



**DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN
RATLARDA RUTİN'İN (VİTAMİN P) ALVEOLER
KEMİK YIKIMINA VE ÇEŞİTLİ BİYOMARKER
SEVİYELERİNE ETKİSİ**

**Sami Barış KESKİN
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Cüneyt Asım ARAL
Uzmanlık Tezi 2021**

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN RATLARDA RUTİN'İN
(VİTAMİN P) ALVEOLER KEMİK YIKIMINA VE ÇEŞİTLİ BİYOMARKER
SEVİYELERİNE ETKİSİ

Sami Barış KESKİN

Periodontoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Cüneyt Asım ARAL

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TDH-2021-2331 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2021

KABUL VE ONAY

Periodontoloji Anabilim Dalı uzmanlık öğrencisi Araştırma Görevlisi Sami Barış KESKİN'in "Deneysel Periodontitis Oluşturulan Ratlarda Rutin'in (Vitamin P) Alveoler Kemik Yıkımına ve Çeşitli Biyomarker Seviyelerine Etkisi" isimli tezi 23.12.2021 tarihinde aşağıda isimleri yer alan jürimiz tarafından incelenerek başarılı bulunmuş ve kendisinin sınava alınmasına karar verilmiştir.

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM

Fırat Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji A.D Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Cüneyt Asım ARAL

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji A.D Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Mustafa Özay USLU

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji A.D Öğretim Üyesi

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Alaadin POLAT

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

Uzmanlık Tezi

MALATYA 2021

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMA DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalık	4
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	4
2.1.2. Evre I Periodontitis	5
2.1.3. Evre II Periodontitis	5
2.1.4. Evre III Periodontitis	6
2.1.5. Evre IV Periodontitis	6
2.2. Periodontitis'in Derecelendirmesi	7
2.2.1. Derece A	7
2.2.2. Derece B	7
2.2.3. Derece C	7
2.3. Periodontal Hastalığın Gelişimi	9
2.3.1. Başlangıç Lezyonu	9
2.3.2. Erken Lezyon	9
2.3.3. Yerleşik Lezyon	10
2.3.4. İlerlemiş Lezyon	10
2.4. Biyofilm ve Mikrobiyal Dental Plak	11
2.5. Antimikrobiyal Savunma Mekanizması	12
2.6. Alveoler Kemik Kaybı	13
2.7. Sitokinler	14
2.7.1. Proinflamatuvar Sitokinler	15
2.7.2. Antiinflamatuvar Sitokinler	16
2.8. Reaktif Oksijen Türleri	17
2.9. Oksidatif Stres ile Doku Hasarı İlişkisi	18
2.9.1. Total Oksidan Seviye (TOS)	19
2.9.2. Total Antioksidan Seviye (TAS)	20
2.10. Protein Hasarı	20
2.11. DNA Hasarı	21
2.12. Lipit Peroksidasyonu	21

2.12.1. Malondialdehit.....	22
2.13. Antioksidanlar.....	22
2.14. Antioksidan Enzimler	24
2.14.1. Süperoksit Dismutaz.....	24
2.14.2. Glutasyon Peroksidaz.....	25
2.15. Flavonoidler	27
2.16. Rutin.....	28
2.16.1. Rutinin Kimyasal Yapısı	28
2.16.2. Rutinin Biyolojik Etkileri	29
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Çalışma Grupları	31
3.2. Deneysel Periodontitis Oluşturulması ve Çalışma Protokolü	31
3.3. Mikrobilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) İncelemesi	36
3.4. Biyokimyasal Analizler.....	38
3.4.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması	38
3.4.2. GPX, SOD, MDA, IL-1 β , IL-10 Seviyelerinin Ölçümü	38
3.4.3. ELISA Kit Prosedürü.....	39
3.4.4. Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü	39
3.4.5. Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü	39
3.4.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Ölçümü.....	39
3.5. İstatistiksel Analiz.....	42
4. BULGULAR	43
4.1. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi	43
4.1.1. Doku IL-1 β , IL-10 ve IL-1 β /IL-10 Seviyelerinin Değerlendirilmesi.....	43
4.1.2. Doku MDA, GPX, SOD Seviyelerinin Değerlendirilmesi.....	44
4.1.3. Doku TOS, TAS ve OSİ Seviyelerinin Değerlendirilmesi.....	46
4.2. Alveoler Kemik Kaybının Mikro-BT ile Değerlendirilmesi.....	48
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	60
EKLER	84
EK - 1. ÖZGEÇMİŞ	84
EK - 2. ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....	85

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışma sürecinde yol gösterici olan, klinik ve akademik çalışmalarda mesleki bilgilerini ve tecrübelerini paylaşan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Cüneyt Asım ARAL'a;

Eğitimim sırasında değerli bilgilerini içtenlikle paylaşan ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Mustafa Özay USLU, Dr. Öğr. Üyesi Arife SABANCI, Dr. Öğr. Üyesi Vesile Elif TOY, Dr. Öğr. Üyesi Ömer Alperen KIRMIZIGÜL ve Dr. Öğr. Üyesi Kübra ARAL'a;

Göreve başladığımdan beri klinikte ve tezimde yardımını esirgemeyen değerli meslektaşım ve arkadaşım Dt. Mustafa ATALAY'a;

Asistan arkadaşlarıma ve yardımcı personellere;

Tezimin deney aşamalarında yardımcı olan Onur ÖZKAYA ve Engin KORKMAZ'a;

İlaç doz hesaplamalarında ve içeriğinde tecrübelerinden faydalandığım Arş. Gör. Zerrin KUTLU ve Prof. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR'e;

İstatistiksel analiz kısmında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Kamber KAŞALI'ye;

Projemizi desteklediği için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Hayatım boyunca hep arkamda hissettiğim maddi manevi desteklerini esirgemeyip bugünlere gelmemde büyük emekleri olan sevgili annem Aytüzün KESKİN, babam Gültekin KESKİN, kardeşlerim Yusuf Mert KESKİN ve Meltem KESKİN'e;

İyi günümde kötü günümde beni yalnız bırakmayan hep yanımda olan sevgili eşim ve meslektaşım Dt. Neşe KARS KESKİN'e;

Hayatımı anlamlandıran yaşama sevincim canım oğlum Yağız Alp KESKİN'e;

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

Deneyisel Periodontitis Oluşturulan Ratlarda Rutin'in (Vitamin P) Alveoler Kemik Yıkımına ve Çeşitli Biyomarker Seviyelerine Etkisi

Amaç: Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gösteren Rutinin deneyisel periodontitise etkisinin değerlendirilmesidir.

Materyal ve Metot: 32 adet Wistar Albino erkek rat 4 eşit gruba ayrıldı; 1) SK, 2) DP, 3) R-50, 4) R-100. Ratların üst 2. molar dişlerine 4-0 ipek sütur bağlanarak deneyisel periodontitis oluşturulduktan sonra R-50 ve R-100 gruplarına 14 gün boyunca oral gavaj yoluyla rutin verildi. 15. günde hayvanlar sakrifiye edildikten sonra dişeti ve maksilla örnekleri alındı. Dişeti dokusunda ELISA yöntemi ile IL-1 β , IL-10, MDA, SOD, GPX, spektrofotometrik analiz ile TAS, TOS ve OSI değerleri incelendi. Maksilla örneklerinde AKK, mikro-BT ile incelendi.

Bulgular: Gruplar arasında IL-1 β ve MDA değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). IL-1 β /IL-10 oranı DP grubunda R-100 grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). SOD seviyesi SK ve R-100 gruplarında DP grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). IL-10 ve GPX seviyesi R-100 grubunda DP grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). TOS değeri DP grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). TAS değeri SK grubunda R-50 grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). OSI değeri DP grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). AKK DP grubunda SK grubuna göre, R-100 grubunda SK grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). R-50 grubu ile SK arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Sonuç: Deneyisel periodontitis modelinde Rutin kullanımının doza bağımlı olarak alveoler kemik yıkımını önleyebileceği ve inflamatuvar/oksidatif parametreleri iyileştirebileceği sonucuna ulaşıldı. Rutinin doza bağlı etkilerini görebilmek için daha çok araştırmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Alveoler kemik kaybı, glutatyon peroksidaz, interlökinler, malondialdehit, rutin, süperoksit dismutaz

ABSTRACT

The Effect of Rutin (Vitamin P) on Alveolar Bone Resorption and Various Biomarker Levels in Rats with Experimental Periodontitis

Aim: The evaluation of the effect of rutin which shows antioxidant and anti-inflammatory characteristics on experimental periodontitis.

Material and Method: 32 Wistar Albino male rats were divided into 4 equal groups; 1) HC, 2) EP), 3) R-50, 4) R-100. After experimental periodontitis was created by ligating 4-0 silk sutures to the maxillary second molar teeth, rutin was given by oral gavage for 14 days. By ELISA method in gingival tissue; IL-1 β , IL-10, MDA, SOD, GPX, Spectrophotometrically; TOS, TAS, OSI values were analyzed. ABL in maxillary specimens was examined by Micro-CT.

Results: No significant difference was observed in IL-1 β and MDA values ($p>0.05$). IL-1 β /IL-10 ratio was found to be significantly higher in the EP group compared to the R-100 group ($p<0.05$). SOD level was higher in HC and R-100 groups than in EP group ($p<0.001$). IL-10 and GPX levels were found significantly higher in the R-100 group compared to the EP group ($p<0.05$). TOS values were found to be significantly higher in the EP group compared to the HC group ($p<0.05$). TAS values were found to be significantly higher in the HC group than in the R-50 group ($p<0.05$). OSI value was found to be significantly higher in the EP group compared to the other group ($p<0.001$). ABL values were found significantly higher in the EP group than in the HC group and in the R-100 group compared to the HC group ($p<0.001$). There was no statistically significant difference between the R-50 group and HC ($p>0.05$).

Conclusions: It was concluded that rutin use in experimental periodontitis model can prevent alveolar bone destruction and improve inflammatory/oxidative parameters in a dose-dependent manner. It was concluded that more research is needed to see the dose-related effects of rutin.

Keywords: Alveolar bone loss, glutathione peroxidase, interleukins, malondialdehyde, rutin, superoxide dismutase

SİMGELER VE KISALTMA DİZİNİ

°C: Santigrat Derece

µL: Mikrolitre

8-OHdG: 8-deoksihidroksiguanozin

ABTS: 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit

AKK: Alveoler Kemik Kaybı

ANOVA: Varyans analizi

Ca⁺²: Kalsiyum

Campylobacter spp: *Campylobacter* türleri

Capnocytophaga spp: *Capnocytophaga* türleri

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

Cu: Bakır

Cu-Zn SOD: İntrasellüler Süperoksit Dismutaz

Da: Dalton

DM: Diabetes Mellitus

DP: Deneysel Periodontitis

e⁻: Elektron

EC SOD: Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz

Eqv / litre: Equivalent / litre

GPX: Glutasyon Peroksidaz

GPX-1: Sitozolik ve Mitokondriyal Glutasyon Peroksidaz

GPX-2: Sitozolik Glutasyon Peroksidaz

GPX-3: Ekstraselüler Glutasyon Peroksidaz

GPX-4: Fosfolipit Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HRP: Horseradish Peroksidaz

HbA1c: Glikozlanmış Hemoglobin

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

IFN- γ: İnterferon-gama

IL-10: İnterlökin-10

IL-1α: İnterlökin-1 alfa

IL-1β: İnterlökin-1 beta

IL-6: İnterlökin-6
KDa: Kilodalton
KAK: Klinik Ataşman Kaybı
LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MDA: Malondialdehit
MMP-8: Matriks Metalloproteinaz
Mn: Mangan
Mn-SOD: Mitokondriyal Süperoksit Dismutaz
Mikro-BT: Mikrobilgisayarlı Tomografi
Nm: Nanometre
NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B
O₂: Oksijen
OPG: Osteoprotegerin
OSİ: Oksidatif Stres İndeksi
Ppm: Bir milyonda bulunan parça sayısı
P. gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*
PGE₂: Prostaglandin E2
PLA₂: Fosfolipaz A2
RANK: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa
RANKL: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa Ligand
ROT: Reaktif Oksijen Türleri
SOD: Süperoksit Dismutaz
S. mutans: *Streptococcus mutans*
S. salivarius: *Streptococcus salivarius*
S. sanguinis: *Streptococcus sanguinis*
TAS: Total Antioksidan Seviye
TBARS: Tiyoarbitürik Asit Reaktif Madde
Th1: T helper 1 hücresi
Th2: T helper 2 hücresi
TNF: Tümör Nekroz Faktör
TNF-a: Tümör Nekroz Faktör alfa
TOS: Total Oksidan Seviye
Zn: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periodontal hastalığın patogenezi.....	12
Şekil 2.2. Polifenollerin Sınıflandırılması	27
Şekil 3.1. Çalışma protokolü	32
Şekil 3.2. Ratların düzenek ile sabitlenmesi.....	33
Şekil 3.3. Ratların üst 2. molar dişlerine ligatür bağlanması.....	33
Şekil 3.4. Hassas terazi	34
Şekil 3.5. Vortex cihazı	34
Şekil 3.6. Rutinin gruplara göre ayrılması.....	35
Şekil 3.7. Ratlara gavaj uygulanması	35
Şekil 3.8. Alveoler Kemik Kaybının (AKK) mikro BT ile üç düzlemde incelenmesi...	36
Şekil 3.9. Mezial ve distalden yapılan ölçümler.....	36
Şekil 3.10. SK grubu AKK ölçümü	37
Şekil 3.11. DP grubu AKK ölçümü	37
Şekil 3.12. R-50 grubu AKK ölçümü	37
Şekil 3.13. R-100 grubu AKK ölçümü	38
Şekil 3.14. Dokuların -80°C Derin dondurucuda saklanması.....	40
Şekil 3.15. Mikroplaka okuyucu.....	40
Şekil 3.16. Homojenatların kuyucuklara yerleştirilmesi	41
Şekil 3.17. Soğutmalı santrifüj	41
Şekil 3.18. Doku homojenizatörü	42
Şekil 4.1: Doku IL-1 β seviyeleri	43
Şekil 4.3. Doku IL-1 β /IL-10 seviyeleri	44
Şekil 4.4. Doku MDA seviyeleri	45
Şekil 4.5. Doku SOD seviyeleri.....	46
Şekil 4.6. Doku GPX seviyeleri.....	46
Şekil 4.7. Doku TOS değerleri	47
Şekil 4.8. Doku TAS değerleri	48
Şekil 4.9. Doku OSI değerleri	48
Şekil 4.10. Doku AKK değerleri	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Periodontal hastalık 2017 sınıflandırması	8
Tablo 2.1. Periodontal hastalık 2017 sınıflandırması.....	9
Tablo 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	23
Tablo 2.4. Antioksidanların Sınıflandırılması (devamı)	24
Tablo 4.1. Doku IL-1 β , IL-10 ve IL-1 β /IL-10 değerleri	433
Tablo 4.2. Doku MDA, GPX, SOD seviyeleri.....	Error! Bookmark not defined. 5
Tablo 4.3. Doku TOS, TAS, OSI değerleri.....	477
Tablo 4.4. Doku AKK değerleri.....	499



1. GİRİŞ

Periodontitis, dişleri çevreleyen periodontal dokularda oluşan inflamatuvar bir hastalıktır ve patojenik bakteriler ile konak immüno-inflamatuvar yanıt arasındaki karmaşık ilişki hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde rol oynamaktadır (1,2). Çeşitli medyatör, sitokin, proteolitik enzim ve inhibitörlerinin yanında serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki denge de periodontitisin ilerleyişini etkilemektedir (3).

İnsan vücudunda bakterilerin çoğunlukla bir yüzeye biyofilm oluşturarak tutunduğu, genellikle türlerin birbirleriyle etkileşim halinde olduğu kabul edilmektedir (4). Biyofilmler çok çeşitli bakterilerden oluşabilmektedir (5). Belirli aşamalardan geçerek, yapısal ve işlevsel olarak organize edilmiş, tür açısından daha zengin bir mikrobiyal kompleks ile sonuçlanan dental plak formuna dönüşürler (4). Dental plaktaki patojenleri konağın antimikrobiyal savunma sistemleri algılayıp yok eder (6). Savunma sisteminin bir parçası olan epitel dokunun yüzeyinde bulunan model tanıma reseptörlerinin patojenle ilişkili moleküler yapılar ile etkileşimi sonucunda reaktif nitrojen türleri, reaktif oksijen türleri (ROT), sitokinler (İnterlökin-1, İnterlökin-12, Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)), kemokinler (İnterlökin-8, monosit, kemoatraktan protein-1) ve Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) sentezlenir (7,8). IL-1, IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler damar endotelinden adezyon moleküllerinin (İntersellüler Adezyon Molekülü, E-selektin) salınımını aktifleştirir. Bu moleküller polimorfonükleer lökositlerin, monositlerin epitel ve bağ dokuya geçişini hızlandırır (8,9). Konak yanıtı, biyofilmden gelen antijen ve virülans faktörlerine karşı kompleman aktivasyon ürünleri, kininler ve matris metalloproteinazlar gibi inflamatuvar medyatörlerin üretimi ile devam eder (10). Bu süreçte IL-1 β , inflamasyonu şiddetlendirerek periodontitisin karakteristik özellikleri olan kemik yıkımı ve ataşman kaybına katkıda bulunur (11). IL-10 ise inflamatuvar yanıtın baskılanmasında aktif rol oynamaktadır. IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α ve interferon gama (IFN- γ) gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe etmesi sebebiyle periodontitiste önemli bir role sahiptir (12). Periodontitisin şiddeti hem genetik hem de çevresel koşullardan etkilenir. Gözlenen klinik tablo bu olayların toplamının bir sonucudur (13).

Serbest radikaller, eşleşmemiş bir elektrona sahip moleküllerdir. Tek sayıda elektron içerirler kararlı hale geçmek için gerekli elektron ihtiyacını yakınındaki kararlı bileşikten alarak karşılarlar. Elektronunu kaybeden molekül, canlı bir hücrenin

parçalanmasına neden olan bir zincir reaksiyon basamağını başlatır ve bir serbest radikal haline dönüşür ve bu da oksidatif strese neden olur (14). Serbest radikaller ayrıca lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve bu reaksiyon zinciri sonucunda Malondialdehit (MDA) açığa çıkmaktadır (15). Metabolizmada sürekli olarak oluşan bu serbest radikallere ve zararlı etkilerine karşı koruyucu antioksidan mekanizmaları bulunmaktadır. Bu mekanizmaların işleyişi enzimler (Süperoksit Dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon transferaz, glutatyon redüktaz, vitaminler (A, E, C vitaminleri), organik ve inorganik moleküller sayesinde olmaktadır (Glutatyon, Selenyum, Melatonin) (14). Fizyolojik şartlarda antioksidan sistem ile serbest radikaller arasında bir denge mevcuttur. Bu denge oksidan tarafına kayarsa, oksidatif strese ve buna bağlı olarak hücresel hasara neden olur (14,16). Oksidatif stres ateroskleroz, Diabetes Mellitus (DM) ve periodontitis gibi birçok kronik inflamatuvar hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (17). Dengenin antioksidan tarafına kayması yumuşak ve sert doku kayıplarını azaltarak vücuda verilen zararın en düşük seviyede kalmasını sağlamaktadır. Antioksidanların hücre sinyalizasyonunda önemli düzenleyiciler olduğu ve kemik yıkımının önlenmesinde etkin rol üstlendiği bilinmektedir (18). Proinflamatuvar (örn: IL-1 β) ve antiinflamatuvar sitokinlerin (örn. IL-10) antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçlarla düzenlenerek doku yıkımının durdurulabileceği deneysel çalışmalarda rapor edilmiştir (19).

Doğal flavonoidler, vücutta oksijen radikallerini temizleme özellikleriyle bilinir. İnsanlardaki aktiviteleri kapsamlı araştırmaların konusu olmuştur ve antioksidan, antiinflamatuvar, östrojenik, sitotoksik, antitümöral, antiviral aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir (20).

Doğal bir flavon türevi olan ve vitamin p olarak da bilinen rutin (kuersetin-3-ramnozil glukozit) ilk olarak 19. yüzyılda karabuğdayda keşfedilmiştir. Sebze ve meyvelerde yaygın olarak bulunan düşük moleküler ağırlıklı polifenolik bileşiktir. Antialerjik, antiinflamatuvar ve vazokonstriktör, antitümör, antibakteriyel, antiviral ve antiprotozoal özelliklere sahiptir (21,22). Ek olarak, hipolipidemik, sitoprotektif, antikarsinojenik, antispazmodik özellikleri de bildirilmiştir (23,24). Bununla birlikte rutin, antiplatelet, antihipertansif özelliklere sahip olmasının yanı sıra, yüksek radikal süpürme aktivitesi ve antioksidan kapasitesinin sonucunda kılcal damarları güçlendirir (25).

Periodontitisin tedavisinde bitkisel kökenli bileşiklere ilgi son zamanlarda artmıştır (26). Rutinin tek başına farklı dozları kullanılarak periodontitis üzerindeki

etkilerini inceleyen mevcut çalışma olmadığından çalışmamızın özgünlüğü yüksektir. Çalışmamız antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bulunan rutinin deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda IL-1 β , IL-10, MDA, SOD, GPX, TOS, TAS, OSI ve AKK'ya etkilerinin değeriendirilmesini amaçlamaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık

Çeşitli inflamatuvar ve dejeneratif hastalıkların görüldüğü periodonsiyum; dişeti, alveolar kemik, sement ve periodontal ligamenti içeren dokular bütünüdür (27). Periodontal dokuların inflamatuvar hastalığı lezyonların yaygınlığına göre iki türe ayrılır. İnflamatuvar süreç dişeti dokusu ile sınırlı olduğunda gingivitis olarak adlandırılırken, hastalığın yıkıcı ve ilerleyici olduğu diş etini, alveolar kemiği ve periodontal ligamenti etkilediği zaman periodontitis olarak adlandırılır (27). Dişlerdeki mikrobiyal dental plak varlığı, lokalize inflamatuvar reaksiyon başlatır ve periodontitisin patogeneğinde önemli bir rol oynar. İnflamatuvar yanıtlar ile ödem gelişir, lökosit infiltrasyonu olur ve inflamatuvar mediyatörler salınır, bu da periodontal cep oluşumuna, bağ doku dejenerasyonuna, alveolar kemik rezorpsiyonuna ve sonuçta diş kaybına neden olur (28). Periodontitis, dünya nüfusunun yaklaşık %11.2'sinde görülmektedir ve en çok görülen kronik hastalıklar içinde 6. sıradadır (29). Ülkemizde yapılan bir çalışmada 35-44 yaş aralığındaki bireylerin yaklaşık %43'ünde, 65 yaş ve üstü bireylerin ise %91'inde 3 mm ve daha fazla ataşman kaybı olduğu rapor edilmiştir (30).

2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıklar günümüze kadar farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Uluslararası Periodontoloji Çalıştayı'nda 1999 yılında kabul edilen sınıflama (31), Amerikan Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu'nun katkılarıyla 2017 yılında değiştirilerek yenilenmiştir (32). Yeni periodontal sınıflandırma; periodontal sağlık, dişeti hastalıkları ve durumları, periodontitis ve periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar olmak üzere üç ana başlık altında toplanır. Periodontitisin sınıflandırılması ise hastalığın patofizyolojisine uygun olarak 3 başlık altında incelenir. Bunlar; periodontitis (1999 yılında kabul edilen eski sınıflamadaki agresif ve kronik formlar kaldırılıp tek çatı altında toplanmıştır), nekrotizan periodontitis ve sistemik hastalıkların belirtisi olarak periodontitis şeklindedir (33).

2017 Dünya Periodontoloji Çalıştayı'nda periodontitis şöyle tanımlanmıştır;

1. Komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte interdental klinik ataşman kaybı (KAK) varlığı veya
2. 2 veya daha fazla dişte bukkal veya lingual KAK 3 mm veya daha fazla olması ve cep derinliğinin 3 mm'den fazla olmasıdır.

2017 Dünya Periodontoloji Çalıştay, periodontitisi “Evreleme ve Derecelendirme” şeklinde ayırarak sınıflandırmıştır. Evreleme; dişlerin sondalama cep derinliği, KAK, alveoler kemik kaybı (AKK) miktarı ve yüzdesi, açıl kemik defekt varlığı ve varsa şiddeti, furkasyon tutulumu, diş mobilitesi ve periodontitis kaynaklı diş kaybı mevcudiyeti gibi birçok faktöre bakılarak gerçekleştirilmektedir. Yani evrelemede birçok faktör birlikte değerlendirilerek periodontal hastalığın şiddeti belirlenmektedir. Derecelendirme ise hastanın genel sağlığı, periodontal hastalık geçmişi, periodontal hastalık ilerleyişi, sigara kullanımı ve DM gibi sistemik hastalıklar göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmektedir. Böylece hastanın risk değerlendirmesine imkan sağlanmaktadır (33,34).

2.1.2. Evre I Periodontitis

Evre I periodontitis, gingivitis ve periodontitis arasındaki sınır aşamasıdır ve ataşman kaybının erken aşamalarını belirtir. Bu nedenle, Evre I periodontitisli hastalar, gingivitis ve biyofilmdeki devamlılığa yanıt olarak periodontitis geliştirmiştir. Hastalığın erken teşhisi ile hem geleneksel mekanik yöntemler hem de oral hijyen yöntemleri ile kontrolü sağlanabilir. Hastalığın erken teşhisinin genel diş hekimliği pratiğinde zor olduğu kabul edilmektedir. Bunun sebebi erken KAK’ı tahmin etmek için periodontal sondalamanın yetersiz kalmasıdır (33).

Evre I Periodontitiste;

- İnterdental alanda KAK 1-2 mm olup sondalama derinliği en fazla 4 mm’dir.
- Koronal üçlüde %15’i geçmeyen radyografik kemik kaybı vardır ve genellikle kemik kaybı horizontaldır.
- Periodontitis sebebiyle kaybedilmiş diş yoktur (Tablo 2.1).

2.1.3. Evre II Periodontitis

Dikkatli bir şekilde gerçekleştirilen klinik periodontal muayenenin sonucunda periodontitisin neden olduğu karakteristik hasarları tanımladığı yerleşik lezyonu temsil eder. Bununla birlikte, hastalık sürecinin bu aşamasında, düzenli kişisel ve profesyonel bakımı içeren standart tedavi ilkelerinin uygulanmasıyla hastalığın ilerlemesini durdurabilir. Evre II hastalarının standart tedavi ilkelerine yanıtı dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir ve hastalığın şiddeti ile birlikte tedaviye yanıt, hekimi daha yoğun tedavi yapmaya yönlendirebilir.

Evre II Periodontitiste;

- İnterdental alanda KAK 3-4 mm olup sondalama derinliği en fazla 5 mm'dir.
- Koronal üçlüde %15-33 arasında radyografik kemik kaybı vardır ve genellikle kemik kaybı horizontaldır.
- Periodontitis sebebiyle kaybedilmiş diş yoktur (Tablo 2.1).

2.1.4. Evre III Periodontitis

Bu aşamada periodontitis, ataşman kısmında önemli hasara neden olmuştur ve detaylı tedavi olmadığında diş kaybı meydana gelebilir. Evre, kökün orta kısmına uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ile karakterizedir ve derin kemik içi defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu, periodontal diş kaybı ve lokalize kret defektlerinin varlığı ile implant tedavisini zorlaştırır. Diş kaybı olasılığına rağmen çiğneme fonksiyonu korunur.

