸ DOS²⁹⁹ ve diş etinde³⁰⁰ periodontitisli bireylerde, sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir. Yakın zamanda yayınlanan sistematik bir derlemede, periodontitisli bireylerde sağlıklı kişilere göre tükürük MEL seviyesinde azalma olduğu görülmüştür.³⁰¹ Bu bulgu, periodontal hastalıklarda MEL desteğine olan gereksinimi vurgulaması bakımından önemlidir. Bu bağlamda, bazı in vitro çalışmalar³⁰² ve hayvan çalışmaları^{303,304} gerçekleştirilmiş ve MEL'in yararlı etkileri gösterilmiştir.

Antioksidan etkili birçok bileşiğin periodontitis tedavisinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır.³⁰⁵ MEL, bağışıklık cevabını düzenlemeye ve periodontal dokularda hasarı engellemeye yardımcı olmuştur.^{23,306-308} MEL'in lokal uygulanmasıyla, tavşanlarda implant çevresinde trabeküler kemik oluşumunu artırdığı görülmüştür.³⁰⁹ Benzer şekilde, sıçanlarda, içme suyunda çözünmüş MEL ile tedavi, femurların trabeküler ve kortikal kalınlığını ve kemik hacmini artırmış ve MEL'in osteoblast proliferasyonu ve farklılaşmasında doğrudan uyarıcı bir etkisi olduğu görülmüştür.³¹⁰

Tüm bu bilgiler ışığında, bu tez çalışması, sistemik AMİ ve MEL uygulamasının RT ilişkili periodontal doku yıkımını sınırlandıracağı hipotezi temelinde planlanmıştır. Çalışmamızın üç temel amacı vardır: 1) DP'li ratlarda RT'nin periodontal yıkıcı etkilerini, 2) sistemik AMİ ve MEL uygulamasının söz konusu muhtemel yıkımı sınırlandırıcı etkinliğini, 3) AMİ ve MEL'in periodontal alandaki radyoprotektif etkinliklerini karşılaştırmalı olarak araştırmak. Bilgilerimize göre çalışmamız AMİ'nin periodontal protektif etkinliğini inflamatuvar ve oksidatif parametreler temelinde araştıran ve MEL ile karşılaştıran ilk çalışma olma özelliğindedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deney protokolü Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve 2023/23 sayılı etik kurul onayı ile deney hayvanlarının ve refahı ve hayat kalitesi gözetilerek etik kurul yönergesinde belirtilen kurallara uygun şekilde deneysel çalışma gerçekleştirilmiştir. RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi TSA-2024-1606 nolu proje çalışmaya katkıda bulunmuştur.

3.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Barındırılması

Deneysel çalışma RTEÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışma için kullanılan deney hayvanları 200-250 gram (gr) ağırlığında her grupta 8 hayvan olmak üzere toplam 40 adet 4-6 aylık Sprague Dawley cinsi dişi rat olarak seçildi. Kullanılan bütün hayvanların, Ulusal Bilimler Akademisi tarafından hazırlanan ve Ulusal Sağlık Enstitüleri tarafından yayınlanan "Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu"nda yer alan kriterlere göre gereken bakımları yapıldı. Aynı fizyolojik ve biyolojik özelliklere sahip bu hayvanlar; deney hayvanları ünitesinde hijyenik bir ortamda, $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, %58 bağıl nem oranına sahip, ışık periyodunun 6.00-19.00 saatleri arasında olduğu bir ortamda saklandı. Ratlar içeriği Tablo 3.1.'de belirtilen standart pellet rat yemi (270 kcal/100 gr, Bayramoğlu Yem, Erzurum, Türkiye) ile beslendi.³¹¹ Ratların suya (ad libitum) sınırsız erişimleri sağlandı. Ratların laboratuvar koşullarına ve ortama adaptasyonu için 7 gün beklendi. Takiben ratlar rastgele olarak 5 gruba ayrıldı: Kontrol, Deneysel periodontitis (DP), DP+Radyoterapi (DP+RT), DP+RT+Amifostin (DP+RT+AMİ), DP+RT+Melatonin (DP+RT+MEL).

Tablo 3.1. Deney Hayvanlarına Verilen Standart Pellet Rat Yeminin İçeriği

Standart Pellet Rat Yeminin İçeriği	%
Yağ	3,5
Karbonhidrat	7,5
Protein	23
Vitamin ve Mineral	1-2
Diğer Eser Elementler (demir, selenyum, manganez, çinko, kobalt, iyodür)	3

3.1.1. Çalışma Grupları

1) Kontrol grubu: Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratların alt 1. molar dişlerine ligatür bağlanmadı. RT uygulanmadı. 9. günden itibaren 14 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak gece 11:00 de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde salin uygulandı. 23. günün sonunda serum örneklemini hemen takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi.

2) DeneySEL Periodontitis Grubu (DP): Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratlarda ligatür yöntemi ile DP oluşturuldu. 9. günden itibaren 14 gün boyunca i.p. olarak gece 11:00 de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde salin uygulandı. 23. günün sonunda serum örneklemini hemen takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi.

3) DeneySEL Periodontitis+Radyoterapi Grubu (DP+RT): Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratlarda ligatür yöntemi ile DP oluşturuldu. Takip eden günde (9. Gün), baş-boyun bölgesine tek doz (5 Gray (Gy)) RT uygulandı.²⁹ Bu ratlara 9. günden itibaren 14 gün boyunca i.p. olarak gece 11:00 de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde salin uygulandı. 23. günün sonunda serum örneklemini hemen takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi.

4) Deneysel Periodontitis+Radyoterapi+Amifostin (DP+RT+AMİ): Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratlarda ligatür yöntemi ile DP oluşturuldu. Takip eden günde (9. Gün), baş-boyun bölgesine tek doz (5 Gy) RT uygulandı.²⁹ Aynı gün tek doz radyasyon uygulamasından 30 dakika önce ilk sistemik AMİ uygulaması da 200 mg/kg olarak i.p. yolla gerçekleştirildi. AMİ uygulaması aynı yöntemle takip eden 2 gün boyunca (10.,11. günler) tekrarlandı.^{312,313} Bu ratlara 12. günden itibaren 11 gün boyunca i.p. olarak gece 11:00 de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde salin uygulandı. 23. günün sonunda serum örneklemini hemen takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi.

5) Deneysel Periodontitis+Radyoterapi+Melatonin (DP+RT+MEL): Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratlarda ligatür yöntemi ile DP oluşturuldu. Takip eden günde (9. Gün), baş-boyun bölgesine tek doz (5 Gy) RT uygulandı.²⁹ Bu gruptaki ratlara AMİ uygulamasına benzer şekilde ilk gün (9. gün) tek doz RT uygulamasından 30 dakika önce ve takip eden 14 gün boyunca i.p. olarak gece 11:00 de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde MEL uygulandı.^{314,315} MEL fizyolojik salin solüsyonunda (%0,01) taze olarak çözülerek uygulandı. 23. günün sonunda serum örneklemini hemen takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi (Şekil 3.1., Şekil 3.2.).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

İLK 7 GÜN ADAPTASYON

8. GÜN LİGATÜRLEME

9. GÜN TEK DOZ RADYOTERAPİ (5 GRAY)

9. GÜN İNTRAPERİTONEAL ENJEKSİYON (200 mg/kg AMİFOSTİN/GÜN) (3 GÜN)

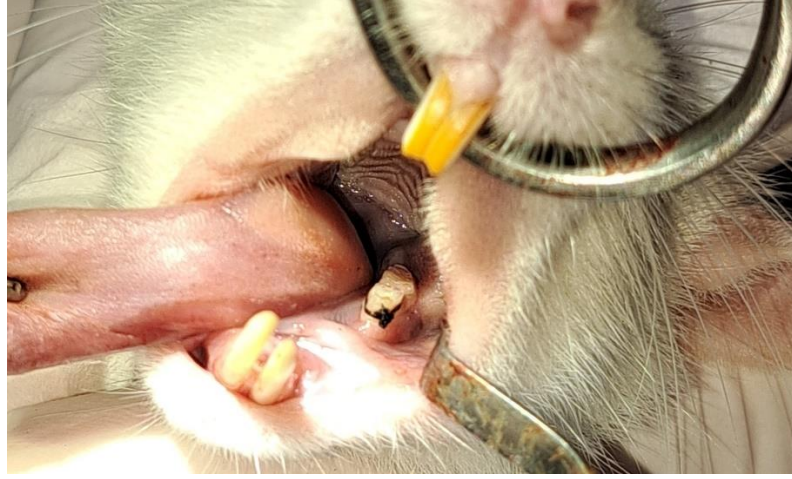
(İLK UYGULAMA TEK DOZ RADYOTERAPİDEN 30 DAKİKA ÖNCE)

9. GÜN İNTRAPERİTONEAL ENJEKSİYON (10 mg/kg MELATONİN/GÜN) (15 GÜN)

(İLK UYGULAMA TEK DOZ RADYOTERAPİDEN 30 DAKİKA ÖNCE)

23. GÜN SAKRİFİKASYON / ÖRNEKLEM TEMİNİ

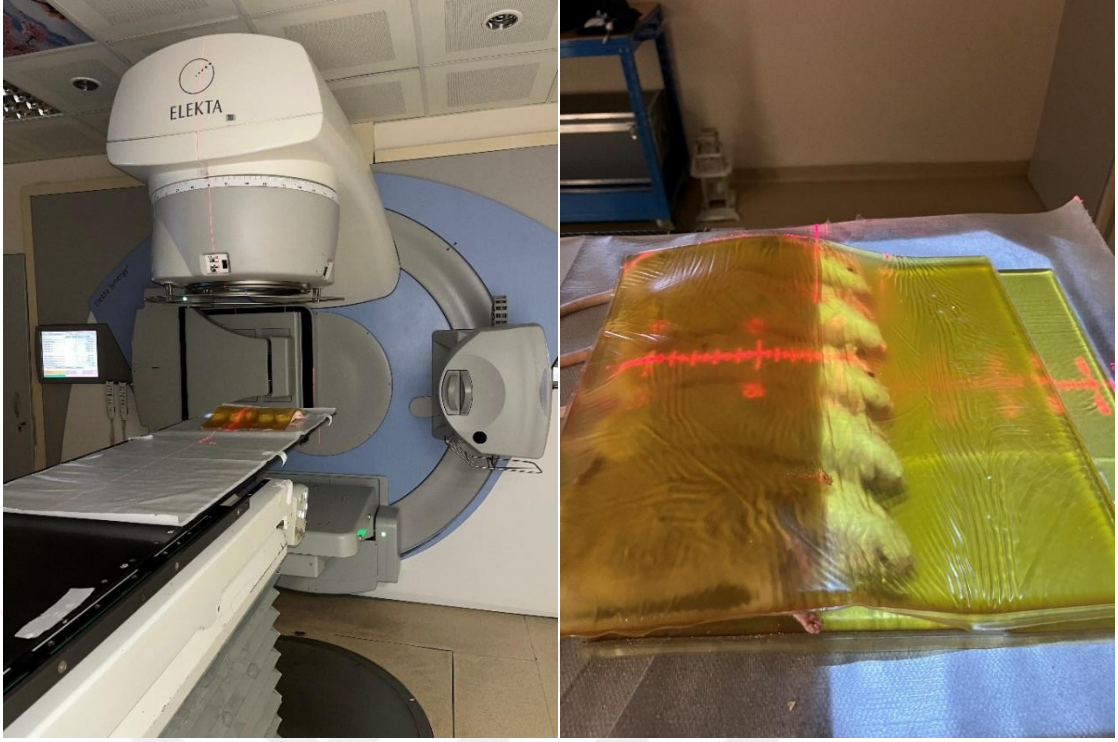
Şekil 3.1. Deney Şeması



Şekil 3.3. Ratlara Ligatür Bağlanması

3.3. Baş-Boyun Radyoterapisi Uygulama Protokolü

Ratlara RT verilmesi amacıyla bölüm 3.2’de anlatılan şekilde anestezi uygulandı. Tek doz RT (5 Gy) ligatürlemeyi takip eden gün (9. gün) uygulandı. Ratlar, 1 cm bolus ve 0 ve 180 derece gantry açıları kullanılarak 10 cm x 20 cm’lik ön-arka alandan 6 MV ile izosentrik yöntemle ışınladı. Foton ışınlaması 6 MV (X-ışını), 4 Gy/dk doz hızında lineer hızlandırıcı (Elekta Synergy; Elekta, Crawley, Birleşik Krallık) ve CMS XiO planlama sistemi (sürüm 13.2) kullanılarak RT planlaması yapıldı.³¹⁸ Ratlara, deneyimli bir radyasyon onkoloğu (S.R.) tarafından önceki çalışmamıza benzer şekilde²⁹ tek doz 5 Gray tüm kranial ışınlama uygulandı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Ratlara Baş-Boyun Radyoterapisi Uygulanması

3.4. Amifostin Uygulama Protokolü

Ratlara uygulanacak AMİ (ETHYOL 500 MG 1 FLK, Netherlands) preparatı her 3 uygulamanın hemen öncesinde steril % 0,9 sodyum klorür çözeltisi ile çözülürülerek hazırlandı. DP+RT+AMİ grubu, ilk gün (9. gün) ışınlamadan 30 dakika önce ve takip eden iki gün (10., 11, günler) boyunca aynı saatlerde 200 mg/kg olmak üzere günlük tek doz şeklinde i.p. olarak insülin enjektörü ile verildi. Kontrol, DP ve DP+RT gruplarında ise aynı metodolojiyle salin uygulaması yapıldı. Deney öncesi ve deney boyunca düzenli aralıklarla ratların ağırlıkları ölçüldü ve ratların değişen ağırlıklarına göre tartı (Amput Electronic Technology Co., Shenzhen, Guangdong, Çin) kullanılarak AMİ doz miktarında güncelleme yapıldı (Şekil 3.5.).

3.5. Melatonin Uygulama Protokolü

MEL (Alfa Aesar GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Almanya) günlük uygulanacak miktarı %0,01'lik serum fizyolojik-etanol çözeltisi içinde çözülürüldü. Oluşan bu karışım

vortekslenerek homojen hale getirildi. DP+RT+MEL grubu, ilk gün (9. gün) ışınlamadan 30 dakika önce ve takip eden 14 gün boyunca, önceki pek çok çalışmalarımıza benzer şekilde^{29,304,314-316} gece 11:00'de 10 mg/kg günlük tek doz şeklinde, i.p. olarak insülin enjektörü ile verildi. Kontrol, DP ve DP+RT gruplarında ise aynı metodolojiyle salin uygulaması yapıldı. Deney öncesi ve deney boyunca düzenli aralıklarla ratların ağırlıkları ölçüldü ve ratların değişen ağırlıklarına göre tartı (Amput Electronic Technology Co., Shenzhen, Guangdong, Çin) kullanılarak MEL doz miktarında güncelleme yapıldı (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Hassas Tartı ile İlaç Dozlarının Hesaplanması

3.6. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması

Deneyin tamamlanmasını takiben 23. günde bütün gruplarda daha önce anlatıldığı gibi anestezi sağlandı ve intrakardiyak sol ventriküler kan örnekleri 10 ml'lik enjektörler ile toplandı (Şekil 3.6.). Toplanan kan örnekleri +4°C'de 1739 g'de 15 dakika süre ile santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen kan serumları (süpernatantlar) eppendorf tüplere koyularak -80°C derin dondurucuda (thermo scientific TLE series) (Şekil 3.7.) analiz edilecek güne kadar saklandı. Hemen sonrasında dekapitasyon yöntemi ile ötenazi gerçekleştirildi (Ötenazi: TM, KA). 1. molar dişleri içeren mandibular dokular

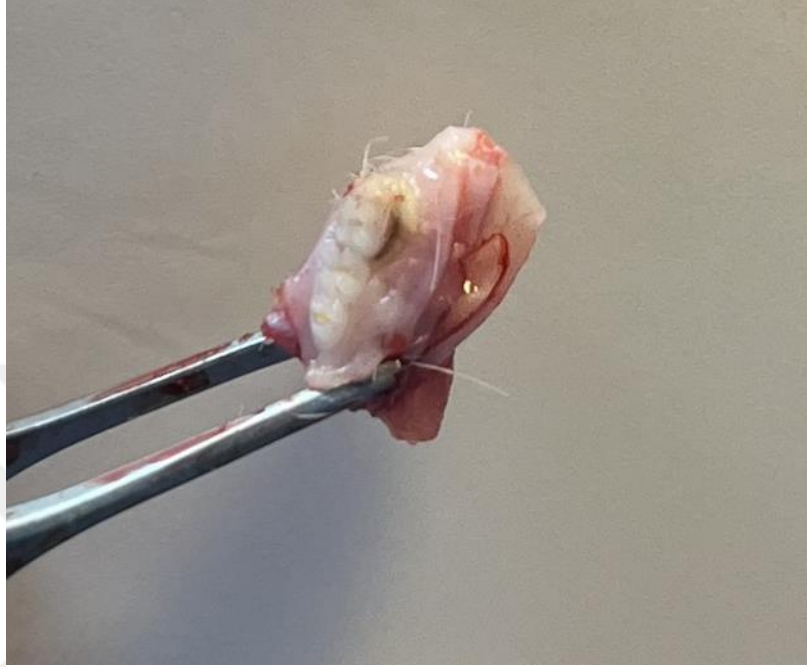
etrafındaki dokular ile birlikte çıkarıldı (Şekil 3.8.). Sağ mandibula örnekleri histolojik (histomorfometrik ve immünohistokimyal) analizlerde kullanılmak üzere %10 nötral formaldehit solüsyonu içeren kaplara aktarıldı. Sol mandibular diş eti dokuları ise biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere kaplara konuldu. Hem histolojik hem de biyokimyasal incelemeler, çalışma grubu tayininden habersiz iki uzman araştırmacı tarafından gerçekleştirildi (Histoloji: TM, LT; Biyokimya: KA, AY).



Şekil 3.6. Ratların Sakrifikasyona Hazırlanması



Şekil 3.7. -80 Derin Dondurucu



Şekil 3.8. Sol Mandibular Doku Örneği ve 1. Molar Diş Etrafının Ligatürlenmesi

3.7. Alveolar Kemik Kayıplarının Belirlenmesi

3.7.1. Histomorfometrik Analiz

Histolojik analizler için tüm gruplardan alınan sağ mandibula doku örnekleri 72 saat boyunca %10 nötral formaldehitte fikse edildi. Histolojik analize uygun hale getirmek için, fikse edilen dokular %6 nitrik asit ile 15 gün boyunca dekalsifiye edildi. Fiksasyon işlemi uygulanan çene kemiği örnekleri Morse's solusyonunda 24 saat boyunca bekletilerek dekalsifikasyon işlemi uygulandı. Yeterli dekalsifikasyon sağlandıktan sonra örneklerin her biri, 3 saat süreyle sodyum bikarbonat ile nötralizasyon işlemine tabi tutuldu. Bir sonraki aşamada doku örnekleri doku takip cihazında (Şekil 3.9.) (ThermoScientific™ Citadel 2000, Almanya) %50, %60, %70, %80, %96, %100 (x2) lük ethanol serilerinden (Merck GmbH, Darmstadt, Germany) geçirilerek

dehidratasyon ve iki seri ksilol (Merck GmbH, Darmstadt, Germany) solüsyonlarından geçirilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Numuneler alkol ile dehidratasyon sonrasında ksilen ile temizlendi. Yumuşak ve sert parafinde (Merck GmbH, Darmstadt, Germany) bekletilerek parafin inklüzyonu gerçekleştirildi. Doku takibi işleminin (Tablo 3.2) ardından mandibula dokusuna ait örnekler parafin bloklama cihazı (Şekil 3.10.) (Leica EG 1150 H, Lecia Biosystems, Germany) kullanılarak doku gömme kasetlerine parafin ile bloklandı. Parafin bloklardan rotary mikrotom (Şekil 3.11.) ile bukkolingual yönde 1. Molar dişin uzun aksı rehber alınarak 4-5 µm kalınlığında seri kesitler alındı (Leica RM2255, Lecia Biosystems, Germany) ve morfometrik analizlerde kullanılmak üzere her bloktan birbirine komşu olmayan 5 kesit rastgele seçildi. Lama alınan kesitler boyanmadan önce hem dokudaki parafinin uzaklaştırılması hem de kesitlerin lama daha iyi adaptasyonu için formalinsiz bir ortamda 56 °C'lik etüvde (Şekil 3.12.) (Wisecube, Wertheim, Almanya) 1 saat bekletildi ve daha sonra ST5020 Multistainer Bath Array boyama cihazında boyamaya alındı ve boyama cihazı (Şekil 3.13.) (Leica ST5020, Germany) kullanılarak Harris Hematoksilen (Merck GmbH, Germany)+Eosin G (Merck GmbH, Germany) ile boyandı ve prosedürler uygulandı (Tablo 3.3). Dişlerin bukkal ve lingual taraflarındaki alveolar kemik düzeyleri mine sement sınırı (MSS) ile alveoler kret (AK) ve furkasyon çatısı (FÇ) ile furkal alveoler kret (FAK) arasındaki mesafe olarak ölçüldü (Şekil 3.14.). Histomorfometrik ölçümlerin tümü 2 Histolog tarafından (TM, LT) bağımsız olarak RTEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Araştırma Laboratuvarı'nda Olympus DP72 kamera ataçmanlı (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) Olympus trioküler BX51 TF (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) marka mikroskopta yapıldı. Morfometrik ölçümler Olympus DP72 kamera ile uyumlu CellsSens (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) bilgisayar tabanlı programının arbitrary probu ile ölçüldü.



