

**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL PERİODONTİTİSLİ RATLARDA
METİLSÜLFONİLMETAN UYGULAMASININ ALVEOLAR
KEMİK KAYBI ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ÖNLEYİCİ
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Melek BEDER

Periodontoloji Ana Bilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU

RİZE-2024

**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PERİODONTOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PERİODONTİTİSLİ RATLARDA
METİLSÜLFONİLMETAN UYGULAMASININ ALVEOLAR
KEMİK KAYBI ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ÖNLEYİCİ
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Melek BEDER

Periodontoloji Ana Bilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU

RİZE-2024

KABUL ve ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Ana Bilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU danışmanlığında, Arş. Gör. Dt. Melek BEDER tarafından hazırlanan ‘Deneysel periodontitisli ratlarda metilsülfonilmetan uygulamasının alveolar kemik kaybı ve oksidatif stres üzerine önleyici etkinliğinin incelenmesi’ adlı bu tez çalışması, 03.10.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliğiyle başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı Soyadı

Başkan

: Prof. Dr. Oğuz KÖSE

Üye

: Doç. Dr. Meltem ZİHNİ KORKMAZ

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU

ETİK BEYAN

Periodontoloji Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Deneysel periodontitisli ratlarda metilsülfonilmetan uygulamasının alveolar kemik kaybı ve oksidatif stres üzerine önleyici etkinliğinin incelenmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

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

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

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

Melek BEDER

03/10/2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışma sürecimde karşılaştığım her sorunda yanımda olan, mesleki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, hem akademik hem de insani yönünü örnek aldığım saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Hatice YEMENOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimim boyunca zorlandığım her konuda yoluma ışık tutan, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, yardımları ve destekleri ile yanımda olan Prof. Dr. Oğuz KÖSE hocama ve Doç. Dr. Meltem ZİHNİ KORKMAZ hocama, lisans eğitimimden bu yana tanıdığım, rahatça konuşup dertleşebildiğim sevgili arkadaşım Öğr. Gör. Semih Alperen BOSTAN hocama,

Tez kapsamında titizlikle gerçekleştirilen biyokimyasal çalışmalar için Prof. Dr. Adnan YILMAZ ve Öğr. Gör. Sibel MATARACI KARAKAŞ'a ve histolojik çalışmalar için Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE'ye,

Fakülteye başladığım zamandan bu yana gerek özel yaşamımda gerekse uzmanlık sürecimde her zaman yanımda olan sevgili kıdemlilerim Uzm. Dr. Reyhan ŞENKAL, Uzm. Dr. Yağmur SARAÇ GÜL ve Uzm. Dr. Mine KESKİN olmak üzere şahane 'kemik kadro' ekibimin her bir şahane kızına, canım asistan arkadaşlarıma ve beraber uyumla çalıştığım periodontoloji personel ailesine,

Hayattaki rol modellerim, varlıkları şükür sebebim canım babam Mehmet Salih BEDER ve canım annem Nurten BEDER'e, başarılarıyla övündüğüm sevgili abim Dr. Öğr. Üyesi Murat BEDER'e, sevgili ablam Mevlüde BEDER'e ve biricik yeğenlerime,

Lisans eğitimimden bu yana her zaman yanımda olan can kardeşim, sevgili dostum Dt. Berna MERTOĞLU'na,

Sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: TSA-2023-1506 (This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdoğan University. Project Number: TSA-2023-1506)

Melek BEDER

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodonsiyum	4
2.2. Periodontal Hastalıklar	5
2.2.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması.....	6
2.2.2. Periodontitisin Etiyolojisi ve Risk Faktörleri	14
2.2.3. Periodontal Hastalıkların Patogenezi	16
2.2.4. Sitokinlerin Periodontal Doku Yıkımına Etkisi.....	21
2.3. Oksidan ve Antioksidan Sistem	26
2.3.1. Antioksidanlar	26
2.3.2. Malondialdehit (MDA).....	27
2.3.3. Glutasyon (GSH).....	27
2.3.4. Toplam Antioksidan Seviye, Toplam Oksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi	28
2.3.5. ROT'un Periodontitis Patogenezindeki Rolü	29
2.4. Periodontal Tedavide Konak Modülasyonu	30
2.5. MSM	32
2.5.1. MSM'nin Etki Mekanizması	33
2.5.2. MSM'nin Klinik Kullanımı	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	36
3.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi ve Barındırılması	36
3.1.1. Çalışma Grupları.....	37

3.2. Ligatür ile Periodontitis İndüksiyonu	39
3.3. MSM uygulaması	39
3.4. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması.....	40
3.5. Histopatolojik Analizler.....	41
3.5.1. Histolojik Doku Takibi Prosedürü.....	41
3.5.2. Hematoksilen & Eozin ile Boyama Prosedürü	44
3.6. Kantitatif Analizler	46
3.7. İmmünohistokimyasal Analiz	46
3.7.1. Semi-Kantitatif Analizler.....	47
3.8. Biyokimyasal Analizler	47
3.8.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler.....	47
3.8.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasallar, Kitler ve Markaları	48
3.8.3. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	49
3.8.4. Biyokimyasal İşlemler	50
3.9. İstatistiksel Analiz	60
4. BULGULAR	61
4.1. Histolojik Bulgular.....	61
4.1.1. Histopatolojik Analiz.....	61
4.1.2. Alveolar Kemik Kaybının Kantitatif Analizi.....	61
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	62
4.2.1. Doku RANKL ve OPG Bulguları.....	62
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	65
4.3.1. Doku Pro-inflamatuar ve Anti-inflamatuar Sitokin Bulguları	65
4.3.2. Doku Oksidan - Antioksidan Parametrelerin Bulguları.....	66
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR.....	84
EKLER.....	109
EK-1-Özgeçmiş	109
EK-2-Etik Kurul Onay Formu	110
EK-3-İntihal Raporu.....	111

ÖZET

Deneyisel Periodontitisli Ratlarda Metilsülfonilmetan Uygulamasının Alveolar Kemik Kaybı ve Oksidatif Stres Üzerine Önleyici Etkinliğinin İncelenmesi

Amaç: MSM anti-inflamatuvar ve anti-oksidan etkileri olan organik sülfür bileşiğidir. Bu çalışmanın amacı, MSM'nin periodontitisli ratlarda alveolar kemik yıkımı üzerine önleyici etkinliğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: 24 erkek Sprague-Dawley rat rastgele üç gruba ayrıldı: Kontrol, Dp ve Dp-MSM. Periodontitis, alt 1.azı dişlerin boyunlarına sub-paramarjinal pozisyonda 4.0 ipek sütür yerleştirilip, süturun 5 hafta boyunca uygulanmasıyla oluşturuldu. Dp-MSM grubuna, intra-peritoneal olarak 500 mg/vücut ağırlığı/gün MSM, 35 gün boyunca verildi. Çalışmanın sonunda, bilateral mandibula örnekleri alındı. Periodontal kemik kaybı histolojik kesitler aracılığıyla ölçüldü. Sağ mandibular doku örneklerinde histomorfometrik ve immünohistokimyasal (RANKL, OPG) değerlendirmeler, sol mandibular doku örneklerinde biyokimyasal (MDA, GSH, OSİ, TAS, TOS, IL-1 β , IL-10, IL-1 β / IL-10) değerlendirmeler yapıldı.

Bulgular: IL-1 β ve IL-1 β /IL-10 değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Dp-MSM ve Dp gruplarında kontrol grubuna göre IL-10 seviyesinde anlamlı derecede azalma görüldü ($p<0,05$). MDA seviyeleri Dp ve Dp-MSM gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gösterirken, GSH seviyeleri Dp'de diğer gruplara göre anlamlı azalma gösterdi ($p<0,05$). OSİ değeri Dp'de diğer gruplardan anlamlı şekilde yüksekti ($p<0,05$). RANKL seviyesi Dp grubunda diğer gruplara göre anlamlı artış gösterdi. OPG seviyesinde ise Dp-MSM grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede artış görüldü ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, MSM'nin alveolar kemik kaybı ve oksidatif stres üzerine önleyici etkilerinin olduğunu düşündürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Metilsülfonilmetan, oksidatif stres, periodontitis

ABSTRACT

Investigation of the Inhibitory Effect of Methylsulfonylmethane Application on Alveolar Bone Loss and Oxidative Stress in Rats with Experimental Periodontitis

Aim: MSM is an organic sulfur compound with anti-inflammatory and anti-oxidant effects. The aim of this study was to investigate the preventive efficacy of MSM on alveolar bone destruction in rats with periodontitis.

Material and Methods: 24 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: Control, Ep and Ep-MSM. Periodontitis was induced by placing 4.0 silk sutures in the subparamarginal position on the necks of the mandibular first molars and applying the suture for 5 weeks. The Ep-MSM group was given 500 mg/body weight/day MSM intraperitoneally for 35 days. At the end of the study, bilateral mandibular samples were taken. Periodontal bone loss was measured by histological sections. Histomorphometric and immunohistochemical (RANKL, OPG) evaluations were performed on right mandibular tissue samples, and biochemical (MDA, GSH, OSI, TAS, TOS, IL-1 β , IL-10, IL-1 β /IL-10) evaluations were performed on left mandibular tissue samples.

Results: No significant difference was found between the groups in IL-1 β and IL-1 β /IL-10 values ($p>0.05$). A significant decrease in IL-10 levels was observed in Ep-MSM and Ep groups compared to the control group ($p<0.05$). While MDA levels significantly increased in Ep and Ep-MSM groups compared to the control group, GSH levels significantly decreased in Ep compared to the other groups ($p<0.05$). OSI values were significantly higher in Ep than in the other groups ($p<0.05$). RANKL level showed a significant increase in the Ep group compared to the other groups. OPG level was significantly increased in the Ep-MSM group compared to the other groups ($p<0.05$).

Conclusion: The results of this study may suggest that MSM has preventive effects on alveolar bone loss and oxidative stress.

Key Words: Methylsulfonylmethane, oxidative stress, periodontitis

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
μA	: Mikroamper
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μm ²	: Mikrometrekare
μmol	: Mikromol
8-OhdG	: 8-hidroksideoksi-guanozin
AAP	: Amerikan Periodontoloji Akademisi
ACTH	: Adrenokortikotropin Hormon
AK	: Alveolar Kret
ANOVA	: Varyans analizi
BMP	: Kemik morfojenik protein
cm ³	: Santimetreküp
COX	: Siklooksijenaz
CRP	: C reaktif proteini
Dk	: Dakika
dl	: Desilitre
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DOS	: Diş eti oluğu sıvısı
Dp	: Deneysel periodontitis
DTNB	: 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ESM	: Ekstra Selüler Matriks
FAK	: Furkasyonel alveolar kret
FÇ	: Furkasyon çatısı
Gi	: Gingival indeks
Gr	: Gram
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
H&E	: Hematoksilen-Eozin
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HbA1c	: Hemoglobin A1c
hsCRP	: Yüksek duyarlılıklı C reaktif protein
ICAM-1	: Hücreler arası adezyon molekülü-1
IL-1 β	: İnterlökin-1 beta
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
IL-10	: İnterlökin-10
INF- γ	: İnterferon gama
KAK	: Klinik ataşman kaybı
KAT	: Katalaz
Kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
KH ₂ PO ₄	: Potasyum hidrojen fosfat
kV	: Kilovolt

KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LPS	: Lipopolisakkarit
M-CSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
MDA	: Malondialdehit
MDP	: Mikrobiyal dental plak
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
MMP	: Matriksmetalloproteinaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MSS	: Mine sement sınırı
MSM	: Metilsülfonilmetan
MTA	: Mineral trioksit agregat
NaCl	: Sodyum klorür
Na ₂ HPO ₄	: Disodyum hidrojen fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF- κ B	: Nükleer faktör kappa beta
Ng	: Nanogram
NK	: Doğal öldürücü hücreler
Nm	: Nanometre
Nmol	: Nanomol
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NSAİ	: Non steroid anti-inflamatuar
O ₂	: Tekli oksijen

O ²⁻	: Süperoksit radikali
OD	: Optik dansitite
OH-	: Hidroksil radikali
OPG	: Osteoprotegerin
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PDL	: Periodontal ligament
PGE ₂	: Prostoglandin E ₂
Ph	: Power of hydrogen
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RA	: Romatoid artrit
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B
RANKL	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Rpm	: Dakikada dönme sayısı
RTEÜ	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
SCD	: Sondalanabilir cep derinliği
SDD	: Sub antimikrobiyal doz doksisiklin
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SHED	: İnsan çekilmiş süt dişi kök hücresi
Sn	: Saniye
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: İstatistiksel Analiz Yazılımı

TAS	: Toplam antioksidan seviye
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif madde
TCA	: Tiyokarboksilik asit
TGF- β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Th 1	: T helper 1
Th 2	: T helper 2
Th 17	: T helper 17
TIMP	: Matrix metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	: Toplam oksidan seviye
TLR	: Toll-like reseptör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periodonsiyumu oluşturan yapılar	5
Şekil 2.2. Periodontitis Patogenezi	17
Şekil 2.3. Periodontal hastalıklarda kemik yıkım mekanizması	20
Şekil 2.4. Metilsülfonilmetanın kimyasal yapısı	33
Şekil 3.1. Kontrol grubu deney şeması	37
Şekil 3.2. Deneysel periodontitis grubu deney şeması	38
Şekil 3.3. Deneysel periodontitis-MSM grubu deney şeması	38
Şekil 3.4. Ratlara ligatür bağlanması	39
Şekil 3.5. -80°C derin dondurucu	40
Şekil 3.6. Sağ mandibular doku örneği ve 1.molar diş etrafının ligatürlenmesi	41
Şekil 3.7. Doku takip cihazı	42
Şekil 3.8. Parafin bloklama	42
Şekil 3.9. Rotary Mikrotom	43
Şekil 3.10. Hematoksilen-Eozin boyama cihazı	43
Şekil 3.11. Etüv cihazı	44
Şekil 3.12. Kantitatif Yöntemle MSS yüksekliğinin ölçülmesi	46
Şekil 3.13. İmmünohistokimya boyama cihazı	47
Şekil 3.14. Diş eti dokuların homojenizasyonu	50
Şekil 3.15. MDA standart grafiği	51
Şekil 3.16. GSH standart grafiği	52
Şekil 3.17. Yatay karıştırıcıda standartların homojen hale getirilmesi	53
Şekil 3.18. Standartların hazırlanması	54
Şekil 3.19. Süpernatantların ELISA kiti ile incelenmesi	55
Şekil 3.20. ELISA yıkayıcı cihaz	55
Şekil 3.21. Substrat A ve Substrat B'nin eklemesi	56
Şekil 3.22. Stop solüsyon ekleme aşaması (renk maviden sarıya döner)	56
Şekil 3.23. ELISA okuyucu cihaz	57
Şekil 3.24. IL-1 β standart grafiği	57
Şekil 3.25. IL-10 standart grafiği	58
Şekil 4.1. Alveolar kemik kayıplarının histolojik kesitlerde değerlendirilmesi	61
Şekil 4.2. Histolojik kesitler üzerinde RANKL pozitif hücreler	63
Şekil 4.3. Histolojik kesitler üzerinde OPG pozitif hücreler	64

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Periodontal Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması 2017 ⁶¹	7
Tablo 2.2. Periodontitisin Evrelendirilmesi ⁷²	12
Tablo 2.3. Periodontitis Derecelendirilmesi ⁷²	14
Tablo 2.4. Periodontal hastalıklarda risk değerlendirilmesi.....	16
Tablo 3.1. Deney hayvanlarında verilen standart pellet rat yeminin içeriği	37
Tablo 3.2. Mandibula dokusuna ait doku takibi (Doku takip cihazı-Shendon, Citadel 2000 protokolü).....	44
Tablo 3.3. Hematoksilen eozin boyama prosedürü	45
Tablo 3.4. İmmün-Pozitif Hücreleri Semi-Kantitatif Yöntemlerle Ölçme Yöntemi	47
Tablo 3.5. Kullanılan cihazlar ve markaları	48
Tablo 3.6. Kullanılan kimyasallar, kitler ve markaları	49
Tablo 4.1. Alveolar kemik kayıplarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	62
Tablo 4.2. RANKL ve OPG seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	63
Tablo 4.3. Biyokimyasal bulguların gruplar arası karşılaştırılması	65

1. GİRİŞ

Periodontitis, diş destek dokularının inflamasyonu ile ilişkili olan, tedavi edilmediği zaman periodontal dokularda yıkım ile sonuçlanan kronik, inflamatuvar, multifaktöriyel bir hastalıktır.^{1, 2} Periodontal kaynaklı mikroorganizmalar ve onların hastalık yapıcı etkenleri kan dolaşımı yolu ile direkt ya da inflamatuvar mediyatörlerin salınımıyla indirekt olarak sistemik durumlara neden olmaktadır. Periodontitis ile ilişkilendirilen sistemik durum ve hastalıkların başında romatoid artrit (RA), kardiovasküler hastalıklar (KVH), diabetes mellitus (DM) ve hamilelik gelmektedir.³⁻⁵

Periodontal hastalıkların gelişiminde, primer etyolojik faktör olarak kabul edilen mikrobiyal dental plak (MDP), tek başına hastalık oluşumunda yeterli değildir.⁶⁻⁹ Sağlıklı periodonsiyumda, mevcut mikroorganizmalar ile ürünleri ve konak cevabı arasında bir denge vardır. Konak cevabı ilerlemiş yıkımın önemli bir kısmını oluşturur.^{9, 10} Konak cevabı ve bakteriler arasındaki etkileşim ile gelişen immunoinflamatuvar olaylar neticesinde pro-inflamatuvar sitokinlerin konak dokuları tarafından fazla üretilmesi periodontal dokularda yıkıma yol açmaktadır.¹¹

Sitokinler, inflamatuvar yanıtların ve bağışıklığın düzenlenmesi, embriyonik gelişim gibi çok sayıda fizyolojik olayda görev alan glikoproteinlerdir.¹² İnterlökin (IL)-1 β , tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve IL-6 periodontal patogeneizde ilk olarak salgılanan doğal bağışıklık sitokinleridir.¹³ IL-6 ve IL-1 β osteoklastogenezis ve hücre migrasyonuna neden olurken, TNF- α , reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı (RANKL) ve matriks metalloproteinazların (MMP'ler) salınımını artırarak kemik rezorbsiyonu ve ekstraselüler matriks (ESM) yıkımına neden olur.¹³⁻¹⁶ Anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10, periodontal hastalıklarda kolajenaz aktivitesini inhibe ederek koruyucu bir sitokin olarak rol almanın yanı sıra MMP aktivitesini engeller ve MMP'lerin

doku inhibitör salınımını arttırmada görevlidir.^{17, 18} Ayrıca IL-10'nun RANKL salınımını baskıladığı da rapor edilmiştir.¹⁸

Alveolar kemik yıkımı periodontitis patogenezinin altında yatan ana mekanizmalardan biridir.^{11, 19} Alveolar rezorpsiyon, osteoklast aktivitesindeki artıştan kaynaklanır. Moleküler düzeyde, osteoklast aktivasyonu RANK/RANKL/Osteoprotegerin (OPG) eksenini oluşturan üç molekülün etkileşimi ile düzenlenir.²⁰ RANK reseptörünün reseptör aktivatörü, hem olgun osteoklastlarda hem de bunların progenitörlerinde eksprese edilen bir transmembran proteinidir ve RANKL'a bağlanması, osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu belirler. OPG ligandı, RANKL için tuzak reseptör görevi gören çözünür bir proteindir.²¹ Yapılan çalışmalarda periodontitisli bireylerin sağlıklı bireylere göre daha yüksek RANKL seviyesine sahip olduğunu gösterilmiştir.^{16, 22} Buna karşılık, periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere göre daha düşük OPG seviyeleri bulunmuştur.^{16, 23} Bu sonuçlar periodontal aktivitenin olduğu bölgelerde RANKL/OPG oranının daha yüksek olduğunu göstermektedir. RANKL/OPG oranının kemik kütlesi üzerine önemli bir belirleyici olduğu çalışmalarla desteklenmiştir.^{24, 25}

Periodontitis, oral kavite içinde artmış oksidatif hasar ve azalmış antioksidan kapasite ile ilişkilidir.²⁶ Polimorfonükleer lökositler ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler sonucu açığa çıkan proteolitik enzimler ve reaktif oksijen ürünleri (ROT), diş eti bağ dokusunda ve alveol kemiğinde doku hasarına neden olmaktadır.^{27, 28} Ayrıca, oksidatif stres periodontal hastalığın patofizyolojik ilerlemesine katkıda bulunur ve konakçı infektif mediyatörlerin salınımını artırır.^{29, 30} Oksidatif stres serbest radikaller ile koruyucu antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar.³¹ Bu denge, toplam antioksidan seviyenin (TAS) toplam oksidan seviyeye (TOS) oranı olan oksidatif stres indeksi (OSİ) ile ifade edilir. OSİ oksidatif stres durumunu gösteren önemli

parametrelerdendir.^{32, 33} Çalışmalar, periodontitis hastalarında tükürük TOS değerinin arttığını ve bu durumun periodontal tedavi ile düzeltilebileceğini desteklemektedir.^{34, 35} İnflamatuvar yanıt sırasında üretilen oksidanlar ya hedef proteinlerle reaksiyona girer ya da farklı antioksidan sistemleri tarafından nötralize edilir. Bu nedenle, tükürüğün TAS değeri de periodontal tanı için önemli bir araç olarak kabul edilebilir.³⁶⁻³⁸

Konak cevabının doku yıkımındaki etkisinin anlaşılması ile birlikte konak modülatör ajanları geliştirilebilmesi için birçok çalışma yapılmıştır.³⁹⁻⁴¹ Metilsülfonilmetan (MSM), anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri olan bir organik sülfür bileşiğidir.^{42, 43} Doğada, çeşitli sebzelerde-meyvelerde, çay, kahve gibi içeceklerde, domates ve mısır gibi yiyeceklerde ayrıca hayvanlarda bulunduğu tespit edilmiştir.^{44, 45} 2019 yılında, çekilmiş insan süt dişlerinde yapılan bir çalışmada, MSM'nin periodontal ligament (PDL) kök hücrelerinde osteojenik farklılaşmayı indüklediği ve alkalen fosfataz aktivitesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir.⁴⁶ Amirshahrokhi ve ark.⁴⁷ yaptığı bir hayvan çalışmasında, MSM'nin mandibular trabeküler kemik yoğunluğunda artış sağladığını bulmuştur.

Literatüre göre, periodontitis varlığında, konak modülatör ajan olarak MSM uygulamasının periodontal doku yıkımı üzerine etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasını, sistemik MSM uygulamasının antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-rezorptif etkileri yolu ile periodontal doku yıkımını sınırlandırabileceği hipotezi temelinde planladık. Bilgilerimize göre bu çalışma, MSM'nin periodontal doku yıkımı üzerine önleyici etkilerini biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemeyi amaçlayan ilk çalışmadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum; diş eti, PDL, sement ve alveol kemikten meydana gelen, dişleri destekleyen ve çevreleyen dokuların toplamıdır (Şekil 2.1.).

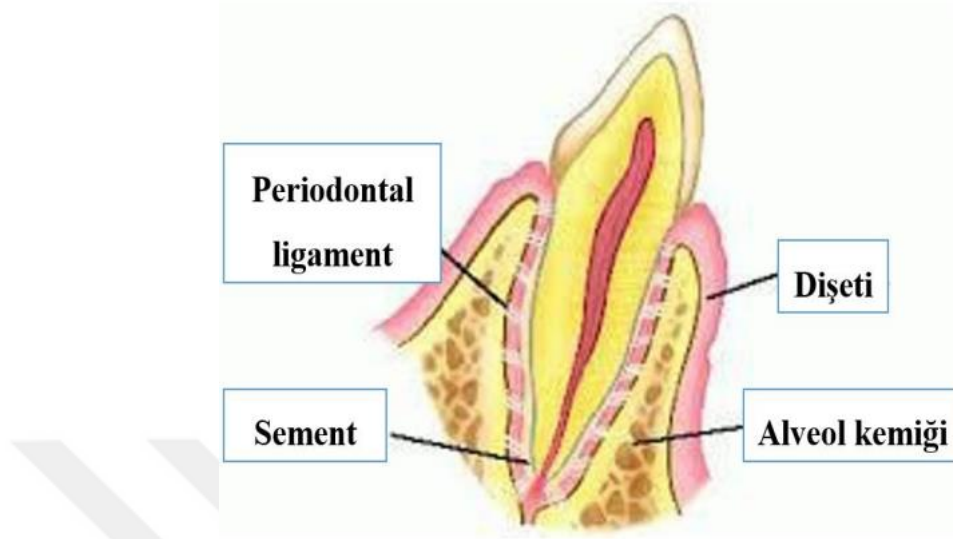
Diş eti, epitel ve bağ dokusundan oluşan, periodontal patojenlerin dokulara penetrasyonuna karşı bariyer rolü oynayan, alveolar kemik ve dişlerin servikal kısımlarını örten, anatomik olarak serbest diş eti, yapışık diş eti ve interdental diş eti olarak 3 grupta sınıflandırılan destek dokudur. Diş eti epitel hücreleri patolojik olaylara cevap olarak, inflamasyon, proliferasyon, maturasyon, apoptoz, hücre sinyal yolları, çeşitli sitokin ve anti-mikrobiyal peptitlerin üretimi gibi mekanizmalarla konak savunmasında aktif rol oynarlar.^{48, 49}

PDL, sement ile alveolar kemik arasında yer alan, dişleri alveolar kemiğe bağlayan kolajen lif, damar ve sinir ağından zengin destek dokudur.⁵⁰ PDL içeriğindeki kolajen lifler, kemik ve semente bağlantılarını ‘sharpey’ adı verilen liflerin terminal kısmıyla yaparlar. PDL’nin, dişlerin soket içinde tutulması, gelen kuvvetlerin kemiğe iletilmesi, kuvvetlere karşı direnç oluşturulması, ağrı ve basınç duyularının iletimi gibi görevleri vardır.⁵¹

Sement, dişlerin kök yüzeylerini saran, hücresiz (primer) ve hücreli (sekonder) sement olmak üzere iki kısımdan oluşan avasküler destek dokudur. Beslenmesini komşuluğundaki PDL aracılığıyla gerçekleştirir.⁵² Genellikle mineralize yapı gösterse de, organik kısmının %90’ı tip I kolajenden oluşur.⁵³

Alveol kemiği, dişlerin ağızda var olmalarından itibaren oluşan süreçte dişleri çene kemiği içerisinde destekleyen bir diğer yapıdır.⁵² Diş kaybı-sürmesi ve çiğneme kuvveti gibi etkenlerle kemik hızlı bir dönüşüme girebilir.⁵⁴ Alveolar kemik, dişlerin

sürmesi ile oluşur ve dişlerin kaybı ile de rezorbsiyon sürecine girer. Bu yapım-yıkım sürecinde osteoklast, osteoblast ve osteosit hücreleri temel rol alır.⁵¹



Şekil 2.1. Periodonsiyumu oluşturan yapılar

2.2. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık, periodonsiyumu destekleyen dokuları etkileyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır.⁵⁵ Hastalığın oluşması için patojen mikroorganizmaların varlığının yanında bu patojenlere karşı konağın oluşturduğu immün yanıtın şiddeti de önemlidir.⁵⁶ İnsanlarda en yaygın görülen periodontal hastalıklar gingivitis ve periodontitistir.⁵⁷

Gingivitis, dişler üzerinde MDP birikimi ile başlayan, diş etinde ödem, kızarıklık, kanama, diş eti oluğu sıvısı (DOS) artışı gibi belirtilerin görüldüğü fakat radyografik kemik kaybının olmadığı periodontal hastalık türüdür.⁵⁸ Gingivitis tedavi edilmediğinde geri dönüşümsüz periodontitis aşamasına geçebilir.⁵⁹

Periodontitis, dişleri destekleyen dokuların ilerleyici yıkımıyla karakterize multifaktöriyel, kronik inflamatuvar bir hastalıktır.¹ Periodontitisin en önemli klinik özellikleri; klinik ataçman kaybı (KAK), diş eti iltihabı ve periodontal cep oluşumudur.⁶⁰

Hastalığın prevalansının yüksek olması, çiğneme fonksiyonunu ve estetiği olumsuz yönde etkilemesinin yanı sıra diş kaybıyla sonuçlanması sebebiyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir.⁶¹

