

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL PERİODONTİTİS
MODELİNDE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER İLE DÜŞÜK
DOZ DOKSİSİKLİNİN OKSİDATİF STRES, SİTOKİN VE
APOPTOZİS SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Dt. Umut YİĞİT
Doktora Tezi**

**I. DANIŞMAN
Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU**

**II. DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 3243-D1-12 Proje numarası ile desteklenmiştir.
Tez No: 112**

2015-İSPARTA

KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Periodontoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans/Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/01/2015

Tez Danışmanı I:

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji AD.

Tez Danışmanı II:

Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ Süleyman Demirel
Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Biyofizik AD.

Üye

: Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji AD.

Üye

: Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji AD.

Üye

: Yrd. Doç. Dr. Muhsin ÖZDEM

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji AD.

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nejdet ADANIR
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Dt. Umut YİĞİT

Danışman I

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

Danışman II

Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca mesleki açıdan gelişmemde büyük desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanması aşamasında her türlü bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, sayın hocam Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU'na;

Tez çalışmam boyunca bilgi, tecrübe ve yardımlarından faydalandığım Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU'na,

Tez çalışmam süresinde her zaman desteğini ve yardımını gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ'a;

Periodontoloji eğitimim süresince verdikleri emekler nedeniyle, kürsümüzün saygıdeğer hocaları Prof. Dr. Zuhal YETKİN AY, Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU'na ve Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ'a;

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Dt. Memduha TÖZÜM BULUT, Dr. Gizem TORUMTAY CİN ve Dr. Burak DOĞAN'a,

Çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Asistanlarına ve çalışanlarına;

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 3243-D1-12) ve katkılarından dolayı Sağlık Bilimleri Enstitü'süne;

Tüm hayatım boyunca sonsuz sevgilerini ve özverilerini bir an bile eksik etmeden, maddi ve manevi destekleriyle bana her zaman güç veren aileme;

Bu sürede sevgisini, yardımını ve desteğini hiç esirgemeyen, hayatımda olmasından dolayı beni çok farklı hissettiren ve temennilerin en özeline layık olan sevgili eşim TUĞBA YİĞİT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dt. UMUT YİĞİT
Isparta, 2015

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
BEYAN	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
GRAFİKLER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalık Patogenezi	5
2.2. Sitokinler	6
2.2.1. IL-1.....	7
2.2.2. IL-6.....	8
2.2.3. IL-10.....	9
2.2.4. TNF- α	9
2.3. MMP'ler.....	10
2.3.1. MMP-1	11
2.3.2. MMP-8	11
2.4. Oksidatif Stres.....	12
2.4.1. MDA	13
2.4.2. Antioksidanlar	13
2.4.2.1. GSH-Px	15
2.4.2.2. GSH.....	15
2.5. Periodontal Hastalıkta Oksidatif Durum.....	16
2.6. Apoptozis	18
2.6.1. Apoptozis Yolakları	19
2.6.1.1. TNF Yolağı	19
2.6.1.2. Fas Yolağı	19
2.6.1.3. Kaspazlar.....	19
2.6.2. Periodontal Hastalıkta Apoptozis.....	21

2.7. Periodontal Hastalıkta Konak Modülasyonu	22
2.8. Tetrasiklinler	23
2.8.1. Doksisisiklin	26
2.9. Propolis	28
2.9.1. KAFEE.....	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1. Deney Hayvanları.....	32
3.2. Çalışma Grupları	32
3.3. Deneysel Periodontitis Modeli	33
3.4. İlaç Uygulaması	34
3.4.1. KAFEE Uygulaması	34
3.4.2. DDD'nin Uygulaması	34
3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	35
3.6. Biyokimyasal Analizler.....	36
3.7. Serum Sitokin Seviyelerinin Belirlenmesi	36
3.8. Serum Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi	36
3.8.1. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi.....	36
3.8.2. GSH Seviyelerinin Belirlenmesi	37
3.8.3. GSH-Px Seviyelerinin Belirlenmesi	37
3.9. Apoptozis Seviyelerinin Belirlenmesi.....	37
3.10. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	38
3.11. Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
3.12. İstatistiksel Analizler.....	39
4. BULGULAR	40
4.1. Histomorfometrik Bulgular / Alveoler Kemik Kaybı	40
4.2. Sitokin ve Enzim Seviyeleri.....	41
4.3. MDA, GSH ve GSH-Px Seviyeleri.....	45
4.4. Gingival Apoptozis Seviyeleri	47
4.5. Korelasyonlar	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	64
ÖZET.....	65
ABSTRACT	66
KAYNAKLAR	67

ÖZGEÇMİŞ	103
EKLER	105
Etik Kurul İzni.....	105

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Aa	: Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AKS	: Alveolar kret seviyesi
AKT	: Alveolar kret tepesi
ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
AP-1	: Apoprotein 1
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
CD	: Farklılaşan antijen grupları
CHPO	: Kümen-hidroperoksit
CO	: Karboksil
COX	: Siklooksijenaz
Cu	: Bakır
DDD	: Düşük doz doksisisiklin
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
DTNB	: 5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoik asit
ELISA	: Enzim linked immünosorbent assay
EM	: Ekstraselüler matriks
FADD	: Fas ilişkili ölüm bölgesi
FasL	: Fas ligand
Fe	: Demir
GM	: Gentamisin
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HCL	: Hidroklorür
HNA	: Hidroksinoneal
I	: İyot
IAP	: Apoptozis inhibitörü
IFNγ	: İnterferon gama
IL	: İnterlökin

IL-1R2	: İnterlökin-1 reseptör tip II
ISO	: İsopterenol
i.p.	: İnterperitoneal
K	: Potasyum
KAFEE	: Kaffeik asit fenetil ester
KAT	: Katalaz
KMT	: Konak modülasyon tedavisi
KYD	: Kök yüzey düzleştirme
LPO	: Lipid peroksidasyon
M-CSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
MDA	: Malondialdehid
Mg	: Magnezyum
Mm	: Milimetre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MSS	: Mine sement sınırı
Mn	: Manganez
Na	: Sodyum
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
o.g.	: Oral gavaj
P. gingivalis	: Porphyromonas gingivalis
P. intermedia	: Prevotella intermedia
PG	: Prostaglandin
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PUVA	: Çoklu doymamış yağ asiti
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B
RANKL	: Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligand
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TCA	: Trikloroasetik asit
TGF-β	: Transforming büyüme faktörü beta

Th	: T yardımcı hücre
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif substans
TIMP	: Matriks metalloproteinaz inhibitörü
TLR	: Toll like reseptör
TNF	: Tümör nekroz faktör
TRAIL	: Tümör nekroz faktör ilişkili apoptozis indükleyici ligand
Zn	: Çinko
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktör
G-CSF	: Granülosit stimülatif faktör
IFN	: İnterferon
IGF	: İnsulin benzeri büyüme faktör
MCP	: Monosit kemotaktik protein
MIP	: Makrofaj enflamatuvar protein
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktör
VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktör

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Sitokinlerin sınıflandırılması.....	6
Tablo 2. Serbest radikallerin sınıflandırması	12
Tablo 3. Antioksidanların sınıflandırılması.....	14
Tablo 4. Tetrasiklinlerin yan etkileri ve toksisiteleri.....	26
Tablo 5. Ölçüm sonuçları	41
Tablo 6. Sitokin ve enzim değerleri.	42
Tablo 7. Oksidan ve antioksidan parametre değerleri.	45
Tablo 8. Apoptozis seviyeleri.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Periodontitis hastalık patogenezi	4
Şekil 2. Periodontal hastalıkta oksidatif durum	16
Şekil 3. Apoptozis basamakları	19
Şekil 4. Apoptoziste TNF ve Fas sinyal sistemi	20
Şekil 5. Tetrasiklinlerin kimyasal yapısı.....	23
Şekil 6. Doksisiklinin kimyasal yapısı.....	26
Şekil 7. DDD'nin etki mekanizması	28
Şekil 8. KAFEE'nin moleküler yapısı.	29

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Ağırlıkların ölçümü	33
Resim 2. Anesteziğin hazırlanması	33
Resim 3. Düzeneğin hazırlanması	33
Resim 4. Ligatürlerin yerleştirilmesi	34
Resim 5. KAFEE uygulaması.....	34
Resim 6. DDD uygulaması.....	35
Resim 7. MSS'nin ve AKT'nin görünümü.....	36
Resim 8. ELISA.....	36
Resim 9a. K grubu.....	40
Resim 9b. P _K grubu	40
Resim 9c. P _D grubu.....	40
Resim 9d. P _{KD} grubu	41
Resim 9e. P grubu.....	41

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Gruplardaki MSS-AKT değerleri	41
Grafik 2a. IL-1 β seviyeleri	42
Grafik 2b. IL-6 seviyeleri	43
Grafik 2c. IL-10 seviyeleri.....	43
Grafik 2d. TNF- α seviyeleri	43
Grafik 2e. MMP-1 seviyeleri	44
Grafik 2f. MMP-8 seviyeleri.....	44
Grafik 3a. MDA seviyeleri	46
Grafik 3b. GSH seviyeleri	46
Grafik 3c. GSH-Px seviyeleri	47
Grafik 4. Apoptozis seviyeleri	48

1. GİRİŞ

Periodontitis alveoler kemik yıkımı, ataşman kaybı ve sonuçta diş kaybının olduğu kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitisin oluşmasına en önemli sebep periodonto-patojenik mikroorganizmalardır (1). Son yıllarda, iltihabi karakterde olan periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde plak bakteri ve ürünlerine karşı konak dokuda gelişen hücresel ve hümoral cevabın önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (2).

Periodontal hastalıkta polimorfonükleer lökositler (PMNL), makrofajlar ve lenfositler gibi savunma hücreleri fazla miktarda yıkıcı enzimler ve enflamatuvar mediyatörler salgılayarak doku yıkımına yol açarlar. İmmün cevap proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinler ve bu sitokinlerin reseptörlerinin oluşturduğu kompleks bir sitokin ağı ile düzenlenir (3, 4). Bu mediyatörlerin ilişki ve dengeleri enflamasyona bağlı yıkımın şiddetini ve miktarını belirler (5). Yapılan çalışmalarda periodontitisli bireylerde dolaşımdaki ve periodontal dokulardaki interlökin (IL)-1, IL-6, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi proenflamatuvar sitokin seviyelerinin arttığı tespit edilmiş ve bu sitokinler periodontitiste anahtar sitokin olarak değerlendirilmiştir (6-9). Matriks metalloproteinazlar (MMP) periodontal dokuda ekstraselüler matriks (EM)'te esasen kollajen liflerin yıkımında rol oynarlar. MMP-1 ve 8'in enflamatuvar periodontal hastalığa bağlı EM'nin patolojik olarak yıkılmasında önemli bir yeri olduğu ve periodontal hastalık varlığında artış gösterdiği bilinmektedir (10). Proenflamatuvar veya yıkıcı mediyatörlerdeki artış IL-6, IL-10, IL-1 reseptör antagonist ve MMP doku inhibitörü gibi antienflamatuvar veya koruyucu mediyatörler ile dengelenir (5) .

Moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan ürünlere 'reaktif oksijen türleri' (ROT) denir. Periodontal hastalık varlığında PMNL infiltrasyonuna bağlı olarak ROT'ta artış olduğu gözlenmektedir (11). ROT'ların yüksek oranda üretilmesi nükleik asitler, proteinler ve lipidler başta olmak üzere bazı hücresel yapılara zarar verir (12). ROT ve hücre membranlarının etkileşimiyle ortaya çıkan lipid peroksidasyonu (LPO)'nun en önemli ürünü malondialdehid (MDA)'dir (13). LPO ile oluşacak zararlı etkiye karşı hücreler bazı savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu savunma sistemlerini antioksidanlar oluşturur (14). Glutatyon (GSH) ve glutatyon

peroksidaz (GSH-Px) protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu engelleyen antioksidanlardandır (14). Pro-oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengesizlik ileri oksidatif hasara ve periodontal dokularda yıkıma sebep olabilir (15, 16). Periodontal hastalık varlığında yıkımla birlikte MDA seviyesinin arttığı GSH ve GSH-Px aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir (17, 18). Yüksek moleküler aktiviteye sahip LPO ürünleri immün cevap artışına, enflamasyona, tiyol içerikli enzimlerin etkisiz hale getirilmesine, gen transkripsiyonuna ve apoptozise neden olmaktadır (19, 20).

Apoptozis konak yanıtının regülasyonu, hücre proliferasyonu gibi birçok patofizyolojik mekanizmada önemli bir role sahiptir (21, 22). Oksidatif stres, sitokinler, bakteriler, viral enfeksiyonlar (23), radyasyon (24), immün hücreler ve büyüme faktörleri, beslenme ve EM'deki (25) değişiklikler ile patolojik olarak tetiklenebilir. Apoptozisin ROT salımına veya hücrel antioksidanların azalmasına bağlı olarak geliştiği in vitro çalışmalarca desteklenmiştir (26, 27). Bakteriyel ürünlerin varlığı ve ROT apoptozisi indükleyerek enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunu artırır (28-31). Kronik periodontitiste ROT'a ve hücrel antioksidanların seviyelerinin düşmesine bağlı apoptozis seviyesinin arttığı bildirilmiştir (26, 32). Apoptozisin azalması ile ROT seviyesi azalacağından enfeksiyona karşı konak yanıtına katkı sağlanarak periodontal dokuların yıkımı engellenebilir (33, 34).

Periodontal hastalıkta konak enflamatuvar cevabının öneminin anlaşılması yeni tedavi seçenekleri üzerindeki çalışmaları arttırmıştır. Konak modülasyonu tedavisi (KMT) plağa karşı gelişen immüno-enflamatuvar cevabın yol açtığı doku yıkımının azaltılmasını ve periodonsiyumun stabilize ve rejenere edilmesini amaçlar. KMT ile periodontal hastalıkta dokuda artan proenflamatuvar sitokin ve yıkıcı enzimlerin seviyeleri azaltılabilir. Ayrıca osteoklastik aktivite azaltılarak kemik rezorpsiyonu inhibe edilebilir.

KMT ajanlarından birisi olan tetrasiklinlerin antikollajenaz özelliklerinin olduğu ve bu etkinin antibakteriyel etkilerinden bağımsız olarak en fazla doksisisiklinde bulunduğu bildirilmiştir (35, 36). Doksisisiklin antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra enflame hücreleri apoptozise sürüklenme özelliği de göstermektedir (37, 38).

Düşük doz doksisisiklin (DDD) kullanımının prostaglandin (PG) ve fosfolipaz A₂ miktarlarında azalmaya neden olduğu ve MMP'lerin üretimini ve aktivasyonunu engellediği bildirilmiştir (39, 40). DDD'nin periodontal hastalıkta ataşman kaybını azalttığı, antienflamatuvar ve antioksidan etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (41-44).

Kafeik asit fenetil ester (KAFEE) yapıcı flavonoidlere benzeyen bal arısı tarafından üretilen propolisin aktif fenolik bir bileşenidir (45). KAFEE'nin antioksidan, antienflamatuvar, antiviral ve immünomodülatör etkileri bulunmaktadır (45-49). KAFEE ile yapılan bilimsel çalışmalarda, KAFEE'nin enflamasyona bağlı oksidatif stresin arttığı durumlarda hücresel mekanizmalar üzerine etkinliğinin olduğu ve bu sayede sinir hücreleri de dahil olmak üzere birçok hücre grubunu oksidan hasara karşı koruduğu bildirilmiştir (50-53). Enflamasyon sırasında araşidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz yolağını (54) ve ROT üretimini inhibe eder (55). KAFEE kemik yıkımında önemli bir yere sahip olan nükleer faktör kappa B (NF-κB)'nin potent bir inhibitörüdür. Bu özellikleri ile kemik defektlerinin iyileşmesi ve alveolar kemik kayıplarının önlenmesinde etkili olduğu belirtilmiştir (56, 57).

Son yıllarda, periodontal hastalıkta birden fazla ajanın bir arada kullanıldığı KMT yöntemleri de dikkat çekmektedir. DDD'nin bisfosfonatlar ile birlikte kullanılmasının ratlarda kemik rezorpsiyonunu (58) ve enflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek alveolar kemik yıkımını daha fazla engellediği bildirilmiştir (59-63). Yine DDD ile nonsteroidal antienflamatuvar ilaçların kombine kullanımı ile MMP ve nötral proteinazların baskılanması ile periodontal tedavinin etkinliği artmıştır (64) .

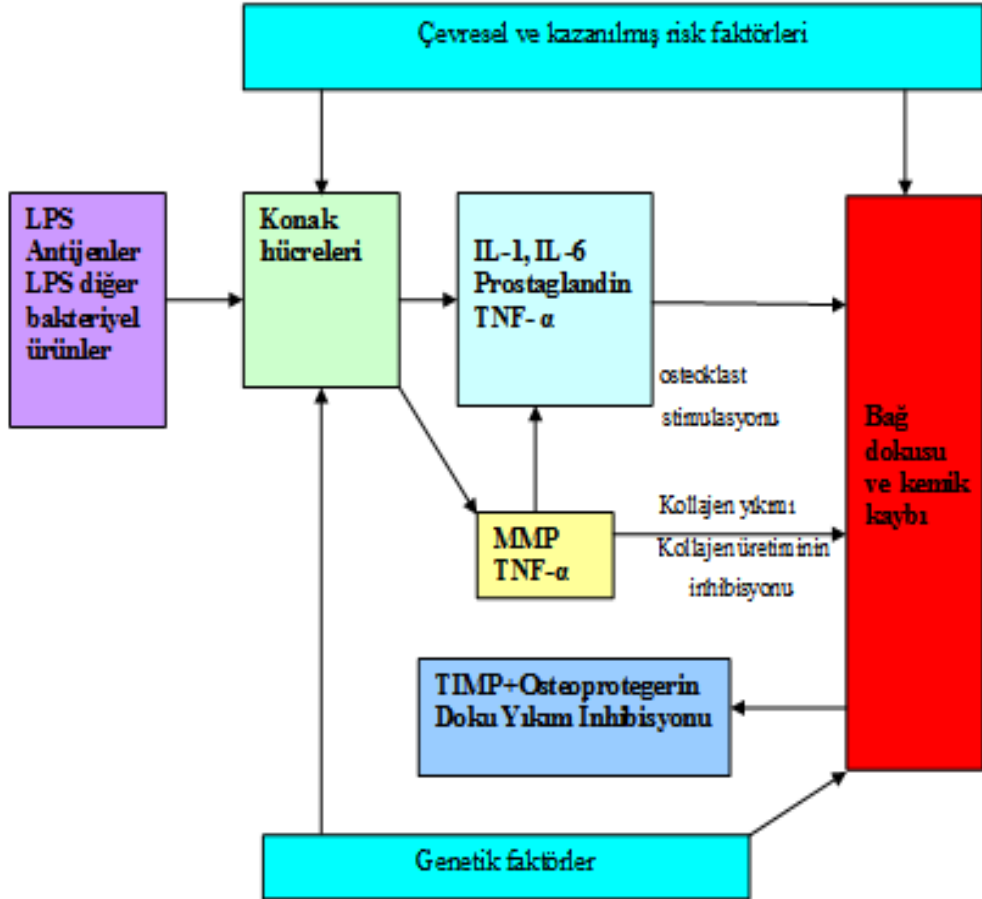
Bu çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde KAFEE ve/veya DDD uygulamalarında:

- a. Alveolar kemik yıkımı,
- b. Periodontal yıkımda öne çıkan sitokinler ve enzimler (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-10, MMP-1 ve MMP-8) seviyeleri,
- c. Oksidatif durum ile ilişkili belirteç (MDA, GSH ve GSH-Px) seviyeleri ve
- d. Gingival apoptozis seviyeleri karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

Periodontal hastalık, dental plaktaki bakteri ve ürünleri ile onlara karşı gelişen konak yanıtının rol aldığı, episodik karakterli kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Periodontal hastalıkta meydana gelen doku yıkımı bakteriler ve ürünleriyle direk, konak yanıtı ile indirek mekanizmalarla gerçekleşir (65). Konak yanıtında sitokinler, MMP'ler, kompleman ürünleri gibi çeşitli enflamatuvar mediyatörler üretilir.

Periodontal doku yıkımı seviyesi yapıcı ve yıkıcı enflamatuvar mediyatörler arasındaki dengeye bağlıdır. Her ne kadar enfektif periodontal hastalık için periodontal bakteri gerekli olsa da hastalığın seyrini çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle konak yanıtı belirler (66-70).



Şekil 1. Periodontitis hastalık patogenezi (71)

2.1. Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontal hastalık patogenezi, histopatolojik olarak 4 aşamada incelenmektedir (72, 73) (Şekil 1):

Başlangıç Lezyonu: Dental plak oluşumunu takiben 2-4 gün içerisinde gelişir. Bu safhada gingival alanda görülen değişiklikler vazodilatasyon ve buna bağlı olarak gelişen kan akımında artıştır. Gingival enflamasyonla ilişkili olarak birleşim epiteli ve gingival sulkusta PMNL göçü gözlenir. Bu lökosit göçü çeşitli adezyon molekülleri (intersellüler adezyon molekülü-1, endotelial adezyon molekülü-2) tarafından kolaylaştırılır. Birleşim epitelinin koronal bölgesindeki hücrelerde morfolojik değişimler görülür ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) hacmi artar.

Erken Lezyon: Dental plak birikiminin 4-7. günü içerisinde oluşur. Bu safhada kapiller proliferasyonu, eritem ve sondalamada kanama gözlenir. Bağ dokusunda yoğun lenfosit infiltrasyonu görülen subklinik gingivitistir. Enflame dişetinde kollajen yıkımı %60-70'lerdedir. Lenfositlerin %75'ini T hücreleri oluşturur. Lenfositlerle beraber nötrofil, makrofaj, plazma ve mast hücrelerine rastlanabilir. Birleşim epitelinin bazal hücreleri proliferasyona başlar. Vasküleritenin artmasıyla klinik olarak gözlenen kızarıklık oluşur. Oluşan erken lezyon tablosunun uzun dönem stabil kalabildiği, yerleşmiş lezyonun periodontal hastalığa hassasiyet açısından önemli bir patogenezez basamağı olabileceği öngörülmektedir.

Yerleşmiş Lezyon: Dental plak oluşumunu takiben 14. günden sonra oluşan klinik olarak gözlenen kronik gingivitis yerleşmiş lezyondur. Klinik olarak gingivada orta veya şiddetli seviyede enflamasyon gözlenir. Birleşim epiteli apikal yönde proliferasyona olur. Yoğun plazma hücre infiltrasyonu, yerleşmiş lezyonun en önemli özelliğidir. Kollajenaz aktivitesine bağlı olarak kollajen yıkımı devam eder. Kemik kaybı olmaksızın plazma hücresi baskınlığı görülür. Bu aşamaya kadar olan değişiklikler, gingivitis ve periodontitis patogenezinin ortak sürecini oluşturur.

İlerlemiş Lezyon: Bu safha yerleşmiş lezyonun alveolar kemiğe ilerlemesiyle karakterizedir ve 'periodontitis' olarak adlandırılmaktadır. Dişeti cebi epitelinin çevresinde kollajen yıkımı artar ve komşu dokularda fibrozis görülür. Gingivitisten periodontitise geçişteki mekanizmalar tam olarak tespit edilememiştir.

Periodontitisten önce gingivitis gelişimine rağmen gingivitisten sonra her zaman periodontitise geçiş gözlenmez. Epitelyal ataçman kök yüzeyi boyunca apikal yönde migrasyon gösterir ve alveolar kemikte rezorpsiyon görülür. Periodontitis klinik olarak gingivitisten ataçman kaybı ile ayrılır. Periodontitiste histopatolojik olarak plazma hücreleri baskındır.

Periodontal hastalıkta doku yıkımında, bakteriler tarafından salınan endotoksinler, proteazlar ve kemotaktik peptidler gibi ürünler konak cevabını uyarak IL-1, IL-6, TNF- α , PGE₂ gibi proenflamatuvar sitokinlerin ve MMP gibi konak enzimlerinin salımının artmasına yol açarlar (74, 75).

2.2. Sitokinler

Sitokinler farklı hücrelerden salınan küçük proteinlerdir. Spesifik reseptörlere bağlanarak immün sistemde oluşacak yanıtı başlatırlar. Sitokinler yapısal olarak birbirlerinden farklıdırlar (76). Hücre büyümesi ve farklılaşmasında etkili olmalarının yanısıra bağışıklık ve enflamasyonun farklı aşamalarında rol oynayarak konak cevabının şiddetini ve süresini de belirlerler (77). Sitokinler etkileşimlerini spesifik hücre yüzey reseptörleri ile gerçekleştirerek hedef hücre üzerinde farklı etki gösterebilirler. Esas kaynakları makrofajlar ve T lenfositler olmakla birlikte birçok hücre tarafından sentezlenebilirler. Birçoğu üretildikleri hücreyi uyarabilme özelliğine sahip olmaları nedeniyle kendi yapımlarını da düzenlerler. Sitokinlerin salınımı ve etkileri, inhibitörler ve reseptörlerle düzenlenir (5). Sitokinler ağırlıklı olarak etkilerine göre sınıflandırılabilirler (78) (Tablo 1).

Tablo 1. Sitokinlerin sınıflandırılması

Sitokin ailesi	Sitokin çeşitleri
Kemotaktikler	IL-8, MIP-1, MCP-1
Pro-enflamatuvarlar	IL-1 α , 1 β , IL-6, TNF- α
Anti-enflamatuvarlar	IL-1Ra, IL-4, IL-10
Büyüme (growth) faktörleri	PDGF, EGF, FGF, IGF, VEGF
İmmün regülatörler	IFN- γ , IL-2, 4, 5, 7

EGF: epidermal büyüme faktör, FGF: fibroblast büyüme faktör, G-CSF: granülosit stimülatif faktör, IFN: interferon, IGF: insulin benzeri büyüme faktör, MCP: monosit kemotaktik protein, MIP: makrofaj enflamatuvar protein, PDGF: trombosit kaynaklı büyüme faktör, VEGF: vasküler endotelial büyüme faktör (79)

2.2.1. IL-1

IL-1 enflamasyon ve doku yıkımında öne çıkan polipeptid yapıda multifonksiyonel bir sitokindir (80-82). Defans hücreleri dışında birçok hücreden üretilmesi ve vücuttaki hemen hemen tüm hücreleri etkileyebilme özelliği ile diğer mediyatörlerden ayrılır (83). Temel kaynak olan monosit, makrofaj ve PMNL'lerin (66, 80) yanı sıra epitel ve endotel hücreleri, fibroblastlar, B hücreleri, Langerhans hücreleri, osteositler ve osteoblastlardan da üretilir (77, 80, 81). Asidik (α) ve nötral (β) olarak iki formu vardır (77, 84). IL-1 β 'nın IL-1 α 'ya kıyasla kemik yıkımında daha etkili olduğu bilinmektedir (85, 86). Hedef hücreler üzerinde etkilerini spesifik iki adet reseptörü ile sağlar. Bu reseptörlerin antagonistleri inhibitör olarak çalışır (66). IL-1 β , Alzheimer, romatoid artrit, diyabet ve periodontitis gibi birçok kronik enflamatuvar hastalığın patogenezinde anahtar rol oynar (80, 81, 83). Periodontopatojenlerin virulans faktörleri direk ve indirek yollarla IL-1 β 'nın salımını arttırmaları (70, 82, 87, 88-92). Periodontal hastalıkta IL-1 β 'nın esas kaynağı monosit ve makrofajlardır (93, 94). Bununla birlikte B hücrelerinin de önemli bir kaynak olduğu ifade edilmektedir (81, 95, 96). IL-1 β 'nın dentritik hücrelerin farklılaşmasındaki (97) ve T hücre regülasyonundaki etkisi immün yanıtta merkezi rol oynar (65, 98). IL-1 β , B lenfositleri stimüle eder, proliferasyonlarını ve plazma hücresine dönüşümlerini artırır (65, 77). Enflamasyon ve otoimmün hastalıklarla ilişkili birçok gen ekspresyonunun stimülasyonuna (siklooksijenaz [Cox]-2) ve tip 2 fosfolipaz A'nın kodlanmasına ve nitrik oksit (NO) sentaz indüksiyonuna yol açar (99). Adezyon moleküllerinin üretimini, IL-8'i arttırarak enflamatuvar hücre göçünü artırır (81). Diğer proenflamatuvar sitokinlerle birlikte alveolar kemik rezorpsiyonunu stimüle eder ve kemik formasyonunu inhibe eder (81, 100). IL-1 β 'nın osteoblastlardan reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B ligand (RANKL) üretimini stimüle ederek osteoklastogenezi arttırdığı bildirilmiştir (101-103). IL-1 β ayrıca makrofajlardan IL-6 (103) ve TNF- α salımını da indükleyerek kemik yıkımının artmasında etki eder (81, 104). IL-1 β etkisiyle plazminojen aktivasyonunun ve MMP üretiminin artması kemik rezorpsiyonunu artırır (81, 85). IL-1 β 'nın periodontitis varlığında periodontal dokularda (105), DOS'ta (106) ve salyada (107) arttığı gösterilmiştir (108, 109). IL-1 β 'nın seviyesi periodontal hastalığın şiddeti ile ilişkili bulunmuştur (94, 106, 110). Ancak periodontitisli ve

sağlıklı hastalarda IL1- β seviyelerinin benzer olduğunu rapor eden çalışmalar da vardır (111, 112). Literatürde başlangıç tedavisi ile salya, DOS, serum örneklerinde IL-1 β seviyelerinin arttığı (112), azaldığı (113-118) ya da değişmediği (118) rapor edilmiştir.