Şekil 3.9. Doku Takip Cihazı

Tablo 3.2. Mandibula Dokusuna Ait Doku Takibi

Yapılan İşlem	Kullanılan Materyal	Zaman
Doku tespiti	%10'luk nötral formalin	36 saat
Dehidratasyon	%50'lik etanol	180 dk
	%50'lik etanol	75 dk
	%60'lık etanol	90 dk
	%70'lik etanol	90 dk
	%80'lik etanol	60 dk
	%96'lık etanol	60 dk
	%100'lük etanol	75 dk
	%100'lük etanol	75 dk
Şeffaflaştırma	Ksilen	90 dk
	Ksilen	90 dk
Parafinizasyon	Parafin	60 dk
	Parafin	210 dk
Bloklama		



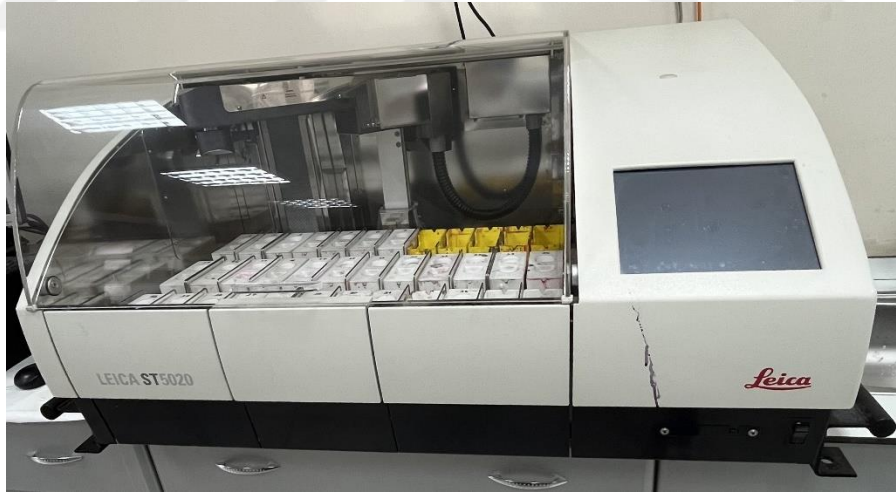
Şekil 3.10. Parafin Bloklama



Şekil 3.11. Rotary Mikrotom



Şekil 3.12. Etüv



Şekil 3.13. Hematoksilen-Eozin Boyama Cihazı

Tablo 3.3. Hematoksilen Eozin Boyama Prosedürü

Yapılan İşlem	Kullanılan Materyal	Zaman
Deparafinizasyon	56°C'lik etüv	1 saat
	Boyama cihazı fırın	5 dk
	Ksilen	3 dk
	Ksilen	3 dk
Rehidratasyon	%100'lük etanol	1 dk
	%96'lık etanol	2 dk
	%90'lık etanol	2 dk
	%80'lik etanol	2 dk
	%70'lik etanol	2 dk
Yıkama	Musluk suyu	5 dk
	Distile su	5 dk
Boyama	Harris hematoksilen	1 dk 10 sn
Yıkama	Distile su	5 dk
Boyama	Eozin yellow	8 dk 30 sn
Yıkama	Distile su	15 sn
Dehidratasyon	%70'lik etanol	20 sn
	%80'lik etanol	15 sn
	%90'lık etanol	15 sn
	%100'lük etanol	15 sn
	%100'lük etanol	15 sn
	Ksilen	5 dk
	Ksilen	10 dk
	Ksilen	1 saat

Dehidratasyon	Entellan	Kapama
Şeffaflaştırma		
Kapama		

(Sarı devamlı çizgi: Mine sement sınırı (MSS), Sarı kesikli çizgi: Alveolar kemik kreti (AK), Yeşil devamlı çizgi: Furkasyon çatısı (FÇ), Yeşil kesikli çizgi: Furkal alveolar kemik seviyesi (FAK), Kırmızı ok: MSS-AK (FÇ-FAK) arası mesafe; B: Bukkal, L: Lingual)

Sağ mandibula dokusuna ait örnekler 3.7.1. no.lu bölümde anlatıldığı şekilde işlemlere tabi tutulduktan sonra, elde edilen kesitlerde RANKL primer antikoru (Abcam, United Kingdom), OPG primer antikoru (Abcam, United Kingdom) ve Kaspaz-3 primer antikoru (Abcam, United Kingdom) ve bunlara uyumlu sekonder antikorları içeren immunohistokimya kitleri kullanıldı. Kesitler üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak immunohistokimya boyama cihazı (Şekil 3.15.) (Bond Max, Fully Automated IHC and ISH, Leica Biosystems, Australia) kullanılarak primer antikör solüsyonlarında ve

ardından sekonder antikor solüsyonunda 60 dakika boyunca inkübe edildi. Mandibulaya ait kesitler diaminobenzidine chromogen (DAB Chromogen, Abcam, United Kingdom) solüsyonunda da inkübe edildikten sonra, dokular Harris Hematoksilen ile (Merck GmbH, Darmstadt, Almanya) boyandı. Işık mikroskobu altında dokular (Olympus Co., BX51, Japan) incelenerek dijital fotoğraf makinesi (Olympus Co., DP71, Japan) ile fotoğrafları çekildi. Her bir mandibular 1.molar diş için 3 farklı kesit ve her bir kesitte furkasyon bölgesinden 3'er farklı alanda RANKL pozitif, OPG pozitif ve Kaspaz-3 pozitif boyanan hücreler sayıldı. Ölçüm, gruplara kör olan iki deneyimli araştırmacı (TM, LT) tarafından önceki çalışmalara benzer şekilde yapıldı.^{314, 315}



Şekil 3.15. İmmünohistokimya Boyama Cihazı

3.7.3. Semikantitatif Analiz

RANKL, OPG ve Kaspaz-3 pozitivitesi gösteren hücreler semikantitatif olarak analiz edildi.³¹⁹ Her bir sıçana ait 3 farklı kesitten x40 objektif büyütmesi altında toplam

9 farklı alan olacak şekilde çift kör histopatolog (TM, LT) tarafından değerlendirildi.

Skorlama 0-4 aralığında pozitif hücre tespitine göre yapıldı.³¹⁹

3.8. Biyokimyasal Analizler

3.8.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyokimyasal analizler için RTEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD Laboratuvarındaki cihazlar kullanılmıştır (Tablo 3.4.).

3.8.2. Kullanılan Kimyasal Materyaller ve Marka Adları

1. Tiyokarboksilik asit (TCA) - Merck
2. Tiyobarbitürik asit (TBA) – Merck
3. Folin-ciocalteu reaktifi – Merck
4. %96'lık etil alkol – Smyras
5. 1, 1, 3, 3 tetrametoksipropan (TEP) – Fluka
6. Sodyum klorür (NaCl) – Hımedia
7. Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) – Hımedia
8. Potasyum hidrojen fosfat (KH_2PO_4) – Hımedia
9. Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) – Hımedia
10. Monosodyum fosfat (NaH_2PO_4) – Hımedia
11. 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) – Hımedia
12. Tri sodyum sitrat – Hımedia
13. Sodyumkarbonat (Na_2CO_3) – Sigma

Tablo 3.4. Biyokimya Laboratuvarında Kullanılan Cihazlar ve Marka Adları

Cihaz Adı	Cihaz Markası
Homojenizatör	Tissue Lyser II, Qiagen
Santrifüj	Thermo Scientific, Heraeus Multifuge
Elisa Okuyucu	Thermo Scientific, Multiskan GO
Elisa Yıkayıcı	Biotek, EL × 50
Su Banyosu	Memmert WNB 14
Etüv	Memmert, UF 55
Hassas Terazi	Acculab
Manyetik Karıştırıcı	WiseStir, MSH 20 A
Otomatik pipet	Brand

3.8.3. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Kanın uzaklaştırılması amacı ile sol mandibula dokusuna ait numuneler fosfat tamponu uygulanarak -80°C derin dondurucuda saklandı. Analiz için -80°C deki derin dondurucudan çıkarılan periodontal doku örnekleri homojenizasyon işleminin yapılabilmesi için işlem boyunca buz kütlesi içerisinde saklandı. Homojenizasyon için örnekler, soğuk fosfat tamponlu salin (pH:7,4) ile yıkanarak kandan uzaklaştırıldı. PBS için 0,435 gr. Na_2HPO_4 ve 0,302 gr. NaH_2PO_4 hassas tartıda ölçüldü. Bu kimyasallar distile su ile 500 ml'ye tamamlandı ve pH 7,4'e ayarlandı. Mandibula doku örnekleri hassas terazi ile tartılarak eppendorf tüplere konuldu ve üzerine ölçülen doku ağırlığının iki katı olacak şekilde PBS ilave edildi. Eppendorf tüp kapakları olası açılmaya karşı

parafilm ile kaplandı. Doku örnekleri tekrardan buz kütesinin içerisine konuldu. Tüm örnekler homojenizatörle (Tissue Lyser II, Qiagen, Almanya), 30 hertz frekansta 5 dk boyunca homojenize edildi. Tam homojenize olmayan doku örneklerine aynı koşullar altında bir kere daha homojenizasyon işlemi uygulandı. Doku homojenizatları, 4°C’de 15 dk boyunca 3.000 g’de santrifüjlendi (Thermo Scientific, Heraeus Multifuge, Waltham, Massachusetts, ABD). Elde edilen süpernatant kısımları; TOD, TAOK, TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-6, kemik ALP (b-ALP) seviyelerini analiz etmek için kullanıldı. Tüm sonuçlar gr. dokuya bölünerek ifade edildi.

3.8.4. Doku IL-1 β ve IL-10 Düzeylerinin Belirlenmesi

Mandibula dokularından elde edilen süpernatantlarda IL-1 β ve IL-10 seviyeleri, piyasadaki rat spesifik ELISA kitleriyle (Elabscience, Houston, Texas, ABD) ölçüldü (Şekil 3.16.). Kitle çalışırken yıkama işlemleri için elisa yıkayıcı cihaz (Biotek, ELx50, Winooski, Vermont, ABD) (Şekil 3.17.) ve analiz etmek için elisa okuyucu cihaz (Thermo Scientific, Multiskan GO, Waltham, Massachusetts, ABD) kullanıldı (Şekil 3.18.). Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi.

3.8.4.1. IL-1 β ve IL-10 Düzeylerinin ELISA Kitiyle Analiz Edilmesi

Elabscience marka (Houston, Texas, ABD) IL-1 β (katalog no: E-EL-R0012) ve IL-10 (katalog no: E-EL-R0016) düzeylerinin ölçümü için piyasadaki rat spesifik ELISA kiti kullanıldı ve kitin talimatlarına uygun olarak çalışıldı.

Kitin Prensibi: Bu ELISA kitinde, Sandwich-ELISA prensibi kullanılır. Bu kitten sağlanan mikro ELISA plakası, hangi marker incelenecekse ona özel bir antikor ile kaplıdır. Mikro ELISA plaka kuyucuklarına numuneler eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Bir dizi prosedürden sonra incelenen marker mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma (stop) çözeltisinin eklenmesiyle renk sarıya döner. Optik yoğunluk (OD), 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

OD değeri, rat IL-1 β ve IL-10 konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'si standart eğri ile karşılaştırılarak rat IL-1 β ve IL-10 konsantrasyonları hesaplanır. Hesaplanan değer oranlanarak IL-1 β /IL-10 değeri bulunur.

Kitin Çalışma Prosedürü

IL-1 β ve IL-10 analizi benzer çalışma prosedürleri uygulanarak yapıldı.

1. Plaka kuyucuklarına 100 μ L doku örneği eklendi ve 37°C'de 90 dk inkübe edildi.
2. Sıvı uzaklaştırıldı ve hemen her bir kuyucuğa 100 μ L biyotinlenmiş saptama antikoruna eklendi. 37°C'de 60 dk inkübe edildi.
3. Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı.
4. 100 μ L HRP konjugatı eklendi ve 37 ° C'de 30 dk inkübe edildi. Plaka aspire edildi ve 5 kez yıkandı.
5. 90 μ L substrat reaktifi eklendi ve 37°C'de 15 dk inkübe edildi.
6. 50 μ L stop çözeltisi eklendi.
7. Plaka hemen 450 nm'de okundu.

3.8.4.2. Serum TNF- α ve IL-6 Düzeylerinin Analiz Edilmesi

Elabscience marka (Houston, Texas, ABD) TNF- α (katalog no: E-EL-R2856) ve IL-6 (katalog no: E-EL-R0015) düzeylerinin ölçümü için piyasadaki rat spesifik ELISA kiti kullanıldı ve kitin talimatlarına uygun olarak çalışıldı.

Kitlerin prensibi ve çalışma prosedürü **3.8.4.1.** bölümünde anlatılana benzer şekilde gerçekleştirildi.

3.8.4.3. Serum b-ALP Düzeylerinin Analiz Edilmesi

Elabscience marka (Houston, Texas, ABD) b-ALP (katalog no: E-EL-R1109) düzeylerinin ölçümü için piyasadaki rat spesifik ELISA kiti kullanıldı ve kitin talimatlarına uygun olarak çalışıldı.

Kitin prensibi ve çalışma prosedürü **3.8.4.1.** bölümünde anlatılana benzer şekilde gerçekleştirildi.

3.8.5. Doku Oksidan-Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi

3.8.5.1. Doku Total Oksidan Düzeylerinin Belirlenmesi

Kitin Prensibi: Mandibula dokusundan elde edilen süpernatantların TOD seviyeleri, Erel tarafından geliştirilen ve ilgili moleküllerin total miktarlarını bir bütün olarak ölçmeye imkan tanıyan, ışığın absorblanması esasına göre çalışan otomatik bir metot ile hesaplandı.³²⁰ Süpernatantlarda bulunan oksidan moleküller, ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyon-a oksidasyonunu sağlar. Oksidasyon reaksiyonu, ortamda bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından desteklenir. Ferrik iyon, asidik bir ortamda *xylene orange* ile renkli bir kompleks meydana getirir. Doku örneğinde bulunan total oksidan molekül miktarıyla ilgili olan renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak belirlenir.

Bu çalışmada piyasada bulunan Rel Assay Diagnostics markalı TOD ticari kitleri (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. Kit kataloğunda belirtilen prosedürlere uygun olarak çalışıldı.

Kitin Çalışma Prosedürü

45 µl doku örneğinin bulunduğu küvete ilk olarak 300 µl reaktif 1 solüsyonundan eklendi, 30 sn bekleme süresini takiben 530 nm’de birinci absorbansı tespit edildi. Takiben mevcut küvete 15 µl reaktif 2 solüsyonu ilave edildi. Oda şartlarında 10 dk beklendikten sonra 530 nm’de 2. kez absorbansı tespit edildi. Test, H₂O₂ ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ eşdeğeri/gr protein olarak ifade edildi.

3.8.5.2. Doku Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Kitin Prensibi: Mandibula dokusundan elde edilen süpernatantların TAOK seviyeleri, Erel tarafından geliştirilen ve ilgili moleküllerin total miktarlarını bir bütün

olarak ölçmeye imkan tanıyan, ışığın absorplanması esasına göre çalışan otomatik bir metot ile hesaplandı.³²¹ Doku örneğinde bulunan antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikalini renksiz ABTS formuna indirgemekte yani renk oluşumunu baskılamaktadır. Doku örneğinde bulunan antioksidan moleküllerin toplam miktarıyla ilişkili olan absorbans değişikliği spektrofotometrik olarak ölçülür.

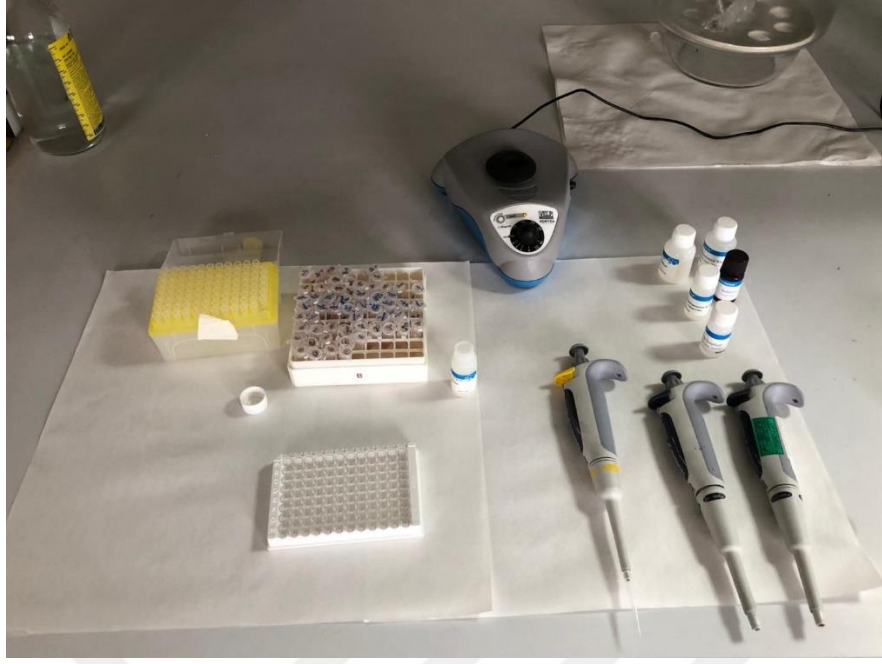
Bu çalışmada piyasada bulunan Rel Assay Diagnostics markalı TAOK ticari kitleri (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. Kit kataloglarında belirtilen prosedürlere uygun olarak çalışıldı.

Kitin Çalışma Prosedürü

18 ul mandibula doku örneğinin bulunduğu küvete öncelikle 300 ul reaktif 1 solüsyonundan eklendi. 30 sn bekleme süresinin ardından 660 nm'de ilk absorplanma değeri tespit edildi. Ardından mevcut küvete 45 ul reaktif 2 solüsyonu eklendi oda sıcaklığında 10 dakika beklenerek 660 nm'de 2. kez absorplanma değeri tespit edildi. Test, bir E vitamini analogu olan Trolox Eşdeğeri ile kalibre edildi ve sonuçlar μmol Trolox eşdeğeri/gr protein olarak ifade edildi.

3.8.5.3. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması

TOD/TAOK yüzde oranı olan OSI=[(TOD ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L)/TAOK (μmol Trolox eşdeğeri/L)] olarak hesaplandı.¹¹⁴



Şekil 3.16. Süpernatantların ELISA Kiti ile İncelenmesi



Şekil 3.17. ELISA Yıkayıcı Cihaz



Şekil 3.18. ELISA Okuyucu Cihaz

3.9. İstatiksel Analiz

Kantitatif ve semi-kantitatif analizler sonucu elde edilen tüm veriler SPSS 29.0 (IBM Corp., Armonk, NJ, USA) istatistik programı kullanılarak Kruskal-Wallis testi yapılarak verilerin normal dağılıma uyup uymadığı değerlendirildi. Pairwase grup karşılaştırılmasında Post-Hoc Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Kantitatif analiz sonucu elde edilen parametrik veriler median, minimum ve maksimum olarak hesaplandı. Parametreler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirilerek rho değerleri raporlandı. Semi-kantitatif analizler sonucu elde edilen parametrik olmayan veriler maksimum ve minimum değerler göz önüne alınarak median, %25 ve %75’lik çeyreklik dilimler arası şeklinde hesaplandı. İstatistiksel anlamlılık için tip-1 hata düzeyi %5 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

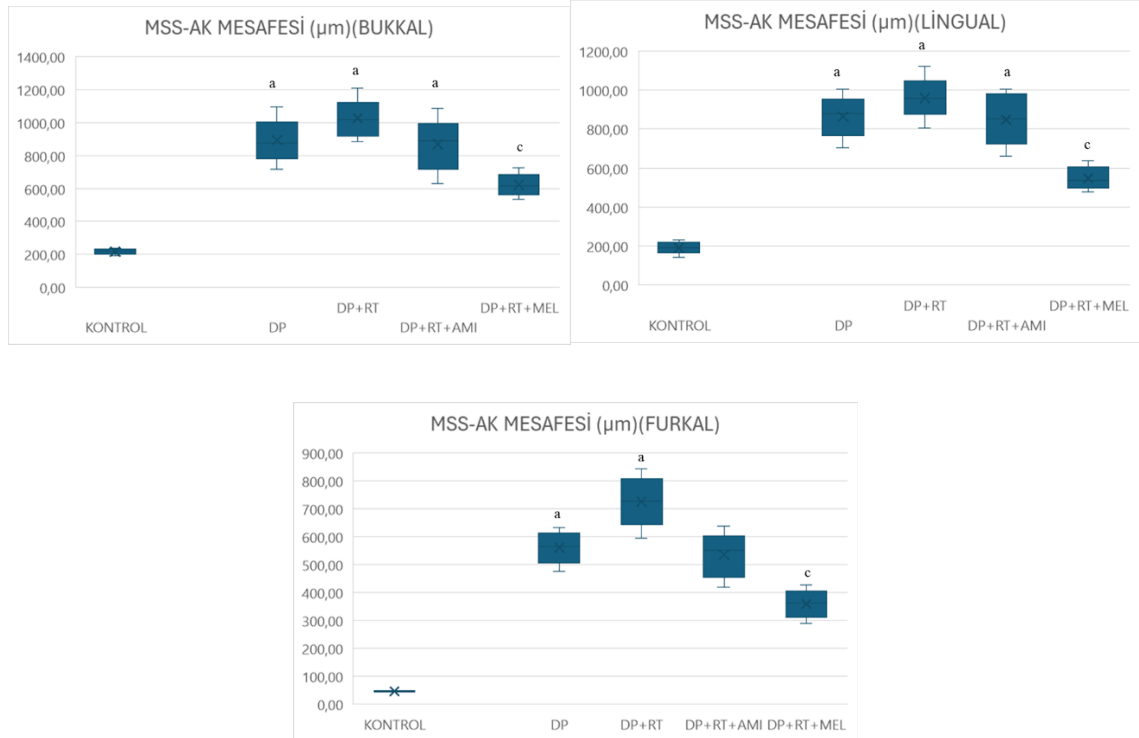
4.1. Morfometrik Bulgular (Alveolar Kemik Kayıpları)

Histolojik kesitler üzerinde yapılan morfometrik ölçüm bulguları gruplar arasındaki değişimler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Gruplar AKK (MSS-AK) açısından bukkal ve lingual bölgelerde karşılaştırıldığında; DP ($p=0,017$) ve DP+RT ($p=0,00$) grupları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DP+RT grubu, DP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubu diğer tüm gruplara göre daha fazla AKK gösterip, sadece kontrol ($p=0,00$) ve DP+RT+MEL ($p=0,014$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$). DP+RT+AMİ grubu ($p=0,031$), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilirken; DP+RT+MEL grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde hafif bir artış tespit edildi ($p>0,05$). DP grubu ise, DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan derecede yüksek bulundu ($p>0,05$). Proflaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif düzeyde bir düşüş tespit edildi ($p>0,05$). Gruplar AKK (MSS-AK) açısından furkal bölgede karşılaştırıldığında ise; bukkal ve lingual bölgedeki bulgulara benzer sonuçlar elde edildi. Farklı olarak sadece DP+RT+AMİ grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde artış tespit edildi ($p>0,05$) (Tablo 4.1.), (Şekil 4.1.), (Şekil 4.2.).