Evre III Periodontitiste;

- KAK 5 mm veya daha fazladır.
- Radyografik olarak kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan kemik kayıpları görülür.
- Orta seviyede alveoler kret defektleri mevcuttur.
- Periodontal sebeplerle kaybedilen diş sayısı en fazla 4'tür.
- Sondalanan cep derinliği en az 6 mm, vertikal kemik kaybı en az 3 mm'dir (Tablo 2.1).

2.1.5. Evre IV Periodontitis

Daha ileri Evre IV'te periodontitis, diş kaybıyla birlikte çiğneme fonksiyonunun kaybına neden olur. Periodontitisin uygun şekilde kontrol altına alınmaması durumunda diş kayıpları görülmeye devam edecektir. Bu aşama, kökün apikal kısmına uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ve/veya çoklu diş kaybı öyküsü ile karakterize edilir; sekonder oklüzal travma ve diş kaybının sekelleri nedeniyle dişte mobilite artışı ve posterior kapanış ilişkisinin bozulması görülebilir. Tedavisi çiğneme fonksiyonunun stabilizasyonunu ve restorasyonunu gerektirir.

Evre IV Periodontitiste;

- KAK 5 mm'den fazladır.
- Radyografik olarak kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan kemik kayıpları görülebilmektedir.
- Periodontal sebeple diş kaybı en az 5'dir ve kalan diş sayısı 20'den azdır.
- Sekonder oklüzal travma ve kemik defektlerine bağlı dişlerde hipermobilitate ve posterior kapanışın bozulması sıklıkla görülür.

- Çiğneme fonksiyonunun stabilizasyonu ve restorasyonu gereklidir (Tablo 2.1).

2.2. Periodontitis'in Derecelendirmesi

Evreden bağımsız olarak periodontitis bireylerde farklı oranlarda ilerleyebilir, bazı hastalarda tedaviye daha az tahmin edilebilir yanıt verebilir, genel sağlığı veya sistemik hastalığı etkileyebilir veya etkilemeyebilir. Son yıllarda, doğrulanmış risk değerlendirme araçları ve bireysel olarak doğrulanmış risk faktörlerinin varlığı, diş kaybıyla ilişkilendirilerek, periodontitis ilerlemesi ve diş kaybı riskinin tahmin edilmesinin mümkün olduğunu göstermektedir. Derecelendirme ile hastalığın ilerleyişi hakkında bilgi sahibi olunabilir (33).

2.2.1. Derece A

Hastalık yavaş seyirli olup 5 yıldan fazla süreli takipte radyografik olarak kemik kaybı veya KAK izlenmemektedir. Kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25'ten daha az olduğu görülmektedir. Dental plak miktarı fazla olmasına rağmen yıkım çok düşük seviyededir. Bu bireylerde sigara ve DM hikayesi yoktur (Tablo 2.2).

2.2.2. Derece B

Hastalık orta derecede ilerleme hızına sahiptir ve 5 yıldan fazla süreli takipte 2 mm'den az radyografik kemik kaybı veya KAK görülmektedir. Kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25 ile 1 arasında ölçülür. Dental plak birikimiyle orantılı olarak kemik yıkımı mevcuttur. Günde 10 adetten az sigara kullanımı olup DM hastalarında Hemogloblin A1c (HbA1c) %7'den düşüktür (Tablo 2.2).

2.2.3. Derece C

Hastalık hızlı ilerlemektedir ve 5 yıldan fazla süreli takipte en az 2 mm'lik radyografik kemik kaybı veya KAK görülmektedir. Kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 1'den fazla ölçülür. Dental plak miktarına göre periodontal yıkım beklenenden daha fazladır. Günde 10 adet veya daha fazla sigara kullanımı olup DM hastalarında HbA1c %7 veya daha fazladır (Tablo 2.2).

Tablo 2.1. Periodontal hastalık 2017 sınıflandırması (33)

Periodontitis Evreleri		Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV
Hastalığın Şiddeti	En Fazla Kayıp Bölgesinde İnterdental Klinik Ataşman Kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik Kemik Kaybı	Koronal 1/3 <%15	Koronal 1/3 %15-33	Kök yüzeyinin orta/apikal 1/3 üne uzanan	Kök yüzeyinin orta/apikal 1/3 üne uzanan
	Diş Kaybı	Periodontitis'e bağlı diş kaybı yok		Periodontitise Bağlı Diş Kaybı ≤4	Periodontitise Bağlı Diş Kaybı ≥5
Kompleksite	Lokal	Maksimum	Maksimum	Evre II'ye ek olarak:	Evre III'e ek olarak:
		Sondalama	Sondalama	Sondalama	Kompleks rehabilitasyon gereken durumlar;
		Derinliği ≤ 4	Derinliği ≤5	Derinliği ≥ 6 mm Vertikal Kemik Kaybı ≥ 3 mm	Çiğneme Disfonksiyonu
		Genellikle	Genellikle	Sınıf II veya Sınıf III Furkasyon Problemi	Sekonder Okluzal travma (diş mobilite derecesi ≥2
		Horizontal	Horizontal		Şiddetli Kret Defekti
		Kemik Kaybı	Kemik Kaybı	Orta Derecede Kret Defekti	Kapanış bozukluğu Dişlerde ve Alevlenme ve 20'den az diş Sürüklenme
Kapsam ve Dağılım	Tanımlayıcı Olarak Eklenecek	Her Bir Evre İçin Dağılımın, Lokalize (<%30), Generalize veya Molar /İnsizor Karakterde Olduğu Belirtilir			

Tablo 2.1. Periodontal hastalık 2017 sınıflandırması (devamı)

Periodontitis Derecesi			Derece A	Derece B	Derece C
Primer Kriter	İlerlemenin Direkt Kuralları	Longitudinal Veriler (Radyografik Kemik Kaybı veya KAK)	5 yılın üzerinde kayıp bulgusu yok	5 yılın üzerinde <2 mm	5 yılın üzerinde ≥ 2 mm
	İlerlemenin İndirekt Kanıtları	% Kemik Kaybı/ Yaş	<0.25	0.25- 1.0	> 1.0
		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 günde 10'dan az	Sigara günde 10 ve daha fazla
		Dişabet	Normoglisemik / Dişabet Teşhisi konmamış	HbA1c <%7 Dişabetli Bireyler	HbA1c $\geq$ %7 Dişabetli Bireyler
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	İnflamasyon yükü	Yüksek Duyarlı C Reaktif Protein (hsCRP)	<1 mg/L	1-3mg/L	> 3 mg/L

2.3. Periodontal Hastalığın Gelişimi

Klinik ve histopatolojik olarak gingivitis ve periodontitis gelişimi 1976 yılında Page ve Schroeder tarafından histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 başlık altında toplanmıştır (35).

2.3.1. Başlangıç Lezyonu

Plak birikiminin başladığı zamandan itibaren 2-4 gün içinde meydana gelen histolojik tablodur. Klinik olarak dişeti dokusu sağlıklıdır ve sadece histolojik olarak gözlenebilen bir durumdur. Lezyonun bu aşamasında inflamasyon derecesi düşük, vasküler ağ genişlemiş ve vasküler geçirgenlik artmıştır. Artan bu geçirgenlik sonucunda nötrofiller ve monositler gibi savunma hücreleri damar çeperinden bağ dokusuna geçerek kemotaktik uyarının kaynağına, yani dişeti oluğundaki bakteri ürünlerine doğru göç eder. Vasküler sıvı çıkışının artmasıyla DOS artışı görülür (2,8,36).

2.3.2. Erken Lezyon

Gingivitisin erken klinik bulgularına karşılık gelen bu lezyon plak birikimin takiben 4-7 gün içinde gelişir. Dişeti, kılcıl damarların çoğalması, önceden aktif olmayan

kılcal yatakların açılması ve vazodilatasyon sonucunda eritemlidir. Artan vasküler geçirgenlik, DOS artışına ve nötrofillerin sayısının önemli ölçüde artışına sebebiyet verir. Bu evrede DOS'un tipi interstisyel sıvıdan inflamatuvar eksudaya doğru değişir. Damar dışına sızan baskın hücre tipleri nötrofiller ve lenfositlerdir (T lenfositler). Fibroblastlar lökositlerin sızacağı mevcut alanı arttırmak için apoptoz yoluyla dejenere olur ve kollajen yıkımı meydana gelir. Dişeti dokularında biriken ödemin bir sonucu olarak, dişeti biraz büyümüş görünür ve buna bağlı olarak dişeti sulkusu biraz daha derinleşir. Subgingival biyofilm bu durumdan yararlanır ve dişin apikaline doğru çoğalmaya başlar. Böylece etkili plak kontrolü daha zor hale gelir. Erken lezyonu aynı şekilde devam edebilir veya daha da ilerleyebilir (8).

2.3.3. Yerleşik Lezyon

Kronik gingivitis olarak adlandırılan bu tablo plak birikiminin başlangıcından itibaren 14-21. gün civarında ortaya çıkmaktadır. Erken lezyonun yerleşmiş lezyona doğru ilerlemesi birçok faktörle ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, inflamasyon izlenen bağ dokusunun önemli hacmini inflamatuvar hücrelerin (plazma hücreleri, lenfositler, nötrofiller) işgal ettiği gözlenmiştir. Nötrofiller dokularda biriktiğinde lizozomal içeriklerini hücre dışına bırakırlar. Böylece daha fazla doku hasarı görülür. Cep epiteli ülser olur ve periodontal sondun geçişine daha az direnç gösterir. Bu nedenle sondalamada kanama kronik gingivitisin en belirgin özelliğidir. Kollajen yıkımından dolayı bağ doku hasarı devam etmesine rağmen kemik rezorpsiyonu bu lezyon tipinde görülmez. Etkili plak kontrolü yeniden sağlanırsa, bu inflamatuvar değişiklikler tersine döndürülebilir (37).

2.3.4. İlerlemiş Lezyon

Kronik gingivitisten periodontitise geçişi işaret eden lezyon tipidir. Histopatolojisi incelendiğinde, periodontal ligament ve alveolar kemiğe kadar uzanan kollajen yıkımı mevcuttur. Nötrofiller periodontal cep içinde ve cep epitelinde, plazma hücreleri ise bağ dokusunda baskındır. Bağlantı epiteli, sağlıklı epitel korumak için kök yüzeyi boyunca apikale doğru göç eder. Kemik dokusu, patojenlerin alveolar kemiğe yayılımını önlemek için bir savunma mekanizması olarak inflamasyonun olduğu bölgeden geri çekilmeye başlamasıyla osteoklastik aktivite görülür. Cep derinleştikçe, plak bakterileri apikal olarak bir oyuk içinde çoğalır ve periodontopatojenler için oldukça elverişli bir ortam haline gelir. Cep, hazır bir besin kaynağı ile korunan, sıcak, nemli ve anaerobik bir ortam sunar ve bakteriler vücut dışında (periodontal cepte) olsalar bile, inflamatuvar yanıtla

ortadan kaldırılamazlar. Böylece, kronik inflamasyonla ilişkili doku hasarının devam ettiği bir döngü gelişir. Ağız hijyeni teknikleri bakterileri çıkartmak ve biyofilmi bozmak için yetersiz kalır ve böylece döngü devam eder (8).

2.4. Biyofilm ve Mikrobiyal Dental Plak

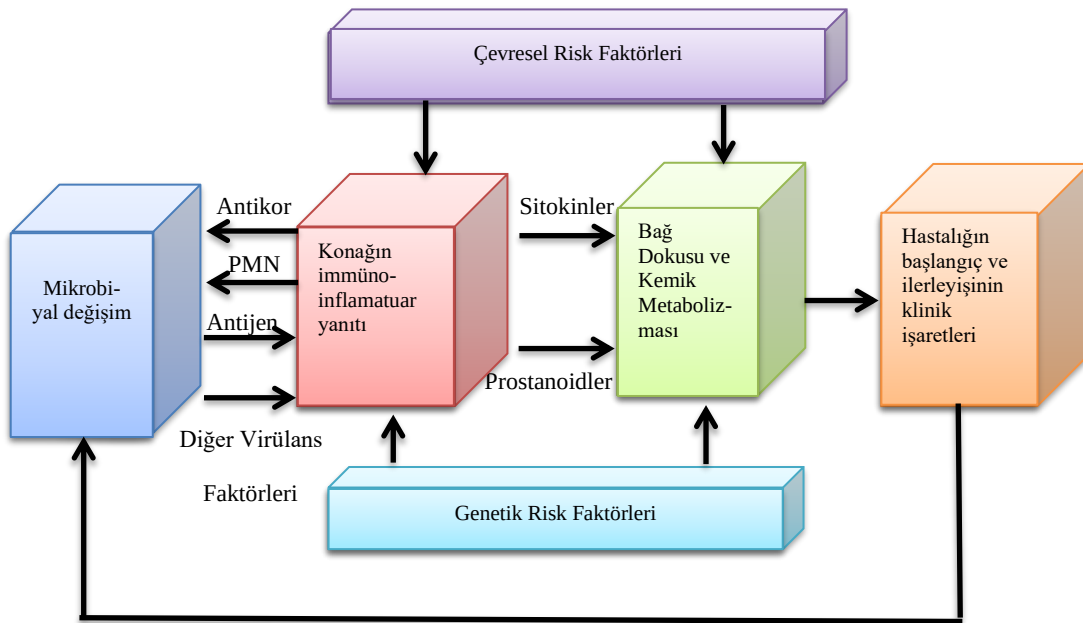
Biyofilm diş yüzeyinde gelişen, bakterilerin tükürük veya DOS kökenli yapışkan bir matrikse bağlanmasıyla, kanallar ve porlar vasıtasıyla birbirleri ile iletişim halinde olan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluktur (4). Bakterilerin başarılı kolonizasyonu başlatma koşulları, doku tipine, konumuna ve dış engelleyici kuvvetlere maruz kalmaya bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Dişeti sulkusu ve özellikle komşu dişeti papillaları arasındaki köprüyü oluşturan kol bölgesi, bakteriyel yerleşimi destekleyen korumalı alanlar sunar (38). Biyofilmin yapısında öncül kolonize olan bakteriler, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Neisseria*, *Gemella*, *Actinomyces* türleridir (38). Biyofilm olgunlaşması sırasında, bakteriler yüzeyle ilişkili yapılar (birlikte kümelenme) yoluyla türler içinde ve türler arasında birbirleriyle etkileşime girerek benzersiz bir organizasyon oluştururlar (39). Biyofilm bakterileri, genetik bilgi alışverişi ve nüfus yoğunluğuna göre gen ekspresyonlarının koordinasyonuna izin veren bir mekanizma olan “*quorum sensing*” yoluyla iletişim kurarlar (40). Ayrıca biyofilm bakterileri besin maddelerinin işlenmesini ve alımını kolaylaştırır ve kendilerini diğer türlerden (bakteriosinler üreterek), konakçı ve zorlu ortamlardan koruyarak stabil topluluklar oluşturmalarına izin verir (5,41). Biyofilm olgunlaştıkça bakteri çeşitliliği artmaktadır. Olgun bir biyofilimde yaklaşık 700 bakteri olduğu belirtilmiştir (42). Bir dizi oral bakteri arasındaki pıhtılaşma ilk olarak Gibbons ve Nygaard tarafından rapor edilmiş ve daha sonra erken plak gelişiminde baskın olan iki cins olan *Streptococcus* ve *Actinomyces*’te geniş çapta araştırılmıştır (43). Mevcut bilgilere göre supragingival plak, *S. sanguinis*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* ve *Lactobacilli* dahil olmak üzere gram (+) bakteriler tarafından domine edilirken, subgingival plak esas olarak *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Treponema denticola* gibi gram (-) anaerobik bakterilerden oluşur (41).

Dental plak mikroorganizmalarının periodontal hastalıklarda primer etiyolojik ajanlar olduğu kabul edilmektedir. Biyofilmler, birbirine, yüzeylere veya arayüzlere yapışan matrisle çevrili bakteri topluluklarıdır (6). Mikrobiyal dental plak gelişimi, iki tip

adezyon ile gerçekleşmektedir. Birincisi, organizmaların dış yüzeyine veya pelikula yapışması gerekir ve ikincisi, plakların büyümesi için bakterilerin birbirine yapışabilmesi gerekir. Bazı bakterilerin kümelenmesi yüksek molekül ağırlıklı dekstranların ve bazı tükürük polimerlerinin etkisiyle oluşmaktadır. Bakterilerin agregasyonunu etkileyebilecek maddeler bu nedenle plakta bulunan bakteriler arasındaki adezyon için potansiyel olarak önemlidir (43).

2.5. Antimikrobiyal Savunma Mekanizması

Dişeti ve periodonsiyumda enfeksiyona karşı koruma, dış ve iç savunma sistemleri ile sağlanır. Dış koruma, majör ve minör tükürük bezlerinin salgılarından elde edilir. Bu tükürük bezleri, üst ve alt dudaklarda, yanaklarda ve yumuşak damak mukozasında bulunur. Ağızları, sürmüş diş kronlarına ve diş etine bakar. Bu salgılar, nispeten yüksek konsantrasyonlarda sekretuar İmmünglobulin A (sIgA) içerir. Geceleri, büyük bezler üretimlerini azalttığında veya işlevini yitirdiğinde, diş yüzeyleri ve dişeti sIgA bakımından zengin salgılarla doludur. Bunlar, diğer bazı tükürük muko-proteinleri gibi bakteriyel kolonizasyona karşı koyar (44,45). Dişetinde mekanik hasara karşı koruma, supraalveoler fibriller ve epitelin stratum corneum tabakasından sağlanan mekanik direnç ve sertlikten kaynaklanmaktadır. Bu yapıların sağladığı iç koruma, dento-gingival bileşkenin içinde ve altında çalışmaktadır (2).



Şekil 2.1. Periodontal hastalığın patogenezi (13)

2.6. Alveoler Kemik Kaybı

İlerlemiş lezyonda osteoklastik aktivite ile görülmeye başlayan alveolar kemik kaybı, periodontal hastalığın temel semptomlarından biridir ve alveolar sırtın rezorpsiyonu radyografik olarak değerlendirilebilir (46). Periodontitis, dişeti cebini etkileyen bir grup mikroorganizma ile ilişkilendirilmiştir. Bu mikroorganizmalar alveolar kemikte inflamasyona ve rezorpsiyona neden olur. Mikroorganizmalara karşı konakçı aracılı immün yanıtlar (hem doğal hem de uyarlanabilir) periodontal dokuların tahribatına yol açar. Güncel çalışmalarda, konakçı immün tepkisinin periodontal hastalıkta koruyucu veya yıkıcı etkilere katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Remodelasyon, kemik üreten hücrelerin, osteoblastların, kemikte rezorbsiyon yapan hücrelerin yani osteoklastların hareketlerini birleştirerek sabit bir kemik kütesini koruma sürecidir (47). Periodontitiste inflamasyon sebebiyle oluşan kemik rezorbsiyonunun temel bir özelliği, kemik oluşumunda karşılık gelen değişiklik olmaksızın artmış osteoklastik aktivitedir (48). Osteoklastlar, monosit/makrofaj soyundan türetilen ve kemik erimesinden sorumlu ana hücre olarak kabul edilen çok çekirdekli hücrelerdir. Hem hayvan hem de insan periodontitis çalışmalarında çok çekirdekli osteoklastların alveoler kemiği rezorbe ettiği gösterilmiştir (49). Osteoklastların oluşumu, etkilenmiş periodontal dokularda bulunan sitokinler tarafından yönlendirilir ve bu sürecin anlaşılması, bu süreci kontrol etmeye yönelik stratejilerin geliştirilmesinin merkezinde yer alır (50). Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa Ligand (RANKL), osteoklast oluşumu sürecinde anahtar bir araçtır. Bu membrana bağlı protein, tümör nekroz faktörü (TNF) süper ailesinin bir üyesidir ve osteoblastlar, fibroblastlar ve T hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilir (50). Normal kemik metabolizması sırasında RANKL, osteoblastlar tarafından üretilir. Ancak, inflamatuvar bölgelerde RANKL, T-lenfositler gibi savunma hücreleri tarafından da üretilir (51). RANKL üretimi, Paratiroid hormonu, Vitamin D3 ve İnterlökin-11 dahil olmak üzere diğer kemik metabolizması modülatörleri tarafından da düzenlenir (52). RANKL'ın pre-osteoblastların yüzeyindeki reseptörü RANK'a bağlanması, c-jun terminal kinazın aktivasyonu ve ardından NF-κB'nin aktivasyonu ile sonuçlanır, bu da osteoklast oluşumuna yol açar (53). RANKL genellikle osteoklast oluşumu için temel bileşen olarak kabul edilir. Gerçekten de, RANKL bulundurmeyen fareler, osteoklastların yokluğunun bir sonucu olarak bir osteopetrotik fenotip sergiler. Bu hayvanlara sonradan RANKL uygulaması, osteoklast oluşumunu ve fonksiyonunu eski haline getirir, bu da artmış kemik rezorpsiyonuna ve osteoporoz gelişimine yol açar. RANKL ayrıca osteoimmunolojide önemli bir rol oynamaktadır. RANKL üretimi, TNF-

α ve IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin varlığına yanıt olarak düzenlenir. Ayrıca inflamasyonlu periodontal dokulardaki fibroblastlarda ve mononükleer hücrelerde yüksek bir RANKL üretimi görülmüştür ve bu, kemik kaybı bölgeleri ile yakından ilişkili görülmektedir (50). Osteoprotegerin (OPG), RANKL'ın doğal bir inhibitörüdür. Tuzak görevi gören ve RANKL'ın RANK'a bağlanmasını bloke eden, böylece osteoklastogenezi önleyen TNF reseptör gen ailesinin üyesi bir moleküldür. OPG'nin eksik olduğu durumda osteoporotik bir fenotip sergilenirken, fazla eksprese edildiği durumda osteopetrotik bir fenotip sergilenmiştir. Bunun nedeni osteoklastların sentezlenmemesi ve rezorbisyonun oluşmamasıdır (54,55). OPG insan periodontal ligament hücreleri, dişeti fibroblastları ve epitel hücreleri tarafından üretilir ve ekspresyonu inflamatuvar sitokinler tarafından modüle edilir (56,57). Kemik yapım ve yıkım dengesinde RANKL/OPG dengesi rol oynamaktadır (8,50).

2.7. Sitokinler

Sitokinler, moleküler ağırlıkları 8 ila 40.000 Da arasında değişen küçük, yapısal olmayan proteinlerdir. Başlangıçta hücresel kaynaklarını belirtmek için lenfokinler ve monokinler olarak adlandırılmıştır. Fakat tüm çekirdekli hücreler sentezleme yeteneğine sahip olduğundan, Sitokin teriminin en iyi tanım olduğu anlaşılmıştır. Sitokinleri birbirine bağlayan hiçbir amino asit dizi motifi veya üç boyutlu yapı yoktur; daha ziyade biyolojik aktiviteleri ile birbirlerinden ayrılırlar. Çok çeşitli hücrelerce üretilebilirler ve çok çeşitli hücrelerde etki gösterebilirler. Bu özelliklerine "Pleiotropizm" denir. Çoğunlukla, sitokinler esas olarak hastalığa veya enfeksiyona karşı konak tepkilerinde rol oynar ve homeostatik mekanizmalarla katılımları çok az olmuştur. Bazı bilim adamları sitokinleri hormonlara benzetmişlerdir fakat aralarında farklılıklar vardır. Birincisi, hormonlar yapısal olarak yüksek düzeyde özelleşmiş dokular tarafından eksprese edilme eğilimindedir, ancak sitokinler hemen hemen her hücre tarafından sentezlenir. Hormonlar bir hücrenin birincil sentetik ürünü (insülin, tiroid, adrenokortikotropik hormon, vb.) iken, sitokinler bir hücrenin sentetik ürününün oldukça küçük bir miktarıdır. Ayrıca hormonlar, çoğu günlük döngünün bir parçası olan homeostatik kontrol sinyallerine yanıt olarak ifade edilir. Buna karşılık, çoğu sitokin geni, zararlı olaylar tarafından özel olarak uyarılmadıkça (en azından translasyon düzeyinde) eksprese edilmez. Dış etkenler inflamatuvar durumlar gen ekspresyonunu başlatır. Gen ekspresyonu mitojenle aktive olan protein kinazları aktive eder. Gen ekspresyonu strese bağlı oluşur sitokinlerde bu şekilde üretilir. Sitokinlerin bazıları inflamasyonu baskımlarken bazıları inflamasyonu tetikler.

Tetikleyenler proinflamatuvar sitokin olarak adlandırılırken baskılayanlar antiinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar (58).

2.7.1. Proinflamatuvar Sitokinler

Proinflamatuvar sitokinler şu şekilde sıralanmaktadır (59)

- a) IL-1
- b) IL-6
- c) TNF- α
- d) IFN- α
- e) IFN- β
- f) IFN- γ

2.7.1.1. İnterlökin-1

Periodontal hastalık patogenezinde en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-1'in birçok biyolojik aktivitesi bulunmaktadır ve inflamasyonda sentezlenen birçok geni düzenler (60). IL-1, aktive edilmiş mononükleer fagositlerden, dokuda bulunan monosit, makrofaj, lenfosit, nötrofil ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. Bununla beraber, keratinositler, endotelial hücreler de dahil olmak üzere uygun şekilde uyarıldıklarında birçok farklı hücreden de sentezlenebileceği rapor edilmiştir (61). IL-1 ve TNF'nin sinerjizmi, yaygın olarak bildirilmiştir. Açıkça, her iki sitokin de lokal inflamasyon bölgelerinde üretilmektedir ve bu nedenle sitokin seviyeleri ile hastalığın şiddeti arasında korelasyonlar tespit edilmiştir. IL-1 ve Bradikinin arasında olduğu kadar IL-1 veya TNF ile mezenkimal büyüme faktörleri arasında da sinerjizm vardır. Ağrıyla en ilgili olanı, IL-1 veya IL-1 ile TNF kombinasyonu tarafından uyarılan Prostaglandin E₂'deki (PGE₂) artıştır. IL-1 ayrıca, öncelikle PGE₂ sentezini artırarak ağrı eşiğini düşürür. IL-1'in daha evrensel aktivitelerinden biri, tip II Fosfolipaz (PLA₂) ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) için gen ekspresyonunun indüklenmesidir. IL-1, COX-2'nin transkripsiyonunu indükler ve artan Siklooksijenaz-1 (COX-1) üretimi üzerinde çok az etkiye sahip gibi görünmektedir. Ayrıca, tetiklendikten sonra, COX-2 üretimi birkaç saat yükselir ve IL-1 ile uyarılan hücrelerde büyük miktarlarda PGE₂ üretilir. IL-1 tercihen hücre zarı fosfolipidlerinin 2 numaralı pozisyonundaki yağ asidini parçalayan, indüklenbilir tip II PLA₂ formu için yeni transkriptleri uyarır. Çoğu durumda bu, araşidonik asittir. Araşidonik asidin salınması, Prostaglandinlerin ve Lökotrienlerin sentezinde hız sınırlayıcı adımdır. IL-1 ayrıca birçok hücrede artan lökotrien sentezini

uyarır (60). Periodontitis dental plağın hem doğrudan sitotoksik ve proteolitik etkilerini hem de konağın bakteriyel plak mikroorganizmalarının sürekli varlığına karşı immün yanıtının dolaylı patolojik sonuçlarını içermektedir. Gerçekten de, çeşitli varsayılan periodontal patojenler de dahil olmak üzere bakteriyel ürünler ve antijenlerin inflamatuvar hücrelerle etkileşimi, IL-1 gibi sitokinlerin salınmasına neden olur (62). İlk olarak osteoklast aktive edici faktör olarak tanımlanmıştır. IL-1'e benzeyen ve IL-1 reseptörlerine bağlanan sitokine IL-1 reseptör antagonisti (IL-1-ra) adı verilir. Daha sonra iki farklı gen transkripsiyonu ile IL-1 α ve IL-1 β formları tespit edilmiştir. IL-1 α ve IL-1 β 'nin rekombinant formlarının daha sonra kemik rezorpsiyonu, ateş, prostaglandin sentezinin indüklenmesi ve antijene karşı arttırılmış T-hücresi tepkileri gibi çeşitli biyolojik etkilere sahip olduğu doğrulanmıştır. Periodontal araştırmalarda, çeşitli periodontal rahatsızlıkları olan hastalarda dişeti dokusu ve DOS IL-1 β konsantrasyonlarını araştıran çok sayıda çalışma daha sonra yapılmıştır. IL-1 β 'nin dişeti biyopsi örneklerinde sürekli olarak artan seviyelerde ve periodontitis hastalarında DOS'ta, genellikle tedaviden sonra düşük konsantrasyonlarda saptanması nedeniyle periodontal hastalık patogeneğinde önemli bir rolü olduğu sonucuna varılmıştır (63).