Toplumun farklı kesimleri, periodontal hastalıktan değişik oranlarda etkilenir. Yapılan bir çalışmaya göre periodontal hastalığın düşük gelirli bireylerde yüksek gelirli bireylere göre 1.8 kat daha fazla görülme ihtimali olduğunu bildirilmiştir.⁶²

2.2.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıklar tarihsel süreçte birçok şekilde sınıflandırılmıştır. Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP)'nin 1999 yılında yaptığı Periodontal Hastalık Sınıflandırması araştırmacılar tarafından uzun bir süre kullanılmıştır. Bu sınıflandırma, hem klinik uygulamalarda hem de bilimsel araştırmalarda yaygın olarak kullanılmasına rağmen, teşhis belirsizliği, patobiyoloji kaynaklı ayırım eksikliği ve uygulama zorlukları gibi yetersiz olduğu durumlar vardır.⁶¹ Bu nedenle 2017 yılında düzenlenen Dünya Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması Çalıştayı'nda, 2017 Periodontal Hastalık Sınıflaması geliştirilmiştir.⁶¹ Hastalığın etiyolojisi, epidemiyolojisi ve patogenezi ile ilgili güncel bilgiler dahil edilerek yeni bir sınıflandırma sistemi ortaya konmuştur^{1, 61} (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Periodontal Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması 2017 ⁶¹

Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar
Periodontal Sağlık ve Gingival Sağlık
• Bütünlüğü Bozulmamış Periodonsiyumda Periodontal Sağlık • Azalmış Periodonsiyumda Periodontal Sağlık a) Stabil Periodontitis Hastası b) Periodontitis Olmayan Hasta
Gingivitis: Dental Biyofilm Kaynaklı
• Sadece Dental Biyofilm Kaynaklı Gingivitis • Sistemik ve Lokal Risk Faktörleri Tarafından Modifiye Edilen Gingivitis • İlaça Bağlı Diş Eti Büyümeleri
Gingival Hastalıklar ve Durumlar: Dental Biyofilm Kaynaklı Olmayan
• Genetik/Gelişimsel Bozukluklar • Spesifik Enfeksiyonlar • Enflamatuar ve İmmünite Durumlar • Reaktif Süreçler • Neoplazmlar • Endokrin, Beslenme Bozuklukları ve Metabolik Bozukluklar • Travmatik Lezyonlar • Gingival Pigmentasyonlar
Periodontitis
Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
Sistemik Hastalıkların Bulgusu Olarak Periodontitis
Periodontitis
• Evreleme: Hastalığın şiddeti, yayılımı ve tedavisinin güçlüğüne göre yapılır. a) Evre I: Başlangıç Periodontitis b) Evre II: Orta Düzey Periodontitis c) Evre III: İlave Diş Kaybı Potansiyeli Bulunan Şiddetli Periodontitis d) Evre IV: Tüm Dişlenmenin Kaybı ile Sonuçlanabilecek, Şiddetli Periodontitis • Derecelendirme Hastalığın ilerlemesine dair kanıt ya da risk ve tahmin edilen tedavi cevabına göre yapılır. a) Derece A: Yavaş İlerleyen b) Derece B: Orta-Hızlı İlerleyen c) Derece C: Hızlı İlerleyen
Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar
Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Hastalık ve Durumlar
Diğer Periodontal Durumlar
• Periodontal Apseler • Endodontik-Periodontal Lezyonlar
Mukogingival Bozukluklar ve Durumlar
Travmatik Oklüzal Kuvvetler
• Primer Oklüzal Travma • Sekonder Oklüzal Travma • Ortodontik Kuvvetler
Diş ve Protez Kaynaklı Faktörler

2.2.1.1. Periodontal Sağlık

Periodontal hastalıkların teşhisi, ideal tedavi planlamasının yapılabilmesi, inflamasyonun gelişim sürecinin takibi ve popülasyondaki diş eti ve periodontal hastalık yaygınlığının doğru tespiti için öncelikle periodontal sağlığın tanımını yapmak büyük önem taşımaktadır.⁶³

Periodontal sağlık, klinik olarak kişinin periodonsiyumunu hasara uğratan gingivitis veya periodontitisle ilişkili periodontal hastalık hikayesinin olmaması ve ağız içerisinde sondalamada kanama, ödem, eritem gibi inflamasyon belirtilerinin bulunmaması hali olarak tanımlanmaktadır.⁶³ Periodontitis hikayesi olmayan sağlıklı kişilerin radyografik incelemesinde, mine-sement bileşimi seviyesi ve alveolar kret arasındaki alan 1-3 mm arasındadır. Ancak azalmış periodonsiyumda kemik kaybı bulunduğundan, sağlığın tanımı açısından radyografilerin tek başına incelenmesi çok doğru bir yaklaşım olmamakla birlikte, klinik muayene ile desteklenmesinde fayda vardır.^{64, 65}

2.2.1.2. Gingivitis

Gingivitis ve gingival hastalıklar yapılan son sınıflamaya göre iki başlık altında incelenmektedir. Bunlar, dental biyofilm kaynaklı gingivitis ve dental biyofilm kaynaklı olmayan gingival hastalıklardır.⁶³

Dental biyofilm kaynaklı olmayan gingival hastalıklar; MDP'den kaynaklanmayan ve MDP uzaklaştırıldıktan sonra genellikle geri döndürülemeyen çeşitli lezyonları kapsamaktadır. Bu lezyonlar çoğunlukla sistemik bir durumla ilişkilidir ve gingival dokularda patolojik seyredebilirler.⁶⁶⁻⁶⁸

Dental biyofilm kaynaklı gingivitis ise; azalmış ya da bütünlüğü bozulmamış periodonsiyum üzerinde gelişen gingivitistir.⁶⁸ Eritem, sondalamada kanama, DOS'ta

artış olması ve KAK olmaması gibi karakteristik belirtiler gösterir.⁶⁹ Gingivitisin en erken iki belirtisi; sondalamada kanama ve DOS miktarındaki artıştır. Gingivitisin periodontitise dönüşmemesi için hastaların biyofilm kontrolünü sağlaması ve oral hijyene dikkat etmeleri gerekir.⁷⁰

2.2.1.3. Periodontitis

Periodontitis, diş ve dişleri destekleyen dokuları etkileyen kronik, multifaktöriyel bir inflamatuvar bir hastalıktır.⁶¹ Patofizyolojisinde, PDL'nin kaybı ve bağlantı epitelinin apikale migrasyonuna neden olan ve bakteriyel biyofilmin kök yüzeyi boyunca apikale yayılımına izin veren konak kaynaklı proteinazların aktivasyonu rol oynar.¹ Hastaya periodontitis tanısının koyulabilmesi için KAK önemli bir kriterdir. Bunun yanı sıra, periodontal cep derinliği, sondalamada kanama ve radyografik olarak gözlenen kemik kaybı da önemlidir.⁷¹ 2017 yılında yapılan Dünya Periodontoloji Çalıştay'na göre klinikte periodontitis tanısı koyulabilmesi için, komşuluğu olmayan en az 2 dişte interdental KAK'nın olması ya da en az iki dişte 3 mm'den fazla SCD ve dişlerin vestibül/lingual bölgesinde 3 mm veya daha fazla KAK olması gerekmektedir.

Gözlenen klinik ataçman kaybının; travmaya bağlı diş eti çekilmesi, üçüncü molar dişlerin malpozisyonu ya da çekimine bağlı olarak ikinci moların distalinde oluşan klinik ataçman kaybı, vertikal kök kırıkları, dişlerin sevikaline uzanan çürükler ve dişlerin periodontal aralığından drene olan endodontik kaynaklı lezyonlar gibi periodontal olmayan nedenlerden kaynaklanmaması gereklidir.⁶¹

-Periodontitis Evreleme ve Derecelendirme Sistemi

-Periodontitisin Evrelemesi

Periodontitisin ağız içi yayılımını, şiddetini ve tedavideki kompleksite derecesini belirlemek için evreleme (Evre I, II, III, IV) sistemi kullanılır^{1, 61, 72} (Tablo 2.2.).

Hastalığın şiddetini değerlendirirken öncelikle interdental KAK hastalığın en çok etkilediği diş bölgesine göre belirlenir. Hastalığın kompleksitesini ise, horizontal-vertikal defekt varlığı, mobilite, migrasyon, furkasyon tutulumu ve kaybolan diş sayısı gibi faktörler belirler.¹

Evre I Periodontitis; MDP ve diş eti inflamasyonunun elimine edilememesi neticesinde görülen gingivitis ve periodontitis arasındaki geçiş aşamasıdır. Hastalık, konvansiyonel mekanik tedavi ve oral hijyen eğitimi ile kontrol altına alınabilir. Evre I periodontitis hastalarında; interdental bölgedeki KAK 1-2 mm, sondalanabilir cep derinliği (SCD) ise en fazla 4 mm olarak kabul edilir. Radyografide koronal üçlüde %15'i geçmeyen kemik kaybı vardır. Periodontal hastalık sebebiyle kaybedilen diş bulunmamaktadır. Periodontal hastalıkların teşhisinde altın standart olarak kabul gören periodontal sondalama, ataçman kaybının erken safhada tespit edilmesinde yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle, Evre I periodontitisi teşhis etmek zordur.⁷³

Evre II Periodontitis; Periodontitisin yerleşik formunu temsil eden bu evrede diş destek dokularında yıkım görülmektedir. Bu hastalarda, düzenli bakteriyel plak eliminasyonu ve oral hijyen eğitimi ile hastalığın ilerlemesinin kontrol altına alınabileceği düşünülür. Ancak hastaların standart periodontal tedaviye verdikleri yanıt hekim tarafından detaylı bir şekilde değerlendirildikten sonra ihtiyaç halinde ileri periodontal tedavilere başvurulur.¹ Evre II Periodontitis hastalarında, interdental KAK 3-4 mm, SCD ise en fazla 5 mm olarak kabul edilir. Radyografik kemik kaybı %15-33 arasındadır. Periodontal hastalık sebebiyle kaybedilmiş diş bulunmamaktadır.⁷³

Evre III Periodontitis; Klinik ataçmanda belirgin bir kayıp vardır ve ileri tedavilerin uygulanmaması halinde diş kaybı görülebilmektedir. Bu evre, kökün orta seviyesine kadar uzanan derin periodontal cep varlığı, furkasyon ve kemik içi defektler

ile komplike hale gelebilmektedir.⁷³ Evre III periodontitis hastalarında, interdental KAK ≥ 5 mm, SCD ≥ 6 mm, vertikal kemik kaybı ≥ 3 mm'dir. Radyografik olarak kemik kaybı, kökün orta veya apikal üçlüsü seviyesine kadar uzanır. Periodontal hastalık nedeniyle kaybedilen diş sayısı 4 veya daha azdır. Evre II'ye göre daha fazla alveolar kemik kaybı vardır ve furkasyon problemleri sınıf II-sınıf III derecesindedir. Çiğneme fonksiyonu korunduğu sürece diş kaybı olmasına rağmen kompleks rehabilitasyona ihtiyaç yoktur.¹

Evre IV Periodontitis; İleri derecede periodontal destek doku hasarı ve diş kaybı gözlenir. Bunun sonucunda da çiğneme fonksiyonunda kayıp meydana gelebilir. Bu grupta, ilerlemiş kemik defekti ve sekonder okluzal travma gibi nedenlere bağlı olarak dişlerde hipermobilité görülür. Periodontal hastalık kontrol altına alınamadığı durumlarda birey diş kaybı riskiyle karşı karşıya kalır. Evre IV periodontitis hastalarında, interdental KAK ≥ 5 mm, radyografideki alveolar kemik kaybı ise kökün apikal üçlüsüne kadar uzanmış durumdadır. Hastalık nedeniyle en az 5 diş kaybı vardır. Ayrıca diyabet, obezite, sigara ve genetik gibi birçok faktör hastalığın ilerleme hızını etkilemektedir. Tedavi protokolü, çiğneme fonksiyonun stabilizasyonunun/restorasyonunun sağlanmasıdır.¹

Tablo 2.2. Periodontitisin Evrelendirilmesi ⁷²

Periodontitisin Evreleri		Evre I Hafif periodontitis	Evre II Orta periodontitis	Evre III Şiddetli periodontitis Ek diş kaybı potansiyeli olan	Evre IV Şiddetli periodontitis Dentisyon kaybı potansiyeli olan
Şiddet	En fazla kayıp olan yerdeki interdental klinik ataçman kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı	Koronal üçlüde < %15	Koronal üçlüde %15-%33	Kökün orta ya da apikal üçlüsüne uzanan	Kökün orta ya da apikal üçlüsüne uzanan
	Diş kaybı	Periodontal kaynaklı diş kaybı yoktur	Periodontal kaynaklı diş kaybı yoktur	Periodontal kaynaklı diş kaybı ≤4 diş	Periodontal kaynaklı diş kaybı ≥5 diş
Karmaşıklık	Lokal SCD	Maksimum SCD ≤4 mm Çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Maksimum SCD ≤5 mm Çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Evre II'ye ek olarak: •SCD ≥6 mm •Vertikal kemik kaybı ≥3 mm •Furkasyon tutulumu: Class II/III •Orta düzey kret defekti	Evre III'e ek olarak: • TME disfonksiyonu • Sekonder oklüzal travma (mobilité indeksi ≥2) • Ciddi kret defekti • Azalmış dikey boyut • Migrasyon • Ağızda kalan diş sayısı 20'den az (Birbirini karşılayan 10 ikili)
Boyut ve Yayılım	Evreye tanımlayıcı olarak eklenir			Her bir evre için Lokalize < %30 Generalize >%30 Molar/Keser Dağılım	

Periodontitisin Derecelendirmesi

Hastalığın ilerlemesiyle ilgili öngörülebilir riskler, tedavi edilebilirlik ve hastanın genel sistemik sağlığı ile ilgili olası etkileri değerlendirmek için derecelendirme sistemi kullanılmaktadır.^{1, 61, 72} Periodontal hastalıklarda derecelendirme yapılırken, hastanın eski radyografileri, sigara, diyabet gibi spesifik faktörler esas alınır.

Derece A: Hastaların 5 yıldan uzun süreli takibinde radyografik alveolar kemik kaybı ve KAK yoktur. Radyografideki kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25'ten azdır. Biyofilm birikimi fazla olmasına rağmen periodontal yıkım düşük düzeydedir. Sigara kullanımı ve diyabet hikayesi yoktur.¹

Derece B: Hastaların 5 yıldan uzun süredir yapılan klinik takibinde radyografideki kemik kaybı ya da KAK 2 mm'den azdır. Radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25-1 arasındadır. Biyofilm birikimi ile orantılı bir yıkım mevcuttur. Hastaların sigara tüketimi günde 10 adetten daha azdır ve diyabeti olan kişilerde hemogloblin A1c (HbA1c) değeri $\leq 7\%$ 'dir.¹

Derece C: Hastaların 5 yıldan uzun süredir yapılan klinik takibinde kemik kaybı ve KAK 2 mm veya daha fazladır. Radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı >1 'dir. Mevcut biyofilm birikimine göre beklenenden daha fazla periodontal doku yıkımı gözlenir. Hastaların sigara tüketimi günde 10 adetten fazladır ve diyabet hastalarında HbA1c değeri ise $\geq 7\%$ 'dir.¹

Derecelendirme sistemi, hastanın yaşı ile alveolar kemik kaybı arasındaki ilişkinin risk değerlendirilmesinin yapılp, radyografideki mevcut kemik kayıplarının dişlerin kök uzunluğuna göre yüzdesinin alınmasıyla belirlenmektedir.⁴

Tablo 2.3. Periodontitis Derecelendirilmesi ⁷²

Periodontitisin Derecesi			Derece A Düşük İlerleme Hızı	Derece B Orta İlerleme Hızı	Derece C Yüksek İlerleme Hızı
Primer Kriter	Direkt ilerleme belirtisi	Longitudinal veri (Radyografik kemik kaybı veya klinik ataçman kaybı)	5 yıldan fazla sürede kayıp yok	<2 mm 5 yıldan fazla sürede	≥2 mm 5 yıldan fazla sürede
		% Kemik kaybı/Yaş	<0.25	0.25-1	>1
	İndirekt ilerlemenin belirtisi	Fenotip	Biyofilm miktarına göre düşük seviyede yıkım	Biyofilm ile uyumlu yıkım	Mevcut biyofilme göre daha fazla yıkım: Hızlı ilerleme ve/veya erken başlangıçlı hastalık dönemlerini düşündüren spesifik klinik modeller (örn. Molar/kesici paterni, standart tedaviye beklenen yanıtın olmaması)
	Modifiye Edici Faktör	Risk Faktörler	Sigara Hayır	<10 sigara/gün	≥10 sigara/gün
Periodontitisin sistemik etki riski	İnflamatuvar Yük	Diyabet	Hayır	HbA1c<%7	HbA1c≥%7
		Yüksek hassasiyetli C-Reaktif protein (hsCRP)	<1 mg/L	1-3 mg/L	>3 mg/L
Biyobelirteçler	Klinik ataçman kaybı/kemik kaybının göstergeler	Tükürük, DOS, serum	?	?	?

2.2.2. Periodontitisin Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

Ağız florası, mikroorganizma çeşitliliği ve birbirleri ile olan ilişkileri açısından çok karmaşıktır. Periodontal hastalıkların primer etiyolojik faktörü MDP'dir. Ekolojik dengenin disbiyotik hale geçmesi ile yani, sağlıklı oral floranın, bozulmuş hastalıklı patojen halini almasıyla periodontal hastalıklar oluşmaya başlar. Bunlar fırsatçı polimikrobiyal hastalıklar olarak değerlendirilmektedir.⁷⁴ Subgingival mikroflorada periodontal hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen bakteriler bulunmaktadır. Bunlar; *Porphyromonas gingivalis* (P. gingivalis), *Tannerella forsythia* (T. forsythia), *A. Actinomyces comitans* (A. a), *Treponema denticola* (T. denticola), *Fusobacterium nucleatum* (F. nucleatum), *Prevotella intermedia* (P. intermedia), *Campylobacter rectus*

(*C. rectus*), *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) ve *Parvimonas micra* (*P. micra*) olarak sayılabilir. Etiyolojik olarak kritik öneme sahip olan patojenler “kırmızı kompleks” olarak adlandırılan bir grup anaerobik bakteridir. Periodontitisli hastaların derin periodontal ceplerinde diğerlerine kıyasla daha yüksek oranda lokalize olabilen bakteriler, *P. gingivalis*, *A.a* ve *T. forsythia*’dır.⁷⁵⁻⁷⁷ Yapılan çalışmalarda, kırmızı kompleks bakterilerin bulunduğu bölgelerde aktif periodontal doku yıkımı olduğu görülmüştür.^{56, 76, 78, 79} *A.a* ise periodontal hastalığın agresif formuyla ilişkilendirilmiştir. Oral kavite bu bakterinin bilinen tek yaşam alanıdır. Çeşitli araştırmalarda, çocuklarda veya periodontal patolojinin olmaması durumunda bile oral mukoza yüzeylerinden izole edilebildiği gösterilmiştir.⁸⁰

Periodontal hastalıklarda risk faktörü, hastalık başlamadan da var olan, bireyin hasta olma ihtimalini arttıran, çevresel veya biyolojik nedenlere bağlı durumlardır. Sadece bireye özgü değiştirilemeyecek faktörlere ‘risk belirleyicileri’, uzun dönem çalışmalarla kanıtlanmamış kısa kesitsel araştırmalarda kanıtlanmış durumlara ‘risk indikatörleri’ denir. Hem kesitsel hem de uzun dönem çalışmalarla kanıtlanmış, tek başına hastalığa neden olmayıp hastalık riskini arttıran faktörlere de ‘risk işaretleri’ denmektedir⁸¹ (Tablo.2.4.).

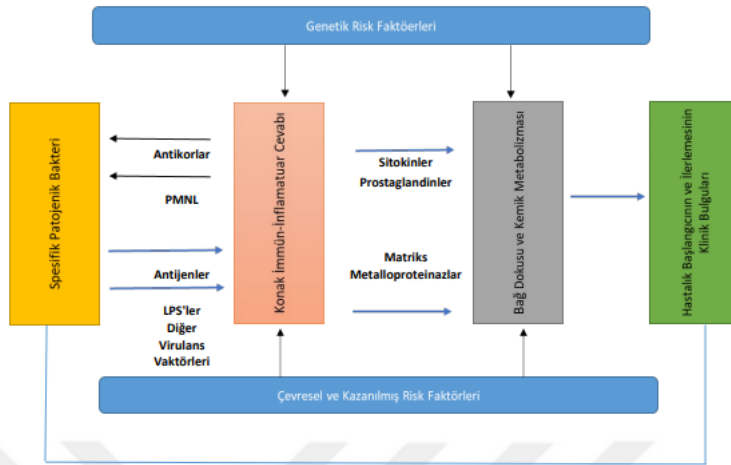
Tablo 2.4. Periodontal hastalıklarda risk değerlendirilmesi

Risk Faktörleri	Risk Belirleyicileri	Risk İndikatörleri	Risk İşaretleri
Sigara	Genetik faktörler	Osteoporoz	Periodontal hastalık hikayesi
Patojenik bakteriler	Cinsiyet	Diş hekimi ziyareti sıklığının az olması	Sondalamada kanama
Diş yüzeyinde mikrobiyal birikintiler	Sosyo-ekonomik durum	HIV/ AIDS	
Diyabet	Stres Yaş		

2.2.3. Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Gingival ve periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plak kaynaklı oluşur, doğal ve kazanılmış bağışıklık da bu lezyonların gelişmesinde anahtar rol oynar. Bakteriyel biyofilm DOS, tükürük ve hücre debrisleri gibi bileşenlerden beslenmektedir. Biyofilm ile konak cevabı arasında simbiyotik bir ilişki vardır.^{7, 82} Periodontitis, bu simbiyozun bozulması sonucunda gelişmektedir.⁸³

Periodontal hastalıkta doku kaybının en önemli bileşeni, biyofilm içeriğindeki mikroorganizmalara karşı konağın verdiği immün-inflamatuvar cevaptır.⁸⁴ Periodontitisten sorumlu bakteriler lipopolisakkaritler gibi toksinlerle konak cevabını uyarır. Böylece, çeşitli inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL'ler, MMP) ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı salınımına sebep olur⁸⁵ (Şekil.2.2.).



LPS, lipopolisakkarit; MMP'ler, matriks metalloproteinazlar; PMNL, polimorfonükleer lökosit

Şekil 2.2. Periodontitis Patogenezi

Sağlıklı diş etlerindeki DOS'ta bile polimorfonükleer lökosit (PMNL) hücre infiltrasyonu vardır. PMNL'ler, doğal bağışıklığın ilk savunma hattını oluşturan, bakterilerden salınan kemotaktik ajanlarla DOS'ta bulunan, fagositöz için önemli hücrelerdir. Biyofilmin aşırı birikimiyle birlikte PMNL, nötrofil ve epitel hücreleri mevcut inflamasyonu kontrol altına alamazsa gingivitis oluşur.⁸⁶ Klinik olarak gingivitis belirtileri 2-3 hafta içerisinde görülebilir. Histolojik olarak kan akımında ve kapillerde değişiklikler gözlenir. Bu aşamada gerekli müdahale yapılmayıp, MDP kontrol altına alınmazsa periodontitis evresine dönüşebilir. Gingivitisin başlangıç aşamasında histopatolojik olarak yoğun inflamatuvar ilfiltrat görülür, fakat plazma hücreleri azdır. Hastalığın ilerlemesi durumunda, klinik muayenede patolojik cep oluşumu gözlenir ve alveolar kemikte kayıp ile beraber seyreden periodontitis evresine geçilir. Histopatolojik olarak ise gingivitise göre daha fazla plazma hücresi gözlenir.⁸ Periodontitis, klinik ve histopatolojik olarak birbirini izleyen başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşik lezyon ve ilerlemiş lezyon olmak üzere dört safhada kategorize edilir.

2.2.3.1. Diş Etinin Doğal Savunması ve Başlangıç Lezyonu

Sağlıklı periodonsiyumda konak ile oral flora arasındaki mevcut denge, biyofilm kaynaklı irritasyona bağlı inflamatuvar infiltrata karşı konağın verdiği cevap ile bozulabilir. Bu da periodontal yıkıma sebep olabilir. Klinik sağlık durumunda, diş eti sulkusunda ya da periodontal cepte, bakteriler ve bakteri kaynaklı ürünler, monosit, lenfosit gibi savunma hücreleri, konak kaynaklı enzimler, sitokinler ve immüngobulin içeren DOS bulunur.⁸⁷ Dokuya invaze olan bakteriler, DOS'un seyreltme ve yıkama etkisi, bağlantı epitelinin bariyer fonksiyonu, diş eti sulkusunda bulunan makrofaj ve nötrofillerin fagositoz aktiviteleri gibi doğal savunma mekanizmaları ile engellenmeye çalışılır.^{7, 49}

Başlangıç lezyonu, plak akümülyasyonunun 2-4. gününde gelişir ve klinik olarak inflamasyon bulgusu yoktur. Dokulardaki değişiklikler histolojik olarak gözlemlenebilir. PMNL ve endotelial hücreler mikrobiyal plağa karşı yanıt verir. Klinik olarak hastalık bulgusu gözlenmezken, kılcal damarlardaki hücreler arası boşluklarda ve kanlanmada artış vardır. Bu safhada histamin ve serotoninine bağlı vazodilatasyon ve geçirgenlikteki artış sonucu sıvıların damar dışına çıkışıyla hidrostatik basınç ve DOS akışında artış görülür. Lezyon gingival sulkusla sınırlıdır, birleşim epiteli ve bağ dokusu kısmi olarak etkilenmiştir.⁸⁸

2.2.3.2. Erken Lezyon

Plak birikiminin 4-7. gününde, nötrofil hücrelerinin baskın hale geldiği klinik safha olarak da nitelendirilen erken lezyon evresi gelişir. Bu evrede kapiller geçirgenliğinin artışı ve vazodilatasyon sonucu bakteriler ve ürünleri dokulara invaze olur, inflamatuvar cevap şiddetlenir, DOS artışı meydana gelir. Daha çok nötrofil ve PMNL hücreleri vardır. Eritem ve sondalama sırasında kanama görülür. Kolajen yıkımı daha çok birleşim epiteli ve sulkuler epitelin lateral ve apikal bölgelerini etkiler.⁸⁶

2.2.3.3. Yerleşik Lezyon

Plak birikiminin başlangıcından sonra 14-21. günlerde yerleşik lezyon evresine geçilir. İnflamatuvar cevabın artması ile gingivitis belirtileri şiddetlenir.⁸⁹ Artan bağ dokusu yıkımı hala geri döndürülebilir olduğundan klinikte kronik gingivitis olarak adlandırılır.^{7, 89} Yerleşik lezyonda kolajen yıkımı erken lezyon evresine göre artmış olsa da hala kemik yıkımı yoktur.⁹⁰ Bu evrede plazma hücreleri baskındır. Plazma hücrelerinden ve B lenfositlerden, periodontal doku kaybına neden olan IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar mediyatörler salgınır. Bağ dokusundaki rete peglerden, epitel geçirgenliğinin artması ile daha fazla IL-1, prostoglandin E₂ (PGE₂), IL-6 ve TNF- α gibi inflamatuvar mediyatörler salgınır.⁸⁴ Geçirgenliğin artması ile beraber bakteriyel ürünlerin giriş-çıkışı kolaylaşır. Bu inflamatuvar değişiklikler, biyofilm kontrolü sağlanması halinde geri döndürülebilir.