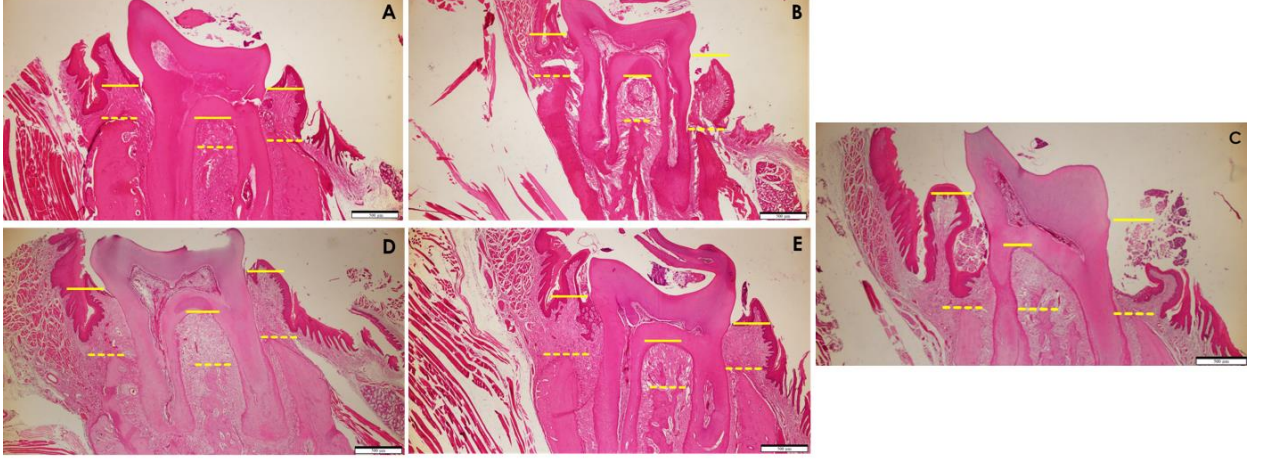
Tablo 4.1. Tüm Grupların Alveoler Kemik Kayıplarının Karşılaştırılması

	Kontrol	DP	DP+RT	DP+RT+AMİ	DP+RT+MEL	p değeri*
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	
BUKKAL (µm)	220,01 (194,49-240,58)	875,42 (718,56-1095,99) ^a	1016,04 (884,48-1209,25) ^a	888,3 (631,73-1084,92) ^a	615,18 (535,43-723,88) ^b	<0,001
LİNGUAL (µm)	193,41 (141,22-230,44)	878,675 (702,67-1006,09) ^a	956,52 (805,67-1119,29) ^a	850,14 (661,97-1004,02) ^a	536,95 (478,64-637,92) ^b	<0,001
FURKAL (µm)	45,31 (41,55-47,67)	565,115 (475,02-630,96) ^a	725,77 (595,07-842,77) ^a	549,52 (419,36-637,74)	361,82 (287,32-426,81) ^b	<0,001

(DP: Deneyisel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin; ^a : Kontrol grubuna kıyasla, ^b : DP grubuna kıyasla, ^c : DP+RT grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı; p: istatistiksel anlamlılık değeri)

**Şekil 4.1.** Alveoler Kemik Kayıplarının Gruplar Arasında Karşılaştırılması

(DP: Deneysel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin. MSS: Mine-Sement Sınırı, AK: Alveolar Kret. a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı, c: DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı; $p<0,05$.)



Şekil 4.2. Alveolar Kemik Kayıplarının Histolojik Kesitler Üzerinde Değerlendirilmesi

(A: Kontrol, B: DP, C: DP+RT, D: DP+RT+AMİ, E: DP+RT+MEL; Sarı devamlı çizgi: Mine-sement sınırı (MSS) Furkasyon çatısı (FÇ), Sarı kesikli çizgi: Alveolar kret (AK) Furkal alveolar kret (FAK); DP: Deneysel periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin)

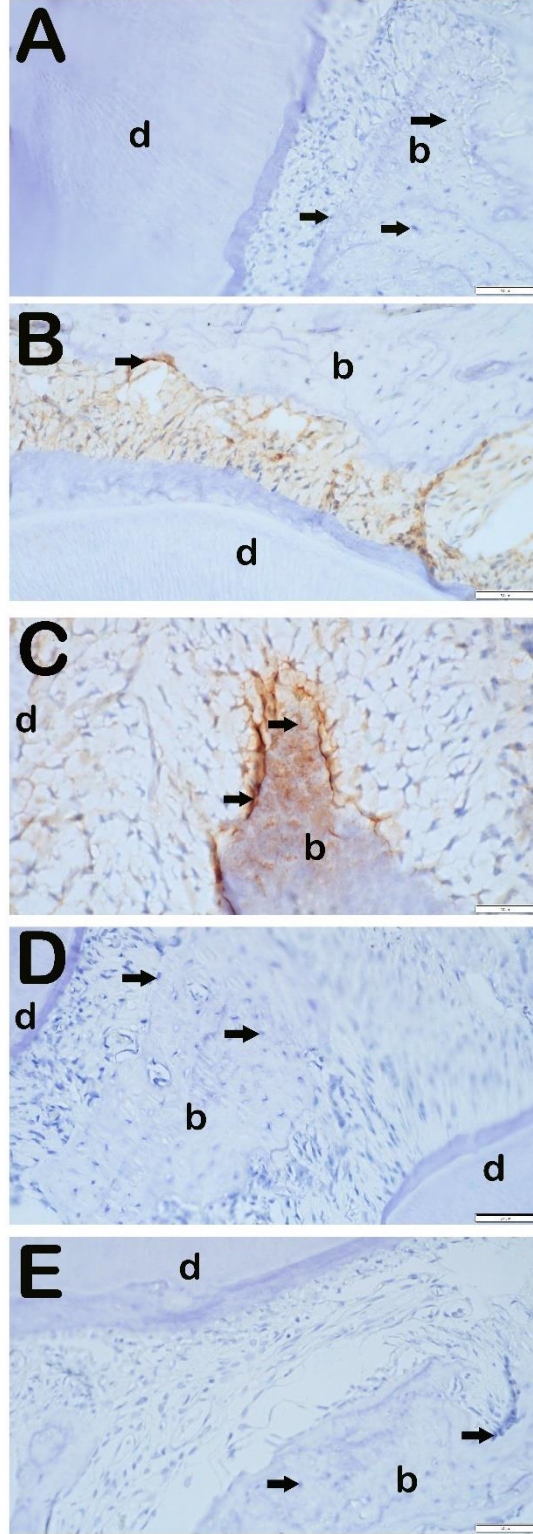
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1. Doku RANKL ve OPG Bulguları

Histolojik kesitler üzerinde semi-kantitatif yöntemle interradiküler alanlarda RANKL ve OPG immün-pozitif hücreler belirlendi (Şekil 4.3., Şekil 4.4.). RANKL hücrelerinin pozitivitesi medyan-%25-%75 çeyreklikler arası değerler açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. DP ($p=0,00$) ve DP+RT ($p=0,00$) grupları; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). AMİ ve MEL uygulamalarının kemik yıkım göstergesini numerik olarak düşürmesi ile DP ($p=0,00$) ve DP+RT ($p=0,00$) grupları, DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$). DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol

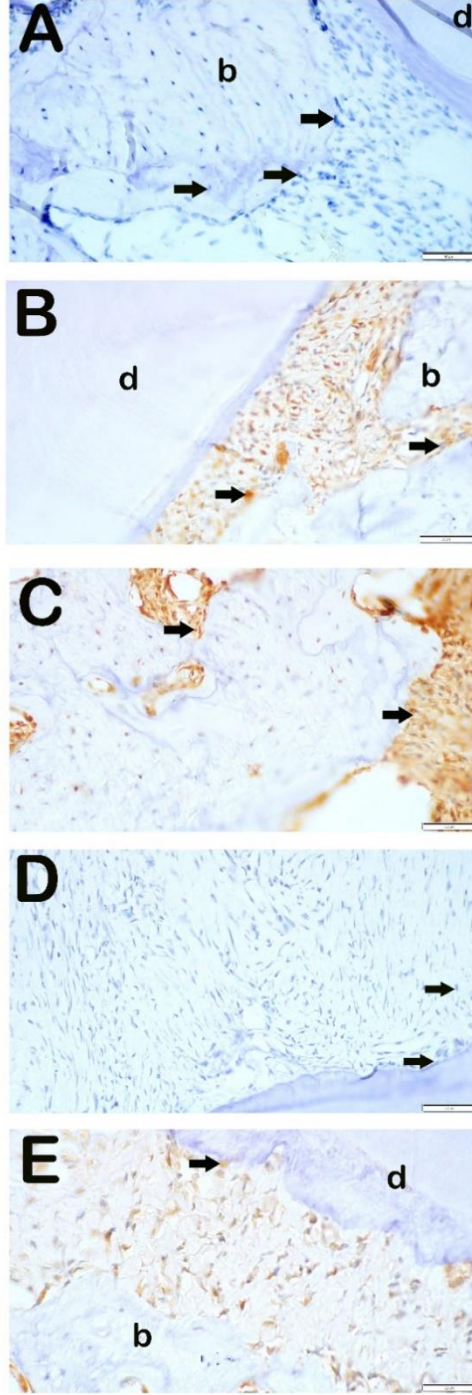
($p=0,012$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir artış tespit edildi ($p<0,05$). Proflaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.3.).

Gruplar semi-kantitatif inceleme ile OPG pozitif hücre sayısı açısından değerlendirildiğinde; DP ($p=0,029$) grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DP grubu, DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde düşük tespit edilirken ($p>0,05$); DP+RT+MEL ($p=0,009$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi ($p<0,05$). DP+RT grubu ise hem DP+RT+AMİ ($p=0,003$) hem de DP+RT+MEL ($p=0,00$) gruplarına göre, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0,05$). DP+RT grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek bulundu ($p=0,088$) ($p>0,05$). DP+RT+AMİ ($p=0,001$) ve DP+RT+MEL ($p=0,00$) gruplarında, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir OPG pozitivitesi olduğu görüldü ($p<0,05$). Proflaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+AMİ grubunda, DP+RT+MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.3. Histolojik Kesitler Üzerinde RANKL Pozitif Hücreler

[Kesitler üzerinde immünohistokimyasal boyama ile RANKL pozitif hücrelerin belirlenmesi, A: Kontrol, B: DP, C: DP+RT, D: DP+RT+AMİ, E: DP+RT+MEL gruplarını; b: alveol kemik ve d: dentini; siyah ok: immün pozitif boyanan hücreleri temsil etmektedir. (DP: Deneysel periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin)]

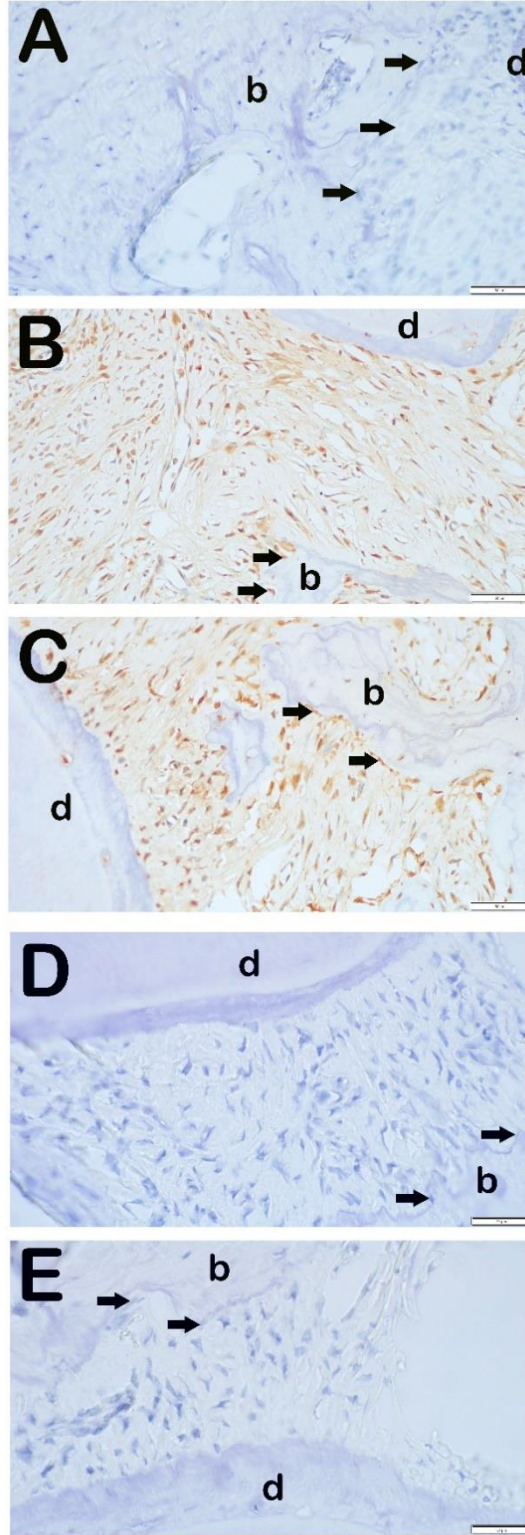


Şekil 4.4. Histolojik Kesitler Üzerinde OPG Pozitif Hücreler

[Kesitler üzerinde immünohistokimyasal boyama ile OPG pozitif hücrelerin belirlenmesi, A: Kontrol, B: DP, C: DP+RT, D: DP+RT+AMİ, E: DP+RT+MEL gruplarını; b: alveol kemik ve d: dentini; siyah ok: immün pozitif boyanan hücreleri temsil etmektedir. (DP: Deneysel periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin)]

4.2.2. Doku Kaspaz-3 Bulguları

Birim alana düşen Kaspaz-3 pozitif hücre sayısı açısından semi-kantitatif olarak skorlanarak değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. DP ($p=0,00$) ve DP+RT ($p=0,00$) grupları; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). AMİ ve MEL uygulamalarının antiapoptotik etkileri ile DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, DP ($p=0,00$) ve DP+RT ($p=0,00$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş izlendi ($p<0,05$). DP+RT+AMİ ($p=0,008$) ve DP+RT+MEL ($p=0,005$) gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir artış tespit edildi ($p<0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda, DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Histolojik Kesitler Üzerinde Kaspaz-3 Pozitif Hücreler

[Kesitler üzerinde immünohistokimyasal boyama ile Kaspaz-3 pozitif hücrelerin belirlenmesi, A: Kontrol, B: DP, C: DP+RT, D: DP+RT+AMİ, E: DP+RT+MEL gruplarını; b: alveol kemik ve d: dentini; siyah ok: immün pozitif boyanan hücreleri temsil etmektedir. (DP: Deneysel periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin)]

Tablo 4.2. İmmün-Pozitif Hücrelerin Semi-Kantitatif Yöntemle Ölçüm Sonuçları (medyan-%25-%75 çeyreklikler arası değerler)

	RANKL	OPG	KASPAZ-3
	İmmün	İmmün	İmmün
	Pozitivitesi	Pozitivitesi	Pozitivitesi
Kontrol	0(0-1)	0(0-1)	0(0-1)
DP	2(2-3) ^a	1(1-1) ^a	2(2-3) ^a
DP+RT	2(2-3) ^a	1(1-1)	2(2-3) ^a
DP+RT+AMİ	1(1-1) ^{a,b,c}	1(1-2) ^{a,c}	1(1-1) ^{a,b,c}
DP+RT+MEL	1(1-1) ^{a,b,c}	2(1-2) ^{a,b,c}	1(1-1) ^{a,b,c}

(DP: Deneysel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin; ^a: Kontrol grubuna kıyasla, ^b: DP grubuna kıyasla, ^c: DP+RT grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı; x(y-z): median(minimum-maksimum))

Tablo 4.3. İmmün-Pozitif Hücrelerin Semi-Kantitatif Yöntem ile Ölçümünde Skor Sistemi

Skor	Bulgu (Pozitif Hücre Oranı)
0	Yok (%5 den az)
1	Az (%6-%25 arası)
2	Orta (%26-%50 arası)
3	Şiddetli (%51-%75 arası)
4	Daha şiddetli (%76 ve üzeri)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

4.3.1. Doku Pro-inflamatuar ve Anti-inflamatuar Sitokin ve Enzim Bulguları

Tablo 4.4. Tüm Grupların Biyokimyasal Parametrelere Ait Sonuçlarının Karşılaştırılması

(DP: Deneysel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin; ^a: Kontrol grubuna kıyasla, ^b: DP+RT grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı; p: istatistiksel anlamlılık değeri)

	Kontrol	DP	DP+RT	DP+RT+AMİ	DP+RT+MEL	p değeri*
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	
IL-10	17,94(14,69-20,26)	12,45(9,6-15,5) ^a	12,22(9,98-15,03) ^a	14,89(11,95-18,94)	15,25(12,51-18,63)	<0,001
IL-1β	73,89(66,1-83,75)	88,81(80,11-98,4)	103,21(96,75-112,07) ^a	86,76(78,68-95,61) ^b	80,37(72,72-90,97) ^b	<0,001
TAOK	1,85(1,77-1,92)	1,92(1,72-2,06)	1,88(1,81-1,96)	1,9(1,82-1,98)	1,95(1,86-2,06)	0,069
TOD	10,64(7,54-13,78)	16,73(12,56-20,75) ^a	20,54(16,97-24,25) ^a	14,72(11,72-19,54)	12,7(10,35-16,58) ^b	<0,001
IL-1β/IL-10	4,13(3,47-5,7)	7,44(5,17-9,44) ^a	8,67(6,55-11,06) ^a	5,94(4,52-7,58)	5,36(4,4-6,52) ^b	<0,001
TOD/TAOK	5,76(4,19-7,41)	9,06(6,1-11,59) ^a	10,8(8,98-13,4) ^a	7,72(5,92-10,62)	6,42(5,02-8,82) ^b	<0,001
TNF-α	54,67(46,76-64,4)	62,49(53,89-72,91)	65,84(57,95-74,1) ^a	58,74(52,8-67,84)	58,97(51,9-68,95)	0,016
IL-6	92,07(84,23-100,77)	100,72(94,56-108,8)	104,4(97,76-113,49) ^a	96,59(89,26-105,8)	94,12(86,91-102,1) ^b	<0,001
b-ALP	7,13(5,15-9,25)	5,9(3,18-8,68)	4,3(2,44-7,08) ^a	6,3(3,27-9,5)	6,57(4,14-9,09)	0,035

4.3.1.1. Doku IL-1β, IL-10, IL-1β/IL-10 Bulguları

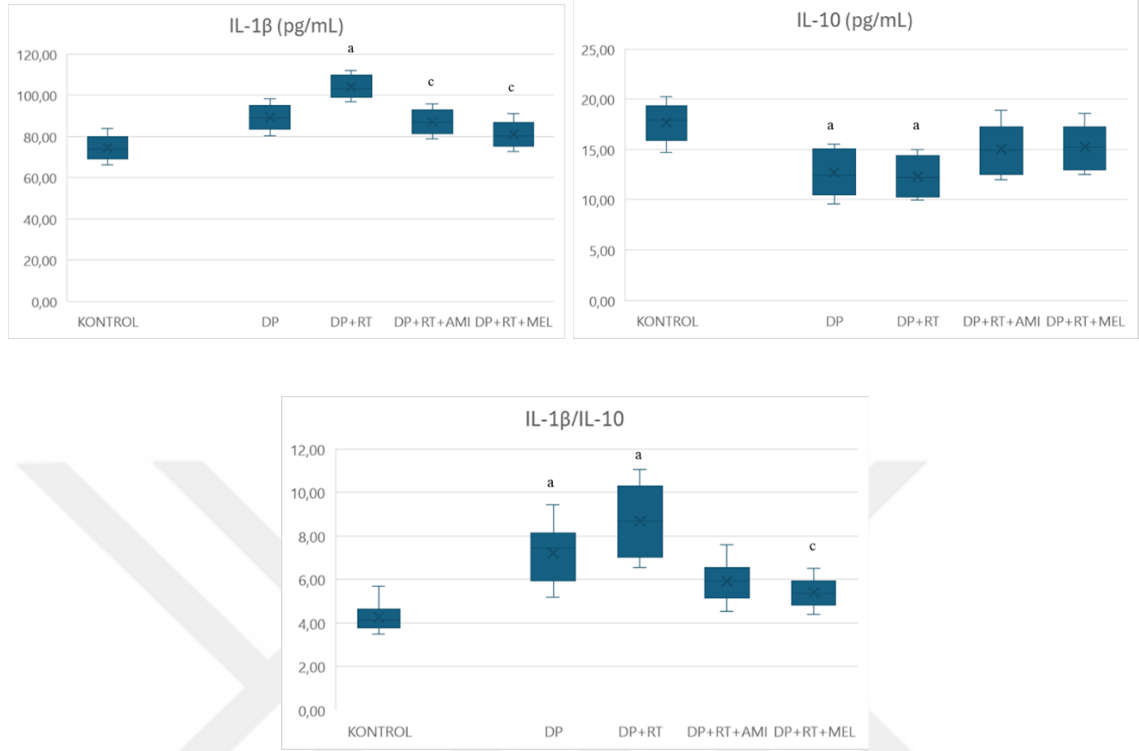
Dokularda incelenen IL-1β seviyesi açısından; DP+RT grubu hem kontrol (p=0,00) hem de profilaktik olarak uygulanan ilaç gruplarına (DP+RT+AMİ (p=0,033) ve DP+RT+MEL (p=0,004) göre istatistiksel olarak anlamlı olacak düzeyde yüksek tespit edildi (p<0,05). DP grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığa çok yakın oranda yüksek bulundu (p=0,058). DP grubunda, DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde düşüş tespit edildi (p>0,05). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol (p=0,00) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde yüksek bulundu (p>0,05). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise;

DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.6.).

Dokularda incelenen IL-10 seviyesi açısından; DP+RT ($p=0,002$) ve DP ($p=0,005$) grupları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterirken; profilaktik olarak uygulanan ilaç gruplarına (DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL) göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde düşük tespit edildi ($p>0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=1,000$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde yükseliş tespit edilse de ($p>0,05$) ilaç verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde bir düşüş tespit edildi ($p<0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en düşük değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol ($p=0,00$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde düşük bulundu ($p>0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.6.).