2.7.2. Antiinflamatuvar Sitokinler

Antiinflamatuvar sitokinler aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (64–66);

- a) IL-4
- b) IL-6
- c) IL-10
- d) IL-11
- e) IL-13
- f) TGF- β
- g) IL-2: Naturel Killer (NK) sitolitik aktivite artışı.
- h) T lenfositlerde gelişme faktörü
- i) IL-3: Multikoloni uyarıcı faktör IL-3
- j) IL-5: Eozinofil artışı, antihelmentik etki
- k) IL-12: En güçlü NK uyaranı

2.7.2.2. İnterlökin-10

IL-10, insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokinlerden birisidir. Hem IL-2 hem de İnterferon gama (IFN- γ) dahil olmak üzere güçlü T helper 1

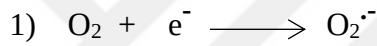
hücresi (Th1) sitokin inhibitörüdür (67). Bu aktivite, sitokin sentezi inhibisyon faktörü olarak ilk tanımını açıklar. IL-10 ayrıca monosit/makrofaj proinflamatuar sitokin sentezinin güçlü bir deaktivatörüdür (66). IL-10 esas olarak CD41 T helper 2 (Th2) hücreleri, monositler ve B hücreleri tarafından sentezlenir ve sıkıca paketlenmiş iki 160 amino asit proteinden oluşan bir homodimer olarak dolaşır. IL-10, yüksek afiniteli 110 kDa hücrel reseptörünü devreye soktukten sonra, monosit/makrofaj türevli TNF-a, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, granülosit koloni uyarıcı faktör, Makrofaj İnflamatuar Protein-1 α ve Makrofaj İnflamatuar Protein-2 α 'yı inhibe etmesinin yanı sıra IL-10, homeostatik ve inflammatuar koşullarda kemik homeostazının önemli bir düzenleyicisi olarak da kabul edilmiştir (66,68,69). IL-10'un periodontal hastalık gibi kronik inflammatuar hastalıkların immünopatogenezinde büyük önemi olduğu belirtilmiştir (70,71). Kronik periodontitiste hastalığın seyrinin değişmesinde önemi büyüktür. Fazla eksprese edildiğinde osteoklastik aktiviteyi baskılar ve Th1'i inhibe eder. Yapılan çalışmalarda OPG miktarı artmış NF- κ B azalmıştır (72). Şu anda bazı çalışmalar, IL-10 geninin polimorfizmlerinin promotör periodontal hastalıkların gelişiminde rol oynamıştır. Düşük IL-10 ekspresyonuna sahip spesifik genotipler (-819TT/-592AA) inflammatuar yanıtı şiddetlendirebilmekte ve dişetin aşırı büyümesine neden olabilmektedir (73). Düşük IL-10 üreticisi olarak IL-10'un haplotip ATA'sının Generalize Agresif Periodontitis için bir risk göstergesi olduğu kanıtlanmıştır. IL-10'un periodontal hastalıklardaki rolünü açıklayan Generalize Kronik Periodontitis veya Agresif Periodontitis ile ilişkilidir (74). Sigara içmek periodontitis için bir risk faktörü olarak iyi bilinmektedir ve sigara içenlerin, içmeyenlere göre periodontitise yakalanma olasılığının birkaç kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (75). Ebersole ve ark. (72) sigara içmenin dikkate değer Th2 yanıtına ve IL-10'un yükselmesine neden olabileceğini belirtmişlerdir.

2.8. Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikal bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren kimyasal bir tür olarak belirtilmiştir (76). Reaktif oksijen türleri (ROT), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($RO_2^{\cdot}$), hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$) radikalleri gibi oksijen radikallerini ve bazı radikal olmayan ama kolayca radikallere dönüştürülebilen hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit ($HOCl$) ve ozon (O_3) gibi oksitleyici ajanları içeren bir tanımlamadır (76). Bu türler sepsis patogenezinde rol oynamaktadır (77). Oksidanlara maruz kalmayla indirgenme durumundaki değişiklikler ve antioksidanların tükenmesi oksidatif strese ve bunun sonucunda oksidatif hasara yol açar. Oksijen molekülü (dioksijen; O_2) bir radikal

olarak nitelendirilir çünkü iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Kararlı hale geçmek için elektronları birer birer kabul eder. Bu şekilde elektron alımı reaktif oksijen türü oluşumuna yol açar (78). Hücrede, stresin olmadığı koşullarda, homeostaz teorisine göre belirli bir aralıkta dalgalanma olsa bile kararlı durum ROT seviyesi mevcuttur. Ancak bazen, bazı dış veya iç faktörlerin etkisine bağlı olarak, ROT seviyesi yükselir ve normal aralığı aşar ve bir dizi hücre tepkisine neden olur. Hücrenin koruyucu antioksidan potansiyeli yeterince yüksekse ve hücreye enerji kaynakları iyi bir şekilde sağlanmışsa, ROT seviyesi belirli bir zaman içinde ilk haline geri döner. ROT düzeyinin belirli fonksiyonel sonuçları olan kısa bir süre için arttığı durumlara akut oksidatif stres, ROT düzeylerinin uzun süreli artışına ise kronik oksidatif stres adı verilir. ROT, yarı durağan olarak adlandırılan daha yüksek bir kararlı durum seviyesinde stabilize olabilir. Bu durum devam ettiğinde süreç apoptoz veya nekroz ile sonuçlanır (79). Canlı vücudunda ROT oluşumu şu şekildedir (14):

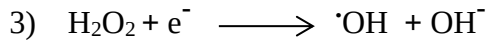
Oksijene bir e^- eklenmesiyle süperoksit anyonu oluşur;



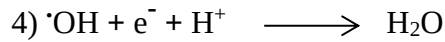
İkinci bir e^- eklenmesiyle Hidrojen Peroksit oluşur



Üçüncü bir e^- eklenmesiyle hidroksil radikali oluşur



Son olarak bir e^- eklenmesiyle su oluşur.



2.9. Oksidatif Stres ile Doku Hasarı İlişkisi

Periodontal doku yıkımına mikroorganizmalar, bunların ürünlerine olan aşırı tepki sebep olmaktadır. Daha spesifik olarak, proteolitik enzimler (örn: nötrofil elastaz), bunların inhibitörleri (örn: $\alpha 1$ -antitripsin) ve ROT ile hayati doku, hücre ve moleküler bileşenleri koruyan ve onaran antioksidan savunma sistemleri arasındaki homeostatik dengenin kaybı sorumlu tutulmaktadır (14).

Oksidatif stres, Sies tarafından prooksidan/antioksidan dengesinde prooksidan lehine bir bozulma olarak tanımlanmıştır (80). Her gün hücre başına 1 milyar ile 3 milyar arasında reaktif türün üretildiği tahmin edildiğinden, sağlığın korunmasında antioksidan savunma sistemlerinin önemi ortaya çıkmaktadır (14).

Hücreler, artan proliferasyon, hücre bölünmesinin önlenmesi, yaşlanma, nekroz, apoptoz veya her ikisinin özelliklerine sahip hücre ölümü mekanizmaları arasında değişen, reaktif türlere maruz kaldıklarında çeşitli tepkiler gösterir. Etkiler bir dereceye kadar hücre seviyesindedir, belirli hücre yüzey reseptörlerinin varlığı ve sinyal iletim mekanizmaları ile birlikte antioksidan savunma sistemleri gibi durumlardan etkilenir. Kanser bağlamında, anjiyogenez, karsinojen metabolizması ve metastaz da ROT'dan etkilenebilir. Kanıtlar oksidatif stresin kanser gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Yine de oksidatif stres her zaman kötü değildir: inflamasyon bölgelerinde ROT oluşumu sadece istilacı patojenleri yok etmekle kalmaz, aynı zamanda belirli koşullar altında aşırı şiddetli bir inflamatuvar yanıtı düzenlemeye de yardımcı olur (81). Hücre hasarında hücrenin lipid, DNA, protein ve karbonhidrat vb. yapıları oksidatif hasardan etkilenir. Oksidatif hasar adaptasyon sırasında da oluşabilir. Ancak hasarın tamamı oksidatif strese bağlı değildir. Bu durum oksidatif stresle ilişkili iyon seviyelerinin artışından (örn: Ca^{+2}) veya proteazların aktivasyonundan kaynaklanabilir. Oksidatif hasar gören hücre yapıları tamir edilerek veya hasar gören moleküller değiştirilerek iyileştirilebilir. Hücreler kalıcı hasar olduğunda yaşamını sürdürebilir ancak DNA gibi önemli yapılar zarar görmüşse durum apoptoz veya nekroz ile sonuçlanır (15).

2.9.1. Total Oksidan Seviye (TOS)

ROT metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve bunları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalar yoluyla uzaklaştıran organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Belirli koşullar altında oksidanların artması halinde oksidatif/antioksidatif denge oksidatif duruma doğru kayar.

Oksidan moleküller organizmalarda endojen olarak üretilir ve ayrıca dış ortamdan alınırlar. Elektron taşıma zinciri ve Ksantin Oksidaz, Glikolat ve Monoamin Oksidazlar dahil olmak üzere bir dizi oksidaz enzimi, başlıca endojen ROT kaynaklarını oluştururken sigara ve ultraviyole ışınlar da eksojen ROT kaynaklarını oluşturur. Farklı oksidan türlerinin serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, maliyetlidir ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığı ve oksidan etkilerinin aditif olduğu için bir numunenin toplam oksidan seviyesi (TOS) ölçülür ve buna total peroksit, serum oksidasyon aktivitesi, reaktif oksijen metabolitleri de denir (82). Bakteriyel antijenler tarafından sitokin aktivitesinin uyarılmasının bir sonucu olarak, polimorfonükleer

lökositler büyük miktarda ROT üretir. Periodontal hastalıkta artan ROT seviyesi, periodontal doku yıkımına neden olur (83).

2.9.2. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Kan, zararlı serbest radikal reaksiyonlarını önleyen ve/veya engelleyen birçok antioksidan molekül içerir. C vitamini ve E vitamini gibi eksojen antioksidanlar ve ürik asit, bilirubin, albümin ve SOD gibi endojen antioksidanlar ve süpürücü enzimlerin koruyabileceği glutatyon peroksidaz hücreyi oksidan ajanların potansiyel olarak zararlı etkilerine karşı korur. Bu antioksidanların plazmadaki konsantrasyonları tek tek ölçülebilir, ancak bu işlem zaman alıcı, maliyetlidir ve karmaşık teknikler gerektirir. Öte yandan, ölçüm yöntemi yakın zamanda belirlenmiş ve geliştirilmiş olan ve plazmanın toplam antioksidan durumunu gösterebilen toplam antioksidan yanıt keşfedilmiştir. Bu yöntemde, özellikle lipidler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına güçlü bir şekilde yol açan güçlü serbest radikal reaksiyonlara karşı plazmada toplam antioksidan yanıt ölçülür (84). TOS'un TAS'a oranlanmasıyla Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanır (84). Periodontal dokularda oksidatif hasarın değerlendirmesinde OSİ'den faydalanılmaktadır (85,86). Daha önceki çalışmalarda periodontitis hastalarında kan antioksidan düzeylerinin sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (87,88). OSİ ile periodontitis arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (85).

2.10. Protein Hasarı

ROT aracılı protein hasarının biyolojisi oldukça karmaşıktır ve tam olarak anlaşılamamıştır. Dean ve ark. (89) yaptıkları çalışmada bazı oksitlenmiş proteinlerin hücreler tarafından yetersiz şekilde işlendiğine ve bu nedenle yaşlanma sırasında ve diyabet gibi kronik durumlarda biriktiklerini rapor etmişlerdir. Bu tür birikimin etkileri, tersine çevrilebilir veya geri döndürülemez olabilen fonksiyonel inaktivasyona ve proteazlar ile bozulmaya karşı artmış bir duyarlılığa yol açabilir. Radikal saldırı, proteinlerde etkileşime girebilen ve kıvrımlar oluşturabilen, böylece yapılarını ve işlevlerini bozan karbon merkezli radikal ara ürünler yaratan C=C bağlarını etkileyebilir. Bir C=C bağının homolitik fisyonu ile oluşturulan iki türün her biri bir elektron alabilir ve böylece nötr yüklü bireysel radikal ara ürünler oluşturabilir.

Bu durum, büyük bir enerji girdisi gerektirir ve normal olarak elektron koparılması, bir pozitif yüklü ve bir negatif yüklü radikal türün oluşumuna yol açar. Tiyol (-SH) grupları ayrıca ROT aktivitesi için proteinler üzerinde hedeflerdir ve yine hidrojen gideriminin ardından disülfid köprüleri (S=S) oluşur ve bu etkiler aşağıdaki gibidir (14);

- Protein katlanması veya açılması (geri dönüşümlü/geri dönüşsüz)
- Protein parçalanması ve polimerizasyon reaksiyonları
- Modifiye edilmiş proteinin proteaz bozunması
- Protein radikallerinin oluşumu
- Proteine bağlı ROT oluşumu
- Karbonil bileşikler gibi kararlı son ürünlerin oluşumu

2.11. DNA Hasarı

Peroksinitrit ve hidroksil radikalleri tarafından DNA hasarının mekanizmaları; iplik kopmaları, baz çifti mutasyonları (pürin ve pirimidin bazları), guaninin 8-hidroksiguanine dönüştürülmesi, DNA hasarının bir belirteci olarak ölçülen nükleosit 8-hidroksideoksiguanozin (8-OhdG) delesyonlar, eklemeler, takma ve dizi amplifikasyonu şeklinde görülür (90,91). Ayrıca Hidroksil radikalleri dört bazın tümüne de zarar verir ve karakteristik bir DNA parmak izi oluşturur (92). Oksidatif hasara bağlı delesyonlar ve mitokondriyal DNA mutasyonları yaşlanma ve çeşitli kronik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (93). Bir çalışmada dişetlerinden alınan toplam DNA'nın polimeraz zincir reaksiyon analiz sonuçlarında, periodontitis hastalarından alınan numunelerin mitokondriyal DNA'larında delesyonlar tespit edilmiştir (94).

2.12. Lipit Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, vücutta oluşan serbest radikallerin etkisiyle membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Oluşan bu lipit radikallerinin moleküler oksijenle etkileşimiyle lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikalleri oluştururlar. Kendileri de açığa çıkan Hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşürler ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (95,96).

Bu şekilde yayılan reaksiyonla oluşan yüzlerce lipit hidroperoksit birikimi sonucu membran fonksiyonunu bozularak hücre yıkımına sebep olur. Lipit peroksidasyonu ile konjuge dienler, lipit peroksitleri, aldehitler (örn: malondialdehit), akrolein, izoprostanlar (örn: Araşidonik asitten F2-izoprostanlar), nöroprostanlar (örn: F4-izoprostanlar) ve kararsız hidrokarbonlar (örn: pentan, etan) oluşur (15).

2.12.1. Malondialdehit

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun en önemli ürünüdür (95). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA meydana gelir (97). Plazmada tespit edilen MDA konsantrasyonu ise, lipid peroksidasyonunun en önemli indikatörüdür (98). Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan MDA organizma için oldukça zararlı bir madde olup, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve bunun sonucunda iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin bozulmasına neden olur. Aynı zamanda DNA bazlarıyla reaksiyona girerek mutajenik karakter kazanılması gibi pek çok olumsuz etkiye sahiptir (95,97). MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek açık kırmızı renkli bir kompleks oluşturur. Bu formda tayin edilen MDA, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) olarak ifade edilir. TBARS, plazma, idrar ve doku örneklerinde tayin edilebilir (98,99). Malondialdehit uçucu formda, düşük molekül ağırlıklı, kısa zincirli 1,3-dikarbonil bileşiği olup orta derecede zayıf bir asittir (100). Çoğunlukla bisiklik endoperoksitler vasıtasıyla linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asitler gibi 2 çift bağdan daha fazlasını içeren, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin peroksidasyonu sonucu ortaya çıkar. Bazen de eikozanoid metabolizması sırasında enzimatik olarak oluşturulur (76,101). Daha önce yapılan bir çalışmada periodontitisle birlikte artmış doku MDA konsantrasyonu rapor edilmiştir (102). Başka bir çalışmada serum ve tükürükten alınan örneklerde MDA seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (85).

2.13. Antioksidanlar

Antioksidanlar, mevcut radikalleri süpürerek veya serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik işlev bulunduran moleküllerdir (103). Bir antioksidan, oksitlenebilir bir substrat ile karşılaşp düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğunda, substratın prooksidanla başlatılan oksidasyonunu önemli ölçüde önleyen veya geciktiren bir madde olarak tanımlanabilir. Bir prooksidan, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olabilen çeşitli patolojik olaylara veya hastalıklara neden olabilen toksik bir maddedir. Prooksidan, reaktif türlerin eş anlamlısıdır. Bu nedenle, kimyasal olarak bir prooksidan, patolojik öneme sahip bir oksidandır. Bir antioksidan, hiç veya düşük toksisiteye sahip oluşturulmuş ürünlerle bir prooksidanı verimli bir şekilde indirgeyebilir. Prooksidan, bir antioksidan varlığında inhibe edilen oksidatif hasara (substrata) neden olur. Bu inhibisyon

ölçülür ve antioksidanın antioksidan kapasitesi ile ilişkilidir. Bu sistemlerde kullanılan prooksidanlar patolojik olarak önemli olduğundan, ölçülen antioksidan kapasite fizyolojik bir öneme sahip olabilir. Antioksidanları sağlıklı bir yaşam için gerekli kılan, çeşitli zararlı prooksidanların veya reaktif türlerin yani, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 (Hidrojen Peroksit), $ROO^{\cdot}$ (Peroksil) ve $OH^{\cdot}$ (Hidroksil)) in vivo varlığıdır. Bu nedenle, bu inhibisyon yöntemleri kullanılarak ölçülen bileşikler, prooksidanları azaltabilen ve oksitlenebilir substratları koruyan indirgeyicilerdir (104).

Tablo 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması (14)

Etki şekline göre	
Önleyici Antioksidanlar	Enzimler: Süperoksit dismutaz enzimleri (1, 2 ve 3), katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA onarım enzimleri
Süpürücü (Zincir Kırıcı) Antioksidanlar	Metal İyonunu Ayıranlar: Albumin, laktoferrin, transferrin, seruloplazmin, hemopeksin, karotenoidler, glutatyon peroksidaz, ürik asit, polifenolik flavenoidler Askorbat (C vitamini), karotenoidler (retinol içeren – A vitamini), ürik asit, a-tokoferol (E vitamini), polifenoller (flavenoidler), bilirubin, albümin, ubikinon (indirgenmiş form), indirgenmiş glutatyon ve diğer tiyoller (serbest veya protein ciltli)
Hücre konumuna göre	
Hücre içi	Süperoksit dismutaz enzimleri 1 ve 2, katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA onarım enzimleri, indirgenmiş glutatyon, ubikinon (indirgenmiş form)
Hücre Dışı	Süperoksit dismutaz enzimi 3, selenyum-glutatyon peroksidaz, indirgenmiş glutatyon, laktoferrin, transferrin, haptoglobin, seruloplazmin, albümin, askorbat, karotenoidler, ürik asit
Membranla ilişkili	α -Tokoferol
Çözünürlüğüne göre	
Suda Çözünebilen	Haptoglobin, seruloplazmin, albümin, askorbat, ürik asit, polifenolik flavenoidler, indirgenmiş glutatyon ve diğer tiyoller, sistein, transferrin
Yağda Çözünebilen	α -Tokoferol, karotenoidler, bilirubin, kinonlar (örneğin, indirgenmiş ubikinon)

Tablo 2.4. Antioksidanların Sınıflandırılması (devamı)

Kaynağına göre	
Ekzojen	Karotenoidler, askorbik asit, tokoferoller (α , β , γ , δ), polifenoller (örn. flavenoidler, epigallokateşin-gallat gibi kateşinler), folik asit, sistein
Endojen	Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, indirgenmiş glutatyon, seruloplazmin, transferrin, ferritin, glikozilazlar, peroksizomlar, proteazlar
Sentetik	N-asetilsistein, penisilinamin, tetrasiklinler
Koruduğu yapılara göre	
DNA Koruyucu	Süperoksit dismutaz enzimleri 1 ve 2, glutatyon peroksidaz, DNA onarım enzimleri, indirgenmiş glutatyon, sistein
Lipit Koruyucu	α -Tokoferol (vitamin E), askorbat (vitamin C), karotenoidler (retinol-vitamin A), indirgenmiş ubikinon, indirgenmiş glutatyon, glutatyon peroksidaz, bilirubin
Protein Koruyucu	Önleyici antioksidanlar tarafından geçiş metallerinin sekestrasyonu, Rakip substratlar tarafından süpürme, Antioksidan enzimler

2.14. Antioksidan Enzimler

2.14.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), yüksek reaktif süperoksit anyonunun ($O_2^{\cdot-}$) O_2 'ye ve daha az reaktif H_2O_2 türüne dismutasyonunu katalize eden antioksidan enzimdir. Peroksit, Katalaz (CAT) veya Glutatyon Peroksidaz (GPX) reaksiyonları ile yok edilebilir. Süperoksit anyonunun indirgenme reaksiyonu aşağıda gösterilmiştir:



SOD'un; intrasellüler SOD (Cu-Zn-SOD), Mitokondriyal SOD (Mn-SOD), extrasellüler SOD (EC-SOD) olmak üzere 3 formu vardır (105,106). Aktif bölgede geçiş metali iyonunun art arda oksidasyonu ve indirgenmesiyle $O_2^{\cdot-}$ 'yi oldukça yüksek reaksiyon oranlarıyla parçalar (107). Tüm SOD türleri, azid ve florür gibi tek yüklü anyonları bağlar, ancak Demir, Mangan veya Cu-Zn-SOD'ların duyarlılıklarında belirgin farklılıklar bulunmuştur. Cu/Zn-SOD, azid, siyanür ve florür tarafından yarışmalı olarak inhibe edilir (108). Mn-SOD, Süperoksit'in iki aşamalı dismutasyonu sırasında Mn (III)'den Mn (II)'ye ve tekrar Mn (III)'e döngü yapan alt birim başına bir Mn atomu içeren bir homotetramerdir (96 kDa) (109). Mitokondri'deki solunum zinciri, oksijen

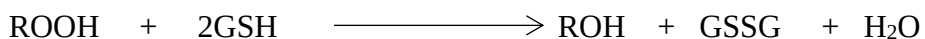
radikallerinin ana kaynağını oluşturur. Mn-SOD'un sitokinler tarafından büyük ölçüde indüklendiği ve bastırıldığı gözlenmiştir (110).

Cu-Zn-SOD (SOD-1), evrim boyunca korunmuş olan başka bir enzim türüdür. Bu enzimler, *Escherischia coli*'den yüksek bir protein konsantrasyonunda monomerik bir yapı bulunabilmesine rağmen, yaklaşık 32 kDa'lık iki özdeş alt birime sahiptir. Her alt birim, bir Cu ve bir Zn atomundan oluşan, histamin kalıntısı tarafından köprülenmiş aktif bölge olan bir metal kümesi içerir. Cu-Zn-SOD'un antioksidan savunmanın ilk satırında önemli bir rol oynadığı görüşü hakimdir. 25 ppm Cu ve 100 ppm Zn ile takviye edilmiş sütle beslenen buzağılar, daha güçlü bir bağışıklık tepkisi ve daha yüksek bir SOD aktivitesi göstermiştir (56). SOD çalışmalarının son raporları, Mn-SOD'un yaşam için gerekli olduğunu, Cu-Zn-SOD'un ise olmadığını belirtmiştir. EC-SOD salgılayıcı, tetramerik, bakır ve çinko içeren bir glikoproteindir. Heparin ve heparan sülfat gibi belirli glikozaminoglikanlara yüksek afiniteye sahiptir. EC-SOD, dokuların interstisyel boşluklarında ve ayrıca hücre dışı sıvılarda bulunur ve plazma, lenf ve sinoviyal sıvıdaki SOD aktivitesinin çoğunluğunu oluşturur. EC-SOD, substrat veya diğer oksidanlar tarafından indüklenmez ve memeli dokularındaki regülasyonu, tek tek hücrelerin oksidanlara tepkisinden farklı bir şekilde öncelikle sitokinler tarafından koordine edilmiş bir şekilde gerçekleşir (111).

Literatürde SOD ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Bir çalışmada kronik periodontitis hastası bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek MDA ve 8-OHdG, daha düşük SOD ve GPX seviyesi tespit edilmiştir (112). DP oluşturulmuş bir hayvan çalışmasında, GPX ve glutatyon redüktaz enzimlerinin az olduğu grupta serum MDA düzeylerinin yükseldiğini rapor etmişlerdir (113). Başka bir çalışmada DP grubunda sağlıklı grupla kıyaslandığında daha yüksek SOD seviyesi tespit edilmiştir (114).