2.2.2. IL-6

IL-6, T ve B lenfositler, monositler ve myeloid hücreler tarafından üretilen bir proenflamatuvar sitokindir. Defans hücreleri dışında keratinositler, endotel hücreler ve fibroblastlar tarafından da üretilir (82, 119). IL-1 ve TNF- α tarafından üretimi arttırılırken (120-122) kortizol tarafından baskılanırlar (121, 122) Sinir sistemi ve kardiovasküler sistem aktivitelerinde görev alır (121). Ayrıca romatoid artrit, çeşitli otoimmün ve enflamatuvar hastalıkların patogenezi ile ilişkili bulunmuştur (121). Serum amiloid A, fibrinojen ve akut faz proteinlerinin üretiminin artmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (121). Osteoblastların formasyonu ve farklılaşmasını etkiler (85). Kemik üzerine esas etkisi RANKL aktivitesini arttırarak osteoklast farklılaşmasını stimule etmesi (120) ve kemik rezorpsiyonunu arttırmasıdır (120-122). B hücre aktivasyonu, nonspesifik antikor ve IL-1 üretiminin arttırılması IL-6'nın önemli patofizyolojik fonksiyonları arasındadır (85). T hücre farklılaşmasını ve fonksiyonlarını da stimule eder (123). IL-6 dentritik hücre farklılaşmasını da düzenler (124). IL-17 üretimini arttırarak immün yanıtı şiddetlendirir (123). Periodontitiste serum, plazma, DOS ve doku IL-6 seviyelerinin arttığı bulunmuştur (111, 125-131). Bu artış klinik parametrelerle pozitif korelasyon gösterir (126). Başlangıç periodontal tedavi ile serum ve plazma IL-6 seviyelerinin azaldığı (127, 131-133) ancak serum IL-6 seviyeleri ile klinik parametrelerin değişimi arasında bir ilişki bulunmadığı rapor edilmiştir (132), Buhlin ve ark., (134) başlangıç ve cerrahi periodontal tedavilerini yaptıkları hastaların serum IL-6 seviyelerinin değişmediğini saptamışlardır. IL-6'nın genetik olarak nakavt edildiği farelerde periodontitiste daha az akut faz yanıtı ve alveolar kemik kaybı belirlenmiştir (135). IL-6 seviyesinin yüksek olması periodontal hastalığın şiddeti ile ilişkilendirilmiştir (136). Osteoblast alkalin fosfataz aktivitesini ve kollajen sentezini inhibe eder (137, 138).

2.2.3. IL-10

IL-10, proliferatif ve enflamatuvar yanıtı baskılayan anti-enflamatuvar bir sitokindir (139, 140). B hücreleri, mast hücreleri, eozonofiller, makrofajlar ve dentritik hücreler ve çoğu T hücre alt birimlerinden üretilir (141). İmmünglobulin üretimini destekleyerek yanıtı dengeler (142). IL-10, Th 1 hücrelerinin üretimini inhibe ederken (140), timositler, B hücreleri ve bağ dokusu hücreleri üzerine stimulatif etkiler gösterir. IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokin ve kemokinlerin ve ayrıca NO sentaz, jelatinaz ve kollajenaz gibi enzimlerin sentezini azaltır (143, 144). IL-10'un spesifik olarak nötralizasyonu ile IL-1 ve TNF- α sentezi artar (143, 144). Bu nedenle IL-10, homeostatik ve enflamatuvar durumların regülasyonunda önemlidir (145-147). Osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe eder ve osteoblastik kemik formasyonunu regüle ederek kemik hacminin korunmasında rol alır (141). IL-10'un seviyesinin yetersiz olması ile proenflamatuvar sitokin ve kollajenazların inhibisyonu başarısız olacaktır ve bu durum osteoporoz gelişimini etkileyecektir (21). Periodontitis ve periapikal lezyonlarda alveolar kemik homeostazında önemli bir regülatör olduğu rapor edilmiştir (148-151). IL-10 knock-out edilmiş periodontitisli farelerde IL-10'un anti-enflamatuvar etkisinin olduğu gözlenmiştir (151). Bazı çalışmalarda IL-10 gen polimorfizminin periodontitis gelişimi ile ilişkisi rapor edilmiştir. Düşük IL-10 salımı ile enflamasyon şiddetlenmiş ve dişeti büyümesi gözlenmiştir (152) ayrıca generalize agresif periodontitis riski artmıştır (153).

2.2.4. TNF- α

TNF- α , enflamasyonda başlıca proenflamatuvar sitokinlerden biridir (154, 155) ve enfeksiyon varlığında lokal enflamatuvar yanıt indükleyicisidir. Fakat sistemik etkileri de bulunmaktadır (82, 100, 156). Başlıca monositler ve makrofajlar tarafından üretilmektedir (157), T hücrelerinden transmembran prekürsör proteini olarak sentezlenir (158). Bakteriyel enflamasyon varlığı ve immün sistemin aktivasyonu ile üretilir (82, 100, 156). T yardımcı (Th) hücrelerinin ve osteoblastların proliferasyonunu artırır (159, 160). TNF- α endotel hücrelerde oksidatif stres, kompleman aktivasyonu, vazokonstriktör üretimi ve mikrotrombozis,

enfarktüs ve tromboksan seviyelerinin artması gibi yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturur (161). Kemokinler, adezyon molekülleri ve PGE₂ üretimi gibi bir çok reaksiyonda IL-1 ile sinerjik etkiye sahiptir (66). TNF- α 'nın enflamatuvar lökositlerin aktivasyonu, vasküler permeabilitenin modifikasyonu, kemik rezorpsiyonunun indüksiyonu gibi pleiotropik etkisi bulunmaktadır (162). Enflamasyonda üretilen en yüksek osteoklastojenik potansiyele sahip sitokin TNF- α 'dır (163, 164). TNF- α otokrin olarak RANKL aktivasyonu ile osteoklastogenezi yönlendirir (165). MMP sekresyonu ile yürütülen doku turnoverını da yönlendirir. Apoptozisi artırır ve fibroblastların apoptozisini indükleyerek doku tamirini sınırlandırır (159, 160). IL-4, IL-10 (166), transforming büyüme faktörü beta (TGF- β) (85) ve lipoksin A4'ün (167) TNF- α üretimini azalttığı, interferon gama (IFN- γ)'nın ise arttırdığı rapor edilmiştir (168). TNF- α , IL-1 β ile birlikte IL-6'nın ana indükleyicisidir (169). Periodontitiste TNF- α seviyelerinin serum, DOS ve dokuda arttığı rapor edilmiştir (6, 130, 170-172). Bazı çalışmalarda serum ve plazma TNF- α seviyelerinin periodontitisli hastalarda sağlıklılara kıyasla farklı olmadığı da bildirilmiştir (131, 173). Periodontal hastalık şiddetinin ve alveolar kemik rezorpsiyonunun artan TNF- α seviyeleri ile paralel olduğu bulunmuştur (6). TNF- α seviyeleri perirodental hastalıkta MMP ve RANKL seviyeleri ile ilişkilidir (66, 168). Başlangıç tedavisi ile serum TNF- α seviyelerinin azaldığı ya da değişmediğini rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (130, 171). TNF- α eksikliği ya da inhibisyonu oluşturulan hayvan modellerinde periodontal kemik kaybının azaldığı görülmüştür (168, 174).

2.3. MMP'ler

MMP'ler, EM bileşenlerini yıkıma uğratan çinko (Zn) ve kalsiyum (Ca)'a bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinen proteolitik enzimlerdir (175). Endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri, mezenşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipleri tarafından üretilmekle beraber ana kaynakları fibroblastlardır (176, 177). Fizyolojik olaylarda MMP ile spesifik inhibitörü olan TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinase) arasında bir denge bulunur (178). Doku formasyonu sırasında MMP salımı

artmaktadır (179). MMP'ler periodontal hastalık, artrit, kanser, ateroskleroz, diyabet ve osteoporoz gibi bazı patolojik durumlarda etkilidirler (180). MMP aktivitesinin artması patolojik lezyonların gelişmesine öncülük eden EM'nin kontrolsüz bir şekilde bozulmasına sebep olur (177). Enflame periodontal dokularda MMP üretimi artar (181, 182). Periodontal hastalığın gelişiminde önemli olan proenflamatuvar mediyatörler (IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α) MMP gen transkripsiyonunu artırır (183). MMP'ler mineralize olmamış osteoid dokuyu ve kollajen matriksi yıkıma uğratarak alveolar kemik rezorpsiyonunu kolaylaştırırlar. MMP'lerdeki artış dişeti cebi oluşumu, ataşman kaybı, kemik rezorpsiyonu, dişeti çekilmesi, diş mobilitesi ve diş kaybı ile ilişkili bulunmuştur (184). MMP'ler sitokin ve kemokinleri işleyerek hatta apoptotik ve immün yanıtı regüle etmesiyle konak defansında antienflamatuvar etki gösterirler (185).

MMP'ler substrat yapılarına göre (186); MMP enzim ailesi, kollajenazlar (MMP-1, 8, 13 ve 18), stromelizinler (MMP-3, 7, 10, 11 ve 12), jelatinazlar (MMP-2 ve 9) ve membran tip MMP'ler (MT-MMP-14, 15, 16 ve 17) olmak üzere 4 farklı gruptan oluşmaktadır. Bu sınıflamanın dışında kalan MMP'ler de vardır (186).

2.3.1. MMP-1

MMP-1, interstisyel bir kollajenazdır ve fibroblastlardan, endotel hücrelerden, keratinositlerden, monositlerden, makrofajlardan, kondrositlerden ve osteoblastlardan üretilir (187, 188). Tip I, Tip II, Tip III, Tip V ve Tip X gibi birçok kollajen tipinin yıkımında rol alır (189). MMP-1 bağ doku yapımında etkili olan anahtar regülatörlerdendir ve enflame dişetinde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (190). Yetişkin periodontitisli hastalarda enflamatuvar lezyonlarında MMP-1 mRNA'sının arttığı gözlenmiştir (187, 191).

2.3.2. MMP-8

MMP-8 kollajenolitik bir enzimdir. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar. Nötrofiller tarafından üretilir ve diğer interstisyel kollajenazlardan farklı bir genden kaynaklanır (185, 192, 193). Periodontal dokulardaki en baskın interstisyel kollajenazdır. MMP-8 periodontitis (194) bronşektazi, astım (195, 196) ateroskleroz (197, 198) enflamatuvar bağırsak hastalığı (199), oral kist (200) ve oral kanser (201-

203) gibi hastalıklarda artar. Apoptotik yanıtın düzenlenmesinde, enflamasyon (204) ve yara iyileşmesinde koruyucu etki göstermektedir (205). MMP-8 doku yıkıcı özelliklerinin yanı sıra konak defansında sitokin ve kemokinleri stimüle ederek antienflamatuvar etki de göstermektedir (206).

Yapılan bir çalışmada MMP-1'in periodontitisli genç hastaların DOS'unda predominant kollajenaz olduğu, yetişkin periodontitisli bireylerin salya, DOS ve dişeti dokusunda esas kollajenazın MMP-8 olduğu belirlenmiştir (207). Sağlıklı insanlara nazaran tedavi edilmemiş periodontitisli hastaların DOS ve dişeti dokularında MMP-8 patolojik olarak artmıştır (208, 209). Periodontal hastalıkta MMP-1 ve MMP-8 TİP I, II ve III kollajenlerini yıkar ve EM'nin yıkımında ana tetikleyicidir. Dolayısıyla enflamatuvar periodontal hastalıkta EM'in patolojik olarak yıkımında MMP-1 ve MMP-8'in aktivasyonu ve sentezi önemli bir basamaktır (10).

2.4. Oksidatif Stres

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip ve değişik yapıların oksidasyonuna sebep olan reaktif moleküllerdir (210). Serbest radikaller oksijen ve azot içeriklerine göre ROT ve reaktif azot türleri olarak gruplandırılırlar (Tablo 2). ROT'lar diğer reaktif türleri çevreledikleri için reaktif türler içerisinde önemli bir yere sahiptirler. İntraselüler ve ekstraselüler çevrede radikallerin formasyonunda etkilidirler.

Tablo 2. Serbest radikallerin sınıflandırması

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Hidroksil ·OH	Peroksinitrit ONOO ⁻	Nitrik oksit NO·	Nitroksil NO ⁻
Süperoksit O ₂ ⁻	Hipokloröz Asit HOCl	Nitröz oksit N ₂ O·	Nitril Klorür NO ₂ Cl
Peroksil RO ₂ [·]	Hidrojen Peroksit H ₂ O ₂	Azot Dioksit NO ₂ [·]	Nitrotil Katyonu NO ⁺
Lipid Peroksil LOO [·]	Singlet Oksijen O ₂ ⁻	Peroksinitrit ONOO ⁻	Dinitrojen trioksit N ₂ O ₃
Alkoksil RO	Ozon O ₃	Peroksinitröz Asit ONOOH	Nitröz Asit HNO ₂
Hidroperoksil HOO	Lipid Peroksit LOOH		

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla ROT'ların nükleik asitler, proteinler ve lipidler başta olmak üzere hücreyel yapılarda hasara yol açtığı patolojik bir durumdur (211, 212). ROT'lar bakteriyel antijenlerin stimülasyonu ile en fazla PMNL'lerden üretilirler. ROT'lar düşük konsantrasyonda fibroblastların ve epitel hücrelerinin gelişimini stimüle ederken yüksek konsantrasyonda doku hasarı oluştururlar (213).

2.4.1. MDA

MDA, kısa zincirli bifonksiyonel bir aldehittir. Çeşitli doku elemanları ile kompleks halde ya da serbest bir formda bulunabilir. PG biyosentezinin bir ürünü olarak ya da oksidatif stres esnasında bazı makromoleküllerin yıkılması ile oluşur. En büyük kaynağı doymamış yağ asitleridir (214). MDA, LPO'nun son ürünlerinden birisidir. LPO, çoklu doymamış yağ asidinin (PUFA) radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve sonrasında MDA'dan başka 4-hidroksinoneal (HNA), alkoller, etan ve pentan gibi ürünlerin meydana geldiği bir reaksiyonlar zinciridir. LPO sonucu membran bütünlüğünün bozulması ile membran proteinleri, reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olurlar (13). ROT'ların ömürlerinin kısa olması nedeniyle (10^{-6} - 10^{-9} saniye) varlığını belirlemek oldukça zordur. ROT'a bağlı doku yıkımı MDA ile ölçülebilir (215). MDA'dan başka LPO göstergeleri HNA ve TBARS (Tiobarbitürik Asit Reaktif Substans) olarak ifade edilmektedir (75, 216). Literatürde periodontitiste oksidatif stresle ilişkili LPO göstergelerinin değerlendirildiği çok sayıda çalışma mevcuttur (75, 217-219).

2.4.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi oksitlenebilecek maddelerin oksidasyonunun önlenmesi veya geciktirilmesinde görev yaparak ROT'lara karşı savunma mekanizması oluştururlar (220). Antioksidanlar etkilerine ve buldukları yere göre gruplanabilirler (Tablo 3).

Tablo 3. Antioksidanların sınıflandırılması (221):

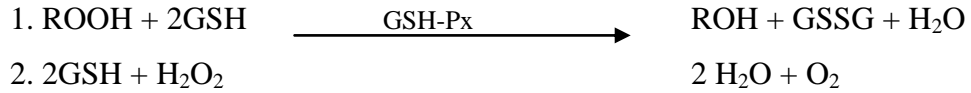
Etkilerine göre	
<ul style="list-style-type: none">• Koruyucu Antioksidan	Antioksidan enzimler: SOD (1, 2 ve 3), KAT, GSH-Px, DNA tamir enzimleri, ör, poli (ADP-riboz) polimeraz, Metal iyonları ile şelasyon yaparak etki edenler: Albumin, laktoferrin, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, hemopeksin, karotenoidler, SOD, KAT, GSH-Px, GSH redüktaz, ürik asit, polifenolik flavonoidler
<ul style="list-style-type: none">• Çöpçü (Temizleyici) Antioksidanlar	Askorbat (vitamin C), karotenoidler (retinol, vitamin A), ürik asit, α -tokoferol (vitamin E), polifenoller (flavenoidler), bilirubin, albumin, ubiquinon (azalmış form), azalmış glutatyon ve diğer tiyoller (serbest ya da protein bağlı)
Buldukları yere göre	
<ul style="list-style-type: none">• Intraselüler	SOD 1 ve 2, katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri, Ör: poli(ADP-riboz) polimeraz, diğerleri, azalmış glutatyon, ubiquinon (azalmış form)
<ul style="list-style-type: none">• Ekstraselüler	SOD 3, selenyum- GSH-Px, azalmış GSH, laktoferrin, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, askorbat, karotenoidler, ürik asit
<ul style="list-style-type: none">• Membran ilişkili	α -tokoferol

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), GSH-Px ve GSH genel olarak serbest radikal oluşumunu engellemeleri nedeniyle koruyucu antioksidanlar olarak değerlendirilirler (222). SOD, radikallere karşı hücreyi koruyan savunma mekanizmaları arasında ilk görevi üstlenen enzimdir. SOD enzimi ile katalizlenen tepkime sonucu oluşan ürünlerin birikmesi KAT enzimi tarafından bertaraf edilmektedir. Fizyolojik şartlarda metabolik olarak O_2^- nin oluşumu oldukça fazladır. SOD, O_2^- nin hücre içi konsantrasyonunu düşük düzeylerde tutarak O_2^- seviyesinin kontrolünü sağlar ve hücreleri O_2^- radikallerinin etkilerinden koruyarak LPO'yu da inhibe eder (223). KAT, okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2)'i suya dönüştürür. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda GSH-Px H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştırır. Aynı etkileri gösteren KAT ve GSH-Px enzimleri, hücre içi yerleşimleri ve etkileri bakımından farklılıklar

gösterirler. KAT enzimi peroksizomlarda daha etkin iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride etkindir (224).

2.4.2.1. GSH-Px

Glutatyon yolunun ilk enzimi olan GSH-Px, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Enzim aktivitesi, pentoz fosfat yolunda üretilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'a bağımlıdır (225).



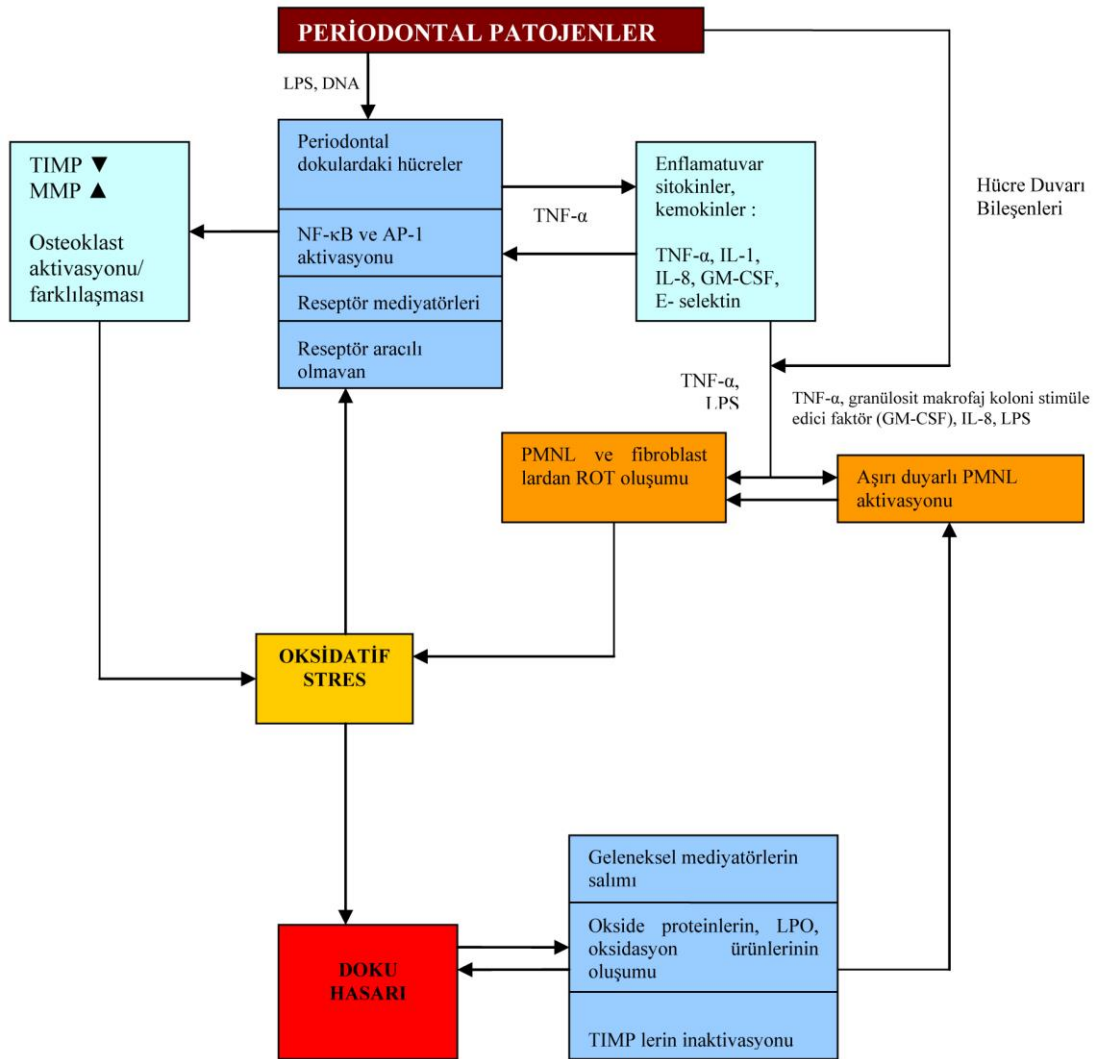
GSH-Px'in fagositik hücrelerde majör peroksit uzaklaştırıcısı olarak önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte, oksidatif yıkım sırasında serbest radikalini etkisiz hale getirerek fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GSH-Px oksidatif strese karşı eritrositlerde de en etkili antioksidandır. Ayrıca endoplazmik retikulumdan salınan H₂O₂'nin dekompozisyonunun primer sorumlusudur ve GSH-Px aktivitesindeki azalma, H₂O₂'nin artmasına neden olarak hücre hasarına yol açar (225). Ayrıca GSH-Px, araşidonik asit metabolizmasının temeli olan aktivasyonunu arttırarak, tümör oluşumunda rol oynar (225, 226). GSH-Px'in selenyum bağımlı ve selenyumdan bağımsız olmak üzere, farklı substratlar kullanan iki tipi vardır ve selenyumdan bağımsız formu H₂O₂'ye yönelik daha yüksek aktivite gösterir (225, 227).

2.4.2.2. GSH

Sistein içeren bir tripeptit olan GSH, sentezlenebilen ve ince bağırsaktan emilebilen enzimatik olmayan bir antioksidandır (228). Ökaryotik hücrelerde GSH'ın yaklaşık %90'ı sitozolde, %10'u mitokondride ve çok az bir kısmı da endoplazmik retikulumda bulunur (229). GSH peroksidazlar için substrat görevi yapar. C ve E vitaminleri üzerinde de koruyucu etkiye sahiptir (228). DNA sentezi ve hasarlı parçalarının onarılmasında etkin olan GSH, aminoasit transportunun, peroksit metabolizmasının, iskelet-kas bütünlüğünün ve birçok enzim aktivitesinin düzenlenmesinden sorumludur. GSH oksidasyonu, apoptozis sürecinin erken dönemdeki belirtisidir ve eksikliği hücre ölümüne yol açar. (228).

2.5. Periodontal Hastalıkta Oksidatif Durum

Periodontal hastalıkta subgingival plakta bulunan periodontopatojenler enflamatuvar değişikliklerin başlamasında asıl etyolojik ajanlardır. Bu bakterilerin endotoksin ve ekzotoksinleri gingival fibroblastlarda CD-14 ve toll like reseptör 4 aracılığıyla apoprotein-1 (AP-1), NF-κB ve enflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açarlar. Bakteriye hücre bileşenleri ve enflamatuvar sitokinler PMNL'leri aktive ederek ROT üretimini arttırlar. PMNL'lerden başka aktif makrofaj, nötrofil ve fibroblastlar da ROT artışına sebep olurlar (221) (Şekil 2).