Dokularda incelenen IL-1 β /IL-10 oranı açısından; DP grubu, kontrol ($p=0,005$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı; profilaktik olarak uygulanan ilaç gruplarına (DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL) göre ise istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=0,286$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde düşüş tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, kontrol ($p=0,000$) ve DP+RT+MEL ($p=0,02$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tespit edilirken; DP+RT+AMİ ($p=0,073$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak derecede artış görüldü ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol ($p=0,00$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL

grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.6.).



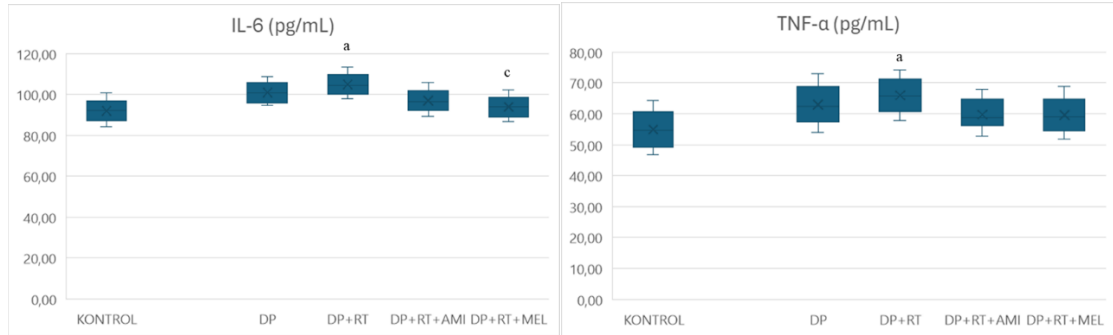
Şekil 4.6. IL-1β, IL-10 ve IL-1β/IL-10 Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması (DP: Deneysel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin. a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı, c: DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı; $p<0,05$.)

4.3.1.2. Serum IL-6 ve TNF-α Bulguları

Serumda incelenen IL-6 seviyesi açısından; DP+RT grubu hem kontrol ($p=0,002$) hem de DP+RT+MEL ($p=0,017$) göre istatistiksel olarak anlamlı olacak düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=1,000$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde düşüş tespit edilse de ($p>0,05$) kalan diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). Profiltik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise;

DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.7.).

Serumda incelenen TNF- α seviyesi açısından; DP+RT grubunda, kontrol ($p=0,013$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülse de; profilaktik olarak uygulanan ilaç gruplarına (DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL) göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=0,351$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde düşüş tespit edilse de ($p>0,05$) kalan diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde hafif yüksek bulundu ($p>0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+AMİ grubunda DP+RT+MEL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.7.).



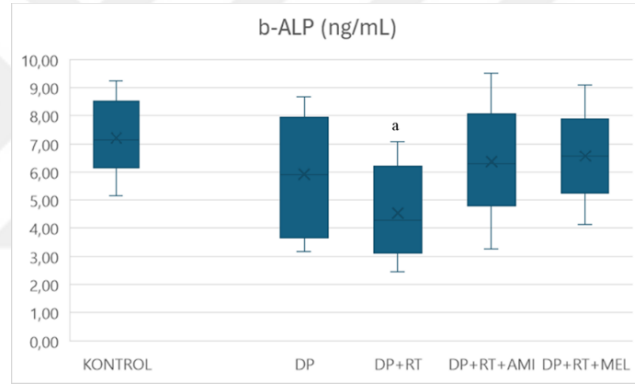
Şekil 4.7. IL-6 ve TNF- α Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

(DP: Deneyisel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin. a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı, c: DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı; $p<0,05$.)

4.3.1.3. Serum b-ALP Bulguları

Serumda incelenen b-ALP seviyesi açısından; DP+RT grubunda, kontrol ($p=0,031$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülse de; profilaktik olarak

uygulanan ilaç gruplarına (DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL) göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde düşük tespit edildi ($p>0,05$). DP grubunda, DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde artış tespit edilse de ($p>0,05$) kalan diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde düşük tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en düşük değer tespit edildi. DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde hafif düşük bulundu ($p>0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. b-ALP Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

(DP: Deneyisel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin. a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı; $p<0,05$.)

4.3.2. Doku Oksidan - Antioksidan Parametrelerin Bulguları

4.3.2.1. Doku TOD, TAOK ve OSİ Bulguları

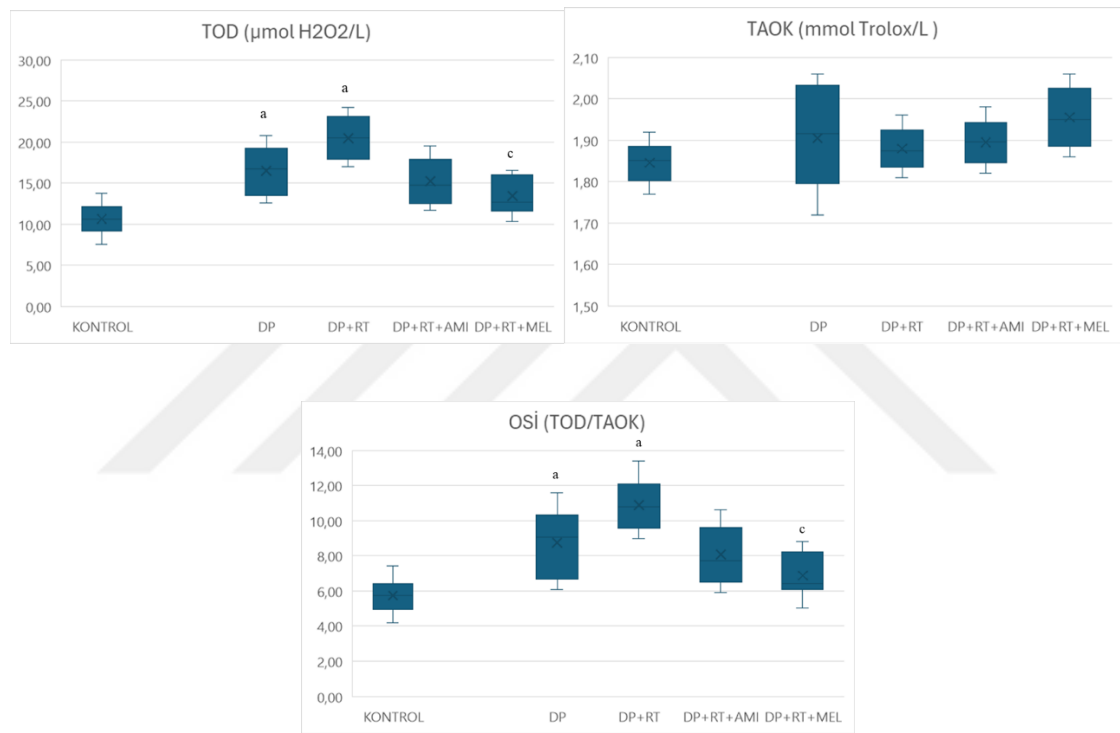
Dokuda yapılan TOD değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. DP+RT ($p=0,00$) ve DP ($p=0,026$) grupları, kontrol ($p=0,00$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=0,104$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde bir düşüş tespit edilse de ($p>0,05$); DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarına göre istatistiksel olarak

anlamli olmayacak düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek değer tespit edildi. DP+RT grubunda, DP+RT+MEL ($p=0,011$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamli bir artış tespit edilse de, DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak bir artış tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). Proflaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamli bir fark gözlenmedi ($p>0,05$) (şekil 4.9.).

Dokuda yapılan TAOK değerlendirmesinde de istatistiksel olarak anlamli farklılıklar tespit edilemedi. DP+RT+MEL grubunda MEL'in antioksidan etkinliği ile tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). DP+RT ve DP grupları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). DP grubu, DP+RT ve DP+RT+AMİ gruplarına göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). DP+RT+AMİ ($p=0,831$) ve DP+RT+MEL ($p=0,054$) gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek bulundu ($p>0,05$). Proflaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (şekil 4.9.).

TOD ve TAOK değerlerinin oranlanması sonucu ortaya çıkan OSİ değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli farklılıklar bulundu. DP+RT ($p=0,00$) ve DP ($p=0,031$) grupları, kontrol ($p=0,00$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamli düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DP grubunda, DP+RT ($p=0,520$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde bir düşüş tespit edilse de ($p>0,05$); DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarına göre istatistiksel olarak anlamli olmayacak düzeyde yüksek tespit edildi ($p>0,05$). DP+RT grubunda, tüm gruplar arasında en yüksek

değer tespit edildi. DP+RT grubunda, DP+RT+MEL ($p=0,011$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$). DP+RT+AMİ ve DP+RT+MEL gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde hafif yüksek bulundu ($p>0,05$). Profilaktik ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; DP+RT+MEL grubunda DP+RT+AMİ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. TOD, TAOK, OSİ Seviyelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

(DP: Deneyisel Periodontitis, RT: Radyoterapi, AMİ: Amifostin, MEL: Melatonin. a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı, c: DP+RT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı; $p<0,05$.)

5. TARTIŞMA

Periodontitis, periodontal yapılardaki mikrobiyal floradaki dengesizlik ile karakterize, kronik inflamasyona ve dişin destek yapılarının yıkımına yol açan bir hastalıktır.³²²⁻³²⁴ Periodontitisin etyopatogenezinde hem mikrobiyal faktörlerin hem de konağın dahil olduğu karmaşık bir mekanizma rol oynar.³²⁵ Ayrıca periodontal doku tahribatında, patogenezin OS'yi içerdiğine inanılmaktadır.³²⁶ Yakın zamanda yayınlanan Avrupa Periodontoloji Federasyonu (EFP) ve Dünya Aile Hekimleri Örgütü'nün (WONCA) Avrupa kolunun ortak çalıştayının fikir birliği raporunda; periodontitisin, bağımsız olarak diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, obstrüktif uyku apnesi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve COVID-19 komplikasyonları ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.³²⁷ Periodontitis, epidemiyolojik çalışmalarda artan kanser insidansı ve mortalite riskiyle de ilişkilendirilmiştir.³²⁸⁻³³⁰ Birçok klinik çalışma ise³³¹⁻³³³ baş-boyun kanseri riskinin periodontitis ile arttığını göstermiştir.

Kanser hastalığının, tek başına ya da başka tedavilerle kombine olmak üzere en yaygın tedavilerinden biri RT'dir. Radyasyon tedavisi, kötü huylu tümörler için klinik açıdan etkili bir tedavi olarak 50 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır.^{334,335} Radyasyon tedavisinde amaç tümör hücrelerine zarar vermektir. Ancak gen mutasyonu, apoptoz, hücre döngüsü bozukluğu, geri dönüşü olmayan DNA hasarı ve nükleotid eksizyon onarımına sebep olarak komşu dokular da zarar görebilir.³³⁶ Radyasyon tedavisi, çok sayıda inflamatuvar faktöre ve farklı türde ROT'a sebep olabilir. ROT, özellikle kemik iliğindeki hücrelerde hücre farklılaşmasının ve hücre bölünmesinin inhibisyonunu gösterir.^{337,338} Ayrıca ROT, RANKL yolunu etkinleştirerek osteoblast farklılaşmasını da inhibe edebilir.³³⁹⁻³⁴¹

Çalışmamızda oksidan durum ve antioksidan kapasite oranlanarak elde edilen OSİ değeri karşılaştırılmıştır. Böylece OS, Erel^{320,321} tarafından geliştirilen yöntemle daha

pratik ve doğru yorumlanabilecek hale gelmiştir.¹¹⁴ Bulgularımıza benzer şekilde, diğer çalışmalarda da RT ilişkili²⁹ veya ilişkisiz¹¹⁹ periodontitis modelinde OS'nin çok daha fazla arttığı görülmüştür. OS, inflamasyon ve apoptotik mekanizmalarda rol oynamaktadır.³¹⁴ Bu nedenle, doku yıkım patogenezinde bu karmaşık ve iç içe geçmiş olaylar bir bütün olarak ele alınmalıdır.

Bu bağlamda; TOD ve OSİ değerlerinin, TAOK değerine negatif korele olarak seyretmesi beklediğimiz bir sonuçtu. Üstelik, çalışmamızın bulgularında TOD ve OSİ değerlerinde, kontrol grubu ile hem DP hem de DP+RT gruplarına göre fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Ancak bu farkın TAOK düzeyi için herhangi iki grup arasında istatistiksel anlamlılıkta olmadığını tespit ettik. Bir diğer önemli nokta ise, MEL proflaksisi uygulanan grupta, ışınlanmış periodontitis grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak TOD ve OSİ seviyelerinin azalmış olmasıydı. Ancak, AMİ uygulanan grupta bu parametreler herhangi bir grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi. Zhang ve ark.nın³⁴² yakın zamanda yaptığı benzer bir çalışmada; ışınlamadan yarım saat sonra, hücrelerdeki ROT üretiminin, sonuçlarımızı destekler şekilde, RT grubunda kontrol grubuna kıyasla yaklaşık %100 arttığı ($P < 0,05$) gözlemlenmiştir. Ayrıca, kontrol ve RT+AMİ gruplarında ROT düzeylerinin hemen hemen aynı olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bizim bulgularımız ile karşılaştırıldığında; AMİ verilen grubun, kontrol grubuna bu kadar yakın sonuç vermemesinin nedeni verilen radyasyon dozunun farklılığı olabilir. Zhang, çalışmasında³⁴² ratlara 2 Gy radyasyon uygulamıştır. Bu da, AMİ'nin düşük doz radyasyonda daha etkili sonuç verebileceğini düşündürmektedir.

MEL antioksidan rolüyle öne çıkan ve son yıllarda popüleritesi giderek artan bir ajandır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarımızda^{29,304,315} DP modelini ligatürleme yoluyla oluşturmayı benimseyerek, MEL'in etkisini oksidatif parametreler yönünden incelemiştik. DP ile birlikte stres uygulanan ratlarda,³¹⁵ sistemik MEL'in OSİ oranını

önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yine DP'ye DM'nin dahil edildiği ve ayrıca iki hastalığın bağımsız olarak da incelendiği modelde,³⁰⁴ MEL uygulaması ile her iki grupta (DP+MEL ve DM+MEL) da OSİ değerinde azalma tespit edilmiştir. Üstelik, MEL tedavisi ile her iki hastalığın birlikte bulunduğu gruptaki azalmaların daha belirgin olduğu görülmüştür. Çalışmamıza metodolojik olarak benzer şekilde, RT ve MEL'in yer aldığı bir DP modeli oluşturarak; oksidatif parametreler ve kemik kaybı açısından değerlendirdiğimiz bir hayvan çalışmasında,²⁹ DP+RT grubunda DP grubuna göre OSİ, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), malondialdehit (MDA) ve C-terminal telopeptid düzeyleri anlamlı derecede yüksek ($p<0,05$) ve DP+RT+MEL grubunda DP+RT grubuna göre bu düzeyler daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Bu bulgular, OSİ düzeyinde RT'nin olumsuz, MEL'in olumlu etkisini bulgularımıza paralel şekilde doğrulamaktadır. MEL'in periodontitise etkisinin değerlendirildiği başka bir çalışmada³⁴³ ise, kontrol ve DP grupları arasında TAOK açısından ilginç bir şekilde anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bu sonuç, çalışma bulgularımızla örtüşmektedir. Sonuçlarımızda da TAOK verilerinde herhangi iki grup arasında istatistiğe anlamlı olarak yansiyacak kadar bir fark elde edilememiştir.

Periodontal doku yıkımında temel etken anti-inflamatuar ve pro-inflamatuar sitokinler arasındaki dengenin bozulmasıdır.^{344,345} TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi pro-inflamatuar moleküllerin, periodontal hastalık göstergelerinden biri olarak AKK'yi desteklemeleri nedeniyle, patogenez mekanizmasındaki görevleri dikkat çekicidir.³⁴⁶⁻³⁴⁹ Buna RT'nin de dahil olmasıyla birlikte, inflammatuar düzeyde yıkım daha da şiddetlenecektir.^{29,350,351} Çalışmamızda bu şiddetlenmeyi hem dokudaki IL-1 β /IL-10 hem de serumdaki TNF- α ve IL-6 seviyelerindeki artışlar ile gösterdik. Çalışma bulgularımıza dayanarak proinflammatuar sitokin seviyelerinin tek başına periodontitis ve ısıtılmış

periodontitis gruplarında yükseldiğini; her iki ilaç grubunda da azaldığını açıkça söyleyebiliriz.

Literatüre baktığımızda, AMİ'nin proinflamatuvar sitokinler üzerindeki etkisine yönelik oldukça az sayıda çalışma olduğunu tespit ettik. AMİ'nin de dahil edildiği bir hayvan çalışmasında,³⁵² renal tübüler epitel hücrelerinde IL-6 düzeyinin AMİ verilen grupta önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Biz de bu sonuca paralel şekilde, üstelik periodontal kayıp düzeyinde bir karşılaştırma yaparak AMİ verilen grupta, IL-6 düzeyi ile lingual bölgedeki AKK'nin anlamlı olarak pozitif korele olduğu tespit ettik. MEL verilen grupta ise IL-6 düzeyi, herhangi bir biyokimyasal ya da morfolometrik parametre ile anlamlı olarak ilişkilendirilememiştir. Başka bir çalışmada³⁵³ sıçan karaciğerinde AMİ'nin ışınlama öncesi uygulanmasıyla, IL-6 düzeyinde kontrol grubuna göre 1. haftada 5 kat ($p<0,05$) artış olduğu; 3. hafta sonunda ise bu düzeyin bazal seviyeye geldiği tespit edilmiştir. AMİ ile pulmoner hasardaki azalmayı, plazma TGF- β düzeyi ile değerlendiren bir hayvan çalışmasında ise,³⁵⁴ RT sonrası TGF- β düzeyinin artışı ve AMİ alan ışınlanmış grupta bu parametrenin azaldığı gözlemlenmiştir.

Benzer metodolojili önceki bir hayvan çalışmamızda,²⁹ RT'nin periodontal doku düzeyinde yıkıma neden olduğu ve bunun inflamatuvar parametrelerdeki değişikliklerle desteklendiği bildirmiştik. Üstelik aynı çalışmada MEL tedavi ajanı olarak kullanılmış ve bulgularımızı destekler şekilde pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinde anlamlı bir iyileşme tespit edilmiştir. Zaten pek çok hayvan çalışmasında^{23,304,314,315,355} MEL'in periodontal dokulardaki yıkımı baskıladığı inflamatuvar parametrelerle de kanıtlanmıştır. Çok yakın tarihte yayınlanan bir çalışmamızda;³¹⁵ stres ve DP grubunda anlamlı olarak yüksek olan IL-1 β /IL-10 oranını, sistemik MEL uygulamasının anlamlı düzeyde düşürdüğünü göstermiştik. Bu çalışmada da, RT ve DP uygulamaları ile IL-10 düzeyinin azalması, IL-1 β ve IL-1 β /IL-10 oranının artması ile anti-inflamatuvar-pro-inflamatuvar sitokin

dengeşinin inflamasyon lehine bozulmasına işaret etmiştir. Bu anlamda, sitokin seviyelerinin ayrı ayrı değeriendirilmesinden ziyade oransal olarak ele alınması daha doğru olacaktır. Kara ve ark.,²³ MEL'in periodontitis tedavisinde immün modülatör ve antioksidan rolünü incelemiştir. DP ve DP+MEL grubundaki tüm sıçanlarda IL-1 β düzeyleri yüksek olup; ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Benzer şekilde MEL uygulanan gruptaki TNF- α düzeyi, periodontitis grubuna göre daha düşük bulunmuş; ancak yine gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Bulgularımızda, biz de TNF- α düzeyi bakımından benzer sonuç ile karşılaştık. Her iki ilaç grubunda da herhangi bir grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak, kontrol ve DP+RT grubu arasında istatistiksel olarak fark tespit edilebilmiştir. Virto ve ark.^{303,356} MEL ve DP modeline obezitenin de dahil edildiği çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalardan birinde,³⁰³ klinik ve biyokimyasal parametreler açısından MEL'in etkileri değeriendirilmiştir. Ek olarak MEL tedavisi, klorheksidin tedavisi ile de karşılaştırılmıştır. Tedavi edilmemiş kontrollerle karşılaştırıldığında, diş eti dokusu proinflatuar sitokin seviyeleri üzerindeki iki yardımcı ajanın etkisi araştırılmıştır. MEL ile tedavi edilen ratlarda, ölçülen tüm sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1) ve TNF- α), klorheksidin ile tedavi edilenlerde ise yalnızca MCP-1 ve TNF- α seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, MEL tedavisinin inflamatuvar düzeyde klorheksidine göre daha etkili olduğunu düşündürebilir. Keza, çalışmamızda da neredeyse tüm parametreler düzeyinde AMİ'ye göre MEL üstünlüğünden söz edebiliriz. Renn ve ark.³⁵⁵ periodontitis indüksiyonundan önce veya sonra olacak şekilde, farklı konsantrasyonlarda MEL'i i.p. olarak uygulamış ve sonuçları karşılaştırmışlardır. Kontrol grubuna göre DP grubu sıçanlarında TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde neredeyse üç-dört kat artış olduğu görülmüştür. Ancak, çalışma sonuçlarımızda söz konusu üç parametre açısından, iki grup arasında önemli bir artış olsa

da istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır. Yuce ve ark.,³⁵⁷ DP ve MEL metodolojisine streptozotosin enjeksiyonu ile diyabet modelini de ekleyerek bir çalışma yapmışlardır. MEL osteoklast sayılarını önemli ölçüde azaltmayı başarmış ($P<0,05$); ancak ilginç bir şekilde indüklenebilir nitrik oksit sentataz (iNOS) ve IL-1 β seviyeleri üzerinde hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür. Bulgularımızdan farklı olarak, MEL'in oksidatif ve inflamatuvar parametreler üzerindeki olumlu etkisi ilgili çalışmada gösterilememiştir.