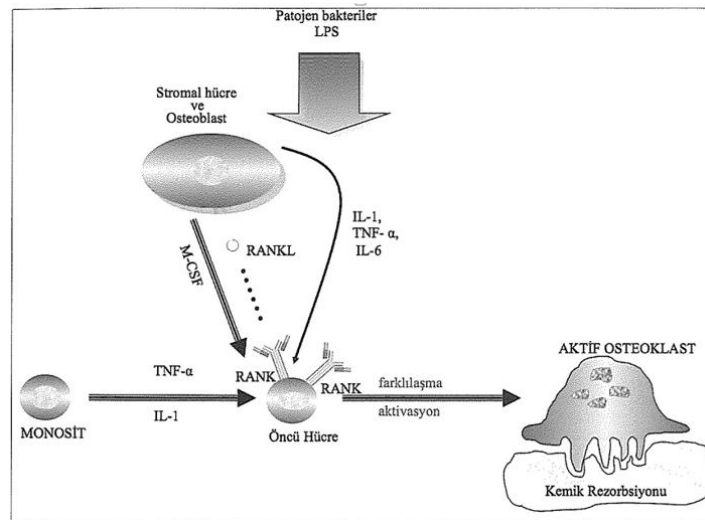
2.2.3.4. İlerlemiş Lezyon

Kronik gingivitisten periodontitise geçiş aşaması olan bu evre ilerlemiş lezyon olarak adlandırılır. İlerlemiş lezyon, yerleşik lezyonla benzer hücresel özelliklere sahiptir. Aradaki fark, histolojik incelemelerde gözlenen, alveolar kemik ve PDL gibi diş destek dokularına kadar uzanan geri dönüşümsüz kolajen yıkımı olmasıdır. Bağ dokusunda oluşan kayıp gingivitis ile periodontitisi birbirinden ayıran en önemli özelliktir.⁸ Bakterilerin apikale migrasyonu arttıkça cep derinliği artar ve çekilme olur. Oral hijyen ile bakterilerin elimine edilmesi ve MDP'nin bozulması daha da zorlaştığından bu evre geri dönüşümsüzdür.⁸⁴

2.2.3.5. Periodontal Doku Yıkımı

Periodontal hastalıkların oluşmasında inflamatuvar sitokinler, enzimler ve büyüme faktörleri arasındaki denge önemlidir. Patolojik durumlarda meydana gelen olaylar, mevcut dengenin bozulmasına ve bağ dokusu yıkımına neden olur.⁹¹ Bu denge

prostaglandinler, antioksidanlar ve sitokinler gibi ajanlarla sağlanır.²⁹ IL-1 β , IL-6, TNF- α ve PGE₂ ile uyarılan fibroblastlar, esas görevleri ekstrasellüler matriksin yıkımı ve yeniden şekillendirilmesi olan MMP'leri salgırlar. MMP'lerin proteolitik aktivasyonu ile kolajen molekülleri küçük parçalara ayrılır ve dokudaki fibroblastlar tarafından fagosit edilirler.⁷ Periodontitisteki kemik yapım-yıkım olayları osteoklastlar ve osteoblastlar arasındaki denge ile düzenlenir. Bu denge osteoklastların lehine olursa alveolar kemik yıkımı ile sonuçlanır.⁷ Kemik yapım-yıkım döngüsünün temel düzenleyicisi RANK, RANKL ve OPG sistemidir. Osteoblast, osteoklast, T ve B lenfosit gibi birçok hücrede ve dokuda üretilen RANKL, osteoklastogenezisin ana düzenleyicisidir ve pre-osteoklastlar üzerinde bulunan reseptörü RANK'a bağlanarak osteoklastların farklılaşmasını sağlar. Osteoblastlar/stromal hücreler tarafından üretilen makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) de osteoklast farklılaşması için gereklidir. Osteoblastlar, stromal hücreler veya osteoblast progenitörleri üzerindeki RANKL, M-CSF aracılığıyla osteoklast öncü hücrelerinde eksprese edilen RANK'a bağlanarak osteoklastların aktivasyonuna, farklılaşmasına ve kemik yıkımına yol açar.⁹² Mezenkimal hücreler tarafından sentezlenen OPG ise RANKL'a bağlanarak, RANK-RANKL etkileşimini engeller.⁹³



Şekil 2.3. Periodontal hastalıklarda kemik yıkım mekanizması

2.2.4. Sitokinlerin Periodontal Doku Yıkımına Etkisi

Sitokinler, birçok hücre tarafından salgılanan, hücreler arası iletişimde, yara iyileşmesinde ve hücre büyümesinde etkili olan biyolojik aktif moleküllerdir.⁹⁴ İmmünite ve inflamasyonda konak cevabının üzerindeki etkilerinin yanı sıra farklı görevlere sahip hücrelerin salgılanmasında da etkileri vardır.⁹⁵ T lenfositler ve makrofajlar, sitokinlerin esas kaynağıdır ve birçok fizyolojik mekanizmada rol oynarlar.⁹⁶ Genellikle geçici olarak üretilen sitokinler, spesifik yüzey reseptörleri ile etkileşime girerek konağın immün yanıtında görev alırlar.⁹⁷ Periodontal hastalığın patogeneğinde patojenlerin tanınması, hücrelere sunulması ve bağışıklıkta etkin rol oynarlar.¹³ Sitokinler, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar olarak ikiye ayrılır. Bu iki grup arasındaki denge, hastalığın spesifitesini belirleyen bir faktördür. Pro-inflamatuar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , vb.), inflamasyonda immün yanıtın başlamasını ve sürdürülmesini sağlarken, anti-inflamatuar sitokinler (transforme edici büyüme faktörü (TGF- β), IL-4, IL-10, IL-13) inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınarak sistemik inflamasyonu önlerler.^{13, 85, 98, 99} Sitokinlerin düzensiz seyirde üretilmeleri patolojiyi tetikleyebilmektedir. Periodontal hastalıklarda görülen pro-inflamatuar sitokinler, çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Özellikle IL-1 β kemik yıkımı ile ilişkilendirilmiştir.⁷

2.2.4.1. IL- 1 β

İnflamatuar süreçlerin önemli komponentlerinden biri olan IL-1 β , makrofaj, nötrofil, fibroblast, keratinosit, düz kas hücreleri ve osteosit gibi çeşitli hücrelerden salınan pro-inflamatuar bir sitokindir.^{100, 101} Hem sistemik hem de lokal yanıtı, birçok enzim türünün salınımını uyarak etkiler. Ayrıca inflamasyonun kontrolü, baskılanması ve immünitede anahtar rol oynar. Doğuştan gelen immün yanıtla yakın ilişkilidir ve

inflamatuvar değişiklikler ile doku hasarına neden olan diğer aracılardan sentezini ve salgılanmasını tetikler.¹⁰²

IL-1 β , PGE₂, trombosit aktive edici faktör (PAF) ve nitroz oksit salınımını uyarır. Böylece inflamasyonla ilişkili doku yaralanması ve vasküler değişikliklerle bölgeye kan akışına neden olur. Yapılan bir çalışmada IL-1 β 'nin, T yardımcı hücrelerinden tip 17'nin farklılaşmasını ve IL-17 salınımını arttırarak kazanılmış (adaptif) bağışıklık üzerine önemli rolü olduğu bildirilmiştir.^{103, 104} Makrofajlar tarafından IL-2 ve IL-6 salınımını uyarması da görevleri arasındadır.^{7, 103, 105} Endotelial hücreler üzerinde adezyon molekülü-1 (ICAM-1) üretimini arttırır ve stromal hücrelerden kemokin (IL-8) salgılanmasını uyarır. Böylece nötrofil gibi hücrelerin dokuya sızmasını sağlar. Chen ve ark.¹⁰⁶ yaptığı bir çalışmada, IL-1 β 'nin bağ dokusunun bozulmasına sebep olan MMP'lerin salınımını uyardığını ve kolajen üretimini baskıladığını bulmuştur. Böylece IL-1 β , PDL ve bağ dokusu yıkımını arttırmaktadır. IL-1 β 'nin osteoklastik aktivite üzerine olan etkisi kemik yıkımını indüklemek için diğer pro-inflamatuvar sitokinlere sinerjik etki oluşturur.¹⁰⁷⁻¹¹¹ DOS'taki konsantrasyonları, gingivitis ve periodontitisli bölgelerde artar. Mevcut literatür, IL-1 β 'nin periodontal hastalıklarda aktif rol aldığını kanıtlar niteliktedir.^{55, 104, 112} Koide ve ark.¹¹³ sistemik olarak uygulanan rekombinant IL-1 β 'nin, ligatür bağlanarak oluşturulan periodontitise bağlı kemik yıkımını pozitif yönde etkilediğini göstermiştir. Aynı şekilde Kornman ve ark.¹¹⁴ yaptıkları bir çalışmada IL-1 β 'nin, kemik rezorpsiyonu ve ekstraselüler matriks yıkımını arttırarak periodontal hastalık gelişiminde anahtar rol oynadığını göstermiştir. Kaur ve ark.¹¹⁵ da romatizmal hastalıkların periodontitisle ilişkisini değerlendirmiş ve IL-1 β 'nin periodontal hastalıkla pozitif korele olduğunu bulmuştur.

2.2.4.2. IL-10

IL-10, makrofaj, monosit, T ve B lenfositler gibi çeşitli hücrelerden üretilen bir anti-inflamatuar sitokindir.¹¹⁶⁻¹¹⁸ İmmüniteyi düzenleyici görevi olan IL-10, bağışıklık yanıtının geç evrelerinde salgılanır. Antijenler ile uyarıldığında Th2, Th17 ve makrofajlar tarafından salınan sitokin sentezini inhibe edici etkileri vardır.¹¹⁹ IL-10, pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını inhibe eder. Böylece immün yanıtta ve inflamasyonu baskılamada önemli rol oynar.^{120, 121} Ayrıca periodontal hastalıklarla benzer patogeneze sahip romatoid artrit ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların da tedavisinde kullanılan bir ajandır.^{122, 123} IL-10'un eksikliği, aralarındaki dengeden dolayı IL-1'in artışı nedeniyle kemik yıkımının artmasına neden olur.^{124, 125} Periodontal hastalıklarda IL-10, kolajenaz aktivitesini inhibe ederek koruyucu bir sitokin olarak görev almaktadır.¹⁷ Bir diğer görevi ise, doku kaybında etkili olan MMP'lerin varlığını engellemesi ve MMP'lerin doku inhibitör salınımını arttırmasıdır.¹⁸ Ek olarak RANKL salınımını baskılayıcı etkileri de rapor edilmiştir.¹²⁶ Moretti ve ark.¹²⁷ yaptığı bir çalışmada IL-17 sitokinlerinin sıkı regülasyonu yoluyla oral bölgedeki dengeyi sağlayarak IL-10'nun periodontal hastalıktaki koruyucu rolünün önemini vurgulamıştır.

2.2.4.3. TNF- α

TNF- α , esas olarak makrofajlar tarafından salınan, periodontal hastalıklarda önemli yeri olan, patoloji ve stres durumlarında üretimi artan inflamatuvar polipeptid bir mediatördür. Bağışıklık yanıtlarında temel rol oynar, nötrofil aktivitesini, MMP sekresyonunu ve osteoklastların gelişimini uyarır. Ayrıca fibroblastlarda apoptozu indükleyerek doku onarımını sınırlar.¹²⁸⁻¹³¹ Makrofajlar ve diş eti fibroblastları tarafından PGE₂'nin sentezlenmesini indükler.⁷ İnflamatuar bir süreçte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazın salınması sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) ve mitokondri vasıtasıyla H₂O₂ üretiminde artış görülür ve bunun sonucunda oksidatif stres

oluşumu ile hücre hasarı gerçekleşir.¹³² TNF- α artışı, hücrede DNA sentezi ve proliferasyonunu indükler. Böylece hücre döngüsüne aracılık eder.¹³² Yapılan çalışmalar TNF- α 'nın, inflamasyondan ve geçirgenlik artışı ile sonuçlanan hücre retraksiyonundan sorumlu olabileceğini göstermiştir.¹³³ TNF- α 'nın DOS'taki varlığı da araştırılmıştır.¹³⁴⁻¹³⁷ Mevcut çalışmalar, TNF- α 'nın periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayan önemli bir sitokin olduğunu ve fibroblastlardan kolajenaz salınımını indükleyerek, kolajen yıkımına ve kemik rezorpsiyonuna neden olduğunu göstermiştir.^{138, 139} Yapılan bir hayvan çalışmasında, TNF- α 'nın yokluğunda kemik yıkımının azaldığı görülmüştür.¹⁴⁰ Ayrıca TNF- α , pro-inflamatuar sitokin olan IL-1 β ve IL-6'nın en önemli indükleyicisidir.¹⁴¹

2.2.4.4. RANKL

RANKL, kemik yıkım belirteçlerindendir. Osteoklast fonksiyonunun esas düzenleyicisi ve TNF ailesinden bir transmembran proteindir.¹⁴² RANKL, T ve B lenfositler, osteoklast prekürsör hücreler, dendritik hücreler ve fibroblast gibi hücrelerden eksprese edilir.¹⁴³ Fizyolojik ve patolojik osteoklastogeneze en önemli katkısı RANKL'ın yaptığı düşünülmektedir.¹⁴⁴⁻¹⁴⁷ RANKL, RANK'a bağlandığında, pre-osteoklastların olgun osteoklastlara dönüşümünü sağlar.¹⁴⁸ Periodontitis varlığında, immün hücrelerin inflamasyon bölgesinde birikmesi, osteoklastik kemik yıkımına neden olur. Periodontal dokulardaki RANKL mRNA seviyeleri ve DOS'taki RANKL proteini, periodontal hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir.^{149, 150} RANKL ekspresyonu, IL-1, TNF- α , glukokortikoid, TGF- β ve vitamin D₃ gibi çeşitli osteoaktif faktörler tarafından düzenlenir.^{151, 152} RANKL'ın çözünür halde ve membrana bağlı olmak üzere iki formu vardır. Etkinliğinin ise daha çok membrana bağlı olan formunda olduğu düşünülmektedir.^{144, 153, 154} Osteojenik hücrelerin ve PDL hücrelerinin periodontal inflamasyonda kemiğe birleşik konumda olmaları bu bilgiyi doğrular. Tsukasaki'nin¹⁴²

periodontitiste RANKL ve osteoimmünolojisi üzerine yaptığı bir çalışmada, Th-17'nin IL-17 üretimi yolu ile mezenkimal hücrelerde RANKL ekspresyonunu indükleyerek periodontal kemik kaybına sebep olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde, Chen ve ark.¹⁴⁹ periodontal hastalıklar ile ilişkili kemik yıkımı üzerine yaptıkları bir çalışmada, RANKL'ın periodontal rezorpsiyonda önemli rol oynadığını ve RANKL inhibisyonunun periodontal kemik rezorpsiyonunu inhibe edebileceğini göstermiştir.

2.2.4.5. OPG

OPG; kalp, böbrek, karaciğer ve kemik iliği gibi birçok dokuda, osteoblast, PDL hücreleri, fibroblast gibi pek çok hücre tarafından eksprese edilir.^{154, 155} Salınımı, RANKL ekspresyonunu indükleyen birçok sitokin ve hormon tarafından düzenlenir. OPG, kemik yıkımına sebep olan RANKL'ın tuzak reseptörüdür. Osteoklastların farklılaşmasını ve aktivitesini inhibe etme yeteneğine sahiptir. Birçok çalışma RANKL/OPG oranının kemik kütlelerinin önemli bir belirleyicisi olduğu düşüncesini desteklemiştir.^{24, 25} Koide ve ark.²⁵ yaptıkları bir çalışmada, periodontal dokulardaki RANKL/OPG oranının alveolar kemik kaybının bir göstergesi olduğunu bildirmiştir. Periodontitis hastalarında bu oranın, RANKL ekspresyonunun yukarı regülasyonu ve/veya OPG ekspresyonunun aşağı regülasyonu nedeniyle arttığı bulunmuştur. OPG/RANKL/RANK belirteçlerinin kemik yıkım-yapım mekanizmalarında ana düzenleyici rolleri olsa da, osteoklastik mekanizmada IL-1 ve TNF- α gibi faktörlerin, bu belirteçlerin biyolojik aktivitelerinde güçlü etkilere sahip oldukları unutulmamalıdır. RANK/RANKL/OPG eksenini sadece fizyolojik koşullar altında değil aynı zamanda periodontitis gibi patolojik durumlarda da osteoklastogenezi düzenler. Araştırmalar bu üçlünün, vasküler sistem, kemik ve immün mekanizmalarda köprü oluşturan osteoimmünmodülatör bir kompleks olduğunu düşündürmektedir.¹⁵⁶

2.3. Oksidan ve Antioksidan Sistem

2.3.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROT'un oluşumunu ve olumsuz etkilerini azaltan, lipid peroksidasyonunu engelleyen, hücreleri radikallerin toksik etkilerinden koruyan ve detoksifikasyonu sağlayan savunma bileşenleridir.^{29, 157} Normal fizyolojik şartlar altında oksidan ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Oksidatif stres, bu dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu muhtemel bir yıkım ile sonuçlanır.^{158, 159} Oksidatif hasara duyarlı bu yıkım, nükleik asit, protein, lipid, karbonhidrat gibi hücresel yapıları oluşturan bileşenlere zarar vererek oluşturulur.¹⁶⁰ Artan ROT üretimi veya antioksidan bileşenlerinin azalması ile oluşan oksidatif stres, periodontal hastalıklar gibi pek çok inflamatuvar hastalığın patogenezinde rol oynar.^{28, 161} Kronik seyirli KVH, obezite, DM ve psöriyazis bu hastalıklara örnek verilebilir.^{29, 162-168}

Antioksidanlar, iki grupta incelenir.

Eksojen Antioksidanlar: Vitamin ve ilaç olarak alınan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır. Vitamin eksojen antioksidanlar; β -karoten (Vitamin A), α -Tokoferol (Vitamin E), folik asit (Vitamin B9) ve askorbik asit (Vitamin C)'tir.¹⁵⁷

Endojen Antioksidanlar: Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Enzimatik antioksidanlar; Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon redüktaz (GR) ve Glutasyon peroksidaz (GPx)'dir. Nonenzimatik antioksidanlar ise; albümin, glutasyon, melatonin, seruloplazmin, ürik asit, bilirubin, koenzim Q, transferrin ve α -lipoik asittir.¹⁵⁷

Deneyisel çalışmalarda antioksidan bileşenlerin uygulanması sonucunda, kolajen yapısının bozulması ve periodontal dokularda oluşan hasarda azalma tespit edilmiştir.¹⁶⁹ Periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılan klorheksidin ve tetrasiklin gibi ajanların,

ROT'u azaltarak veya PMNL ile üretilen süperoksit radikali (O_2^-)'i ortadan kaldırarak önemli derecede antioksidan katkı sağladığı gösterilmiştir.¹⁷⁰

2.3.2. Malondialdehit (MDA)

ROT'un fazla miktarda üretilmesi lipit peroksidasyonu için kaçınılmaz bir durumdur. Doymamış lipitlerin oksijen ile peroksidasyonu çeşitli oksidatif ürünlerin üretimine sebep olur. MDA, 3 ya da daha fazla çift bağdan yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan, düşük molekül ağırlıklı, uçucu formda, kısa zincirli 1,3-dikarbonil bileşiği olan zayıf bir asittir.^{171, 172} Plazmadan tespit edilen oksidatif stresi değerlendiren en önemli lipit peroksidasyon ürünü MDA'dır.¹⁷³⁻¹⁷⁵ Organizma için zararlı bir madde olan MDA, hücre membranındaki iyon alışverişini etkileyerek bileşiklerin çapraz bağlanmasına, sonuçta iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin bozulmasına sebep olur.^{171, 173} Tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek açık kırmızı renkli bir bileşik oluşturur. Bu formda tayin edilen MDA, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) olarak ifade edilir.^{174, 176} Yapılan çalışmalarda, periodontitis ile birlikte MDA konsantrasyonunun arttığı görülmüştür.^{177, 178} Aynı şekilde Baltacıoğlu ve ark.¹⁷⁹'nın yaptığı bir çalışmada, periodontitislilerdeki tükürük ve serum MDA seviyesinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

2.3.3. Glutasyon (GSH)

GSH, yapısında nonprotein tiyol grubu olan ve g-glutamin bağı ile yüksek konsantrasyonda sistein bulunduran önemli bir hücre içi antioksidandır.^{180, 181} Başta karaciğer olmak üzere neredeyse tüm hücreler ve organlar tarafından sentezlenir.¹⁸⁰ GSH, birçok reaksiyonu düzenleme yeteneğine sahiptir ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikallerin detoksifikasyonunda önemli rol oynar. Aynı şekilde GSH bağımlı enzimler, ROT tarafından oluşturulan ürünlerin detoksifikasyonunu da sağlarlar.¹⁸² GSH'ın, planlı hücre ölümleri, hücrelerin haberleşmesi, hücresel reaksiyonlar arasındaki denge ve

oksidatif hasarın inhibisyonu gibi birçok önemli görevi vardır.¹⁸³ Hücrede oksidatif stresin sebep olduğu kalıcı hasar GSH yapısını değiştirir. Bu nedenle GSH miktarının ölçülmesi çeşitli patolojik durumların anlamlandırılması için önemli bir belirteçtir.¹⁸⁴

2.3.4. Toplam Antioksidan Seviye, Toplam Oksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi

2.3.4.1. Toplam Antioksidan Seviye (TAS)

TAS ölçümü, değişik antioksidanların tek tek ölçümünden ziyade tüm antioksidan sistem parametrelerinin faaliyetlerinin ve birbirleri ile olan ilişkilerinin toplu halde değerlendirilebilmesi amacı ile uygun maliyetli bir araç olarak geliştirilmiştir.¹⁸⁵ Bu nedenle TAS, periodontal dokulardaki oksidatif yıkımı değerlendirmek için uygun bir parametre olsa da, TOS'a göre daha dolaylı olduğu düşünülür. Tükürükteki TAS miktarının periodontal teşhis için önemli bir araç olduğu bildirilmiştir.¹⁸⁶ Literatürde periodontitis hastalarında tükürük TAS düzeyinin azaldığını gösteren çalışmaların yanı sıra ³⁶⁻³⁸, periodontitis varlığında tükürük TAS miktarında artış olduğu da bildirilmiştir.¹⁸⁷ Yapılan bir çalışmada, TAS'taki değişiklikler, periodontal hastalığın ciddiyeti ile ilişkilendirilmiş ancak bakteri yükü ile ilişkilendirilememiştir.³⁸ Bu da periodontitis hastalarında oksidatif durumdaki değişikliklerin artan bakteri yükünden ziyade düzensiz bağışıklık tepkisinden kaynaklandığı anlamına gelebilir.¹⁸⁶

2.3.4.2. Toplam Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Serbest oksijen radikallerinin açığa çıkması vücutta oksidatif seviyenin artışına sebep olmaktadır. Oral dokularda gözlenen inflamasyon durumunda da oksidatif mekanizmalar etkin rol oynamaktadır. TOS, açığa çıkan serbest radikallerin yarattığı tahribat sonucunda oluşan yıkımın belirlenmesini sağlar. Bu değerlendirme yöntemi, oksidatif stres ölçümünde oldukça önemli ve güncel bir yöntemdir. TOS ölçümü, farklı oksidatif türleri tek tek ölçmek yerine tüm belirteçlerin bir arada ölçülmesini sağlayan,

pratik ve oldukça güvenilir bir değerlendirme metodudur.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰ Oksidatif stres belirteçleri ile periodontitis arasındaki ilişkiyi açıklayan farklı yöntemler tanımlanmıştır.¹⁸⁸ TOS'un TAS'a oranı ile hesaplanan OSİ değeri periodontal hastalıklarla ilişkili oksidatif stres düzeyini ölçmek için kullanılır ve aralarında güçlü bir korelasyon olduğu görülmüştür.¹⁹¹ Periodontal hastalığa sahip olan kişilerin, tükürük, DOS ve serumlarından elde edilen örneklerde daha yüksek TOS ve OSİ değerleri ölçülmüştür.¹⁹² Çeşitli araştırmalar, TOS ve OSİ parametrelerini, periodontal hastalıklar ve romatoid artrit, obezite gibi sistemik durumlar arasındaki ilişkiyi göstermek için de kullanmıştır.¹⁹³⁻¹⁹⁵

2.3.5. ROT'un Periodontitis Patogenezindeki Rolü

ROT'lar, yaşam için gerekli olan metabolik reaksiyonlarda rol alan, ancak aşırı üretildiklerinde hasara yol açabilen oksidanlardır. Ateroskleroz, kanser ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda ROT'un etkisi olduğu bilinmektedir.¹⁹⁶⁻²⁰⁰ Bilinen en önemli serbest oksijen radikalleri; H_2O_2 , O_2^- , tekli oksijen (O_2) ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$)'dir.²⁰¹ ROT'un en önemli kaynaklarından biri inflamasyondur. İnflamasyon ile oksidatif stres arasında pozitif ilişki olduğu kabul edilir.²⁰²

Kronik inflamatuvar bir hastalık olan ve dünyada yaygın görülen periodontitisin patofizyolojisinde, oksidatif stresin etkili olduğu birçok çalışma tarafından kanıtlanmıştır.^{28, 187, 188} Oksidatif streste ROT'un zararlı etkileri, apoptoz ve lipid peroksidasyonu ile olmaktadır.^{188, 203} Bakteriyel antijenlerin uyarılması sonucu ROT, nötrofillerden fazla miktarda salınmakta ve lipid peroksit oluşumuna verdiği katkı ile periodonsiyumda oksidatif hasarın artmasına sebep olmaktadır.²⁰⁴ ROT, ESM üzerindeki belirgin yıkıcı etkisinin yanı sıra, osteoklastogenezdeki rolü ile de sert doku yıkımını kolaylaştırır.^{205, 206} ROT'un sert dokulara etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar, H_2O_2 ve O_2^- 'nin, kemik yapısını bozmasından ziyade osteoklastların aktive edilmesinde önemli bir etkisi olduğunu ve yeni osteoklast oluşumunu indüklediğini göstermiştir.^{207, 208}

2.4. Periodontal Tedavide Konak Modülasyonu

MDP, gingivitis ve periodontitisin gelişiminde ana etken olmasına rağmen hastalık oluşması için tek başına yeterli değildir.²⁰⁹ Yapılan çalışmalar periodontal hastalıkla birlikte oluşan doku yıkımının, MDP'a karşı konağın verdiği inflamatuvar yanıt ile gerçekleştiğini göstermektedir.^{11, 210-213} Mikrobiyal atağa karşı oluşan konak yanıtında açığa çıkan pro-inflamatuvar sitokinler ve MMP gibi inflamatuvar mediyatörler periodontal hastalıkla ilişkili doku yıkımında esas etken olarak kabul edilmektedir.^{6, 209}

Konak modülasyon terapileri, periodontal hastalığın tedavisi amacı ile konak yanıtının koruyucu bileşenlerini arttırıcı, yıkıcı bileşenlerini de azaltıcı yönde modüle ederek inflamasyonda görev alan mediyatörler arasındaki dengeyi sağlar.^{214, 215} Böylelikle periodontal hastalığın ilerleyişi durdurulabilir, inflamasyonun çözülmesi ile birlikte doku iyileşmesi gerçekleştirilebilir. Periodontal hastalık patogenezi, modülatör ajan geliştirmek için yapılan araştırmaların kaynağını sağlamaktadır.^{39, 216} Konvansiyonel periodontal tedavi ile beraber uygulanmak üzere çeşitli moleküller konak modülatör ajanı olarak önerilmiş ve geliştirilmiştir.^{85, 214} Günümüze kadar birçok konak modülatör ajan üzerinde çalışılmıştır. Bifosfonatlar, non-steroid antiinflamatuvarlar (NSAİ), tetrasiklinler, mine matriks türevleri, melatonin, sub antimikrobiyal doz doksisisiklin (SDD), büyüme faktörleri, probiyotikler bu ajanlara örnek gösterilebilir.