Şekil 2. Periodontal hastalıkta oksidatif durum (221)

Periodontal dokuda OH^- , H_2O_2 ve O_2^- radikallerinin oluşumu, esas olarak nötrofil ve makrofajlardan kaynaklanır. O_2^- radikalının, osteoklastik aktivite ve

kemik rezorpsiyonuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. OH^- radikali, konak yanıtının zarar görmesine, DNA hasarında enzim oksidasyonuna (230), dejeneratif değişikliklere (17), vazodilatasyona, NF- κ B esaslı sinyal iletim yolları aracılığıyla IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TNF- β ve IFN gibi proenflamatuvar sitokin salımına ve kemik rezorpsiyonuyla ilişkili LPO'ya neden olur. Kontrolsüz LPO hücre bütünlüğüne ciddi hasar verebilecek oksidatif stresle sonuçlanır (218, 231). Periodontitiste konak cevabı, ROT ve aşırı proteolitik enzim üretimiyle ilişkili yüksek seviyede enflamasyonla karakterizedir (232). Oksidasyona bağlı olarak kollajende oluşan değişiklikler nötrofillerin dokular içerisine migrasyonunun gecikmesine neden olur. Bu durum dokuların ROT üretme potansiyelini artırır. Enflamasyonda LPO artışı ayrıca apoptotik mediyatörleri stimule eder, vasküler hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak da enflamasyona katkıda bulunur (215, 230, 233, 234). Periodontal hastalıkta LPO seviyesinin yüksek olması enflamasyonun şiddetli olduğunu göstermektedir. Ataşman kaybı, cep derinliği artışı, kanama ve süpürasyon gibi klinik enflamatuvar bulgular LPO artışına paralel olarak gözlenmektedir (215). Kemik rezorptif mediyatörleri olarak da bilinen PGE_2 , IL-1, IL-6, TNF- α , MMP ve NF- κ B gibi enflamatuvar belirteçlerin artması ile MDA arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (233, 235, 236). Periodontitiste MDA seviyesinin arttığını rapor eden çalışmaların yanısıra değişmediğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (17, 43, 215, 218, 237, 238).

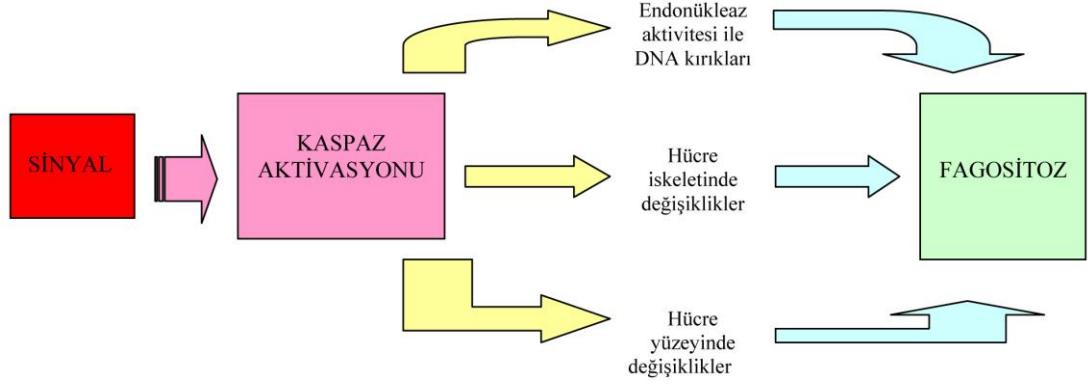
Periodontitis varlığında serum antioksidan seviyelerinin değerlendirildiği çalışmalarda serum, salya, dişeti ve DOS örneklerinde GSH-Px ve GSH gibi antioksidan enzim seviyelerinin arttığı, azaldığı ya da değişmediği rapor edilmiştir (17, 239-241). DOS ve plazmada GSH ve GSH-Px gibi antioksidanların periodontitisli bireylerde anlamlı seviyede düşük olması, periodontal bakterilere karşı gelişen konak cevabının indüklediği sistemik enflamasyona bağlı olabileceği belirtilmiştir (242). Periodontitisli bireylerde periodontal tedavi ile ROT seviyesinin azaldığı ve antioksidan enzim seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (215, 243, 244). Periodontal hastalığın şiddetindeki artışla serumdaki total antioksidan kapasite seviyeleri arasında zıt bir ilişki olduğu belirtilmiştir (242, 245, 246). Antioksidan konsantrasyonlarındaki artışın, periodontitis riskini göreceli olarak azalttığı ileri sürülmüştür (247).

2.6. Apoptozis

Apoptozis insan vücudundaki her hücrenin doğasında bulunan çok basamaklı ve yolaklı programlanmış hücre ölümüdür. Normal gelişim sırasında meydana geldiği gibi hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan patolojik durumlar ile ilişkili olarak da gerçekleşir (248). Hücrelerin belirli bir komuta göre hareket etmeleri apoptozisin nekrozdan ayrıldığı noktadır (249, 250). Hücre aldığı komutu yerine getirmek için bazı gen ürünleri (enzimler, proteinler) sentezleyerek gerekli fizyolojik düzenlemeleri gerçekleştirir. Bu genlerin bir kısmı apoptozisi indüklerken bir kısmı da inhibe eder (251-254). Kanama, hücre küçülmesi, çekirdeklerin parçalanması, kromatin sıklaşması ve kromozomal DNA parçalanması gibi biyokimyasal olaylar karakteristik hücre değişikliklerine ve ölümüne sebep olur. Yetişkin bir bireyde apoptozise bağlı olarak günlük 50-70 milyon arasında hücre ölümü oluşurken, 8-14 yaşlarında ki çocuklarda yaklaşık 20-30 milyon arasında hücre ölümü gerçekleşir (255).

Apoptozis ile ilgili araştırmalar 1990 yılından sonra artmıştır. Apoptozis embriyogenez, immün yanıtın oluşması ve enflamasyonun iyileşmesi gibi farklı durumların içerisinde bulunmaktadır. Aşırı apoptozis atrofiye, yetersiz apoptozis ise kanser gibi kontrolsüz hücre proliferasyonuna sebep olur. Apoptozis hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılabilmektedir. Ekstraselüler sinyaller, toksinler (256), hormon, büyüme faktörleri, NO (257) ve sitokinlerdir. İntraselüler sinyaller ise, nükleer reseptörler, glukokortikoid, ısı, radyasyon, yetersiz beslenme, viral enfeksiyon, hipoksi (258) ve artmış hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonudur (248). Apoptozisin basamakları aşağıda sıralanmıştır (Şekil 3):

- Apoptozisin başlatılması
- Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu
- Hücrede morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması
- Fagositoz



Şekil 3. Apoptozis basamakları (259)

2.6.1. Apoptozis Yolakları

2.6.1.1. TNF Yolağı

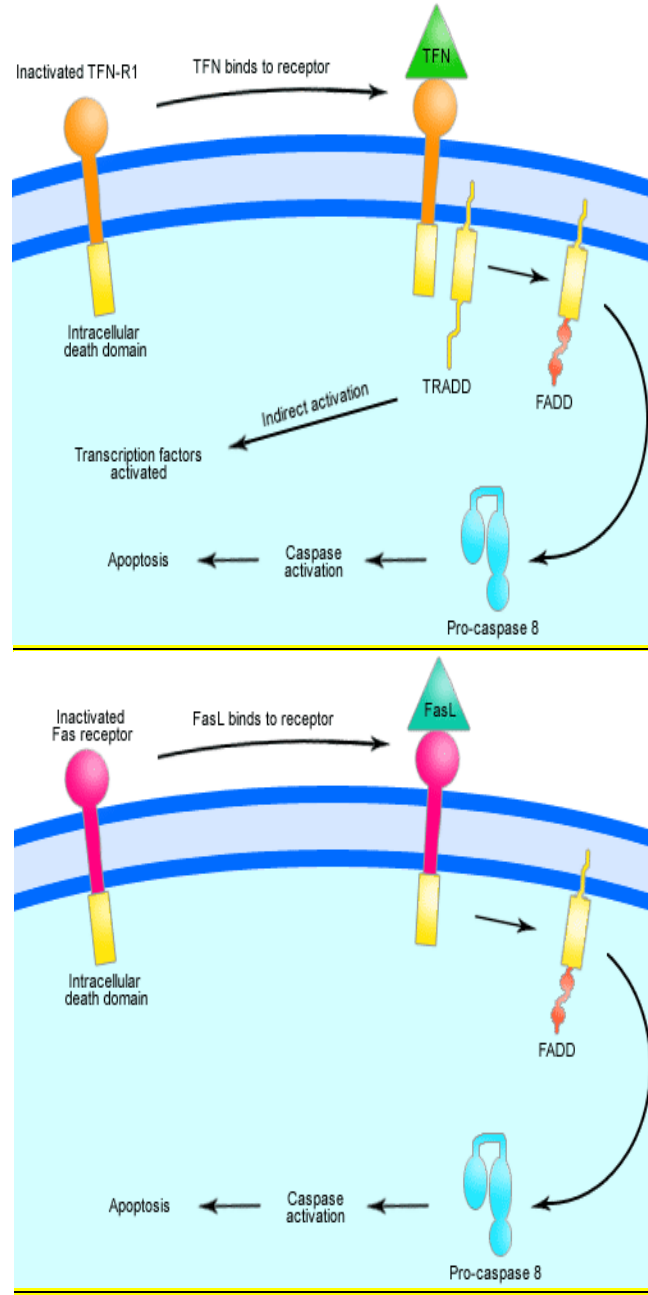
TNF apoptozisin major ekstrinsik mediyatörüdür (260). Hücredeki reseptörlerine bağlanması ile hücre yaşamını ve enflamatuvar yanıtı sağlayan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu indirek olarak yönetir (52). Özellikle otoimmün hastalıklarda anormal TNF üretimi önemli rol oynamaktadır (şekil 4).

2.6.1.2. Fas Yolağı

Fas reseptörü (AP-1 veya CD95), Fas ligandlarına (FasL) bağlanan TNF ailesine bağlı bir çeşit transmembran proteindir (261, 262). Mitokondriden proapoptotik faktörlerin salımını gerçekleştirir ve kaspaz 8 aktivasyonunu hızlandırır (261) (Şekil 4).

2.6.1.3. Kaspazlar

Kaspaz apoptotik sinyallerin transdüksiyonunda ana role sahiptir. Ayrıca kaspaza bağımlı olmayan apoptotik indükleyici faktör aracılığıyla gerçekleşen apoptotik yol da vardır (263, 264).



Şekil 4. Apoptoziste TNF ve Fas sinyal sistemi (260)

Apoptozisin inhibisyonu ile kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuvar hastalıklar ve viral enfeksiyonlarda artış gözlenir. Bu durum hücre proliferasyonunun artmasına bağlı olarak hücre akümülyasyonu ile ilişkilendirilebilir. Hastalığın tedavisi için apoptozisi düzenlemek amaçlanır. Ölüm sinyali ile ilişkili hastalıklar için tedavi metodu hastalıklı hücrelerde apoptozise yatkınlığın arttırılması ya da azaltılmasıdır. (265-267). Apoptozisi stimüle etmek için ölüm reseptör bağlantı sayısının arttırılması (TNF veya TRAIL gibi), anti-apoptotik protein olan Bcl-2 yollarının antagonize

edilmesi veya apoptozis inhibitörlerinin inhibe edilmesi gerekir. Viral enfeksiyonlar (AIDS), bakteriyel enfeksiyonlar (Neisseria kaynaklı menenjit), nörodejeneratif rahatsızlıklar (Alzheimer hastalığı), otoimmün hastalıklar (multiple skleroz), hematolojik rahatsızlıklar (miyelodisplastik sendrom), iskemik yaralanmalar (miyokard enfarktüsü) ve toksinle indüklenmiş hastalıklarda (alkolle ilişkili hepatit) apoptozisin arttığı görülür (268). Apoptozisin azaltılmasına yönelik tedavilerde proapoptotik faktörlerin varlığının inhibe edilmesi ve anti-apoptotik faktörlerin düzenlenmesi amaçlanır. Aktive NF- κ B, Bcl-2 gibi antiapoptotik genleri indüklenmesi apoptozis inhibisyonu ile sonuçlanacaktır (269).

2.6.2. Periodontal Hastalıkta Apoptozis

Bakteriyel ürünlerin apoptozisi indüklediği bilinmektedir (29, 31, 270). Periodontal hastalık varlığında apoptozis bakteriyel ve konak defans mekanizmaları ile regüle edilir. Kronik enfeksiyon varlığında PMNL apoptozisinin gecikmesi enfeksiyonun kısıtlanması açısından faydalı olabilir. Apoptozisin artması ise enfeksiyonun daha derin dokulara yayılmasını engelleyebilir. Ancak enfeksiyona karşı yanıtın uzun süre devam etmesi periodontal yıkımın daha da artmasına yol açacaktır. Periodontal hastalık varlığında enfeksiyona bağlı olarak epitel ve bağ doku hücrelerinde apoptozisin arttığı gözlenmiştir. *Agregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) keratinosit apoptozisini arttırırken, makrofaj apoptozisini azalttığı (272), *P.gingivalis*'in periodontal ligament fibroblastlarının apoptozisini arttırırken, PMNL'lerin apoptozisini geciktirdiği bildirilmiştir (273). Bir ajan bazı hücrelerde apoptozisin azalmasına sebep olurken bazı dokularda artmasına sebep olabilmektedir. *P. gingivalis* proteazının epitel, fibroblast ve endotel hücre kültürüne eksojen olarak ilavesinin apoptozisi desteklediği gözlenmiştir (274-280). Proteaz enzimleri nöral katherin ve integrinlerin yıkımına (280-283) ve dokulardaki hedef hücrelerin ayrılmasına sebep olurlar. *P.gingivalis* insan dişeti epitelinde mitokondriyal anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin indüksiyonuna sebep olur (284). *P. gingivalis* ile enfekte dişeti epiteli hücrelerinde anti- ve pro-apoptotik sinyal moleküllerinin aktivasyonunun aşamalı olarak regüle edildiği ortaya konmuştur (285).

Periodontal hastalıkta apoptozis birçok araştırmada değerlendirilmiştir (29, 31, 270, 286). Oksidatif stres alveolar kemik yıkımında rol oynayan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin, MMP'lerin ve NF- κ B'nin artmasına sebep olur ve apoptozisi indükler (32, 243, 287, 288). Periodontal dokularda apoptozise uğrayan hücrelerin çoğunluğu nötrofillerdir ve periodontal dokularda enflamasyonda meydana gelen doku yıkımının bir kısmından apoptozisin sorumlu olduğu ifade edilmektedir (32).

Enflamatuvar lezyonlardaki apoptozis inhibisyonu ya da indüksiyonu Fas-FasL sisteminde meydana gelen bir defekt ile ilişkili olabilir (289). Apoptozis inhibisyonu intraselüler yolaklarının düzenlenmesinde etkili olan ligand/reseptör faktörlerinin azalması ile de oluşabilir. TRAIL aracılı apoptozis, TRAIL ve ölüm reseptörü Fas-ilişkili ölüm bölgesi (FADD) aracılığı ile apoptotik sinyal sistemini oluşturur, kaspaz 8 aktivasyonunu ve diğer başlangıç kaspazlarını yönetir (290). Bu sinyal şekli farklı faktörler ve yolakların oluşturduğu kompleks bir yapıya sahiptir (291). Bununla birlikte apoptozis inhibitörü ailesi üyeleri anahtar kaspazları durdurur ve apoptozisi farklı yolaklarla inhibe edebilir. Apoptozis hücre yüzey reseptörlerine ligandların bağlanması ile indüklenebilir (Fas ligand-Fas, TNF/TNF reseptör, RANKL/RANK). Periodontitiste T ve B lenfositlerinde apoptozisin FasL varlığının ortadan kaldırılmasına bağlı olarak inhibe edildiği bildirilmiştir (289). Periodontal hastalıklarda fibroblastların apoptozisinde TNF ve reseptörü etkili olmaktadır (292). Bir başka çalışmada alveolar kemik kaybının osteoblastlarda TRAIL aracılı apoptozisin artışına bağlı olduğu ortaya çıkmıştır (293). Enflame periodontal dokulardaki lökositlerde apoptozis indüklenmesi yüksek oranda TRAIL bulunmasına bağlıdır. Enflamasyon ve periodontal hastalık sırasında, fibronektin fragmanlara ayrılır. Bu fragmanların bir kısmı periodontal ligament hücrelerinde MMP ve serin proteinaz ekspresyonunu artırırken diğer fragmanlar ise kaspaz proteazlar ve spesifik sinyal yolları ile regüle edilen bir mekanizma aracılığıyla apoptozisi indükler (294).

2.7. Periodontal Hastalıkta Konak Modülasyonu

1970'lere kadar periodontal hastalıkta tedavi stratejileri plak bakterilerini ve onların ürünlerine bağlı olarak ortaya çıkan doku yıkımını anlamaya yönelik

olmuştur. Bu mantık araştırmacıların hastalık patogenezi ve konak arasındaki ilişkiyi tespit etmesi ile değişmeye başlamış (295, 296) ve konak modülasyon tedavisi (KMT) adı altında yeni bir yaklaşım ortaya çıkmıştır.

KMT'nin amacı doku yıkımını azaltmak, stabilize etmek veya konak yanıtının yıkıcı etkisinin azaltılması ya da modifiye edilmesi ile periodonsiyumu rejenere etmek ve koruyucu yanıtın artırılmasını sağlamaktır (2, 297).

Periodontal tedavide konak modülasyonu amacıyla kullanılan ajanlar:

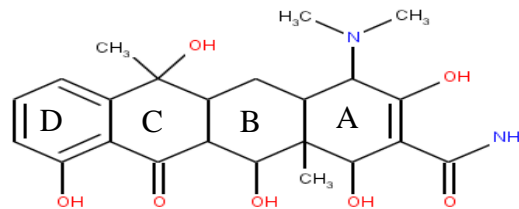
1. Antienflamatuvar ilaçlar (non steroidler)
2. Kemik uyarıcı ilaçlar (bisfosfanat gibi antiresorptif ilaçlar)
3. Antiproteinazlar (tetrasiklinler gibi)
4. Konak modülasyonu için yeni ajanlar (sitokin antagonistleri, KAFEE) (298, 299, 301, 304).
5. Kimyasal farmosötiklerden başka bitkisel ilaçlar da tercih edilmektedir (305-308).

2.8. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler ilk olarak 1948'de keşfedilmiştir. *Streptomyces aureofaciens* gibi bir toprak bakterilerinin doğal fermentasyon ürünleridir.

Kimyasal Yapısı

Tetrasiklin ve analoglarının bakteri ve memeliler üzerine etkili olan basit bir kimyasal yapısı vardır. Tetrasiklin karboksamid halkasal bir yapıya sahiptir (şekil 5).



Şekil 5. Tetrasiklinlerin kimyasal yapısı

Tetrasiklinin antibiyotik özelliği gösteren kısmı A halkasındaki karbon 4'teki (C4) dimetilamin grubudur. C4'ten dimetilamin grubunun uzaklaştırılması ile tetrasiklinin antibiyotik özelliği azalırken antibiyotik olmayan aktivitesinin arttığı

gözlenmiştir (183). Bu strateji baz alınarak modifiye edilmiş tetrasiklinler oluşturulmaya çalışılmıştır (309). Tetrasiklinin yapısını gösteren halkalar farklı kimyasal fonksiyonlarda rol alan, üst ve alt olmak üzere iki uç bölgeye ayrılır. Alt uç kısmının sentetik modifikasyonu ile hem antibiyotik hem antibiyotik olmayan özellikleri azaltılabilir. Üst uç kısmın modifiye edilmesi ile biyolojik özellikler artırılabilir (D halkasındaki C7 ile C9 arasındaki değişiklikler). Molekül üzerindeki çalışmalar sonucunda tetrasiklinin semisentetik bileşeni olan minosiklin ve doksisisiklin ortaya çıkmıştır (310).

Tetrasiklinler protein sentezinin geri dönüşümlü inhibisyonunu yapan bakteriyostatik ajanlardır. Tetrasiklinlerin bakteriyel sitoplazmik membranda değişikliklere sebep olduğu, çeşitli bileşenlerin ve nükleotidlerin sızıntılarını kolaylaştırdığı bilinmektedir (311). Tetrasiklin ailesinden olan doksisisiklin ve minosiklinin, tetrasiklin hidroklorüre (HCL) göre yağda çözünme özelliği daha fazladır. Bu özellik sayesinde bakteriyel hücre duvarının lipid tabakasından rahatlıkla geçerler. Hücrelerin içerisinde ribozomların 30S alt ünitelerine spesifik olarak bağlanırlar. Bu bağlantı aminoasil tRNA'nın mRNA ribozomlarının reseptör bölgesine bağlanmasını engeller. Tetrasiklin, minosiklin ve doksisisiklin Gram (-) fakültatif anaerobik mikroorganizmaları inhibe etmede çok etkilidirler (Ör: *Aa*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* ve *Capnocytophaga*) (312). Tetrasiklinlerin antibiyotik özelliklerinden başka etkileri de bulunmaktadır (183, 313).

Kollajenaz inhibisyonu (314): İnterstisyel kollajenaz proteinaz tipli bir enzimdir ve bağ dokuyu yıkar. Bu enzimler fibroblastlar, epitel hücreler, makrofajlar (MMP-1) ve nötrofillerden (MMP-8) kaynaklanır. Tetrasiklinler fibroblast tip kollajenaza karşı daha az, nötrofil kaynaklı kollajenazlara karşı ise daha fazla aktiftirler. Doksisisiklin kollajenaz inhibisyonunda en etkili olan tetrasiklin çeşididir. Antikollajenaz etki aynı zamanda ilacın Ca^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarına bağlanma kapasitesine de bağlıdır. Oksijen radikallerinin latent kollajenazı aktive ettiği bilinmektedir. Tetrasiklinler PMNL'ler tarafından üretilen ROT'a karşı da etki ederek latent kollajenazın oksidatif aktivasyonunu engellerler (ör, hipoklorik asit ve hidroksil grup) (315). Tetrasiklin ve tetrasiklin analogları kollajenaz ve gelatinazları inhibe edebilmektedir (309, 316, 317).

Anti-proteolitik özellik: Nötrofil kollajenazının inhibisyonu sonucunda diğer proteolitik olaylar da engellenmiş olur. Nötrofil kaynaklı kollajenaz ve ROT (ör, hidroklorik asit, H₂O₂ ve hidroksil radikalleri) α-1 proteinaz inhibitörünün etkisini azaltabilir ya da inaktif hale getirebilir (318).

Kemik rezorpsiyonunun azaltılması: Anti-kollajenaz ve anti-proteolitik aktivite kemik rezorpsiyonunun azaltılmasına yardımcı olur (319). Tetrasiklinler osteoblast kollajenazını inhibe etmelerinin yanısıra (320) fibroblast stimülasyonu ve osteoklast fonksiyonlarını azaltıcı özelliklerinin olduğu da belirlenmiştir (321, 322).

Antienflamatuvar özellik: Tetrasiklinlerin PMNL aktivitesini baskılaması potansiyel antienflamatuvar özellik olarak düşünülebilir. İlaç fosfolipaz A₂ aktivitesini inhibe ederek ökosanoid sentezini (özellikle PGE₂) bloke eder (317).

Fibroblast ataşmanın artırılması: Tetrasiklin ile tedavi dentine fibroblast ataşmanın ve kolonizasyonunu arttırmaktadır (323, 324).

Substantivite özelliği: Sub-inhibitör konsantrasyonları *P.gingivalis* ve *P.intermedia* gibi türlerin ko-agregasyonunu ve birbirlerine bağlanmalarını azaltır (325).

İyonofor özelliği: İyonoforlar metal katyonlar ile yağda çözünen lipidlerin oluşumunda etkilidir. Hidrofobik bariyerler karşısında (yapay ve biyolojik membranlar) bu katyonların taşınması bu bileşenlerin önemli görevlerinden birisidir. Tetrasiklin molekülü daha çok alt periferel bölge boyunca çift değerlikli metal katyonlarına bağlanır ve Ca⁺² ve Mg⁺² şelatları olarak dolaşıma katılır (310). Ca⁺² iyonoforlarının biyolojik olarak çok önemli özellikleri bulunmaktadır. Hücre içine girdikleri zaman Ca⁺² ikincil mesajcı olarak görev yapar ve sekretuvar oluşumlar, reseptör aktivasyonu veya inhibisyonu, hücre bölünmesi, metabolik reaksiyonlar gibi yolları etkiler (310).

Anjiogenezis inhibisyonu: Minosiklin ve doksisisiklinin tavşan kornealarında oluşturulan tümörlerde anjiogenezisi inhibe ettiği gözlenmiştir (326). Doksisisiklin düşük dozları endotel hücrelerinin migrasyonunu inhibe etmektedir. Bu inhibisyon protein ve mRNA seviyesinde olmaktadır (327). Tetrasiklinlerin anjiogenik etkileri ile yeni kan damarları oluşur ve enflamatuvar oluşumlar üzerine terapötik etkisi meydana gelir (örn: otoimmün hastalıklar, rosacea, kanser invazyonlar).

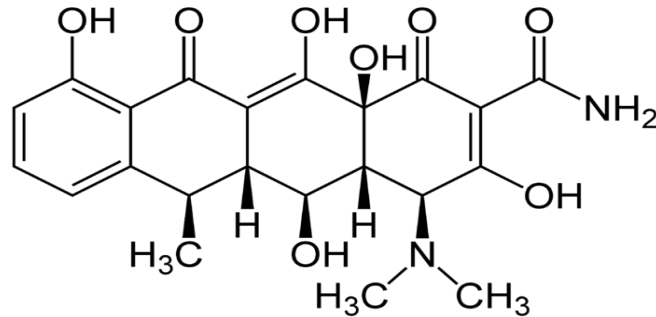
Antiapoptotik özelliği: Daha önce yapılan çalışmalarca tetrasiklinlerin antiapoptotik özelliklerinin olduğu kanıtlanmıştır (34, 328). Bu etkiyi antiapoptotik protein olan mitokondriyal Bcl-2'yi arttırarak gösterir.

Tablo 4. Tetrasiklinlerin yan etkileri ve toksisiteleri (329)

Kan Üre Nitrojen	Diüretik kullanan hastalarda veya başlangıçta yüksek kan üre nitrojen seviyesine sahip olan hastalarda kan üre nitrojen artışı gözlenir. Bu artışa bağlı olarak hastalarda mide bulantısı, kusma ve sekeller görülebilir.
Kemik	Gelişme geriliği gözlenir.
Gastrintestinal bölge	Tetrasiklin tedavisine bağlı olarak mantar enfeksiyonlarında artış meydana gelir. Vitamin K absorpsiyonunda değişiklikler oluşur. Buna bağlı olarak yetersiz protrombin formasyonu ve bazı kanama bozuklukları gözlenir.
Karaciğer	Hamilelikte tetrasiklin kullanımı sonucu letal hepatik toksisite gözlenir. Normal zamanlarda kullanımı sonucunda da renal disfonksiyon, şok ve sepsis görülebilir.
Böbrek	Hamilelikte alınması sonucu renal hastalıklar gözlenir. Azotemi, Fanconi Tip sendrom ve nefrojenik diyabetes inspidus tetrasiklin kullanımı ile alakalıdır.
Deri	Fotosensitivite, kızarıklık, onkoliz gözlenir.
Diş	Hamileliğin ilk ve son üç ayda alındığında dişlerde renklenmeler gözlenir.
Teratogenezis	Teratojenik etkisi olması sonucunda hastaların el ve bacaklarında malformasyonlar gözlenir.

2.8.1. Doksisisiklin

Tetrasiklin grubu içerisinde en güçlü antikollajenolitik özelliği olan doksisisiklinin protein bağlama kapasitesi oldukça yüksektir (330). Doksisisiklinin moleküler yapısı $C_{22}H_{24}N_2O_8$ 'dir (Şekil 6). Yarılanma ömrü 18-22 saattir (330) ve tetrasiklinin antibiyotik ve antibiyotik olmayan özelliklerine sahiptir(183, 313).



Şekil 6. Doksisisiklinin kimyasal yapısı.