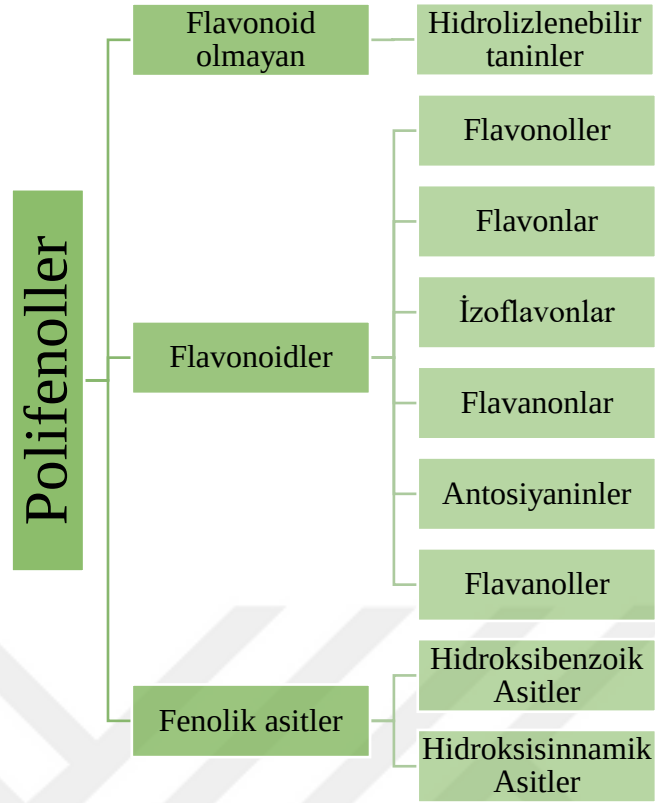
2.14.2. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GPX) enzim aktivitesi için gerekli olan dört özdeş Selenyum alt birimi (Se) ve her birinde tek bir selenosistein (Sec) kalıntısı içerir. GPX (80 kDa), GSH kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizleyerek memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korur. Aslında glutatyon metabolizması en önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir. Aşağıda Hidroperoksitlerin GPX ile indirgenme reaksiyonu gösterilmiştir:



Memelilerde bulunan beş GPX izoenzimi vardır. Bütün bir vücutta üretilseler de, her izoformun seviyeleri doku tipine bağlı olarak değişir. Sitozolik ve Mitokondriyal Glutasyon Peroksidaz (cGPX veya GPX-1), glutasyon tüketerek yağ asidi hidroperoksitlerini ve H_2O_2 'yi indirger. GPX-1 ve fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PHGPX veya GPX-4) çoğu dokuda bulunur. GPX-4, hem sitozolde hem de membran fraksiyonunda bulunur. PHGPX, peroksitlenmiş membranlarda ve oksitlenmiş lipoproteinlerde üretilen fosfolipid hidroperoksitleri, yağ asidi hidroperoksitlerini ve kolesterol hidroperoksitlerini doğrudan indirgeyebilir (115). GPX-1 ağırlıklı olarak eritrositler, böbrek ve karaciğerde bulunur ve GPX-4, böbrek epitel hücreleri ve testislerde yüksek oranda eksprese edilir. Sitozolik GPX-2 veya GPX-G1 ve ekstraselüler GPX-3 veya GPX-P, sırasıyla gastrointestinal sistem ve böbrek dışında çoğu dokuda zayıf şekilde saptanmıştır. Son zamanlarda, özellikle fare epididimisinde eksprese edilen ve yeni bir üye olan GPX-5, ilginç bir şekilde selenyumdan bağımsızdır. GPX, H_2O_2 substratını CAT ile paylaşmasına rağmen, tek başına lipid ve diğer organik hidroperoksitlerle etkili bir şekilde reaksiyona girebilir ve düşük oksidatif strese karşı ana koruma kaynağı olur (111).

Periodontitiste azalmış, artmış veya değişmemiş GPX seviyesini rapor eden çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada DOS GPX seviyelerinin periodontitiste arttığı belirtilmiştir (116). Başka bir araştırmada GPX seviyelerinin cep derinliği ve ataşman kaybı ile negatif korelasyonu gözlenmiştir (117). DOS ve tükürük GPX seviyesini inceleyen bir araştırmada ise sağlıklı kontroller ile periodontitis hastaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (118).



Şekil 2.2. Polifenollerin Sınıflandırılması (119)

2.15. Flavonoidler

Flavonoidler, bitki kaynaklı gıdalarda bulunan polifenolik bileşiklerdir. Heterosiklik C halkasındaki varyasyonlar flavonoller, flavonlar, kateşinler, flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidlere yol açar. 4.000'den fazla farklı flavonoid türü tanımlanmıştır (120). Flavonoidler; flavonoller, flavonlar, kateşinler, flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidler olmak üzere 6 alt sınıfa ayrılırlar (121).

Doğada yaygın halde hemen hemen tüm bitki familyalarında bulunurlar. Meyve, sebze, tahıl, çay, kahve ve kırmızı şarap oldukça fazla miktarda flavonoid içerir. Bitkisel kaynaklı flavonoidlerin biyokimyasal ve farmakolojik aktiviteleri oldukça geniştir. Antioksidan, vazodilatatör, antiinflamatuvar, antibakteriyel, immün uyarıcı, antialerjik ve antiviral etkileri bu aktiviteler arasındadır (122).

Tirozin protein kinaz ve topoizomeraz II gibi geniş bir enzim yelpazesini inhibe etme yeteneklerinden dolayı antikanserojenler ve kardiyoprotektif maddeler olarak da tanımlanmıştır (122–124).

Flavonoidlerin bir diğer özelliği ise, geçiş metal iyonu şelatörü olarak görev yapmasıdır. In vivo ve in vitro ortamlarda, geçiş metalleriyle katalizlenen serbest radikal oluşturma reaksiyonlarında önemli rol oynar (125).

2.16. Rutin

Rutin, çeşitli meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bir flavonoldur (126). İlk olarak bileşik adını *Ruta graveolens*'den almıştır (127). Üzüm, karabuğday, meyve, sebze ve tahıl ürünleri arasında en önemli kaynaklardır (128).

Karabuğday en önemli rutin kaynaklarından biridir. Bu cinsin üç türü ön plana çıkmıştır: Yaygın karabuğday (*Fagopyrum esculentum*), tatar karabuğday (*Fagopyrum tataricum*) ve çok yıllık karabuğday (*Fagopyrum cymosum*). Rutin miktarları bitkinin farklı kısımlarında değişiklik gösterir. Yaygın karabuğdayın gövdelerinde en yüksek konsantrasyonda (3.250 mg/100 g kuru ağırlık), bitkinin yeşil kısımlarında daha düşük konsantrasyonlarda (157 mg/100 g kuru ağırlık) bulunur (129). Tatar karabuğday, Yaygın karabuğdayınkilere kıyasla tohumlarında daha yüksek rutin içeriği sunan çeşittir (128). Antioksidan, sitoprotektif, vazoprotektif, antikanserojenik, nöroprotektif ve kardiyoprotektif aktiviteler de dahil olmak üzere bir dizi farmakolojik aktivite göstermiştir (130).

2.16.1. Rutinin Kimyasal Yapısı

Flavonoidler, meyve ve sebzelerde bulunabilen, başlıca O-glikozillenmiş polifenolik bileşiklerdir (126). Rutin (kuersetin-3-O-rutinosid), vitamin p olarak da bilinen bir flavonol glikozittir. Ultraviyole ışınlarına ve hastalıklara karşı koruyucu olarak yüksek bitkilerde sentezlenir (131). Rutin, in vitro antioksidan özelliklere sahiptir ve ısıl işlemle ilgili olarak 100°C'de genel olarak stabildir (132). Karabuğdayı 150°C'ye kadar ısıtmak rutin içeriğinde artışa neden olurken, buharda pişirme yüksek kayıpları tetikler (133). Molekülün fenolik kısmı şekere bağlıdır (bu molekülün hidrofilik kısmıdır), molekülün sudaki çözünürlüğünü artırır. Rutinin glukozidaz enzimi tarafından hidrolizi, kuersetin ve rutinoz ile sonuçlanır, bu enzimatik reaksiyon bağırsak mikroflorası tarafından gerçekleştirilir. Bu nedenle rutin genellikle kuersetin ile birlikte ortaya çıkar (134,135). Rutin diğer flavonoid grupları gibi serbest radikal süpürücüler gibi davranan antioksidan aktiviteye sahiptir (136). Bu özellik, yapılarında aromatik halkalara bağlı hidroksil gruplarının varlığı ile ilişkilidir (137). Rutin ayrıca metal iyonunun neden olduğu peroksidasyonları inhibe ederek metal şelatlama özellikleri sergiler (138). Rutinin kantitatif analizi, kromatografik yöntemlerle, özellikle yüksek performanslı, ince tabaka kromatografisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile yapılabilir (139,140).

2.16.2. Rutinin Biyolojik Etkileri

Flavonoid'lerin potansiyel terapötik etkileri, farklı hastalıklarla ilgili yararlı ve koruyucu etkilerine ilişkin artan bulgularla son yıllarda önem kazanmıştır. Birçok çalışma, nörodejeneratif bozuklukları, kardiyovasküler hastalıkları ve cilt kanserini önlemede bu mükemmel sağlık özelliklerini göstermiştir (128). Bununla birlikte rutinin faydaları, miktarından ve emilim için biyoyararlanımından etkilenebilir. Rutin konsantrasyonu hem bitki türleri hem de bitkinin belirli kısımları arasında değişiklik gösterir ve ayrıca coğrafi kökenine bağlı çeşitlilik gösterir. Normalde günlük rutin alımı, bireyin beslenme alışkanlığına bağlı olarak 1.5 ile 70 mg/kg arasında değişmektedir (141,142). Rutin, glikozillenmiş yapısı nedeniyle bağırsak zarları tarafından zor emilir. Ayrıca, Kuersetin sağladığı kalın bağırsakta geniş ölçüde metabolize edilir (143) ve daha küçük metabolitler oluşturmak için bazı probiyotik bakteriler tarafından hidrolize edilir. TNF- α ile indüklenen NF κ B aktivasyonunu inhibe eder (144). Bir çalışmada, rutin uygulamasının, ratlarda deneysel ileit ve kolitte anti-inflamatuvar aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (142). Bununla birlikte, bu etkiler, bakteriyel enzimler tarafından rutin metabolizması yoluyla Kuersetin salınımı ile ilişkilidir ve bu da mukozanın kuersetine uzun süre maruz kalmasına neden olur (145). Öte yandan, rutin (günde 100 mg rutin/kg) ile takviye edilmiş toz gıda verilen Wistar albino ratları ile yakın zamanda yapılan bir in vivo çalışma, rutinin kardiyovasküler zararları (fonksiyon ve yapı) ve kronik böbrek hastalığını iyileştirdiğini göstermiştir (146). Ayrıca Rutin, gıda kaynaklı patojenlerin (*Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*) biyofilm inhibe edici kapasitesi sayesinde potansiyel antimikrobiyal aktivite göstermiştir (147). 200 mg/kg dozundaki rutinin, antioksidan enzim GPX'in aktivitesini artıran ve lipoperoksit seviyelerini azaltan yüksek antioksidan ve koruyucu özellikleri nedeniyle farelerde etanolün neden olduğu mide hasarına karşı etkili olduğu bulunmuştur (24). Son zamanlarda, rutin uygulamasının (8 mg/kg), obez ratlarda sistemik insülin direncini önlemek, obeziteyi ve *Sprague-Dawley* ratlarında kahverengi yağ dokusu aktivasyonu yoluyla Polikistik Over Sendromu'nu iyileştirmek için potansiyel bir terapötik seçenek olduğu da gösterilmiştir (148). Rutin ile ilişkili diğer bir sağlık etkisi, ratlarda kolestaz ile ilgili karaciğer hasarının hafifletilmesi yoluyla araştırılan hepatoprotektif etkidir (149). Bununla birlikte rutin, osteoblastik MG63 hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması nedeniyle kemik oluşumunu uyarak osteoporoza karşı bir etkiye sahiptir (150). Post menopozal osteoporotik kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben omega-3 yağ asitleri ile birlikte uygulandığında alveoler kemik kaybı, klinik ataşman kaybı ve cep

derinliğine olumlu etkileri gözlenmiştir (151). Literatürde klinik ve hayvan çalışmalarında rutinin tek başına farklı dozlar ile kullanan çalışma mevcut değildir.



3. MATERYAL VE METOT

Bu proje için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan 2020/13-3 karar numarası ile onay alındı.

Ağırlıkları 350-400 g arasında değişen 32 adet erkek Wistar Albino rat su ve yiyeceğe serbestçe ulaşabilecekleri metal kapaklı kafeslerde 4'lü şekilde oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$) %40-60 nemli ortamda 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüyle deney boyunca barındırıldı.

3.1. Çalışma Grupları

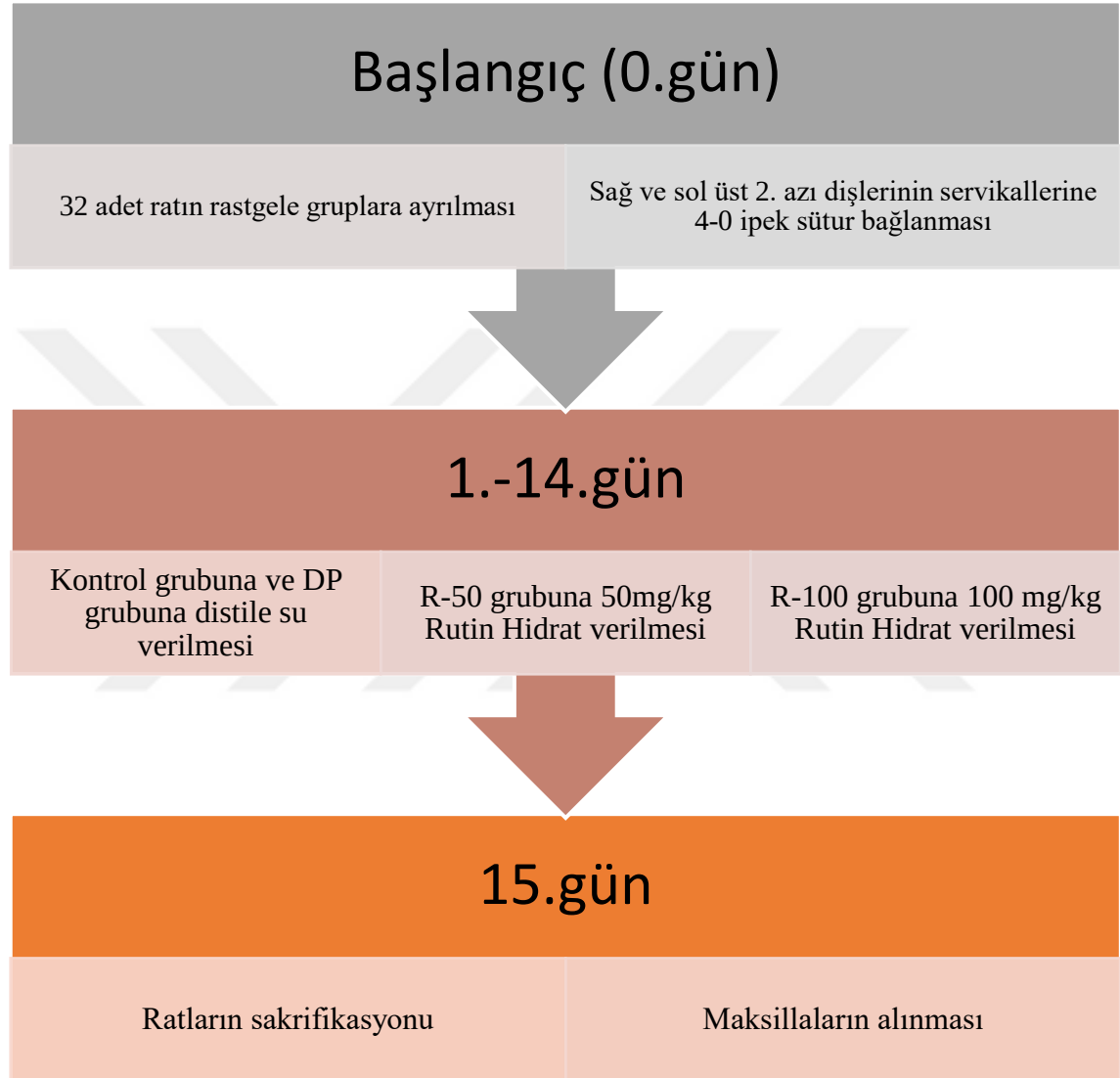
Çalışmada bulunan 32 adet erkek Wistar Albino rat rastgele 4 gruba ayrıldı;

- 1)Periodontal olarak sağlıklı + Distile Su (Sağlıklı Kontrol): SK
- 2)Deneyel Periodontitis + Distile Su: DP
- 3)Deneyel Periodontitis + Rutin-50 mg/kg: R-50
- 4)Deneyel Periodontitis + Rutin-100mg/kg: R-100

3.2.Deneyel Periodontitis Oluşturulması ve Çalışma Protokolü

DP modeli oluşturmak için ratlara (Xylazine (Bioveta, Çek Cumhuriyeti) 10 mg/kg, Ketamin (Doğa İlaç, Türkiye) 90 mg/kg) intraperitoneal uygulanarak ratlar genel anestezi altına alındı. Anestezi derinliği ratların pupil refleksi, ayak refleksi ve kas tonusu değerlendirilerek kontrol edildi. Her rat için üst 2. molar dişlerinin servikalleri etrafına 4.0 ipek sütür (Doğsan, Türkiye) bir miktar subgingival olacak şekilde yerleştirilerek DP modeli indüklenmesi amaçlandı (Şekil 3.3) (152). Süturlar her gün kontrol edildi. Ratlara verilecek doz miktarı daha önceki çalışmalar incelenerek belirlendi (153). Hassas Terazî (OHAUS, ABD)'de (Şekil 3.4) miktar ayarlandıktan sonra çözeltilerin homojenize olması için vortex cihazı (VELP Scientifica Srl – HQ, İtalya) kullanıldı (Şekil 3.5). Gruplarda kullanılacak rutin dozları belirlendi (Şekil 3.6). Ligatürlerin bağlanmasını takiben hemen ertesi gün oral gavaj uygulamalarına başlandı. Deney gruplarındaki ratlara günde bir defa öğlene yakın saatlerde olmak üzere 14 gün boyunca gavaj yoluyla Rutin Hidrat (Sigma-Aldrich, ABD) verildi (Şekil 3.7). SK ve DP gruplarına distile su verilerek aynı prosedürler uygulandı. 15. gün genel anestezi altında kardiyak kanları alındıktan sonra etik kurallarına uygun bir şekilde yüksek doz anestezi (30 mg/kg Xylazine + 270 mg/kg Ketamin) ile ötenazi uygulandı. Üst çene kafatasından çelik separe ile ayrıldı. Çene örnekleri biyokimya ve mikro-BT Biyokimyasal değerlendirme için sütür çevresindeki 3

mm diş eti dokusu alındı (154). Alınan doku örnekleri incelenmek üzere biyokimya laboratuvarına gönderildi. Alınan maksilla örnekleri ise %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edilerek mikro bilgisayarlı tomografide incelenmek üzere İnönü Üniversitesi Bilimsel Teknolojik Araştırma Merkezi (İBTAM) laboratuvarına gönderildi.



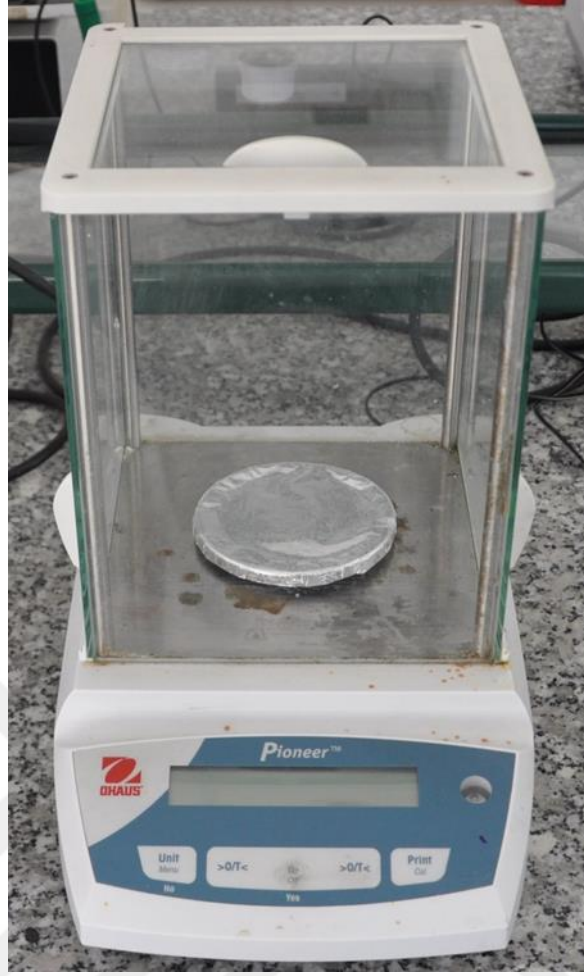
Şekil 3.1. Çalışma protokolü



Şekil 3.2. Ratların düzenek ile sabitlenmesi



Şekil 3.3. Ratların üst 2. molar dişlerine ligatür bağlanması



Şekil 3.4. Hassas terazi



Şekil 3.5. Vortex cihazı



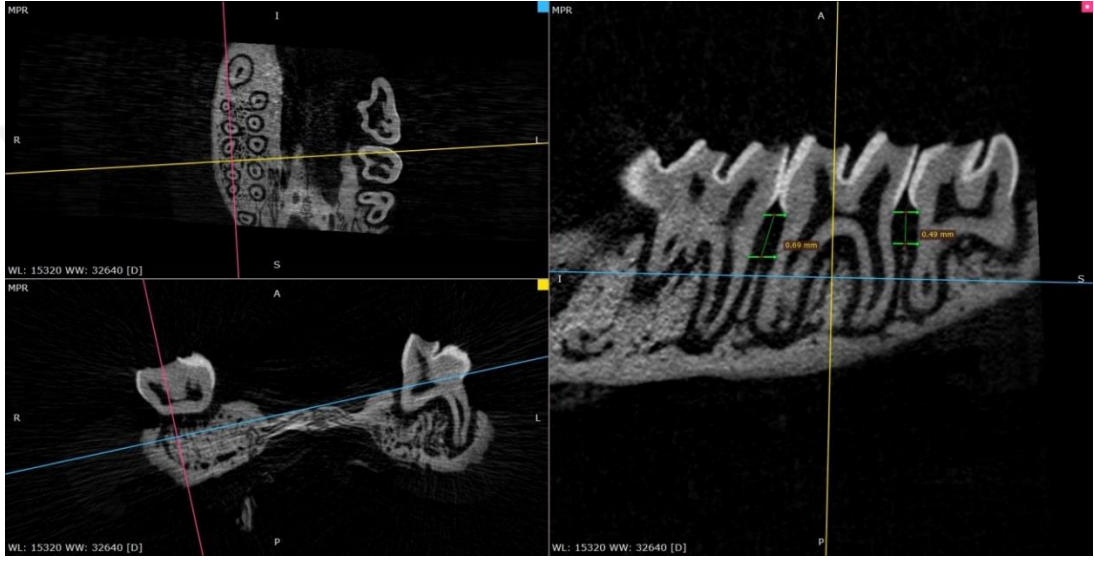
Şekil 3.6. Rutinin gruplara göre ayrılması



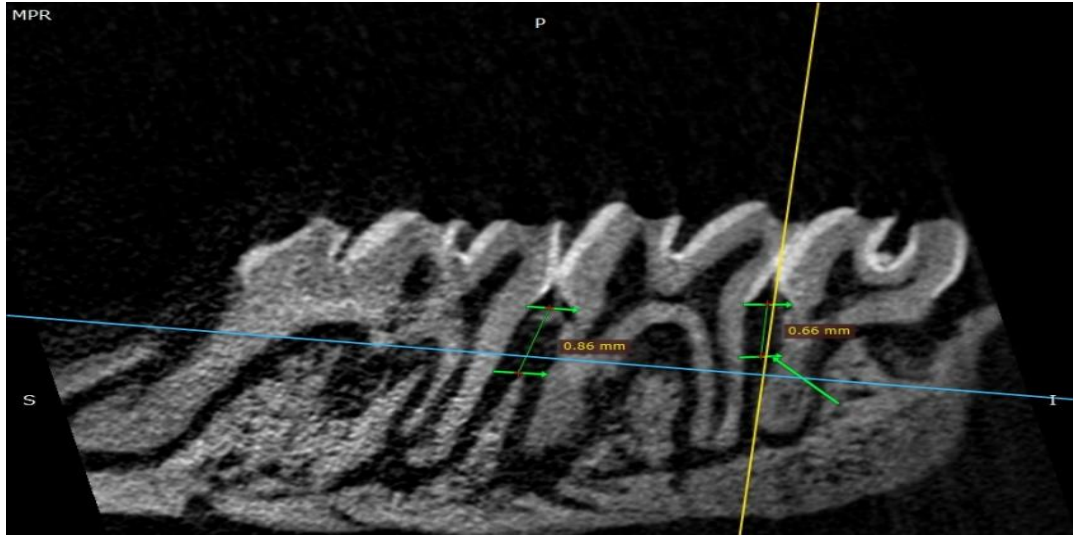
Şekil 3.7. Ratlara gavaj uygulanması

3.3. Mikrobilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) İncelemesi

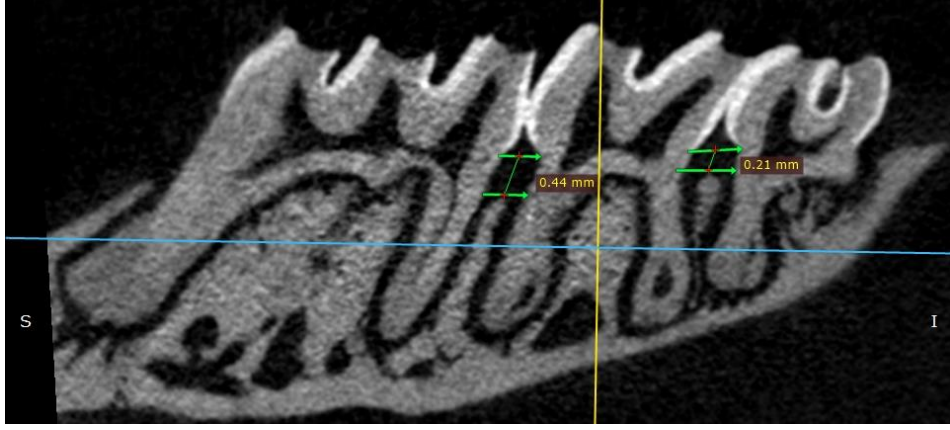
AKK, mikro-BT cihazı (SkyScan 1172, Micro CT, Software Version 1.5, Belçika) ile 55 kV, 181 μ A'da tarandı ve analiz edildi. Veriler alındıktan sonra güncel bir yazılımla (RadiAnt DICOM viewer, Polonya) maksiller ikinci molar dişin meziobukkal, meziopalatinal, distobukkal ve distopalatinalde mine-sement sınırı ile alveoler kret tepesi daha önceki çalışmalar referans alınarak arasındaki mesafe ölçüldü (155,156). Ölçümler tüm gruplarda tek bir kişi tarafından (SBK) maskeli bir şekilde yapıldı.