İnflamasyon için önemli bir mediyatör olan prostoglandinin, NSAİ ilaçlar tarafından inhibisyonu alveolar kemik yıkımının engellenmesini sağlar.^{209, 217} Bu amaçla kullanılan aspirin ve benzeri ilaçların doza bağlı olarak gastrointestinal hemoraji ve ülserasyona, uzun süre kullanımlarında da renal yetmezliğe yol açabilme durumları vardır.^{218, 219} Bu yan etkiler ilaçların periodontal tedavide kullanımlarını sınırlandırmaktadır.²⁰⁹

Bifosfonatlar osteoklastik kemik aktivitesini engelleyen pirofosfat analoglarıdır. Bifosfonatlar, hidroksiapatit kristallerine bağlanıp, çözünmeyi engeller, ayrıca osteoblastik farklılaşmayı sağlayarak osteoklast aktivitesini azaltır.²²⁰ FDA, bifosfanat türevi ilaçların Paget's hastalığı, osteoporozis ve kemik metastazı gibi durumlarda kullanılmasına onay vermiştir.²²¹ Aynı şekilde bifosfonatların kemik üzerindeki koruyucu etkileri göz önünde bulundurulduğunda periodontal hastalıkların tedavisinde de kullanılabileceği düşünülmüştür. Ancak böbrek yetmezliği, gastrointestinal ve osteonekroz gibi yan etkileri klinik kullanımlarını sınırlandırmıştır.^{222, 223}

MMP'ler ESM ile bazal membran bileşenlerini parçalama yeteneğine sahip olan bir enzim ailesidir.²²⁴ RA, tümör hücre metastazı ve periodontal hastalıklarda MMP aktivitesinde bozukluklar görülür.²²⁵ Tetrasiklinler ise MMP aktivitesini inhibe eden ilaçlardır.²²⁶

SDD, günümüzde FDA tarafından onaylanmış tek konak modülatördür. Uygulama sırasındaki doksisisiklin dozu, yetişkin periodontitisi ile ilişkili mikroorganizmaları inhibe etmek için gereken konsantrasyondan çok daha düşüktür. Periodontitis hastalarına uygulanan SDD, kollojenaz aktivitesinin azaltılmasına katkıda bulunur. Bu ürünün konak modülatör etkisi, tetrasiklinlerin iyi bilinen antibakteriyel aktivitesine değil, MMP'leri inhibe etme yeteneğine dayanmaktadır.^{227, 228}

Lipoksinler endojen olarak üretilen eikozanoidlerdir.²²⁹ Lipoksinler akut inflamasyon fazının çözünmesinde ve iyileşmesinde görev yapar.⁸⁹ Omega-3 yağ asitlerinden kaynaklanan rezolvin ve protektin de inflamasyonun çözülmesinde lipoksinler gibi etki gösterirler.²³⁰

Nitrik oksit (NO) birçok biyolojik mekanizmada yer alan kısa ömürlü bir moleküldür. NO, pro-inflamatuar uyarılara karşı uyarılabilir NO sentaz (NOS) enzimi

ile yüksek miktarda sentezlenir. NO'nın fazla miktarı, sitotoksik etki gösterir fakat bu reaktif türler DNA ve protein hasarı, lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar sitokin salınımı gibi zararlı etkilere de sebep olabilir.²⁰⁹ Ligatüre bağlı deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda, periodontitis sonucu NO miktarının yükseldiği, merkaptotetilguanidin'in intra-peritoneal uygulamasının ise alveolar kemik kaybını ve NO miktarını azalttığı görülmüştür.²³¹ Bu yüzden NOS inhibitörlerinin periodontitis sonucu oluşan doku kaybında modüle edici bir ajan olarak kullanılabileceği ortaya konmuş fakat terapötik ve yan etkilerini insanlar üzerinde incelemek amacıyla daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği bildirilmiştir.²³²

Serbest radikallerin, DM, nörodejeneratif rahatsızlıklar, otoimmün hastalıklar, KVS hastalıklar, yaşlanma, kanser ve diğer kronik hastalıklar üzerindeki etkilerinin keşfedilmesinden sonra, antioksidanlar üzerine araştırmalar yapılmıştır.²³³ Periodontitiste antioksidanların konak modülasyonu üzerine olan etkilerini değerlendiren çok sayıda çalışma mevcuttur.²³⁴⁻²³⁷

2.5. MSM

Sülfonil fonksiyonel grubu ile ilişkilendirilen dimetilsülfon ve/veya metil sülfon olarak bilinen MSM, doğada çeşitli sebzelerde-meyvelerde, tahıllarda, çay, kahve, bira gibi içeceklerde, domates, mısır gibi yiyeceklerde ve hayvanlarda bulunduğu tespit edilen organik sülfür bileşiğidir.²³⁸ Kokusuz, beyaz renkte, kristalize yapıda ve hafif acı tatlı olan bu bileşiğin % 34'lük kısmını kükürt oluşturmaktadır (Şekil 2.4.). MSM'nin, emilim, dağılım ve atılım mekanizmalarına ilişkin çalışmalar sınırlı sayıdadır. 2007 yılında Magnuson ve ark.⁴⁴ tarafından yapılan bir çalışma, MSM'nin vücutta emiliminin hızlı, dağılımının iyi olduğunu ve vücuttan tamamen atıldığını göstermiştir. 2001 yılında yapılan başka bir çalışmada, MSM'nin beyindeki gri ve beyaz cevher bölgelerinde eşit

dağılım gösterdiği bildirilmiştir.²³⁹ MSM'nin kan beyin bariyerini geçtiği başka çalışmalarla da desteklenmiştir.^{240, 241}



Şekil 2.4. Metilsülfonilmetanın kimyasal yapısı

2.5.1. MSM'nin Etki Mekanizması

MSM'nin etki mekanizması ile ilgili çalışmalar 1980'li yıllara dayanmaktadır. İnsan nötrofillerinin süperoksit, hidrojen peroksit ve hipokloröz asit gibi oksidatif bileşikler üretmek amacıyla uyarıldıkları in vitro bir çalışmada, MSM'nin antioksidan ve anti-inflamatuar mekanizmalar gösterdiği, hücrelere MSM uygulaması sonucunda serbest radikal ürünlerde azalma olduğu görülmüştür.^{242, 243} Başka bir çalışmada, MSM'nin hücre proliferasyonu üzerine olan etkileri araştırılmış, aortik düz kas hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonunu doza bağlı olarak baskıladığı görülmüştür.²⁴⁴ 1980'li yılların sonunda MSM'nin, anti-tümöral etkisi ve kansere olan etkileri de araştırılmış ve MSM ile tedavi edilen sıçanlarda tümör oluşumunun geciktiği görülmüştür.^{245, 246} MSM ve aspirinin kullanıldığı bir çalışmada ise, her iki ajanın da siklooksijenaz (COX) yolaktan bağımsız mekanizmalarla farklılaşmayı uyardığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, aspirin düşük dozda kullanılmış, MSM ise aspirine kıyasla daha yüksek dozda uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, MSM'nin bu etkiyi, farklılaşma için hücresel aktiviteyi bozan genlerin aktivitelerini indükleyerek gerçekleştirdiği düşünülmüştür.²⁴⁷

2000’li yıllarda yapılan bir çalışmada, yarış atların da strese bağı olarak lipid peroksidasyonu, karbonmonoksit ve nitrik oksit düzeylerinde artış olduğı, antioksidan enzim düzeylerinde ise düşüş meydana geldiğı görölmüştür. MSM tedavisi ile bu değışikliklerin stres öncesi seviyeye geldiğı belirlenmiştir.²⁴⁸ 1980’li yılların başından beri yapılan çalışmalar, MSM’nin antioksidan kimliğinin, farklılaşma, proliferasyon ve inflamasyon gibi süreçlerde önemli bir rolü olduğunu göstermiştir.

2.5.2. MSM’nin Klinik Kullanımı

İn vitro ve in vivo çalışmalar, MSM’nin toksik olmayan bir diyet desteğı olarak, anti-inflamatuar etkileri olduğunu göstermiştir.^{249, 250} MSM’nin, IL-6’nın protein ekspresyonunu azaltarak, insan kalp hücresi modelinde pro-inflamatuar uyarılara yanıtı azalttığı bulunmuştur. IL-6’nın kronik olarak yükselmesi, azalmış insülin duyarlılığı, tip 2 DM ve KVH gelişimi ile ilişkilendirilmiştir.²⁵¹⁻²⁵³ 2016 yılında yapılan bir hayvan çalışması, MSM’nin obezite ile ilişkili hastalıklar üzerinde faydalı bir etkisi olduğunu desteklemektedir.²⁵⁴ Klinik ve deneysel çalışmalar, MSM’nin, diz osteoartriti, kolit, obeziteye bağı metabolik bozukluklar, mide mukozası hasarı, RA, hepatotoksisite ve mevsimsel alerjilerin tedavisinde etkili olabileceğini göstermiştir.²⁵⁴⁻²⁵⁸ MSM’nin kemik mekanizmasına yönelik etkileri ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Çalışmalar, MSM’nin mezenkimal kök hücrelerinin osteoblastlara farklılaşmasında ve osteogenezde bir indükleyici olduğunu göstermiştir.⁴⁶ Kemik morfojenik proteinlerinin (BMP), mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını indüklediğı bildirilmiştir.²⁵⁹ Ayrıca, MSM ile birlikte BMP2 kullanımı, tek başına BMP2 ile tedavi edilen hücrelerle karşılaştırıldığında mineralizasyon sürecini geliştirmiştir.²⁶⁰⁻²⁶² 2019 yılında yapılan bir çalışmada MSM’nin, insan çekilmiş süt dişinden elde edilen kök hücrelerde (SHED) hem mRNA hem de protein seviyelerindeki osterix, osteo-pontin ve RUNX2 gibi osteojenik belirteçlerin ekspresyonu yoluyla osteojenik farklılaşmayı indüklediğı ve alkalen fosfataz

aktivitesinde artış olduğu rapor edilmiştir.⁴⁶ Aynı çalışmada, MSM'nin transglutaminaz-2 (TG-2) aktivitesini ve bunun kolajen tip 1 ve osteopontin gibi hücre dışı matris proteinleri ile etkileşimini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmektedir.⁴⁶ 2021 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında, MSM'nin kemik yapım belirteçlerini (osteokalsin, N terminal propeptid) arttırdığı, kemik yıkım belirteçlerini (asit fosfataz, Tip 1 kollogen, C terminal telopeptid) azalttığı ve sonuçta osteoblast oluşumunu indüklemeye yeteneği ile mandibular trabeküler kemik yoğunluğunda artış sağladığı bulunmuştur.²⁶³ 2022 yılında etanolle beyin hasarı oluşturularak yapılan bir hayvan çalışmasında, MSM'nin koruyucu etkileri ve mekanizması araştırılmıştır. MSM tedavisinin beyin dokusunda, miyeloperoksidaz (MPO), iNOS/NO, COX-2, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1 gibi pro-inflamatuar sitokinler gibi etanolün neden olduğu inflammatuar faktörleri azalttığı bulunmuştur.⁴⁷ Yapılan bir çalışmada, glukozamin, kondroidin sülfat ve MSM'nin temporamandibular ekleme (TME) birlikte uygulanmasının, osteoartrit tedavisi üzerine ek klinik fayda sağlamadığı görülmüştür.²⁶⁴

Tüm bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasını, antioksidan, anti-inflamatuar ve kemik rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri olan MSM'nin sistemik uygulamasının periodontal doku yıkımını sınırlandırabileceği hipotezi temelinde planladık. Bu çalışmanın amacı, MSM'nin periodontal doku yıkımı üzerine önleyici etkilerini biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deney protokolü Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve 2023/24 sayılı etik kurul onayı ile deney hayvanlarının hayat standardını ve refahını göz önünde bulundurarak yönergede belirtilen kurallara uygun şekilde deneysel çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi TSA-2023-1506 nolu proje ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi ve Barındırılması

Bu deneysel çalışma RTEÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışma için kullanılan deney hayvanları 250-300 gram (g) ağırlığında her grupta 8 hayvan olacak şekilde toplam 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat olarak seçildi. Kullanılan tüm hayvanlara, Ulusal Bilimler Akademisi tarafından hazırlanan ve Ulusal Sağlık Enstitüleri tarafından yayınlanan "Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu" nda belirtilen kriterlere göre gerekli olan bakımlar yapıldı. Biyolojik ve fizyolojik olarak aynı özelliklere sahip bu hayvanlar; deney hayvanları ünitesinde hijyenik koşullar altında, $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında, %58 bağıl nem oranına sahip, ışık periyodunun 6.00-19.00 saatleri arasında sağlandığı ortamda muhafaza edildi. Ratlar içeriği Tablo 3.1.'de belirtilen standart pellet rat yemi (270 kcal / 100 g, Bayramoğlu Yem, Erzurum, Türkiye) ile beslendi.²⁶⁵ Suya sınırsız erişimleri (ad libitum) sağlandı. Temin edilen ratların laboratuvar koşullarına adaptasyonu için 1 hafta beklendi. Takiben ratlar rastgele olarak deneysel periodontitis (Dp), deneysel periodontitis-MSM (Dp-MSM) ve kontrol grubu (K) olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Tablo 3.1. Deney hayvanlarında verilen standart pellet rat yeminin içeriği

Standart Pellet Rat Yeminin İçeriği	%
Yağ	3.5
Karbonhidrat	7.5
Protein	23
Vitamin ve Mineral	1-2
Diğer Eser Elementler (demir, selenyum, manganez, çinko, kobalt, iyodür)	3

3.1.1. Çalışma Grupları

1) Kontrol grubu (K): Bu gruba 8 rat dahil edildi. Ratlara herhangi bir deneysel işlem ve MSM uygulaması yapılmayıp, 43. günün sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilmeden önce serum örnekleri, sakrifikasyondan sonra ise doku örnekleri alındı.



Deneyin Başlangıcı

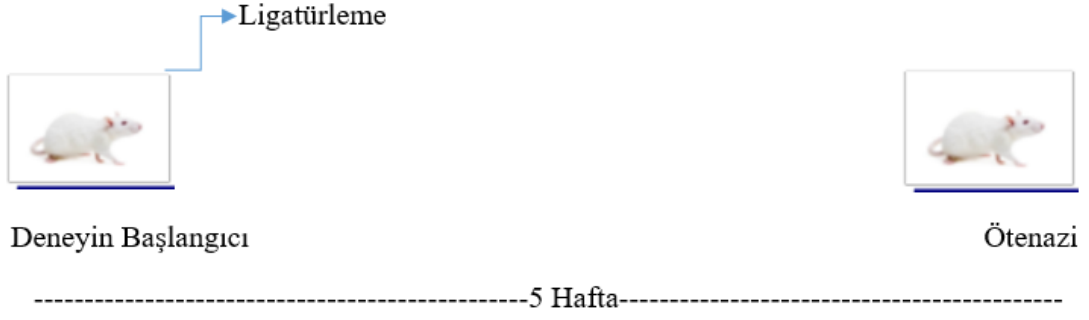


Ötenazi

-----5 Hafta-----

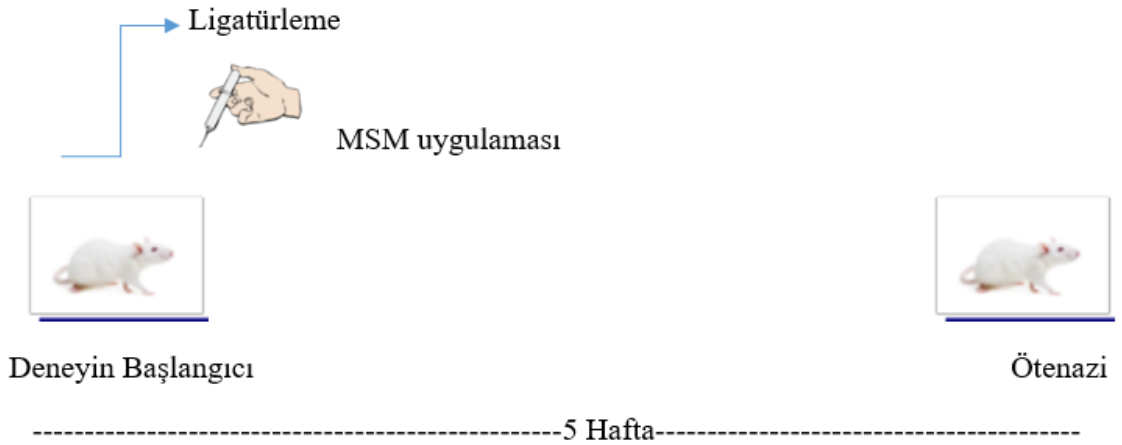
Şekil 3.1. Kontrol grubu deney şeması

2) Deneysel periodontitis grubu (Dp): Oral bakterilere retansiyon sağlaması için, çift taraflı olarak alt 1. molar dişlerinin boynuna (kole) 4.0 ipek süturların subgingival-paramarjinal konumda ligatür yerleştirilmesi yöntemi ile deneysel periodontitis oluşturulmuş 8 rattan oluşur.²⁶⁶ 43. günün sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilmeden önce serum örnekleri, sakrifikasyondan sonra ise doku örnekleri alındı.



Şekil 3.2. Deneysel periodontitis grubu deney şeması

3) Deneysel periodontitis-MSM grubu (Dp-MSM): Oral bakterilere retansiyon sağlaması için, çift taraflı olarak alt 1. molar dişlerinin boynuna (kole) 4.0 ipek süturların subgingival-paramarjinal konumda ligatür yerleştirilmesi yöntemi ile deneysel periodontitis oluşturulmuş 8 rattan oluşur.²⁶⁶ Ligatür yerleşiminin ilk gününden itibaren 5 hafta boyunca intraperitoneal olarak gündüz 12:00'de 500 mg/kg günlük tek doz şeklinde MSM uygulaması yapıldı.²⁶⁷ 43. günün sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilmeden önce serum örnekleri, sakrifikasyondan sonra ise doku örnekleri alındı.



Şekil 3.3. Deneysel periodontitis-MSM grubu deney şeması

3.2. Ligatür ile Periodontitis İndüksiyonu

Deneyisel periodontitis modelinin oluşturulması için intraperitoneal olarak ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorid (Ketalar, Pfizer, İstanbul, Türkiye) 40 mg/kg enjeksiyonları ile hayvanların anestezisi sağlandı. İhtiyaç halinde başlangıç dozunun %20'si aralıklı olarak tekrar edildi. Sonrasında, hem sağ hem sol alt 1.molar dişlerinin servikal bölgesine sub-paramarjinal pozisyonda 4.0 ipek suture geçirilerek mezial tarafta düğümlendi ve suture 5 hafta süre ile yerinde muhafaza edilerek deneyisel periodontitis oluşturuldu. Suture, yapısı ve pozisyonu ile ilişkili olarak plak birikimine, inflamatuvar değişikliklere ve sonuçta da periodontitis oluşumuna imkan tanıdı²⁶⁸⁻²⁷⁰ (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Ratlara ligatür bağlanması

3.3. MSM uygulaması

MSM (Bereket Kimya, İstanbul, Türkiye) günlük taze şekilde 2.14 g ölçülerek tartıldı. 10 mL'lik balon jöjeye koyuldu ve son hacim distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Yapılan bu karışım vortekslenerek hazır hale getirildi. Önceki çalışmalara benzer şekilde ligatür yerleştirilmesinin ilk gününden itibaren 5 hafta boyunca intraperitoneal olarak saat 12:00'de 500 mg/kg günlük tek doz şeklinde insülin enjektörü ile uygulandı.²⁶⁷ Deneye başlamadan önce ve deney süresince periyodik olarak ratların ağırlıkları ölçüldü ve

hayvanların değişen ağırlıklarına gre tartı (Amput Electronic Technology Co., Shenzhen, Guangdong, in) kullanılarak MSM doz ayarlaması yapıldı.

3.4. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması

Deneyin tamamlanmasından sonra takip eden 43. günde tüm gruplara daha önce anlatıldığı şekilde anestezi yapıldı ve 10 mL'lik enjektörlerle intrakardiyak sol ventriküler kan örnekleri alındı. Toplanan kan örnekleri 15 dakika süreyle $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 'de 1739 g'de santrifüj edilip serum örnekleri elde edildi. Mevcut kan serumları (süpernatantlar) eppendorf tüplere koyularak -80°C derin dondurucuda (thermo scientific TLE series) (şekil 3.5.) analiz gününe kadar muhafaza edildi. Ratların kanları alındıktan hemen sonra öldürücü doz sodyum pentobarbital enjeksiyonu (50 mg/kg) ile tenazi uygulandı. (tenazi: TM, SAB) 1. büyük azı dişleri ve çevresindeki dokuları içeren mandibular dokular birlikte çıkarıldı (şekil 3.6.). Sol mandibula örnekleri biyokimyasal analizlerde, sağ mandibula örnekleri ise histolojik (histomorfometrik ve immnohistokimyal) analizlerde kullanılmakzere %10 nötral formaldehit solüsyonu içeren kaplara aktarıldı. Hem histolojik hem de biyokimyasal incelemeler, çalışma grubu tayininden habersiz iki uzman araştırmacı tarafından gerçekleştirildi (Histoloji: TM, LT; Biyokimya: AY, SMK).



şekil 3.5. -80°C derin dondurucu



Şekil 3.6. Sağ mandibular doku örneği ve 1.molar diş etrafının ligatürlenmesi

3.5. Histopatolojik Analizler

3.5.1. Histolojik Doku Takibi Prosedürü

Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlardan çıkarılan sağ mandibular çene kemiğine ait kesitlere, histopatolojik analizlerde değerlendirilmek üzere %10'luk nötral formalin solüsyonu kullanılarak 24 saat boyunca fiksasyon işlemi uygulandı. Fikse işlemi uygulanan çene kemiği örnekleri Morse's solusyonunda 24 saat boyunca bekletilerek dekalsifikasyon işlemi uygulandı. Dekalsifikasyon aşamasından sonra kesitlere tekrar %10'luk nötral formalin solüsyonu kullanılarak, 24 saat boyunca fiksasyon işlemi uygulandı. Fiksasyon işleminin ardından mandibula doku örnekleri doku takip cihazı (Şekil 3.7.) kullanılarak Tablo 3.2.'de gösterildiği gibi (ThermoScientific™ Citadel 2000, Almanya) ardan ethanol serilerinden (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) geçirilerek dehidratasyon ve iki seri ksilol (Merck Merck KGaA, Darmstadt, Germany) solüsyonlarından geçirilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Bir sonraki aşamada yumuşak ve sert parafinde (Merck Merck KGaA, Darmstadt, Germany) bekletilerek parafin inkluzyonu gerçekleştirildi. Doku takibi işleminin ardından mandibula dokusuna ait örnekler parafin bloklama cihazı (Şekil 3.8.) (Leica EG 1150 H, Lecia Biosystems,

Germany) kullanarak doku gömme kasetlerine parafin ile bloklandı. Daha sonra parafin bloklardan rotary mikrotom (Şekil 3.9.) ile 4-5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak (Leica RM2255, Leica Biosystems, Germany) boyama cihazı (Şekil 3.10.) (Leica ST5020, Germany) kullanılarak Hariss Hematoksilen (Merck KGAA, Germany)+Eosin G (Merck KGAA, Germany) ile boyandı.



Şekil 3.7. Doku takip cihazı



Şekil 3.8. Parafin bloklama



Şekil 3.9. Rotary Mikrotom



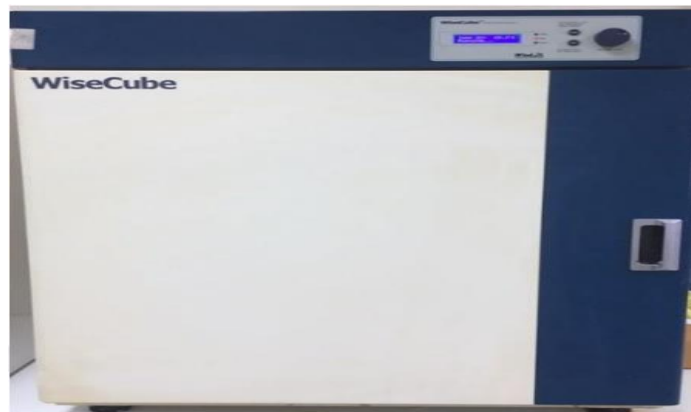
Şekil 3.10. Hematoksilen-Eozin boyama cihazı

Tablo 3.2. Mandibula dokusuna ait doku takibi (Doku takip cihazı-Shendon, Citadel 2000 protokolü)

Yapılan İşlem	Kullanılan Materyal	Zaman
Doku tespiti	%10'luk nötral formalin	24 saat
Dehidratasyon	%50 Etanol	1 sa 15 dk
	%60 Etanol	1 sa 30 dk
	%70 Etanol	1 sa 30 dk
	%80 Etanol	1 sa
	%96 Etanol	1 sa
	%100 Etanol (1)	1 sa 15 dk
	%100 Etanol (2)	1 sa 15 dk
Şeffaflaştırma	Ksilen (1)	1 sa 30 dk
	Ksilen (2)	1 sa
Prafinizasyon	Parafin (42-44 ⁰ C)	1 sa
	Parafin (54-56 ⁰ C)	3 sa 30 dk
Bloklama		

3.5.2. Hematoksilen & Eozin ile Boyama Prosedürü

Lama alınan kesitler boyamadan önce hem dokudaki parafinin uzaklaştırılması hem de kesitlerin lama daha iyi adaptasyonu için formalinsiz bir ortamda 56 °C'lik etüvde (Şekil 3.11.) bekletildi ve tüm kesitler Leica, ST5020 Multistainer Bath Array boyama cihazında boyamaya alındı ve aşağıdaki prosedürler uygulandı (Tablo 3.3).



Şekil 3.11. Etüv cihazı

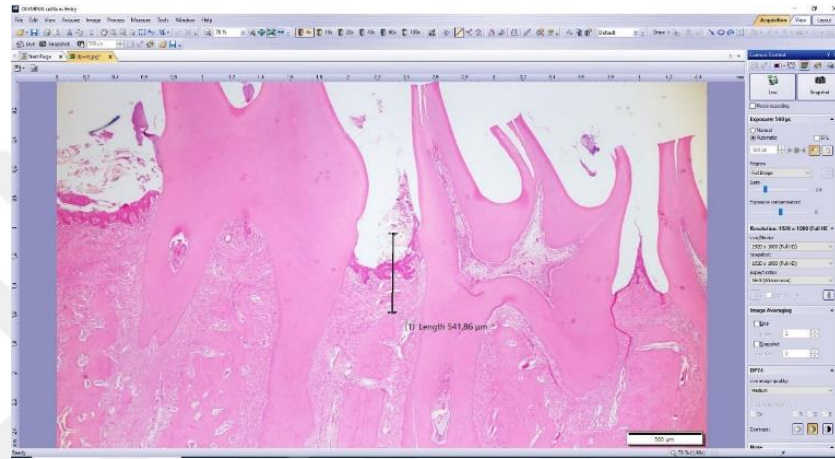
Tablo 3.3. Hematoksilen eozin boyama prosedürü

Yapılan İşlem	Kullanılan Materyal	Zaman
Deparafinizasyon	56 °C'lık etüv	1 sa
	Boyama cihazı fırın	5 dk
	Ksilen (1)	3 dk
	Ksilen (2)	3 dk
Rehidratasyon	%100'lük Etanol	1 dk
	%96'lık Etanol	2 dk
	%90'lık Etanol	2 dk
	%80'lik Etanol	2 dk
	%70'lik Etanol	2 dk
Yıkama	Çeşme suyunda yıkama	5 dk
	Distile suda yıkama	5 dk
Boyama	Harris hematoksilen	1 dk
Yıkama	Çeşme suyunda yıkama	5 dk
Boyama	Eozin G	8 dk 30 sn
Yıkama	Distile suda yıkama	15 sn
Dehidratasyon	%70 Etanol	20 sn
	%80 Etanol	15 sn
	%90 Etanol	15 sn
	%100 Etanol (1)	15 sn
	%100 Etanol (2)	15 sn
Şeffaflaştırma	Ksilen (1)	5 dk
	Ksilen (2)	10 dk
Kapama	Entellan	5 dk

Histopatolojik incelemelerin tümü 2 Histolog tarafından bağımsız olarak RTEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Histoloji Araştırma Laboratuvarı'nda Olympus DP74 kamera ataçmanlı (Olympus, Tokyo, Japonya) Olympus trioküler BX51 TF (Olympus, Tokyo, Japonya) marka mikroskopta yapıldı.

3.6. Kantitatif Analizler

Harris hematoxilen ve Eozin G ile boyanmış kesitlerde mine-sement sınırı (MSS) yüksekliği mikrometre (μm) birim ile kantitatif olarak ölçüldü. Kantitatif ölçüm MSS yüksekliği ışık mikroskobuna ataçmanlı (BX51 Olympus BX51, Japonya) CellSens (Imaging Software Olympus Corp., Japonya) bilgisayar programının Arbitrary probe ile belirlendi²⁷¹ (Şekil 3.13.).



Şekil 3.12. Kantitatif Yöntemle MSS yüksekliğinin ölçülmesi

3.7. İmmünohistokimyasal Analiz

Sağ mandibula dokusuna ait örnekler fiksasyon ve dekalsifikasyon işleminin ardından rutin histolojik doku prosedürleri uygulanarak parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM2525, Leica Biosystems, Almanya) ile 2-3 μm kalınlığında kesitler alındı. İmmünohistokimyasal yöntem uygulanacak kesitler doku deparafinizasyon aşamasında Leica Bond Max (Leica Biosystems, Australia) IHC/IHS cihazı kullanılarak RANKL primer antikoru (ab239607, Abcam, Birleşik Krallık) ve OPG (ab203061, Abcam, Birleşik Krallık) primer antikörlerinin üretici firma kataloglarına uygun olarak antikörler ile inkube edilerek boyama işlemlerine devam edildi (Şekil 3.12.).