Periodontitis (331) ve romatoid artrit (332) gibi kronik hastalıkların tedavisi amacıyla DDD kullanılmaktadır. Meta analiz çalışmalara göre kronik periodontitis tedavisinde DDD kullanımının olumlu etkileri bildirilmiştir (296). DDD'nin herhangi bir yan etkisinin olmadığı ileri sürülmüştür (333, 334). Bakteriostatik bir ajan olan doksisiklinin düşük dozlarında antimikrobiyal etkisi bulunmadığı için bakteriyel direnç gelişmez (317, 335). Periodontal tedaviye ek olarak kullanılan DDD'nin uzun dönemli ve farklı dozlarda kullanılmasıyla mikrobiyolojik olarak subgingival türlerde farklılıklar olmadığı ya da antibiyotiğe karşı direnç gelişmediği rapor edilmiştir (184, 333).

Doksisiklinin iyi bir serbest radikal temizleyicisi olduğu ve periodontal doku kayıplarında kemik oluşumunu tetiklediği rapor edilmiştir. DDD tedavisinden sonra LPO seviyelerinin azaldığı ve GSH, GSH-Px gibi antioksidan enzim seviyelerinin arttığı gözlenmektedir (43, 336). DDD, ROT ürünlerini azalttığı gibi reaktif nitrojen ürünlerini de azaltmaktadır (337). Doksisiklin periodontal dokularda, proenflamatuvar sitokinlerin [IL-1, IL-6 ve TNF- α ve MMP'lerin (MMP-1, MMP-8)] salımını azaltarak epitel, bağ doku ve alveolar kemik yıkımının yavaşlatılmasına yardımcı olur (338). Kollajen üretimini, osteoblast aktivitesini, kemik formasyonunu ve izole osteoklastlarda apoptozisini artırır (184, 339, 340). Doksisiklin farklı mekanizmalarla MMP'leri azaltır (183):

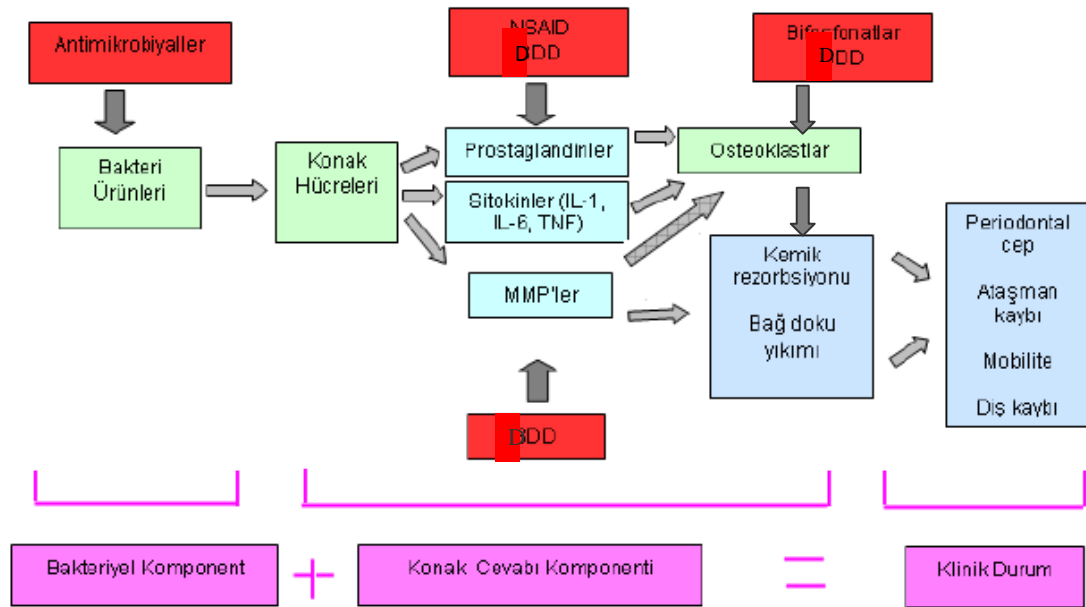
- 1) Birleşim epitelinde: MMP'nin hücrel ekspresyonunun ve sentezinin inhibe edilmesi ile epitel kaynaklı üretiminin inhibisyonu yapılır.
- 2) Bağ dokuda:
 - MMP'nin katyon şelasyonu ile direk inhibisyonu yapılır.
 - Latent MMP'nin oksidatif aktivasyonunun inhibisyonu yapılır.
 - IL-1, IL-6, TNF- α ve PGE₂ gibi anahtar enflamatuvar sitokinlerin azaltılması sağlanır.
 - PMN ile ROT üretiminin inhibisyonu (ör: HOCl, latent MMP'yi aktive eder) gerçekleştirilir.
 - MMP ve ROT inhibisyonu, α 1 proteinaz inhibitörünü korur ve doku proteinaz aktivitesi indirek olarak geriler.

- Fibroblast kollajen üretiminin stimülasyonu yapılır

3) Alveolar kemikte:

- Osteoklast aktivitesini ve kemik rezorpsiyonunu geriletir (özellikle IL-10 seviyesinin artmasını sağlayarak osteoklastogenezisi azaltır).
- Osteoklastik MMP'yi bloke eder.
- Osteoblast aktivitesini ve kemik formasyonunu stimule eder.

Son yıllarda KMT'de DDD ile birlikte başka ajanların uygulamaları da yapılmaktadır. DDD'nin bifosfonatlar ile birlikte kullanılmasının ratlarda kemik rezorpsiyonunu (58) ve enflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek alveoler kemik yıkımını daha fazla engellediği bildirilmiştir (59-63). DDD ile nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların kombine kullanımı ile MMP ve nötral proteinazların baskılanması periodontal tedavi etkinliğini arttırmıştır (64) (Şekil 7).



Şekil 7. DDD'nin etki mekanizması (341)

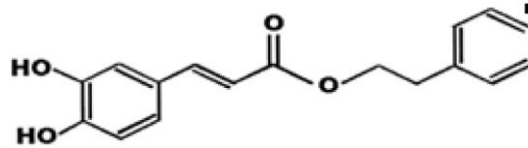
2.9. Propolis

Propolis, arıların kovanlarını onarmada ve dezenfeksiyonunda kullandıkları ve çeşitli bitkilerin özütlerinden yaptıkları reçinemi bir maddedir (55). Halk arasında ve alternatif tıpta pekçok hastalığın tedavisinde kullanılan propolis, 1950'li yıllardan bu yana bilim dünyasında ilgi çekmektedir. Kaynağı incelendiğinde

300'den fazla doğal bileşik içerir. Asıl etken maddesi flavonoidlerdir. Mg^{+2} , Ca^{+2} , I^- , K^+ , Na^+ , $Cu^{+1,2}$, Zn^{+2} , $Mn^{+2,3}$ ve $Fe^{+2,3}$ gibi mineraller ile B₁, B₂, B₆, C ve E vitaminlerini de içerir. Genel olarak kimyasal yapısında aminoasitler, fenolik asitler, fenolik asit esterler, sinamik asit, kumarik flavonoidler asit, terpenler, hesperatin, nikotinik asit, kafeik asit ve KAFEE bulunur (56).

2.9.1. KAFEE

İki halkasal yapıya sahip olan KAFEE'nin formülü $C_{17}H_{16}O_4$ 'dur (Şekil 8) (342). Bu halkasal yapılardan bir tanesi fonksiyonel iki OH grubu taşır. OH gruplarının aktif elektron alışverişi moleküle oksitleyici ve redükleyici özellik kazandırır. Aromatik ve alifatik yapıda çok uzun karbon grupları taşıması nedeni ile lipofilik özelliğe sahip olması hücre membranından kolayca geçmesini sağlar (61). KAFEE, ornitin karboksilaz, 5-redüktaz, proteaz, COX, lipooksijenaz, HIV-1 integras gibi enzimlerin potansiyel inhibitörüdür (48). NF- κ B'nin aktive olmasını özgül ve güçlü bir şekilde engeller (343). Ayrıca antioksidan, antienflamatuvar, antiviral, immünoestimülatör, sitostatik, nöroprotektif, hepatotoksiteden koruyucu ve antiproliferatif etkileri de gösterilmiştir (344, 345). KAFEE, tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermektedir (346). Ultraviyole B ve C radyasyonuna maruz kaldığında deri hücrelerini koruduğu, papilloma sayısını belirgin derecede azalttığı gösterilmiştir. Oral ya da subkutan uygulaması belirgin şekilde karaciğer metastazını azaltır (347).



Şekil 8. KAFEE'nin moleküler yapısı.

KAFEE'nin farklı birçok özelliği bulunmaktadır:

Antioksidan özellik: Bu molekülün genellikle 10 μ mol/L konsantrasyonda invitro koşullarda nötrofillerde ve ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi tarafından meydana getirilen ROT'ları (süperoksit anyonu, H_2O_2 , OH^- ve NO) bloke ettiği gösterilmiştir (48). Ayrıca linoleik asit ve araşidonik asitin 5'-lipooksijenaz enzimi tarafından oluşturulan oksijenasyonu inhibe eder (344, 345). KAFEE'nin

LPO'yu baskılayarak antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği belirtilmiştir (48). Ratların akciğerlerinde oksidatif hasarın oluşturduğu zararlı etkinin KAFEE ile iyileştirildiği rapor edilmiştir (348). Oktar ve ark., (349) ratlarda isoproteronelle (ISO) indüklenmiş miyokard infarktüsünde KAFEE'nin oluşan hasarı önlemedeki etkinliğini araştırmışlar ve KAFEE tedavisinin nötrofil miyeloperoksidaz (MPO) akvitesini inhibe ederek MPO ve LPO aracılı miyokardiyal hasarı önlediğini bildirmişlerdir. Vardi ve ark., (350) ratlarda deneysel gentamisin nefrotoksisitesinde KAFEE kullanımının LPO'ya bağlı serbest oksijen radikali üretiminin inhibisyonunda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Antiapoptotik özellik: COX'lar ve diğer son ürünler apoptozisi inhibe ederek hasar görmüş DNA içeren hücrelerin yaşama süresini uzatırlar (351). KAFEE COX'u inhibe ederek apoptozisi ve immün dengeyi arttırabilir (352). KAFEE COX-2 indüksiyonunu baskılamakla, protein kinaz C aktivitesini ve NF-κB aktivasyonunu inhibe etmektedir (343). KAFEE'nin glukokortikoid reseptörlerinden bağımsız olarak enflamatuvar hücrelerde apoptozisi önlediği de rapor edilmiştir (45). KAFEE'nin dönüşüme uğramış hücrelerde "redox" tepkimesini değiştirerek apoptozisi indüklediği öne sürülmektedir (353). Ayrıca in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda KAFEE'nin transforme olmuş hücrelerde sitotoksik özellikleri olduğu fakat normal hücrelerin büyümesini değiştirmedeği belirlenmiştir (354, 355).

Antienflamatuvar özellik: PG'ler enflamasyon mediyatörleridir ve kronik enflamasyon malignite riskini arttırlar (356). İmmün dengeyi bozar ve malign hücreleri öldürürler (351). PG sentezi fosfolipaz ve COX'ların aktivitesine bağlıdır. (357, 358). Fosfolipaz A₂ inhibitörleri veya PG üretimi için uygun olan araşidonik asit miktarının sınırlandırılması PG sentezinin inhibe edilmesini sağlayan farklı stratejilerdendir (359-361). KAFEE diğer propolis bileşenlerine göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antienflamatuvar etkisi daha belirgindir (344). KAFEE'nin antienflamatuvar etkinliği yapılan çalışmalarda diklofenak ve hidrokortizon ile eşdeğer bulunmuştur (45). IL-1β, IL-6, TNF-α'yı inhibe ederek akut ve kronik ödem azalttığı belirlenmiştir (362, 363). Enfeksiyon varlığında enflamatuvar sitokinlerin artması ile NF-κB, PGE₂ ve adezyon molekülleri de artış göstermiş ve KAFEE uygulamasıyla bu değerlerin hepsinde düşüş gözlenmiştir (364).

Propolisin bileşimindeki yapılar sayesinde periodontal tedavi başarısını arttırdığı bildirilmiştir (365). Coutinho ve ark., (366) periodontal tedaviye ek olarak kullanılan propolisli ağız gargarasının tedaviye yarar sağladığını bildirmişlerdir. Deneysel periodontitiste propolis kullanımı ile alveolar kemik kaybının azaldığı rapor edilmiştir (57). Kronik periodontitisli hastalarda kök yüzeyi düzleştirmesine ek olarak subgingival propolis uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik parametrelerde düzelmeye sağladığı ve bu düzelmelerin KAFEE'nin antiinflamatuvar etkisine bağlı olduğu rapor edilmiştir (367). Günay ve ark., (368) ratlarda yaptıkları bir çalışmada KAFEE'nin diş çekim soketlerine ve palatinal mukoza defektlerine etkisini değerlendirerek KAFEE 10 µmol/kg/gün dozunda 7, 14 ve 30 gün boyunca uygulanmış ve KAFEE'nin her grupta fibröz ve kemik dokuda iyileştirici etkisinin olduğunu saptamışlardır. KAFEE'nin osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu azalttığı rapor edilmiştir (369). Uçan ve ark., (56) ratların kafataslarında oluşturdukları kemik defektlerinde KAFEE'nin kemik yapımını arttırdığını tespit etmişlerdir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Üretimi ve Araştırma Laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvar'ında gerçekleştirildi. Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan onay (Protokol no: 2012-26-09) alınarak yapılan çalışmamız, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 3243-D1-12 proje numarası ile desteklendi.

3.1. Deneysel Hayvanlar

Çalışmamızda kullanılmak üzere ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen, Wistar albino, genç erişkin, daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış ve sistemik olarak herhangi bir hastalığı bulunmayan 48 adet erkek rat seçildi. Tüm hayvanlar aynı şartlarda [standart nem (%50-60), ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık-sabah 7.00 ve 19.00), ısı (25° C)], ad libitum rat yemi (Korkuteli Rat Yemi, Antalya) ve su ile beslendi. Deneye başlamadan önce ve deney periyodu boyunca her hafta ratların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Laboratuvar çalışmalarında hayvan bakımı ve kullanımını için uluslararası etik kurallara uyuldu.

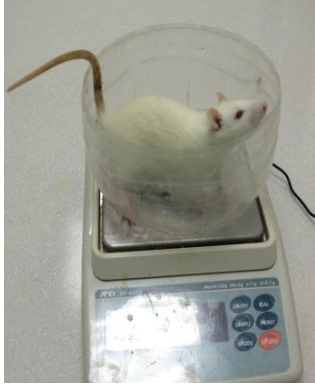
3.2. Çalışma Grupları

Ratlar rastgele 5 gruba ayrıldı:

- Kontrol (K): Periodontal açıdan sağlıklı grup (n=8).
- Periodontitis (P): Deneysel periodontitis grubu (n=10).
- Periodontitis+KAFEE (P_K): Deneysel periodontitis+KAFEE uygulaması yapılan grup (n=10).
- Periodontitis+DDD (P_D): Deneysel periodontitis+DDD uygulaması yapılan grup (n=10).
- Periodontitis+KAFEE+DDD (P_{KD}): Deneysel periodontitis+KAFEE+DDD uygulaması yapılan grup (n=10).

3.3. Deneysel Periodontitis Modeli

Deneysel periodontitis oluşturmak için 25 mg/kg ketamin hidroklorid ve 50 mg/kg xylazine i.p. yolla genel anestezi sağlandı (370). Periodontal sond (Williams periodontal sond, Hu-Friedy, Chicago, IL) ile cep derinliği ölçümü yapılarak periodontal sağlık açısından değerlendirildi (371). 3.0 ipek ligatür üst çene ikinci molar dişlerinin kole kısımlarına yerleştirildi (372). 14 günlük periodontitis indükleme periyodu sonunda yapılan klinik değerlendirmede cep derinliğinin 0,5 mm ve üstü olduğu bölgelerde periodontitisin indüklendiği kabul edildi (371) (Resim 1, 2, 3, 4a, 4b, 4c).



Resim 1. Ağırlıkların ölçümü



Resim 2. Anesteziğin hazırlanması



Resim 3. Düzeneğin hazırlanması



Resim 4a

Resim 4b

Resim 4c

Resim 4. Ligatürlerin yerleştirilmesi

3.4. İlaç Uygulaması

3.4.1. KAFEE Uygulaması

KAFEE, %10'luk etanol içerisinde çözüldü ve -20°C'de saklandı. Uygulama günü %0,09'luk serum fizyolojik ile seyreltildi. Her gün 10 µmol/kg dozunda deney boyunca i.p. enjeksiyonla uygulandı (354, 373). Enjeksiyonlarda 0,30x13 mm'lik iğneye sahip insülin enjektörleri kullanıldı (Resim 5).



Resim 5. KAFEE uygulaması

3.4.2. DDD'nin Uygulaması

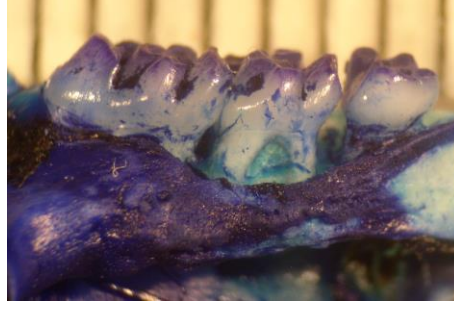
DDD, deney boyunca her gün 10 mg/kg oral gavaj (o.g.) yoluyla verildi (374) (Resim 6).



Resim 6. DDD uygulaması

3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Ratlarda 15. günde genel anestezi altında periodontal cep derinliği ölçümü yapıldı (375) ve ratların kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi (Şekil 10). Sakrifikasyonu takiben maksilla diseke edilerek çevre kaslar ve yumuşak dokular uzaklaştırıldı. Her bir ratın maksillası santral dişlerin arasından orta hattı takip edecek şekilde ikiye ayrıldı. Apoptosis değerlendirmesi için sağ maksiller yarılarda 2. molar dişlerin çevresinde yer alan dişeti dokuları toplandı ve laboratuvar çalışmasına kadar -80°C 'de saklandı. Maksilla örnekleri 24 saat boyunca % 3'lük H_2O_2 'de bekletildi. Histomorfometrik inceleme sağ maksiller yarılarda yapıldı. Dişlerin mine-sement sınırını (MSS) belirlemek için %1'lik metilen mavisi ile 1 dakika boyunca boyandı (Resim 7). Alveolar kemik seviyesinin değerlendirilmesi stereomikroskop (40X) altında MSS ve alveolar kret tepesi (AKT) arasındaki mesafenin bukkal alanda üç noktada ölçümünün ortalaması alınarak hesaplandı (376). Ölçümler dijital fotoğraf makinesi ile kayıt altına alındı ve bilgisayar ortamında Image J (National Institutes of Health in USA) adlı program ile standardize olarak değerlendirildi.

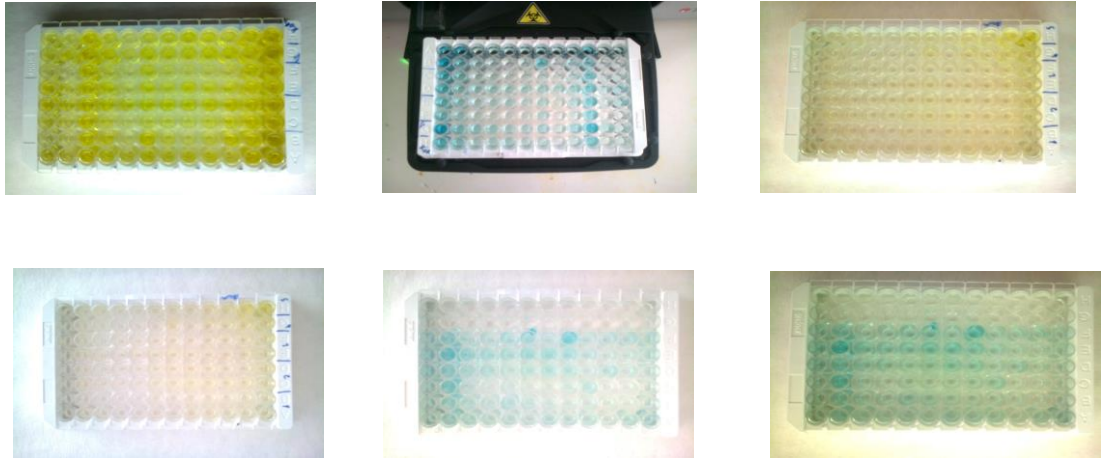


Resim 7. MSS'nin ve AKT'nin görünümü

3.6. Biyokimyasal Analizler

3.7. Serum Sitokin Seviyelerinin Belirlenmesi

Alınan kan örnekleri 1500 rpm'de +4°C'de 10 dk boyunca santrifüj edilerek serumlarına ayrıldı. Eppendorf tüplerine alınan serum örnekleri analiz gününe kadar -20°C'de saklandı. IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , MMP-1 ve MMP-8 seviyeleri ticari enzim bağımlı immünoabsorbent assay (ELISA) kitleri ile değerlendirildi (Resim 8).



Resim 8. ELISA

3.8. Serum Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi

3.8.1. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi

Serumda LPO seviyelerinin belirlenmesi, Placer ve ark., (377) yöntemi kullanılarak TBARS reaksiyonu ile spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) yapıldı. TBARS miktarı 1,1,3,3 tetrametoksipropan hidrolizi ile katalize edilen MDA'ya eşdeğer standartların absorpsiyonu ile karşılaştırılarak tanımlandı.

3.8.2. GSH Seviyelerinin Belirlenmesi

GSH seviyeleri Sedlak ve Lindsay'in bildirdikleri yonteme göre belirlendi (378). 0,1 ml hücre homojenatı 0,4 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA) solüsyonu ile karıştırıldı. 20 saniye boyunca vortekslendi ve 3000 rpm de 5 dk santrifüj edildi. 0,1 ml süpernatant temiz bir tp içine alındı. zerine 0,9 ml distile su, 2 ml Tris tamponu (Tris (2) tampon 0,4 M pH: 8,9) ve 0,1 ml DTNB (5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoic Acid) solüsyonu eklendi. Oluşan sarı renk distile suya karşı spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okundu.

3.8.3. GSH-Px Seviyelerinin Belirlenmesi

GSH-Px enzim aktiviteleri Lawrence ve Burk tarafından bildirilen yonteme göre belirlendi (379). 0.5 ml'lik serum örneğine önce 0.3 ml'lik Tris HCL tamponu (Tris (1) HCl tampon solüsyonu (50 mM) pH:7,6) daha sonra CHPO (cumene-hydroperoxide) solüsyonu ilave edildi. 5 saniye ara ile tüplere 0.1 ml'lik GSH solüsyonu konuldu. Oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra yine 5 saniye ara ile tüplere %10'luk TCA solüsyonu konuldu ve 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. stte kalan süpernatant başka bir tüpe alındı. zerine 2 ml Tris tamponu ve 0.1 ml'lik DTNB eklendi. Oda ısısında 5 dakika beklendi. Saf suya karşı spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okundu.

Çalışmamızda MDA, GSH ve GSH-Px değerlendirmeleri için protein tayini deneyleri Lowry ve ark., (380) tanımladığı yonteme göre yapıldı.

3.9. Apoptozis Seviyelerinin Belirlenmesi

Apoptozis değerlendirmesi için APOPercentage kiti (Biocolor) kullanıldı. Renk değişikliğine göre apoptozis durumu değerlendirildi. Hücre zarında apoptotik olarak bir asimetri oluşmuşsa, APOPercentage boyası hücre içerisine girer ve apoptotik hücre kırmızıya boyanır. APOPercentage kiti prosedürünün uygulanmasından sonra apoptozis seviyeleri spektrofotometrik olarak 530 nm dalga boyunda değerlendirildi.

3.10. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

1. Derin dondurucu (Sanyo, Japan)
2. Soğutmalı santrifüj (Kyoto, Japan)
3. Hassas terazi (Shimadzu AX200, Japonya)
4. UV spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japonya)
5. Vorteks (Nüve NM 100, Türkiye)
6. Otomatik Kuyucuk Okuyucu (Tecan, Infinite 200, Avusturya)
7. Otomatik pipetler (Eppendorf Research 10-100-1000-5000, Almanya)
8. Su banyosu (Termal Laboratuvar aletleri 820-3, Türkiye)
9. Cam Homojenizatör (Çalışkan, Ankara, Turkey)
10. Stereomikroskop (SZ-PT STU1, Olympus C3040-ADL, Japan)

3.11. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. İndirgenmiş Glutasyon (Santa Cruz, USA)
2. Glutasyon (GSH) – (Sigma Aldrich, Almanya)
3. Cumene Hydroperoxide (Merck, Almanya)
4. Folin Ciocalteu (AppliChem, İspanya)
5. %10 Trichoroaceticacid TRIS-HCl (Sigma Aldrich, Almanya)
6. 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid) DTNB, (Sigma Aldrich, Almanya)
7. TRIS-Buffer (AppliChem, İspanya)
8. Folin Ciocalteu Phenol (Sigma Aldrich, Almanya)
9. Sodyum Karbonat (Merck, Almanya)
10. Potasyum Tartarat (Merck, Almanya)
11. Sodyum Hidroksit (Merck, Almanya)
12. Apopercantage Apoptosis Kiti (Biocolor, İngiltere)

13. Collagenase Type IV-Worthington (İngiltere)
14. RPMI Medium (Sigma Aldrich, Almanya)
15. Doxycycline (Sigma, Almanya)
16. IL-1 (eBioscience, Avusturya)
17. IL-6 (eBioscience, Avusturya)
18. IL-10 (eBioscience, Avusturya)
19. MMP-1 (eBioscience, Avusturya)
20. MMP-8 (eBioscience, Avusturya)
21. TNF- α (eBioscience, Avusturya)
22. Caffeic acid phenethyl ester (KAFEE), (Sigma Aldrich, Almanya)
23. Hidrojen peroksit %30 (Fluka, Almanya)
24. Ketamin HCl (İTERHAS AŞ, Türkiye)
25. Ksilazin (Alfasan, Türkiye)

3.12. İstatistiksel Analizler

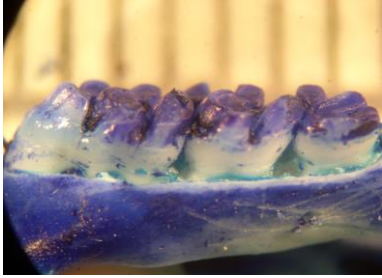
Gruplar arasındaki anlamlılık seviyesinin değerlendirilmesi için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar için gruplar arasındaki ortalamaların anlamlılık seviyelerini tanımlamada Tukey testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon katsayı testi ile belirlendi. SPSS 17.0 programı ile bütün istatistiksel analizler için önem derecesi $p < 0,05$ olarak dikkate alındı.

4. BULGULAR

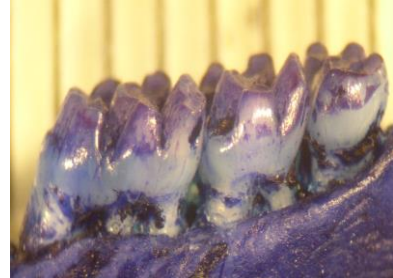
Genel anestezi uygulaması, deneysel periodontitis oluşturulması ve o.g./i.p. uygulamaları sırasında ve sonrasında herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Deney sonunda periodontitis gruplarındaki tüm ratlarda maksiller 2. molar dişler çevresinde plak birikiminde artış ve dişetinde ödem ile birlikte periodontitis olduğu görüldü.