Kemik yapım ve yıkımı, normal dokularda iç içe olan bir süreçtir. Kemik mineralizasyonunda ALP enzimi sık kullanılan biyokimyasal parametrelerdendir.³⁵⁸ ALP, kemik yapımının bir göstergesi olarak osteoklastlardan kan dolaşımına bırakılmaktadır.³⁵⁸ Çalışmamızda, RT ve periodontitis gruplarında ALP seviyelerinde düşüş; tedavi gruplarında ise kontrol grubuna yaklaşacak seviyelerde artış tespit edilmiştir. Arabacı ve ark.nın²⁴ periodontitisli rat modelinde benzer şekilde MEL uygulaması sonrasında, b-ALP seviyelerinin arttığı görülmüştür. Margulies ve ark.nın hem sağlıklı kemik hem tümör hücrelerini kullanarak hücre kültürü içeren in vitro çalışmasında³⁵⁹ ALP ekspresyonu kontrollere göre incelenen tüm dozlardan sonra 72. saatte önemli ölçüde artmış ($p<0,001$); ancak farklı ışınlama dozlarındaki ALP değerleri 72. saatte istatistiksel olarak birbirinden farksız bulunmuştur ($p>0,05$). Kalvarial osteoblast hücrelerinin osteojenik potansiyelini test etmek amacıyla ALP tahlili yapılan farklı rat çalışmalarında;^{360,361} AMİ ön tedavisinin, ışınlanmış hücrelerle karşılaştırıldığında; ALP üretiminde hafif ancak istatistiksel olarak anlamlı bir artışla sonuçlandığı görülmüştür. Proflaktik AMİ ile kontrol grubuna göre, ALP üretiminde önemli bir azalma tespit edilmiştir.³⁶⁰ (2,5 kat azalma) ($p<0,05$) Bu çalışmada,³⁶⁰ AMİ fraksiyonlama yapılsa bile, iyonlaştırıcı radyasyonun ALP üretimi ile ölçülen normal osteoblast osteodiferansiasyonu üzerindeki inhibitör etkisini tam olarak engelleyememiştir. Bu sonuç, AMİ'nin, çalışmamızdan farklı dozajda verilmesinden ya da RT dozunun ve tipinin farklı

olmasından ve/veya fraksiyonlama yapılmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Celep ve ark.nın,³¹³ çok yakın zamanda yayınlanan çalışmasında, ratların tibialarına uyguladıkları titanyum implantların osteointegrasyonunda AMİ'nin radyokoruyucu rolünü araştırmıştır. Sonuçlar, AMİ verilen gruplarda, RT+implant grubuna göre daha hızlı kemik oluşumu ve daha hızlı iyileşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca AMİ verilen ışınlanmış implant ve tek başına ışınlanmış implant gruplarının, b-ALP enzim düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). AMİ verilen grupta b-ALP'nin artışı osteojenik potansiyeli doğrulamak adına anlamlıdır. Ancak, ilgili çalışmada³¹³ RT verilerek implant uygulanan ratlarda b-ALP seviyelerinin yüksek olması, erken dönemde RT'ye karşı vücudun bir tepki mekanizması ile savaştığı şeklinde yorumlanabilir. MEL'in, DP sonrası AKK'yi biyokimyasal ve histomorfometrik parametrelerle inceleyen bir çalışmada²⁴ ise, MEL tedavisi b-ALP düzeylerini artırmış; ancak serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($P>0,05$). Bulgularımızda da, diğer biyokimyasal bulgularımızı destekler şekilde, b-ALP düzeyi için sadece DP+RT grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı düzeyde fark bulunmuştur. Grupların kendi içindeki korelasyonlarına baktığımızda; DP grubunda b-ALP ile IL-1 β /IL-10 oranı arasındaki negatif ilişki yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç, DP modelimizin çalıştığını biyokimyasal enzim ve sitokin düzeyinde kanıtlamıştır. Ancak, DP+RT grubunda b-ALP ile IL-6 arasında ise ilginç bir şekilde pozitif yönde bir korelasyon olduğunu tespit ettik. Bu bulgu, RT etkisi ile grup içinde bozulmuş bir inflamatuvar tepki mekanizması olduğunu düşündürmektedir.

RANK, RANKL ve OPG; periodontal kemik metabolizmasında temel role sahip moleküllerdir. RANK, osteoklastogenezi ve kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesini kontrol eden intrinsik hematopoietik hücre yüzey reseptörüdür. RANKL, osteoklastik farklılaşma ve aktivasyonu stimüle ederek kemik yıkımında rol oynarken; OPG ise zıt

biyolojik etki göstererek osteoklastik aktivitede azalmaya neden olmaktadır.¹²⁵ Periodontitis ve/veya RT'nin doğasında olan inflamatuvar yanıt ile pro-inflamatuvar sitokinler, stromal hücre ve osteoblastlardaki OPG yapımını azaltarak ve RANKL ekspresyonunu stimüle ederek osteoklastogenezisi indüklemektedir.⁸⁰ Böylece her iki durumda da kemik yıkım süreci başlayacaktır. Bulgularımız hem DP ve DP+RT grubundaki RANKL pozitif boyanan hücre sayısındaki artış hem de morfometrik ölçümlerimizdeki sonuçlarla bu süreci doğrulamıştır. Kemik yapım göstergesi olan OPG pozitivitesi ise, DP ve DP+RT gruplarında, kontrol grubuna göre bir miktar artış göstermiştir. Bu bulgu, işlem gören ratların DP ve RT'nin yıkıcı etkilerini baskılamak adına, adeta bir savunma mekanizması oluşturarak yıkıma karşı koymaya çalıştıklarını göstermektedir. Kemik yapım ve yıkımının bir bütün olduğuna işaret etmektedir. Ancak, ilaç verilen gruplarda OPG artışı diğer gruplara göre çok daha fazladır. Fakat, AMİ ve MEL verilen gruplar kıyaslandığında; MEL profilaksisi uygulanan grupta en yüksek skor olmasına rağmen, AMİ grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ek olarak DP+RT+AMİ grubu ile DP grubu arasında da istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır. Bu veri ile AMİ'nin, RT'nin kemik metabolizması üzerindeki yıkıcı etkinliğini büyük oranda azalttığı gösterilmiştir.

Bir dizi hayvan çalışmasında,^{24,315,355,362} tek başına RANKL ve/veya RANKL/OPG oranının MEL ile neredeyse normal seviyelere ulaştığı görülmüştür. Bu çalışmalara ek olarak diğer çalışmalarda^{29,304,314,357,363} MEL takviyesiyle birlikte AKK düzeyinde önemli oranda azalma olduğu tespit edilmiştir. Arabacı ve ark.nın²⁴ yaptığı deneysel hayvan çalışmasında, RANKL ve osteoklast aktivitesi bulgularımızı destekler şekilde, DP+MEL grubunda DP grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0,05$). DP modelinde farklı MEL konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bazı çalışmalar da yapılmıştır.^{355,362} Renn ve ark.nın³⁵⁵ çalışmasında, periodontitisi takiben önemli ölçüde

daha düşük bir OPG seviyesi ve oldukça yüksek bir RANKL seviyesi; ayrıca periodontal dokuda osteoklast sayısında önemli bir artış ve osteoblast sayısında gözle görülür bir azalma tespit edilmiştir. Yüksek RANKL/OPG oranı ve yüksek osteoklast/osteoblast oranı, etkilenen bölgelerdeki belirgin AKK ile desteklenmiştir. Üstelik MEL ile profilaktik veya terapötik tedavi alan sıçanlarda, hem OPG hem de RANKL konsantrasyonlarının yanı sıra; osteoklast ve osteoblastın sayısal yoğunluk değerlerinin de neredeyse normal seviyelere döndüğü görülmüştür. MEL'in hem RANKL/OPG oranını hem de osteoklast/osteoblast oranını normalleştirme üzerindeki etkisi ise doza bağımlı bulunmuştur. Buna göre, MEL'in yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında daha etkili olabileceği söylenebilir. Ancak, aşırı doz kullanıldığında olumsuz sonuçlar da doğurabileceği düşünülmelidir. DP modeline osteoporoz modelinin dahil edildiği başka bir çalışmada³⁶² ise, MEL uygulanan gruplarda RANKL aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir ($p<0,05$). Bu sonuç DP+RT+MEL grubunun, hem kontrol hem DP hem de DP+RT gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermesi ile bulgularımıza paraleldir.

MEL ile pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen; literatüre baktığımızda, AMİ'nin kemik dokusunda koruyucu etkisini RANKL ve/veya OPG düzeyinde gösteren tek bir çalışmaya rastladık. Zhang ve ark.nın³⁴² yaptığı bu çalışmada, RANKL/OPG düzeyinin RT ile arttığı, AMİ'nin osteoklast farklılaşmasını inhibe ederek koruyucu etkiler sağladığı gösterilmiştir. Radyasyon, serumdaki RANKL/OPG geninin istatistiksel anlamlı ifadesinin yanı sıra ($P<0,05$); tartrat rezistant asit fosfataz 5b (Trap-5b) seviyelerini artırmış ve kemik mineral yoğunluğunu azaltmıştır. AMİ'nin; radyasyonun neden olduğu ROT seviyesini, DNA hasarını, RANKL/OPG oranını azaltarak radyasyon koşulları altında osteoklastların olgunlaşmasını ve farklılaşmasını inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. RANKL/OPG oranı bulgularımıza paralel şekilde; RT grubundaki değer

diğer gruplardan çok daha fazla olduğu; RT+AMİ grubunun ise kontrol grubuyla hemen hemen aynı olduğu görölmüştür. Bir kemik dönüşüm belirteci olan Trap-5b seviyesinin, 3., 5. ve 7. günlerde RT grubunda diğer gruplara göre çok daha yüksek olduğu ($P<0,05$) ve kemik dokuda daha fazla sayıda ve daha büyük osteoklast çöküntülerinin yine bu grupta yer aldığı görölmüştür ($P<0,05$). Bulgularımızda, DP+RT+AMİ grubu; kontrol, DP ve DP+RT gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük RANKL pozitivitesi göstermektedir. Zhang ve ark.nın³⁴² çalışmasında ise ilginç bir şekilde, RT+AMİ grubundaki osteoklast sayısı, kontrol ve RT grubundan daha yüksek bulunmuştur ($P>0,05$). Bu anlamda AMİ'nin, kemik metabolizması üzerindeki etkisini bu parametreler üzerinden kanıtlaması açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

Alanımızda bir hayvan çalışmasında DP modeli oluşturmak için kabul görmüş farklı yöntemler vardır. Daha önceki çalışmalarımıza³¹⁴⁻³¹⁶ dayanarak kullandığımız ligatürleme yöntemini bu çalışmada da uyguladık. Ligatürün 15 gün boyunca yerinde kalmasıyla, diş destek dokularında yıkım oluşturduğumuzu morfolometrik ölçümlerimiz ile kanıtladık. Yapılan ölçümlerle, 1. molar dişlerin bukkal, lingual ve furkal bölgelerinde MSS-AK mesafeleri belirlenmiştir. Hem DP hem de DP+RT gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu görölmüştür. Sonuçlarımız değerlendirildiğinde; DP grubunda bukkal bölgedeki AKK ile TOD, OSİ ve IL-6 düzeylerinin pozitif korele olduğu; ancak DP+RT grubunda bukkal bölgedeki AKK'nin IL-6 ile ilginç bir şekilde yüksek negatif ilişkili olduğu görölmüştür. Yıkımla birlikte proinflatuar sitokin düzeyinde artış beklenirken, üstelik yüksek derecede bir azalma olması şüphesiz RT'nin dokular üzerindeki anormal etkisinden kaynaklanmıştır. DP+RT+MEL grubunda ise, bukkal AKK ile TOD, OSİ, TNF- α , IL-1 β seviyelerinde negatif korelasyon olduğu görölmüştür. Önceki çalışmamızda³¹⁵ kısıtlama stresi oluşturduğumuz periodontitisli ratlarda stresin alveoler kemik kaybını ağırlaştırırken, sistemik MEL uygulamasının ise

strese bağı periodontal kemik kaybını önemli ölçüde azalttığı sonucuna varmıştık. Ratlarda DP indüksiyonu sonrasında MEL'in kalp dokusundaki etkisini de kapsayan araştırmalardan birinde,³⁶³ serum MDA, SOD, GSH-Px düzeyleri ve MEL düzeyleri değerlendirilmiştir. Periodontitis gruplarında MEL düzeyleri artmış ve DP+MEL grubunda DP grubuna göre daha düşük MDA düzeyi ve daha yüksek GSH-Px düzeyi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, DP+MEL grubu, DP grubuna göre daha düşük düzeyde AKK sergilemiştir. Bu sonuçlar, MEL'in antioksidan yönünü öne çıkaracak şekilde çalışmamızla da tutarlıdır. MEL'in, kardiyak dokulardaki etkisini DP temelinde araştıran diğer bir çalışma³¹⁶ ise yine ekibimize aittir. Yapılan histolojik ve Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi (KIBT) ölçümleri, MEL'in ligatür kaynaklı periodontal doku tahribatını önemli ölçüde sınırladığını göstermiştir ($P<0,01$). Virto ve ark.nın^{303,356} çalışmalarından birinde,³⁰³ MEL uygulanan tedavi gruplarında azalmış MSS-AK mesafesi tespit edilmiştir. Virto diğer çalışmasında,³⁵⁶ bu kez periodontitis ve obezitenin, plazma MEL seviyesi ve KAK'a etkisini araştırmıştır. Periodontitisli obez sıçanlarda, kontrollerle ya da obez veya periodontitisli sıçanlarla karşılaştırıldığında; plazma MEL seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı ($P<0,05$) görülmüştür. AKK Obez+DP grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %27,71 (2,28 μ m) oranında artmış; histolojik analiz sonuçları, özellikle yine Obez+DP grubunda osteoklast aktivitesi ile belirgin periodontal doku yıkımı olduğunu göstererek bunu doğrulamıştır. Periodontal cep derinliği ve dolaşımdaki MEL seviyeleri arasında ise anlamlı bir negatif korelasyon ($P<0,05$) bulunmuştur. Kara ve ark.nın²³ benzer metodolojili çalışmasında DP grubunda MSS-AK mesafe ölçümlerinde artış tespit edilmiş; ancak MEL tedavisiyle dramatik bir şekilde azaldığı görülmüştür. Yuce ve ark.nın³⁵⁷ çalışma sonuçlarında, sistemik olarak uygulanan MEL'in, AKK'yi önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. MEL, DM'nin periodontal yıkım üzerindeki olumsuz etkilerini normalleştirmiştir. Bu bulgu, MSS-AK mesafesinin DP+RT+MEL

grubunda, DP+RT grubuna göre önemli oranda azaldığı sonucu ile tutarlıdır ($P<0,05$). Üstelik bu azalma, hem bukkal hem lingual hem de furkal bölgelerde istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmıştır. Ancak, Yuce ve ark.nın³⁵⁷ bulgularına paralel şekilde DP+RT+MEL grubu ile DP grubu arasında AKK'de anlamlı bir fark olmamıştır ($p>0,05$). Başka bir çalışmada ise,³⁶² MEL tedavisi alan grup ile kontrol grubu arasında AKK açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış; MEL'in kemik kaybını kontrol grubunda görülen düzeye indirdiği görülmüştür. Bu anlamda, MEL uygulamasının AKK ve kemik rezorpsiyonunda etkili olduğu söylenebilir.

Bulgularımızda DP+RT+AMİ grubunda, kontrol grubuna göre MSS-AK mesafesinin bukkal ve lingual bölgelerde istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu ($p<0,05$); ancak furkal bölgede farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bilgilerimize göre, AMİ'nin periodontitis modeli ya da kemik yıkımı üzerine çok fazla çalışma yoktur. İn vitro bir çalışmada,³⁵⁹ AMİ uygulaması ile kemik rezorpsiyonunun ışınlanmamış kontrol kültürlerine göre; 2 ve 5 Gy ışınlamadan sonra sırasıyla %74,78 ve %87,5 oranında önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur ($p<0,001$). AMİ'nin ışınlanmış kemik dokusunda iyileştirici etkisi olduğu düşünülebilir. Ancak, bu tür çalışmaların sayılarının artırılması ve başka çalışmalara zemin hazırlaması ihtiyacı vardır.

RT tümör dokularındaki etkisinin yanı sıra, sağlıklı dokularda da hasara yol açmaktadır. Kemik dokusundaki etkisini, özellikle fibrozis ve apoptoz mekanizmalarıyla gerçekleştirmektedir. Apoptoz göstergelerinden en sık kullanılanlardan biri Kaspaz'dır. Kaspaz-3 ise, apoptotik durumlarda aktive olan bir sistein proteazdır.³⁶⁴ Aktif Kaspaz, tespit edilen hücrelerin aktif ve akut dönemini işaret etmektedir. Böylece, hücre ölümlerini daha doğru tespit etmek mümkün olacaktır. Çalışmamızda Kaspaz-3 pozitivitesini gösteren aktif hücre oranı, ışınlanmış gruplarda artış göstermiş ve ışınlama öncesi ilaç verilen gruplarda ise kontrol grubuna yakın istatistiksel anlamlılıktaki azalmıştır.

Bu, RT'nin apoptoz üzerindeki etkisini ve ilaçların antiapoptotik etkisini net bir şekilde ortaya koymuştur. Sola ve ark.,³⁶⁵ Wistar sıçanlarından alınan bir diş eti hücreleri kültürü geliştirerek, MEL'in koruyucu özelliğini test etmeyi amaçlamışlardır. MEL uygulaması ile antioksidan ve antiapoptotik etki kanıtlanmıştır. Ekibimiz tarafından yapılan başka bir çalışmamızda da,³¹⁴ periodontitisli ratlara MEL verilmesiyle birlikte apoptotik aktivitenin azaldığı görülmüştür. Ancak, Yuce ve ark.nın³⁵⁷ çalışmasında, diyabetli ve periodontitisli ratlara MEL takviyesi ile AKK'nin bulgularımızı destekler şekilde azaldığı tespit edilse de; bax seviyesi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür. Bu farklılığın nedeni, RT'nin diyabete göre apoptotik düzeyde daha baskın olması ve bax geni gibi bir marker üzerinde daha net bir etki göstermesi olabilir. İn vitro bir çalışmada,³⁵⁹ hücre kültüründe AMİ'nin radyoprotektif etkinliği Kaspaz-3 ekspresyonu ile kanıtlanmıştır. Bir deney hayvanı modelinde³⁶⁶ ise, AMİ'nin ışınlanmış farelerin kolon dokusunda Kaspaz-3 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ancak, AMİ'nin ışınlanmış alveolar kemik dokusu üzerindeki koruyucu rolünü Kaspaz ya da TUNEL testleriyle apoptotik düzeyde test eden klinik ya da hayvan çalışması bilgilerimize göre yoktur.

Literatür tarandığında, AMİ ve MEL'in etkilerini kemik dokusunda karşılaştıran oldukça az çalışma olduğunu tespit ettik. Çalışmamıza metodolojik olarak en yakın benzerlikteki Cakir ve ark.nın³⁶⁷ yaptığı bir hayvan çalışmasında; MEL'in ışınlanmış kemik dokusu üzerindeki biyomekanik etkisi AMİ'ye benzer bulunmuştur. Ancak bu, kemik mineral yoğunluğu üzerine olan biyomekanik düzeyde bir etkiyi göstermektedir. Çalışmamız ise, AMİ ve MEL'in ışınlanmış kemik dokusundaki RT ve periodontitis kaynaklı hasar üzerindeki etkinliklerini oksidatif, biyokimyasal ve immünohistomorfometrik parametrelerle karşılaştırma fırsatı sunmuştur. Topkan ve ark.³⁶⁸ ise, ratlarda radyasyona bağlı epifiz büyüme plağı hasarını önlemede AMİ ve MEL'in etkilerini karşılaştırmış ve ayrıca iki ilacı birlikte uygulamışlardır. Birlikte

kullanımla radyoprotektif düzeyde herhangi bir sinerjistik etki olmamış; ancak tek başına MEL'in, tek başına AMİ uygulamasına göre daha üstün bir radyokoruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tüm bulgular göz önüne alındığında; bu çalışmayla, profilaktik AMİ ve MEL uygulamalarının periodontitis ve RT'nin olumsuz etkilerini iyileştirdiği kanıtlandı. Bu iki ajanı karşılaştırdığımızda ise; MEL'in antioksidan özelliği sayesinde periodontal dokulardaki hasarı önleyici rolüyle öne çıkması ve uygun dozlarda alındığında yan etkilerinin neredeyse hiç olmaması nedeniyle, radyoprotektif özelliği ile bilinen AMİ'ye göre daha çok tercih edileceğini düşünmekteyiz. MEL hem hasta konforu ve hem de tedavi giderlerinin azaltılması açılarından önemli bir alternatif tedavi yaklaşımı olma potansiyeline sahiptir. Bu deneysel çalışma bulguları klinik protokolleri belirleyen ileri çalışmalara temel oluşturma potansiyeline sahiptir.