Şekil 3.13. İmmünohistokimya boyama cihazı

3.7.1. Semi-Kantitatif Analizler

RANKL ve OPG pozitivitesi gösteren osteositlerin skorlanması Tablo 3.4.’te gösterildiği gibi analiz edildi.^{272, 273} Her bir kesitten 20 farklı alan olacak şekilde iki histopatolog tarafından değerlendirildi. Histopatologlar tedavi grupları için körleştirildi.

Tablo 3.4. İmmün-Pozitif Hücreleri Semi-Kantitatif Yöntemlerle Ölçme Yöntemi

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

3.8. Biyokimyasal Analizler

3.8.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyokimyasal analizler için, RTEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarı ve Rize Devlet Hastanesindeki cihazlar kullanılmıştır (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz Adı	Markası
Santrifüj	Heraus 3SR± Multifuge
Otomatik Pipetler	Eppendorf, Socorex
Vorteks	Velp Scientifica
Yatay Karıştırıcı	Selectr Movil-Rod
Distile Su Cihazı	Sartorius Arium 61316
Manyetik Karıştırıcı	Wisestir Msh
Etüv	MEMMER UF55
ELISA Okuyucu	Thermo Multiscan Go
ELISA Yıkayıcı	Biotek EL X 50
-80°C Derin Dondurucu	Newbrunswick Scientfic
Buzdolabı	Beko BK 7121 T
Çalkalamalı Su Banyosu	Uniterm
pH metre	Hanna HI2210
Balon joje, mezür gibi cam malzemeler	Iso Lab
Ependorf	Iso Lab
Çeşitli hacimlerde pipet uçları	Labosel
Hassas Terazı	Precisa XB 220A
Otoanalizör	AU680 Beckman Coulter
Homojenizatör	Wisetis-HG-15A

3.8.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasallar, Kitler ve Markaları

ELISA kitleri ve çalışmada kullanılan sarf malzemeler (Tablo 3.6.), TSA-2023-1506 no'lu BAP projesi kapsamında satın alınmıştır.

Tablo 3.6. Kullanılan kimyasallar, kitler ve markaları

Kimyasalın Adı	Markası
Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)	Sigma
Tri sodyum sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	MERCK
Redükte glutatyon (GSH)	Sigma-Aldrich
Di sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	HIMEDIA
Sodyum Dihidrojen Fosfat (NaH_2PO_4)	HIMEDIA
Potasyum Klorür (KCl)	HIMEDIA
Asetik asit	MERCK
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	Sigma-Aldrich
Tiyobarbitürik asit (TBA)	MERCK
Etanol	Iso Lab
1,1,3,3 Tetrametoksipropan (TEP)	FLUKA
Sodyum Klorür (NaCl)	MERCK
Rat Interlökin 1 β (IL-1 β)	BT-Lab (Cat. No E0119Ra)
Rat Interlökin 10 (IL-10)	BT-Lab (Cat. No E0108Ra)
Toplam Antioksidan Seviye (TAS)	Rel Assay
Toplam Oksidan Seviye (TOS)	Rel Assay
Metil sülfonil metan (MSM)	Bereket Kimya

3.8.3. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Anestezi altında sakrifiye edilen sıçanların, dış eti dokusunun bir kısmı %0.9'luk soğuk ($\pm 4^\circ\text{C}$) NaCl ile yıkayıp kurutma kâğıdı ile kurutulduktan sonra, dokular porsiyonlar halinde çalışmalar yapılana kadar -80°C 'de saklandı. Ayrıca eksize edilen dış eti dokusunun diğer kısmı da histopatolojik ve immunokimyasal analizler için %10 formaldehit solüsyonuna koyuldu.

3.8.4. Biyokimyasal İşlemler

3.8.4.1. Diş Eti Dokularının Homojenizasyonu

20 mM 1L sodyum fosfat $\pm$ 140 mM potasyum klorür ile homojenizasyon tamponu hazırlandı (pH 7.4).²⁷⁴ Tüm diş eti dokuları soğuk PBS tamponunda (pH=7.4) yıkandı ve fazla su uzaklaştırıldı, ardından dokular tartıldı. Diş eti dokuları üzerine homojenizasyon tamponu (doku ağırlığı (g):PBS (mL) hacim=1:9) eklenerek homojenize edildi (Şekil 3.14.) ve homojenatlar 4°C de 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar biyokimyasal parametrelerin tayininde kullanıldı.



Şekil 3.14. Diş eti dokuların homojenizasyonu

3.8.4.2. MDA Tayini

MDA tayini Ohkawa vd.'nin modifiye yöntemine göre yapıldı. Yöntemin prensibi; lipid peroksidasyonu ürünü MDA'nın, TBA çözeltisi ile ısıtılması sonucu pembe renkli kompleks oluşturmaya dayanır.²⁷⁵

3.9.4.2.1. MDA Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

%8.1'lik SDS→4.05 g SDS tartıldı, saf su ile çözülerek son hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

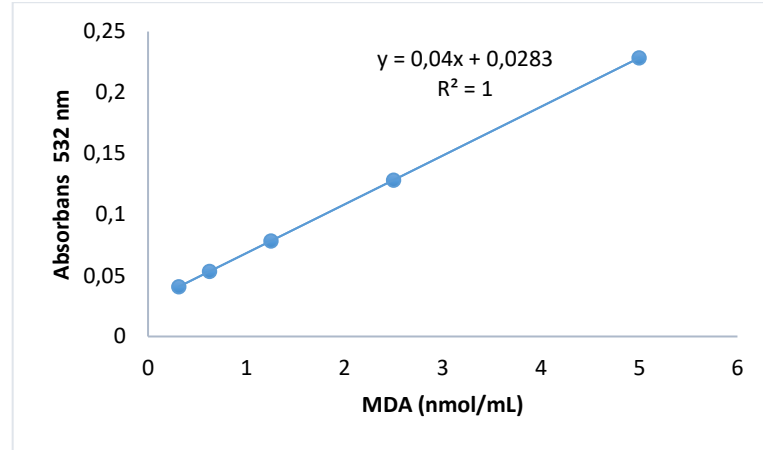
%50'lik Asetik Asit→25 mL asetik asit saf suda çözülerek son hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

%0.8'lik TBA→0.4 g TBA, %50'lik asetik asit çözeltisinde çözülerek son hacmi %50'lik asetik asit ile 50 mL'ye tamamlandı.

%20'lik Asetik Asit→ 10 mL asetik asit 40 mL saf suda çözülerek pH'ı 3.5 olacak şekilde ayarlandı ve son hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

3.9.4.2.2. Deneyin Yapılışı

Kör, standartlar ve süpernatantlardan 200 µL pipetlenerek üzerine 50 µL %8.1'lik SDS, 375 µL %20'lik asetik asit (pH=3.5) ve %0.8'lik 375 µL TBA eklendi. Karışım vortekslendi ve ardından 1 saat kaynar su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 5 dakika buzlu suda soğutuldu ve 750g'da 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan pembe renk 532 nm'de spektrofotometrede okutularak standart grafiği çizildi ve standart grafiği yardımıyla konsantrasyonlar hesaplandı (Şekil 3.15). Sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.



Şekil 3.15. MDA standart grafiği

3.8.4.3. GSH Tayini

GSH tayini, serbest sülfidril gruplarının Ellman reaktifiyle oluşturduğu sarı rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır.²⁷⁶

3.9.4.3.1. GSH Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

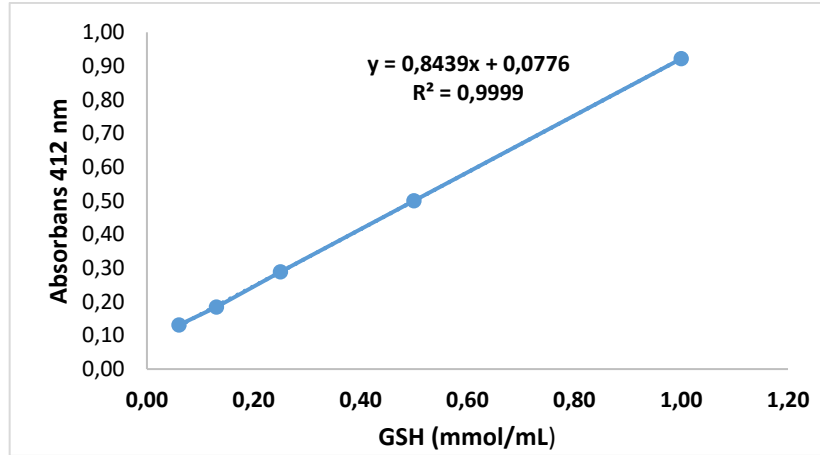
0.3 M Na₂HPO₄: 2.13 g Na₂HPO₄ tartıldı, saf su ile çözülerek son hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

%1'lik sodyum sitrat: 1 g sodyum sitrat tartıldı, saf suda çözülerek son hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Ellman Ayıracı: 0,004 g DTNB tartıldı, %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözülerek son hacmi yine %1'lik sodyum sitrat çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

3.9.4.3.2. Deneyin Yapılışı

25 µL pipetlenen kör, standart ve süpernatantların üzerine 100 µL 3M Na₂HPO₄ ve 25 µL DTNB eklendi, ardından hafif bir çalkalama sonrasında oluşan sarı renk 412 nm'de spektrofotometrede okutularak standart grafiği çizildi ve standart grafiği yardımıyla konsantrasyonlar hesaplandı (Şekil 3.16.). Sonuçlar mmol/g doku olarak hesaplandı.



Şekil 3.16. GSH standart grafiği

3.8.4.4. IL-10 ve IL-1β Düzeylerinin Belirlenmesi

Homojenize edilen diş eti numunelerinden elde edilen süpernatantlar RTEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı'nda enzime bağlı

immünosorban yöntem (ELISA) ile Rat IL-10 (IL-10, BT Lab kiti, Cat. No E0108Ra) ve Rat IL-1 β (IL-1 β , BT Lab kiti, Cat. No E0119Ra), Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) ticari kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

Kitlerin Prensibi: Sandwich-ELISA prensibine dayanmaktadır. Kit içeriğindeki mikrolaka, ölçülecek olan parametreye özel bir antikor ile önceden kaplıdır. Mikrolakanın kuyucuklarına numuneler eklenerek spesifik antikor ile birleştirilir. Substrat ilavesinden sonra oluşan mavi renk, enzim-substrat reaksiyonu durdurma (stop) çözeltisinin eklenmesiyle sarıya döner. Optik dansitite (OD), 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerin OD'si oluşturulan standart grafik ile karşılaştırılarak IL-10 ve IL-1 β konsantrasyonları hesaplanır.

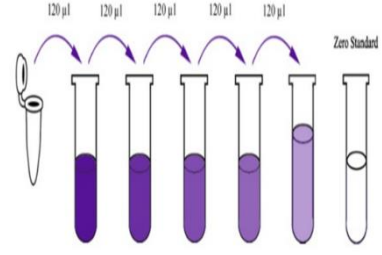
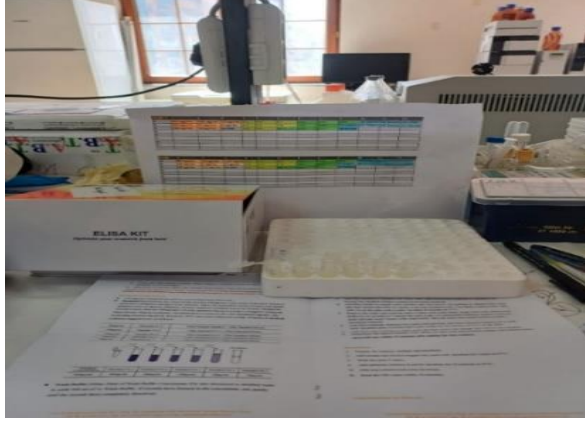
3.9.4.4.1. Reaktiflerin Hazırlaması

Yıkama Solüsyonu: 20 mL konsantre yıkama solüsyonu 480 mL distile su ile seyreltilerek 500 mL yıkama solüsyonu hazırlandı.

Standartların Hazırlanması: Kit içerisinde bulunan stok standart, yatay karıştırıcıda homojen hale getirildi (Şekil 3.17.). Daha sonra 120 μ L standart dilüent üzerine 120 μ L stok standart eklendi, ardından seri dilüsyon yapılarak standart serisi hazırlandı (Şekil 3.18.). Standart Diluent solüsyonu 0 standardı olarak kullanıldı.



Şekil 3.17. Yatay karıştırıcıda standartların homojen hale getirilmesi



Şekil 3.18. Standartların hazırlanması

3.9.4.4.2. Kitlerin Çalışma Prosedürü

1. Tüm reaktifler, standartlar, mikropılaka ve numuneler oda sıcaklığına getirildi (Şekil 3.9.).
2. Standart için kullanılacak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan 50 µL eklendi (Şekil 3.9.).
3. Numune pipetlenecek kuyucuklara 40 µL numune ve ardından numunelerin üzerine 10 µL biotinlenmiş teste spesifik antikor eklendi (Şekil 3.19.).
4. Numune ve standartların üzerine 50 µL streptavidin-HRP eklendi, karıştırıldı, ardından plakanın üstü kapatıldı ve 37 °C'ye ayarlanan inkübatörde (MEMMER UF55) 1 saat inkübe edildi (Şekil 3.19.).



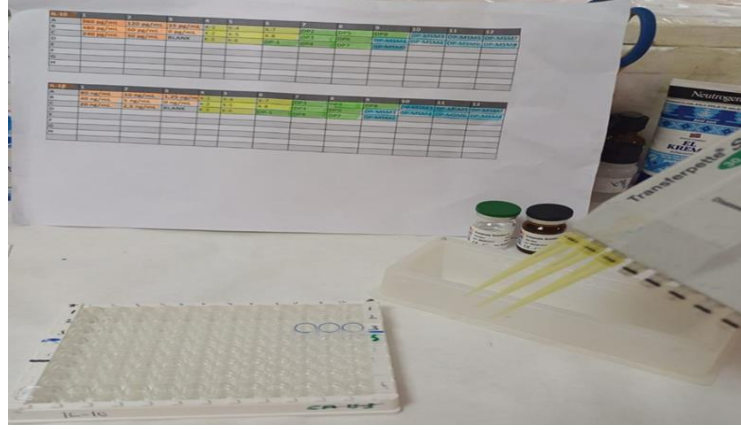
Şekil 3.19. Süpernatantların ELISA kiti ile incelenmesi

5. İnkübasyon sonrasında mikrolaka, hazırlanan yıkama solüsyonundan 300 μ L eklenerek ELISA yıkama cihazında (Biotek ELx50, ABD) 5 kez yıkandı (Şekil 3.20.).



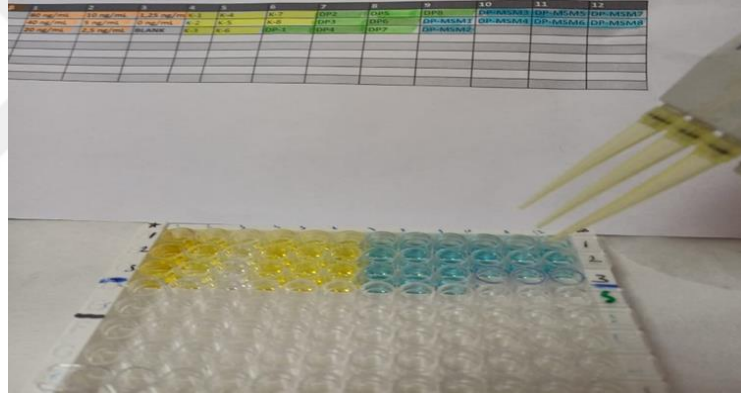
Şekil 3.20. ELISA yıkayıcı cihaz

6. Her bir kuyucuğa 50 μ L Substrat A hemen ardından 50 μ L Substrat B solüsyonu eklenip 37 $^{\circ}$ C'de karanlıkta 10 dk inkübe edildi (Şekil 3.21.).



Şekil 3.21. Substrat A ve Substrat B'nin eklemesi

7. Reaksiyonu durdurmak için tüm kuyucuklara 50 μ L stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklerken maviden sarıya dönen renk değişikliği izlendi (Şekil 3.22.).



Şekil 3.22. Stop solüsyon ekleme aşaması (renk maviden sarıya döner)

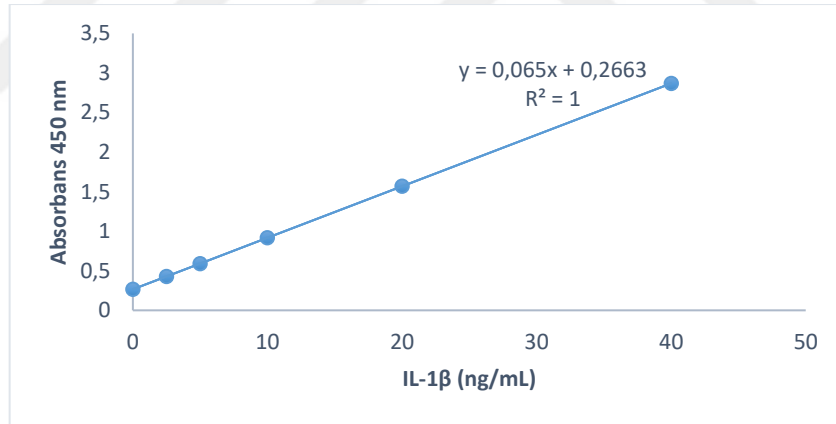
8. Stop solüsyonu eklendikten sonra, mikroluka 10 dk içinde ELISA okuyucuda (Thermo Scientific, Multiskan GO, ABD) 450 nm'de okutularak absorbanslar belirlendi (Şekil 3.23).



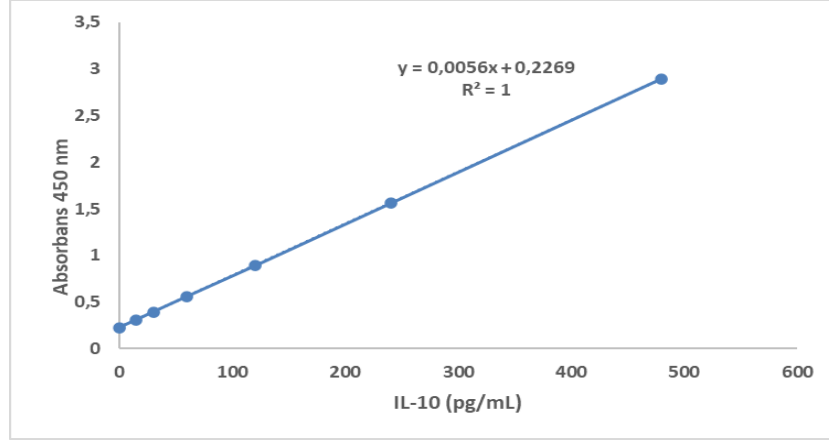
Şekil 3.23. ELISA okuyucu cihaz

9. Kit içerisinde bulunan standartların konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile oluşturulan IL-1 β (Şekil 3.24.) ve IL-10 (Şekil 3.25.) standart grafikleri kullanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

IL-1 β ng/g doku ve IL-10 pg/g doku şeklinde ifade edildi.



Şekil 3.24. IL-1 β standart grafiği



Şekil 3.25. IL-10 standart grafiği

3.8.4.5. TAS, TOS ve OSİ Tayini

3.9.4.5.1. TAS

Diş eti dokularının TAS düzeyleri Rize Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan DxC700 Beckman Coulter otoanalizörü ile Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Ölçüm sonucunda mmol Trolox ekivalent/L olan sonuçlar, mmol Trolox ekivalent/g doku olarak hesaplandı ve ardından OSİ değerlerini hesaplayabilmek için µmol Trolox ekivalent/g doku şeklinde ifade edildi.

3.9.4.5.1.1. TAS Tayini Metodunun Prensibi

İndirgenmiş ABTS molekülü asidik ortamda (asetat tamponu, 30 mmol/L, pH:3.6) tek başına H₂O₂ kullanılarak ABTS^{•±} molekülüne oksitlenir. Asetat tamponunda, konsantre (koyu yeşil) ABTS^{•±} molekülüleri daha uzun süre kararlı kalır. Yüksek pH değerinde daha konsantre bir asetat tampon solüsyonu (asetat tamponu, 0.4 mol/L, pH:5.8) ile dilüe edildiğinde, renk yavaşça kendiliğinden açılır. Numunede bulunan antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renkteki açılmayı bir dereceye kadar hızlandırırlar. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve renkteki açılma hızı

örnekteki total antioksidan kapasite ile ters orantılıdır. Reaksiyon hızı, total antioksidan kapasite ölçüm yöntemleri için geleneksel standart olarak yaygın şekilde kullanılan Trolox ile kalibre edilir ve ölçüm sonuçları mmol Trolox ekivalent/L olarak ifade edilir.³²

3.9.4.5.2. TOS

Diş eti dokularının TOS düzeyleri Rize Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan DxC700 Beckman Coulter otoanalizörü ile Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Ölçüm sonucunda $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ekivalent/L sonuçlar, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ekivalent/g doku şeklinde hesaplandı.

3.9.4.5.2.2. TOS Tayini Metodunun Prensibi

Numunede bulunan oksidanlar, Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksini Fe^{+3} iyonuna okside eder. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile arttırılır. Fe^{+3} iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk şiddeti, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ekivalent/L olarak ifade edilir.¹⁹⁰

3.9.4.5.3. OSİ

Total oksidan seviyenin total antioksidan seviyeye yüzde oranı oksidatif stres derecesinin belirteci olan OSİ değerini verir.

OSİ hesaplamak için:

$$\text{OSİ} = \left[\frac{\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ ekivalent/g doku})}{\text{TAS } (\mu\text{mol Trolox ekivalent/g doku})} \right] \times 100$$
 formülü kullanılmıştır.³³

3.9. İstatistiksel Analiz

Biyokimyasal ölçümlerin analizi için, çalışmadaki sürekli ölçümlerin normal dağılıp dağılmadığına Shapiro-Wilk ve Skewness-Kurtosis testleri ile bakıldı ve ölçümler normal dağıldığından dolayı parametrik testler uygulandı. Çalışmadaki değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, sayı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edildi. Gruplara göre sürekli ölçümlerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı. Varyans analizini takiben farklı grupları belirlemede “Duncan testi” kullanıldı. Ölçümler arası ilişkiyi belirlemede ise Pearson korelasyon katsayıları hesaplandı. Histolojik verilerin analizi için ise, Shapiro-Wilk testi, Q-Q plot, Skewness-Kurtosis değerleri ve Levene’s testi yapılarak verilerin normal dağılıma uyup uymadığı değerlendirildi. Alveolar kemik kayıplarının gruplararası karşılaştırılmasında veriler normal dağıldığından dolayı One-way ANOVA ve Tukey HSD testi uygulandı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verildi. İmmunohistokimyasal bulguların analizinde gruplararası karşılaştırma için, veriler normal dağılmadığından dolayı, Kruskal Wallis testi, Duncan testi ve bunu takiben Tamhane T2 testi yapıldı. Parametrik olmayan veriler median, minimum ve maksimum olarak ifade edildi. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Analizler için SPSS (IBM SPSS for Windows, ver.26) istatistik paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Histopatolojik Analiz

Harris hematoxilen ve eozin ile boyanan kesitlerde kontrol grubunda diş ve diş etinin normal yapıda olduğu saptandı. Bunun aksine, Dp grubuna ait kesitlerde diş etinde yoğun ödematöz alanlar tespit edildi. Dp-MSM grubunda ise ödematöz alanların Dp grubuna kıyasla azalmış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Alveolar kemik kayıplarının histolojik kesitlerde değerlendirilmesi

(A; Kontrol, B; Dp, C; Dp-MSM gruplarını temsil etmektedir. (Dp; deneysel periodontitis, MSM; metilsülfonilmetan, MSS; mine-sement sınırı, AK; alveolar kemik)

4.1.2. Alveolar Kemik Kaybının Kantitatif Analizi

Çalışma gruplarına ait alveolar kemik kaybı (MSS-AK) ölçümleri Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de verildi. Çalışma gruplarına ait MSS-AK ölçümlerinin istatistiksel analizi sonucunda Dp grubuna ait verilerin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu bulundu ($p=0.001$). Dp-MSM grubuna ait MSS-AK ölçümleri ise Dp grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi ($p=0.001$).

Tablo 4.1. Alveolar kemik kayıplarının gruplar arasında karşılaştırılması

	Kontrol Ort ± SS	Dp Ort ± SS	Dp-MSM Ort ± SS
MSS-AK (µm)	603.34 ± 93.56	1222.24 ± 76.41 ^a	817.59 ± 78.67 ^{a,b}

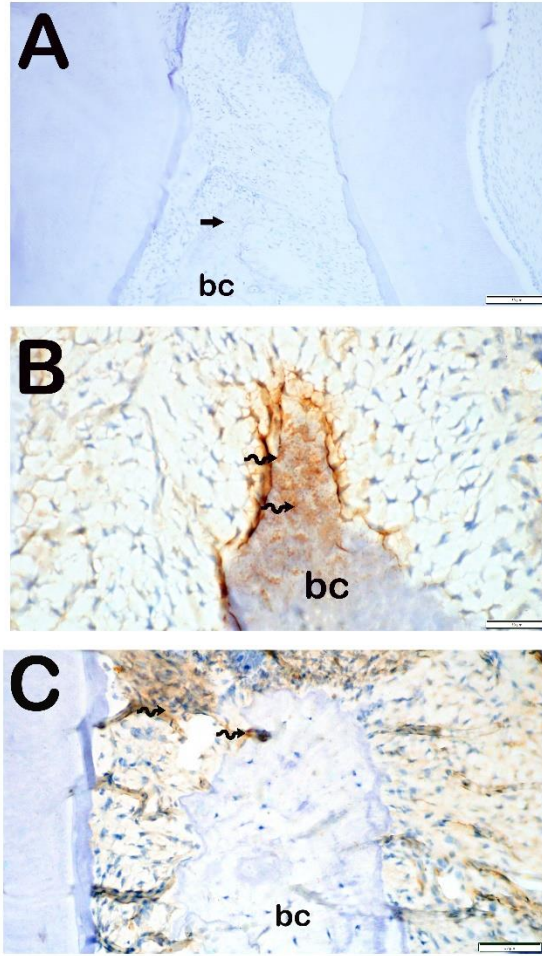
^ap=0.001 K grubuna kıyasla, ^bp=0.001 Dp grubuna kıyasla, One-Way ANOVA-Tukey HSD test
Ort; ortalama, SS; standart sapma, µm; mikrometre, Dp: deneysel periodontitis, MSM; metilsülfonilmetan, K; kontrol

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1. Doku RANKL ve OPG Bulguları

4.2.1.1. RANKL pozitivitesi

RANKL primer antikoruna ile inkübe edilen sağ mandibula dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde, kontrol grubuna ait kesitlerde hücrelerin immün-negatif olduğu gözlemlendi. Bunun aksine, Dp grubuna ait kesitlerde kontrol grubuna kıyasla yoğun RANKL primer antikoruna bakımından pozitive gösteren hücrelerin sayısında artış olduğu saptandı. Ayrıca, Dp-MSM grubunda Dp grubuna kıyasla RANKL pozitivitesi gösteren hücrelerin sayıca azaldığı izlendi (p=0.001) (Şekil 4.2., Tablo 4.3.).