4.1. Histomorfometrik Bulgular / Alveoler Kemik Kaybı

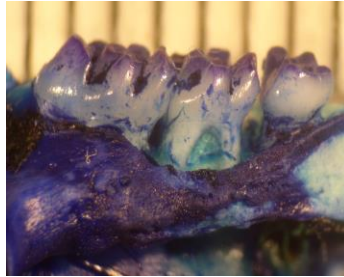
Gruplara ait histomorfometrik ölçüm değerleri Tablo 6 ve Grafik 1’de görülmektedir. K grubu (Resim 9a) dışındaki bütün gruplarda tüm ratlarda alveoler kemik kaybı gözlemlendi. En fazla alveoler kemik kaybı P grubunda gözlenirken ($p<0,001$) (Resim 9e), P grubunu sırasıyla P_D (Resim 9c), P_{KD} (Resim 9d) ve P_K (Resim 9b) grupları takip etti. P_K grubunun K grubu ile ($p<0,05$), P_D grubunun K ($p<0,001$) ve P_K ($p<0,05$) grubu ile P_{KD} grubunun K ve P_K grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları vardı ($p<0,05$).



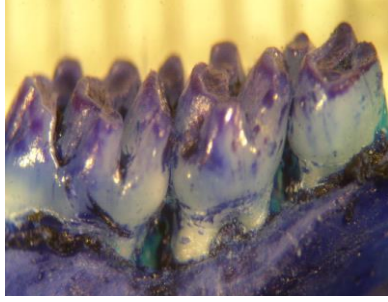
Resim 9a. K grubu



Resim 9b. P_K grubu



Resim 9c. P_D grubu



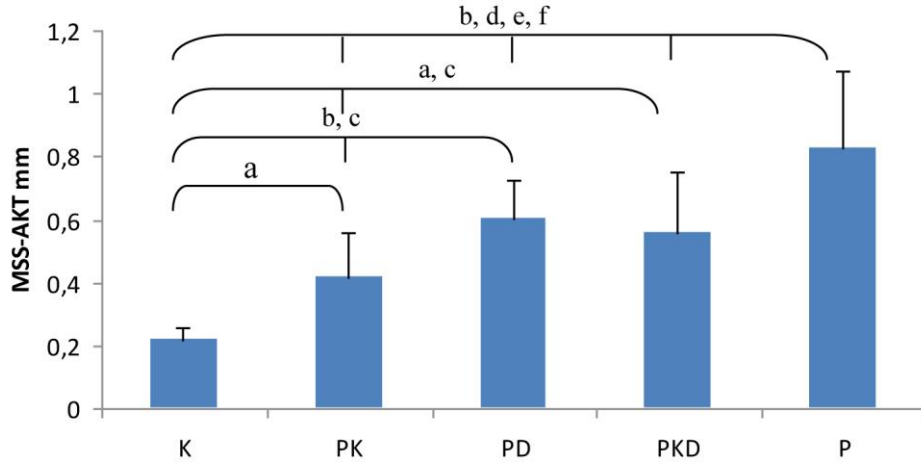
Resim 9d. P_{KD} grubu



Resim 9e. P grubu

Tablo 5. Ölçüm sonuçları

	K	P_K	P_D	P_{KD}	P
MSS-AKT- mm	0,232 (0,146 – 0,26)	0,445 (0,237 – 0,629) a	0,651 (0,422 – 0,784) b,c	0,508 (0,276 – 0,871) a,c	0,892 (0,403 – 1,18) b,d,e,f
\bar{X} -ss	0,218±0,040	0,419±0,141	0,602±0,122	0,560±0,189	0,828±0,242



Grafik 1. Gruplardaki MSS-AKT değerleri

a p<0,05 vs K, b p<0,001 vs K, c p<0,05 vs P_K, d p<0,001 vs P_K, e p<0,001 vs P_D
f p<0,001 vs P_{KD} \bar{X} : Ortalama ss: Standart sapma

4.2. Sitokin ve Enzim Seviyeleri

Gruplara ait serum sitokin ve enzim (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , MMP-1 ve MMP-8) değerleri Tablo 7’de ve seviyeleri Grafik 2’de sunuldu.

Tablo 6. Sitokin ve enzim değerleri.

Parametreler	K	P _K	P _D	P _{KD}	P
IL-1β (pg/ml)	16,447	12,117	27,114	23,457	88,674 (71,354
Median (min.-max.)	(12,457 – 18,254)	(10,347 – 14,782) a	(25,23 – 28,354)b,c	(25,167 – 20,15)b,c,d	– 101,26)b,c,d,e
\bar{X} -ss	16,245 \pm 0,92	12,248 \pm 2,28	28,112 \pm 3,49	25,487 \pm 2,28	93,231 \pm 1,83
IL-6 (pg/ml)	1,874	1,818 (1,745	3,463 (3,217	3,187 (3,012 –	8,549 (7,889 –
(min.-max.)	(1,543 – 2,013)	– 2,121)	– 3,745)b,c	3,574)b,c,f	8,957)b,c,d,e
\bar{X} -ss	1,965 \pm 0,24	1,988 \pm 0,32	3,791 \pm 0,41	3,286 \pm 0,22	8,8631 \pm 0,75
IL-10 (pg/ml)	2,37 (1,97	3,36 (3,103 –	5,164 (4,876	11,324	15,247 (14,658
(min.-max.)	– 2,89)	3,847)a	– 5,937)b,c	(10,568 – 12,024)b,c,d	– 17,364)b,c,d,e
\bar{X} -ss	2,245 \pm 0,84	3,578 \pm 0,73	5,745 \pm 0,88	11,457 \pm 0,58	15,742 \pm 1,78
MMP-1(ng/mg)	1,143	1,487 (1,312	7,122 (6,564	7,568 (6,485 –	20,458 (18,515
(min.-max.)	(0,867 – 1,354)	– 1,958)	– 7,583)b,c	8,259)b,c	– 23,17)b,c,d,e
\bar{X} -ss	1,245 \pm 0,68	1,637 \pm 0,93	7,312 \pm 0,88	7,965 \pm 0,49	21,593 \pm 0,876
MMP-8(ng/mg)	4,44 (3,786	3,713 (3,249	9, 117 (8,874	7,023 (6,786 –	16,489 (14,223
(min.-max.)	– 4,962)	– 4,286)	– 9,543)b,c	7,354)b,c,d	– 17,658)b,c,d,e
\bar{X} -ss	4,536 \pm 0,47	3,988 \pm 0,44	9,649 \pm 0,39	7,134 \pm 0,57	17,574 \pm 0,83
TNF-α (pg/ml)	3,445	3,248 (2,982	6,312 (5,874	3,986 (3,458 –	16,785 (15,482
(min.-max.)	(3,121 – 3,687)	– 4,254)	– 7,028)b,c	4,578)d	– 18,965)b,c,d,e
\bar{X} -ss	3,536 \pm 0,47	3,988 \pm 0,44	6,649 \pm 0,39	4,134 \pm 0,57	17,574 \pm 0,83

a p<0,005vs K

d p<0,001vs P_D

\bar{X} : Ortalama

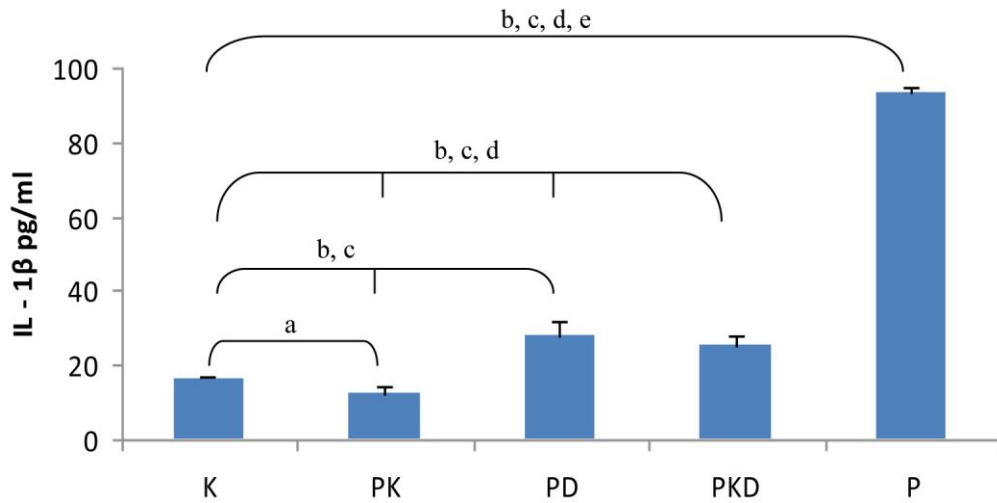
b p<0,001 vs K

e p <0.001 vs P_{KD}

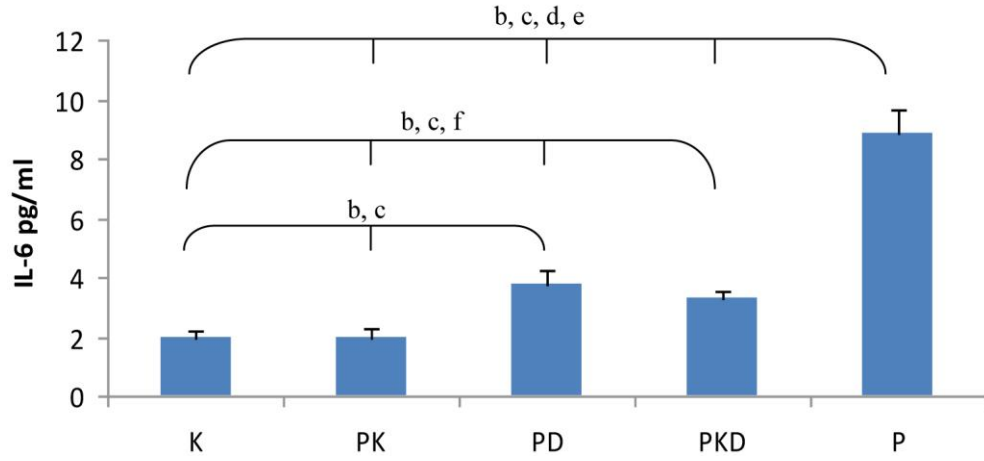
ss: Standart sapma

c p<0,001 vs P_K

f p<0,005 vs P_D

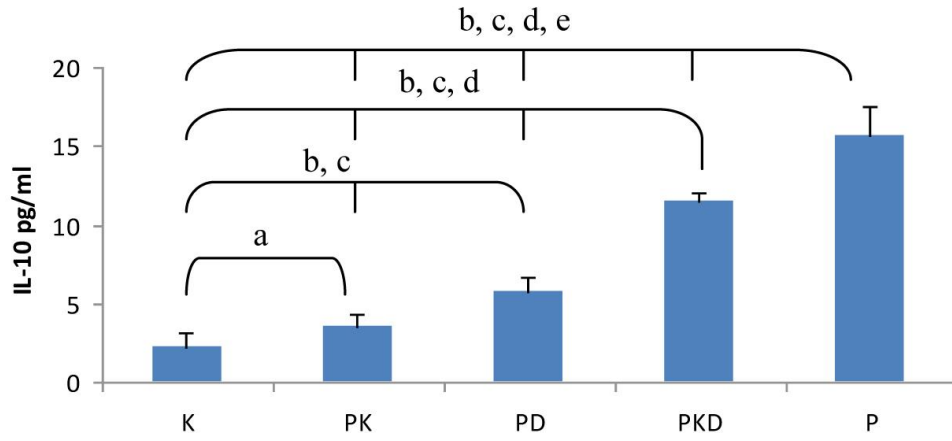


Grafik 2a. IL-1 β seviyeleri

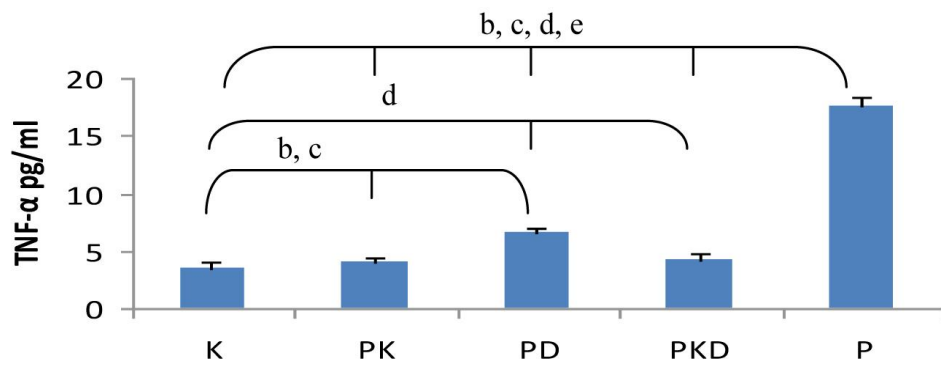


Grafik 2b. IL-6 seviyeleri

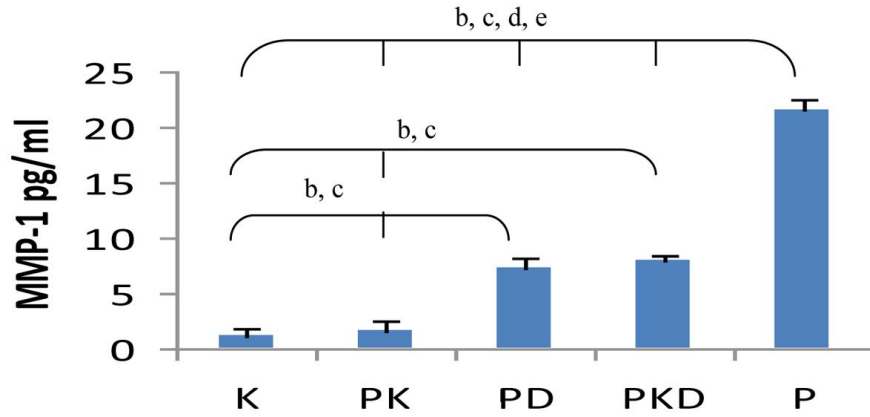
a $p < 0,005$ vs K, b $p < 0,001$ vs K, c $p < 0,001$ vs P_K , d $p < 0,001$ vs P_D , e $p < 0,001$ vs P_{KD} , f $p < 0,005$ vs P_D



Grafik 2c. IL-10 seviyeleri

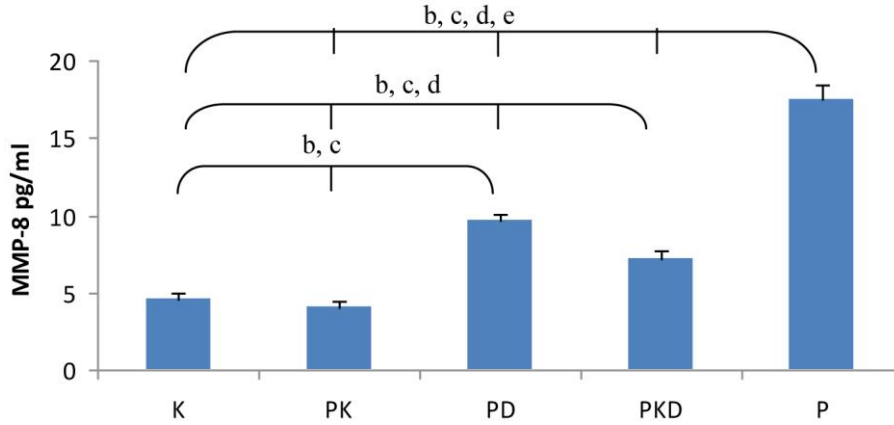


Grafik 2d. TNF-α seviyeleri



Grafik 2e. MMP-1 seviyeleri

a $p < 0,005$ vs K, b $p < 0,001$ vs K, c $p < 0,001$ vs P_K , d $p < 0,001$ vs P_D , e $p < 0,001$ vs P_{KD} , f $p < 0,005$ vs P_D



Grafik 2f. MMP-8 seviyeleri

a $p < 0,005$ vs K, b $p < 0,001$ vs K, c $p < 0,001$ vs P_K , d $p < 0,001$ vs P_D , e $p < 0,001$ vs P_{KD} , f $p < 0,005$ vs P_D

Tüm sitokin ve enzimler (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10, MMP-1 ve MMP-8) için en yüksek değerler diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak P grubunda belirlendi ($p < 0,01$). IL-1 β , IL-6, MMP-8 ve TNF- α 'nın en düşük seviyesi P_K grubunda ölçüldü. IL-10 ve MMP-1'in en düşük seviyede olduğu grup ise K grubu idi.

IL-1 β seviyeleri değerlendirildiğinde P_K grubundaki değerlerin K grubu değerlerinden bile düşük olduğu belirlendi ($p < 0,005$). P_D grubundaki IL-1 β seviyeleri P_{KD} grubundaki değerlerden önemli derecede yüksekti ($p < 0,001$).

IL-6 seviyelerinde P_K grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). P_D grubundaki IL-6 seviyeleri P_{KD} grubundaki değerlerden ($p < 0,005$) ve her iki grubun değerleri de P_K grubunun değerlerinden önemli derecede yüksekti ($p < 0,001$).

IL-10 seviyeleri değerlendirildiğinde K grubundaki değerler P_K grubu değerlerinden önemli derecede düşüktü (p<0,005). P_D grubundaki IL-10 seviyeleri ise P_{KD} grubundaki değerlerden ve her iki grubun değerleri de P_K grubunun değerlerinden önemli derecede yüksekti (p<0,001).

MMP-1 seviyeleri açısından K ve P_K grupları arasında önemli farklılık bulunmadı (p>0.05). P_D ve P_{KD} grupları arasında farklılık sergilemeyen MMP-1 değerleri P_K ve K gruplarından önemli derecede yüksekti (p<0,001).

MMP-8 seviyeleri K ve P_K grupları arasında farklılık göstermedi. P_D grubundaki MMP-8 seviyeleri P_{KD} grubundaki değerlerden (p<0,001) ve her iki grubun değerleri de P_K grubunun değerlerinden önemli derecede yüksekti (p<0,001).

TNF- α seviyeleri açısından K, P_K ve P_{KD} grupları arasında farklılık yoktu (p>0.05). P_D grubu değerleri ilaç uygulanan diğer iki gruptan önemli derecede yüksekti (p<0,001).

4.3. MDA, GSH ve GSH-Px Seviyeleri

MDA, GSH ve GSH-Px seviyeleri Tablo 8’de ve Grafik 3’te görülmektedir.

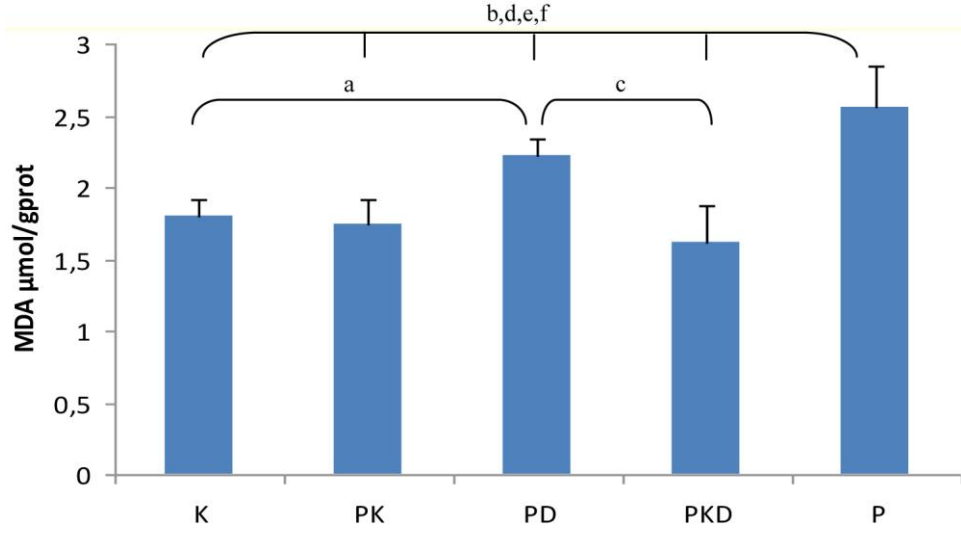
Tablo 7. Oksidan ve antioksidan parametre değerleri.

Parametreler	K	P _K	P _D	P _{KD}	P
MDA (MicroM/g prot) (min.-max.)	1,809 (1,652 - 1,957)	1,793 (1,424 - 1,924)	2,168 (2,076 - 2,467)	1,745 (1,174 - 1,837)	2,582 (2,141 - 3,130)
			a	c	b,c, d, e
\bar{X} - ss	1,802 ± 0,117	1,75 ± 0,17	2,220 ± 0,119	1,622 ± 0,253	2,562 ± 0,280
GSH (MicroM/g prot) (min.-max.)	2,674 (2,485 - 2,792)	2,816 (2,674 - 3,644)	2,497 (2,414 - 2,579)	2,520 (2,366 - 2,674)	2,343 (1,988 - 2,556)
		a	b	b	b
\bar{X} - ss	2,662 ± 0,090	2,951 ± 0,319	2,497 ± 0,064	2,515 ± 0,085	2,336 ± 0,165
GSH-Px (IU/g prot) (min.-max.)	64,286 (43,114 - 76,219)	82,763 (67,750 - 86,998)	51,239 (19,247 - 69,239)	76,989 (30,796 - 94,697)	54,277 (35,415 - 69,290)
		e	e, f	b, c, e	a,d,f
\bar{X} - ss	62,361±9,962	81,146±5,977	47,978±18,170	75,680±19,232	52,814s±11,812

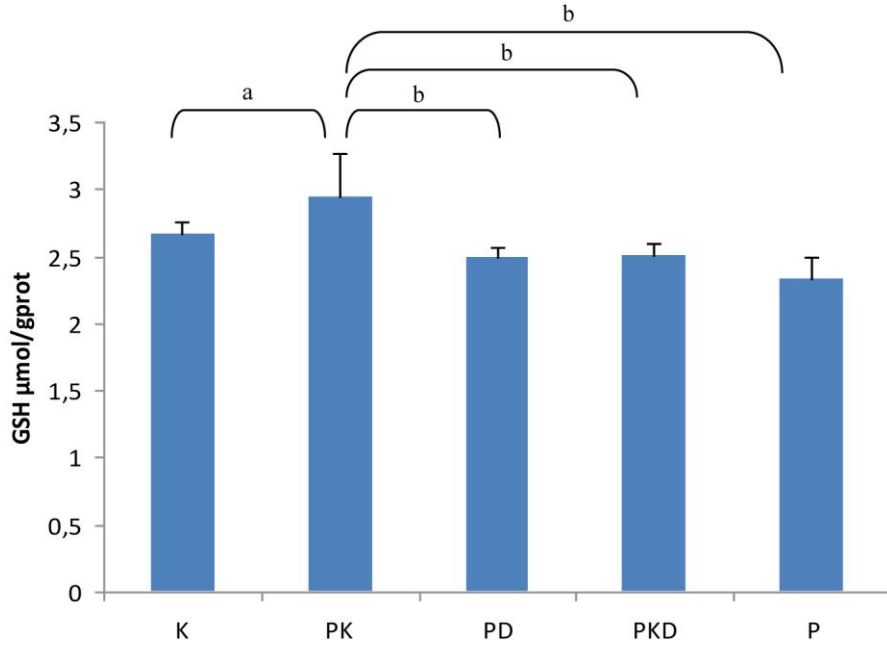
a p<0,05 vs K
d p<0,001 vs P_{KD}
 \bar{X} : Ortalama

b p<0,05 vs P_K
e p<0,001 vs K
ss: Standart sapma

c p<0,05 vs P_D
f p<0,001 vs P_K



Grafik 3a. MDA seviyeleri

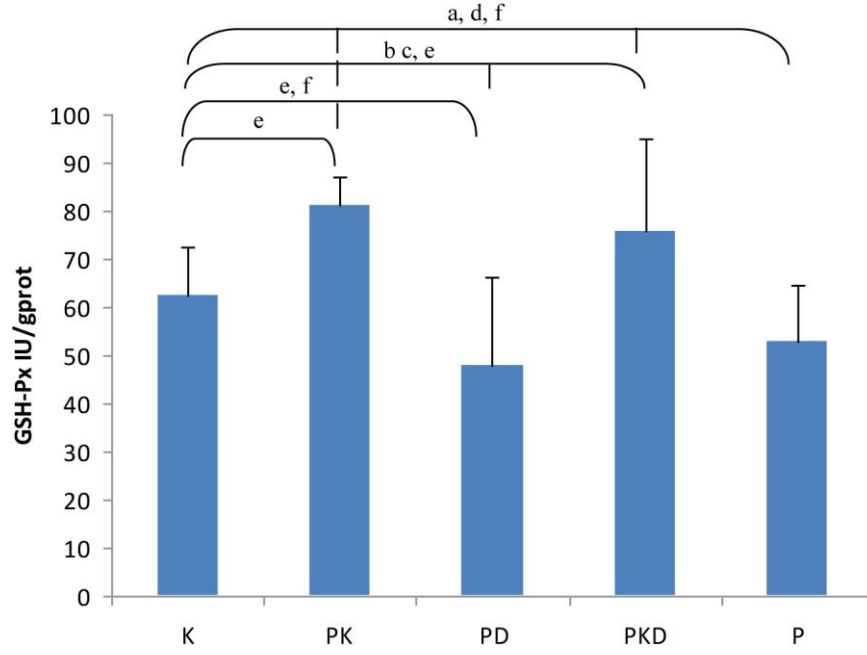


Grafik 3b. GSH seviyeleri

a $p < 0,05$ vs K
d $p < 0,001$ vs P_{KD}

b $p < 0,05$ vs P_K
e $p < 0,001$ vs K

c $p < 0,05$ vs P_D
f $p < 0,001$ vs P_K



Grafik 3c. GSH-Px seviyeleri

a $p < 0,05$ vs K
d $p < 0,001$ vs P_{KD}

b $p < 0,05$ vs P_K
e $p < 0,001$ vs K

c $p < 0,05$ vs P_D
f $p < 0,001$ vs P_K

MDA seviyeleri incelendiğinde K, P_K ve P_{KD} grupları arasında farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). P grubu diğer gruplardan önemli derecede daha yüksek MDA seviyelerine sahipti ($p < 0,05-0,001$). P_D grubu değerleri P_{KD} ve K grubu değerlerine kıyasla daha yüksekti ($p > 0,05$).

En yüksek GSH seviyeleri P_K grubundaydı ($p < 0,05$). P_K grubundaki GSH değerleri P_D , P_{KD} ve P grupları değerlerinden önemli derecede daha yüksekti ($p < 0,05$).