Ancak, bu kapsamlı çalışmanın sınırlamaları vardır. DP, insanlarda görülen periodontitise göre daha erken ortaya çıkar ve daha hızlı ve yıkıcı bir şekilde ilerler.³⁶⁹ Bu nedenle, sonuçlarımızın insan periodontitisiyle kesin bir şekilde ilişkilendirilmesi yanıltıcı olabilir. İkincisi, yalnızca dişi sıçanların dahil edilmesi, standardizasyon açısından gerekli olsa da, sonuçları her iki cinsiyet için de genellemek doğru olmayabilir. Üçüncü olarak, çalışmamızda RT tek doz olarak uygulanmıştır. Fraksiyonlama ve/veya dozun farklılığı mevcut sonuçların çeşitlendirilmesi açısından değerli olabilir. Ve son olarak, ne yazık ki, MEL ve AMİ uygulama protokolleri konusunda herhangi bir fikir birliği yoktur. Bu bağlamda, bu kritik konuda insan çalışmalarına öncülük etmek için yeni ve daha kapsamlı deneysel çalışmalara açık bir ihtiyaç vardır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu deneysel çalışma,

1. Ratlarda 15 gün süreyle ligatür uygulanmasının plak birikimi yoluyla, alveolar kemik kaybına neden olduğunu, tek başına periodontitisin alveolar kemik kaybı üzerinde belirgin bir artış sağladığını,

2. Radyoterapi ile provoke edilmiş periodontitisin, alveolar kemik kaybını şiddetlendirdiğini,

3. Periodontitis ve radyoterapi protokollerini takiben 3 gün boyunca uygulanan 200 mg/kg sistemik amifostin ve 15 gün boyunca uygulanan 10 mg/kg sistemik melatonin profilaksisinin, radyoterapi ilişkili periodontitiste görülen kemik yıkımını belirgin oranda kısıtlayabildiğini,

4. Ligatürün 15 gün süreyle uygulanmasının rat periodontal dokularında RANKL ve Kaspaz-3 seviyelerini belirgin şekilde artırdığını, tek başına periodontitis indüksiyonunun RANKL ve Kaspaz-3 seviyeleri üzerinde belirgin bir artış sağladığını, radyoterapi ve periodontitisin birlikte uygulanmasının RANKL ve Kaspaz-3 seviyelerini belirgin şekilde şiddetlendirdiğini,

5. Sistemik amifostin ve melatonin uygulamalarının, radyoterapi ve periodontitis indüksiyonu sonucunda artan RANKL ve Kaspaz-3 seviyesini önemli oranda azalttığını,

6. Ligatürün 15 gün süreyle uygulanmasının ve radyoterapinin dahil edilmesiyle birlikte, rat periodontal dokularında OPG seviyesinde hafif bir artış olduğunu,

7. Sistemik amifostin ve melatonin uygulamalarının, OPG seviyesini önemli oranda artırdığını,

8. Ligatürün 15 gün süreyle uygulanmasının rat periodontal dokularında IL-1 β /IL-10, TNF- α ve IL-6 seviyelerini belirgin şekilde artırdığını, radyoterapi ve periodontitisin

birlikte uygulanmasının IL-1 β /IL-10, TNF- α ve IL-6 seviyelerini belirgin şekilde şiddetlendirdiğini,

9. Sistemik amifostin ve melatonin uygulamalarının, radyoterapi ve periodontitis indüksiyonu sonucunda artan IL-1 β /IL-10, TNF- α ve IL-6 seviyelerini önemli oranda azalttığını,

10. Ligatürün 15 gün süreyle uygulanmasının rat periodontal dokularında OSİ seviyesini belirgin şekilde artırdığını, radyoterapi ve periodontitisin birlikte uygulanmasının OSİ seviyesini belirgin şekilde şiddetlendirdiğini,

11. Sistemik amifostin ve melatonin uygulamalarının, radyoterapi ve periodontitis indüksiyonu sonucunda artan OSİ seviyesini önemli oranda azalttığını,

12. Ligatürün 15 gün süreyle uygulanmasının rat periodontal dokularında b-ALP seviyesini belirgin şekilde azalttığını, radyoterapi ve periodontitisin birlikte uygulanmasının b-ALP seviyesini belirgin şekilde düşürdüğünü,

13. Sistemik amifostin ve melatonin uygulamalarının, radyoterapi ve periodontitis indüksiyonu sonucunda azalan b-ALP seviyesini önemli oranda artırdığını ortaya koydu.

Bu deneysel çalışma, hem melatonin ve hem de amifostinin radyoterapi tarafından provake edilen periodontal inflamatuvar stres ve kemik kaybını, RANKL ilişkili osteoklastik aktivite ve OS'yi baskılayarak belirgin bir şekilde sınırlandırabildiğini gösterdi. Bu bağlamda, melatoninin radyoprotektif etkinlik açısından amifostine önemli bir alternatif olabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*, 2017; 3:17038.
2. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:S159-S172.
3. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, ve ark. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2014; 64(1):57-80.
4. World Health Organization. The World Health Report : 2004 : Changing History. <https://iris.who.int/handle/10665/42891>. 2004.
5. Petersen PE. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral Oncol*, 2009; 45(4-5):454-460.
6. Bray F, Laversanne M, Sung H, ve ark. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2024; 74(3):229-263.
7. Laheij AM, de Soet JJ. Can the oral microflora affect oral ulcerative mucositis? *Curr Opin Support Palliat Care*, 2014; 8(2):180-187.
8. Epstein JB, Lunn R, Le N, ve ark. Periodontal attachment loss in patients after head and neck radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998; 86(6):673-677.
9. Epstein JB, Corbett T, Galler C, ve ark. Surgical periodontal treatment in the radiotherapy-treated head and neck cancer patient. *Spec Care Dentist*, 1994; 14(5):182-187.
10. Hong CH, Napenas JJ, Hodgson BD, ve ark. A systematic review of dental disease in patients undergoing cancer therapy. *Support Care Cancer*, 2010; 18(8):1007-1021.
11. Bensadoun RJ, Patton LL, Lalla RV, ve ark. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients treated with radiation: update 2011. *Support Care Cancer*, 2011; 19(6):737-744.
12. Marx RE, Johnson RP. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1987; 64(4):379-390.
13. Epstein JB, Stevenson-Moore P. Periodontal disease and periodontal management in patients with cancer. *Oral Oncol*, 2001; 37(8):613-619.

14. Hancock PJ, Epstein JB, Sadler GR. Oral and dental management related to radiation therapy for head and neck cancer. *J Can Dent Assoc*, 2003; 69(9):585-590.
15. Kouvaris JR, Kouloulas VE, Vlahos LJ. Amifostine: the first selective-target and broad-spectrum radioprotector. *Oncologist*, 2007; 12(6):738-747.
16. British Columbia Cancer Agency. Amifostine : BC Cancer Agency. <https://web.archive.org/web/20150314043718/http://www.bccancer.bc.ca/HPI/DrugDatabase/DrugIndexPro/amifostine.htm>. 1 Ocak 2011.
17. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Zois CE, ve ark. Normal tissue radioprotection by amifostine via Warburg-type effects. *Sci Rep*, 2016;6:30986.
18. Gevorgyan A, La Scala GC, Neligan PC, ve ark. Radioprotection of craniofacial bone growth. *J Craniofac Surg*, 2007; 18(5):995-1000.
19. Felice PA, Gong B, Ahsan S, ve ark. Raman spectroscopy delineates radiation-induced injury and partial rescue by amifostine in bone: a murine mandibular model. *J Bone Miner Metab*, 2015; 33(3):279-284.
20. Donneys A, Tchanque-Fossuo CN, Blough JT, ve ark. Amifostine preserves osteocyte number and osteoid formation in fracture healing following radiotherapy. *J Oral Maxillofac Surg*, 2014; 72(3):559-566.
21. Tchanque-Fossuo CN, Donneys A, Sarhaddi D, ve ark. The effect of Amifostine prophylaxis on bone densitometry, biomechanical strength and union in mandibular pathologic fracture repair. *Bone*, 2013; 57(1):56-61.
22. Talib WH. Melatonin and Cancer Hallmarks. *Molecules*, 2018; 23(3).
23. Kara A, Akman S, Ozkanlar S, ve ark. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med*, 2013; 55:21-26.
24. Arabaci T, Kermen E, Ozkanlar S, ve ark. Therapeutic Effects of Melatonin on Alveolar Bone Resorption After Experimental Periodontitis in Rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*, 2015; 86(7):874-881.
25. Mauriz JL, Collado PS, Veneroso C, ve ark. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J Pineal Res*, 2013; 54(1):1-14.
26. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, ve ark. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res*, 2003; 34(2):81-87.

27. Koc M, Taysi S, Buyukokuroglu ME, ve ark. Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *J Radiat Res*, 2003; 44(3):211-215.
28. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*, 2012; 39(3):239-248.
29. Kose O, Arabaci T, Kizildag A, ve ark. Melatonin prevents radiation-induced oxidative stress and periodontal tissue breakdown in irradiated rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res*, 2017; 52(3):438-446.
30. D'Aiuto F, Graziani F, Tete S, ve ark. Periodontitis: from local infection to systemic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2005; 18(3 Suppl):1-11.
31. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*, 1996; 1(1):926-932.
32. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem Soc Symp*, 1995; 61:73-101.
33. Lang NP, Adler R, Joss A, ve ark. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol*, 1990; 17(10):714-721.
34. Lang NP, Joss A, Orsanic T, ve ark. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol*, 1986; 13(6):590-596.
35. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *J Clin Periodontol*, 1994; 21(6):402-408.
36. Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J, ve ark. Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol*, 1991; 18(2):117-125.
37. Van der Velden U, Abbas F, Winkel EG. Probing considerations in relation to susceptibility to periodontal breakdown. *J Clin Periodontol*, 1986; 13(10):894-899.
38. van der Velden U, Abbas F, Hart AA. Experimental gingivitis in relation to susceptibility to periodontal disease. (I.) Clinical observations. *J Clin Periodontol*, 1985; 12(1):61-68.
39. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, ve ark. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 2007; 43:294-315.
40. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2001; 25:8-20.
41. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000*, 2017; 75(1):7-23.

42. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, ve ark. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:S173-S182.
43. Lopez NJ, Smith PC, Gutierrez J. Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *J Periodontol*, 2002; 73(8):911-924.
44. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, ve ark. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:S1-S8.
45. W.H. O. Constitution of WHO. 2018.
46. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, ve ark. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:S74-S84.
47. Huang S, Li Z, He T, ve ark. Microbiota-based Signature of Gingivitis Treatments: A Randomized Study. *Sci Rep*, 2016; 6:24705.
48. Tonetti MS, Chapple IL, Jepsen S, ve ark. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *J Clin Periodontol*, 2015; 42 Suppl 16:S1-4.
49. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:S28-S45.
50. Stone SJ, Heasman PA, Staines KS, ve ark. The impact of structured plaque control for patients with gingival manifestations of oral lichen planus: a randomized controlled study. *J Clin Periodontol*, 2015; 42(4):356-362.
51. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, ve ark. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*, 1997; 14:216-248.
52. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*, 2007; 78(7 Suppl):1387-1399.
53. Brunsvold MA. Pathologic tooth migration. *J Periodontol*, 2005; 76(6):859-866.

54. Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, ve ark. Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. *J Periodontol*, 2007; 78(10):1911-1925.
55. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*, 2008; 79(8 Suppl):1560-1568.
56. Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 Suppl 6:108-129.
57. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 2003; 31:55-76.
58. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2004; 35:21-41.
59. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*, 2003; 82(2):82-90.
60. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*, 2008; 48:92-110.
61. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*, 1997; 14:33-53.
62. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, 2007; 43:160-232.
63. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, ve ark. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2007; 34(7):558-565.
64. Baltacioglu E, Kehribar MA, Yuva P, ve ark. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Periodontol*, 2014; 85(2):317-326.
65. Baltacioglu E, Yuva P, Aydin G, ve ark. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol*, 2014; 85(10):1432-1441.
66. MacNaul KL, Chartrain N, Lark M, ve ark. Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. Synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. *J Biol Chem*, 1990; 265(28):17238-17245.

67. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, ve ark. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1993; 4(2):197-250.
68. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*, 2010; 89(12):1349-1363.
69. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1998; 9(3):248-266.
70. Baltacioglu E, Akalin FA, Alver A, ve ark. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in post-menopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2006; 33(6):385-392.
71. Canakci CF, Tatar A, Canakci V, ve ark. New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *J Periodontol*, 2006; 77(11):1894-1900.
72. Baltacioglu E, Akalin FA, Alver A, ve ark. Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*, 2008; 53(8):716-722.
73. Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol* 2000, 2007; 43:9-13.
74. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature*, 2000; 408(6812):535-536.
75. Bar-Shavit Z. The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem*, 2007; 102(5):1130-1139.
76. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, ve ark. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998; 95(7):3597-3602.
77. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, ve ark. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; 89(2):309-319.
78. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, ve ark. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, 1998; 139(3):1329-1337.
79. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 2003; 423(6937):337-342.

80. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, ve ark. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 275(3):768-775.
81. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, ve ark. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 1995; 10(6):775-786.
82. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*, 1996; 87(6):2095-2147.
83. Hannum CH, Wilcox CJ, Arend WP, ve ark. Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor. *Nature*, 1990; 343(6256):336-340.
84. Eisenberg SP, Brewer MT, Verderber E, ve ark. Interleukin 1 receptor antagonist is a member of the interleukin 1 gene family: evolution of a cytokine control mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991; 88(12):5232-5236.
85. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 2003; 74(3):391-401.
86. de Molon RS, Park CH, Jin Q, ve ark. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microsc Res Tech*, 2018; 81(12):1412-1421.
87. de Araujo Junior RF, Souza TO, de Medeiros CA, ve ark. 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*, 2013; 8(7):e66391.
88. Pani P, Tsilioni I, McGlennen R, ve ark. IL-1B(3954) polymorphism and red complex bacteria increase IL-1beta (GCF) levels in periodontitis. *J Periodontal Res*, 2021; 56(3):501-511.
89. Sanchez GA, Miozza VA, Delgado A, ve ark. Salivary IL-1beta and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol*, 2013; 40(12):1112-1117.
90. Maynard CL, Weaver CT. Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation. *Immunol Rev*, 2008; 226:219-233.
91. Sun L, Girnary M, Wang L, ve ark. IL-10 Dampens an IL-17-Mediated Periodontitis-Associated Inflammatory Network. *J Immunol*, 2020; 204(8):2177-2191.

92. Chambrone L, Ascarza A, Guerrero ME, ve ark. Association of -1082 interleukin-10 gene polymorphism in Peruvian adults with chronic periodontitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2014; 19(6):e569-573.
93. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol*, 2011; 38 Suppl 11:60-84.
94. Toker H, Gorgun EP, Korkmaz EM, ve ark. The effects of IL-10 gene polymorphism on serum, and gingival crevicular fluid levels of IL-6 and IL-10 in chronic periodontitis. *J Appl Oral Sci*, 2018; 26:e20170232.
95. Escalona LA, Mastromatteo-Alberga P, Correnti M. Cytokine and metalloproteinases in gingival fluid from patients with chronic periodontitis. *Invest Clin*, 2016; 57(2):131-142.
96. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, ve ark. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2003; 30(12):1046-1052.
97. Havemose-Poulsen A, Sorensen LK, Stoltze K, ve ark. Cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures associated with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. *J Periodontol*, 2005; 76(12):2276-2285.
98. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, ve ark. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*, 2007; 34(1):18-24.
99. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 2008; 79(8 Suppl):1585-1591.
100. Lee HJ, Kang IK, Chung CP, ve ark. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1995; 22(11):885-890.
101. Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, ve ark. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol*, 1994; 65(2):147-153.
102. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, ve ark. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*, 2004; 83(2):156-160.

103. Vidal F, Figueredo CM, Cordovil I, ve ark. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. *J Periodontol*, 2009; 80(5):786-791.
104. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, ve ark. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful. *Journal of Botany*, 2012; 2012:1-26.
105. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 1993; 49(3):481-493.
106. Lu JM, Lin PH, Yao Q, ve ark. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*, 2010; 14(4):840-860.
107. Lobo V, Patil A, Phatak A, ve ark. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 2010; 4(8):118-126.
108. Cekic SD, Cetinkaya A, Avan AN, ve ark. Correlation of total antioxidant capacity with reactive oxygen species (ROS) consumption measured by oxidative conversion. *J Agric Food Chem*, 2013; 61(22):5260-5270.
109. Biswas SK. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid Med Cell Longev*, 2016; 5698931.
110. Juan L, Lan T, Zhang C, ve ark. Reciprocal activation between IL-6/STAT3 and NOX4/Akt signalings promotes proliferation and survival of non-small cell lung cancer cells. *Oncotarget*, 2015; 26(22):1031-1048.
111. Wu Y, Meitzler JL, Antony S, ve ark. Activation of TLR4 is required for the synergistic induction of dual oxidase 2 and dual oxidase A2 by IFN- γ and lipopolysaccharide in human pancreatic cancer cell lines. *J Immunol*, 2013; 190(194):1859-1872.
112. Van Dyke TE. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol*, 2008; 79(8 Suppl):1601-1608.
113. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med*, 2010; 48(6):749-762.
114. Esen C, Alkan BA, Kirnap M, ve ark. The effects of chronic periodontitis and rheumatoid arthritis on serum and gingival crevicular fluid total

- antioxidant/oxidant status and oxidative stress index. *J Periodontol*, 2012; 83(6):773-779.
115. Chen M, Cai W, Zhao S, ve ark. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 2019; 46(6):608-622.
 116. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 1997; 82(2):291-295.
 117. Sirmatel O, Sert C, Sirmatel F, ve ark. Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stress index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *Gen Physiol Biophys*, 2007; 26(2):86-90.
 118. Wang GP. Defining functional signatures of dysbiosis in periodontitis progression. *Genome Med*, 2015; 7(1):40.
 119. Mohideen K, Chandrasekaran K, Veeraraghavan H, ve ark. Meta-Analysis of Assessment of Total Oxidative Stress and Total Antioxidant Capacity in Patients with Periodontitis. *Dis Markers*, 2023; 2023:9949047.
 120. Buczek P, Zalewska A, Szarmach I. Saliva and oxidative stress in oral cavity and in some systemic disorders. *J Physiol Pharmacol*, 2015; 66(1):3-9.
 121. Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S, ve ark. Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Dis Markers*, 2015; 2015:653537.
 122. Johnstone AM, Koh A, Goldberg MB, ve ark. A hyperactive neutrophil phenotype in patients with refractory periodontitis. *J Periodontol*, 2007; 78(9):1788-1794.
 123. Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR. Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. *J Periodontol*, 2005; 76(11 Suppl):2066-2074.
 124. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*, 2007; 9 Suppl 1(Suppl 1):S1.
 125. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*, 2008; 473(2):139-146.
 126. Reynolds JJ. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Dis*, 1996; 2(1):70-76.
 127. Guan SM, Shu L, Fu SM, ve ark. *Prevotella intermedia* upregulates MMP-1 and MMP-8 expression in human periodontal ligament cells. *FEMS Microbiol Lett*, 2009; 299(2):214-222.

128. Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res*, 2013; 92(5):399-408.
129. Wruck CJ, Fragoulis A, Gurzynski A, ve ark. Role of oxidative stress in rheumatoid arthritis: insights from the Nrf2-knockout mice. *Ann Rheum Dis*, 2011; 70(5):844-850.
130. Aboodi GM, Goldberg MB, Glogauer M. Refractory periodontitis population characterized by a hyperactive oral neutrophil phenotype. *J Periodontol*, 2011; 82(5):726-733.
131. Lakschevitz FS, Aboodi GM, Glogauer M. Oral neutrophil transcriptome changes result in a pro-survival phenotype in periodontal diseases. *PLoS One*, 2013; 8(7):e68983.
132. Konopka T, Krol K, Kopec W, ve ark. Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2007; 55(6):417-422.
133. Novakovic N, Cakic S, Todorovic T, ve ark. Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal treatment. *Srp Arh Celok Lek*, 2013; 141(3-4):163-168.
134. Banasova L, Kamodyova N, Jansakova K, ve ark. Salivary DNA and markers of oxidative stress in patients with chronic periodontitis. *Clin Oral Investig*, 2015; 19(2):201-207.
135. Chapple IL, Brock GR, Milward MR, ve ark. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol*, 2007; 34(2):103-110.
136. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, ve ark. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*, 2010; 89(11):1241-1246.
137. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*, 2012; 70(5):257-265.
138. Jemal A, Murray T, Samuels A, ve ark. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin*, 2003; 53(1):5-26.
139. Beyzadeoğlu M, Ozyigit G, Ebruli C. *Basic Radiation Oncology*, 1th ed. New York, Springer, 2010: 576.
140. Çıtlak K, Kapucu S. Retrospective Investigation of Oral Agents Used for Management of Mucositis in Patients With Head and Neck Cancer Receiving

- Radiotherapy and Chemotherapy. Journal of Hacettepe University Faculty of Nursing, 2017; 4(1):15-27.
141. Sanderson RJ, Ironside JA. Squamous cell carcinomas of the head and neck. *BMJ*, 2002; 325(7368):822-827.
 142. Louise Kent M, Brennan MT, Noll JL, ve ark. Radiation-induced trismus in head and neck cancer patients. *Support Care Cancer*, 2008; 16(3):305-309.
 143. Mundt AJ, Roeske RJ, Chung TD, Weichselbaum RR. Cancer medicine. In: Kufe DW, Pollock RE (eds). *Physical and biologic basis of radiation oncology, Biologic Basis of Radiation Therapy*, 6th ed. 2000.
 144. Freitas DA, Diaz A, Pereira MM, ve ark. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Revista CEFAC*, 2011; 13(6):1103-1108.
 145. Hendry JH, Jeremic B, Zubizarreta EH. Normal tissue complications after radiation therapy. *Rev Panam Salud Publica*, 2006; 20(2-3):151-160.
 146. Mod D, Mod H, Jha AK. Oral and dental complications of head and neck radiotherapy and their management. *J Nepal Health Res Counc*, 2013; 11(25):300-304.
 147. Atanasova KR, Yilmaz O. Looking in the *Porphyromonas gingivalis* cabinet of curiosities: the microbium, the host and cancer association. *Mol Oral Microbiol*, 2014; 29(2):55-66.
 148. Schmidt BL, Kuczynski J, Bhattacharya A, ve ark. Changes in abundance of oral microbiota associated with oral cancer. *PLoS One*, 2014; 9(6):e98741.
 149. Mager DL, Haffajee AD, Devlin PM, ve ark. The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: a descriptive, non-randomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects. *J Transl Med*, 2005; 3:27.
 150. Gong HL, Shi Y, Zhou L, ve ark. The Composition of Microbiome in Larynx and the Throat Biodiversity between Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Patients and Control Population. *PLoS One*, 2013; 8(6):e66476.
 151. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol*, 2012; 10(10):717-725.
 152. Groeger S, Domann E, Gonzales JR, ve ark. B7-H1 and B7-DC receptors of oral squamous carcinoma cells are upregulated by *Porphyromonas gingivalis*. *Immunobiology*, 2011; 216(12):1302-1310.
 153. Kornman KS, Crane A, Wang HY, ve ark. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1997; 24(1):72-77.