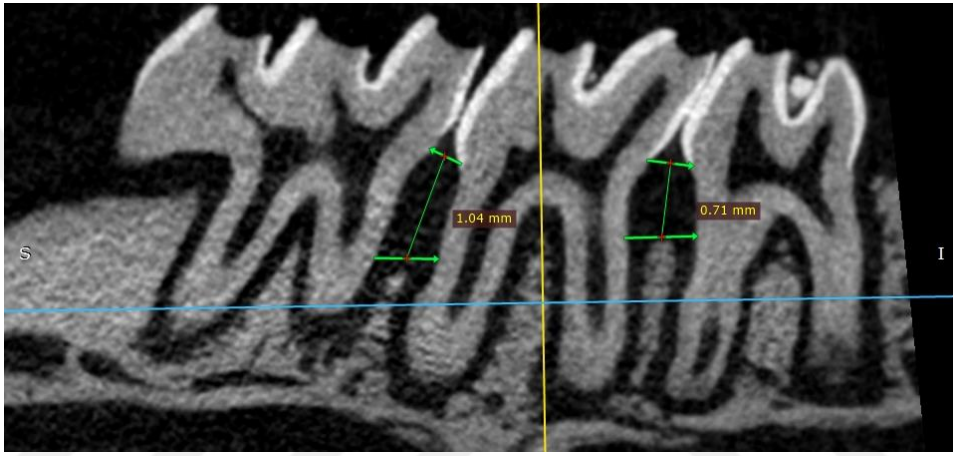
Şekil 3.8. Alveoler Kemik Kaybının (AKK) mikro BT ile üç düzlemde incelenmesi



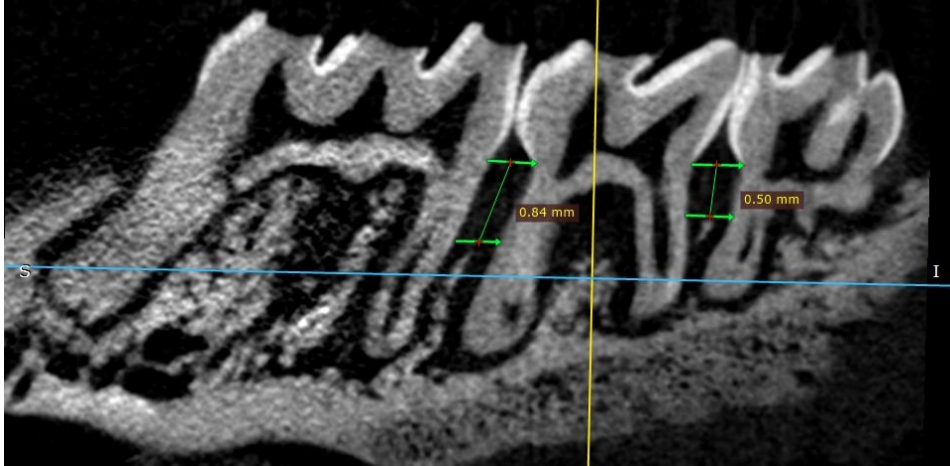
Şekil 3.9. Mezial ve distalden yapılan ölçümler



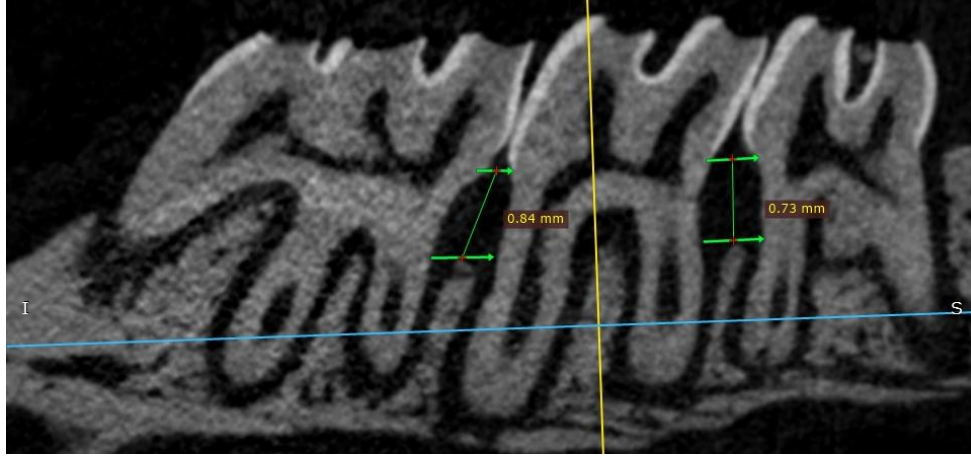
Şekil 3.10. SK grubu AKK ölçümü



Şekil 3.11. DP grubu AKK ölçümü



Şekil 3.12. R-50 grubu AKK ölçümü



Şekil 3.13. R-100 grubu AKK ölçümü

3.4. Biyokimyasal Analizler

Çalışma sonunda diseke edilen dokular çalışma yapılmıncaya kadar -80°C derin (Nuairie's Glacier, ABD), dondurucuda bekletilip analizlerin yapılacağı gün çözündürülüp ELISA yöntemi ile GPX, SOD, MDA, IL-1 β , IL-10, spektrofotometrik analiz ile TAS ve TOS ölçümleri yapıldı.

3.4.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması

Derin dondurucuda muhafaza edilen dişeti dokuları çalışma günü çıkarılarak tartıldı. %10'luk homojenat oluşacak şekilde fosfat tamponu ilave edilerek homojenize edildi (Biospec, ABD). Doku homojenatları 4000 rpm'de, +4 derecede, 25 dakika santrifüj edilerek (Hettich, Almanya) süpernatantlar elde edildi ve tüm analizler süpernatantta gerçekleştirildi.

3.4.2. GPX, SOD, MDA, IL-1 β , IL-10 Seviyelerinin Ölçümü

GPX, SOD, MDA, IL-1 β , IL-10 seviyeleri ELISA prensibi ile ticari olarak temin edilen Rat ELISA kitleri (Sunredbio Technology Co., Çin) kullanılarak ölçüldü. Kit prosedürüne uygun olacak şekilde çalışma sonunda numuneler, mikropłaka okuyucu (BioTek Synergy H1, BioTek Instruments, ABD) ile okundu ve veri analiz programı (Gen 5, BioTek Instruments, ABD) ile değerlendirmeler yapıldı. Test sonuçları standartlar kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. IL-1 β kitinin hassasiyeti 10.135 ng/L, ölçüm aralığı 15ng/L-3000 ng/L idi. IL-10 kitinin hassasiyeti 3.002 pg/ml, ölçüm aralığı 5pg/ml-900pg/ml idi. MDA kitinin hassasiyeti 0.208 nmol/ml, ölçüm aralığı 0.3-65 nmol/ml idi. SOD kitinin hassasiyeti 0.415 ng/ml, ölçüm aralığı 0.5 ng/ml -100 ng/ml idi. GPX kitinin hassasiyeti 0.735 ng/ml, ölçüm aralığı 0.8 ng/ml -200 ng/ml idi.

3.4.3. ELISA Kit Prosedürü

Standart çözeltiler için ayrılan kuyucuklara 50 µl standart, numunelerin uygulanacağı kuyucuklara ise 40 µl numune ve 10 µl biotin ile konjuge ilgili parametreye karşı spesifik antikor ilave edildi. Ardından tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin bağlı HRP enzimi ilave edilip mikropalkanın üstü kapatılarak 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kuyucuklar boşaltıldı ve her birine 300 µl yıkama tamponu ilave edilerek 3 kez yıkama yapıldı. Tüm kuyucuklara 50 µl Substrat A ve 50 µl Substrat B çözeltisi eklendi ve 37°C sıcaklıkta 10-15 dakika bekletilerek renk oluşumu sağlandı. Ardından her bir kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklendi ve meydana gelen sarı rengin absorbansı 450 nm dalga boyunda okundu.

3.4.4. Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü

TOS ölçümünde, ticari TOS ölçüm kiti (RelAssay Diagnostics, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensibi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (82). TOS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELISA 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 µL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 25 µL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçülmesiyle TOS düzeyleri belirlendi.

3.4.5. Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü

Ticari TAS ölçüm kiti (RelAssay Diagnostics, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensibi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (157). TAS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELISA cihazı 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 µL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 75 µL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçülmesiyle TAS düzeyleri belirlendi.

3.4.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Ölçümü

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değeri ise aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

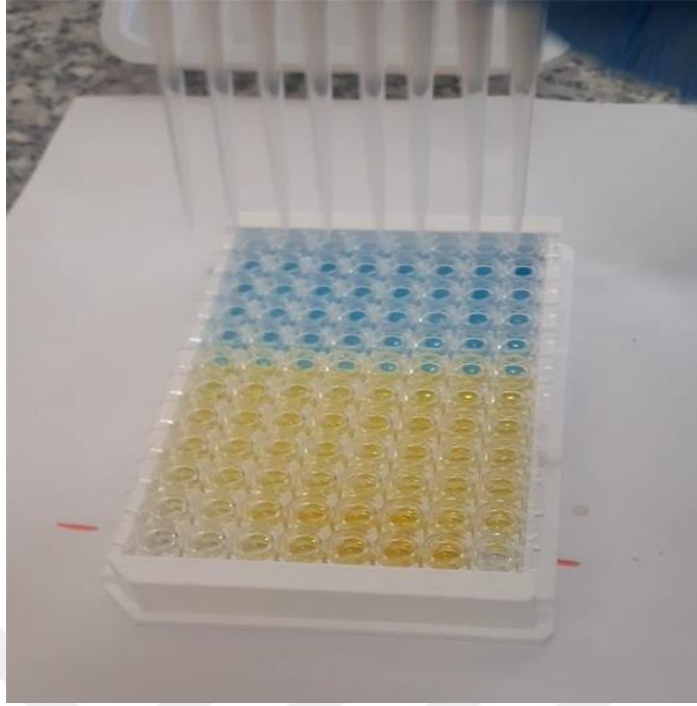
$$OSİ = \text{TOS (mikromol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv / litre)} / \text{TAS (milimol Trolox Eqv / litre)}$$



Şekil 3.14. Dokuların -80°C Derin dondurucuda saklanması



Şekil 3.15. Mikroplaka okuyucu



Şekil 3.16. Homojenatların kuyucuklara yerleştirilmesi



Şekil 3.17. Soğutmalı santrifüj



Şekil 3.18. Doku homojenizatörü

3.5. İstatistiksel Analiz

Deney gruplarındaki hayvan sayısı, Kang ve ark.'nın (158) çalışmalarındaki veriler referans alınarak MDA parametresi dikkate alınarak yapılan güç analizi sonrası; $\alpha = 0.05$, $1 - \beta$ (güç) = 0.95, "f = 2,1051326" efekt aralığı, " $\alpha = 0.05$ ", "Noncentrality parametresi $\lambda = 53.18$ ", "Critical F = 4.39", "Numerator df = 5", "Denominator df = 6" ile gerçek güç değeri = %96,44 olarak belirlendiği için her grupta 8 olacak şekilde toplam 32 hayvanın çalışmaya dahil edilmesine karar verildi. Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılımına Shapiro Wilk-W testi ile bakıldı. İki den fazla bağımsız grup ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlandığı durumda ANOVA testi, sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis testi kullanıldı. ANOVA testi sonrası post-hoc testler varyanslar homojen olduğunda Tukey testi ile varyanslar homojen olmadığı durumda Tamhane's T2 testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testler için Kruskal Wallis 1-way ANOVA (k samples) testi kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma, medyan ve standart hata olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

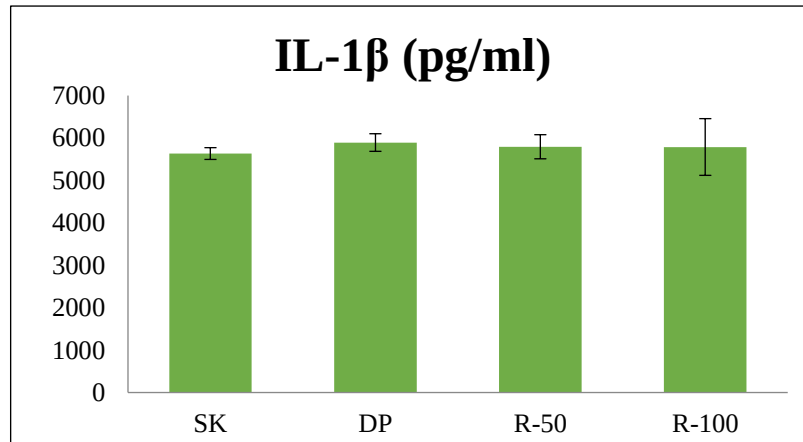
4.1.1. Doku IL-1 β , IL-10 ve IL-1 β /IL-10 Seviyelerinin Değerlendirilmesi

IL-1 β seviyesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.1). IL-10 seviyesi, DP grubu ile kıyaslandığında R-100 grubunda arasında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$) (Tukey testi post hoc $p=0.013$) (Tablo 4.1). IL-1 β /IL-10 oranı R-100 grubu ile kıyaslandığında DP grubunda arasında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$) (Kruskal Wallis testi post hoc $p=0.028$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3).

Tablo 4.1. Doku IL-1 β , IL-10 ve IL-1 β /IL-10 seviyeleri

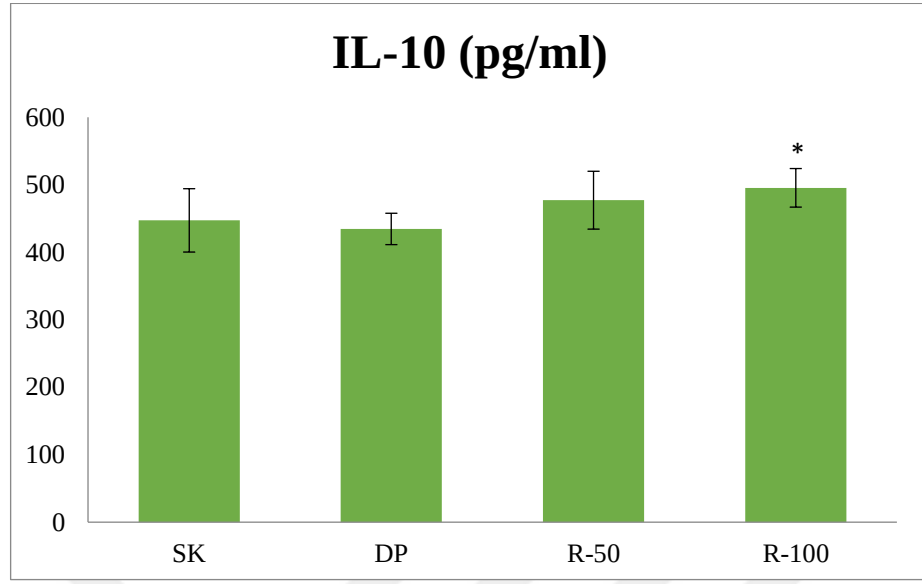
	SK	DP	R-50	R-100	p
IL-1β (pg/ml)					
(Ort $\pm$ Ss)	5633.3 $\pm$ 138.7	5892.6 $\pm$ 207.5	5793.53 $\pm$ 284.4	5787.7 $\pm$ 668.5	0.309**
Medyan	5602.39	5815.83	5877.8	5655.5	
(Min-Maks)	5478.3-5843.2	5631.86-6228.8	5321.27-6049.7	5089.3-6752.3	
Standart Hata	49.02	73.37	100.54	236.34	
IL-10 (pg/ml)					
(Ort $\pm$ Ss)	447.21 $\pm$ 46.9	434.52 $\pm$ 23.22	477.13 $\pm$ 42.83	495.45 $\pm$ 28.57 ^a	0.01*
Medyan	436.37	426.97	460.28	502.22	
(Min-Maks)	394.26-523.22	405.26-470.64	434.47-544.66	447.93-529.89	
Standart Hata	16.58	8.21	15.14	10.10	
IL-1β/IL-10					
(Ort $\pm$ Ss)	12.71 $\pm$ 1.29	13.57 $\pm$ 0.46	12.2 $\pm$ 0.99	11.7 $\pm$ 1.38 ^b	0.02**
Medyan	13.07	13.46	12.21	11.91	
(Min-Maks)	10.79-13.91	13.15-14.23	10.91-13.49	9.7-13.31	
Standart Hata	0.46	0.16	0.35	0.49	

Ort $\pm$ Ss: Ortalama $\pm$ Standart sapma, Min-Maks: Minimum-Maksimum, a: DP grubuna göre anlamlılık, b: DP grubuna göre anlamlılık, *: One way ANOVA, **: Kruskal Wallis, $p<0.05$



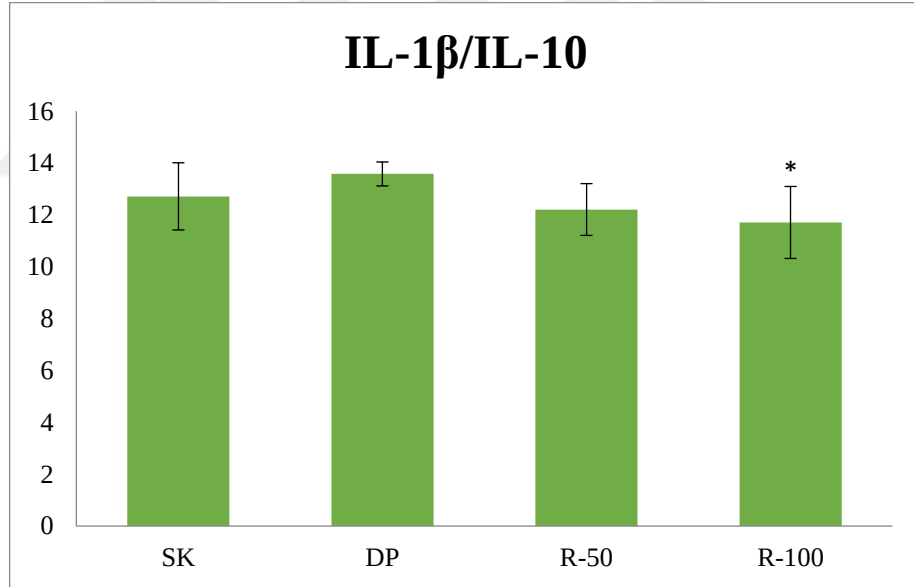
Şekil 4.1: Doku IL-1 β seviyeleri

Kıyaslamalarda one way ANOVA testi kullanılmıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.2. Doku IL-10 seviyeleri

Kıyaslamalarda one way ANOVA testi kullanılmıştır. *: DP grubuna göre anlamlılık, $p < 0.01$



Şekil 4.3. Doku IL-1 β /IL-10 seviyeleri

Kıyaslamalarda one way ANOVA testi kullanılmıştır. *: DP grubuna göre anlamlılık, $p < 0.05$

4.1.2. Doku MDA, GPX, SOD Seviyelerinin Değerlendirilmesi

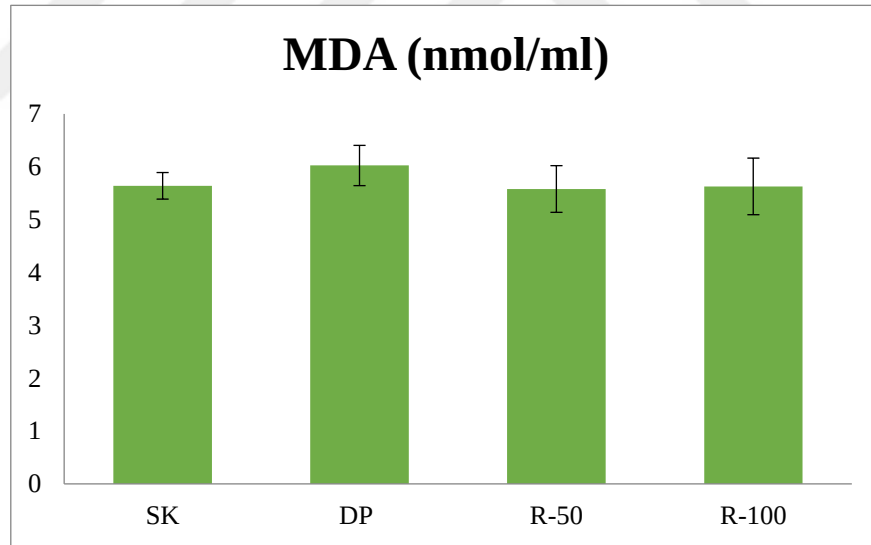
Doku MDA seviyesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Doku GPX seviyesi R-100 grubunda, DP grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Kruskal Wallis post hoc $p = 0.05$). SOD seviyesi, SK ve R-100 gruplarında DP ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Kruskal

Wallis testi sırasıyla post hoc $p=0.003$, $p=0.002$) (Tablo 4.2.) (Şekil 4.4) (Şekil 4.5) (Şekil 4.6).

Tablo 4.2. Doku MDA, GPX, SOD seviyeleri

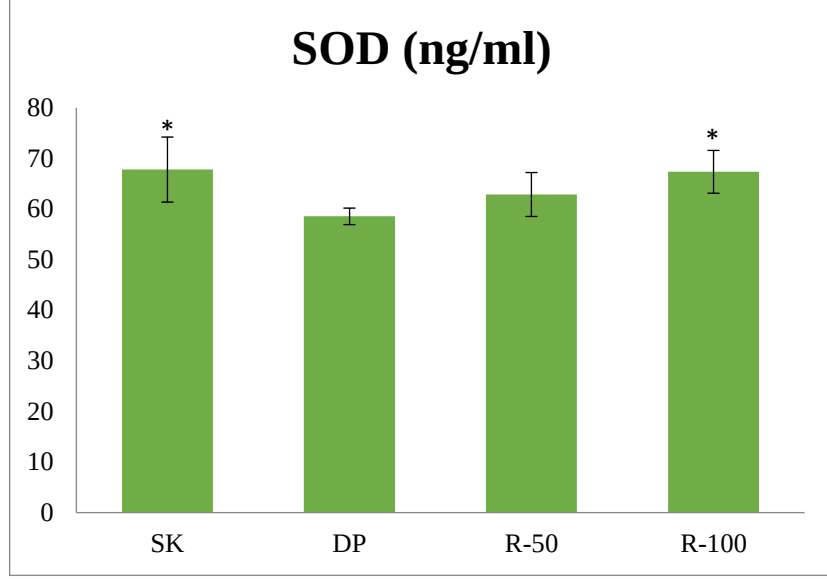
	SK	DP	R-50	R-100	p
MDA (nmol/ml)					
(Ort±Ss)	5.63 ± 0.25	6.02 ± 0.38	5.57 ± 0.44	5.62 ± 0.53	0.164
Medyan	5.57	6.11	5.58	5.6	
(Min-Maks)	5.40-6.06	5.39-6.4	4.94-6.22	4.92-6.38	
Standart Hata	0.08	0.13	0.15	0.19	
SOD (ng/ml)					
(Ort±Ss)	67.77 ± 6.42 ^a	58.53 ± 1.63	62.85 ± 4.34	67.33 ± 4.22 ^a	0.001*
Medyan	65.65	58.63	62.55	65.96	
(Min-Maks)	61.77-78.13	55.44-60.3	57.16-69.18	63.34-74.12	
Standart Hata	2.27	0.58	1.53	1.49	
GPX (ng/ml)					
(Ort±Ss)	102.59± 14.78	90.45 ± 4.73	110.12 ± 18.31	113.17 ± 17.24 ^b	0.045*
Medyan	101.09	88.91	115.79	108.85	
(Min-Maks)	84.74-123.59	84.37-97.91	80.48-129.17	95.72-139.36	
Standart Hata	5.23	1.67	6.47	6.10	

Ort ± Ss: Ortalama ± Standart sapma, Min-Maks: Minimum-Maksimum, a: DP grubuna göre anlamlılık, b: DP grubuna göre anlamlılık *: *Kruskal Wallis*



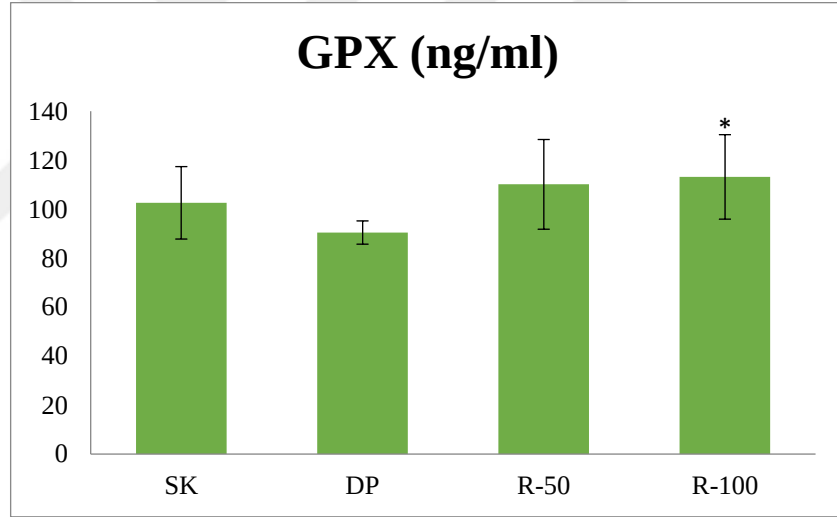
Şekil 4.4. Doku MDA seviyeleri

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılmıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.5. Doku SOD seviyeleri

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılmıştır. *: DP grubuna göre anlamlılık, $p < 0.001$



Şekil 4.6. Doku GPX seviyeleri

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılmıştır. *: DP grubuna göre anlamlılık, $p < 0.05$

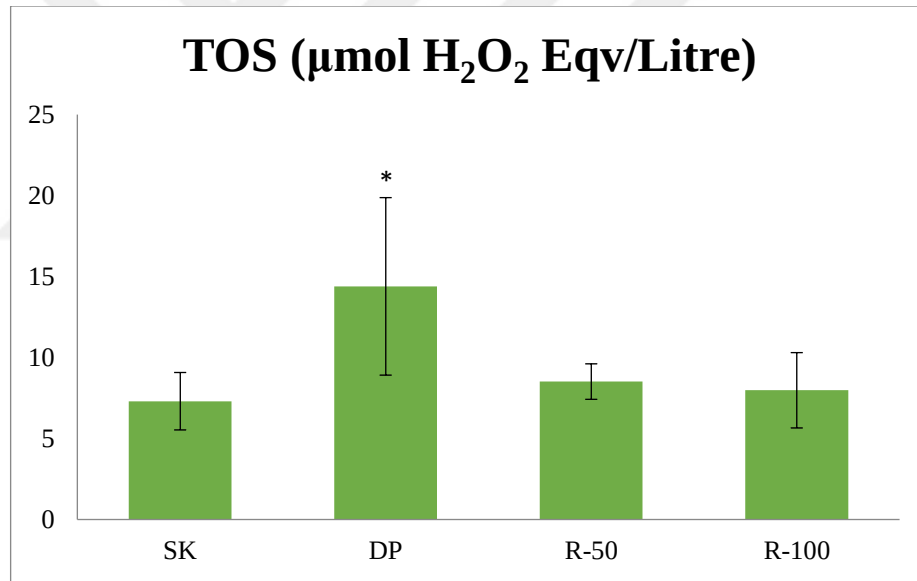
4.1.3. Doku TOS, TAS ve OSİ Seviyelerinin Değerlendirilmesi

TOS, DP grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Tamhane's T2 testi post hoc $p = 0.045$) (Tablo 4.9). TAS, R-50 grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu (Tukey testi post hoc $p = 0.042$) ($p < 0.05$). OSİ, DP grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Tukey testi post hoc değerleri sırasıyla SK, R-50, R-100 gruplarına göre $p < 0.001$, $p = 0.014$, $p < 0.001$) (Tablo 4.9) (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9).