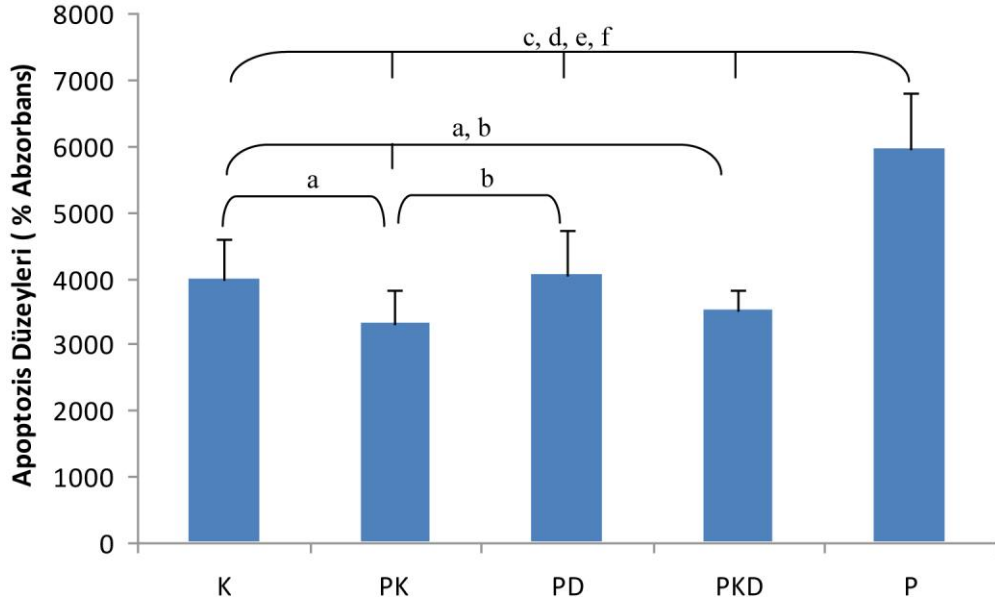
GSH-Px seviyeleri açısından en düşük gruplar P ve P_D gruplarıydı. En yüksek GSH-Px seviyesi P_K grubundaydı. P_K ve P_{KD} grupları K grubuna kıyasla daha yüksek değerlere sahipti ($p < 0,001$).

4.4. Gingival Apoptozis Seviyeleri

Gingival apoptozis parametreleri değerleri Tablo 9'da ve Grafik 4'te görülmektedir.

Tablo 8. Apoptozis seviyeleri

Parametreler	K	P _K	P _D	P _{KD}	P
Apoptosis (Absorbans) (min.-max.)	3971,5 (3245 - 4987)	3321 (2675- 4012)a	4314 (2968 - 4687)b	3510,5 (3214 - 3965)a,b	6022,5 (4968 - 6854)c,d,e,f
\bar{X} -ss	3980,666667 ± 616,5648925	3320,5 ± 504,2502	4047,833 ± 683,245	3527,666667 ± 280,143297	5974,166667 ± 836,4975593



Grafik 4. Apoptozis seviyeleri

a p<0,005 vs K, b p<0,005 vs P_K, c p<0,001 vs K, d p<0,001 vs P_K, e p<0,001 vs P_D, f p<0,001 vs P_{KD}
 \bar{X} : Ortalama ss: Standart sapma

Apoptozis seviyelerine bakıldığında P_K ve P_{KD} grupları değerlerinin K grubundan düşük seviyede olduğu dikkat çekiciydi (p<0,005). P_D ve P_{KD} grubu değerlerinin P_K grubundan yüksek olduğu belirlendi (p<0,005). P grubu değerleri tüm gruplar içerisinde en yüksek olanlardı (p<0,001).

4.5. Korelasyonlar

Genel olarak P_D, P_K ve P_{KD} gruplarında AKS ile MDA ve apoptozis seviyeleri arasında pozitif korelasyonlar varken, AKS ile antioksidan seviyeleri arasında negatif korelasyonlar bulundu. Bu gruplarda antioksidanlar ile MDA ve apoptozis seviyeleri negatif korelasyonlar gösterdi. Benzer şekilde P grubunda da apoptozis seviyeleri ile AKS ve MDA değerleri arasında pozitif korelasyonlar vardı. Bununla birlikte

antioksidan seviyeleri arttıkça MDA seviyelerinin ve AKS değerlerinin arttığı görüldü.

P grubunda apoptozis ile IL-6, IL-10, TNF- α , MMP-1 ve MMP-8 arasında pozitif ilişki gözlemlendi. Bu durum MDA ile TNF- α , IL-6, IL-10 ve MMP-1 arasındaki ilişkiye paraleldi. GSH-Px değerleri IL-1 β ve MMP-1 değerleri ile negatif korelasyon gösterdi.

P_K grubunda apoptozis seviyeleri TNF- α ve MMP-8 değerleri ile pozitif korelasyona sahipti. AKS arttıkça MMP-1 ve TNF- α değerlerinin arttığı belirlendi. Antioksidan seviyeleri TNF- α ve MMP-8 seviyeleri ile negatif korelasyon sergiledi.

P_D grubunda MMP-1 seviyeleri ile AKS ve apoptozis seviyeleri arasında pozitif korelasyon vardı. TNF- α değerleri IL-6, IL-10 değerleri ile pozitif, GSH seviyeleri ile negatif korelasyon gösterdi. GSH-Px seviyeleri IL-10 ve MMP-1 seviyeleri ile negatif korelasyon sergiledi. MMP-1 seviyeleri artarken MDA seviyelerinin de arttığı görüldü.

P_{KD} grubunda MDA seviyelerindeki artış MMP-1, TNF- α ve IL-10 seviyelerindeki artışa paraleldi. Apoptozis seviyeleri ile TNF- α ve IL-10 değerleri arasında görülen pozitif korelasyonlar GSH-Px ile MMP-8 arasında da vardı.

Gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar Tablo 9’da sunuldu.

Tablo 9. Gruplar arasındaki korelasyonlar

Gruplar	Parametreler	r	p	
P _K	GSH - MDA	-0,795	0.01	
	GSH-Px - MDA	-0,741	0.01	
	GSH - TNF α	-0,637	0.01	
	GSH-Px – MMP-8	-0,678	0.05	
	AKS - MDA	0,487	0.05	
	AKS – MMP-1	0,784	0.01	
	AKS - TNF α	0,691	0.01	
	AKS – GSH	-0,588	0.05	
	Apoptosis – MDA	0,519	0.05	
	Apoptosis – MMP-8	0,487	0.05	
	Apoptosis – TNF α	0,752	0.01	
	Apoptosis – GSH-Px	-0,648	0.05	
	P _D	GSH-Px – MMP-1	-0,718	0.05
		GSH - TNF α	-0,714	0.05
MDA - AKS		0,589	0.05	
AKS –MMP -1		0,613	0.01	
TNF α – IL-6		0,521	0.01	
TNF α – IL-10		0,648	0.01	
GSH-Px –IL 10		-0,545	0.05	
MDA – MMP1		0,741	0.01	
Apoptosis – GSH-Px		-0,543	0.05	
Apoptosis – MMP-1		0,462	0.05	
Apoptosis – AKS		0,527	0.05	
P _{KD}	GSH-Px – MDA	-0,549	0.05	
	GSH – MDA	-0,638	0.05	
	MDA –IL-10	0,483	0.05	
	MDA – TNF α	0,561	0.05	
	AKS – MDA	0,431	0.05	
	AKS - GSH	-0,539	0.05	
	MDA – MMP1	0,823	0.01	
	GSH-Px – MMP8	0,643	0.05	
	Apoptosis - IL-10	0,468	0.05	
	Apoptosis - TNF α	0,527	0.01	
P	MDA – TNF α	0,754	0,01	
	MDA – IL-6	0,626	0,01	
	MDA – IL-10	0,543	0,01	
	GSH-Px – MDA	0,844	0,01	
	AKS - GSH	0,546	0,05	
	GSH-Px – IL1	-0,756	0,01	
	GSH-Px – MMP 1	-0,513	0,05	
	MDA – MMP 1	0,624	0,01	
	Apoptosis – MDA	0,467	0,05	
	Apoptosis – MMP-8	0,529	0,05	
	Apoptosis – TNF α	0,647	0,01	
	Apoptosis – GSH-Px	-0,714	0,05	
	Apoptosis – AKS	0,743	0,01	
	Apoptosis – MMP1	0,640	0,05	
	Apoptosis – IL-10	0,588	0,05	
	Apoptosis – IL-6	0,415	0,05	

5. TARTIŞMA

Periodontitis, mikrobiyal dental plakta mevcut mikroorganizmalara ve ürünlerine karşı gelişen enflamatuvar reaksiyonlarla, dişleri çevreleyen destek dokularında oluşan cep ve/veya dişeti çekilmesi ile alveoler kemik kaybının oluştuğu ve sonuçta dişlerin kaybına kadar ilerleyebilen enfeksiyöz bir hastalıktır (381-383). Mikrobiyal dental plak ve ürünleri ile konak savunma sistemi hücreleri karşılaştığında doku yıkıcı ve koruyucu mekanizmalar aynı anda harekete geçer (384). Bakteri ve ürünlerinin dokuda etkinliğini arttırması ile enflamatuvar cevap indüklenir ve bölgeye PMNL göçü başlar. Özellikle enflamatuvar hücrelerin aktivasyonu IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , PG'ler ve MMP'ler gibi mediyatörlerin ve enzimlerin salımına yol açar. Enflamatuvar mücadelenin seyrine göre sert ve yumuşak doku yıkımı gerçekleşir (162, 385).

Periodontal hastalıklarda dokulardaki hasarın artmasının ROT artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (11). ROT canlı organizmada normal fizyolojik süreçte hücrenin moleküler reaksiyonları sonucunda oluşabilmekte ve hücre bileşenlerinin oksidatif hasara uğratılmasında, immün sistem hücrelerinin antimikrobiyal ve sitotoksik etki göstermesine ilave olarak hücre içi ve hücreler arası sinyal iletiminde rol almaktadır. ROT'un zararlı etkisinden organizmayı korumak için oksidan ve antioksidanlar arasında bir dengenin olması gerekmektedir (386). Hücrelerdeki PUFA'nın oksidasyonu ile LPO'nun son ürünü olan MDA ortaya çıkar. GSH ve GSH-Px gibi antioksidanlar MDA'nın sitotoksik etkisine karşı artış göstererek bir savunma sistemi oluştururlar (15, 16, 387). Artmış GSH-Px aktivitesinin oksidatif hasarın indirek belirteci olduğu rapor edilmiştir (388). Periodontitiste antioksidan kapasitede değişiklik olmadığı (389), arttığı (390) veya azaldığı (17, 242) şeklinde farklı sonuçlar bildirilmiştir. MDA ile antioksidanlar arasındaki ilişki periodontal hastalık için önemli bir basamaktır. Periodontitiste antioksidanların oksidatif dengeyi koruyacak seviyenin altında kaldıkları ve ROT aktivitesine bağlı olarak IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu, LPO yoluyla PGE₂ üretimi, NF- κ B ve O₂⁻ salımı gibi mekanizmalar aracılığıyla doku harabiyeti geliştiği ifade edilmektedir (231).

Programlanmış hücre ölümü olarak da anılan apoptozis, oksidatif stres, sitokinler, bakteriler, viral enfeksiyonlar (23), radyasyon (24), immün hücreler, büyüme faktörleri, beslenme ve EM'deki (25) değişiklikler gibi önemli patolojilerde rol oynar. Kronik periodontitiste periodontal dokularda mikrobiyal ve konak kökenli faktörlerle apoptozisin arttığı ve apoptotik mekanizmaların kronik periodontitisteki doku kaybında rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (32, 391).

KMT konak cevabının koruyucu ve rejeneratif komponentlerini arttırmak, yıkıcı yönünü azaltmak, periodonsiyumu stabilize etmek ve periodontal doku yıkımını azaltılmak için uygulanmaktadır (304). KMT ajanlarından birisi olan tetrasiklinlerin antikollajenaz özelliklerinin olduğu ve bu etkinin antibakteriyel etkilerinden bağımsız olarak en fazla doksisisiklinde bulunduğu bildirilmiştir (35, 36). Periodontal hastalıkta DDD kullanımının PG ve fosfolipaz A₂ miktarlarında azalmaya neden olduğu, MMP'lerin üretimini ve aktivasyonunu engellediği, bu sayede ataçman kaybını azalttığı bildirilmiştir (39, 40). DDD'nin ayrıca antienflamatuvar, antioksidan etkiye sahip olduğu ve enflame hücreleri apoptozise sürüklenme özelliğinin bulunduğu rapor edilmiştir (41-44).

KAFEE propolisin aktif fenolik bir bileşenidir (45). KAFEE'nin antioksidan, antienflamatuvar, antiviral ve immünomodülatör etkileri bulunmaktadır (45-49). KAFEE, kemik yıkımında önemli olan NF-κB'nin potent bir inhibitörüdür. Enflamasyon sırasında araşidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz yolağını (54) ve ROT üretimini inhibe eder (55). Bu özellikleri ile kemik defektlerinin iyileşmesi ve alveolar kemik kayıplarının önlenmesinde etkili olduğu belirtilmiştir (56, 57). KAFEE'nin enflamasyona yanıt ve konak savunmasına katkısından dolayı KMT ajanı olarak da tercih edilmektedir.

Son yıllarda, periodontal hastalıkta birden fazla ajanın bir arada kullanıldığı KMT yöntemleri dikkat çekmektedir. Bu çalışmada deneysel periodontitis modelinde KAFEE ve/veya DDD uygulamasının ratlarda serum sitokin ve enzim seviyelerine (IL-1, IL-6, IL-10, TNF-α, MMP-1 ve MMP-8), oksidatif ve antioksidan parametrelerine (MDA, GSH ve GSH-Px) ve dişeti dokusunda apoptozis seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı. Özellikle bu iki ajanın birlikte uygulanmasıyla ortaya çıkan sonuçlar değerlendirildi. Ulaşılabilir kaynaklar incelendiğinde deneysel

periodontitis modelinde KAFEE ve DDD'nin birlikte değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Ratlar küçük hayvanlar olmaları, kolay elde edilebilir ve bakımlarının kolay olması, yaşama karşı dayanıklı ve düşük maliyette olmaları sebebiyle deneysel çalışmalarda en çok kullanılan deney hayvanlarıdır (392, 393). Ratların periodontal dokuları insan periodonsiyumuna benzer özelliklere sahiptir (394, 395).

Deneysel periodontitis oluşturulmasında cerrahi işlemle defekt oluşturulması (395), bakteriyel o.g. (396, 397), LPS uygulaması (398, 399) ve molar dişlerin subgingival alanına ipek ligatür bağlanması (400) gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ligatür bağlanarak oluşturulan deneysel periodontitis modelinde ligatürün bağlandığı alanda doku travmasına ve mikrobiyal birikime karşı enflamatuvar bir cevap gelişir (401,402). Kuhr ve ark., (402) ratlarda ligatür bağlayarak oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde 1, 15, 30 ve 60. günlerde aldıkları kesitlerde morfometrik olarak AKS'yi ölçmüşler ve en fazla kemik kaybının ilk 15 günde meydana geldiğini 30. ve 60. günlerdeki kaybın hafif bir artış olarak devam ettiğini saptamışlardır. Toker ve ark., (403) ligatürle indükledikleri periodontitis modelinde görülen alveolar kemik kaybının 11 günde en yüksek seviyeye ulaştığını gözlemişlerdir. Çalışmamızda ratların maksillar ikinci molar dişlerine 3.0 ipek ligatür yerleştirilerek periodontitis indüksiyonu yapıldı ve periodontitis oluşumu 15. günde değerlendirildi. Alveolar kemiğin histomorfometrik değerlendirmesinde MSS-AKT arasındaki mesafe değerleri milimetre (mm) olarak değerlendirildi (402). Maksilla örneklerinin tümünde periodontitisin başarıyla indüklendiği görüldü.

Periodontitisli hastalarda, DDD'nin diştaşı temizliği ve kök yüzey düzleştirilmesi tedavisine ek olarak kullanılması ile anlamlı bir şekilde cep derinliğinde azalma ve klinik ataşman kazancı saptanmıştır (184). Yağan ve ark., (43) ratlarda oluşturdukları periodontitis modelinde günlük 6 mg/kg DDD içeren 1 ml karboksimetil selüloz o.g. uygulaması ile 21 gün sonunda kontrollere kıyasla alveolar kemik kaybının anlamlı derecede az olduğunu belirlemişlerdir. Bezerra ve ark., (404) deneysel periodontitis modelinde 2.5, 5 ve 10 mg/kg/gün dozlarında DDD'nin alveolar kemik kaybına etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında en az

alveolar kemik kaybının 7 gün, 10 mg/kg/gün DDD uygulanan grupta olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda DDD 10 mg/kg/gün dozunda o.g. yoluyla 14 gün uygulandı. P_D grubunda alveolar kemik kaybının P grubuna göre anlamlı derecede az olduğu belirlendi (p<0,001).

KAFEE'nin kemik yıkımının görüldüğü bütün hastalıklarda etkili bir terapötik ajan olabileceği rapor edilmektedir. KAFEE'in kemik iliği kaynaklı prekürsör hücre kültürlerinde 0.5 µmol'de osteoklast formasyonunu %95 oranında azalttığı, 1 µmol'de osteoklastogenezi tamamen engellediği bildirilmiştir (405). İyi bir NF-κB inhibitörü olan KAFEE bu etkisini doza bağlı göstermektedir. Peptidoglikan stimule rat makrofaj ve kolon epitel hücreleri kültürlerinde KAFEE'nin 8 µg/ml'den fazla dozda NF-κB inhibitörü etkisi göstermekle birlikte 100 µg/ml dozun ciddi toksik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (406). Uçan ve ark., (56) ratlarda oluşturdukları deneysel kemik defekti modelinde 14 gün 10 µmol/kg KAFEE i.p. uygulayarak 7, 15 ve 30. günlerde sakrifikasyon ile kemik defektlerini değerlendirmişler ve KAFEE'nin 15. ve 30. günlerde kemik oluşumunu indüklemeye kapasitesinin daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Aral ve ark., (407) ratlarda oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde 21 gün o.g. ile 100 mg/kg dozunda propolis uygulamasının alveolar kemik dokusu üzerine koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmamızda 10 µmol/kg/gün KAFEE 14 gün boyunca i.p. yolla verildi. P_K grubunda alveolar kemik kaybının P grubuna göre anlamlı derecede az olduğu belirlendi (p<0,001). KAFEE uygulanan gruplarda P_D grubuna kıyasla daha düşük kemik kayıpları olmakla birlikte sadece P_K ile P_D grupları arasındaki farklılık anlamlı idi (p<0,001). Sonuçlarımız KAFEE uygulamasının alveolar kemiğin korunmasında daha etkili olduğunu gösterdi.

IL-1β periodontitisin başlamasında ve ilerlemesinde önemli role sahiptir (408). IL-1β, enflamatuvar hücrelerin enfeksiyon alanına göçü, enflamatuvar sitokin ve MMP'lerin sentezinin artması, kollajen sentezinin inhibisyonu, T ve B lenfositlerin aktivasyonunda rol oynar (80). Osteoklast prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını ve osteoklastları uyarak kemik rezorpsiyonunu indükler (109, 409, 410). Literatürde periodontal hastalıkta IL-1β'nin serum seviyesini değerlendiren çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların bir kısmında periodontal hastalığın IL-1β'nin serum seviyelerini etkilemediği bildirilmiştir (8, 173, 411). Birçok klinik ve deneysel

çalışmalarda ise periodontitis ile IL-1 β seviyelerinin arttığı ve periodontal hastalık şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (4, 8, 408, 412-414). Önceki çalışma sonuçlarına benzer olarak çalışmamızda IL-1 β 'nın P grubunda K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ($p < 0,001$).

Klinik ve deneysel çalışmalarda periodontitiste enflamasyona bağlı olarak artan IL-1 β seviyelerinin DDD uygulaması ile azaldığı rapor edilmiştir (322, 331, 415). Ying ve ark., (416) kronik periodontitiste 0.1, 1 ve 10 μmol 'lük dozlarda uygulanan DDD'nin IL-1 β 'ya etkisini değerlendirmiş ve 1 ile 10 μmol 'deki dozların hemen hemen aynı etkiyi yaptığını ve IL-1 β 'yı 0.1 μmol 'den daha fazla düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Yang ve ark., (417) KAFEE uygulaması ile insan korneal fibroblast kültürlerinde IL-1 β seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Kotnik ve ark., (418) adipoz dokularda enflamasyon ile IL-1 β 'nın arttığını ve KAFEE uygulaması ile bu seviyenin düştüğünü rapor etmişlerdir. Haddad ve ark., (419) ise alveol epiteli hücrelerinden aldıkları biyopsi örneklerinde KAFEE'nin IL-1 β 'yı azalttığını belirlemişlerdir. Aral ve ark., (407) ratlarda yaptıkları bir çalışmada periodontitiste artan IL-1 β seviyesinin propolis uygulaması ile azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda deneysel periodontitis varlığında DDD ve KAFEE uygulamaları IL-1 β seviyelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmasını sağladı. P_K grubundaki IL-1 β seviyeleri K grubundaki değerlerden bile düşüktü. P_{KD} grubundaki değerler ise P_D grubuna kıyasla düşük olmasına rağmen P_K grubundaki değerlerden yüksek bulundu. Bu sonuçlar KAFEE'nin tek başına IL-1 β değerlerini daha belirgin azalttığını göstermektedir.

Periodontal hastalık patogenezinde IL-1 β ile birlikte üzerinde en fazla çalışılan sitokinlerden birisi de farklı hücre grupları üzerinde proenflamatuvar ve immünomodülatör etkisi olan TNF- α 'dır. TNF- α , kollajenazların, PG'lerin, IL-6 gibi sitokinlerin, hücre adezyon moleküllerinin ve RANKL, M-CSF gibi kemik yıkımıyla ilişkili faktörlerin üretimini arttırarak periodontal hastalık patogenezinde hem bağ doku hem de alveoler kemik yıkımında rol oynar (169, 410, 420). Çalışmalarda periodontitiste serum TNF- α seviyesine ilişkin farklı sonuçlar bulunmaktadır. Gorska ve ark., ile Graves ve ark., (421, 422) kronik periodontitiste dental plaktaki

P.gingivalis yoğunluğuyla ilişkili olarak serum TNF- α seviyelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Ancak serum TNF- α seviyelerinin periodontal hastalık ile ilgili olmadığını belirten çalışmalar da vardır (134, 420). Periodontal olarak sağlıklı bireyler ile periodontitisli bireyler arasında, tedavi öncesi ile sonrası serum TNF- α seviyelerinde farklılık bulunmadığı rapor edilmiştir (171). Nakajima ve ark., (130) ise kronik periodontitisli bireylerde serum TNF- α seviyesinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda P grubunda TNF- α seviyelerinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bulundu ($p<0,001$).

Sitokinlerin inhibisyon kinetiğinin değerlendirildiği deneysel bir çalışmada DDD uygulaması ile IL-1 β 'nin 2 saatte, TNF- α 'nın ise 4 saatte azaldığı tespit edilmiştir (42). Cazalis ve ark., (339) periodontal tedaviye başlamadan önce 2 μ mol DDD ile makrofajlardan salgılanan TNF- α 'nın azaldığını, fakat en etkili dozun 10 μ mol olduğunu rapor etmişlerdir. Paracatu ve ark., (423) birçok enflamatuvar hastalıkta KAFEE'nin aktive lökositlerden TNF- α salımını azalttığını bildirmişlerdir. Larki ve ark., (407) pulmoner fibroziste TNF- α seviyesinin arttığını ve KAFEE ile bu seviyenin normal seviyesine çok yakın şekilde azaldığını saptamışlardır (424). Literatürde ratlarda oluşturulan deneysel periodontitiste TNF- α seviyesinin propolis ile azaldığını gösteren sadece bir çalışma vardır.

Çalışmamızda TNF- α ile ilgili sonuçlar değerlendirildiğinde periodontitis varlığında DDD ve KAFEE uygulamalarının TNF- α değerlerini önemli derecede azalttığı saptandı. KAFEE uygulanan iki grubun K grubuyla benzer değerler gösterdiği bulundu. Deneysel periodontitiste KAFEE'nin gerek tek başına gerekse DDD ile birlikte TNF- α seviyelerinin azaltılmasında DDD uygulamasından daha etkili olduğu görünmektedir.

Proenflamatuvar bir sitokin olan IL-6 periodontal hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynayan bir başka sitokindir. IL-6 seviyelerinin periodontal hastalık şiddeti ve klinik parametreler ile ilişkili olduğu bulunmuştur (129, 136, 425). Serum IL-6 seviyelerinin periodontitisli bireylerde periodontal sağlıklı bireylere göre arttığı (127, 129, 131, 134,) ya da farklı olmadığı bildirilmiştir (171, 428, 429). Çalışmamızda da IL-6'nın P grubunda diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,001$).

Periodontitiste IL-6 seviyesinin, DDD uygulaması ile azaldığı rapor edilmiştir (339). Kinetik deneylerde erken dönemde DDD'nin IL-6 seviyesini inhibe etme potansiyeli olduğu gösterilmiştir (42). Kronik periodontitiste DDD uygulaması IL-6 seviyelerini düşürmüştür (430). Periodontal tedaviye ek olarak DDD kullanımının IL-6 seviyesini daha çok düşürdüğü saptanmıştır (7).

Hepatik ve sinir hücrelerini akut septik şoktan korumada uygulanan propolis IL-6 gibi enflamatuvar sitokinlerin seviyelerini azaltmaktadır (431). Juman ve ark., (363) yaptıkları bir çalışmada KAFEE'nin hipertrofik adipositlerde ve makrofajlarda IL-6'nın da dahil olduğu proenflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığını ve KAFEE'nin enflamasyonu azaltıcı etkisi olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda deneysel periodontitis varlığında DDD ve KAFEE uygulamaları istatistiksel olarak IL-6 seviyelerini önemli düzeyde azalttı. IL-1 β değerlerine benzer şekilde P_K grubundaki IL-6 seviyeleri K grubundaki değerlerden düşüktü. P_{KD} grubundaki değerler P_D grubuna kıyasla düşük olmasına rağmen P_K grubundaki değerlerden yüksekti. Bu sonuçlar deneysel periodontitiste IL-6 değerlerinin azaltılmasında KAFEE'nin tek başına daha etkili olduğunu gösterdi.

IL-10, immün ve enflamatuvar cevabın baskılanmasında önemli bir role sahiptir. Lappin ve ark., (432) IL-10'un B hücreleri, T hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından üretilebildiğini tespit etmişlerdir. Aktive makrofajlardan proenflamatuvar sitokinlerin sentezi, IL-10 tarafından inhibe edilir (5). IL-10'un antienflamatuvar özelliklerinden dolayı aterojenik durumlarda koruyucu ve engelleyici rolü olduğu düşünülmektedir (433). IL-10 özellikle periodontitiste etken patojenlerden olan *P.gingivalis*'e karşı T hücre yanıtını inhibe etmektedir (434). Periodontitiste IL-10 seviyesinin arttığını gösteren çalışmalar vardır (172). Periodontitis varlığında IL-10'un kemik devamlılığı için gerekli olduğu ve eksikliğinin alveolar kemik kaybını hızlandırdığı savunulmuştur (146, 151, 362, 435). Ebersole ve ark., (436) periodontitisin başlaması, devam etmesi ve iyileşmesi sırasında sitokinlerin durumunu incelemişler ve hastalık gerilemeye başladığında IL-10 seviyesinin düşmeye başladığını bildirmişlerdir. Reis ve ark., (437) ise periodontal tedavi ile IL-10 seviyesinin değişmediğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda P grubunda diğer gruplara nazaran proenflamatuvar sitokinlerin

istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olmasına paralel olarak IL-10'un arttığı gözlemlendi ($p < 0,001$).

IL-10 seviyelerinin böbreklerde meydana gelen iskemik/perfüzyon yaralanmalarında DDD uygulaması ile azaldığı ve DDD'nin koruyucu etki yaptığı ileri sürülmüştür (438). Chung ve ark., (439) tifüste artmış olan IL-10 seviyelerinde doksisisiklin tedavisi ile düşme olduğunu belirlemişlerdir. Periodontitiste DDD uygulaması ile IL-10 seviyelerinin azaldığı (42) ya da stabil kaldığı (340, 440) rapor edilmiştir.