Şekil 4.2. Histolojik kesitler üzerinde RANKL pozitif hücreler

(Kesitler üzerinde immünohistokimyasal boyama ile RANKL pozitif hücrelerin belirlenmesi A; Kontrol, B; Dp, C; Dp-MSM gruplarını temsil etmektedir. Dp; deneysel periodontitis, MSM; metilsülfonilmetan)

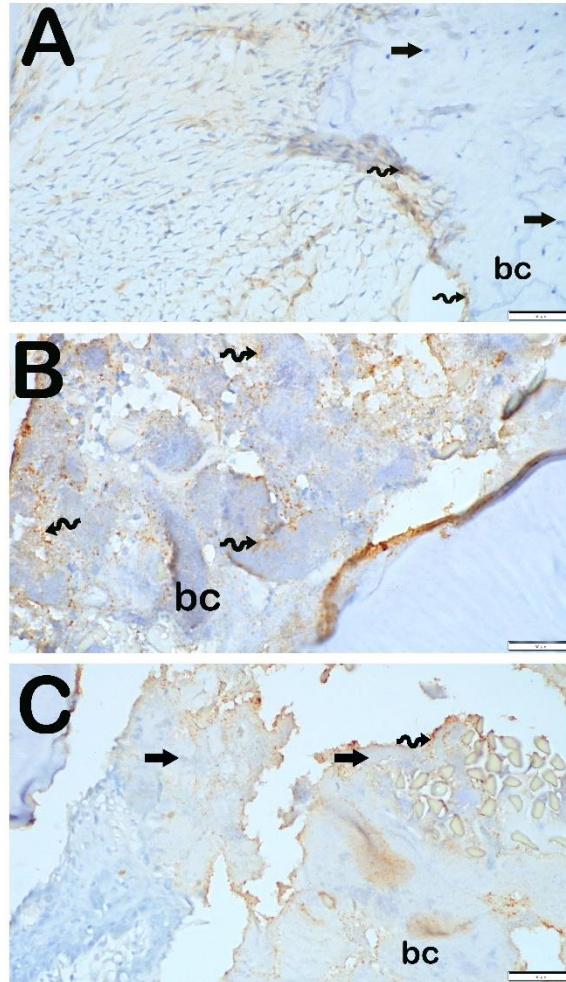
Tablo 4.2. RANKL ve OPG seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Kontrol	Dp	Dp-MSM
	medyan(min-maks)	medyan(min-maks)	medyan(min-maks)
RANKL	1(0-1)	3(2-3) ^a	1(1-2) ^{b,c}
OPG	1(1-1)	1(1-1)	2(1-2) ^{a,b}

^ap=0.001 Kontrol grubuna kıyasla, ^bp=0.001 Dp grubuna kıyasla, ^cp=0.002 Kontrol grubuna kıyasla, Kruskal-Wallis/Tamhane T2 test, min; minimum, maks; maksimum, Dp; deneysel periodontitis, MSM; metilsülfonilmetan

4.2.1.2. OPG pozitivitesi

OPG primer antikoru ile inkübe edilen sağ mandibula dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde, kontrol grubuna ait kesitlerde hücrelerin OPG primer antikoru bakımından immün-negatif olduğu gözlemlendi. Bunun aksine, Dp grubuna ait kesitlerde kontrol grubuna kıyasla OPG primer antikoru bakımından pozitivite gösteren hücrelerin sayısının değişmediği saptandı. Ayrıca, Dp-MSM grubunda Dp grubuna kıyasla OPG pozitivitesi gösteren hücrelerin sayıca arttığı görüldü ($p=0.001$) (Şekil 4.3., Tablo 4.2.).



Şekil 4.3. Histolojik kesitler üzerinde OPG pozitif hücreler

(Kesitler üzerinde immünohistokimyasal boyama ile OPG pozitif hücrelerin belirlenmesi A; Kontrol, B; Dp, C; Dp-MSM gruplarını temsil etmektedir. Dp; deneysel periodontitis, MSM; metilsülfonilmetan)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmanın biyokimyasal bulguları Tablo 4.3'te verildi.

Tablo 4.3. Biyokimyasal bulguların gruplar arası karşılaştırılması

	Kontrol	Dp	Dp-MSM		
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	F	*p
IL-1β (ng/g doku)	37.23±12.44	35.80±10.32	36.47±8.42	0.037	0.964
IL-10 (pg/g doku)	583.53±183.93 ^a	394.55±142.35 ^b	413.18±54.28 ^b	4.564	0.023
IL-1β/IL-10	0.07±0.03	0.11±0.06	0.09±0.02	1.734	0.201
MDA (nmol/g doku)	4.85±1.10 ^c	13.75±2.68 ^a	9.81±5.54 ^b	12.188	0.001
GSH (mM/g doku)	1.91±0.32 ^a	1.36±0.16 ^b	1.95±0.42 ^a	8.226	0.002
TOS (μmol H ₂ O ₂ Eq/g)	32.03±10.35	39.50±13.16	29.58±7.60	1.895	0.175
TAS (μmol Trolox Eq/g)	1761.95±444.42	1464.10±652.09	1865.94±708.51	0.928	0.411
OSİ	1.79±0.60 ^b	3.02±1.14 ^a	1.72±0.53 ^b	6.658	0.006

Tek yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri; a,b,c: Gruplar arası farklılığı gösterir (Duncan post-hoc test); Ort: ortalama, SS: standart sapma

Dp; deneysel periodontitis grubu, Dp-MSM; deneysel periodontitis-metilsülfonilmetan grubu, IL; interlökin, TAS; toplam antioksidan seviye, TOS; toplam oksidan seviye, OSİ; oksidatif stres indeksi, MDA; malendialdehit, GSH; glutatyon

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

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

Dokularda incelenen IL-1β değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0.05). Çalışma gruplarına ait dokularda incelenen IL-10 değerlerinin istatistik analiz sonuçları değerlendirildiğinde, Dp ve Dp-MSM gruplarının IL-10 seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0.05). Dp grubunda kontrol grubuna göre IL-10 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edildi (p<0.05). Dp-MSM grubundaki IL-10 değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu (p<0.05). Dp-MSM grubundaki IL-10 değeri Dp grubundaki IL-10 değerine göre istatistiksel olarak anlamlı

olmayacak düzeyde yüksekti ($p>0.05$). Dokularda incelenen IL-1 β /IL-10 oranına bakıldığında, Dp grubunda, Dp-MSM ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak düzeyde hafif bir artış gözlemlendi ($p>0.05$).

4.3.2. Doku Oksidan - Antioksidan Parametrelerin Bulguları

4.3.2.1. Doku Malondialdehit ve Glutatyon Bulguları

Dokularda yapılan MDA tayini sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0.05$). Dp grubundaki MDA düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlemlendi ($p<0.05$). Dp-MSM grubunda kontrol grubundaki MDA değerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme tespit edildi ($p<0.05$). Dp grubundaki MDA değeri, Dp-MSM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$).

Dokularda yapılan GSH tayini sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0.05$). Dp grubundaki GSH değerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edildi ($p<0.05$). Dp-MSM grubundaki GSH değeri kontrol grubuna göre hafif bir artış gösterdi ($p>0.05$). Dp grubunda Dp-MSM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi ($p<0.05$).

4.3.2.2. Doku TOS, TAS ve OSİ Bulguları

Dokuda yapılan TOS değerlendirmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamazken en düşük değer Dp-MSM grubunda ölçüldü ($p>0.05$). Dp grubundaki TOS değeri kontrol ve Dp-MSM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da yüksekti ($p>0.05$). Dp-MSM grubundaki TOS değerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma tespit edildi ($p>0.05$). TAS değeri, Dp-MSM grubunda Dp ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da

yüksekti ($p>0.05$). Dp grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşüş tespit edildi ($p>0.05$).

TOS ve TAS değerlerinin oranlanması sonucu ortaya çıkan OSİ değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0.05$). OSİ değeri, Dp grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0.05$). Dp-MSM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde hafif bir azalma gözlemlendi ($p>0.05$). Dp grubundaki OSİ değerinde Dp-MSM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış vardı ($p<0.05$).



5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, toplumda görülme sıklığı yüksek olan inflamatuvar hastalıklar arasındadır.²⁷⁷ Periodontal hastalıktan ileri seviyede etkilenen bireylerde erken diş kayıpları görülür.²⁷⁸ Periodontal hastalıklarda, periodontal cep derinliğinde artış ile ileri vakalarda alveolar kemik kaybı gibi bulgular görülmektedir. Hastalıkların ilerlemesinde MDP ile bakteri ve bakteri ürünlerine karşı oluşan konak cevabı etkili olmaktadır.^{136, 279, 280} Konak modülasyonu, konak ve bakteri arasındaki etkileşimde konağın verdiği immün-inflamatuvar cevabın koruyucu yönlerini artırmayı ve yıkıcı yönlerini azaltmayı amaçlar. Periodontal doku yıkımında konak kaynaklı faktörlerin öneminin anlaşılması üzerine, konak yanıtını değiştirmek için periodontitise sebep olan yıkıcı mekanizmaların önlenmesine yönelik yeni tedavi yaklaşımları geliştirilmeye çalışılmıştır. Günümüzde, konvansiyonel mekanik tedavi ile birlikte konak modülatör ajan kullanımının daha iyi klinik sonuçlar vereceği düşünülmektedir.^{39, 216, 232, 281}

Periodontal konak modülasyonunda anti-inflamatuvar ajanların önemli bir yeri vardır. Bu ajanlardan NSAİİ'lerin etkilerini araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Waite ve ark.²⁸² NSAİİ tedavisi gören hastaların, periodontal indeks skorlarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ve NSAİİ'lerin prostaglandin üretimini azaltarak periodontal dokuları etkileyebileceğini bulmuştur. Ancak gözlenen yan etkiler NSAİİ'lerin kullanımını sınırlandırmış ve araştırmacıları farklı konak modülatör ajan arayışına sevk etmiştir.⁸⁵ Bununla beraber, konak cevabını inhibe etmenin yanı sıra inflamasyonu çözmeye yönelik protektin ve rezolvin gibi ajanlar alternatif olarak araştırılmaya başlanmıştır.⁴⁰ Protektinler ve rezolvinler nötrofil transmigrasyonunu azaltıp apoptotik nötrofil artıklarının fagositozunu attırarak inflamasyonun rezolüsyon safhasını kolaylaştırırlar.²⁸³ Kesavalu ve ark.²⁸⁴ yaptıkları hayvan çalışmasında omega-3 yağ asiti

kaynağı olarak balık yağı ile beslenen ratlarda periodontitis oluşturmuş ve oluşan kemik yıkımının mısır yağı ile beslenen ratlara oranla daha düşük olduğunu bulmuştur.

Bağıışıklık sistemini düzenleyerek periodontal tedavi başarısını arttırabileceğı savunulan bir diğeri anti-inflamatuar terapötik ajan melatonindir. Melatonin pineal bezden salgılanan bir hormondur ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde görevlidir. Bu temel görevinin yanı sıra anti-inflamatuar, antioksidan ve immün-modülatör etkinliğı ile araştırmacılar tarafından çalışmalarda konak modülatör ajan olarak kullanılmıştır.^{266, 268, 285} Köse ve ark.^{269, 271, 286} yaptıkları hayvan çalışmalarıyla melatoninin immün-modülatör, anti-inflamatuar ve antioksidan etkileri ile periodontal doku hasarını sınırlandırıdığını göstermişlerdir. DM, RA, obezite, KVH ve psöriyazis gibi kronik, inflammatuar, otoimmün hastalık ve durumların tedavisinde kullanılan biyolojik yaklaşımlar, patogenetik mekanizmalardaki benzerlikleri nedeni ile periodontitis tedavisi için de umut vadetmiştir.^{214, 287}

MSM, sülfonil fonksiyonel grubu ile ilişkilendirilen dimetilsülfon ve/veya metil sülfon olarak da bilinen anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-tümoral etkileri olan bir bileşiktir. MSM'nin, insan kalp hücresi modelinde IL-6 salınımını azaltarak pro-inflamatuar yanıtı etkilediğı bulunmuştur. IL-6 artışı, azalmış insülin duyarlılığı, KVH ve tip 2 DM gelişimi ile ilişkilendirilmiş olduğundan MSM'nin obezite ile ilişkili hastalıklar üzerinde faydalı olabileceğı düşünülmektedir.^{252, 254, 288} Yapılan bir hayvan çalışmasında, MSM'nin osteoblast oluşumunu indükleme yeteneğı ile mandibular kemik yoğunluğunda artış sağladığı bulunmuştur.²⁶³ Etanolle beyin hasarı oluşturularak yapılan başka bir hayvan çalışmasında MSM tedavisinin, pro-inflamatuar sitokinleri içeren etanolün neden olduğu inflammatuar faktörleri azalttığı bulunmuştur.⁴⁷

İnflamatuvar periodontal hastalığın en karakteristik bulgusu alveolar kemik yıkımıdır.¹¹ Yapılan hayvan çalışmalarında anti-inflamatuvar ajanların sistemik olarak uygulanmasıyla alveolar kemik yıkımının sınırlandırıldığı kanıtlanmıştır.^{289, 290} Ligatür uygulamasıyla periodontitis oluşumunun indüklendiği ve periodontitisli ratlarda belirgin seviyede olan alveolar kemik yıkımının, ratlara sistemik olarak uygulanan melatoninle istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı bildirilmiştir.^{268, 269, 286}

Yeni bir tedavi yaklaşımının insanlarda kullanılmaya başlamadan önce, hastalığa etkisinin değerlendirilmesi, elde edilen bilginin klinik ortama aktarılması, sebep-sonuç ilişkisinin değerlendirilmesi, verilerin etkinliğinin ve güvenilirliğinin doğru analiz edilebilmesi açısından hayvan çalışmaları kritik değere sahiptir.^{201, 202} Literatür incelendiğinde inflamatuvar hastalıkların patogenezindeki süreçlerin benzerliğinden dolayı, rat ve fare gibi hayvan modellerine daha çok yer verildiği görülmüştür.^{202, 203} Ratlar, periodontal anatomi, diş plağının gelişimi ve bileşimi, periodontal lezyonların histopatolojisi ve temel immünobiyojoloji açısından insanlara büyük benzerlikler göstermektedir. Ayrıca, ratlarda periodontal hastalığın değerlendirilebilmesi için tekrarlanabilir yöntemler uygulanabilir ve periodontal dokuları ligatürlerle travmatize etmeden bu hayvanlarda birkaç hafta içinde tespit edilebilir periodontal yıkım oluşturulabilir.^{242, 269, 270, 286} Periodontoloji alanında yapılan çalışmalarda en sık kullanılan rat cinsleri Wistar Albino ve Sprague Dawley'dir.²⁰⁴⁻²⁰⁶ Ratların cinsinin periodontitis duyarlılığı açısından farklılık göstermesi muhtemel görünmektedir, ancak konuyla ilgili deneysel veri mevcut değildir.

Deneysel olarak periodontal hastalık oluşturmak için ratların periodontal dokularında inflamasyonu tetiklemek gerekir. Literatüre baktığımızda bunun için iki farklı yöntem karşımıza çıkar. Bunlardan ilki, hızlı bir şekilde hastalığın gelişmesini sağlayabilmek için periodontal hastalık oluşturulmak istenen bölgeye bakterilerin

lipopolisakkarit (LPS) gibi virölans faktörlerinin enjekte edilmesidir. Ancak yöntemin bakteriyel endotoksinlere karşı akut inflamatuvar yanıt oluşturmaması ve hastalığın bakteriler tarafından indüklenmemesi gibi dezavantajları vardır.²⁰¹ İkinci yöntem ise plak retansiyon alanlarını arttırıp, periodontal hastalığı indüklemek amacıyla ratların azı dişlerinin etrafına ligatürleme işlemi yapılmasıdır. Böylece bölgedeki mekanik travma ve MDP'ye karşı konak cevabı artar, sonuç olarak doku bütünlüğü bozulur. Bu yöntem, önceki çalışmalarda da kullanılmış ve başarılı olduğu bildirilmiştir.^{195, 207, 208} Çalışmamızda, Sprague Dawley cinsi ratların azı dişlerinin etrafına 4.0 ipek ligatürleyip 35 gün yerinde kalması sağlanarak periodontitis ile ilişkili inflamasyon ve kemik yıkımı oluşturmaya çalışıldı. MSM uygulaması ise ligatürleme işlemi takip eden ilk gün başlatılarak erken dönemde doku kaybı üzerindeki etkileri araştırıldı. Böylece periodontitis kaynaklı doku yıkımı üzerine MSM uygulamasının önleyici ya da sınırlandırıcı etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Bilgilerimize göre, güncel literatürde MSM'nin periodontal tedavide konak modülatör ajanı olarak kullanımı ile ilgili yapılmış çalışma yoktur. Çalışmamız, MSM'nin periodontal doku yıkımı üzerine önleyici etkilerini biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemeyi amaçlayan ilk çalışma olması bakımından önemlidir.

Sunulan çalışmada, anti-inflamatuvar, antioksidan ve kemik yapım-yıkım mekanizmalarına olan etkisi yapılan çalışmalarla kanıtlanan MSM bileşiği kullanıldı.^{42, 43, 47, 291, 292} MSM uygulamasının dozu ve süresi ile ilgili güncel bir uzlaşma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada 1.5 g MSM'nin 90 gün boyunca oral yolla ratlara verilmesinin herhangi bir yan etkiye ve mortaliteye sebep olmadığı bildirilmiştir.²⁹³ Aljohani ve ark.²⁶³ MSM'nin yaşlı farelerdeki mandibular kemik yoğunluğu üzerine etkilerini araştırdığı deneysel çalışmada, farelere 13 hafta boyunca

100 mg/kg MSM uygulamışlardır. Miao ve ark.²⁶⁷ MSM'nin tavuk trakeasında mycoplasma kaynaklı oluşan enfeksiyonu nasıl etkilediğine yönelik yaptığı çalışmada, MSM uygulamasının en uygun konsantrasyonunun 500 mg/kg olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada oluşturulan periodontitis modelinde, MSM uygulamasının önleyici ve sınırlandırıcı etkisini değerlendirmek amacıyla 35 gün süre ile 500 mg/kg intra-peritoneal MSM uygulaması yapıldı.

Sunulan hayvan çalışmasında periodontal kemik kaybı seviyesi, tüm gruplardaki ratların alt sağ çenelerinden mezio-distal yönde alınan histolojik seri kesitler üzerinde alveolar kemik ile mine-sement sınırı arasındaki mesafenin ölçümü ile analiz edildi. Karşılaştırmada referans olarak incelediğimiz kontrol grubunun aynı kilo ve yaş aralığında inbred yöntemle üretilen erkek ratlardan oluşması, periodontitise bağlı alveolar kemik kaybının fizyolojik remodelinge bağlı değişikliklerden kısmen izole olarak değerlendirilebilmesini sağlamıştır.²⁹⁴ Periodontal hastalığın önemli karakteristik bulgularından biri alveolar kemik yıkımıdır.¹¹ Bulgularımıza göre, MSS-AK seviyeleri, Dp ve Dp-MSM gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır. Dp-MSM grubunda ise, Dp grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Bulgularımızı destekler şekilde, Altın ve ark.²⁹⁵, Köse ve ark.^{269, 286} ile Bostan ve ark.²⁷¹ da histomorfometrik olarak ölçülen MSS-AK mesafesini, periodontitis grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuştur.

Periodontal hastalığın temel belirteçlerinden biri alveolar kemik kaybıdır ve oluşan kaybın nasıl meydana geldiği hastalığın tedavisinin anlaşılması yönünden oldukça önemlidir. Periodontitiste görülen alveolar kemik kaybı sürecinin anlaşılmasında özellikle TNF reseptör ailesinin üç üyesi ön plana çıkmaktadır; RANKL, RANK ve OPG.^{11, 179} Sunulan hayvan çalışmasında alveolar kemik yıkımını değerlendirmek için kullanılan belirteçler RANKL ve OPG'dir. Bu belirteçlerin değerlendirilmesinde

immünohistokimyasal yöntemler kullanıldı. Histolojik incelemeler kemiğin yapısının, RANKL ve OPG'nin incelenmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir.

Çalışmamızda, RANKL parametresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Dp grubunda, kontrol ve Dp-MSM gruplarına göre RANKL seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edildi. Ayrıca, Dp-MSM grubundaki RANKL seviyesi de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti. Yapılan çalışmalarda, bulgularımızla benzer şekilde, RANKL seviyesinin periodontitisli ratlarda kontrol grubundakilere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir.^{271, 296, 297} Taubman ve ark.⁹² yaptıkları hayvan çalışmasında, RANKL aktivitesinin inhibisyonu ile periodontal hastalıkta osteoklastogenezisin iyileştirilebileceğini göstermiştir. Altıntepe ve ark.²⁹⁸'nin deneysel periodontitisli ve osteoporozlu ratlarda melatoninin etkilerini inceledikleri çalışmada, periodontitis ve periodontitis+osteoporoz gruplarında osteoklastik aktivite diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksekti. Ek olarak bu çalışmada, RANKL seviyesinin kontrol grubunda periodontitisli ve periodontitis+osteoporozlu gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu bildirilmiştir.²⁹⁸

Amirshahrokhi ve ark.⁴⁷ etanolle indüklenen beyin hasarını inceledikleri bir çalışmada, uygulanan MSM konsantrasyonu arttıkça RANKL düzeyinde azalma olduğunu bildirmiştir. Ateş ve ark.²⁷³'nin mineral trioksit agregat (MTA) ve MSM'nin pulpa üzerine olan etkilerini inceledikleri bir hayvan çalışmasında, MSM uygulanan grupta tedavi uygulanmayan pulpitis grubuna göre RANKL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer şekilde, MSM uygulanan grupta, periodontitis grubuna göre RANKL seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmuştur.

Sunulan hayvan çalışmasında, OPG parametresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. OPG seviyesi Dp-MSM grubunda kontrol ve Dp grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdi. Literatüre bakıldığında yapılan çalışmalarda, periodontitisli ratlarda kontrol grubundakilere göre OPG seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.^{271, 296, 297}

Yapılan çalışmada doku sitokin seviyelerinin belirlenebilmesi için ELISA yöntemi kullanıldı. Sitokinlerin tayininde kullanılan immünoassay teknikleri, biyoassay tekniklere kıyasla hassasiyet, kolaylık, duyarlılık ve özgüllük açısından avantajları sebebiyle tercih edilirler. 1971 yılından beri geliştirilerek kullanılan ELISA tekniği enzim temelli kantitatif immünoassay yöntemidir. Bu çalışmada ELISA tekniğinin tercih edilmesinin nedeni, tekniğin hassasiyet ve uygulama kolaylığı açısından amacımıza uygun olan ticari kitinin piyasadan kolaylıkla tedarik edilebilmesidir.²⁹⁹

Sunulan hayvan çalışmasında diş eti dokusundaki inflamatuvar yanıtı değerlendirmek için IL-1 β , IL-10, IL-1 β /IL-10 sitokin belirteçleri kullanılmıştır. Sitokinler, MDP'ye karşı gelişen immün cevapla periodontal hastalık mekanizmasının her bir safhasında kilit rol üstlenirler. IL-1 β , pro-inflamatuvar bir sitokindir ve kemik rezorpsiyonu da dahil olmak üzere periodontal yıkım sürecini etkiler.^{15, 96} IL-10 ise hastalık sürecinde anti-inflamatuvar bir rol üstlenip, mevcut kemik miktarının korunmasında osteoklastların aktive olmasını önleyip, osteoblastların ürettiği kemik miktarını kontrol ederek etki gösterir.¹⁷

Literatüre bakıldığında yapılan hayvan çalışmalarında, periodontitis grubunda kontrol grubuna göre IL-1 β seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir.^{268, 270, 271, 286, 300-304} Mevcut çalışmada ise, bu çalışmalardan farklı olarak IL-1 β seviyelerinde gruplararası anlamlı fark bulunamamıştır.

Amirshahrokhi ve ark.⁴⁷ etanolle indüklenen beyin hasarını inceledikleri bir çalışmada, uygulanan MSM konsantrasyonu arttıkça IL-1 β düzeyinde belirgin azalma olduğunu bildirmiştir. MSM'nin kolit üzerine olan etkisini inceleyen bir çalışmada, MSM tedavisinin IL-1 β seviyesini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur.²⁵⁷ Rodrigues ve ark.³⁰⁵, antioksidan ve anti-inflamatuar bir ajan olan zencefilin MSM'yi indüklemesiyle IL-1 β seviyesinde azalma olduğunu tespit etmiştir. Aynı şekilde, Abdel-Rafei ve ark.³⁰⁶ ratlarda bisfenol A ve γ radyasyonunun neden olduğu nörodejeneratif değişikliklere karşı antioksidan ajan olan MSM'nin etkisini inceledikleri çalışmada, MSM tedavisiyle IL-1 β seviyesinde azalma olduğunu bulmuştur. Miao ve ark.²⁶⁷ MSM'nin mycoplasma cinsi bakterinin tavuk trakeasında oluşturduğu enfeksiyonu nasıl etkilediğine yönelik yaptığı çalışmada, MSM tedavisi uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre IL-1 β seviyelerinde istatistiksel olarak belirgin azalma tespit etmiştir.

Bu çalışmalardan farklı olarak, Üçüncü ve ark.³⁰⁷'nin ratların diz eklemlerinde formalin kaynaklı kıkırdak hasarı oluşturdukları çalışmada, anti-inflamatuar etkili bazı ajanların kıkırdak koruyucu etkilerine bakılmış ve MSM+glukozamin hidroklorid+kondroidin sülfat kombinasyonu uygulanan grup ile tedavi uygulanmayan kontrol grubu arasında IL-1 β seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir.³⁰⁷ Bu çalışmayla benzer şekilde, bizim çalışmamızda da MSM uygulanan grupta IL-1 β seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenmedi.

Sunulan hayvan çalışmasında IL-10 değeri açısından gruplararası istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. IL-10 seviyeleri, kontrol grubunda Dp ve Dp-MSM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti. Dp-MSM grubundaki IL-10 değeri ise Dp grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksekti. Literatüre bakıldığında çalışmamızla benzer şekilde, periodontitisli ratlarda sağlıklı kontrollere göre IL-10 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.^{271, 302, 308, 309} Bu

çalışmalardan farklı olarak, Atalay ve ark.³⁰⁴ pistacia eurycarpa yaltın antioksidan etkilerini inceledikleri çalışmada, periodontitis ve kontrol grupları arasında IL-10 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını bildirmiştir. Çalışmamızda, MSM tedavisi sonucu periodontitis grubuna göre IL-10 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış gözlenmiştir. Abdel-Rafei ve ark.³⁰⁶ da, ratlarda bisfenol A ve γ radyasyonunun neden olduğu nörodejeneratif değişikliklere karşı antioksidan ajan olan MSM'nin etkisini inceledikleri çalışmada, bulgularımızla benzer şekilde IL-10 seviyesinde MSM tedavisiyle artış olduğunu bulmuştur.

Bostan ve ark.²⁷¹ periodontitisli ratlarda IL-1 β /IL-10 düzeyini kontrol grubundakilere göre anlamlı derecede yüksek tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda da IL-1 β /IL-10 oranı, periodontitisli ratlarda, MSM uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulunmuştur.

Sunulan hayvan çalışmasında diş eti dokusundaki oksidatif durumu değerlendirmek için kullanılan belirteçler MDA, GSH, TAS, TOS ve OSI'dir. MDA, hücre membranı oksidatif hasar seviyesinin belirteçidir ve en sık yararlanılan oksidatif stres belirteçlerinden birisidir. MDA oluştuktan sonra kolaylıkla diffüze olup membran yapısındaki protein ve lipidlere çapraz bağlanarak membran bütünlüğünü etkiler, bu da membran geçirgenliğinin bozulmasına neden olur. GSH ise temel hücre içi antioksidan olarak bilinmektedir ve hücrel oksidatif hasarın önlenmesinde önemli rolü vardır.³¹⁰ Oksidatif stres seviyesinin değerlendirilmesinde 8-hidroksideoksi-guanozin (8-OHdG), MDA ve oksidatif DNA hasarı belirteci gibi spesifik oksidatif ürünler önemli bilgiler sağlıyor olsa da dokudaki nihai oksidatif durumu göstermekte yetersiz kalmaktadır. Aynı şekilde, enzimatik veya non-enzimatik antioksidan seviyelerine yönelik ölçümler de total antioksidan etkinliği tam olarak yansıtamamaktadır. Güncel literatür, TAS ve TOS ölçümlerinin oksidatif ve antioksidatif durumları daha açık şekilde ortaya koyduğunu

göstermiştir. Ayrıca, güvenilir ve pratik bir yöntem olan TAS'ın, bilindik antioksidanların yanı sıra henüz daha keşfedilmemiş olan antioksidanların etkilerini de yansıttığı bilinmektedir. OSI, TOS ile TAS'ın oransal bir değeridir ve oldukça güvenilir bir parametredir. Oksidatif stres düzeyini daha pratik ve net bir şekilde yansıtmak amacıyla Erel tarafından önerilmiştir.¹⁹⁰

Bulgularımıza göre, MDA seviyesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. En yüksek MDA değeri Dp grubunda izlenirken bunu sırasıyla Dp-MSM ve kontrol grupları takip etti. Literatüre bakıldığında birçok çalışmada bulgularımızla benzer şekilde, periodontitisli ratlarda MDA seviyesinin kontrol grubundakilere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir.^{269, 270, 300, 303, 311-313} Bu çalışmalardan farklı olarak, Atalay ve ark.³⁰⁴ pistacia eurycarpa yaltın antioksidan etkilerini inceledikleri çalışmada, MDA seviyesi açısından periodontitis grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını bildirmiştir.