154. Xu J, Yin Z, Cao S, ve ark. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk. *PLoS One*, 2013; 8(5):e63654.
155. Katarkar A, Saha A, Mukherjee S, ve ark. Telomerase expression in individuals with chronic and aggressive periodontitis. *J Periodontol*, 2015; 86(5):656-665.
156. Lindroth AM, Park YJ. Epigenetic biomarkers: a step forward for understanding periodontitis. *J Periodontal Implant Sci*, 2013; 43(3):111-120.
157. Barros SP, Offenbacher S. Modifiable risk factors in periodontal disease: epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response. *Periodontol 2000*, 2014; 64(1):95-110.
158. Loo WT, Jin L, Cheung MN, ve ark. Epigenetic change in E-cadherin and COX-2 to predict chronic periodontitis. *J Transl Med*, 2010; 8:110.
159. Katsura K, Sasai K, Sato K, ve ark. Relationship between oral health status and development of osteoradionecrosis of the mandible: a retrospective longitudinal study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2008; 105(6):731-738.
160. Al-Nawas B, Grotz KA. Prospective study of the long term change of the oral flora after radiation therapy. *Support Care Cancer*, 2006; 14(3):291-296.
161. Ammajan RR, Joseph R, Rajeev R, ve ark. Assessment of periodontal changes in patients undergoing radiotherapy for head and neck malignancy: a hospital-based study. *J Cancer Res Ther*, 2013; 9(4):630-637.
162. Hommeze GM, De Meerleer GO, De Neve WJ, ve ark. Effect of radiation dose on the prevalence of apical periodontitis--a dosimetric analysis. *Clin Oral Investig*, 2012; 16(6):1543-1547.
163. Khaw A, Logan R, Keefe D, ve ark. Radiation-induced oral mucositis and periodontitis - proposal for an inter-relationship. *Oral Dis*, 2014; 20(3):e7-18.
164. Khaw A, Liberali S, Logan R, ve ark. Influence of periodontitis on the experience of oral mucositis in cancer patients undergoing head and neck radiotherapy: a pilot study. *Support Care Cancer*, 2014; 22(8):2119-2125.
165. Schuurhuis JM, Stokman MA, Witjes MJH, ve ark. Patients with advanced periodontal disease before intensity-modulated radiation therapy are prone to develop bone healing problems: a 2-year prospective follow-up study. *Support Care Cancer*, 2018; 26(4):1133-1142.
166. Pan YP. Treatment decision for periodontal patients with history of cancer. *Chinese journal of stomatology*, 2017; 52(2):77-80.

167. Gull FD, Deppe H, Kesting M, ve ark. Periodontal disease-like bone loss after adjuvant radiotherapy in the head and neck region: A case report and review of the literature. *Quintessence Int*, 2017; 48(6):451-457.
168. Koukourakis MI. Amifostine in clinical oncology: current use and future applications. *Anticancer Drugs*, 2002; 13(3):181-209.
169. Capizzi RL. Clinical status and optimal use of amifostine. *Oncology (Williston Park)*, 1999; 13(1):47-59; discussion 63, 67.
170. Karadayı B, Akmansu M, Dirier A, ve ark. Amifostinin sitoprotektif etkinliğinin kantitatif tükürük bezi sintigrafisi ile değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, 2005; 183-189.
171. Spencer CM, Goa KL. Amifostine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. *Drugs*, 1995; 50(6):1001-1031.
172. Brizel DM, Wasserman TH, Henke M, ve ark. Phase III randomized trial of amifostine as a radioprotector in head and neck cancer. *J Clin Oncol*, 2000; 18(19):3339-3345.
173. Andreassen CN, Grau C, Lindegaard JC. Chemical radioprotection: a critical review of amifostine as a cytoprotector in radiotherapy. *Semin Radiat Oncol*, 2003; 13(1):62-72.
174. Damron TA, Spadaro JA, Margulies B, ve ark. Dose response of amifostine in protection of growth plate function from irradiation effects. *Int J Cancer*, 2000; 90(2):73-79.
175. Damron TA, Margulies B, Biskup D, ve ark. Amifostine before fractionated irradiation protects bone growth in rats better than fractionation alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001; 50(2):479-483.
176. Damron TA, Spadaro JA, Tamurian RM, ve ark. Sparing of radiation-induced damage to the physis: fractionation alone compared to amifostine pretreatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000; 47(4):1067-1071.
177. Margulies B, Morgan H, Allen M, ve ark. Transiently increased bone density after irradiation and the radioprotectant drug amifostine in a rat model. *Am J Clin Oncol*, 2003; 26(4):e106-114.
178. La Scala GC, O'Donovan DA, Yeung I, ve ark. Radiation-induced craniofacial bone growth inhibition: efficacy of cytoprotection following a fractionated dose regimen. *Plast Reconstr Surg*, 2005; 115(7):1973-1985.

179. Forrest CR, O'Donovan DA, Yeung I, ve ark. Efficacy of radioprotection in the prevention of radiation-induced craniofacial bone growth inhibition. *Plast Reconstr Surg*, 2002; 109(4):1311-1323.
180. Marzatico F, Porta C, Moroni M, ve ark. In vitro antioxidant properties of amifostine (WR-2721, Ethyol). *Cancer Chemother Pharmacol*, 2000; 45(2):172-176.
181. Majsterek I, Gloc E, Blasiak J, ve ark. A comparison of the action of amifostine and melatonin on DNA-damaging effects and apoptosis induced by idarubicin in normal and cancer cells. *J Pineal Res*, 2005; 38(4):254-263.
182. Porta C, Maiolo A, Tua A, ve ark. Amifostine, a reactive oxygen species scavenger with radiation- and chemo-protective properties, inhibits in vitro platelet activation induced by ADP, collagen or PAF. *Haematologica*, 2000; 85(8):820-825.
183. Dorr RT. Cytoprotective agents for anthracyclines. *Semin Oncol*, 1996; 23(4 Suppl 8):23-34.
184. Whiteside WM, Sears DN, Young PR, ve ark. Properties of selected S-nitrosothiols compared to nitrosylated WR-1065. *Radiat Res*, 2002; 157(5):578-588.
185. Khodarev NN, Kataoka Y, Murley JS, ve ark. Interaction of amifostine and ionizing radiation on transcriptional patterns of apoptotic genes expressed in human microvascular endothelial cells (HMEC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004; 60(2):553-563.
186. Ramakrishnan N, Catravas GN. N-(2-mercaptoethyl)-1,3-propanediamine (WR-1065) protects thymocytes from programmed cell death. *J Immunol*, 1992; 148(6):1817-1821.
187. Yuhaz JM. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. *Cancer Res*, 1980; 40(5):1519-1524.
188. Kaldır MU, Çaloğlu VY, Alas RC, ve ark. Radyasyona bağlı oluşan karaciğer ve böbrek toksitesini önlemede amifostinin rolü. *Türk Onkoloji Dergisi*. 2007; 22(3):105-117.
189. Forastiere A, Koch W, Trotti A, ve ark. Head and neck cancer. *N Engl J Med*, 2001; 345(26):1890-1900.

190. Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, ve ark. Head and neck cancer. *N Engl J Med*, 1993; 328(3):184-194.
191. Coleman CN, Stone HB, Moulder JE, ve ark. Medicine. Modulation of radiation injury. *Science*, 2004; 304(5671):693-694.
192. Jacobsson MG, Jonsson AK, Albrektsson TO, ve ark. Short- and long-term effects of irradiation on bone regeneration. *Plast Reconstr Surg*, 1985; 76(6):841-850.
193. Peters GJ, van der Vijgh WJ. Protection of normal tissues from the cytotoxic effects of chemotherapy and radiation by amifostine (WR-2721): preclinical aspects. *Eur J Cancer*, 1995; 31A Suppl 1:1-7.
194. Wasserman TH, Brizel DM, Henke M, ve ark. Influence of intravenous amifostine on xerostomia, tumor control, and survival after radiotherapy for head-and- neck cancer: 2-year follow-up of a prospective, randomized, phase III trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005; 63(4):985-990.
195. Grandis JR, Pietenpol JA, Greenberger JS, ve ark. Head and neck cancer: meeting summary and research opportunities. *Cancer Res*, 2004; 64(21):8126-8129.
196. Dimery IW, Hong WK. Overview of combined modality therapies for head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1993; 85(2):95-111.
197. Cutright DE, Brady JM. Long-term effects of radiation on the vascularity of rat bone--quantitative measurements with a new technique. *Radiat Res*, 1971; 48(2):402-408.
198. Pitkanen MA, Hopewell JW. Functional changes in the vascularity of the irradiated rat femur. Implications for late effects. *Acta Radiol Oncol*, 1983; 22(3):253-256.
199. Deshpande SS, Donneys A, Farberg AS, ve ark. Quantification and characterization of radiation-induced changes to mandibular vascularity using micro-computed tomography. *Ann Plast Surg*, 2014; 72(1):100-103.
200. Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. *J Oral Maxillofac Surg*, 1983; 41(5):283-288.
201. Gal TJ, Munoz-Antonia T, Muro-Cacho CA, ve ark. Radiation effects on osteoblasts in vitro: a potential role in osteoradionecrosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2000; 126(9):1124-1128.
202. Arnold M, Kummermehr J, Trott KR. Radiation-induced impairment of osseous healing: quantitative studies using a standard drilling defect in rat femur. *Radiat Res*, 1995; 143(1):77-84.

203. Arnold M, Stas P, Kummermehr J, ve ark. Radiation-induced impairment of bone healing in the rat femur: effects of radiation dose, sequence and interval between surgery and irradiation. *Radiother Oncol*, 1998; 48(3):259-265.
204. Currey JD, Foreman J, Laketic I, ve ark. Effects of ionizing radiation on the mechanical properties of human bone. *J Orthop Res*, 1997; 15(1):111-117.
205. Dudziak ME, Saadeh PB, Mehrara BJ, ve ark. The effects of ionizing radiation on osteoblast-like cells in vitro. *Plast Reconstr Surg*, 2000; 106(5):1049-1061.
206. Hopewell JW. Radiation-therapy effects on bone density. *Med Pediatr Oncol*, 2003; 41(3):208-211.
207. Knospe WH, Blom J, Crosby WH. Regeneration of locally irradiated bone marrow. I. Dose dependent, long-term changes in the rat, with particular emphasis upon vascular and stromal reaction. *Blood*, 1966; 28(3):398-415.
208. Coletti D, Ord RA. Treatment rationale for pathological fractures of the mandible: a series of 44 fractures. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2008; 37(3):215-222.
209. Johnsson AA, Jacobsson M, Granstrom G, ve ark. A microradiographic investigation of cancellous bone healing after irradiation and hyperbaric oxygenation: a rabbit study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000; 48(2):555-563.
210. Maeda M, Bryant MH, Yamagata M, ve ark. Effects of irradiation on cortical bone and their time-related changes. A biomechanical and histomorphological study. *J Bone Joint Surg Am*, 1988; 70(3):392-399.
211. Felice PA, Ahsan S, Perosky JE, ve ark. Prophylactic amifostine preserves the biomechanical properties of irradiated bone in the murine mandible. *Plast Reconstr Surg*, 2014; 133(3):314-321.
212. Tchanque-Fossuo CN, Gong B, Poushanchi B, ve ark. Raman spectroscopy demonstrates Amifostine induced preservation of bone mineralization patterns in the irradiated murine mandible. *Bone*, 2013; 52(2):712-717.
213. Tchanque-Fossuo CN, Donneys A, Deshpande SS, ve ark. Radioprotection With Amifostine Enhances Bone Strength and Regeneration and Bony Union in a Rat Model of Mandibular Distraction Osteogenesis. *Ann Plast Surg*, 2018; 80(2):176-180.
214. Monson LA, Nelson NS, Donneys A, ve ark. Amifostine Treatment Mitigates the Damaging Effects of Radiation on Distraction Osteogenesis in the Murine Mandible. *Ann Plast Surg*, 2016; 77(2):164-168.

215. Urlaub KM, Lynn JV, Carey EG, ve ark. Histologic Improvements in Irradiated Bone Through Pharmaceutical Intervention in Mandibular Distraction Osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg*, 2018; 76(12):2660-2668.
216. Li Y, Li S, Zhou Y, ve ark. Melatonin for the prevention and treatment of cancer. *Oncotarget*, 2017; 8(24):39896-39921.
217. Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, ve ark. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol*, 2012; 351(2):152-166.
218. Salehi B, Sharopov F, Fokou PVT, ve ark. Melatonin in Medicinal and Food Plants: Occurrence, Bioavailability, and Health Potential for Humans. *Cells*, 2019; 8(7).
219. Cagnacci A. Influences of melatonin on human circadian rhythms. *Chronobiol Int*, 1997; 14(2):205-220.
220. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, ve ark. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res*, 2016; 61(3):253-278.
221. Carrillo-Vico A, Reiter RJ, Lardone PJ, ve ark. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. *Curr Opin Investig Drugs*, 2006; 7(5):423-431.
222. Bhattacharya S, Patel KK, Dehari D, ve ark. Melatonin and its ubiquitous anticancer effects. *Mol Cell Biochem*, 2019; 462(1-2):133-155.
223. Lopez-Martinez F, Olivares Ponce PN, Guerra Rodriguez M, ve ark. Melatonin: bone metabolism in oral cavity. *Int J Dent*, 2012; 2012:628406.
224. Blask DE, Sauer LA, Dauchy RT. Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy. *Curr Top Med Chem*, 2002; 2(2):113-132.
225. Reiter RJ, Tan DX, Burkhardt S. Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mech Ageing Dev*, 2002; 123(8):1007-1019.
226. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, ve ark. Melatonin: detoxification of oxygen and nitrogen-based toxic reactants. *Adv Exp Med Biol*, 2003; 527:539-548.
227. Reiter RJ, Tan DX, Allegra M. Melatonin: reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. *Neuro Endocrinol Lett*, 2002; 23 Suppl 1:3-8.

228. Rivara S, Pala D, Bedini A, ve ark. Therapeutic uses of melatonin and melatonin derivatives: a patent review (2012 - 2014). *Expert Opin Ther Pat*, 2015; 25(4):425-441.
229. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, ve ark. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Journal of Pineal Research*, 1993; 1:57-60.
230. Mendes C, Gomes G, Belpiede LT, ve ark. The effects of melatonin daily supplementation to aged rats on the ability to withstand cold, thermoregulation and body weight. *Life Sci*, 2021; 265:118769.
231. Luo J, Zhang Z, Sun H, ve ark. Effect of melatonin on T/B cell activation and immune regulation in pinealectomy mice. *Life Sci*, 2020; 242:117191.
232. He F, Chou CJ, Scheiner M, ve ark. Melatonin- and Ferulic Acid-Based HDAC6 Selective Inhibitors Exhibit Pronounced Immunomodulatory Effects In Vitro and Neuroprotective Effects in a Pharmacological Alzheimer's Disease Mouse Model. *J Med Chem*, 2021; 64(7):3794-3812.
233. Chen W, Chen X, Chen AC, ve ark. Melatonin restores the osteoporosis-impaired osteogenic potential of bone marrow mesenchymal stem cells by preserving SIRT1-mediated intracellular antioxidant properties. *Free Radic Biol Med*, 2020; 146:92-106.
234. Zhou Y, Wang C, Si J, ve ark. Melatonin up-regulates bone marrow mesenchymal stem cells osteogenic action but suppresses their mediated osteoclastogenesis via MT(2) -inactivated NF-kappaB pathway. *Br J Pharmacol*, 2020; 177(9):2106-2122.
235. Bazyar H, Zare Javid A, Bavi Behbahani H, ve ark. Consumption of melatonin supplement improves cardiovascular disease risk factors and anthropometric indices in type 2 diabetes mellitus patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Trials*, 2021; 22(1):231.
236. Arendt J, Skene DJ. Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Med Rev*, 2005; 9(1):25-39.
237. Ali T, Rahman SU, Hao Q, ve ark. Melatonin prevents neuroinflammation and relieves depression by attenuating autophagy impairment through FOXO3a regulation. *J Pineal Res*, 2020; 69(2):e12667.
238. Al-Zaqri N, Pooventhiran T, Alsalmeh A, ve ark. Structural and physico-chemical evaluation of melatonin and its solution-state excited properties, with emphasis on its binding with novel coronavirus proteins. *J Mol Liq*, 2020; 318:114082.

239. Arbiser JL, Bonner MY, Gilbert LC. Targeting the duality of cancer. *NPJ Precis Oncol*, 2017; 1.
240. Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, ve ark. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *Biomed Res Int*, 2014; 2014:150845.
241. Mortezaee K, Najafi M, Farhood B, ve ark. Modulation of apoptosis by melatonin for improving cancer treatment efficiency: An updated review. *Life Sci*, 2019; 228:228-241.
242. Chen L, Liu L, Li Y, ve ark. Melatonin increases human cervical cancer HeLa cells apoptosis induced by cisplatin via inhibition of JNK/Parkin/mitophagy axis. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2018; 54(1):1-10.
243. Song J, Ma SJ, Luo JH, ve ark. Melatonin induces the apoptosis and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells via blockade of the AKT/MDM2 pathway. *Oncol Rep*, 2018; 39(4):1975-1983.
244. Li W, Wang Z, Chen Y, ve ark. Melatonin treatment induces apoptosis through regulating the nuclear factor-kappaB and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in human gastric cancer SGC7901 cells. *Oncol Lett*, 2017; 13(4):2737-2744.
245. Alonso-Gonzalez C, Menendez-Menendez J, Gonzalez-Gonzalez A, ve ark. Melatonin enhances the apoptotic effects and modulates the changes in gene expression induced by docetaxel in MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Oncol*, 2018; 52(2):560-570.
246. Yun CW, Kim S, Lee JH, ve ark. Melatonin Promotes Apoptosis of Colorectal Cancer Cells via Superoxide-mediated ER Stress by Inhibiting Cellular Prion Protein Expression. *Anticancer Res*, 2018; 38(7):3951-3960.
247. Yu Z, Tian X, Peng Y, ve ark. Mitochondrial cytochrome P450 (CYP) 1B1 is responsible for melatonin-induced apoptosis in neural cancer cells. *J Pineal Res*, 2018; 65(1):e12478.
248. Fan LL, Sun GP, Wei W, ve ark. Melatonin and doxorubicin synergistically induce cell apoptosis in human hepatoma cell lines. *World J Gastroenterol*, 2010; 16(12):1473-1481.
249. Franco DG, Moretti IF, Marie SKN. Mitochondria Transcription Factor A: A Putative Target for the Effect of Melatonin on U87MG Malignant Glioma Cell Line. *Molecules*, 2018; 23(5).

250. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin: A Versatile Protector against Oxidative DNA Damage. *Molecules*, 2018; 23(3).
251. Huang J, Shan W, Li N, ve ark. Melatonin provides protection against cisplatin-induced ovarian damage and loss of fertility in mice. *Reprod Biomed Online*, 2021; 42(3):505-519.
252. Kelachayeh SG, Sangtarash MH, Mozdarani H. The effects of melatonin on the frequency of micronuclei induced by ionizing radiation in cancerous and normal cell lines. *Int J Radiat Res*, 2020; 18:57-64.
253. Shih YH, Chiu KC, Wang TH, ve ark. Effects of melatonin to arecoline-induced reactive oxygen species production and DNA damage in oral squamous cell carcinoma. *J Formos Med Assoc*, 2021; 120(1 Pt 3):668-678.
254. Leon-Blanco MM, Guerrero JM, Reiter RJ, ve ark. Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both in vivo and in vitro. *J Pineal Res*, 2003; 35(3):204-211.
255. Proietti S, Cucina A, Minini M, ve ark. Melatonin, mitochondria, and the cancer cell. *Cell Mol Life Sci*, 2017; 74(21):4015-4025.
256. Scott AE, Cosma GN, Frank AA, ve ark. Disruption of mitochondrial respiration by melatonin in MCF-7 cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001; 171(3):149-156.
257. Gao Y, Xiao X, Zhang C, ve ark. Melatonin synergizes the chemotherapeutic effect of 5-fluorouracil in colon cancer by suppressing PI3K/AKT and NF-kappaB/iNOS signaling pathways. *J Pineal Res*, 2017; 62(2).
258. Akbarzadeh M, Movassaghpour AA, Ghanbari H, ve ark. The potential therapeutic effect of melatonin on human ovarian cancer by inhibition of invasion and migration of cancer stem cells. *Sci Rep*, 2017; 7(1):17062.
259. Mota AL, Jardim-Perassi BV, de Castro TB, ve ark. Melatonin modifies tumor hypoxia and metabolism by inhibiting HIF-1 α and energy metabolic pathway in the in vitro and in vivo models of breast cancer. *Melatonin Res*, 2019; 2:83-98.
260. Cho SY, Lee HJ, Jeong SJ, ve ark. Sphingosine kinase 1 pathway is involved in melatonin-induced HIF-1 α inactivation in hypoxic PC-3 prostate cancer cells. *J Pineal Res*, 2011; 51(1):87-93.
261. Huang SH, Cao XJ, Wei W. Melatonin decreases TLR3-mediated inflammatory factor expression via inhibition of NF-kappa B activation in respiratory syncytial virus-infected RAW264.7 macrophages. *J Pineal Res*, 2008; 45(1):93-100.

262. Lu JJ, Fu L, Tang Z, ve ark. Melatonin inhibits AP-2beta/hTERT, NF-kappaB/COX-2 and Akt/ERK and activates caspase/Cyto C signaling to enhance the antitumor activity of berberine in lung cancer cells. *Oncotarget*, 2016; 7(3):2985-3001.
263. Ordonez R, Carbajo-Pescador S, Prieto-Dominguez N, ve ark. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 and nuclear factor kappa B contribute to melatonin prevention of motility and invasiveness in HepG2 liver cancer cells. *J Pineal Res*, 2014; 56(1):20-30.
264. Liu L, Xu Y, Reiter RJ. Melatonin inhibits the proliferation of human osteosarcoma cell line MG-63. *Bone*, 2013; 55(2):432-8.
265. Nishida N, Yano H, Nishida T, ve ark. Angiogenesis in cancer. *Vasc Health Risk Manag*, 2006; 2(3):213-219.
266. Lacerda JZ, Ferreira LC, Lopes BC, ve ark. Therapeutic Potential of Melatonin in the Regulation of MiR-148a-3p and Angiogenic Factors in Breast Cancer. *Microna*, 2019; 8(3):237-247.
267. Gonzalez A, Gonzalez-Gonzalez A, Alonso-Gonzalez C, ve ark. Melatonin inhibits angiogenesis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells by downregulation of VEGF. *Oncol Rep*, 2017; 37(4):2433-2440.
268. Marques JHM, Mota AL, Oliveira JG, ve ark. Melatonin restrains angiogenic factors in triple-negative breast cancer by targeting miR-152-3p: In vivo and in vitro studies. *Life Sci*, 2018; 208:131-138.
269. Akbarzadeh M, Rahbarghazi R, Nabat E, ve ark. The impact of different extracellular matrices on melatonin effect in proliferation and stemness properties of ovarian cancer cells. *Biomed Pharmacother*, 2017; 87:288-295.
270. Vimalraj S, Saravanan S, Raghunandhakumar S, ve ark. Melatonin regulates tumor angiogenesis via miR-424-5p/VEGFA signaling pathway in osteosarcoma. *Life Sci*, 2020; 256:118011.
271. Moradkhani F, Moloudizargari M, Fallah M, ve ark. Immunoregulatory role of melatonin in cancer. *J Cell Physiol*, 2020; 235(2):745-757.
272. Perfilyeva YV, Ostapchuk YO, Abdolla N, ve ark. Exogenous Melatonin Up-Regulates Expression of CD62L by Lymphocytes in Aged Mice under Inflammatory and Non-Inflammatory Conditions. *Immunol Invest*, 2019; 48(6):632-643.