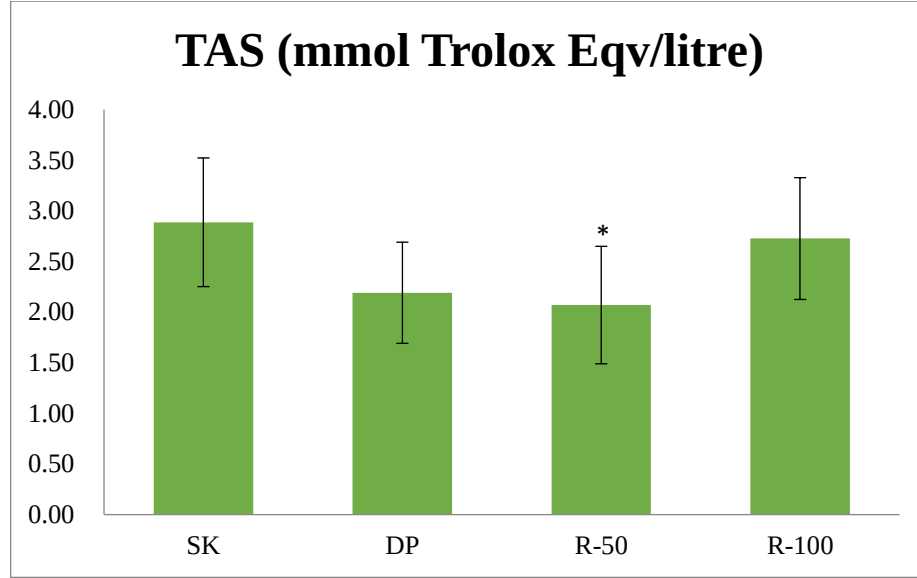
Tablo 4.3. Doku TOS, TAS ve OSİ değerleri

	SK	DP	R-50	R-100	p
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv/L)					
(Ort $\pm$ Ss)	7.3 $\pm$ 1.77	14.39 $\pm$ 5.47 ^a	8.51 $\pm$ 1.09	7.97 $\pm$ 2.32	0.000*
Medyan	7.03	12.96	8.48	7.78	
(Min-Maks)	4.84-10.66	8.24-24.24	6.78-10.18	4.36-12.36	
Standart Hata	0.62	1.93	0.39	0.82	
TAS (mmol Trolox Eqv/ L)					
(Ort $\pm$ Ss)	2.88 $\pm$ 0.63	2.19 $\pm$ 0.49	2.07 $\pm$ 0.58 ^b	2.72 $\pm$ 0.6	0.022*
Medyan	2.81	2.17	1.84	2.6	
(Min-Maks)	2.22-3.92	1.55-2.99	1.45-2.95	2.05-3.61	
Standart Hata	0.22	0.18	0.21	0.21	
OSİ					
(Ort $\pm$ Ss)	2.61 $\pm$ 0.72 ^c	6.65 $\pm$ 2.18	4.29 $\pm$ 0.87 ^c	3.17 $\pm$ 1.5 ^c	0.000*
Medyan	2.55	6.4	4.28	3.0	
(Min-Maks)	1.65-3.43	3.35-9.83	3.19-5.79	1.4-6.01	
Standart Hata	0.26	0.77	0.31	0.53	

Ort $\pm$ Ss: Ortalama $\pm$ Standart sapma, Min-Maks: Minimum-Maksimum, a: SK grubuna göre anlamlılık, b: SK grubuna göre anlamlılık, c: DP grubuna göre anlamlılık, *: One way ANOVA

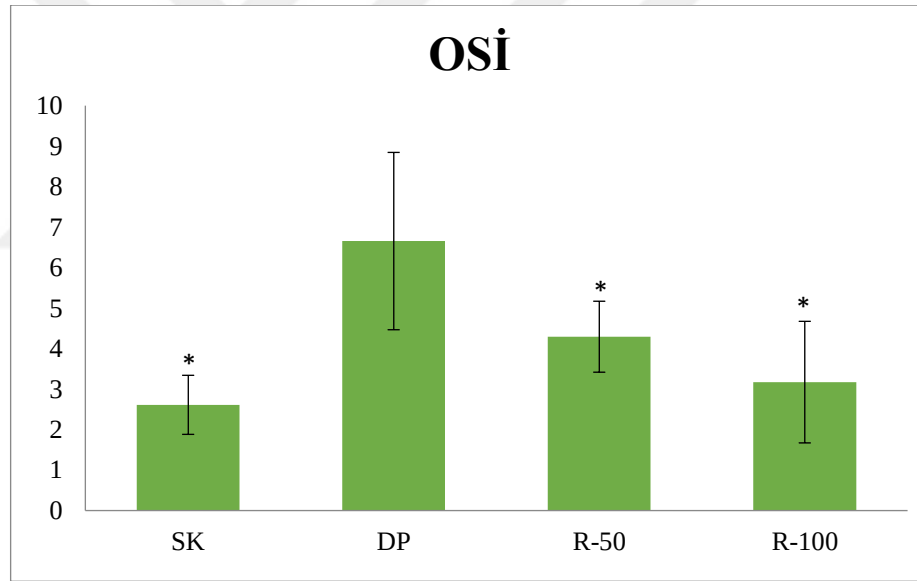
**Şekil 4.7.** Doku TOS değerleri

Kıyaslamalarda One way ANOVA testi kullanılmıştır. *: SK grubuna göre anlamlılık, $p < 0.001$



Şekil 4.8. Doku TAS değerleri

Kıyaslamalarda One way ANOVA testi kullanılmıştır. *: SK grubuna göre anlamlılık, $p < 0.05$.



Şekil 4.9. Doku OSİ değerleri

Kıyaslamalarda One way ANOVA testi kullanılmıştır. *: DP grubuna göre anlamlılık, $p < 0.001$

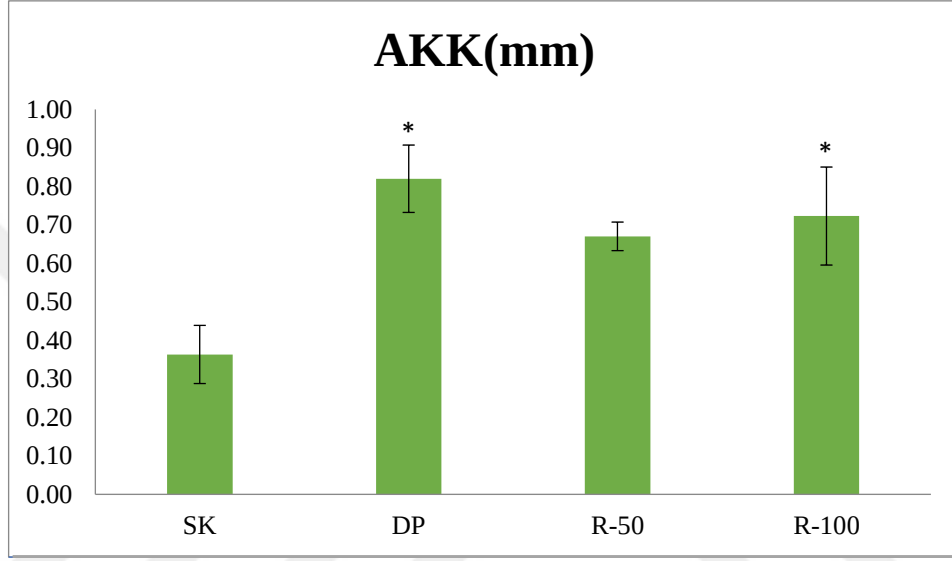
4.2. Alveoler Kemik Kaybının Mikro-BT ile Değerlendirilmesi

AKK değeri DP grubunda SK grubuna kıyasla ve R-100 grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Kruskal Wallis one way ANOVA k samples post hoc $p < 0.001$, post hoc $p = 0.005$) (Tablo 4.4) (Şekil 4.10).

Tablo 4.4. Doku AKK değerleri

	SK	DP	R-50	R-100	p
AKK (mm)					
(Ort $\pm$ Ss)	0.36 $\pm$ 0.08	0.82 $\pm$ 0.09 ^a	0.67 $\pm$ 0.04	0.72 $\pm$ 0.13 ^a	
Medyan	0.34	0.82	0.67	0.71	0.000*
(Min-Maks)	0.28-0.48	0.67-0.97	0.61-0.72	0.52-0.90	
Standart Error	0.03	0.03	0.01	0.05	

Ort $\pm$ Ss: Ortalama $\pm$ Standart sapma, Min-Maks: Minimum-Maksimum, a: SK grubuna göre anlamlılık, *: *Kruskal Wallis*, $p < 0.001$.



Şekil 4.10. Doku AKK değerleri

Kıyaslamalarda *Kruskal Wallis* testi kullanılmıştır. *:SK grubuna göre anlamlılık, $p < 0.001$

5. TARTIŞMA

Bu çalışma deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda rutinin AKK ve inflamasyonun biyokimyasal belirteçleri olan doku IL-1 β , IL-10, MDA, SOD, GPX, TAS, TOS, OSI'ye etkilerinin incelenmesi amacıyla yapıldı. Çalışma sonunda rutinin IL-1 β , MDA değerlerine etki etmediği gözlenirken; doza bağımlı olarak IL-10, SOD, GPX, TAS değerlerini arttırdığı, TOS, OSI ve AKK değerlerini azalttığı gözlemlendi.

Hayvan modelleri periodontal hastalıkların patogenezi ve çeşitli periodontal tedavi yöntemlerini değerlendirmede kullanılmıştır. Periodontal hastalıklar ile ilgili uzun dönem insan çalışmalarında, hastalık aktivite düzeyinin, risk altındaki bireylerin ve hastalığın ilerlemesine yatkınlığın belirlenmesi gibi zorluklar rapor edilmiştir (159). Hayvan modelleri periodontal hastalığın patogenezi ve tedavisi için yol gösterici bilgilere sahiptirler. Bu yüzden insan anatomisi ve periodontal hastalık ile benzer özelliklere sahip bir laboratuvar hayvan modelinin seçilmesi önem taşımaktadır (160). Hayvanlarda periodontal hastalık doğal olarak meydana gelebilir veya hayvanlarda deneysel olarak indüklenebilir. Deneysel Periodontitis modelinde rat, tavşan, köpek, domuz, maymun türleri yaygın olarak kullanılmaktadır (161,162). Bu hayvanların periodontitis çalışmalarında özelliklerinden dolayı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Tavşanların oral mikroflorası ile insaninki benzerdir. Tavşanlar, cerrahi olarak indüklenen periodontal defektlerin oluşturulması, periodontal rejenerasyon periimplantitis amacıyla kullanılmıştır. Sert doku çalışmalarında kullanılmasına rağmen tavşan çalışmaları periodontal hastalıkların spesifik durumundan çok uzaktır ancak ligamentlerin rejenerasyonu için uygun bir çalışma modeli olarak görülmemektedirler (163). Köpekler, özellikle Beagle'lar, periodontal hastalığın ilerlemesi, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, doku yara iyileşmesi ve implant çalışmalarında kullanılmaktadır (160). İnsanlarla periodontal hastalığın etiyolojisi bakımından benzerlikler taşımaktadır (164–166). Gingivitisin erken safhasında inflamatuvar infiltratın yerleşiminde köpek ve insan arasında farklılıklar bulunmaktadır. Köpekte, dişetinin marjinal kısmında yer alan ilk infiltrat, bağ dokusuna fazla zarar vermeden birleşim epiteli boyunca ilerler. Ayrıca subgingival mikroflorada da farklılıklar vardır. Hastalıkta insanlarda görülmeyen katalaz (+) *Prevotella melaninogenica*'da artış, bağlantı bölgelerinden izole edilen gram (-) fakültatif çubuklarda azalma vardır (167). Gingivitis ve Periodontitis lezyonlarının başlangıç yeri de farklıdır. İnsanlarda dişeti oluşu en apikal lateralinden başlarken köpekte ise dişeti marjinalinden başlar (168). Büyük hayvanlar arası değişkenlik, masraf,

sınırlı sayıda mevcut kemik kusurları ve daha hızlı kemik oluşumu gibi dezavantajları da bulunmaktadır (169). Evcil yaban gelinciğinin periodontolojide hayvan modeli olarak 1940'larda, dağ gelinciklerinde periodontal hastalık oluşumunun insanlarda meydana gelene benzer olduğunu belgeleyen Kingt ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (170). Gelinciklerin diştaşı oluşum mekanizması insanlar ile benzerdir. Fakat üretim zorluğu bakım masraflarının yüksek olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (171). Fareler de periodontitis çalışmalarında alveoler kemik rezorbsiyonunun incelenmesinde kullanılmıştır. Fakat alınacak doku boyutları küçük olduğundan kullanımları sınırlıdır (161). Ratlarda epitel ve bağ dokusunun histolojik özelliklerinin çoğu, insanlara benzer. Sulkular epitelin keratinize olması, birleşim epiteli ve gingival epitelin en yüzeyel hücreleri ile birleşim epiteli hücreleri arasındaki bağlantının desmozomal olması gibi farklılıklar vardır (172,173). Molar dişlerinin peridonsiyumu insan periodonsiyumu ile benzerdir. Ligatür ile periodontitis modelinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (174,175). *A. actinomycetemcomitans* veya *P. gingivalis* ile enfekte olmuş ratlarda yatay kemik kaybını gösteren çalışmalar mevcuttur (176–180). Yoğun spongioz yapıya sahip olan üst çenede kemik yıkımının daha hızlı meydana geldiği rapor edilmiştir (181). Ratlarda deneysel periodontitis oluştururken 2 yöntem ön plana çıkmaktadır. Birincisi akut ve şiddetli periodontal patoloji oluşturmak için lipopolisakkarit verilmesidir. Akut inflamatuvar yanıt oluşması, bakteriyel enfeksiyon olmaması ve konakçı yanıtının belirli hücrelere spesifik olması gibi dezavantajları vardır. Diğer bir yöntem dişlerin servikal kısımlarına ligatür bağlanmasıdır. Bu işlem ile plak birikimi, sulkuler epitelde ülserasyon başlar ve bağ doku yıkımı görülür (182). Tür olarak *Sprague-Dawley* ve *Wistar*, cinsiyet bakımından hayvan periodontitis çalışmalarında erkekler tercih edilmektedir (183–186). Dişi ratlarda menstrual döngü esnasında hormonal değişiklikler gözlenmekte ve östrojenlerin inflamatuvar yanıtı modüle edebileceği düşünülmektedir (187–189).

Deneysel Periodontitis modeli oluşturulurken çalışmalarda farklı zaman dilimlerinde olduğu tespit edilmiştir (190–193). Ratlarda 7, 11, 14, 21, 28 ve 60 gün gibi zamanlarda deneysel periodontitis modeli oluşturulup AKK incelenmiştir (86,114,181,191,193,194). Kuhr ve ark. (185) çalışmalarında ratların üst 2. molar dişlerine 5-0 ipek sütur bağlanmış 1., 15., 30. ve 60 günlerde sakrifikasyondan sonra AKK, alınan çene örneklerinin kesitlerinde morfometrik olarak değerlendirilmiştir. En fazla kemik kaybının ilk 15 günlük zaman diliminde meydana geldiğini 30. ve 60. günlerde artışın hafif şekilde devam ettiğini rapor etmişlerdir (185). Ratların üst 2. molar dişleri ligatürlenerek DP modeli uygulanan çalışmalar mevcuttur (152,185,195). Bakım

maliyetlerinin düşük olması, molar dişlerin periodonsiyumunun benzerliği ve DP modelinde yaygın olarak kullanılmalarından dolayı çalışmamızda ratlar kullanılarak ligatürle indüklenmiş DP modeli uygulandı.

Periodontitis KAK, AKK, patolojik cep oluşumu ile karakterize periodonsiyumun inflamatuvar hastalığıdır (2). Periodontitiste yıkımın sebebi konağın inflamasyona verdiği aşırı tepkidir (196). Günümüzde oksidatif stresin periodontal hastalıktaki rolü dikkate alındığında antioksidanlar kullanılarak periodonsiyumun yumuşak ve sert doku yıkımı önlenmeye veya azaltılmaya çalışılmıştır (197). Literatür incelendiğinde periodontitisin etkilerini önlemek veya azaltmak için galik asit, timokinon, koenzim q, mangiferin, verbascoside, resveratrol, melatonin, flavonoidler gibi saf bileşiklerin yanı sıra, propolis ve üzüm çekirdeği gibi bitki özütleri de kullanılmıştır (26,86,191,198–204). Periodontal hastalıkta kullanılan antioksidan ve antiinflamatuvarların proinflamatuvar sitokinleri gen transkripsiyonu ile baskıladığı ve doku yıkımını önlediği çalışmalarda rapor edilmiştir (14,197).

Flavonoidler, antiinflamatuvar, antioksidan, antialerjik, antikarsinojenik ve antiviral aktiviteleri içeren çeşitli biyoaktiviteleri ile iyi tanınan bileşiklerdir (203). Bir flavonoid türü olan rutin (vitamin p) in’de farmasötik ve terapötik özellikleri bulunmaktadır (130). Antikonvülsan, antikanserojenik, antidepresan, antidiyabetik, antihiperkolesterolemik, antihipertansif, koagülatif, analjezik, antiartritik, nefroprotektif etkileri yapılan araştırmalarda rapor edilmiştir (121,153,205–211). Kyung ve ark. (212) in vitro çalışmalarında farelerden alınan kültürlerde TNF- α , RANKL ve osteoklast değerleri incelenmiştir. Farklı dozlarda rutin uygulanmış olup yüksek doz rutin uygulanan grupta bu değerlerin anlamlı derecede azaldığı rapor edilmiştir. Taşlı ve ark. (213) 18 rat ile yaptığı çalışmalarında sisplatin verilerek optik sinir hasarı oluşturulmuş, bir gruba rutin verilerek serumda MDA, GPX, SOD, IL-1 β , TNF- α seviyeleri incelenmiştir. Rutinin uygulandığı grupta serum MDA, IL-1 β , TNF- α seviyeleri artışı azaltmış, GPX ve SOD’u arttırmıştır (213). Kandemir ve ark. (214) çalışmalarında ratlara Gentamisin verilerek renal hasar oluşturulmuş daha sonra rutin verilerek böbrek dokuda MDA, SOD, GPX, CAT, iNOS seviyelerine etkileri incelenmiştir. MDA seviyesinin azaldığı iNOS’un inhibe edildiği, doku GPX, SOD, CAT seviyesini arttırdığı rapor edilmiştir (214). Alsaif ve ark. (215) diyabetli ratlar ile yaptığı çalışmalarında rutin ve c vitamini verilerek böbrek dokuda MDA, GPX, SOD, CAT incelenmiştir. Bu iki vitaminin MDA’yı azalttığı, GPX, SOD ve CAT seviyesini arttırdığı rapor edilmiştir (215). Rutini diyet içeriğinde kullanan ya da oral gavaj yoluyla uygulayan çalışmalar da rapor edilmiştir (208,216). Al-Rejaie ve

ark. (208) çalışmalarında deneysel olarak yüksek kolesterol diyeti uygulanmış ratlarda rutini diyet içeriğinde uygulamışlar ve karaciğer fonksiyonlarını incelemişlerdir. Rutinin GPX seviyesini arttırdığı gözlenmiştir. Wang ve ark. (216) çalışmalarında rat interstisyel fibrozis modeli oluşturup rutin uygulayarak IL-1 β , TNF- α seviyelerini incelemişlerdir. Rutin uygulanan hastalıklı grupta uygulanmayan hastalıklı gruba göre anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Bildiğimiz kadarıyla periodontal hastalıkta rutinin etkilerini inceleyen deneysel ve klinik çalışma mevcut değildir. Bundan dolayı çalışmamızda deneysel periodontitis oluşturduktan sonra rutini oral gavaj yoluyla vererek antioksidan antiinflamatuvar özelliklerinin dokuda ELISA; IL-1 β , IL-10, GPX, SOD, MDA ve Spektrofotometrik Analiz; TAS, TOS, OSİ seviyelerine etkisi ve AKK etkisini inceledik.

Periodontitiste konaktan inflamasyona tepki amaçlı IL-1 β , TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinler salınmaktadır (63,217,218). IL-1 β periodontal dokularda monosit/makrofaj, polimorfonükleer lökosit, fibroblast, epitelyal hücreler, endotelyal hücreler tarafından sentezlenir (219). IL-1 β osteoklastların farklılaşmasını uyarır ve alveolar kemik rezorpsiyonunu başlatır (47). Osteoklast öncü hücrelerinin yüzeyinde bulunabilen RANK, osteoblastlarda, stromal hücrelerde ve T lenfosit hücre yüzeyinde RANKL-OPG, etkileşimiyle kemiğin remodelasyonu için anahtar moleküllerdir. Bu moleküllerin etkileşimi osteoklastların aktivasyonuna, farklılaşmasına ve kemik rezorpsiyonuna yol açar (47). Periodontitis ile ilgili çalışmaların bir kısmında periodontitis grubunda kontrollere göre IL-1 β 'nin arttığını rapor ederken bir kısmı da değişmediğini rapor etmiştir (220–223). Mengel ve ark. (220) çalışmalarında tedavi edilen ve edilmeyen agresif periodontitis hastalarında IL-1 β seviyesini incelemişlerdir. IL-1 β seviyesi açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Wilton ve ark. (221) çalışmalarında 37 kronik periodontitis hastasının 58 bölgesinden alınan DOS örneklerinde IL-1 β seviyesini incelemişlerdir. IL-1 β ile cep derinliği arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ma ve ark. (222) çalışmalarında rat ligatürle indüklenmiş DP modeli oluşturulmuş, farklı maksiller ve mandibular molar dişler ligatürlenmiş ve alınan doku örneklerinde IL-1 β seviyeleri incelenmiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Gorska ve ark. (223) çalışmalarında 25 sağlıklı 25 kronik periodontitis hastası bireylerden doku ve kan örnekleri almış olup IL-1 β , IL-10, IL-1 β /IL-10 seviyeleri incelenmiştir. Kronik periodontitis grubunda sağlıklı gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek IL-1 β ve IL-1 β /IL-10, anlamlı derecede düşük IL-10 seviyesi bulunmuştur. Gugliandolo ve ark. (224) çalışmalarında ratlara farklı dozlarda bergamot suyu verilerek IL-1 β seviyesine bakılmıştır. Ligatürlenilen salin grubuna kıyasla bergamot suyu verilen

ligatürlü grupta IL-1 β seviyesi anlamlı derecede azalmıştır. Kang ve ark. (158) çalışmalarında *Persicaria rhizomae* özütü verilerek doku da IL-1 β , TNF- α seviyesi incelenmiştir. IL-1 β , TNF- α seviyesi özüt verilen grupta anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Çalışmamızda IL-1 β seviyesi DP grubunda hafif yüksek çıkmasına rağmen gruplar arası anlamlı fark bulunmadı.

IL-10, IL-1 β 'nin etkisiyle oluşan proinflamatuvar, immunoproliferatif durumu baskılamaktadır (72,225). Aktivasyondan sonra T-hücreleri, B-hücreleri, monositler/makrofajlar tarafından üretilir (226). Aterosklerozda koruyucu ve önleyici etkilerinin olduğu düşünülmektedir (227). *P. gingivalis*'e bağlı artan IL-10 üretimiyle IL-12 üretimini ve dolayısıyla Th1 hücrelerini baskılamaktadır (228). Periodontitiste artan IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α 'nın üretimi IL-10 yoluyla inhibe edilir (229). Ayrıca MMP-8, kollajenaz gibi kemik rezorbsiyonuna sebebiyet veren enzimleri inhibe eder (230). IL-10'un kemik homeostazında etkili olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (231–233). Periodontitise bağlı olarak IL-10 seviyesinin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (234). Ebersole ve ark. periodontisin farklı zaman dilimlerinde sitokin seviyelerini incelemişler ve başlangıçtan gerilemeye doğru gidildiğinde IL-10 seviyesinin azaldığını tespit etmişlerdir (235). Passoja ve ark. çalışmalarında serum IL-10 seviyelerini incelemişler periodontitis hastalarının IL-10 seviyelerini kontrol grubuna göre düşük gözlemlemişlerdir (236). Grover ve ark. (237) çalışmalarında periodontitisli hastalara bölgesel olarak Simvastatin uygulamışlar ve DOS IL-10 seviyelerini incelemişlerdir. Simvastatin verilen grupta IL-10 seviyesi yüksek çıkmasına rağmen anlamlı fark oluşmamıştır (237). Reis ve ark. (238) peridontal tedavi sonrası periodontitis hastalarında IL-10 seviyesinde değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. Gautam ve ark. (239) çalışmalarında metotreksat ile rat toksisite modeli oluşturup rutin uygulayarak doku IL-10 seviyesini incelemişlerdir. Yüksek doz rutin verilen metotreksat grubunda toksik kontrol (yalnızca metotreksatlı) grubuna kıyasla IL-10 seviyesi anlamlı derecede yüksek bulundu (239). Çalışmamızın IL-10 seviyesi sadece R-100 grubunda DP grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Bulgularımız önceki çalışmalarla uyumlu olup yüksek doz rutin ile IL-10 seviyesinin artabileceği görüşü savunulmaktadır.

Lipit peroksidasyonu kronik inflamatuvar hastalıklarda önemli bir belirteçdir. TBARS, MDA, İzoprostanlar lipit peroksidasyonunun belirteçleridir (240). Lipit peroksidasyonun periodontitise etkisi çalışmalarda incelenmiştir (102,241). Serum, DOS, doku, tükürük örneklerinde lipit peroksidasyon seviyelerinin kronik periodontitis hastalarında periodontal olarak sağlıklı kontrollere göre daha yüksek seviyede olduğu

rapor edilmiştir (118,241–244). Serum MDA seviyelerinde değişiklik olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (245–247). Khalili ve ark. (248) çalışmalarında periodontitis grubunda daha yüksek MDA seviyesi tespit etmişleridir. Gül ve ark. (247) çalışmalarında rat sepsis modeli oluşturulmuş ve serum MDA düzeyinin hastalıkta değişmediğini rapor etmişlerdir. Oboh ve ark. (249) ratlarda kadmiyum ile sinir hasarı oluşturduktan sonra rutin uygulamışlar ve MDA düzeyinin hastalıklı kontrollere göre azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda dişeti MDA düzeyinin DP grubu SK grubu ile kıyaslandığında biraz yüksek olduğu fakat gruplar arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir. Rutinin uygulanan dozlarda doku MDA düzeyine etki etmediği görüldü.

Antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan SOD, hücrelere zarar veren süperoksit radikalini etkisizleştirir (250). Heparine, Tip 1 kollajene, böbrek, beyin, kalp dokularına bağlanabilmesi sebebiyle ateroskleroz, hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve diyabetik vaskülopati gibi hastalıkların önlenebileceği düşünülmektedir (251). Yapılan hayvan ve insan çalışmalarında serum, doku, DOS, tükürük örneklerinde SOD düzeyi incelenmiştir (113,190,241,242,252–255). Periodontitiste hastalığa bağlı olarak SOD aktivitesinin arttığını (241,242,255,256) veya azaldığını (87,257) gösteren bulgular rapor edilmiştir. Sobaniec ve ark. (113) DP oluşturulmuş ratlarda sağlıklı olanlara göre daha düşük SOD, GPX seviyesi tespit edilmiştir. Çanakçı ve ark. (112) 30 sağlıklı, 30 kronik periodontitis hastasında yaptıkları çalışmalarında kronik periodontitis hastası bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek MDA ve 8-OHdG, daha düşük SOD ve GPX seviyesi tespit etmişlerdir. Bunlardan farklı olarak Yağan ve ark. (114) çalışmalarında rat DP modeli oluşturmuşlar, DP grubunda sağlıklı gruba kıyaslandığında daha yüksek SOD seviyesi tespit edilmiştir. Antioksidan kullanılarak SOD aktivitesini arttıran çalışmalar da rapor edilmiştir (246,258). Safaei ve ark. (258) metotreksat ile rat hepatotoksisite modeli oluşturup gallik asit uygulamışlar ve MDA, SOD, GPX seviyelerini incelemişlerdir. Gallik asit uygulanan gruplarda artmış SOD ve GPX seviyesi gözlemlenmiştir. Karthick ve ark. (259) çalışmalarında rat myokard infarktüs modeli oluşturulup rutin uygulanan hastalıklı grupta uygulanmayan hastalıklı gruba göre artmış SOD seviyesi rapor etmişlerdir. Çalışmamızda SOD seviyesi DP grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük ve R-100 grubunda DP grubuna kıyasla artmıştır ($p<0.001$). Bu bulgular rutinin SOD seviyesini arttırdığını göstermektedir.