Enflamatuvar hastalıklarda KAFEE anti-enflamatuvar ilaçlar ile benzer etki yaparak IL-10'u inhibe eder (423, 441). Monosit kaynaklı dentritik hücrelerde KAFEE'nin IL-10'u inhibe ettiği belirlenmiştir (442). Enflamasyon varlığında KAFEE ile IL-10 seviyesinin arttığını rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (443). Çelik ve ark., (444) ise beyindeki enflamasyon varlığında KAFEE'nin IL-10 seviyesini düşürmediğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda DDD ve KAFEE uygulamaları yapılan gruplar, P grubuna kıyasla daha düşük IL-10 seviyelerine sahipti. KAFEE'nin DDD'ye kıyasla IL-10'u daha fazla azaltması proenflamatuvar sitokin düzeylerindeki azalmaya paraleldir. Ancak DDD-KAFEE kombinasyonunda IL-10 seviyelerinin, tek başına KAFEE ve DDD uygulamalarından belirgin şekilde yüksek olması proenflamatuvar sitokin seviyelerindeki değişikliklerden bağımsız gözükmektedir.

MMP-1 ve MMP-8 periodontal hastalıkta EM'nin yıkımından sorumlu iki interstisyel kollajenazdır. MMP-1'in periodontal hastalıkta enflame gingivada yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve bağ doku regülasyonunda önemli bir role sahip olduğu rapor edilmiştir (187). Domaij ve ark., (445) invitro bir çalışmada gingival fibroblastlarda monositik etki ile MMP-1 üretiminin arttığını tespit etmişlerdir. Ingman ve ark., (207) periodontitiste dokularda MMP-1 seviyesinin arttığını rapor etmişlerdir. Tüter ve ark., (219) yaptıkları bir çalışmada diştaşı temizliği ve gingival küretaj işlemlerinden sonra MMP-1 seviyesinin anlamlı şekilde azaldığı rapor edilmiştir.

MMP-1 seviyeleri, fibroblast hücre kültürlerinde DDD uygulaması ile düşüş göstermektedir (446, 447). Rat miyokardiyumlarında oluşturulan iskemi/reperfüzyon

yaralanmalarına karşı tedavi öncesi doksisisiklin verilmesi ile MMP-1 seviyesinin azaldığı ve iyileşmenin daha kolay olduğu belirlenmiştir (448). MMP-1 seviyesinin KAFEE uygulaması ile düştüğünü Gencer ve ark., (449) gastrik kanser hücre kültürlerinde oksidatif stresi azaltmak amacıyla KAFEE uygulayarak belirlemişlerdir.

Periodontitiste artmış olan MMP-8 seviyesinin periodontal tedavi ile azaldığı rapor edilmiştir (59, 185, 193). Kula ve ark., (450) ise MMP-8 eksikliği olan farelerde yaptıkları bir çalışmada MMP-8'in periodontal enfeksiyon sırasında alveolar kemik kaybında koruyucu etkisinin olabileceğini savunmuşlardır. Kardiyovasküler hastalıklar, periimplantitis ve periodontitiste artan serum ve plazma MMP-8 seviyelerine doksisisiklinin inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (7, 59, 331, 451). Periodontal tedavide ilave DDD kullanıldığında plak indeksi, gingival indeks skorlarının düzeldiği, DOS, salya ve periferel kanda MMP-8 seviyesinin azaldığı belirlenmiştir (219, 452). Aral ve ark., (407) deneysel periodontitiste sistemik propolis uygulaması ile MMP-8 seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Ulaşılabilir kaynaklar incelendiğinde KAFEE ile MMP-8 seviyesi arasındaki ilişkiyi değerlendiren herhangi bir çalışma yoktur.

Çalışmamızın sonuçlarına göre deneysel periodontitiste MMP-1 ve MMP-8 seviyeleri anlamlı düzeyde arttı. DDD ve KAFEE uygulamaları MMP-1 ve MMP-8 seviyelerinin azalmasını sağladı. Ancak DDD, KAFEE'ye kıyasla daha az etkili bulundu.

Oksidatif stres oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla ROT'ların nükleik asitler, proteinler ve lipidler başta olmak üzere hücresel yapılarda hasara yol açtığı patolojik bir durumdur (211, 212). Oksidatif stres ile dokularda MDA seviyelerinde artış görülür. Tsai ve ark., (215) kronik periodontitisteki enflamasyon ve doku yıkımında, artmış LPO düzeylerinin önemli bir rol oynadığını ifade etmişlerdir. Literatürde MDA düzeylerinin periodontal hastalık ile ilişkili olarak arttığı, az sayıda çalışmada ise fark olmadığı rapor edilmiştir (20, 218, 238, 390, 453). Çalışmamızda P grubundaki MDA seviyesinin artışı literatürü desteklemektedir.

Oksidatif stresin artması ile meydana gelen doku hasarının belirteci olan MDA seviyeleri antioksidan etkisi olan DDD ile azalmaktadır (41, 454). Yağan ve ark., (43) ratlarda oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde de DDD'nin MDA'yı azalttığını bildirmişlerdir.

KAFEE uygulamasının da oksidatif strese bağlı olarak artan MDA'nın düşmesini sağladığı bildirilmiştir (223, 444, 455, 456). Mollaoğlu ve ark., (457) ratlarda cadmium ile oluşturdukları kalp rahatsızlıklarında 10 µmol/kg KAFEE uygulamışlar ve yükselmiş MDA seviyelerinin düştüğünü gözlemlemişlerdir. İlhan ve ark., (458) tavşanlarda oluşturdukları spinal kord yaralanması ile artan MDA seviyesinin KAFEE uygulaması ile azaldığını rapor etmişlerdir. Iraz ve ark., (459) ise tedavi öncesi KAFEE uygulayarak rat karaciğerinde sisplatin ile indükledikleri oksidatif stresin ve MDA seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuçlarımız değerlendirildiğinde DDD ve/veya KAFEE uygulamaları MDA seviyelerini azalttı. Bununla birlikte KAFEE uygulanan gruplarda MDA seviyelerindeki azalma daha belirgindi. MDA ile AKS, IL-6, TNF-α, IL-10 ve MMP-1 arasında var olan pozitif korelasyonlar periodontal yıkımda LPO'nun rolünü gösterir niteliktedir.

Enflamatuvar durumda MDA'nın artışından kaynaklanan hasarı dengelemek ve azaltmak için GSH ve GSH-Px aktivitesi önem taşımaktadır. Artmış GSH-Px oksidatif stresin varlığını gösteren indirek bir belirteçtir. Literatürde ROT varlığında antioksidan kapasitenin azaldığı (242) ya da değişmediği (389) rapor edilmiştir. Panjamurthy ve ark., (216) periodontitisli hastalarda, sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında GSH-Px'in de içinde yer aldığı enzimatik antioksidan seviyesinin anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Wei ve ark., (390) GSH-Px miktarının, periodontitiste sağlıklılarla karşılaştırıldığında, daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Sobaniac ve ark., (17) ratlarda oluşturdukları deneysel periodontitiste LPO ürünlerinin artmasına bağlı olarak GSH ve GSH-Px aktivitesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda, önceden yapılmış bazı çalışma bulgularına uygun olarak periodontitis varlığında GSH seviyeleri kontrollere kıyasla önemli farklılık göstermezken, GSH-Px seviyeleri belirgin şekilde düşüktü ($p<0,05$). Bu durum

periodontal bakterilere karşı gelişen konak cevabının indüklediği sistemik durumla ilişkilendirilebilir (242). P grubunda antioksidanlar ile MDA ve AKS arasındaki pozitif korelasyonlar ve GSH-Px ile IL-1 β ve MMP-1 arasındaki negatif korelasyonlar periodontitiste oksidatif stresin periodontal doku yıkımındaki rolünü ve oksidatif dengenin antioksidanlar aleyhine bozulduğunu destekler niteliktedir.

Doksisiklinin spontan gelişen oksidatif hasara karşı antioksidan etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (460). DDD periodontitiste oksidatif hasarı ve antioksidan enzim seviyelerini azaltmıştır (43, 44). Baskın bir antioksidan olduğu vurgulanan KAFEE uygulamaları ile GSH seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (461-463). Shi ve ark., (464) da bir diğer antioksidan belirteç olan GSH-Px seviyesinin oksidatif strese maruz kalmış iskemik retinal hücre kültürlerinde KAFEE ile arttığını saptamışlardır.

Çalışmamızda sadece P_K grubu diğer periodontitis gruplarından ve K grubundan daha yüksek GSH ve GSH-Px seviyelerine sahipti ($p < 0,005$). GSH-Px seviyeleri değerlendirildiğinde, tek başına DDD uygulaması etkili bulunmadı. DDD ve/veya KAFEE gruplarında genel olarak, antioksidanlar ile sitokinler ve MMP'lar arasında ve P grubundan farklı olarak antioksidanlar ile AKS ve MDA arasında var olan negatif korelasyonlar bu ajanların antioksidan özellikleriyle ilişkilidir. Bununla birlikte DDD ile KAFEE'nin birlikte uygulanmasının sinerjik antioksidan etki sağlamadığı dikkat çekti.

Apoptosis konak yanıtının regülasyonu, hücre proliferasyonu gibi birçok patofizyolojik mekanizmada önemli bir role sahiptir (21, 22). Kullandığımız apoptozis testi apoptozis süreci tetiklenmiş tüm hücrelerin belirlenmesinde ve apoptozisin erken döneminde diagnostiktir. Periodontal hastalıkta enflamatuvar durum sadece birkaç hücre tipi ile ilişkili olmayıp periodonsiyumu oluşturan tüm hücreleri etkilemektedir. Bu nedenle çalışmamızda tek bir hücre tipi yerine, tüm dişeti dokusunda apoptozis düzeyleri belirlendi (465). Periodontitiste mikrobiyal ve konak kökenli faktörlerle periodontal dokularda apoptozisin arttığı ve apoptotik mekanizmaların doku kaybında rol oynayabileceği ifade edilmektedir (32, 466, 467). Periodontitiste artan ROT, apoptozis için potent modulatördür ve apoptozisi tetikleme kapasitesine sahiptir (468). Apoptozis hücre yüzey reseptörlerine ligandların bağlanması ile indüklenebilmektedir. TNF- α apoptozisin major ekstrinsik

bir mediyatörüdür (260). Hücredeki reseptörlerine bağlanması hücre yaşamını ve enflamatuvar yanıtı sağlayan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu indirek olarak yönetir (52). Periodontal hastalıklarda fibroblastların apoptozisinde TNF ve reseptörünün etkili olduğu saptanmıştır (292). Koulouri ve ark., (391) kronik ve agresif periodontitisli hastaların gingival biyopsi örneklerinde apoptozise uğrayan hücrelerin çoğunluğunun fibroblast kökenli olduğunu bildirmişlerdir. Tunalı ve ark., (469) ratlarda oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde apoptozisin hem dişeti epiteli hem de bağ dokusunda arttığını gözlemlemişlerdir. Bulgularımızda yer alan TNF- α ile apoptozis düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon yukarıdaki verileri desteklemektedir. Periodontitiste gingival dokularda apoptozis düzeylerinin önemli derecede arttığı ve apoptozis düzeyleri ile AKS ve MDA seviyeleri arasında pozitif korelasyonların olduğu bulundu. Çalışmamızda P grubunda apoptozis düzeyleri ile MDA, antioksidanlar, IL-6, IL-10, MMP-1 ve MMP-8 seviyeleri arasında var olan pozitif korelasyonlar, literatürdeki oksidatif stresin alveolar kemik yıkımında rol oynayan NF- κ B, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokin ve MMP'lerin artmasına sebep olduğu ve apoptozisi indüklediği bulgularıyla paraleldir (243,287,288).

Mitojen tarafından aktive edilen protein kinazın inhibisyonunda ve ROT'un ortadan kalkmasında direk etkili olan tetrasiklinler, antiapoptotik protein olan mitokondriyal bcl-2'nin artmasını da sağlarlar (470). Sanchez ve ark., (471) fare beyinlerinde yaptıkları bir çalışmada tetrasiklinlerin kaspaz-1'i inhibe ederek sinir hücrelerinin ölümünü engellediğini rapor etmişlerdir. Böbreklerde görülen iskemide ve abdominal kompartman sendromu hasarlarında doksisiklin uygulamaları apoptozisi azaltmıştır (438, 473, 474). Farelerin kalp ve testislerinde doksorubisine bağlı oksidatif stresin ve oksidatif stresle ilişkili apoptotik hasarın DDD tarafından engellendiği tespit edilmiştir (475, 476).

KAFEE antioksidan niteliği sayesinde ROT seviyesini azaltarak antiapoptotik özellik de gösterebilen bir ajandır (477). Amadio ve ark., (478) serebeller granül hücrelerde meydana gelen ROT formasyonunun KAFEE tarafından bloke edilerek antiapoptotik etki oluştuğunu rapor etmişlerdir. Parlakpınar ve ark., (479) da miyokardiyak iskemide KAFEE'nin ROT üretimini azaltarak apoptotik etkileri ortadan kaldırdığını ifade etmişlerdir. Uçan ve ark., (56) ratlarda oluşturdukları

kemik defektlerinde KAFEE'nin kemik rejenerasyonunda faydalı olduğunu ve NF- κ B aracılı apoptozisi azaltarak iyileşmeye önemli bir katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Yukarıdaki çalışmaların bulgularına benzer olarak çalışmamızda da DDD ve/veya KAFEE'nin deneysel periodontitiste apoptozis seviyesini azalttığı gözlemlendi. Apoptozis düzeyleri KAFEE uygulanan iki grupta da kontrollerden düşüktü. DDD KAFEE'ye göre daha zayıf antiapoptotik etki sergiledi ve KAFEE ile birlikte uygulanmasının antiapoptotik katkı sağlamadığı görüldü.

Ca^{+2} hücrenin hayatta kalmasına ya da apoptotik yolağa sürüklenmesine yol açan önemli bir iyonudur. Hücre içindeki konsantrasyonu kısa sürede ve aşırı yükseldiğinde hücre apoptozise sürüklenir ve hücre ölüm sinyalleri yayarak kendisi ile birlikte komşu hücrelerin de ölümüne neden olur (480). DDD ve KAFEE'nin kimyasal yapıları hemen hemen benzerdir. Doksisiklin Ca^{+2} ve K^{+} gibi katyonlarla birleşebilen ve çözünmeyen formlar oluşturan bir ajandır (481). KAFEE de lipofilik özelliği sayesinde hücrelerin iyon kanallarında biriken Ca^{+2} 'u bağlayabilmektedir. Ca^{+2} ve K^{+} gibi iyon kanallarının inhibe edilmesi antiinflamatuvar, antialerjik ve antioksidan özelliklerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (482). Her iki ajan da OH^{-} ve karboksil ($-COOH$) gibi fonksiyonel gruplara sahiptir. Aynı ortamda bulduklarında moleküller arası etkileşimle karşılıklı hidrojen bağı yapma olasılıkları artabilir. İki ajanın birbirleriyle yapacakları bağ ortamdaki Ca^{+2} 'u bağlama kapasitelerini azaltabilir. KAFEE'nin asidik karakteri ve yapısındaki H^{+} iyonunu daha rahat bırakabilmesi hidrojen bağı yapabilirliğini ve reaktif uçlarının daha fazla olması Ca^{+2} 'u bağlama kapasitesini arttırmaktadır. Bulgularımız genel olarak değerlendirildiğinde KAFEE'nin Ca^{+2} 'u bağlama yeteneğinin DDD'ye göre daha yüksek olması daha etkin antiinflamatuvar ve antioksidan özellik göstermesini sağlayabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ulaşılabilir kaynaklar değerlendirildiğinde deneysel periodontitis modelinde DDD ve/veya KAFEE uygulamalarının alveolar kemik yıkımı, periodontal yıkımda öne çıkan sitokin ve enzim seviyeleri, oksidatif durum ile ilişkili belirteç seviyeleri ve gingival apoptozis düzeyleri üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmadı. Çalışmamızın bulguları, deneysel periodontitiste enflamatuvar sitokinlerin, enzimlerin ve dişeti apoptozis düzeylerinin arttığını ve oksidatif durumun antioksidanlar aleyhine bozulduğunu gösterdi. DDD ve/veya KAFEE uygulaması alveolar kemik rezorpsiyonunu azaltmada başarılı oldu. Her iki ajanın da antioksidan özellikleriyle oksidatif yükü, antienflamatuvar özellikleriyle proenflamatuvar sitokinleri ve MMP seviyelerini ve antiapoptotik özellikleriyle gingival apoptozis düzeylerini azalttıkları dikkat çekti. Deneysel periodontitiste sitokin, enzim ve oksidatif durum belirteçlerinin sadece serumda değerlendirilmesi, total oksidan/antioksidan kapasitenin değerlendirilmemesi ve ajanların farklı doz etkisinin incelenmemesi çalışmamızın limitasyonlarından. Çalışmamızda antienflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik etkilerin tümünde KAFEE'nin DDD'den daha üstün olduğu ve DDD-KAFE birlikte uygulanmasının ilave yarar sağlamadığı belirlendi. KMT'lerde DDD ve KAFEE'nin etkilerinin tam olarak belirlenebilmesi için yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Ratlarda Oluşturulan Deneysel Periodontitis Modelinde Kafeik Asit Fenetil Ester ile Düşük Doz Doksisisiklinin Oksidatif Stres, Sitokin ve Apoptozis Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde kafeik asit fenetil ester (KAFEE) ve/veya düşük doz doksisisiklin (DDD) uygulamalarında alveolar kemik yıkımı, periodontal yıkımda öne çıkan sitokin ve enzim seviyeleri, oksidatif durum ile ilişkili belirteç seviyeleri ve gingival apoptozis seviyeleri karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Metodlar: Çalışmamızda 48 erkek Wistar rat kullanıldı ve rastgele 5 gruba ayrıldı: Kontrol grubu (K, n=8); Periodontitis+KAFEE grubu (PK, n=10), Periodontitis+DDD grubu (PD, n=10); Periodontitis+KAFEE+DDD grubu (PKD, n=10) ve Periodontitis grubu (P, n=10). Deneysel periodontitis ligatür ile 14 gün indüklendi. KAFEE 10 µmol/kg/gün, DDD 10 mg/kg/gün dozunda uygulandı. Alveolar kemik seviyesi histomorfometrik olarak analiz edildi. Serumda sitokin (interlökin [IL]-1β, IL-6, tümör nekroz faktör-alfa [TNF-α] ve IL-10), enzim (matriks metalloproteinaz (MMP)-1 ve MMP-8), oksidan ve antioksidan parametre seviyeleri (malondialdehid [MDA], glutatyon [GSH] ve glutatyon peroksidaz [GSH-Px]) belirlendi. Gingival apoptozis düzeyleri değerlendirildi.

Sonuçlar: En yüksek sitokin, enzim, MDA ve gingival apoptozis seviyeleri alveolar kemik yıkımına paralel olarak P grubunda belirlendi. KAFEE ve/veya DDD'nin alveolar kemik yıkımını azatlığı görüldü. En düşük IL-1β, IL-6, MMP-8 ve TNF-α seviyeleri PK grubunda ölçüldü. MDA seviyeleri PK ve PKD gruplarında P grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşüktü. En yüksek GSH-Px seviyeleri bu iki grupta belirlendi. Gingival apoptozis düzeyleri PK grubunda PKD, PD ve K gruplarına kıyasla daha düşüktü.

Tartışma: Antienflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik etkiler değerlendirildiğinde KAFEE'nin DDD'den daha üstün olduğu ve DDD-KAFEE kombinasyonunun ilave yarar göstermediği dikkat çekti.

Anahtar Kelimeler: Alveolar kemik kaybı antioksidan; düşük doz doksisisiklin; kafeik asit fenetil ester; oksidatif stres; periodontitis; sitokinler.

ABSTRACT

The Evaluation of The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Doxycycline on Oxidative Stress, Cytokines and Apoptosis Levels in Experimental Periodontitis Model in Rats

Background: The aim of the present study was to evaluate the effects of CAPE and/or LDD administrations on alveolar bone loss, oxidative stress and gingival apoptosis in an experimental periodontitis rat model.

Method: The animals were randomly divided into five groups: Control group (C, n=8), Periodontitis+CAPE group (PC, n=10), Periodontitis+LDD group (PD, n=10), Periodontitis+CAPE+LDD group (PCD, n=10), and Periodontitis group (P, n=10). Experimental periodontitis was induced in all groups for 14 days. CAPE 10 $\mu\text{mol/kg/day}$ and LDD 10 mg/kg/day was administered. Alveolar bone loss (ABL), was analysed histomorphometrically. Serum cytokines (interleukin [IL]-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- alfa [TNF- α], and IL-10), enzymes (matrixmetalloproteinases [MMP]-1 and MMP-8), oxidant and antioxidant parameter levels (malondialdehyde [MDA], glutathione [GSH] and glutathione peroxidase [GSH-Px]) and gingival apoptosis levels were determined.

Results: The highest cytokine, enzyme, MDA and gingival apoptosis levels, parallely with ABL, were determined in the P group. CAPE and/or LDD reduced ABL. The lowest IL-1 β , IL-6, MMP-8, and TNF- α levels were determined in the PC group. MDA levels were significantly lower in the PC and PCD groups than P group. And the highest GSH-Px levels were evaluated in these two groups. In the PC group, gingival apoptosis levels were lower than the PD and C groups.

Conclusion: The present study suggested that CAPE has more antiinflammatory, antioxidant and antiapoptotic effects than LDD in ligature-induced periodontitis. And CAPE/LDD did not show any adjunctive benefits.

Keywords: Alveolar bone loss; antioxidant; caffeic acid phenethyl ester; cytokines; low dose doxycycline; oxidative stress; periodontitis.

KAYNAKLAR

1. Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *J Periodontol*. 2008; 79(3): 501-507.
2. Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 Suppl 6: 108-129.
3. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000; 117(4): 1162-1172.
4. Yucel OO, Berker E, Gariboglu S, Otlu H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(5): 365-370.
5. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997; 14: 112-143.
6. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(12): 1046-1052.
7. Bretz WA. Low-dose doxycycline plus additional therapies may lower systemic inflammation in postmenopausal women with periodontitis. *J Evid Based Dent Pract*. 2012; 12(3 Suppl): 67-68.
8. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Aug;21(4):256-260.
9. Pradeep AR, Agarwal E, Bajaj P, Naik SB, Shanbhag N, Uma SR. Clinical and microbiologic effects of commercially available gel and powder containing *Acacia arabica* on gingivitis. *Aust Dent J*. 2012; 57(3): 312-318.
10. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993; 4(2): 197-250.
11. Kimura S, Yonemura T, Kaya H. Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 1993; 28(3): 197-203.
12. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem*. 2002; 2(2): 181-197.
13. Babbs CF, Steiner MG. Simulation of free radical reactions in biology and medicine: a new two-compartment kinetic model of intracellular lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*. 1990; 8(5): 471-485.

14. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot.* 2003; 91 Spec No: 179-194.
15. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994; 344(8924): 721-724.
16. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res* 2003; 34(1): 1-10.
17. Sobaniec H, Sobaniec-Lotowska ME. Morphological examinations of hard tissues of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit* 2000; 6(5): 875-881.
18. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Mittal M, Singh B, Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2014; 85(5): 713-720.
19. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res* 1999; 424(1-2): 83-95.
20. Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis* 2008; 14(8): 754-760.
21. Cohen JJ. Programmed cell death in the immune system. *Adv Immunol* 1991; 50: 55-85.
22. Eriksson D, Stigbrand T. Radiation-induced cell death mechanisms. *Tumour Biol* 2010; 31(4): 363-372.
23. Hapgood JP, Tomasicchio M. Modulation of HIV-1 virulence via the host glucocorticoid receptor: towards further understanding the molecular mechanisms of HIV-1 pathogenesis. *Arch Virol* 2010; 155(7): 1009-1019.
24. Vivarelli S, Wagstaff L, Piddini E. Cell wars: regulation of cell survival and proliferation by cell competition. *Essays Biochem* 2012; 53: 69-82.
25. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267(5203): 1456-1462.
26. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent* 2009; 3(2): 100-106.
27. Canakci CF, Cicek Y, Canakci V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc)* 2005; 70(6): 619-628.
28. Lee A, Whyte MK, Haslett C. Inhibition of apoptosis and prolongation of neutrophil functional longevity by inflammatory mediators. *J Leukoc Biol* 1993; 54(4): 283-288.
29. Mangan DF, Mergenhagen SE, Wahl SM. Apoptosis in human monocytes: possible role in chronic inflammatory diseases. *J Periodontol.* 1993; 64(5 Suppl): 461-466.

30. Akgul C, Moulding DA, Edwards SW. Molecular control of neutrophil apoptosis. *FEBS Lett* 2001; 487(3): 318-322.
31. Murray DA, Wilton JM. Lipopolysaccharide from the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* prevents apoptosis of HL60-derived neutrophils in vitro. *Infect Immun* 2003; 71(12): 7232-7235.
32. Gamonal J, Bascones A, Acevedo A, Blanco E, Silva A. Apoptosis in chronic adult periodontitis analyzed by in situ DNA breaks, electron microscopy, and immunohistochemistry. *J Periodontol.* 2001; 72(4): 517-525.
33. Schmid AI, Szendroedi J, Chmelik M, Krssak M, Moser E, Roden M. Liver ATP synthesis is lower and relates to insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34(2): 448-453.
34. Yamaoka Y, Sawa Y, Ebata N, Yoshida S, Kawasaki T. Desmosomal proteins in cultured and intact human periodontal ligament fibroblasts. *Tissue Cell* 1999; 31(6): 605-609.
35. Grevstad HJ. Doxycycline prevents root resorption and alveolar bone loss in rats after periodontal surgery. *Scand J Dent Res* 1993; 101(5): 287-291.
36. Ramamurthy NS, Schroeder KL, McNamara TF, Gwinnett AJ, Evans RT, Bosko C, et al. Root-surface caries in rats and humans: inhibition by a non-antimicrobial property of tetracyclines. *Adv Dent Res* 1998; 12(2): 43-50.
37. Liu J, Kuszynski CA, Baxter BT. Doxycycline induces Fas/Fas ligand-mediated apoptosis in Jurkat T lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 260(2): 562-567.
38. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54(2): 258-265.
39. Pruzanski W, Stefanski E, Vadas P, McNamara TF, Ramamurthy N, Golub LM. Chemically modified non-antimicrobial tetracyclines inhibit activity of phospholipases A2. *J Rheumatol* 1998; 25(9): 1807-1812.
40. Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, et al. Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71(4): 521-532.
41. Nogueira CR, Damasceno FM, de Aquino-Neto MR, de Andrade GM, Fontenele JB, de Medeiros TA, et al. Doxycycline protects against pilocarpine-induced convulsions in rats, through its antioxidant effect and modulation of brain amino acids. *Pharmacol Biochem Behav* 2011; 98(4): 525-532.
42. Bostanci N, Akgul B, Tsakanika V, Allaker RP, Hughes FJ, McKay IJ. Effects of low-dose doxycycline on cytokine secretion in human monocytes stimulated with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Cytokine* 2011; 56(3): 656-661.
43. Yagan A, Kesim S, Liman N. Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2014; 85(3): 478-489.