273. Odeh LH, Talib WH, Basheti IA. Synergistic effect of thymoquinone and melatonin against breast cancer implanted in mice. *J Cancer Res Ther*, 2018; 14:324-330.
274. Talib WH, Saleh S. Propionibacterium acnes Augments Antitumor, Anti-Angiogenesis and Immunomodulatory Effects of Melatonin on Breast Cancer Implanted in Mice. *PLoS One*, 2015; 10(4):e0124384.
275. Piotrowski I, Kulcenty K, Suchorska W. Interplay between inflammation and cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2020; 25(3):422-427.
276. Ohnishi S, Ma N, Thanan R, ve ark. DNA damage in inflammation-related carcinogenesis and cancer stem cells. *Oxid Med Cell Longev*, 2013; 2013:387014.
277. Mannino G, Caradonna F, Cruciata I, ve ark. Melatonin reduces inflammatory response in human intestinal epithelial cells stimulated by interleukin-1beta. *J Pineal Res*, 2019; 67(3):e12598.
278. Hu X, Li D, Wang J, ve ark. Melatonin inhibits endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in lipopolysaccharide-induced endometritis in mice. *Int Immunopharmacol*, 2018; 64:101-109.
279. Liberti MV, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci*, 2016; 41(3):211-218.
280. Reiter RJ, Sharma R, Ma Q, ve ark. Circadian and non-circadian melatonin: Influence on glucose metabolism in cancer cells. *J Curr Sci Technol*, 2020; 10:85-98.
281. Sanchez-Sanchez AM, Antolin I, Puente-Moncada N, ve ark. Melatonin Cytotoxicity Is Associated to Warburg Effect Inhibition in Ewing Sarcoma Cells. *PLoS One*, 2015; 10(8):e0135420.
282. Hevia D, Gonzalez-Menendez P, Fernandez-Fernandez M, ve ark. Melatonin Decreases Glucose Metabolism in Prostate Cancer Cells: A (13)C Stable Isotope-Resolved Metabolomic Study. *Int J Mol Sci*, 2017; 18(8).
283. Su SC, Hsieh MJ, Yang WE, ve ark. Cancer metastasis: Mechanisms of inhibition by melatonin. *J Pineal Res*, 2017; 62(1).
284. Wen YC, Lin YW, Chu CY, ve ark. Melatonin-triggered post-transcriptional and post-translational modifications of ADAMTS1 coordinately retard tumorigenesis and metastasis of renal cell carcinoma. *J Pineal Res*, 2020; 69(2):e12668.

285. Bu S, Wang Q, Sun J, ve ark. Melatonin suppresses chronic restraint stress-mediated metastasis of epithelial ovarian cancer via NE/AKT/beta-catenin/SLUG axis. *Cell Death Dis*, 2020; 11(8):644.
286. Gu H, Shen Q, Mei D, ve ark. Melatonin Inhibits TE-1 Esophageal Cancer Cells Metastasis by Suppressing the NF-kappaB Signaling Pathway and Decreasing MMP-9. *Ann Clin Lab Sci*, 2020; 50(1):65-72.
287. Nakade O, Koyama H, Ariji H, ve ark. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J Pineal Res*, 1999; 27(2):106-110.
288. Roth JA, Kim BG, Lin WL, ve ark. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem*, 1999; 274(31):22041-22047.
289. Satomura K, Tobiume S, Tokuyama R, ve ark. Melatonin at pharmacological doses enhances human osteoblastic differentiation in vitro and promotes mouse cortical bone formation in vivo. *J Pineal Res*, 2007; 42(3):231-239.
290. Sethi S, Radio NM, Kotlarczyk MP, ve ark. Determination of the minimal melatonin exposure required to induce osteoblast differentiation from human mesenchymal stem cells and these effects on downstream signaling pathways. *J Pineal Res*, 2010; 49(3):222-238.
291. Acuna-Castroviejo D, Reiter RJ, Menendez-Pelaez A, ve ark. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res*, 1994; 16(2):100-112.
292. Witt-Enderby PA, Radio NM, Doctor JS, ve ark. Therapeutic treatments potentially mediated by melatonin receptors: potential clinical uses in the prevention of osteoporosis, cancer and as an adjuvant therapy. *J Pineal Res*, 2006; 41(4):297-305.
293. Pugazhenthir K, Kapoor M, Clarkson AN, ve ark. Melatonin accelerates the process of wound repair in full-thickness incisional wounds. *J Pineal Res*, 2008; 44(4):387-396.
294. Soybir G, Topuzlu C, Odabas O, ve ark. The effects of melatonin on angiogenesis and wound healing. *Surg Today*, 2003; 33(12):896-901.
295. Takechi M, Tatehara S, Satomura K, ve ark. Effect of FGF-2 and melatonin on implant bone healing: a histomorphometric study. *J Mater Sci Mater Med*, 2008; 19(8):2949-2952.

296. Calvo-Guirado JL, Gomez-Moreno G, Lopez-Mari L, ve ark. Actions of melatonin mixed with collagenized porcine bone versus porcine bone only on osteointegration of dental implants. *J Pineal Res*, 2010; 48(3):194-203.
297. Koyama H, Nakade O, Takada Y, ve ark. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res*, 2002; 17(7):1219-1229.
298. Abdolsamadi H, Goodarzi MT, Ahmadi Motemayel F, ve ark. Reduction of Melatonin Level in Patients with Type II Diabetes and Periodontal Diseases. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 2014; 8(3):160-165.
299. Srinath R, Acharya AB, Thakur SL. Salivary and gingival crevicular fluid melatonin in periodontal health and disease. *J Periodontol*, 2010; 81(2):277-283.
300. Balaji TM, Vasanthi HR, Rao SR. Gingival, plasma and salivary levels of melatonin in periodontally healthy individuals and chronic periodontitis patients: a pilot study. *J Clin Diagn Res*, 2015; 9(3):ZC23-25.
301. Balaji TM, Varadarajan S, Jagannathan R, ve ark. Melatonin levels in periodontitis vs. the healthy state: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*, 2022; 28(2):284-306.
302. Gomez-Florit M, Ramis JM, Monjo M. Anti-fibrotic and anti-inflammatory properties of melatonin on human gingival fibroblasts in vitro. *Biochem Pharmacol*, 2013; 86(12):1784-1790.
303. Virto L, Cano P, Jimenez-Ortega V, ve ark. Melatonin as adjunctive therapy in the treatment of periodontitis associated with obesity. *J Clin Periodontol*, 2018; 45(11):1336-1346.
304. Kose O, Arabaci T, Kara A, ve ark. Effects of Melatonin on Oxidative Stress Index and Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats With Periodontitis. *J Periodontol*, 2016; 87(5):e82-90.
305. Carpentieri AR, Peralta Lopez ME, Aguilar J, ve ark. Melatonin and periodontal tissues: Molecular and clinical perspectives. *Pharmacol Res*, 2017; 125:224-231.
306. Bertl K, Schoiber A, Haririan H, ve ark. Non-surgical periodontal therapy influences salivary melatonin levels. *Clin Oral Investig*, 2013; 17(4):1219-1225.
307. Gomez-Moreno G, Cutando-Soriano A, Arana C, ve ark. Melatonin expression in periodontal disease. *J Periodontal Res*, 2007; 42(6):536-540.

308. Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Liu XY, ve ark. Melatonin in the oral cavity: physiological and pathological implications. *J Periodontal Res*, 2015;50(1):9-17.
309. Tresguerres IF, Clemente C, Blanco L, ve ark. Effects of local melatonin application on implant osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2012; 14(3):395-399.
310. Maria S, Samsonraj RM, Munmun F, ve ark. Biological effects of melatonin on osteoblast/osteoclast cocultures, bone, and quality of life: Implications of a role for MT2 melatonin receptors, MEK1/2, and MEK5 in melatonin-mediated osteoblastogenesis. *J Pineal Res*, 2018; 64(3).
311. Deniz GY, Laloglu E, Altun S, ve ark. Antioxidant and anti-apoptotic effects of vitexilactone on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Biotech Histochem*, 2020; 95(5):381-388.
312. Gezer A, Karadag-Sari E. The role of amifostine in preventing radiotherapy induced testicular tissue damage in rats. *Biotech Histochem*, 2022; 97(3):215-221.
313. Aydemir Celep N, Kara H, Erbas E, ve ark. Radioprotective role of amifostine on osteointegration of titanium implants in the tibia of rats. *J Vet Sci*, 2023; 24(3):e35.
314. Kose O, Kurt Bayrakdar S, Unver B, ve ark. Melatonin improves periodontitis-induced kidney damage by decreasing inflammatory stress and apoptosis in rats. *J Periodontol*, 2021; 92(6):22-34.
315. Bostan SA, Yemenoglu H, Kose O, ve ark. Preventive effects of melatonin on periodontal tissue destruction due to psychological stress in rats with experimentally induced periodontitis. *J Periodontal Res*, 2024; 59(3):500-511.
316. Kose O, Kurt Bayrakdar S, Akyildiz K, ve ark. Melatonin ameliorates periodontitis-related inflammatory stress at cardiac left ventricular tissues in rats. *J Periodontol*, 2020; 91(11):1486-1494.
317. Kose O, Arabaci T, Yemenoglu H, ve ark. Influence of experimental periodontitis on cardiac oxidative stress in rats: a biochemical and histomorphometric study. *J Periodontal Res*, 2017; 52(3):603-608.
318. Rakici SY, Guzel AI, Tumkaya L, ve ark. Pelvic Radiation-Induced Testicular Damage: An Experimental Study at 1 Gray. *Syst Biol Reprod Med*, 2020; 66(2):89-98.

319. Yildirim M, Saral S, Mercantepe T, ve ark. White Tea Reduced Bone Loss by Suppressing the TRAP/CTX Pathway in Ovariectomy-Induced Osteoporosis Model Rats. *Cells Tissues Organs*, 2020; 209(1):64-74.
320. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 38(12):1103-1111.
321. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 2004; 37(2):112-119.
322. Eriksson K, Fei G, Lundmark A, ve ark. Periodontal Health and Oral Microbiota in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Clin Med*, 2019; 8(5).
323. Inanc N, Mumcu G, Can M, ve ark. Elevated serum TREM-1 is associated with periodontitis and disease activity in rheumatoid arthritis. *Sci Rep*, 2021; 11(1):2888.
324. Giannini G, Ragusa I, Nardone GN, ve ark. Probiotics-Containing Mucoadhesive Gel for Targeting the Dysbiosis Associated with Periodontal Diseases. *Int J Dent*, 2022; 2022:5007930.
325. Maulani C, Auerkari EI, SL CM, ve ark. Association between Epstein-Barr virus and periodontitis: A meta-analysis. *PLoS One*, 2021; 16(10):e0258109.
326. Zhang Z, Zheng Y, Bian X, ve ark. Identification of Key Genes and Pathways Associated with Oxidative Stress in Periodontitis. *Oxid Med Cell Longev*, 2022; 2022:9728172.
327. Herrera D, Sanz M, Shapira L, ve ark. Association between periodontal diseases and cardiovascular diseases, diabetes and respiratory diseases: Consensus report of the Joint Workshop by the European Federation of Periodontology (EFP) and the European arm of the World Organization of Family Doctors (WONCA Europe). *J Clin Periodontol*, 2023; 50(6):819-841.
328. Michaud DS, Liu Y, Meyer M, ve ark. Periodontal disease, tooth loss, and cancer risk in male health professionals: a prospective cohort study. *Lancet Oncol*, 2008; 9(6):550-558.
329. Romandini M, Baima G, Antonoglou G, ve ark. Periodontitis, Edentulism, and Risk of Mortality: A Systematic Review with Meta-analyses. *J Dent Res*, 2021; 100(1):37-49.
330. Antonoglou GN, Romandini M, Meurman JH, ve ark. Periodontitis and edentulism as risk indicators for mortality: Results from a prospective cohort study with 20 years of follow-up. *J Periodontal Res*, 2023; 58(1):12-21.

331. Michaud DS, Kelsey KT, Papathanasiou E, ve ark. Periodontal disease and risk of all cancers among male never smokers: an updated analysis of the Health Professionals Follow-up Study. *Ann Oncol*, 2016; 27(5):941-947.
332. Hashim D, Sartori S, Brennan P, ve ark. The role of oral hygiene in head and neck cancer: results from International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. *Ann Oncol*, 2016; 27(8):1619-1625.
333. Shin YJ, Choung HW, Lee JH, ve ark. Association of Periodontitis with Oral Cancer: A Case-Control Study. *J Dent Res*, 2019; 98(5):526-533.
334. Willey JS, Lloyd SA, Nelson GA, ve ark. Ionizing Radiation and Bone Loss: Space Exploration and Clinical Therapy Applications. *Clin Rev Bone Miner Metab*, 2011; 9(1):54-62.
335. Yerit KC, Posch M, Seemann M, ve ark. Implant survival in mandibles of irradiated oral cancer patients. *Clin Oral Implants Res*, 2006; 17(3):337-344.
336. Horton JA, Hudak KE, Chung EJ, ve ark. Mesenchymal stem cells inhibit cutaneous radiation-induced fibrosis by suppressing chronic inflammation. *Stem Cells*, 2013; 31(10):2231-2241.
337. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol*, 1994; 65(1):27-33.
338. Mukherjee D, Coates PJ, Lorimore SA, ve ark. Responses to ionizing radiation mediated by inflammatory mechanisms. *J Pathol*, 2014; 232(3):289-299.
339. Ha H, Kwak HB, Lee SW, ve ark. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *Exp Cell Res*, 2004; 301(2):119-127.
340. Lee NK, Choi YG, Baik JY, ve ark. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood*, 2005; 106(3):852-859.
341. Sawajiri M, Mizoe J, Tanimoto K. Changes in osteoclasts after irradiation with carbon ion particles. *Radiat Environ Biophys*, 2003; 42(3):219-223.
342. Zhang L, Huang B, Tang H, ve ark. Amifostine inhibited the differentiation of RAW264.7 cells into osteoclasts by reducing the production of ROS under 2 Gy radiation. *J Cell Biochem*, 2020; 121(1):497-507.
343. Konecna B, Chobodova P, Janko J, ve ark. The Effect of Melatonin on Periodontitis. *Int J Mol Sci*, 2021; 22(5).
344. Miranda TS, Heluy SL, Cruz DF, ve ark. The ratios of pro-inflammatory to anti-inflammatory cytokines in the serum of chronic periodontitis patients with and

- without type 2 diabetes and/or smoking habit. *Clin Oral Investig*, 2019; 23(2):641-650.
345. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*, 13th ed. Philadelphia, Elsevier, 2018.
 346. Cardoso EM, Reis C, Manzanares-Cespedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgrad Med*, 2018; 130(1):98-104.
 347. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*, 2015; 69(1):7-17.
 348. Gomes FI, Aragao MG, Barbosa FC, ve ark. Inflammatory Cytokines Interleukin-1beta and Tumour Necrosis Factor-alpha - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *J Oral Maxillofac Res*, 2016; 7(2):e2.
 349. Noh MK, Jung M, Kim SH, ve ark. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp Ther Med*, 2013; 6(3):847-851.
 350. Straub JM, New J, Hamilton CD, ve ark. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015; 141(11):1985-1994.
 351. Balazs K, Kis E, Badie C, ve ark. Radiotherapy-Induced Changes in the Systemic Immune and Inflammation Parameters of Head and Neck Cancer Patients. *Cancers (Basel)*, 2019; 11(9).
 352. Zhang Y, Qin X, Yang Y, ve ark. Ginkgo biloba extract attenuates cisplatin-induced renal interstitial fibrosis by inhibiting the activation of renal fibroblasts through down-regulating the HIF-1alpha/STAT3/IL-6 pathway in renal tubular epithelial cells. *Phytomedicine*, 2023; 115:154809.
 353. Bogojevic D, Poznanovic G, Grdovic N, ve ark. Administration of rat acute-phase protein alpha(2)-macroglobulin before total-body irradiation initiates cytoprotective mechanisms in the liver. *Radiat Environ Biophys*, 2011; 50(1):167-179.
 354. Vujaskovic Z, Feng QF, Rabbani ZN, ve ark. Assessment of the protective effect of amifostine on radiation-induced pulmonary toxicity. *Exp Lung Res*, 2002; 28(7):577-590.
 355. Renn TY, Huang YK, Feng SW, ve ark. Prophylactic supplement with melatonin successfully suppresses the pathogenesis of periodontitis through normalizing

- RANKL/OPG ratio and depressing the TLR4/MyD88 signaling pathway. *J Pineal Res*, 2018; 64(3).
356. Virto L, Haugen HJ, Fernandez-Mateos P, ve ark. Melatonin expression in periodontitis and obesity: An experimental in-vivo investigation. *J Periodontal Res*, 2018; 53(5):825-831.
 357. Balci Yuce H, Karatas O, Aydemir Turkal H, ve ark. The Effect of Melatonin on Bone Loss, Diabetic Control, and Apoptosis in Rats With Diabetes With Ligature-Induced Periodontitis. *J Periodontol*, 2016; 87(4):e35-43.
 358. Anh DJ, Eden A, Farley JR. Quantitation of soluble and skeletal alkaline phosphatase, and insoluble alkaline phosphatase anchor-hydrolase activities in human serum. *Clin Chim Acta*, 2001; 311(2):137-148.
 359. Margulies BS, Damron TA, Allen MJ. The differential effects of the radioprotectant drugs amifostine and sodium selenite treatment in combination with radiation therapy on constituent bone cells, Ewing's sarcoma of bone tumor cells, and rhabdomyosarcoma tumor cells in vitro. *J Orthop Res*, 2008; 26(11):1512-1519.
 360. Wong AK, Mei L, Soares MA, ve ark. Radioprotection of osteoblasts by a fractionated dose regimen and amifostine. *Plast Reconstr Surg*, 2009; 123(2):104-113.
 361. Ranganathan K, Simon E, Lynn J, ve ark. Novel Formulation Strategy to Improve the Feasibility of Amifostine Administration. *Pharm Res*, 2018; 35(5):99.
 362. Altintepe Dogan SS, Toker H, Goze OF. Melatonin Decreases Alveolar Bone Loss in Rats with Experimental Periodontitis and Osteoporosis: A Morphometric and Histopathologic Study. *Biomedicines*, 2024; 12(3).
 363. Ozdem M, Kirzioglu FY, Yilmaz HR, ve ark. Antioxidant effects of melatonin in heart tissue after induction of experimental periodontitis in rats. *J Oral Sci*, 2017; 59(1):23-29.
 364. Krajewska M, Wang HG, Krajewski S, ve ark. Immunohistochemical analysis of in vivo patterns of expression of CPP32 (Caspase-3), a cell death protease. *Cancer Res*, 1997; 57(8):1605-1613.
 365. Sola VM, Aguilar JJ, Vazquez Mosquera AP, ve ark. Melatonin is an effective protector of gingival cells damaged by the cytotoxic effect of glutamate and DL-buthionine sulfoximine. *J Periodontal Res*, 2021; 56(1):154-161.

366. Oshima CT, Ribeiro DA, Gomes TS, ve ark. Amifostine Increases FAS and Caspase-3 Expression in Colonic Tissue of Irradiated Mice. *Anticancer Res*, 2015; 35(5):2817-2822.
367. Cakir ZU, Demirel C, Kilciksiz SC, ve ark. Melatonin can Ameliorate Radiation-Induced Oxidative Stress and Inflammation-Related Deterioration of Bone Quality in Rat Femur. *Inflammation*, 2016; 39(3):1134-1140.
368. Topkan E, Tufan H, Yavuz AA, ve ark. Comparison of the protective effects of melatonin and amifostine on radiation-induced epiphyseal injury. *Int J Radiat Biol*, 2008; 84(10):796-802.
369. Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, ve ark. Relationships between periodontal inflammation, lipid peroxide and oxidative damage of multiple organs in rats. *Biomed Res*, 2011; 32(5):343-349.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Nur YORGANCILAR
Eğitim	
Lise	: Ali Güral Anadolu Lisesi (2008-2012)
Lisans	: Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2013-2018)
Uzmanlık	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı (2021-2024)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	

EK-2. Etik Kurul Onayı

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):		
	ÇALIŞMANIN ADI	Deneyel olarak periodontitis oluşturulan ve radyoterapi uygulanan ratlarda amifostin ve melatoninin periodontal doku yıkımı üzerine önleyici etkilerinin karşılaştırılması olarak incelenmesi	
	Title	Comparative investigation of the preventive effects of amifostine and melatonin on periodontal tissue destruction in rats with experimental periodontitis and radiotherapy	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Prof.Dr.Oğuz KÖSE	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Arş.Gör.Nur YORGANCILAR, Doç.Dr.Sema YILMAZ RAKICI, Prof.Dr.Levent TUMKAYA, Doç.Dr.Tolga MERCANTEPE, Prof.Dr.Adnan YILMAZ	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez Ulusal	☐ Çok Merkezli Ulusal

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2023/23	Tarih (Date): 25.04.2023
	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden, Prof. Dr. Oğuz KÖSE 'nin sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of Recep Tayyip Erdogan University.	
	☒ Accepted	☐ Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Dr.Öğr.Üyesi Atilla TOPÇU(Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Oğuz KÖSE (Başkan Vekili)	Periodontoloji	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	☒ E ☐ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.İlker Zeki KURTOĞLU(Üye)	Yetiştiricilik	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Esra DENİZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Zehra TOPAL SUZAN (Üye)	Histoloji ve Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay. Arş. ve Uyg. Mer.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ahmet ERKAN (Üye)	Sivil Toplum Kuruluşuna Üye	Sağlık-Sen	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

*Araştırma ile ilişkisi(Relation to the project, E: Yes, H: No)**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)

EK-3. İntihal Raporu

ORJİNALLİK RAPORU

%15

BENZERLİK ENDEKSİ

%14

İNTERNET KAYNAKLARI

%9

YAYINLAR

%6

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%2

2

www.ozguryayinlari.com

İnternet Kaynağı

%2

3

acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%2

4

abakus.inonu.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%1

5

dspace.gazi.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

6

Submitted to Recep Tayyip Erdogan University

Öğrenci Ödevi

%1

7

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%1

8

Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

<%1

9

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%1