GPX, lipid peroksidasyon ürünlerini indirgeyerek onların vücutta zararlı etkilerine karşı savunma görevi görür (260). Periodontitis de artmış GPX düzeyi rapor edenlerle birlikte (116,241) azalmış rapor edenler mevcuttur (113,261). Huang ve ark. (117)

periodontitis hastalarında GPX seviyelerinin cep derinliği ve ataşman kaybı ile negatif korelasyon gösterdiğini periodontal tedavi sonrası ise GPX seviyesinin arttığını rapor etmişlerdir. Antioksidan uygulanarak GPX seviyesinin arttığını rapor eden çalışmalar (246,258,262) ile birlikte periodontal hastalıkta GPX seviyesinin değişmediğini rapor eden çalışma da mevcuttur (118). Taş ve ark. (246) çalışmalarında rat iskemi-reperfüzyon modeli oluşturup MDA, SOD, GPX seviyelerini incelemişler melatonin ve timokinon uygulamasıyla GPX ve SOD seviyesinin arttığını gözlemlemişlerdir. Borges ve ark. (263) yapmış oldukları klinik çalışmada periodontitis hastalarında artmış GPX seviyesi rapor etmişlerdir. Özdem ve ark. (264) çalışmalarında rat DP modeli oluşturup melatonin uygulamışlar kalp dokuda MDA, SOD, GPX seviyelerini incelemişler ve GPX seviyesinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Yine Isai ve ark. (265) çalışmalarında rat katarakt modeli oluşturulup rutin uygulamasıyla artmış GPX seviyesi bildirmişlerdir. Çalışmamızda rutin uygulaması ile DP grubuna kıyasla R-100 grubunda GPX seviyesi anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Rutinin GPX seviyesini arttırdığı gözlemlendi.

Oksidatif stres metabolizmadaki prooksidan/antioksidan dengesinin serbest prooksidan lehine değişmesi olarak tanımlanmıştır (81). Tip 2 diyabet, inme, kronik akciğer hastalığı gibi periodontitis ile ilişkili hastalıkların patogenezinde rol oynar (266–268). Periodontitis'in patogenezinde oksidatif stresin olduğuna dair bulgular mevcuttur (14). Brock ve ark. (269) yapmış olduğu bir çalışmada 20 sağlıklı kontrol, 20 sigara kullanmayan kronik periodontitis hastasının DOS, tükürük ve kan örnekleri alınarak TAS değerlerini incelemişlerdir. DOS, TAS değeri sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitis grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Periodontitis grubunda tükürük TAS değerleri de daha düşük olmasına rağmen, sadece plazma düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur. Sağlıklı deneklerin DOS antioksidan konsantrasyonu, eşleştirilmiş serum veya plazmadan önemli ölçüde daha yüksekti (269). Kara ve ark. (86) çalışmalarında deneysel periodontitis oluşturulmuş, farklı konsantrasyonlarda üzüm çekirdeği özütlü uygulamışlardır. Özütlü alan gruplarda serum TAS değeri anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir. TOS, OSI, Osteokalsin ve AKK gruplar arası anlamlı fark bulunmamıştır (86). Gao ve ark. (125) çalışmalarında rutin uygulanıp TAS değeri incelenmiş, uygulanmayan hasta gruba göre yüksek bulunmuştur. Farcas ve ark. (270) ratlarda terebentin yağı ile inflamasyon oluşturmuşlar rutin ve kırmızı kantaron uygulayarak TOS, TAS, OSI değerini incelemişlerdir. OSI değeri inflamasyon grubunda kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (270). Çalışmamızda doku TOS seviyesi DP grubunda SK grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.001$), TAS

seviyesi açısından SK grubu R-50 grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). OSI değeri açısından DP ile SK ($p<0.001$), DP ile R-50 ($p<0.05$), DP ile R-100 ($p<0.001$) grubu arasında anlamlı fark bulundu. Bu bilgilerden yola çıkarak rutinin periodontal hastalıkta antioksidan etkisinden faydalanılabileceği sonucuna varıldı.

Günümüz diş hekimliğinde inflamatuvar, neoplastik, osteolitik lezyonların izlenmesi için mikro-BT önem kazanmıştır (271). Geleneksel optik ve elektron mikroskopisi ile numunenin yüzeyi veya ince kesitlerinden elde edilen iki boyutlu görüntüler, üç boyutlu bir yapı modeline dönüştürülebilir (272). Ancak, üç boyutlu nesnenin orijinal yapısı hakkında iki boyut bilgisine dayanarak bir sonuç çıkartılamaz. Ayrıca bu yöntemin kullanışsızlığı, zaman alması ve nesnenin kesitleri arasındaki uzaklık bilgisinin kaybolması gibi dezavantajları bulunmaktadır (273). Mikro-BT ve BT'nin, geleneksel in-vitro görüntüleme yöntemlerine göre önemli avantajları vardır. Görüntüleme prosedürü zararsızdır, aynı numunenin iç özellikleri birçok kere incelenebilir ve taramadan sonra ek biyolojik ve mekanik testler için uygun hale getirilebilir (274). Elde edilen veriler, üç boyutlu veya iki boyutlu olarak kaydedilebilir, nitel veya nicel analizler için kullanılabilir. Bununla birlikte, numunenin mikro-BT ile taranması ve üç boyutlu modelinin oluşturulması için belirli bir zaman gerekmesi ayrıca yöntemin pahalı olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (275). Bu özelliklerinden faydalanarak periodontal ve periradiküler kemik yıkımı, kemik hacminin ölçümü, diş yüzey özelliklerinin incelenmesinde mikro-BT kullanılmıştır (276,277). Chang ve ark. (278) çalışmalarında DP oluşturmuşlar ve ligatürlenlen gruplardan ikisine farklı dozlarda paeonol uygulanarak IL-1 β , IL-6, TNF- α seviyeleri ve AKK incelenmiştir. Ligatürlenmiş paeonol gruplarında alveoler kemik destek oranı mikro-BT ve dental radyografi ile değerlendirilmiş sadece ligatürlenmiş gruba göre daha yüksek, ligatürlenmemiş kontrol grubuna göre düşük gözlenmiştir (278). Bak ve ark. (279) çalışmalarında Metformin'in AKK etkisi mikro-BT ile değerlendirilmiştir. Metformin grubunda kemik hacmi anlamlı derecede artmıştır. Galal ve ark. (151) post menopozal osteoporotik kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben omega-3 yağ asitleri ile birlikte rutin + c vitamini uygulamışlar ve AKK, klinik ataçman seviyesi ve cep derinliği ölçmüşlerdir. Omega 3 ile birlikte uygulanan grupta tedavi sonrası bu parametrelerde anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Çalışmamızda mikro-BT'nin avantajlarından faydalanılarak rutinin AKK etkisi incelendi. AKK değeri DP grubunda SK grubuna kıyasla ve R-100 grubunda SK grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.001$). Çalışmamızda rutin kullanımının doza bağımlı olarak alveoler kemik yıkımını önleyebileceği ve

inflatuar/oksidatif parametreleri iyileştirebileceği sonucuna ulaşıldı. Rutinin doza bağlı etkilerini görebilmek için daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda uyguladığımız deneysel periodontitis modelinde dişeti IL-1 β ve MDA seviyelerinde istatistiksel anlamlı fark bulunmadı.

Öte yandan rutin 100 mg/kg dozunda verildiğinde DP grubuna göre IL-1 β /IL-10 oranının azaltarak IL-10, GPX ve SOD seviyelerini artırması yüksek doz rutinin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmayı güçlendirebileceği sonucuna varıldı.

TOS değerinin DP grubunda SK grubuna kıyasla yüksek olması periodontitisle artan ROT ve serbest radikallerin etkisiyle açıklanabileceğini düşündürdü. Ayrıca rutin verilen gruplar ile SK grubu arasında TOS açısından fark olmaması, rutinin her iki dozda da total oksidatif seviyeyi azaltabileceğini gösterdi. TAS değerinin SK grubunda R-50 grubuna göre anlamlı derecede yüksek çıkması, rutinin total antioksidan seviyeyi doza bağımlı olarak etkileyebileceği sonucuna varıldı. OSİ'nin DP grubunda diğer gruplara göre yüksek bulunması ve rutin verilen gruplar ile SK grubu arasında OSİ açısından fark olmaması rutinin her iki dozda da OSİ'yi anlamlı derecede azaltabileceğini gösterdi.

AKK'nın DP grubunda SK grubuna göre, R-100 grubunda SK grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması ve R-50 grubu ile SK arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaması Rutin kullanımının doza bağımlı olarak alveoler kemik yıkımını önleyebileceği sonucuna ulaşıldı.

Tüm bu sonuçlara dayanarak rutinin terapötik etkileri sebebiyle periodontitis tedavisinde kullanılabileceği, fakat rutinin doza bağlı etkilerini görebilmek için daha çok araştırmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1992;3(1–2):31–60.
2. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000.* 1997;13(1):91–120.
3. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: Diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(4):727–52.
4. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: Communities, conflict and control. *Periodontol 2000.* 2011;55(1):16–35.
5. Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 2001;9(1):34–9.
6. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol 2000.* 2013;61(1):16–53.
7. Agrawal S, Agrawal A, Doughty B, Gerwitz A, Blenis J, Van Dyke T, Pulendran B. Cutting Edge: Different Toll-Like Receptor Agonists Instruct Dendritic Cells to Induce Distinct Th Responses via Differential Modulation of Extracellular Signal-Regulated Kinase-Mitogen-Activated Protein Kinase and c-Fos. *J Immunol.* 2003;171(10):4984–9.
8. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001;25(1):8–20.
9. Lindhe J, Socransky SS. Chemotaxis and vascular permeability produced by human periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res.* 1979;14(2):138–46.
10. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med.* 2013;15:1–22.
11. Hou LT, Liu CM, Liu BY, Lin SJ, Liao CS, Rossomando EF. Interleukin-1 β , clinical parameters and matched cellular- histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2003;38(3):247–54.
12. Scarel-Caminaga RM, Trevisatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LEA, Line SRP. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2004;31(6):443–8.
13. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* 1997;14:9–11.
14. Chapple ILC, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in

- periodontal tissue destruction. *Periodontol* 2000. 2007;43(1):160–232.
15. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. 2004 May 1;142(2):231–55.
 16. Lean JM, Davies JT, Fuller K, Jagger CJ, Kirstein B, Partington GA, Urry ZL, Chambers TJ. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J Clin Invest*. 2003;112(6):915–23.
 17. Bostanci V, Toker H, Senel S, Ozdemir H, Aydin H. Effect of Chronic Periodontitis on Serum and Gingival Crevicular Fluid Oxidant and Antioxidant Status in Patients With Familial Mediterranean Fever Before and After Periodontal Treatment. *J Periodontol*. 2014;85(5):706–12.
 18. Sailaja Rao P, Kalva S, Yerramilli A, Mamidi S. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals Antioxidants*. 2011;1(4):2–7.
 19. Jaspers I, Zhang W, Brighton LE, Carson JL, Styblo M, Beck MA. Selenium deficiency alters epithelial cell morphology and responses to influenza. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(12):1826–37.
 20. Yang J, Guo J, Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Sci Technol*. 2008;41(6):1060–6.
 21. Calabrò ML, Tommasini S, Donato P, Stancanelli R, Raneri D, Catania S, Costa C, Villari V, Ficarra P, Ficarra R. The rutin/ β -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: Spectroscopic studies and biological assays. *J Pharm Biomed Anal*. 2005;36(5):1019–27.
 22. Zwirter de Oliveira IRW, Fernandes SC, Vieira IC. Development of a biosensor based on gilo peroxidase immobilized on chitosan chemically crosslinked with epichlorohydrin for determination of rutin. *J Pharm Biomed Anal*. 2006;41(2):366–72.
 23. Webster RP, Gawde MD, Bhattacharya RK. Protective effect of rutin, a flavonol glycoside, on the carcinogen-induced DNA damage and repair enzymes in rats. *Cancer Lett*. 1996;109(1–2):185–91.
 24. La Casa C, Villegas I, Alarcón De La Lastra C, Motilva V, Martín Calero MJ. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*. 2000;71(1–2):45–53.
 25. Guo R, Wei P, Liu W. Combined antioxidant effects of rutin and Vitamin C in Triton X-100 micelles. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;43(4):1580–6.

26. Tamaki N, Cristina Orihuela-Campos R, Inagaki Y, Fukui M, Nagata T, Ito HO. Resveratrol improves oxidative stress and prevents the progression of periodontitis via the activation of the Sirt1/AMPK and the Nrf2/antioxidant defense pathways in a rat periodontitis model. *Free Radic Biol Med*. 2014;75:222–9.
27. Page RC, Engel LD, Narayanan AS, Clagett JA. Chronic Inflammatory Gingival and Periodontal Disease. *JAMA J Am Med Assoc*. 1978;240(6):545–50.
28. Ku SK, Cho HR, Sung YS, Kang SJ, Lee YJ. Effects of Calcium Gluconate on Experimental Periodontitis and Alveolar Bone Loss in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2011;108(4):241–50.
29. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global Burden of Severe Tooth Loss: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*. 2014;93(July):20S–28S.
30. Ilhan D, Oktay I, Nur B, Fisekcioglu E, Lim S, Lepkowski JM, Ismail AI. Percentage and severity of periodontal diseases in Turkish adults aged 35+ years, 2009-10. *J Public Health Dent*. 2017;77(4):325–33.
31. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1–6.
32. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*. 2018;89(S1):S1–8.
33. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol*. 2018;45(January):S149–61.
34. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile W V., Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kebschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, et al. 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(March):S173–82.
35. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease: a summary of current work. Vol. 34, *Laboratory Investigation*. 1976. p. 235–49.
36. Hornef MW, Wick MJ, Rhen M, Normark S. Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2002;3(11):1033–40.

37. Fiorellini JP, Kim D, Chang Y-C. Biofilm and periodontal microbiology. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 2018. 19 p.
38. Palmer RJ, Gordon SM, Cisar JO, Kolenbrander PE. Coaggregation-mediated interactions of streptococci and actinomyces detected in initial human dental plaque. *J Bacteriol.* 2003;185(11):3400–9.
39. Listgarten MA. Structure of the Microbial Flora Associated with Periodontal Health and Disease in Man: A Light and Electron Microscopic Study. *J Periodontol.* 1976;47(1):1–18.
40. Bassler BL. How bacteria talk to each other: Regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2(6):582–7.
41. Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies Interactions within Oral Microbial Communities. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2007;71(4):653–70.
42. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5721–32.
43. Gibbons RJ, Nygaard M. Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Arch Oral Biol.* 1970;15(12):1397–400.
44. Lo Giudice G, Nicita F, Militi A, Bertino R, Matarese M, Currò M, Damiano CS, Mannucci C, Calapai G. dentistry journal Correlation of s-IgA and IL-6 Salivary with Caries Disease and Oral Hygiene Parameters in Children.
45. Crawford JM, Taubman MA, Smith DJ. Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science* (80-). 1975;190(4220):1206–8.
46. Schei O, Waerhaug J, Lovdal A, Arno A. Alveolar Bone Loss as Related to Oral Hygiene and Age. *J Periodontol.* 1959;30(1):7–16.
47. Taubman MA, Valverde P, Han X, Kawai T. Immune Response: The Key to Bone Resorption in Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2005;76(11-s):2033–41.
48. Rubin J, Greenfield EM. Osteoclast: Origin and Differentiation. *Bone Resorpt.* 2005;1–23.
49. Lerner UH. Osteoclast formation and resorption. *Matrix Biol.* 2000;19(2):107–20.
50. Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2010;53(1):55–69.
51. Teitelbaum SL. Osteoclasts: What do they do and how do they do it? *Am J Pathol.* 2007;170(2):427–35.
52. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R,

- Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998;93(2):165–76.
53. Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N, Yamaguchi K, Yasuda H, Shima N, Morinaga T, Toyama Y, Yabe Y, Higashio K, Suda T. Osteoclast Differentiation Factor (ODF) Induces Osteoclast-like Cell Formation in Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Cultures. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 May 8;246(1):199–204.
 54. Mizuno A, Kanno T, Hoshi M, Shibata O, Yano K, Fujise N, Kinoshita M, Yamaguchi K, Tsuda E, Murakami A, Yasuda H, Higashio K. Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2002;20(6):337–44.
 55. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*. 1998;12(9):1260–8.
 56. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor κ B ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res*. 2002;17(2):210–20.
 57. Sakata M, Shiba H, Komatsuzawa H, Fujita T, Ohta K, Sugai M, Suganaka H, Kurihara H. Expression of osteoprotegerin (osteoclastogenesis inhibitory factor) in cultures of human dental mesenchymal cells and epithelial cells. *J Bone Miner Res*. 1999;14(9):1486–92.
 58. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503–8.
 59. Akdoğan M, Yöntem M. Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilim Derg*. 2018;36–45.
 60. Jackson TH. *The Journal*. *Br Med J*. 1859;s4-1(148):880.
 61. Yi-June L, Cheing-Meei L, Man-Ying W, Wei-Kuei C. Interleukin 1 β -secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. *Cytokine*. 1999 Aug 1;11(8):626–33.
 62. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res*. 1989;24(6):362–7.

63. 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.
64. Zhang J-M, An J. Cytokines, Inflammation and Pain.
65. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell.* 2010;140(6):883–99.
66. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117(4):1162–72.
67. Lalani I, Bhol K, Ahmed AR. Interleukin-10: Biology, role in inflammation and autoimmunity. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 1997;79(6):469–84.
68. Kaluza W, Leirisalo-Repo M, Märker-Hermann E, Westman P, Reuss E, Hug R, Mastrovic K, Stradmann-Bellinghausen B, Granfors K, Galle PR, Höhler T. IL 10.G microsatellites mark promoter haplotypes associated with protection against the development of reactive arthritis in finnish patients. *Arthritis Rheum.* 2001;44(5):1209–14.
69. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. In: *Journal of Clinical Periodontology.* 2005. p. 87–107.
70. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997;14(1):112–43.
71. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. Vol. 9, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine.* 1998. p. 248–66.
72. Zhang Q, Chen B, Yan F, Guo J, Zhu X, Ma S, Yang W. Interleukin-10 inhibits bone resorption: A potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
73. Luo Y, Gong Y, Yu Y. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms are associated with cyclosporin A-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. *Arch Oral Biol.* 2013;58(9):1199–207.
74. Atanasovska-Stojanovska A, Trajkov D, Popovska M, Spiroski M. IL10 -1082, IL10 -819 and IL10 -592 polymorphisms are associated with chronic periodontitis in a Macedonian population. *Hum Immunol.* 2012;73(7):753–8.
75. Fiorini T, Musskopf ML, Oppermann RV, Susin C. Is There a Positive Effect of Smoking Cessation on Periodontal Health? A Systematic Review. *J Periodontol.* 2014;85(1):83–91.
76. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. *Free*

Radicals Biol Med. 2015;

77. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med*. 2002;33(9):1173–85.
78. Zhang Y, Marcillat O, Giulivi C, Ernster L, Davies KJA. The oxidative inactivation of mitochondrial electron transport chain components and ATPase. *J Biol Chem*. 1990;265(27):16330–6.
79. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *Ukr Biochem J*. 2015 Dec 27;87(6):11–8.
80. Sies H. Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Exp Physiol*. 1997;82(2):291–5.
81. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(5):1147–50.
82. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1103–11.
83. Canakci CF, Cicek Y, Canakci V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biyokimya*. 2005;70(6):751–61.
84. Işık A, Selek S. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. *F Ü Sağ Bil Tıp Derg*. 2007;21(2):67–73.
85. Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, Akalın FA. 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):1432–41.
86. Kara M, Kesim S, Aral CA, Elmali F. Effect of grape seed extract upon plasma oxidative status and alveolar bone, in ligature induced periodontitis. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2013;27(5):4131–6.
87. Baltacıoğlu E, Akalın FA, Alver A, Balaban F, Ünsal M, Karabulut E. 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):385–92.
88. Konopka T, Król K, Kopeć W, Gerber H. 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):417–25.
89. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-

- mediated protein oxidation. *Biochem J.* 1997;324(1):1–18.
90. Box HC, Freund HG, Budzinski EE, Wallace JC, MacCubbin AE. Free Radical-Induced Double Base Lesions. *Radiat Res.* 1995 Jan;141(1):91.
 91. Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. *Free Radic Res.* 1989;7(3–6):121–8.
 92. Halliwell B, Dizdaroglu M. Commentary the measurement of oxidative damage to DNA by HPLC and GC/MS techniques. *Free Radic Res.* 1992;16(2):75–87.
 93. Ozawa T. Mitochondrial DNA mutations in myocardial diseases. *Eur Heart J.* 1995 Dec 2;16:10–4.
 94. Sugano N, Kawamoto K, Numazaki H, Murai S, Ito K. Detection of mitochondrial DNA mutations in human gingival tissues. *J Oral Sci.* 2000;42(4):221–3.
 95. Ertekin A. Köpeklerde Gentamisin Nefrotoksikosisinde Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler, Antioksidan Vitaminler ve Bazı HematolojikBiyokimyasal Parametre Düzeylerinin Araştırılması. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2003 Mar 1;27(3):535–40.
 96. Young IS, McEneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc Trans.* 2001 May 1;29(2):358–62.
 97. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fakültesi Derg.* 2004;15(1):91-96–96.
 98. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem.* 1997 Jul 1;43(7):1209–14.
 99. Buege JA, Aust SD. [30] Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978 Jan 1;52(C):302–10.
 100. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990 Jan 1;9(6):515–40.
 101. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186(C):421–31.
 102. Tüter G, Kurtiş B. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001;(July):883–8.
 103. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric*

- Food Chem. 1999;47(10):3954–62.
104. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med*. 1999;27(11–12):1173–81.
 105. Sandström J, Nilsson P, Karlsson K, Marklund SL. 10-Fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *J Biol Chem*. 1994;269(29):19163–6.
 106. Sun E, Xu H, Liu Q, Zhou J, Zuo P, Wang J. The mechanism for the effect of selenium supplementation on immunity. *Biol Trace Elem Res*. 1995;48(3):231–8.
 107. Meier B, Scherk C, Schmidt M, Parak F. pH-dependent inhibition by azide and fluoride of the iron superoxide dismutase from *Propionibacterium shermanii*. *Biochem J*. 1998;331(2):403–7.
 108. Vance CK, Miller AF. Spectroscopic comparisons of the pH dependencies of Fe-substituted (Mn)superoxide dismutase and Fe-superoxide dismutase. *Biochemistry*. 1998;37(16):5518–27.
 109. MacMillan-Crow LA, Crow JP, Thompson JA. Peroxynitrite-mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues. *Biochemistry*. 1998;37(6):1613–22.
 110. Stralin P, Marklund SL. Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. *Biochem J*. 1994;298(2):347–52.
 111. Mates JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 1999 Nov;32(8):595–603.
 112. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine and Malondialdehyde and its Relationship with Antioxidant Enzymes in Saliva of Periodontitis Patients. *Eur J Dent*. 2009;03(02):100–6.
 113. Sobaniec H, Sobaniec-Lotowska ME. Morphological examinations of hard tissues of paradontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit*. 2000;6(5):875–81.
 114. Yağan A, Kesim S, Liman N. Effect of Low-Dose Doxycycline on Serum Oxidative Status, Gingival Antioxidant Levels, and Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis in Rats. *J Periodontol*. 2014;85(3):478–89.
 115. Imai H, Narashima K, Arai M, Sakamoto H, Chiba N, Nakagawa Y. Suppression

- of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J Biol Chem*. 1998;273(4):1990–7.
116. Wei PF, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 β in gingival crevicular fluid: Implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2004;39(5):287–93.
 117. Huang P, Su T, Wang H. [The relationship between GPx activity in gingival fluid and clinical parameters of adult periodontitis]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2000;18(2):106—108.
 118. Cc T, Hs C, Sl C, Yp H, Ky H, Ym W, Cc H. Lipid peroxidation : a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2005;40(5):378–84.
 119. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(5):727–47.
 120. Hollman PCH, Katan MB. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother*. 1997;51(8):305–10.
 121. Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmacol*. 2001;56(9):683–7.
 122. Gao Z, Xu H, Chen X, Chen H. Antioxidant status and mineral contents in tissues of rutin and baicalin fed rats. *Life Sci*. 2003;73(12):1599–607.
 123. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, Shibuya M, Fukami Y. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem*. 1987;262(12):5592–5.
 124. Constantinou A, Mehta R, Runyan C, Rao K, Vaughan A, Moon R. Flavonoids as DNA topoisomerase antagonists and poisons: Structure-activity relationships. *J Nat Prod*. 1995;58(2):217–25.
 125. Gao Z, Xu H, Huang K. Effects of rutin supplementation on antioxidant status and iron, copper, and zinc contents in mouse liver and brain. *Biol Trace Elem Res*. 2002;88(3):271–9.
 126. Marín FR, Frutos MJ, Pérez-Alvarez JA, Martínez-Sánchez F, Del Río JA. Flavonoids as nutraceuticals: Structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. *Stud Nat Prod Chem*. 2002;26(PART G):741–78.

127. Chen CC, Huang YL, Huang FI, Wang CW, Ou JC. Water-soluble glycosides from *Ruta graveolens*. *J Nat Prod*. 2001;64(7):990–2.
128. Frutos MJ, Rincón-Frutos L, Valero-Cases E. Rutin. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier Inc.; 2018. 111–117 p.
129. Ko Cevar Glava N, Stojilkovski K, Kreft S, Ho Park C, Kreft I. Determination of fagopyrins, rutin, and quercetin in Tartary buckwheat products. 2017;
130. Ganeshpurkar A, Saluja AK. The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharm J*. 2017;25(2):149–64.
131. Bornman JF, Gaberscik A, Sinha RP, Lebert M, He Y, Bakker NVJ De. The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems — an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. 2002;66:2–12.
132. Murakami M, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T. Effects of Thermal Treatment on Radical-scavenging Activity of Single and Mixed Polyphenolic Compounds. *J Food Sci*. 2004;69(1):7–10.
133. Dietrych-Szostak D, Oleszek W. Effect of processing on the flavonoid content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) grain. *J Agric Food Chem*. 1999;47(10):4384–7.
134. Manach C, Morand C, Demigné C, Texier O, Régéat F, Rémésy C. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *FEBS Lett*. 1997;409(1):12–6.
135. Shen SC, Lee WR, Lin HY, Huang HC, Ko CH, Yang LL, Chen YC. In vitro and in vivo inhibitory activities of rutin, wogonin, and quercetin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide and prostaglandin E₂ production. *Eur J Pharmacol*. 2002;446(1–3):187–94.
136. Tapas A, Sakarkar D, Kakde R. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Trop J Pharm Res*. 2008 Sep 11;7(3):213–38.
137. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996;20(7):933–56.
138. Lue BM, Nielsen NS, Jacobsen C, Hellgren L, Guo Z, Xu X. Antioxidant properties of modified rutin esters by DPPH, reducing power, iron chelation and human low density lipoprotein assays. *Food Chem*. 2010;123(2):221–30.
139. Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions.
140. Alam P, Parvez MK, Arbab AH, Al-Dosari MS. Quantitative analysis of rutin, quercetin, naringenin, and gallic acid by validated RP-and NP-HPTLC methods

for quality control of anti-HBV active extract of *Guiera senegalensis*.