MSM uygulamasının MDA seviyesine etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında ise, Rodrigues ve ark.³⁰⁵ ratlara MSM uygulandıktan sonra MDA seviyesinde artış olduğunu rapor etmiştir. Abdel-Rafei ve ark.³⁰⁶ MSM uygulanan grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlerken, MSM uygulanmayan grupta anlamlı azalma bulmuştur. Bohloli ve ark.³¹⁴ MSM uygulaması ile hem kontrol hem de tedavi uygulanmayan grupta MDA seviyelerinde azalma olduğunu bildirmiştir. Ratların karaciğer ve akciğerleri üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmanın sonuçlarına göre ise MSM uygulaması ile gruplararası istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.³¹⁵ Amirshahrokhi ve ark.⁴⁷ beyin dokularında etanolün neden olduğu oksidatif hasarı inceledikleri bir çalışmada, bu çalışmaların tersine, MSM uygulamasıyla MDA düzeyinin azaldığını bildirmiştir. Üçüncü ve ark.³⁰⁷'nin ratların diz eklemlerinde formalin kaynaklı kıkırdak hasarı oluşturdukları çalışmada, anti-inflamatuar etkili bazı

ajanların kıkırdak koruyucu etkilerine bakılmış ve MSM+glukozamin hidroklorid+kondroidin sülfat kombinasyonu uygulanan grup ile hem kontrol hem de tedavi uygulanmayan grup arasında MDA seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. Miao ve ark.²⁶⁷ da, MSM'nin mycoplasma cinsi bakterinin tavuk trakeasında oluşturduğu enfeksiyonu nasıl etkilediğini araştırmak için yaptığı çalışmada, MDA seviyelerinde MSM uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı fark bulamazken, tedavi uygulanmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulmuştur.

Çalışmamızda GSH değeri, Dp grubunda kontrol ve Dp-MSM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunurken, kontrol ve Dp-MSM grupları arasında GSH değeri açısından anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızla benzer şekilde, França ve ark.³¹² hayvanların böbrek parametrelerini değerlendirdikleri deneysel periodontitis çalışmasında, periodontitis grubundaki GSH değerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulmuştur. Literatüre bakıldığında bulgularımızdan farklı olarak, periodontitisli ratlarda GSH seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde hafif yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da vardır.^{269, 270, 286, 300, 311} Ek olarak, Atalay ve ark.³⁰⁴ Pistacia eurycarpa yaltın antioksidan etkilerini inceledikleri çalışmada, GSH seviyesinde periodontitis grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamıştır.

Maranon ve ark.²⁴⁸ yaptığı bir hayvan çalışmasında GSH düzeyinde, MSM uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğunu tespit etmiştir. Laham ve ark.³¹⁶ ratlar üzerinde gliserol kaynaklı akut böbrek yetmezliği üzerine MSM'nin etkilerini inceledikleri çalışmada, GSH seviyesinde MSM uygulanan grupta tedavi uygulanmayan gruba göre önemli ölçüde artış olduğunu tespit etmiştir. Bitar ve ark.³¹⁷ antioksidan bir ajan olan yeşil çay özü ile beraber MSM'nin ülseratif kolit üzerine olan

etkilerini inceledikleri çalışmada, GSH düzeylerinin MSM uygulanan grupta tedavi uygulanmayan gruba göre önemli ölçüde arttığını bulmuştur. Bohlooli ve ark.³¹⁴ ratlarda MSM'nin asetaminofen kaynaklı hepatotoksisite üzerine etkisini araştırdığı çalışmada, GSH seviyesinin MSM uygulanan grupta tedavi uygulanmayan gruba göre anlamlı bir şekilde arttığını rapor etmiştir. Amirshahrokhi ve ark.³¹⁵ MSM'nin akut akciğer ve karaciğer hasarı üzerine etkisini inceledikleri hayvan çalışmasında, MSM uygulanan grupta kontrol grubuna göre GSH seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğunu görmüştür.

Yukardaki çalışmaların aksine, Rodrigues ve ark.³⁰⁵ yaptıkları bir hayvan çalışmasında, antioksidan ve anti-inflamatuar bir ajan olan zencefilin MSM'yi indüklemesiyle sepsis kaynaklı akut böbrek hasarında GSH seviyesinde azalma olduğunu tespit etmiştir. Abdel-Rafei ve ark.³⁰⁶ ratlarda bisfenol A ve γ radyasyonunun neden olduğu nörodejeneratif değişikliklere karşı antioksidan ajan olan MSM'nin etkisini inceledikleri çalışmada, MSM tedavisiyle GSH seviyesinde sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bildirirken, tedavi edilmeyen gruba göre GSH seviyesinde anlamlı artış bulmuştur. Üçüncü ve ark.³⁰⁷ ratların diz eklemlerinde formalin kaynaklı kıkırdak hasarı oluşturdıkları çalışmada, MSM+glukozamin hidroklorid+kondroidin sülfat kombinasyonu uygulanan grupta tedavi uygulanmayan hastalıklı gruba göre GSH seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamıştır. Mevcut çalışmada ise, MSM uygulanan grupta GSH seviyesi periodontitisli ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır.

Sunulan çalışmada TOS değeri açısından gruplar arasında anlamlı fark olmasa da Dp grubundaki TOS değeri kontrol ve Dp-MSM gruplarına göre yüksek tespit edildi. Yapılan çalışmalara bakıldığında, TOS değeri periodontitisli ratlarda kontrol

grubundakilere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuştur.^{270,}

271, 286, 300, 302, 304, 313, 318, 319

Çalışmamızda TAS parametresi açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar oluşmadığı, ancak Dp grubundaki TAS değerinin kontrol ve Dp-MSM gruplarına göre daha düşük olduğu bulundu. Çalışmamızla benzer şekilde periodontitisli ve kontrol grubundaki ratlarda TAS değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark bulmayan çalışmaların^{270, 271, 300, 311} yanı sıra, bulgularımızdan farklı olarak periodontitisli ratlarda kontrol grubundakilere göre TAS değerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğunu bildiren çalışmalar da vardır.^{302, 304, 313, 318, 319}

Sunulan çalışmada OSİ değeri, periodontitis grubunda kontrol grubu ve Dp-MSM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu. Yapılan çalışmalarda bulgularımızla benzer şekilde, OSİ değeri periodontitis grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.^{286, 300, 302-304, 313, 318} Bostan ve ark.²⁷¹ ise, stres ve melatonin ilişkisini inceledikleri hayvan çalışmasında, OSİ seviyesini periodontitis grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde yüksek bulunmuştur.

İmmün ve İnflamatuar yanıtın periodontal hastalık patogenezindeki rolünün anlaşılması ile birlikte, konak cevabını değiştirmek üzere yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi araştırmacıların ilgisini çeken bir konu haline gelmiştir. Bu da çeşitli konak modulator ajanlarının geliştirilmesini sağlamış ve günümüzde halen yeni ajanların keşfine yönelik araştırmaların devam etmesine ön ayak olmuştur.^{39, 216}

Sunulan çalışmada, ratlara ligatür uygulanarak deneysel periodontitise bağlı alveolar kemik yıkımı gözlemlendi. MSM uygulaması yapılan ratlarda ise deneysel periodontitise bağlı alveolar kemikte yıkım olmasına rağmen bu yıkım sadece ligatür

uygulaması yapılan grubu oranla daha düşük bulundu. Biyokimyasal verilerle de uyumlu olan bu sonuçlar, önceki çalışmalara benzer şekilde sistemik anti-inflamatuar ajan uygulamasının periodontitis ile ilişkili alveolar kemik yıkımını sınırlandırabileceğini ve MSM uygulamasının yıkıcı periodontal hastalığın etkilerinin hafifletilmesi ve/veya engellenmesinde alternatif bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Özetle çalışmamız MSM'nin sistemik uygulamasının, periodontal hastalık patogeneğinde önemli rol oynayan inflamatuvar sitokinler, oksidatif stres ve karmaşık kemik remodelasyonu sürecine ışık tutan kemik yapım/yıkım parametreleri üzerine olan etkilerini incelemiştir. Bulgularımız MSM uygulamasının inflamatuvar sitokin seviyeleri ve oksidatif stres parametreleri üzerine pozitif yönde etki gösterdiğini, bunun sonucunda da alveolar kemik rezorpsiyonunu azalttığını göstermektedir. Alveolar kemik rezorpsiyonundaki bu azalma da çalışmamızda kullanılan kemik yapım/yıkım parametreleri ve radyografik ölçümler tarafından desteklenmektedir. Sonuç olarak çalışmamız MSM tedavisinin periodontitis sonucu oluşan alveolar kemik yıkımını azalttığını ve konak modülasyonu tedavisinde kullanılabilecek immün-modülatör bir ajan olabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışmamız, MSM'nin sistemik uygulamasının periodontal dokular üzerine olan etkilerini değerlendiren ilk çalışma olması nedeniyle konuyla ilgili yapılabilecek diğer çalışmalara öncü nitelik taşımaktadır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu deneysel çalışma;

1. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süreyle uygulanmasının plak birikimi ve mekanik retansiyon yoluyla inflamasyon ve belirgin bir alveolar kemik kaybına neden olduğunu,

2. Ligatürle indüklenen periodontitis fazını hemen takiben uygulanan 35 günlük (500 mg/vücut ağırlığı/gün) sistemik MSM uygulamasının alveolar kemik kaybını sınırlandırabildiğini,

3. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre ile uygulanmasının, rat periodontal dokularında RANKL seviyesini belirgin bir şekilde artırdığı ve OPG seviyesinde belirgin bir fark oluşturmadığını,

4. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre tatbikiyle birlikte uygulanan MSM'nin rat periodontal dokularında RANKL seviyesini belirgin bir şekilde azalttığı, OPG seviyesinde ise belirgin bir artış oluşturduğunu,

5. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre ile uygulanmasının, rat periodontal dokularında IL-10 seviyesinde belirgin şekilde azalma sağladığını, IL-1 β ve IL-1 β /IL-10 seviyelerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığını,

6. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre tatbikiyle birlikte uygulanan MSM'nin rat periodontal dokularında IL-10 seviyesini periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığını, IL-1 β ve IL-1 β /IL-10 seviyesinde belirgin bir fark oluşturmadığını,

7. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre ile uygulanmasının, rat periodontal dokularında MDA ve OSİ parametrelerinde belirgin bir artış ve GSH parametresinde belirgin bir azalma sağladığını,

8. Ratlarda 4.0 ipek ligatürün 35 gün süre tatbikiyle birlikte uygulanan MSM'nin rat periodontal dokularında MDA ve OSİ parametrelerinde periodontitis grubuna göre belirgin bir azalma ve GSH seviyesinde belirgin bir artış sağladığını ortaya koydu.

Sistemik MSM uygulaması periodontitisin periodontal dokulardaki yıkıcı etkilerini belirgin bir şekilde önleyebilmektedir. MSM, bir konak modülatör ajan olarak, inflamatuvar ve oksidatif stres ilişkili durumların olumsuz periodontal etkilerini ortadan kaldırmada yeni bir bakış açısı ortaya koymaktadır. Bu kapsamlı çalışmanın MSM'nin periodontal dokulardaki etkinliğine odaklanacak, gelecekteki insan çalışmalarına öncülük edebileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1:159-172.
2. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 1997;14: 9-11.
3. Pirih FQ, Monajemzadeh S, Singh N ve ark. Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome. *Periodontol 2000*, 2021; 87: 50-75.
4. Billings M, Holtfreter B, Papapanou PN ve ark. Age-dependent distribution of periodontitis in two countries: Findings from nhanes 2009 to 2014 and ship-trend 2008 to 2012. *J Clin Periodontol*, 2018; 45 Suppl 20: 130-148.
5. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*, 2017; 11: 72-80.
6. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW ve ark. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*, 1994; 65: 260-267.
7. Do JH TH, Klokkevold PR, Carranza FA. Periodontal Disease Pathogenesis. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA (eds). *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13.Baskı. Elsevier Inc., 13 th ed. China, 2019; 378-396.
8. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2001; 25: 8-20.
9. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H ve ark. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2014; 64: 57-80.
10. Ryan ME, Ramamurthy S, Golub LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol*, 1996, 3: 85-96.
11. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*, 2008; 79: 1569-1576.
12. Wang HH, Hsu YH, Chang MS. IL-20 bone diseases involvement and therapeutic target potential. *J Biomed Sci*, 2018; 25: 38.
13. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*, 2010; 89: 1349-1363.

14. Fonseca JE, Santos MJ, Canhão H ve ark. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev*, 2009; 8: 538-542.
15. Graves DT, Fine D, Teng YT ve ark. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 2008; 35: 89-105.
16. Garlet GP, Martins W, Jr., Fonseca BA ve ark. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 2004; 31: 671-679.
17. O'Garra A, Barrat FJ, Castro AG ve ark. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. *Immunol Rev*, 2008; 223: 114-131.
18. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R ve ark. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest*, 1995; 96: 2304-2310.
19. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 Suppl 6: 210-213.
20. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med (Berl)*, 2001; 79: 243-253.
21. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR ve ark. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; 89: 309-319.
22. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G ve ark. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *J Periodontal Res*, 2007; 42: 287-293.
23. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y ve ark. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol*, 2006; 169: 987-998.
24. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *Jama*, 2004; 292: 490-495.
25. Koide M, Kobayashi Y, Ninomiya T ve ark. Osteoprotegerin-deficient male mice as a model for severe alveolar bone loss: comparison with RANKL-overexpressing transgenic male mice. *Endocrinology*, 2013; 154: 773-782.

26. Torumtay G, Kırzioğlu FY, Öztürk Tonguç M ve ark. Effects of periodontal treatment on inflammation and oxidative stress markers in patients with metabolic syndrome. *J Periodontal Res*, 2016; 51: 489-498.
27. Sheikhi M, Gustafsson A, Jarstrand C. Cytokine, elastase and oxygen radical release by *Fusobacterium nucleatum*-activated leukocytes: a possible pathogenic factor in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000; 27: 758-762.
28. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol*, 1997; 24: 287-296.
29. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, 2007; 43: 160-232.
30. Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, 2000; 23: 19-49.
31. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*, 2006; 13: 129-142.
32. 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: 277-285.
33. Kosecik M, Erel O, Sevinc E ve ark. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol*, 2005; 100: 61-64.
34. Akalin FA, Baltacioğlu E, Alver A ve ark. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2007; 34: 558-565.
35. Wei D, Zhang XL, Wang YZ ve ark. 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: 70-78.
36. Diab-Ladki R, Pellat B, Chahine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases. *Clin Oral Investig*, 2003; 7: 103-107.
37. Mashayekhi F, Aghahoseini F, Rezaie A ve ark. Alteration of cyclic nucleotides levels and oxidative stress in saliva of human subjects with periodontitis. *J Contemp Dent Pract*, 2005; 6: 46-53.
38. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S ve ark. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig*, 2008; 12: 345-352.

39. Oringer RJ. Modulation of the host response in periodontal therapy. *J Periodontol*, 2002; 73: 460-470.
40. Golub LM, Lee HM. Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions. *Periodontol 2000*, 2020; 82: 186-204.
41. Balta MG, Papathanasiou E, Blix IJ ve ark. Host Modulation and Treatment of Periodontal Disease. *J Dent Res*, 2021; 100: 798-809.
42. Kim YH, Kim DH, Lim H ve ark. The anti-inflammatory effects of methylsulfonylmethane on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Biol Pharm Bull*, 2009; 32: 651-656.
43. Ha SH, Choung PH. MSM promotes human periodontal ligament stem cells differentiation to osteoblast and bone regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020; 528: 160-167.
44. Magnuson BA, Appleton J, Ames GB. Pharmacokinetics and distribution of [35S]methylsulfonylmethane following oral administration to rats. *J Agric Food Chem*, 2007; 55: 1033-1038.
45. Pearson TW, Dawson HJ, Lackey HB. Natural occurring levels of dimethyl sulfoxide in selected fruits, vegetables, grains, and beverages. *J Agric Food Chem*, 1981; 29: 1089-1091.
46. Aljohani H, Senbanjo LT, Chellaiah MA. Methylsulfonylmethane increases osteogenesis and regulates the mineralization of the matrix by transglutaminase 2 in SHED cells. *PLoS One*, 2019; 14: e0225598.
47. Amirshahrokhi K, Niapour A. Methylsulfonylmethane protects against ethanol-induced brain injury in mice through the inhibition of oxidative stress, proinflammatory mediators and apoptotic cell death. *Int Immunopharmacol*, 2022; 106: 108638.
48. Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol 2000*, 2000; 24: 9-27.
49. Dale BA. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontol 2000*, 2002; 30: 70-78.
50. McKee MD, Zalzal S, Nanci A. Extracellular matrix in tooth cementum and mantle dentin: localization of osteopontin and other noncollagenous proteins, plasma proteins, and glycoconjugates by electron microscopy. *Anat Rec*, 1996; 245: 293-312.
51. Fiorellini JP GSP. Anatomy of the periodontium. In: In Newman MG, ed. Carranza's Clinical Periodontology Twelfth ed. Baskı. Elsevier Health Science, 2014.

52. Fiorellini JP KD, Chang YC. Anatomy, structure, and function of the periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA (eds). Newman and Carranza's Clinical periodontology E13 th ed. China, Elsevier Inc.,2019; 3: 181-305.
53. Rao LG, Wang HM, Kalliecharan R ve ark. Specific immunohistochemical localization of type I collagen in porcine periodontal tissues using the peroxidase-labelled antibody technique. *Histochem J*, 1979; 11: 73-82.
54. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontol 2000*, 1997; 13: 76-90.
55. Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E ve ark. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch Oral Biol*, 1992; 37: 153-156.
56. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol 2000*, 2011; 55: 36-47.
57. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE ve ark. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 2007; 43: 294-315.
58. Huang S, Li Z, He T ve ark. Microbiota-based Signature of Gingivitis Treatments: A Randomized Study. *Sci Rep*, 2016; 6: 24705.
59. Sheiham A. Is the chemical prevention of gingivitis necessary to prevent severe periodontitis? *Periodontol 2000*, 1997; 15: 15-24.
60. Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol*, 1999; 4: 32-38.
61. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N ve ark. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1: 173-182.
62. Borrell LN, Beck JD, Heiss G. Socioeconomic disadvantage and periodontal disease: the Dental Atherosclerosis Risk in Communities study. *Am J Public Health*, 2006; 96: 332-339.
63. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE ve ark. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1: 74-84.
64. Wikner S, Söder PO, Frithiof L ve ark. The approximal bone height and intrabony defects in young adults, related to the salivary buffering capacity and counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli*. *Arch Oral Biol*, 1990; 35: 213-215.

65. Karaaslan F DA, Aydın E. Comparison of periodontitis diagnoses according to 1999 and 2017 classifications: An Original Article. *Cumhuriyet Dental Journal*, 2019; 426-433.
66. Stone SJ, Heasman PA, Staines KS ve ark. The impact of structured plaque control for patients with gingival manifestations of oral lichen planus: a randomized controlled study. *J Clin Periodontol*, 2015; 42: 356-362.
67. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Clin Periodontol*, 2018; 45 Suppl 20: 28-43.
68. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Periodontol*, 2018; 89 Suppl 1: 28-45.
69. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol*, 1999; 4: 7-19.
70. Sheiham A. Impact of dental treatment on the incidence of dental caries in children and adults. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1997; 25: 104-112.
71. Sanz M, Herrera D, Kebschull M ve ark. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*, 2020; 47 Suppl 22: 4-60.
72. Caton JG, Armitage G, Berglundh T ve ark. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*, 2018; 45 Suppl 20: 1-8.
73. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM ve ark. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*, 2018; 45 Suppl 20: 219-229.
74. Elangovan S NK, Novak MJ. Clinical risk assessment. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. China. 13.Baskı. Elsevier Inc, 2019; 34: 2185-2204.
75. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*, 1996; 1: 926-932.
76. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA ve ark. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 1998; 25: 134-144.
77. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000; 1994, 5: 78-111.

78. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000, 1994; 5: 66-77.
79. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000, 2002; 28: 12-55.
80. Lamell CW, Griffen AL, McClellan DL ve ark. Acquisition and colonization stability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in children. *J Clin Microbiol*, 2000; 38: 1196-1199.
81. Preshaw P CL, Novak K. Smoking and periodontal disease. *Carranza's Clinical Periodontology*, 11 Baskı. Saunders. Baskı. Elsevier, 2012; 12: 1145-1188.
82. Hornef MW, Wick MJ, Rhen M ve ark. Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol*, 2002; 3: 1033-1040.
83. Dentino A, Lee S, Mailhot J ve ark. Principles of periodontology. *Periodontol* 2000, 2013; 61: 16-53.
84. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 1976; 34: 235-249.
85. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol* 2000, 2008; 48: 92-110.
86. Newman MG TH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's clinical periodontology*. 13.Baskı. Elsevier health sciences; 2018; 434-527.
87. Bostanci N, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontol* 2000, 2018; 76: 68-84.
88. Schroeder HE, Graf-de Beer M, Attström R. Initial gingivitis in dogs. *J Periodontal Res*, 1975; 10: 128-142.
89. Van Dyke TE. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol*, 2008; 79: 1601-1608.
90. Saygun I, Yapar M, Ozdemir A ve ark. Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus type 1 in periodontal abscesses. *Oral Microbiol Immunol*, 2004; 19: 83-87.
91. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol* 2000, 1997; 14: 144-157.
92. Taubman MA, Valverde P, Han X ve ark. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol*, 2005; 76: 2033-2041.
93. Yasuda H. Discovery of the RANKL/RANK/OPG system. *J Bone Miner Metab*, 2021; 39: 2-11.

94. Noronha IL, Niemir Z, Stein H ve ark. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 1995; 10: 775-786.
95. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1998; 9: 248-266.
96. Gemmell E, Winning TA, Grieco DA ve ark. The influence of genetic variation on the splenic T cell cytokine and specific serum antibody responses to *Porphyromonas gingivalis* in mice. *J Periodontol*, 2000; 71: 1130-1138.
97. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today*, 1989; 10: 299-304.
98. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *J Periodontol*, 2003; 74: 103-110.
99. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*, 2000; 118: 503-508.
100. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol 2000*, 2004; 35: 42-52.
101. Lo YJ, Liu CM, Wong MY ve ark. Interleukin 1beta-secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. *Cytokine*, 1999; 11: 626-633.
102. Miller LS, O'Connell RM, Gutierrez MA ve ark. MyD88 mediates neutrophil recruitment initiated by IL-1R but not TLR2 activation in immunity against *Staphylococcus aureus*. *Immunity*, 2006; 24: 79-91.
103. Chung Y, Chang SH, Martinez GJ ve ark. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity*, 2009; 30: 576-587.
104. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS ve ark. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1991; 18: 548-554.
105. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA ve ark. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis*, 1990; 161: 79-84.
106. Chen CC, Chang KL, Huang JF ve ark. Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci*, 1997; 13: 609-617.
107. Kim JH, Jin HM, Kim K ve ark. The mechanism of osteoclast differentiation induced by IL-1. *J Immunol*, 2009; 183: 1862-1870.
108. Jimi E, Nakamura I, Duong LT ve ark. Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells. *Exp Cell Res*, 1999; 247: 84-93.
109. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol*, 1995; 66: 852-859.

110. Jacques C, Gosset M, Berenbaum F ve ark. The role of IL-1 and IL-1Ra in joint inflammation and cartilage degradation. *Vitam Horm*, 2006; 74: 371-403.
111. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res*, 1993; 28: 241-247.
112. Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LS ve ark. Localization of interleukin-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol*, 1991; 62: 36-43.
113. Koide M, Suda S, Saitoh S ve ark. In vivo administration of IL-1 beta accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J Oral Pathol Med*, 1995; 24: 420-434.
114. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*, 1997; 14: 33-53.
115. Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res*, 2013; 92: 399-408.
116. Mills KH. Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection? *Nat Rev Immunol*, 2004; 4: 841-855.
117. O'Garra A, Vieira PL, Vieira P ve ark. IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage. *J Clin Invest*, 2004; 114: 1372-1378.
118. Albuquerque CM, Cortinhas AJ, Morinha FJ ve ark. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*, 2012; 39: 9319-9329.
119. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*, 2019; 11: 30.
120. Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol*, 1997; 181: 257-266.
121. O'Garra A. Interleukins and the immune system 2. *Lancet*, 1989; 1: 1003-1005.
122. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL ve ark. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 2001; 19: 683-765.
123. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev*, 2003; 55: 241-269.
124. Bidwell J, Keen L, Gallagher G ve ark. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun*, 1999; 1: 3-19.

125. Eskdale J, Keijsers V, Huizinga T ve ark. Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun*, 1999; 1: 151-155.
126. Park-Min KH, Ji JD, Antoniv T ve ark. IL-10 suppresses calcium-mediated costimulation of receptor activator NF-kappa B signaling during human osteoclast differentiation by inhibiting TREM-2 expression. *J Immunol*, 2009; 183: 2444-2455.
127. Moretti S, Bartolommei L, Galosi C ve ark. Fine-tuning of Th17 Cytokines in Periodontal Disease by IL-10. *J Dent Res*, 2015; 94: 1267-1275.
128. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Soto MJ ve ark. Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008; 22: 847-861.
129. Sinagra E, Perricone G, Romano C ve ark. Heart failure and anti tumor necrosis factor-alpha in systemic chronic inflammatory diseases. *Eur J Intern Med*, 2013; 24: 385-392.
130. Boyce BF, Li P, Yao Z ve ark. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J Med*, 2005; 54: 127-131.
131. Wajant H, Pfeffer K, Pfizenmaier K ve ark. Tumor necrosis factors in 1998. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1998; 9: 297-302.
132. Çanakcı C DG. Tumour Necrosis Factor Alpha Levels In Gingival Crevicular Fluid Of Periodontitis Patients With/Without Mtdna Deletion In Gingival Tissue. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2014; 177-170.
133. Sahin Aydınyurt H, Yuncu YZ, Tekin Y ve ark. IL-6, TNF- α levels and periodontal status changes during the menstrual cycle. *Oral Dis*, 2018; 24: 1599-1605.
134. Kurtiş B, Tüter G, Serdar M ve ark. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J Periodontol*, 2005; 76: 1849-1855.
135. Ikezawa I, Tai H, Shimada Y ve ark. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2005; 32: 1047-1054.
136. Silva N, Dutzan N, Hernandez M ve ark. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol*, 2008; 35: 206-214.
137. Navarro-Sanchez AB, Faria-Almeida R, Bascones-Martinez A. Effect of non-surgical periodontal therapy on clinical and immunological response and glycaemic

control in type 2 diabetic patients with moderate periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2007; 34: 835-843.

138. Noh MK, Jung M, Kim SH ve ark. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp Ther Med*, 2013; 6: 847-851.

139. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 2003; 74: 391-401.

140. Garlet GP, Cardoso CR, Campanelli AP ve ark. The dual role of p55 tumour necrosis factor-alpha receptor in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced experimental periodontitis: host protection and tissue destruction. *Clin Exp Immunol*, 2007; 147: 128-138.

141. Katz Y, Nadiv O, Beer Y. Interleukin-17 enhances tumor necrosis factor alpha-induced synthesis of interleukins 1,6, and 8 in skin and synovial fibroblasts: a possible role as a "fine-tuning cytokine" in inflammation processes. *Arthritis Rheum*, 2001; 44: 2176-2184.

142. Tsukasaki M. RANKL and osteoimmunology in periodontitis. *J Bone Miner Metab*, 2021; 39: 82-90.

143. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR ve ark. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999; 96: 3540-3545.

144. Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N ve ark. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*, 1988; 123: 2600-2602.

145. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T ve ark. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med*, 2011; 17: 1231-1234.

146. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y ve ark. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res*, 2002; 17: 210-220.

147. Usui M, Sato T, Yamamoto G ve ark. Gingival epithelial cells support osteoclastogenesis by producing receptor activator of nuclear factor kappa B ligand via protein kinase A signaling. *J Periodontal Res*, 2016; 51: 462-470.

148. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet*, 2003; 4: 638-649.

149. Chen B, Wu W, Sun W ve ark. RANKL expression in periodontal disease: where does RANKL come from? *Biomed Res Int*, 2014; 2014: 731039.

150. Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R ve ark. Roles of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000, 2007; 43: 65-84.
151. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A ve ark. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2011; 16: 21-30.
152. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Front Immunol*, 2014; 5: 511.
153. Kanzaki H, Makihiro S, Suzuki M ve ark. Soluble RANKL cleaved from activated lymphocytes by $\text{tnf-}\alpha$ -converting enzyme contributes to osteoclastogenesis in periodontitis. *J Immunol*, 2016; 197: 3871-3883.
154. Honma M, Ikebuchi Y, Kariya Y ve ark. RANKL subcellular trafficking and regulatory mechanisms in osteocytes. *J Bone Miner Res*, 2013; 28: 1936-1949.
155. García-Parra MI, Jiménez-Coello M, Carrillo-Ávila BA ve ark. Quantification of Osteoprotegerin Plasma Levels in Patients with Periodontitis. *P R Health Sci J*, 2022; 41: 5-8.
156. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK ve ark. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004; 15: 457-475.
157. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *MAE Vet. Fakültesi Dergisi*, 2016; 1:65-76.
158. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91: 10771-10778.
159. Dahiya P, Kamal R, Gupta R ve ark. Reactive oxygen species in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, 2013; 17: 411-416.
160. Canakçi CF, Çiçek Y, Canakçi V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc)*, 2005; 70: 619-628.
161. Kiziltunc A, Coğalgil S, Cerrahoğlu L. Carnitine and antioxidants levels in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1998; 27: 441-445.
162. Cullinan MP, Seymour GJ. Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? *Periodontol* 2000, 2013; 62: 271-286.
163. Southerland JH, Taylor GW, Moss K ve ark. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontol* 2000, 2006; 40: 130-143.

164. Valko M, Leibfritz D, Moncol J ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007; 39: 44-84.
165. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001; 54: 176-186.
166. Sardi Jde C. Oxidative stress in diabetes and periodontitis. *N Am J Med Sci*, 2013; 5: 58-59.
167. Boesing F, Patiño JS, da Silva VR ve ark. The interface between obesity and periodontitis with emphasis on oxidative stress and inflammatory response. *Obes Rev*, 2009; 10: 290-297.
168. Bullon P, Newman HN, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? *Periodontol* 2000, 2014; 64: 139-153.
169. Asman B, Wijkander P, Hjerpe A. Reduction of collagen degradation in experimental granulation tissue by vitamin E and selenium. *J Clin Periodontol*, 1994; 21: 45-47.
170. Firatli E, Unal T, Onan U ve ark. Antioxidative activities of some chemotherapeutics. A possible mechanism in reducing gingival inflammation. *J Clin Periodontol*, 1994; 21: 680-683.
171. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fakültesi Derg.*, 2004; 15(11):91-96-96.
172. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*, 1990; 9: 515-540.
173. Ertekin A, Karaca M, Akkan HA ve ark. Köpeklerde gentamisin nefrotoksikosisinde lipit peroksidasyonu, antioksidan maddeler, antioksidan vitaminler ve bazı hematolojik biyokimyasal parametre düzeylerinin araştırılması. *Turkish J Vet Anim Sci.*, 2003; Mar 1;27(23):535-540.
174. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB ve ark. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*, 1997; 43: 1209-1214.
175. Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis*, 2008; 14: 754-760.

176. Buege JA AS. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; Jan 1;52(C):302–310. .
177. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 2001; 72: 883-888.
178. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2005; 15: 316-328.
179. Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G ve ark. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol*, 2014; 85: 1432-1441.
180. Meister A LA. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gamma-glutamyl cycle. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 1995; 1: 1461-1495.
181. Meister A. Glutathione metabolism. *Methods Enzymol*, 1995; 251: 3-7.
182. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res*, 1999; 31: 273-300.
183. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*, 2003; 57: 145-155.
184. Reed DJ, Fariss MW. Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol Rev*, 1984; 36: 25-33.
185. Chapple IL, Mason GI, Garner I ve ark. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem*, 1997; 34 (Pt 4): 412-421.
186. Zhang T, Andrukhov O, Haririan H ve ark. Total antioxidant capacity and total oxidant status in saliva of periodontitis patients in relation to bacterial load. *Front Cell Infect Microbiol*, 2015; 5: 97.
187. Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S ve ark. Oxidative stress parameters in saliva and its association with periodontal disease and types of bacteria. *Dis Markers*, 2015; Vol. 2015: 653537.

188. Chen M, Cai W, Zhao S ve ark. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 2019 46: 608-622.
189. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004; 286: 431-444.
190. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 38: 1103-1111.
191. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly*, 2003; 133: 563-566.
192. Pendyala G, Thomas B, Joshi S. Periodontitis, diabetes mellitus, and the lopsided redox balance: A unifying axis. *J Indian Soc Periodontol*, 2013; 17: 338-344.
193. Esen C, Alkan BA, Kırnap M ve ark. The effects of chronic periodontitis and rheumatoid arthritis on serum and gingival crevicular fluid total antioxidant/oxidant status and oxidative stress index. *J Periodontol*, 2012; 83: 773-779.
194. Sezer U, Erciyas K, Ustün K ve ark. Effect of chronic periodontitis on oxidative status in patients with rheumatoid arthritis. *J Periodontol*, 2013; 84: 785-792.
195. Dursun E, Akalin FA, Genc T ve ark. Oxidative stress and periodontal disease in obesity. *Medicine (Baltimore)*, 2016; 95: 3136.
196. Halliwell B, Cross CE. Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired immunodeficiency syndrome. Sense or speculation? *Arch Intern Med*, 1991; 151: 29-31.
197. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993; 90: 7915-7922.
198. Gutteridge JM, Swain J. Lipoprotein oxidation: the 'fruit and vegetable gradient' and heart disease. *Br J Biomed Sci*, 1993; 50: 284-288.
199. Szczepanik FSC, Grossi ML, Casati M ve ark. Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontol 2000*, 2020; 84: 45-68.
200. Sari A, Davutoglu V, Bozkurt E ve ark. Effect of periodontal disease on oxidative stress markers in patients with atherosclerosis. *Clin Oral Investig*, 2022; 26: 1713-1724.
201. Battino M, Bullon P, Wilson M ve ark. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1999; 10: 458-476.

202. Kumar J, Teoh SL, Das S ve ark. Oxidative stress in oral diseases: understanding its relation with other systemic diseases. *Front Physiol*, 2017; 8: 693.
203. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative stress and antioxidant system in periodontitis. *Front Physiol*, 2017; 8: 910.
204. Sculley DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc*, 2002; 61: 137-143.
205. Kanzaki H, Wada S, Narimiya T ve ark. Pathways that regulate ros scavenging enzymes, and their role in defense against tissue destruction in periodontitis. *Front Physiol*, 2017; 8: 351.
206. Ha H, Kwak HB, Lee SW ve ark. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *Exp Cell Res*, 2004; 301: 119-127.
207. Bax BE, Alam AS, Banerji B ve ark. Stimulation of osteoclastic bone resorption by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; 183: 1153-1158.
208. Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO ve ark. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 1990; 85: 632-639.
209. Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 Suppl 6: 108-129.
210. Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Noronha S ve ark. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2009; 14: 680-685.
211. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2015; 15: 30-44.
212. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1996; 1: 821-878.
213. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000*, 2017; 75: 116-151.
214. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol 2000*, 2020; 84: 14-34.
215. Baltacıoğlu E. Konak modülasyon terapi nedir, periodontal hastalıklarda niçin gereklidir ? *Türkiye Klinikleri Periodontoloji - Özel Konular*, 2015; 1:1-8.

216. Kornman KS. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. *Clin Infect Dis*, 1999; 28: 520-526.
217. FitzGerald GA, Patrono C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J Med*, 2001; 345: 433-442.
218. Heasman PA, Hughes FJ. Drugs, medications and periodontal disease. *Br Dent J*, 2014; 217: 411-419.
219. Lindsley CB, Warady BA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs. Renal toxicity. Review of pediatric issues. *Clin Pediatr (Phila)*, 1990; 29: 10-13.
220. Shinoda H, Takeyama S, Suzuki K ve ark. Pharmacological topics of bone metabolism: a novel bisphosphonate for the treatment of periodontitis. *J Pharmacol Sci*, 2008; 106: 555-558.
221. Shoji K, Horiuchi H, Shinoda H. Inhibitory effects of a bisphosphonate (risedronate) on experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 1995; 30: 277-284.
222. Ozdemir SP, Kurtiş B, Tüter G ve ark. Effects of low-dose doxycycline and bisphosphonate clodronate on alveolar bone loss and gingival levels of matrix metalloproteinase-9 and interleukin-1 β in rats with diabetes: a histomorphometric and immunohistochemical study. *J Periodontol*, 2012; 83: 1172-1182.
223. Silva FV, Guimarães AG, Silva ER ve ark. Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano. *J Med Food*, 2012; 15: 984-991.
224. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK ve ark. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1993; 4: 197-250.
225. Yoon SO, Park SJ, Yun CH ve ark. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. *J Biochem Mol Biol*, 2003; 36: 128-137.
226. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol 2000*, 2000; 24: 226-238.
227. Thomas JG, Metheny RJ, Karakiozis JM ve ark. Long-term sub-antimicrobial doxycycline (Periostat) as adjunctive management in adult periodontitis: effects on subgingival bacterial population dynamics. *Adv Dent Res*, 1998; 12: 32-39.
228. Luana J, Li R, Xu W ve ark. Functional biomaterials for comprehensive periodontitis therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2023; 13(6):2310-2333

229. Börgeson E, Lönn J, Bergström I ve ark. Lipoxin A₄ inhibits porphyromonas gingivalis-induced aggregation and reactive oxygen species production by modulating neutrophil-platelet interaction and CD11b expression. *Infect Immun*, 2011; 79: 1489-1497.
230. Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol*, 2008; 153 Suppl 1: 200-215.
231. Lohinai Z, Benedek P, Fehér E ve ark. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br J Pharmacol*, 1998; 123: 353-360.
232. Gokhale SR, Padhye AM. Future prospects of systemic host modulatory agents in periodontal therapy. *Br Dent J*, 2013; 214: 467-471.
233. Chapple IL. Role of free radicals and antioxidants in the pathogenesis of the inflammatory periodontal diseases. *Clin Mol Pathol*, 1996; 49: 247-255.
234. Kara A, Akman S, Ozkanlar S ve ark. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med*, 2013; 55: 21-26.
235. Hirasawa M, Takada K, Makimura M ve ark. Improvement of periodontal status by green tea catechin using a local delivery system: a clinical pilot study. *J Periodontal Res*, 2002; 37: 433-438.
236. Rizzo A, Bevilacqua N, Guida L ve ark. Effect of resveratrol and modulation of cytokine production on human periodontal ligament cells. *Cytokine*, 2012; 60: 197-204.
237. Toker H, Ozdemir H, Balcı H ve ark. N-acetylcysteine decreases alveolar bone loss on experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Periodontal Res*, 2012; 47: 793-799.
238. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev*, 2002; 7: 22-44.
239. Lin A, Patel S, Latterich M. Regulation of organelle membrane fusion by Pkc1p. *Munksgaard International Publishers, Traffic* 2, 2001; 698-704.
240. Cecil KM, Lin A, Ross BD ve ark. Methylsulfonylmethane observed by in vivo proton magnetic resonance spectroscopy in a 5-year-old child with developmental disorder: effects of dietary supplementation. *J Comput Assist Tomogr*, 2002; 26: 818-820.
241. Rose SE, Chalk JB, Galloway GJ ve ark. Detection of dimethyl sulfone in the human brain by in vivo proton magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging*, 2000; 18: 95-98.

242. Beilke MA, Collins-Lech C, Sohnle PG. Effects of dimethyl sulfoxide on the oxidative function of human neutrophils. *J Lab Clin Med*, 1987; 110: 91-96.
243. Butawan M, Benjamin RL, Bloomer RJ. Methylsulfonylmethane: Applications and Safety of a Novel Dietary Supplement. *Nutrients*, 2017; 9(3):290
244. Layman DL. Growth inhibitory effects of dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfone on vascular smooth muscle and endothelial cells in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1987; 23: 422-428.
245. O'Dwyer PJ, McCabe DP, Sickie-Santanello BJ ve ark. Use of polar solvents in chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Cancer*, 1988; 62: 944-948.
246. McCabe D, O'Dwyer P, Sickie-Santanello B ve ark. Polar solvents in the chemoprevention of dimethylbenzanthracene-induced rat mammary cancer. *Arch Surg*, 1986; 121: 1455-1459.
247. Ebisuzaki K. Aspirin and methylsulfonylmethane (MSM): a search for common mechanisms, with implications for cancer prevention. *Anticancer Res*, 2003; 23: 453-458.
248. Marañón G, Muñoz-Escassi B, Manley W ve ark. The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Vet Scand*, 2008; 50: 45.
249. Nakhostin-Roohi B, Barmaki S, Khoshkharesh F ve ark. Effect of chronic supplementation with methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exercise in untrained healthy men. *J Pharm Pharmacol*, 2011; 63: 1290-1294.
250. Ahn H, Kim J, Lee MJ ve ark. Methylsulfonylmethane inhibits NLRP3 inflammasome activation. *Cytokine*, 2015; 71: 223-231.
251. Fève B, Bastard JP. The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 2009; 5: 305-311.
252. Bahrani H, Bluemke DA, Kronmal R ve ark. Novel metabolic risk factors for incident heart failure and their relationship with obesity: the mesa (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) study. *J Am Coll Cardiol*, 2008; 51: 1775-1783.
253. Bertoni AG, Burke GL, Owusu JA ve ark. Inflammation and the incidence of type 2 diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care*, 2010; 33: 804-810.
254. Sousa-Lima I, Park SY, Chung M ve ark. Methylsulfonylmethane (MSM), an organosulfur compound, is effective against obesity-induced metabolic disorders in mice. *Metabolism*, 2016; 65: 1508-1521.

255. Amirshahrokhi K, Khalili AR. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. *Eur J Pharmacol*, 2017; 811: 240-248.
256. Kim LS, Axelrod LJ, Howard P ve ark. Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006; 14: 286-294.
257. Amirshahrokhi K, Bohlooli S, Chinifroush MM. The effect of methylsulfonylmethane on the experimental colitis in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011; 253: 197-202.
258. Barrager E, Veltmann JR, Schauss AG ve ark. A multicentered, open-label trial on the safety and efficacy of methylsulfonylmethane in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *J Altern Complement Med*, 2002; 8: 167-173.
259. Kim BR, Nguyen TB, Min YK ve ark. In vitro and in vivo studies of BMP-2-loaded pcl-gelatin-bcp electrospun scaffolds. *Tissue Eng Part A*, 2014; 20: 3279-3289.
260. Joung YH, Lim EJ, Darvin P ve ark. MSM enhances GH signaling via the Jak2/STAT5b pathway in osteoblast-like cells and osteoblast differentiation through the activation of STAT5b in MSCs. *PLoS One*, 2012; 7: 47477.
261. Kim DN, Joung YH, Darvin P ve ark. Methylsulfonylmethane enhances BMP-2-induced osteoblast differentiation in mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep*, 2016; 14: 460-466.
262. Mohammadi S, Najafi M, Hamzeiy H ve ark. Protective effects of methylsulfonylmethane on hemodynamics and oxidative stress in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Adv Pharmacol Sci*, 2012; 2012:507278.
263. Aljohani H, Senbanjo LT, Al Qranei M ve ark. Methylsulfonylmethane increases the alveolar bone density of mandibles in aging female mice. *Front Physiol*, 2021; 12: 708905.
264. Cömert Kılıç S. Does glucosamine, chondroitin sulfate, and methylsulfonylmethane supplementation improve the outcome of temporomandibular joint osteoarthritis management with arthrocentesis plus intraarticular hyaluronic acid injection. A randomized clinical trial. *J Craniomaxillofac Surg*, 2021; 49: 711-718.
265. Deniz GY, Laloglu E, Altun S ve ark. Antioxidant and anti-apoptotic effects of vitexilactone on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Biotech Histochem*, 2020; 95: 381-388.

266. Arabacı T, Kermen E, Özkanlar S ve ark. Therapeutic effects of melatonin on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*, 2015; 86: 874-881.
267. Miao Y, Niu D, Wang Z ve ark. Methylsulfonylmethane ameliorates inflammation via NF- κ B and ERK/JNK-MAPK signaling pathway in chicken trachea and HD11 cells during *Mycoplasma gallisepticum* infection. *Poult Sci*, 2022; 101: 101706.
268. Kose O, Arabaci T, Kara A ve ark. Effects of melatonin on oxidative stress index and alveolar bone loss in diabetic rats with periodontitis. *J Periodontol*, 2016; 87: 82-90.
269. Köse O, Kurt Bayrakdar S, Akyıldız K ve ark. Melatonin ameliorates periodontitis-related inflammatory stress at cardiac left ventricular tissues in rats. *J Periodontol*, 2020; 91: 1486-1494.
270. Köse O, Arabacı T, Yemenoglu H ve ark. Influence of experimental periodontitis on cardiac oxidative stress in rats: a biochemical and histomorphometric study. *J Periodontal Res*, 2017; 52: 603-608.
271. Bostan SA, Yemenoglu H, Kose O ve ark. Preventive effects of melatonin on periodontal tissue destruction due to psychological stress in rats with experimentally induced periodontitis. *J Periodontal Res*, 2024; 59(3):500-511.
272. Yıldırım M, Saral S, Mercantepe T ve ark. White Tea Reduced Bone Loss by Suppressing the TRAP/CTX Pathway in Ovariectomy-Induced Osteoporosis Model Rats. *Cells Tissues Organs*, 2020; 209: 64-74.
273. Ateş A, Kurt A, Mercantepe T. Effects of mineral trioxide aggregate and methyl sulfonyl methane on pulp exposure via RUNX2 and RANKL pathways. *Odontology*, 2024; 112:895–905
274. Rojas DB, Gemelli T, de Andrade RB ve ark. Administration of histidine to female rats induces changes in oxidative status in cortex and hippocampus of the offspring. *Neurochem Res*, 2012; 37: 1031-1036.
275. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979; 95: 351-358.
276. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 1959; 82: 70-77.
277. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev*, 2001; 14: 727-752, table of contents.
278. Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*, 2005; 76: 2089-2100.

279. Assuma R, Oates T, Cochran D ve ark. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol*, 1998; 160: 403-409.
280. Dawson DR, Branch-Mays G, Gonzalez OA ve ark. Dietary modulation of the inflammatory cascade. *Periodontol 2000*, 2014; 64: 161-197.
281. Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S ve ark. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol*, 2004; 31: 697-707.
282. Waite IM, Saxton CA, Young A ve ark. The periodontal status of subjects receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Periodontal Res*, 1981; 16: 100-108.
283. Chee B, Park B, Fitzsimmons T ve ark. Omega-3 fatty acids as an adjunct for periodontal therapy-a review. *Clin Oral Investig*, 2016; 20: 879-894.
284. Kesavalu L, Vasudevan B, Raghu B ve ark. Omega-3 fatty acid effect on alveolar bone loss in rats. *J Dent Res*, 2006; 85: 648-652.
285. Tordjman S, Chokron S, Delorme R ve ark. Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Curr Neuropharmacol*, 2017; 15: 434-443.
286. Kose O, Kurt Bayrakdar S, Unver B ve ark. Melatonin improves periodontitis-induced kidney damage by decreasing inflammatory stress and apoptosis in rats. *J Periodontol*, 2021; 92: 22-34.
287. Preshaw PM. Host modulation therapy with anti-inflammatory agents. *Periodontol 2000*, 2018; 76: 131-149.
288. Miller L, Thompson K, Pavlenko C ve ark. The effect of daily methylsulfonylmethane (MSM) consumption on high-density lipoprotein cholesterol in healthy overweight and obese adults: a randomized controlled trial. *Nutrients*, 2021; 13.
289. Gu L, Ke Y, Gan J ve ark. Berberine suppresses bone loss and inflammation in ligature-induced periodontitis through promotion of the G protein-coupled estrogen receptor-mediated inactivation of the p38MAPK/NF- κ B pathway. *Arch Oral Biol*, 2021; 122: 104992.
290. Ihn HJ, Kim YS, Lim S ve ark. a Fatty acid amide hydrolase inhibitor, directly suppresses osteoclastogenesis through erk and nf- κ b pathways in vitro and alveolar bone loss in vivo. *Int J Mol Sci*, 2021; 22.
291. Karthik L, Kumar G, Keswani T ve ark. Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PLoS One*, 2014; 9: 90972.

292. Joungh YH, Darvin P, Kang DY ve ark. methylsulfonylmethane inhibits rankl-induced osteoclastogenesis in bmmcs by suppressing nf- κ b and stat3 activities. PLoS One, 2016; 11: 0159891.
293. Horváth K, Noker PE, Somfai-Relle S ve ark. Toxicity of methylsulfonylmethane in rats. Food Chem Toxicol, 2002; 40: 1459-1462.
294. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H ve ark. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. J Periodontal Res, 2004; 39: 101-106.
295. Altın A, Korkmaz MZ, Atak M ve ark. Celastrol restricts experimental periodontitis related alveolar bone loss by suppressing inflammatory cytokine response. Biomedicine (Taipei), 2023; 13: 44-50.
296. Kermen E. Deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda karvakrol uygulamasının periodontal dokular üzerine olan etkilerinin biyokimyasal, histolojik ve radyolojik olarak incelenmesi. Periodontoloji Ana Bilim Dalı Doktora Tezi. Erzurum, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Ana Bilim Dalı, 2014.
297. Bezirci D, Karsiyaka Hendek M, Ozcan G ve ark. Prophylactic and therapeutic effects of (6)-shogaol on alveolar bone loss in experimental periodontitis. Eur Oral Res, 2024; 58: 37-43.
298. Altıntepe Doğan SS, Toker H, Göze Ö F. Melatonin decreases alveolar bone loss in rats with experimental periodontitis and osteoporosis: a morphometric and histopathologic study. Biomedicines, 2024; 12.
299. Tsang ML, Weatherbee JA. Cytokine assays and their limitations. Aliment Pharmacol Ther, 1996, 10 Suppl 2: 55-61; discussion 62.
300. Kurt-Bayrakdar S, Kose O, Altın A ve ark. Periodontitis exacerbates the renal degenerative effects of obesity in rats. J Periodontal Res, 2021; 56: 1058-1069.
301. de Molon RS, Park CH, Jin Q, Sugai J ve ark. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. Microsc Res Tech, 2018; 81: 1412-1421.
302. Aral CA, Aral K, Yay A ve ark. Effects of colchicine on gingival inflammation, apoptosis, and alveolar bone loss in experimental periodontitis. J Periodontol, 2018; 89: 577-585.
303. Aytekin Z, Arabacı T, Toraman A ve ark. Immune modulatory and antioxidant effects of locally administrated vitamin C in experimental periodontitis in rats. Acta Odontol Scand, 2020; 78: 425-432.

304. Atalay M, Uslu M, İçen MS ve ark. Preventive effects of systemic pistacia eurycarpa Yalt. administration on alveolar bone loss and oxidative stress in rats with experimental periodontitis. *J Appl Oral Sci*, 2024; 32: 20230344.
305. Rodrigues FAP, Santos A, de Medeiros P ve ark. Gingerol suppresses sepsis-induced acute kidney injury by modulating methylsulfonylmethane and dimethylamine production. *Sci Rep*, 2018; 8: 12154.
306. Abdel-Rafei MK, Thabet NM. Modulatory effect of methylsulfonylmethane against BPA/ γ -radiation induced neurodegenerative alterations in rats: Influence of TREM-2/DAP-12/Syk pathway. *Life Sci*, 2020; 260: 118410.
307. Ucuncu Y, Celik N, Ozturk C ve ark. Chondroprotective effects of a new glucosamine combination in rats: gene expression, biochemical and histopathological evaluation. *Life Sci*, 2015; 130: 31-37.
308. Leira Y, Iglesias-Rey R, Gómez-Lado N ve ark. Periodontitis and vascular inflammatory biomarkers: an experimental in vivo study in rats. *Odontology*, 2020; 108: 202-212.
309. Shcherba V, Krynytska I, Marushchak M ve ark. Does thyroid dysfunction influence inflammatory mediators in experimental periodontitis? *Endocr Regul*, 2021; 55: 131-141.
310. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxid Med Cell Longev*, 2017; 6501046.
311. Kose O, Altin A, Kurt Bayrakdar S. ve ark. Influences of periodontitis on hippocampal inflammation, oxidative stress, and apoptosis in rats. *J Periodontal Res*, 2021; 56: 1154-1162.
312. França LFC, Vasconcelos A, da Silva FRP ve ark. Periodontitis changes renal structures by oxidative stress and lipid peroxidation. *J Clin Periodontol*, 2017; 44: 568-576.
313. 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: 478-489.
314. Bohlooli S, Mohammadi S, Amirshahrokhi K ve ark. Effect of methylsulfonylmethane pretreatment on aceta-minophen induced hepatotoxicity in rats. *Iran J Basic Med Sci*, 2013; 16: 896-900.
315. Amirshahrokhi K, Bohlooli S. Effect of methylsulfonylmethane on paraquat-induced acute lung and liver injury in mice. *Inflammation*, 2013; 36: 1111-1121.

316. Laham S. The curative effects of methylsulfonylmethane against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, SciELO Brasil*, 2018;54(1):17442
317. Bitar VA, Laham DS. Methylsulfonylmethane and green tea extract reduced oxidative stress and inflammation in an ulcerative colitis. *Asian J Pharm Clin Res*, 2013; 153-158
318. Otan Özden F, Lütfioğlu M, Demir E ve ark. Antioxidant effect of caffeic acid phenethyl ester in experimentally induced periodontitis. *Clin Oral Investig*, 2021; 25: 4959-4966.
319. Kose O, Arabaci T, Yemenoglu H ve ark. Influences of fucoxanthin on alveolar bone resorption in induced periodontitis in rat molars. *Mar Drugs*, 2016; 14(4):70

EKLER

EK-1-Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Melek BEDER
Eğitim	
Lise	: Tevfik Serdar Anadolu Lisesi (2004-2008)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2009-2014)
Uzmanlık	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı (2021-2024)
Yabancı Dil Bilgisi	: İngilizce

EK-2-Etik Kurul Onay Formu

T.C. RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI (Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)						
BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):97					
	ÇALIŞMANIN ADI	Deneysel periodontitisli ratlarda metilsülfonilmetan uygulamasının alveolar kemik kaybı ve oksidatif stress üzerine önleyici etkinliğinin incelenmesi				
	Title	Investigation of the inhibitory effect of methylsulfonylmethane application on alveolar bone loss and oxidative stress in rats with experimental periodontitis				
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Dr.Öğr.Üyesi Hatice YEMENOĞLU				
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Arş. Gör. Melek BEDER, Prof. Dr. Oğuz KÖSE, Öğr. Gör. Semih Alperen BOSTAN, Prof. Dr. Levent TÜMKAYA, Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE, Prof. Dr. Adnan YILMAZ				
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu				
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez Ulusal		☐ Çok Merkezli Ulusal		☐ Çok Merkezli Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2023/24			Tarih (Date): 25.04.2023		
	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden, Dr.Öğr.Üyesi Hatice YEMENOĞLU'nun sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.					
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of Recep Tayyip Erdogan University.					
	☒ Accepted			☐ Rejected		
ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Dr.Öğr.Üyesi Atilla TOPÇU(Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Oğuz KÖSE (Başkan Vekili)	Periodontoloji	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	☒ E ☐ H	☒ E ☐ H	-----
Prof.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.İlker Zeki KURTOĞLU(Üye)	Yetiştiricilik	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Esra DENİZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Zehra TOPAL SUZAN (Üye)	Histoloji ve Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	-----
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay. Arş. ve Uyg. Mer.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ahmet ERKAN (Üye)	Sivil Toplum Kuruluşuna Üye	Sağlık-Sen	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	-----
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

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

EK-3-İntihal Raporu

ORJİNALLİK RAPORU

%19

BENZERLİK ENDEKSİ

%17

İNTERNET KAYNAKLARI

%9

YAYINLAR

%8

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%5

2

Submitted to Recep Tayyip Erdogan University

Öğrenci Ödevi

%2

3

abakus.inonu.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

4

openaccess.bezmialem.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

5

acikarsiv.ankara.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

6

www.slideshare.net

İnternet Kaynağı

%1

7

abakus.inonu.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%1

8

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<%1

9

doczz.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%1