141. Babazadeh A, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H. Phosphatidylcholine-rutin complex as a potential nanocarrier for food applications. *J Funct Foods*. 2017;33:134–41.
142. Chua LS. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*. 2013;150(3):805–17.
143. Bang S-H, Hyun Y-J, Shim J, Hong S-W, Kim D-H. Metabolism of Rutin and Poncirin by Human Intestinal Microbiota and Cloning of Their Metabolizing α -L-Rhamnosidase from *Bifidobacterium dentium*. *J Microbiol Biotechnol*. 2015 Jan 28;25(1):18–25.
144. Kim H, Kong H, Choi B, Yang Y, Kim Y, Lim MJ, Neckers L, Jung Y. Metabolic and Pharmacological Properties of Rutin, a Dietary Quercetin Glycoside, for Treatment of Inflammatory Bowel Disease.
145. Mascaraque C, López-Posadas R, Monte MJ, Romero-Calvo I, Daddaoua A, González M, Martínez-Plata E, Suárez MD, González R, Marín JJG, Zarzuelo A, Martínez-Augustin O, Sánchez de Medina F. The small intestinal mucosa acts as a rutin reservoir to extend flavonoid anti-inflammatory activity in experimental ileitis and colitis. *J Funct Foods*. 2015;13:117–25.
146. Diwan V, Brown L, Gobe GC. The flavonoid rutin improves kidney and heart structure and function in an adenine-induced rat model of chronic kidney disease. *J Funct Foods*. 2017 Jun 1;33:85–93.
147. Al-Shabib NA, Husain FM, Ahmad I, Khan MS, Khan RA, Khan JM. Rutin inhibits mono and multi-species biofilm formation by foodborne drug resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*. 2017;79:325–32.
148. Hu T, Yuan X, Ye R, Zhou H, Lin J, Zhang C, Zhang H, Wei G, Dong M, Huang Y, Lim W, Liu Q, Lee HJ, Jin W. Brown adipose tissue activation by rutin ameliorates polycystic ovary syndrome in rat. *J Nutr Biochem*. 2017;
149. Pan PH, Lin SY, Wang YY, Chen WY, Chuang YH, Wu CC, Chen CJ. Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats. *Free Radic Biol Med*. 2014;73:106–16.
150. Kim HH, Hyun H, Park H, Jeong J, Kim J, Kim H, Oh H, Hwang HS. Effects of watercress containing rutin and rutin alone on the proliferation and osteogenic differentiation of human osteoblast-like mg-63 cells. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014;18(4):347–52.

151. Galal MA, Zaki BM, Nassif N. The Effect of Omega-3 Fatty Acids on Chronic Periodontitis in Postmenopausal Osteoporotic Females. *Life Sci J*. 2014;11(September):1104–12.
152. Pontes Andersen CC, Buschard K, Flyvbjerg A, Stoltze K, Holmstrup P. Periodontitis Deteriorates Metabolic Control in Type 2 Diabetic Goto-Kakizaki Rats. *J Periodontol*. 2006;77(3):350–6.
153. Kamalakkannan N, Prince PSM. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;98(1):97–103.
154. Corrêa MG, Pires PR, Ribeiro F V., Pimentel SZ, Casarin RCV, Cirano FR, Tenenbaum HT, Casati MZ. Systemic treatment with resveratrol and/or curcumin reduces the progression of experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2017;52(2):201–9.
155. Aral CA, Aral K, Yay A, Özçoban Ö, Berdeli A, Saraymen R. Effects of colchicine on gingival inflammation, apoptosis, and alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2018;89(5):577–85.
156. Xu X, Chen H, Zhang X, Zhai Z, Liu X, Qin A, Lu E. Simvastatin prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis after ovariectomy. *J Transl Med*. 2014 Dec 1;12(1):284.
157. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004;37(4):277–85.
158. Kang SJ, Lee EK, Han CH, Lee BH, Lee YJ, Ku SK. Inhibitory effects of *Persicariae Rhizoma* aqueous extracts on experimental periodontitis and alveolar bone loss in sprague-dawley rats. *Exp Ther Med*. 2016;12(3):1563–71.
159. Uslu MÖ, Kırmızıgül ÖA, Öğütücü U. Periodontolojide Deney Hayvanı ve Hastalık Modelleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekim Fakültesi Derg*. 2019;148–55.
160. Weinberg MA, Bral M. Laboratory animal models in periodontology. *J Clin Periodontol*. 1999;26(6):335–40.
161. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011.
162. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental Animal Models in Periodontology: A Review. *Open Dent J*. 2010;4(1):37–47.
163. Oortgiesen DAW, Meijer GJ, Bronckers ALJJ, Walboomers XF, Jansen JA.

- Fenestration defects in the rabbit jaw: An inadequate model for studying periodontal regeneration. *Tissue Eng - Part C Methods*. 2010;16(1):133–40.
164. Ericsson I, Lindhe J, Rylander H, Okamoto H. Experimental periodontal breakdown in the dog. *Eur J Oral Sci*. 1975;83(3):189–92.
165. Attström R, Graf-de Beer M, Schroeder HE. Clinical and histologic characteristics of normal gingiva in dogs. *J Periodontal Res*. 1975;10(3):115–27.
166. T. G. Periodontal disease in dogs and cats. *Tijdschr Diergeneeskd*. 1992;117 Suppl(Table I):268–72.
167. Kornman KS, Siegrist B, Soskolne WA, Nukl K. The predominant cultivable subgingival flora of beagle dogs following ligature placement and metronidazole therapy. *J Periodontal Res*. 1981;16(3):251–8.
168. Matsson L, Attstrom R. Histologic characteristics of experimental gingivitis in the juvenile and adult beagle dog. *J Clin Periodontol*. 1979 Oct;6(5):334–50.
169. Giannobile W V., Finkelman RD, Lynch SE. Comparison of Canine and Non-Human Primate Animal Models for Periodontal Regenerative Therapy: Results Following a Single Administration of PDGF/IGF-I. *J Periodontol*. 1994 Dec 1;65(12):1158–68.
170. Kingt JD, Rowles SL, Little K, Thewlis J. Chemical and X-Ray Examination of Deposits Removed From the Teeth of Golden Hamsters and Ferrets. *J Dent Res* . 1955 Oct 9;34(5):650–60.
171. Harper DS, Mann PH, Regnier S. Measurement of Dietary and Dentifrice Effects Upon Calculus Accumulation Rates in the Domestic Ferret. *J Dent Res*. 1990;69(2):447–50.
172. Listgarten MA. Similarity of Epithelial Relationships in the Gingiva of Rat and Man. *J Periodontol*. 1975;46(11):677–80.
173. Listgarten MA, Johnson D, Nowotny A, Tanner ACR, Socransky SS. Histopathology of periodontal disease in gnotobiotic rats monoinfected with *Eikenella corrodens*. *J Periodontal Res*. 1978;13(2):134–48.
174. Duarte PM, Tezolin KR, Figueiredo LC, Feres M, Bastos MF. Microbial profile of ligature-induced periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2010;55(2):142–7.
175. Breivik T, Opstad PK, Gjermo P, Thrane PS. Effects of hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity on periodontal tissue destruction in rats. *Eur J Oral Sci*. 2000;108(2):115–22.
176. Taubman MA, Stoufi ED, Seymour GJ, Smith DJ, Ebersole JL. Immunoregulatory

- aspects of periodontal disease. *Adv Dent Res.* 1988;2(2):328–33.
177. Roeterink CH, van Steenberghe TJM, de Jong WFB, de Graaff J. Histopathological effects in the palate of the rat induced by injection with different black-pigmented *Bacteroides* strains. *J Periodontal Res.* 1984;19(3):292–302.
 178. Evans RT, Klausen B, Ramamurthy NS, Golub LM, Sfantescu C, Genco RJ. Periodontopathic potential of two strains of *Porphyromonas gingivalis* in gnotobiotic rats. *Arch Oral Biol.* 1992;37(10):813–9.
 179. Klausen B, Sfantescu C, Evans RT. Asymmetry in periodontal bone loss of gnotobiotic Sprague-Dawley rats. *Arch Oral Biol.* 1991;36(9):685–7.
 180. Yamashita K, Eastcott JW, Taubman MA, Smith DJ, Cox DS. Effect of adoptive transfer of cloned actinobacillus actinomycetemcomitans-specific T helper cells on periodontal disease. *Infect Immun.* 1991;59(4):1529–34.
 181. Semenoff TADV, Semenoff-Segundo A, Bosco ÁF, Nagata MJH, Garcia VG, Biasoli ER. Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: A comparison of histological section planes. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(4):251–6.
 182. Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Animal models for periodontal regeneration and peri-implant responses. *Periodontol 2000.* 2015;68(1):66–82.
 183. Beery AK, Zucker I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011;35(3):565–72.
 184. Klein SL, Schiebinger L, Stefanick ML, Cahill L, Danska J, De Vries GJ, Kibbe MR, McCarthy MM, Mogil JS, Woodruff TK, Zucker I. Opinion: Sex inclusion in basic research drives discovery. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(17):5257–8.
 185. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004;39(2):101–6.
 186. Ekuni D, Yamamoto T, Yamanaka R, Tachibana K, Watanabe T. Proteases augment the effects of lipopolysaccharide in rat gingiva. *J Periodontal Res.* 2003;38(6):591–6.
 187. Nilsson BO. Modulation of the inflammatory response by estrogens with focus on the endothelium and its interactions with leukocytes. *Inflamm Res.* 2007;56(7):269–73.
 188. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Turnage AA, Naftel JP, Johnson RB. Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009;44(1):133–40.

189. Caligioni CS. Assessing reproductive status/stages in mice. *Curr Protoc Neurosci.* 2009;(SUPPL. 48):1–8.
190. Di Paola R, Mazzon E, Rotondo F, Dattola F, Britti D, De Majo M, Genovese T, Cuzzocrea S. Reduced development of experimental periodontitis by treatment with M40403, a superoxide dismutase mimetic. *Eur J Pharmacol.* 2005;516(2):151–7.
191. Arabacı T, Kermen E, Özkanlar S, Köse O, Kara A, Kızıldağ A, Duman ŞB, Ibişoğlu E. Therapeutic Effects of Melatonin on Alveolar Bone Resorption After Experimental Periodontitis in Rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol.* 2015;86(7):874–81.
192. Zhou T, Chen D, Li Q, Sun X, Song Y, Wang C. Curcumin inhibits inflammatory response and bone loss during experimental periodontitis in rats. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(2):349–56.
193. Bezerra MM, Lima V De, Alencar VBM, Vieira IB, Brito GAC, Ribeiro R a, Rocha FAC. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibition Prevents Alveolar Bone Loss in. *J Periodontol.* 2000;(June):1009–14.
194. Goes P, Lima NA, Rodrigues JAG, Benevides NMB, Brito GAC, Lima V. Anti-inflammatory and anti-resorptive effects of atorvastatin on alveolar bone loss in wistar rats. *Braz Dent J.* 2016;27(3):267–72.
195. Di Paola R, Marzocco S, Mazzon E, Dattola F, Rotondo F, Britti D, De Majo M, Genovese T, Cuzzocrea S. Effect of aminoguanidine in ligature-induced periodontitis in rats. *J Dent Res.* 2004;83(4):343–8.
196. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):821–78.
197. Varela-López A, Bullón P, Giampieri F, Quiles JL. Non-nutrient, naturally occurring phenolic compounds with antioxidant activity for the prevention and treatment of periodontal diseases. *Antioxidants.* 2015;4(3):447–81.
198. Houde V, Grenier D, Chandad F. Protective Effects of Grape Seed Proanthocyanidins Against Oxidative Stress Induced by Lipopolysaccharides of Periodontopathogens. *J Periodontol.* 2006;77(8):1371–9.
199. Ozdemir H, Kara MI, Erciyas K, Ozer H, Ay S. Preventive effects of thymoquinone in a rat periodontitis model: A morphometric and histopathological study. *J Periodontal Res.* 2012;47(1):74–80.
200. Hanioka T, Tanaka M, Ojima M, Shizukuishi S, Folkers K. Effect of topical

- application of Coenzyme Q10 on adult periodontitis. *Mol Aspects Med.* 1994;15(SUPPL. 1):0–7.
201. Carvalho RR, Pellizzon CH, Justulin L, Felisbino SL, Vilegas W, Bruni F, Lopes-Ferreira M, Hiruma-Lima CA. Effect of mangiferin on the development of periodontal disease: Involvement of lipoxin A4, anti-chemotaxic action in leukocyte rolling. *Chem Biol Interact.* 2009;179(2–3):344–50.
 202. Paola RDI, Oteri G, Mazzon E, Crisafulli C, Galuppo M, Toso RDAL, Pressi G, Cordasco G, Cuzzocrea S. Effects of verbascoside, biotechnologically purified by *Syringa vulgaris* plant cell cultures, in a rodent model of periodontitis. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(5):707–17.
 203. Fernández-Rojas B, Gutiérrez-Venegas G. Flavonoids exert multiple periodontic benefits including anti-inflammatory, periodontal ligament-supporting, and alveolar bone-preserving effects. *Life Sci.* 2018;209(August):435–54.
 204. Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Çetin A, Yakan B. Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food.* 2015;18(2):195–201.
 205. Nieoczyn D, Socala K, Raszewski G, Wlaż P. Effect of quercetin and rutin in some acute seizure models in mice. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2014;54:50–8.
 206. Lin J-P, Yang J-S, Lin J-J, Lai K-C, Lu H-F, Ma C-Y, Sai-Chuen Wu R, Wu K-C, Chueh F-S, Gibson Wood W, Chung J-G. Rutin inhibits human leukemia tumor growth in a murine xenograft model in vivo. *Environ Toxicol.* 2012 Aug;27(8):480–4.
 207. Machado DG, Bettio LEB, Cunha MP, Santos ARS, Pizzolatti MG, Brighente IMC, Rodrigues ALS. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Eur J Pharmacol.* 2008;587(1–3):163–8.
 208. Al-Rejaie SS, Aleisa AM, Sayed-Ahmed MM, Al-Shabanah OA, Abuhashish HM, Ahmed MM, Al-Hosaini KA, Hafez MM. Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholesterolemic male Westar rat. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13.
 209. Mendes-Junior L das G, Monteiro MM de O, Carvalho A dos S, de Queiroz TM,

- Braga V de A. Oral supplementation with the rutin improves cardiovagal baroreflex sensitivity and vascular reactivity in hypertensive rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(11):1099–106.
210. Chan E, Hegde A, Chen X. Effect of rutin on warfarin anticoagulation and pharmacokinetics of warfarin enantiomers in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2009;61(4):451–8.
211. Rylski M, Duriasz-Rowińska H, Rewerski W. The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test. *Acta Physiol Pol*. 1979;30(3):385—388.
212. Kyung TW, Lee JE, Shin HH, Choi HS. Rutin inhibits osteoclast formation by decreasing reactive oxygen species and TNF- α by inhibiting activation of NF- κ B. *Exp Mol Med*. 2008;40(1):52–8.
213. Taşlı NG, Uçak T, Karakurt Y, Keskin Çimen F, Özbek Bilgin A, Kurt N, Süleyman H. The effects of rutin on cisplatin induced oxidative retinal and optic nerve injury: an experimental study. *Cutan Ocul Toxicol*. 2018;37(3):252–7.
214. Kandemir FM, Ozkaraca M, Yildirim BA, Hanedan B, Kirbas A, Kilic K, Aktas E, Benzer F. Rutin attenuates gentamicin-induced renal damage by reducing oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy in rats. *Ren Fail*. 2015;37(3):518–25.
215. A. Alsaif M. Beneficial Effects of Rutin and Vitamin C Coadministration in a Streptozotocin-Induced Diabetes Rat Model of Kidney Nephrotoxicity. *Pakistan J Nutr*. 2009 May 15;8(6):745–54.
216. Wang B, Liu D, Zhu QH, Li M, Chen H, Guo Y, Fan LP, Yue LS, Li LY, Zhao M. Rutin ameliorates kidney interstitial fibrosis in rats with obstructive nephropathy. *Int Immunopharmacol*. 2016;35:77–84.
217. Heath JK, Atkinson SJ, Hembry RM, Reynolds JJ, Meikle MC. Bacterial antigens induce collagenase and prostaglandin E2 synthesis in human gingival fibroblasts through a preliminary effect on circulating mononuclear cells. *Infect Immun*. 1987;55(9):2148–54.
218. Hanazawa S, Hirose K, Ohmori Y, Amano S, Kitano S. *Bacteroides gingivalis* fimbriae stimulate production of thymocyte-activating factor by human gingival fibroblasts. *Infect Immun*. 1988;56(1):272–4.
219. Graves DT, Cochran D. The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol*. 2003;74(3):391–401.
220. Mengel R, Bacher M, Flores-de-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-

- 1 β , interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol.* 2002;29(11):1012–22.
221. Wilton JMA, Mcpton JL, Griffiths GS, Curtis MA, Life JS, Johnson NW, Powell JR, Harrap GJ, Critchley P. Interleukin-1 beta (IL-1 β) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis: A cross sectional study. *J Clin Periodontol.* 1992;19(1):53–7.
 222. Ma S, Guo J, You X, Xia W, Yan F. Expressions of interleukin-1 β and interleukin-6 within aortas and uteri of rats with various severities of ligature-induced periodontitis. *Inflammation.* 2011;34(4):260–8.
 223. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. 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):1046–52.
 224. Gugliandolo E, Fusco R, D'Amico R, Peditto M, Oteri G, Di Paola R, Cuzzocrea S, Navarra M. Treatment with a flavonoid-rich fraction of bergamot juice improved lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. *Front Pharmacol.* 2019;9(January):1–13.
 225. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004;32(7):511–20.
 226. de Waal Malefyt R, Hans Y, Roncarolo MG, Spits H, de Vries JE. Interleukin-10. *Curr Opin Immunol.* 1992 Jun;4(3):314–20.
 227. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: A comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res.* 2008;79(3):360–76.
 228. Gaddis DE, Maynard CL, Weaver CT, Michalek SM, Katz J. Role of TLR2-dependent IL-10 production in the inhibition of the initial IFN- γ T cell response to *Porphyromonas gingivalis*. *J Leukoc Biol.* 2013;93(1):21–31.
 229. Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu H, Bagci H. Association of Interleukin-10 Gene Polymorphisms With Severe Generalized Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2007;78(3):493–7.
 230. Suyatna G., Auerkari E. Inflammatoric mediators in periapical bone lesion. *J Dent Indones.* 2005;12(3):176–84.
 231. Sasaki H, Okamatsu Y, Kawai T, Kent R, Taubman M, Stashenko P. The interleukin-10 knockout mouse is highly susceptible to *Porphyromonas gingivalis*-

- induced alveolar bone loss. *J Periodontal Res.* 2004;39(6):432–41.
232. Zhang X, Teng YTA. Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF- κ B ligand-positive CD4⁺-Th1-cell-associated alveolar bone loss in vivo. *Infect Immun.* 2006;74(8):4927–31.
 233. De Rossi A, Rocha LB, Rossi MA. Interferon-gamma, Interleukin-10, Intercellular Adhesion Molecule-1, and Chemokine Receptor 5, but not Interleukin-4, Attenuate the Development of Periapical Lesions. *J Endod.* 2008;34(1):31–8.
 234. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum Cytokine Levels in Periodontitis Patients in Relation to the Bacterial Load. *J Periodontol.* 2011;82(6):885–92.
 235. Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, Gonzalez-Martinez J, Burgos A, Gonzalez OA. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014;41(9):853–61.
 236. Passoja A, Puijola I, Knuuttila M, Niemelä O, Karttunen R, Raunio T, Tervonen T. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010;37(10):881–7.
 237. Grover HS, Kapoor S, Singh A. Effect of topical simvastatin (1.2 mg) on gingival crevicular fluid interleukin-6, interleukin-8 and interleukin-10 levels in chronic periodontitis - A clinicobiochemical study. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2016;6(2):85–92.
 238. Reis C, Da Costa AV, Guimarães JT, Tuna D, Braga AC, Pacheco JJ, Arosa FA, Salazar F, Cardoso EM. Clinical improvement following therapy for periodontitis: Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Exp Ther Med.* 2014;8(1):323–7.
 239. Gautam R, Singh M, Gautam S, Rawat JK, Saraf SA, Kaithwas G. Rutin attenuates intestinal toxicity induced by Methotrexate linked with anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *BMC Complement Altern Med.* 2016;16(1):1–6.
 240. Roberts LJ, Morrow JD. Products of the isoprostane pathway: Unique bioactive compounds and markers of lipid peroxidation. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59(5):808–20.
 241. Kuppusamy P, Shanmugam M, Ramachandran R. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Patients with Periodontitis. *Cell Mol Biol Lett.* 2005;Volume 10(February):255–64.
 242. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total

- oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J*. 2010;55(1):70–8.
243. Akalin FA, Baltacioğlu E, Alver A, Karabulut E. 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):558–65.
 244. Sağlam E, Canakçı CF, Sebin SO, Saruhan N, Ingeç M, Canakçı H, Sezer U. Evaluation of Oxidative Status in Patients With Chronic Periodontitis and Polycystic Ovary Syndrome: A Cross-Sectional Study. *J Periodontol*. 2017;(February 2017):1–16.
 245. Wang XL, Li T, Li JH, Miao SY, Xiao XZ. The Effects of Resveratrol on Inflammation and Oxidative Stress in a Rat Model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Molecules*. 2017;22(9):1529.
 246. Tas U, Ayan M, Sogut E, Kuloglu T, Uysal M, Tanriverdi H, Senel U, Ozyurt B, Sarsilmaz M. Protective effects of thymoquinone and melatonin on intestinal ischemia-reperfusion injury. *Saudi J Gastroenterol*. 2015;21(5):284–9.
 247. Gül M, Ayan M, Seydanoğlu A, Cander B, Girişgin S, Erayman I, Erdem S. The effect of N-acetyl cysteine on serum glutathione, TNF-alpha and tissue malondialdehyde levels in the treatment of sepsis. *Ulus Travma ve Acil Cerrahi Derg*. 2011;17(4):293–7.
 248. Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis*. 2008;14(8):754–60.
 249. Oboh G, Adebayo AA, Ademosun AO, Olowokere OG. Rutin restores neurobehavioral deficits via alterations in cadmium bioavailability in the brain of rats exposed to cadmium. *Neurotoxicology*. 2020;77(March 2019):12–9.
 250. Liochev SI, Fridovich I. The effects of superoxide dismutase on H₂O₂ formation. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(10):1465–9.
 251. Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Extracellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(12):2466–71.
 252. Sukhtankar L, Kulloli A, Kathariya R, Shetty S. Effect of non-surgical periodontal therapy on superoxide dismutase levels in gingival tissues of chronic periodontitis patients: A clinical and spectrophotometric analysis. *Dis Markers*. 2013;34(5):305–11.
 253. Ellis SD, Tucci MA, Serio FG, Johnson RB. Factors for progression of periodontal

- diseases. *J Oral Pathol Med*. 1998;27(3):101–5.
254. Karim S, Pratibha PK, Kamath S, Bhat GS, Kamath U, Dutta B, Sharma N, Archana B, Bhat KM, Guddattu V. Superoxide dismutase enzyme and thiol antioxidants in gingival crevicular fluid and saliva. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(3):266–72.
255. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol*. 2005;32(3):238–43.
256. Aziz AS, Kalekar MG, Suryakar AN, Benjamin T, Prakashan MJ, Ahmed BMN, Sayyad M. Assessment of some biochemical oxidative stress markers in male smokers with chronic periodontitis. *Indian J Clin Biochem*. 2013;28(4):374–80.
257. Canakci V, Yildirim A, Canakci CF, Eltas A, Cicek Y, Canakci H. Total Antioxidant Capacity and Antioxidant Enzymes in Serum, Saliva, and Gingival Crevicular Fluid of Preeclamptic Women With and Without Periodontal Disease. *J Periodontol*. 2007;78(8):1602–11.
258. Safaei F, Mehrzadi S, Khadem Haghighian H, Hosseinzadeh A, Nesari A, Dolatshahi M, Esmailizadeh M, Goudarzi M. Protective effects of gallic acid against methotrexate-induced toxicity in rats. *Acta Chir Belg*. 2018;118(3):152–60.
259. Karthick M, Prince PSM. Preventive effect of rutin, a bioflavonoid, on lipid peroxides and antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2010;58(5):701–7.
260. Searle AJ, Willson RL. Glutathione peroxidase: Effect of superoxide, hydroxyl and bromine free radicals on enzyme activity. *Int J Radiat Biol*. 1980;37(2):213–7.
261. Dhotre PS, Suryakar AN, Bhogade RB. Oxidative stress in periodontitis. *Eur J Gen Med*. 2012;9(2):81–4.
262. Govindaraj J, Emmadi P, Deepalakshmi, Rajaram V, Prakash G, Puvanakrishnan R. Protective effect of proanthocyanidins on endotoxin induced experimental periodontitis in rats. *Indian J Exp Biol*. 2010;48(2):133–42.
263. Borges I, Machado Moreira EA, Filho DW, De Oliveira TB, Da Silva MBS, Fröde TS. Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm*. 2007;2007.
264. Özdem M, Kırzioğlu FY, Yılmaz HR, Vural H, Fentoğlu Ö, Uz E, Koçak A, Yiğit A. Antioxidant effects of melatonin in heart tissue after induction of experimental

- periodontitis in rats. *J Oral Sci.* 2017;59(1):23–9.
265. Isai M, Sakthivel M, Ramesh E, Thomas PA, Geraldine P. Prevention of selenite-induced cataractogenesis by rutin in Wistar rats. *Mol Vis.* 2009;15(November):2570–7.
 266. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002;23(5):599–622.
 267. Faraci FM. Oxidative stress: The curse that underlies cerebral vascular dysfunction? *Stroke.* 2005;36(2):186–8.
 268. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, Macnee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(4 I):1055–60.
 269. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple ILC. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol.* 2004;31(7):515–21.
 270. Farcas AD, Mot AC, Zagrean-Tuza C, Ticolea M, Sevastre B, Kulak M, Silaghi-Dumitrescu R, Parvu A. Remarkable rutin-rich *Hypericum capitatum* extract exhibits anti-inflammatory effects on turpentine oil-induced inflammation in rats. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):1–13.
 271. Cardoso AS, Mitchell DF. Progression of Pulpitis to Necrosis and Periapical Disease in Deciduous and Permanent Teeth of Monkeys. *J Dent Res.* 1971;50(4):934–8.
 272. Lyroudia K, Nikolaidis N, Pitas I, Zervas P, Palakidis K. Computerized three-dimensional reconstruction: A method to study pulpal vessels and nerves. *J Endod.* 1993;19(12):604–8.
 273. Keleş A. Mikro Bilgisayarlı Tomografi ve Endodontik Araştırmalardaki Yeri. *Türkiye Klin J Endod-Special Top.* 2015;1(3):32–9.
 274. Sasov, Van Dyck. Desktop X-ray microscopy and microtomography. *J Microsc .* 1998 Aug 5;191(2):151–8.
 275. Swain M V., Xue J. State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci.* 2009;1(4):177–88.
 276. Von Stechow D, Balto K, Stashenko P, Müller R. Three-dimensional quantitation of periradicular bone destruction by micro-computed tomography. *J Endod.* 2003;29(4):252–6.
 277. Hatipoglu M, Saglam M, Köseoglu S, Köksal E, Keles A, Esen HH. The

- effectiveness of *Crataegus orientalis* M Bieber. (Hawthorn) extract administration in preventing alveolar bone loss in rats with experimental periodontitis. PLoS One. 2015;10(6):1–11.
278. Chang CY, Fu E, Chiang CY, Chang WJ, Cheng WC, Tu HP. Effect of paeonol on tissue destruction in experimental periodontitis of rats. Am J Chin Med. 2014;42(2):361–74.
279. Bak EJ, Park HG, Kim M, Kim SW, Kim S, Choi S-H, Cha J-H, Yoo Y-J. The Effect of Metformin on Alveolar Bone in Ligature-Induced Periodontitis in Rats: A Pilot Study. J Periodontol. 2010;81(3):412–9.



EKLER

EK - 1. ÖZGEÇMİŞ



EK - 2. ETİK KURUL ONAY BELGESİ