44. Akamatsu H, Asada M, Komura J, Asada Y, Niwa Y. Effect of doxycycline on the generation of reactive oxygen species: a possible mechanism of action of acne therapy with doxycycline. *Acta Derm Venereol* 1992; 72(3): 178-179.
45. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 73 Suppl 1: S21-9.
46. Pascual C, Gonzalez R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994; 41(1-2): 9-13.
47. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991; 35(1): 77-82.
48. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329(1-2): 21-24.
49. Fesen MR, Pommier Y, Leteurtre F, Hiroguchi S, Yung J, Kohn KW. Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol* 1994; 48(3): 595-608.
50. Ho HC, Chang HC, Ting CT, Kuo CY, Yang VC. Caffeic acid phenethyl ester inhibits proliferation and migration, and induces apoptosis in platelet-derived growth factor-BB-stimulated human coronary smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2012; 49(1): 24-32.
51. Fontanilla CV, Ma Z, Wei X, Klotsche J, Zhao L, Wisniewski P, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurodegeneration. *Neuroscience* 2011; 188: 135-141.
52. Chang WC, Hsieh CH, Hsiao MW, Lin WC, Hung YC, Ye JC. Caffeic acid induces apoptosis in human cervical cancer cells through the mitochondrial pathway. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2010; 49(4): 419-424.
53. Avci CB, Gunduz C, Baran Y, Sahin F, Yilmaz S, Dogan ZO, et al. Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(1): 41-47.
54. Celli N, Dragani LK, Murzilli S, Pagliani T, Poggi A. In vitro and in vivo stability of caffeic acid phenethyl ester, a bioactive compound of propolis. *J Agric Food Chem* 2007; 55(9): 3398-3407.
55. Akyol S, Ginis Z, Armutcu F, Ozturk G, Yigitoglu MR, Akyol O. The potential usage of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against chemotherapy-induced and radiotherapy-induced toxicity. *Cell Biochem Funct* 2012; 30(5): 438-443.
56. Ucan MC, Koparal M, Agacayak S, Gunay A, Ozgoz M, Atilgan S, et al. Influence of caffeic acid phenethyl ester on bone healing in a rat model. *J Int Med Res* 2013; 41(5): 1648-1654.
57. Toker H, Ozan F, Ozer H, Ozdemir H, Eren K, Yeler H. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2008; 79(6): 1089-1094.

58. Ramamurthy N, Bain S, Liang CT, Barnes J, Llavaneras A, Liu Y, et al. A combination of subtherapeutic doses of chemically modified doxycycline (CMT-8) and a bisphosphonate (clodronate) inhibits bone loss in the ovariectomized rat: a dynamic histomorphometric and gene expression study. *Curr Med Chem* 2001; 8(3): 295-303.
59. Buduneli E, Vardar-Sengul S, Buduneli N, Atilla G, Wahlgren J, Sorsa T. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, and laminin-5 gamma2 chain immunolocalization in gingival tissue of endotoxin-induced periodontitis in rats: effects of low-dose doxycycline and alendronate. *J Periodontol*. 2007; 78(1): 127-134.
60. Kraus JF, Riggins RS, Franti CE. Some epidemiologic features of motorcycle collision injuries. II. Factors associated with severity of injuries. *Am J Epidemiol* 1975; 102(1): 99-109.
61. Buduneli E, Vardar S, Buduneli N, Berdeli AH, Turkoglu O, Baskesen A, et al. Effects of combined systemic administration of low-dose doxycycline and alendronate on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2004; 75(11): 1516-1523.
62. Buduneli E, Buduneli N, Vardar-Sengul S, Kardesler L, Atilla G, Lappin D, et al. Systemic low-dose doxycycline and alendronate administration and serum interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein levels in rats. *J Periodontol*. 2005; 76(11): 1927-1933.
63. Llavaneras A, Ramamurthy NS, Heikkila P, Teronen O, Salo T, Rifkin BR, et al. A combination of a chemically modified doxycycline and a bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. *J Periodontol*. 2001; 72(8): 1069-1077.
64. Axer-Siegel R, Cotlear D, Priel E, Rosenblatt I, Snir M, Weinberger D. Indocyanine green angiography in high myopia. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2004; 35(2): 139-145.
65. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol*. 1992; 63(4 Suppl): 338-355.
66. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003; 74(3): 391-401.
67. Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile WV. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098: 230-251.
68. Mark LL, Haffajee AD, Socransky SS, Kent RL, Jr, Guerrero D, Kornman K, et al. Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1beta expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000; 35(3): 172-177.
69. Taubman MA, Valverde P, Han X, Kawai T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol*. 2005; 76(11 Suppl): 2033-2041.
70. Barksby HE, Nile CJ, Jaedicke KM, Taylor JJ, Preshaw PM. Differential expression of immunoregulatory genes in monocytes in response to *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Clin Exp Immunol* 2009; 156(3): 479-487.

71. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 727-52.
72. Schroeder HE, Lindhe J. Conversion of stable established gingivitis in the dog into destructive periodontitis. *Arch Oral Biol.* 1975; 20(12): 775-782.
73. Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1986; 13(5): 345-359.
74. Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine* 2005; 31(1): 34-40.
75. Borges I,Jr, Moreira EA, Filho DW, de Oliveira TB, da Silva MB, Frode TS. Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 45794.
76. Otenio CC, Fonseca I, Martins MF, Ribeiro LC, Assis NM, Ferreira AP, et al. Expression of IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, and iNOS in pregnant women with periodontal disease. *Genet Mol Res* 2012; 11(4): 4468-4478.
77. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996; 1(1): 821-878.
78. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *J Periodontol.* 2003; 74(1): 103-110.
79. Arend WP. Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 45(1): 101-106.
80. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol* 2000 2004; 35: 42-52.
81. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 519-550.
82. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 201; 54(1): 160-194.
83. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87(6): 2095-2147.
84. Havemose-Poulsen A, Holmstrup P. Factors affecting IL-1-mediated collagen metabolism by fibroblasts and the pathogenesis of periodontal disease: a review of the literature. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(2): 217-236.
85. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9(3): 248-266.
86. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 2010; 54(1): 160-194.
87. Kida Y, Kobayashi M, Suzuki T, Takeshita A, Okamatsu Y, Hanazawa S, et al. Interleukin-1 stimulates cytokines, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-1 production via activation of MAPK/AP-1 and NF-kappaB in human gingival fibroblasts. *Cytokine* 2005; 29(4): 159-168.
88. Zhou Q, Amar S. Identification of proteins differentially expressed in human monocytes exposed to *Porphyromonas gingivalis* and its purified components by high-throughput immunoblotting. *Infect Immun* 2006; 74(2): 1204-1214.

89. Bostanci N, Allaker RP, Belibasakis GN, Rangarajan M, Curtis MA, Hughes FJ, et al. *Porphyromonas gingivalis* antagonises *Campylobacter rectus* induced cytokine production by human monocytes. *Cytokine* 2007; 39(2): 147-156.
90. Handfield M, Baker HV, Lamont RJ. Beyond good and evil in the oral cavity: insights into host-microbe relationships derived from transcriptional profiling of gingival cells. *J Dent Res* 200; 87(3): 203-223.
91. Hamed M, Belibasakis GN, Cruchley AT, Rangarajan M, Curtis MA, Bostanci N. *Porphyromonas gingivalis* culture supernatants differentially regulate interleukin-1beta and interleukin-18 in human monocytic cells. *Cytokine* 2009; 45(2): 99-104.
92. Nares S, Moutsopoulos NM, Angelov N, Rangel ZG, Munson PJ, Sinha N, et al. Rapid myeloid cell transcriptional and proteomic responses to periodontopathogenic *Porphyromonas gingivalis*. *Am J Pathol* 2009; 174(4): 1400-1414.
93. Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LS, Leung CC, Peros WJ, Rynar JE, et al. Localization of interleukin-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol*. 1991; 62(1): 36-43.
94. Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K. Localization of interleukin-1 (IL-1) mRNA-expressing macrophages in human inflamed gingiva and IL-1 activity in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res*. 1993; 28(1): 35-42.
95. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand* 200; 59(3): 167-173.
96. O'Neill LA. The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunol Rev* 2008; 226: 10-18.
97. Wesa A, Galy A. Increased production of pro-inflammatory cytokines and enhanced T cell responses after activation of human dendritic cells with IL-1 and CD40 ligand. *BMC Immunol* 2002; 3: 14.
98. Ben-Sasson SZ, Hu-Li J, Quiel J, Cauchetaux S, Ratner M, Shapira I, et al. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(17): 7119-7124.
99. Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20(5 Suppl 27): S1-13.
100. Seymour GJ, Taylor JJ. Shouts and whispers: An introduction to immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol* 2000 2004; 35: 9-13.
101. Ma T, Miyanishi K, Suen A, Epstein NJ, Tomita T, Smith RL, et al. Human interleukin-1-induced murine osteoclastogenesis is dependent on RANKL, but independent of TNF-alpha. *Cytokine* 2004; 26(3): 138-144.
102. Gillespie MT. Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast differentiation and function. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(2): 103.
103. Harris KM, Fasano A, Mann DL. Cutting edge: IL-1 controls the IL-23 response induced by gliadin, the etiologic agent in celiac disease. *J Immunol* 2008; 181(7): 4457-4460.

104. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *J Immunol* 1998; 160(7): 3513-3521.
105. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990; 25(3): 156-163.
106. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Probst L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1991; 18(7): 548-554.
107. Tobon-Arroyave SI, Jaramillo-Gonzalez PE, Isaza-Guzman DM. Correlation between salivary IL-1beta levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol.* 2008; 53(4): 346-352.
108. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(1): 48-53.
109. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol* 2000 2010; 52(1): 163-206.
110. Suzuki M, Ishihara Y, Kamiya Y, Koide M, Fuma D, Fujita S, et al. Soluble interleukin-1 receptor type II levels in gingival crevicular fluid in aggressive and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(3): 495-500.
111. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, et al. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(7): 541-549.
112. Yoshinari N, Kawase H, Mitani A, Ito M, Sugiishi S, Matsuoka M, et al. Effects of scaling and root planing on the amounts of interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist and the mRNA expression of interleukin-1beta in gingival crevicular fluid and gingival tissues. *J Periodontal Res.* 2004; 39(3): 158-167.
113. Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 200; 72(7): 883-888.
114. Qadri T, Poddani P, Javed F, Tuner J, Gustafsson A. A short-term evaluation of Nd:YAG laser as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of periodontal inflammation. *J Periodontol.* 2010; 81(8): 1161-1166.
115. Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, et al. A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res.* 2010; 45(1): 148-152.
116. Kaushik R, Yeltiwar RK, Pushpanshu K. Salivary interleukin-1beta levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal phase I therapy and healthy controls: a case-control study. *J Periodontol.* 2011; 82(9): 1353-1359.

117. Rosalem W, Rescala B, Teles RP, Fischer RG, Gustafsson A, Figueredo CM. Effect of non-surgical treatment on chronic and aggressive periodontitis: clinical, immunologic, and microbiologic findings. *J Periodontol.* 2011; 82(7): 979-989.
118. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AG, et al. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1999; 70(6): 567-573.
119. Morandini AC, Sipert CR, Gasparoto TH, Gregghi SL, Passanezi E, Rezende ML, et al. Differential production of macrophage inflammatory protein-1alpha, stromal-derived factor-1, and IL-6 by human cultured periodontal ligament and gingival fibroblasts challenged with lipopolysaccharide from *P. gingivalis*. *J Periodontol.* 2010; 81(2): 310-317.
120. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15(1): 49-60.
121. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 1-21.
122. Graves DT, Fine D, Teng YT, Van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(2): 89-105.
123. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441(7090): 235-238.
124. Park SJ, Nakagawa T, Kitamura H, Atsumi T, Kamon H, Sawa S, et al. IL-6 regulates in vivo dendritic cell differentiation through STAT3 activation. *J Immunol* 2004; 173(6): 3844-3854.
125. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol.* 2000; 71(10): 1528-1534.
126. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol.* 2001; 72(5): 590-597.
127. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, et al. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res* 2004; 83(2): 156-160.
128. Lin SJ, Chen YL, Kuo MY, Li CL, Lu HK. Measurement of gp130 cytokines oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. *Cytokine* 2005; 30(4): 160-167.

129. Raunio T, Nixdorf M, Knuutila M, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. The extent of periodontal disease and the IL-6 -174 genotype as determinants of serum IL-6 level. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(12): 1025-1030.
130. Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res.* 2010; 45(1): 116-122.
131. Shimada Y, Komatsu Y, Ikezawa-Suzuki I, Tai H, Sugita N, Yoshie H. The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. *J Periodontol.* 2010; 81(8): 1118-1123.
132. Behle JH, Sedaghatfar MH, Demmer RT, Wolf DL, Celenti R, Kobschull M, et al. Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(4): 287-294.
133. Renvert S, Lindahl C, Roos-Jansaker AM, Lessem J. Short-term effects of an anti-inflammatory treatment on clinical parameters and serum levels of C-reactive protein and proinflammatory cytokines in subjects with periodontitis. *J Periodontol.* 2009; 80(6): 892-900.
134. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Pussinen PJ, et al. Periodontal treatment influences risk markers for atherosclerosis in patients with severe periodontitis. *Atherosclerosis* 2009; 206(2): 518-522.
135. Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Dufour L, Johnson E, Roopenian DC. CD4(+) T cells and the proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infect Immun* 1999; 67(6): 2804-2809.
136. Moreira PR, Lima PM, Sathler KO, Imanishi SA, Costa JE, Gomes RS, et al. Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol* 2007; 148(1): 119-126.
137. Nakaya H, Osawa G, Iwasaki N, Cochran DL, Kamoi K, Oates TW. Effects of bisphosphonate on matrix metalloproteinase enzymes in human periodontal ligament cells. *J Periodontol.* 2000; 71(7): 1158-1166.
138. Nishikawa M, Yamaguchi Y, Yoshitake K, Saeki Y. Effects of TNFalpha and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2002; 37(3): 167-176.
139. Berry PA, Antoniadis CG, Hussain MJ, McPhail MJ, Bernal W, Vergani D, et al. Admission levels and early changes in serum interleukin-10 are predictive of poor outcome in acute liver failure and decompensated cirrhosis. *Liver Int* 2010; 30(5): 733-740.
140. Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu Rev Immunol* 2004 ;22: 929-979.
141. O'Garra A, Barrat FJ, Castro AG, Vicari A, Hawrylowicz C. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. *Immunol Rev* 2008; 223: 114-131.
142. Mulligan MS, Warner RL, McDuffie JE, Bolling SF, Sarma JV, Ward PA. Regulatory role of Th-2 cytokines, IL-10 and IL-4, in cardiac allograft rejection. *Exp Mol Pathol* 2000; 69(1): 1-9.

143. Houri-Haddad Y, Soskolne WA, Halabi A, Shapira L. IL-10 gene transfer attenuates *P. gingivalis*-induced inflammation. *J Dent Res* 2007; 86(6): 560-564.
144. Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev* 2008; 226: 205-218.
145. Lee SF, Andrian E, Rowland E, Marquez IC. Immune response and alveolar bone resorption in a mouse model of *Treponema denticola* infection. *Infect Immun* 2009; 77(2): 694-698.
146. Al-Rasheed A, Scheerens H, Rennick DM, Fletcher HM, Tatakis DN. Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. *J Dent Res* 2003; 82(8): 632-635.
147. Carmody EE, Schwarz EM, Puzas JE, Rosier RN, O'Keefe RJ. Viral interleukin-10 gene inhibition of inflammation, osteoclastogenesis, and bone resorption in response to titanium particles. *Arthritis Rheum* 2002; 46(5): 1298-1308.
148. Claudino M, Garlet TP, Cardoso CR, de Assis GF, Taga R, Cunha FQ, et al. Down-regulation of expression of osteoblast and osteocyte markers in periodontal tissues associated with the spontaneous alveolar bone loss of interleukin-10 knockout mice. *Eur J Oral Sci* 2010; 118(1): 19-28.
149. De Rossi A, Rocha LB, Rossi MA. Interferon-gamma, interleukin-10, Intercellular adhesion molecule-1, and chemokine receptor 5, but not interleukin-4, attenuate the development of periapical lesions. *J Endod* 2008; 34(1): 31-38.
150. Zhang X, Teng YT. Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF-kappaB ligand-positive CD4⁺-Th1-cell-associated alveolar bone loss in vivo. *Infect Immun* 2006; 74(8): 4927-4931.
151. Sasaki H, Okamatsu Y, Kawai T, Kent R, Taubman M, Stashenko P. The interleukin-10 knockout mouse is highly susceptible to *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone loss. *J Periodontal Res.* 2004; 39(6): 432-441.
152. Luo Y, Gong Y, Yu Y. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms are associated with cyclosporin A-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(9): 1199-1207.
153. Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Glaser CH, et al. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2008; 43(1): 40-47.
154. Kinane DF, Lappin DF. Immune processes in periodontal disease: a review. *Ann Periodontol* 2002; 7(1): 62-71.
155. Ara T, Kurata K, Hirai K, Uchihashi T, Uematsu T, Imamura Y, et al. Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2009; 44(1): 21-27.
156. Ware CF. The TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14(3-4): 181-184.

157. Basaran Y, Basaran MM, Babacan KF, Ener B, Okay T, Gok H, et al. Serum tumor necrosis factor levels in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. *Angiology* 1993; 44(4): 332-337.
158. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 1997; 385(6618): 729-733.
159. Graves DT, Oskoui M, Volejnikova S, Naguib G, Cai S, Desta T, et al. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *J Dent Res* 2001; 80(10): 1875-1879.
160. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol* 2008; 214(2): 149-160.
161. Bobak P, Bodis-Wollner I, Guillory S. The effect of blur and contrast on VEP latency: comparison between check and sinusoidal and grating patterns. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 68(4): 247-255.
162. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol* 1998; 160(1): 403-409.
163. Meikle MC, Atkinson SJ, Ward RV, Murphy G, Reynolds JJ. Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodontal Res.* 1989; 24(3): 207-213.
164. Busso N, So A, Chobaz-Peclat V, Morard C, Martinez-Soria E, Talabot-Ayer D, et al. Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. *J Immunol* 2002; 168(2): 875-882.
165. Zhang YH, Heulsmann A, Tondravi MM, Mukherjee A, Abu-Amer Y. Tumor necrosis factor-alpha (TNF) stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis via coupling of TNF type 1 receptor and RANK signaling pathways. *J Biol Chem* 2001; 276(1): 563-568.
166. Juge-Aubry CE, Henrichot E, Meier CA. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19(4): 547-566.
167. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(5): 349-361.
168. Garlet GP, Cardoso CR, Campanelli AP, Ferreira BR, Avila-Campos MJ, Cunha FQ, et al. 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(1): 128-138.
169. 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(9): 2176-2184.

170. Cutler CW, Stanford TW, Abraham C, Cederberg RA, Boardman TJ, Ross C. Clinical benefits of oral irrigation for periodontitis are related to reduction of pro-inflammatory cytokine levels and plaque. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(2): 134-143.
171. Yamazaki K, Honda T, Oda T, Ueki-Maruyama K, Nakajima T, Yoshie H, et al. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2005; 40(1): 53-58.
172. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *J Periodontol.* 2011; 82(6): 885-892.
173. Mengel R, Bacher M, Flores-De-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-1beta, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(11): 1012-1022.
174. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, et al. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(3): 233-240.
175. Kerrigan JJ, Mansell JP, Sandy JR. Matrix turnover. *J Orthod* 2000; 27(3): 227-233.
176. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90(3): 251-262.
177. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274(31): 21491-21494.
178. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(3): 187-198.
179. Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(2): 121-131.
180. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol* 2000 2000; 24: 226-238.
181. Ryan ME, Ramamurthy S, Golub LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol* 1996; 3: 85-96.
182. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004; 10(6): 311-318.
183. Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998; 12(2): 12-26.
184. Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S, Etienne D, Walker C, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(9): 697-707.

- 185.Sorsa T, Tjaderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006; 38(5): 306-321.
- 186.Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* 1997; 58(6): 520-528.
- 187.Aiba T, Akeno N, Kawane T, Okamoto H, Horiuchi N. Matrix metalloproteinases-1 and -8 and TIMP-1 mRNA levels in normal and diseased human gingivae. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(5-6): 562-569.
- 188.188.Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa PL, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N, et al. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1996; 75(8): 1553-1563.
- 189.Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. *J Neurooncol* 1994; 18(2): 105-109.
- 190.Loo WT, Wang M, Jin LJ, Cheung MN, Li GR. Association of matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-3 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and their proteins with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2011; 56(10): 1081-1090.
- 191.Nomura T, Takahashi T, Hara K. Expression of TIMP-1, TIMP-2 and collagenase mRNA in periodontitis-affected human gingival tissue. *J Periodontal Res*. 1993; 28(5): 354-362.
- 192.Gordon JL, Drummond AH, Galloway WA. Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11 Suppl 8: S91-4.
- 193.Kiili M, Cox SW, Chen HY, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(3): 224-232.
- 194.Tervahartiala T, Pirila E, Ceponis A, Maisi P, Salo T, Tuter G, et al. The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res* 2000; 79(12): 1969-1977.
- 195.Prikk K, Maisi P, Pirila E, Sepper R, Salo T, Wahlgren J, et al. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol* 2001; 194(2): 232-238.
- 196.Prikk K, Maisi P, Pirila E, Reintam MA, Salo T, Sorsa T, et al. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest* 2002; 82(11): 1535-1545.
- 197.Krupinski J, Turu MM, Font MA, Ahmed N, Sullivan M, Rubio F, et al. Increased tissue factor, MMP-8, and D-dimer expression in diabetic patients with unstable advanced carotid atherosclerosis. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3(4): 405-412.

198. Tuomainen AM, Nyysönen K, Laukkanen JA, Tervahartiala T, Tuomainen TP, Salonen JT, et al. Serum matrix metalloproteinase-8 concentrations are associated with cardiovascular outcome in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(12): 2722-2728.
199. Pirila E, Ramamurthy NS, Sorsa T, Salo T, Hietanen J, Maisi P. Gelatinase A (MMP-2), collagenase-2 (MMP-8), and laminin-5 gamma2-chain expression in murine inflammatory bowel disease (ulcerative colitis). *Dig Dis Sci* 2003; 48(1): 93-98.
200. Wahlgren J, Maisi P, Sorsa T, Sutinen M, Tervahartiala T, Pirila E, et al. Expression and induction of collagenases (MMP-8 and -13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *J Pathol* 2001; 194(2): 217-224.
201. Korpi JT, Kervinen V, Maklin H, Vaananen A, Lahtinen M, Laara E, et al. Collagenase-2 (matrix metalloproteinase-8) plays a protective role in tongue cancer. *Br J Cancer* 2008; 98(4): 766-775.
202. Balbin M, Fueyo A, Tester AM, Pendas AM, Pitiot AS, Astudillo A, et al. Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice. *Nat Genet* 2003; 35(3): 252-257.
203. Moilanen M, Pirila E, Grenman R, Sorsa T, Salo T. Expression and regulation of collagenase-2 (MMP-8) in head and neck squamous cell carcinomas. *J Pathol* 2002 ; 197(1): 72-81.
204. Gueders MM, Balbin M, Rocks N, Foidart JM, Gosset P, Louis R, et al. Matrix metalloproteinase-8 deficiency promotes granulocytic allergen-induced airway inflammation. *J Immunol* 2005; 175(4): 2589-2597.
205. Gutierrez-Fernandez A, Inada M, Balbin M, Fueyo A, Pitiot AS, Astudillo A, et al. Increased inflammation delays wound healing in mice deficient in collagenase-2 (MMP-8). *FASEB J* 2007; 21(10): 2580-2591.
206. Owen CA, Hu Z, Lopez-Otin C, Shapiro SD. Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol* 2004; 172(12): 7791-7803.
207. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(12): 1127-1132.
208. Mantyla P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res.* 2003; 38(4): 436-439.
209. McCulloch CA. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1994; 21(7): 497-506.
210. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(3C): 14S-22S.
211. Storz G, Imlay JA. Oxidative stress. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2(2): 188-194.

212. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(9-10): 916-921.
213. Battino M, Gorini A, Villa RF, Genova ML, Bovina C, Sassi S, et al. Coenzyme Q content in synaptic and non-synaptic mitochondria from different brain regions in the ageing rat. *Mech Ageing Dev* 1995; 78(3): 173-187.
214. Durak I, Kacmaz M, Cimen MY, Buyukkocak S, Elgun S, Ozturk HS. The effects of cyclosporine on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in rabbit hepatic tissues. *Transpl Immunol* 2002; 10(4): 255-258.
215. Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, et al. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2005; 40(5): 378-384.
216. Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett* 2005; 10(2): 255-264.
217. 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(4): 316-328.
218. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(7): 558-565.
219. Tuter G, Kurtis B, Serdar M, Yucel A, Ayhan E, Karaduman B, et al. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(9): 1011-1015.
220. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
221. Dahiya P, Kamal R, Gupta R, Bhardwaj R, Chaudhary K, Kaur S. Reactive oxygen species in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 2013; 17(4): 411-416.
222. Noguchi N, Nakano K, Aratani Y, Koyama H, Kodama T, Niki E. Role of myeloperoxidase in the neutrophil-induced oxidation of low density lipoprotein as studied by myeloperoxidase-knockout mouse. *J Biochem* 2000; 127(6): 971-976.
223. Yilmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I, Ozcelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol* 2004; 18(4): 234-238.
224. Naziroglu M, Kilinc F, Uguz AC, Celik O, Bal R, Butterworth PJ, et al. Oral vitamin C and E combination modulates blood lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in maximal exercising basketball players. *Cell Biochem Funct* 2010; 28(4): 300-305.
225. Bhamre S, Nuzzo RL, Whitin JC, Olshen RA, Cohen HJ. Intracellular reduction of selenite into glutathione peroxidase. Evidence for involvement of NADPH and not glutathione as the reductant. *Mol Cell Biochem.* 2000; 211(1-2): 9-17.

- 226.Zachara BA, Gromadzinska J, Wasowicz W, Zbrog Z. Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review. *Acta Biochim Pol* 2006; 53(4): 663-677.
- 227.Cheng W, Fu YX, Porres JM, Ross DA, Lei XG. Selenium-dependent cellular glutathione peroxidase protects mice against a pro-oxidant-induced oxidation of NADPH, NADH, lipids, and protein. *FASEB J* 1999; 13(11): 1467-1475.
- 228.Hall AG. Review: The role of glutathione in the regulation of apoptosis. *Eur J Clin Invest* 1999; 29(3): 238-245.
- 229.Salinas AE, Wong MG. Glutathione S-transferases--a review. *Curr Med Chem* 1999; 6(4): 279-309.
- 230.Halliwell B. Oral inflammation and reactive species: a missed opportunity? *Oral Dis* 2000; 6(3): 136-137.
- 231.Chapple IL. Oxidative stress, nutrition and neutrogenomics in periodontal health and disease. *Int J Dent Hyg* 2006; 4 Suppl 1: 15-21; discussion 50-2.
- 232.Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol* 2000 2007; 43: 160-232.
- 233.Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994; 269(13): 9889-9897.
- 234.Graves DT, Kayal RA. Diabetic complications and dysregulated innate immunity. *Front Biosci* 2008; 13: 1227-1239.
- 235.Samanna V, Ma T, Mak TW, Rogers M, Chellaiah MA. Actin polymerization modulates CD44 surface expression, MMP-9 activation, and osteoclast function. *J Cell Physiol* 2007; 213(3): 710-720.
- 236.Vernal R, Dezerega A, Dutzan N, Chaparro A, Leon R, Chandia S, et al. RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. *Oral Dis* 2006; 12(3): 283-289.
- 237.Miricescu D, Totan A, Calenic B, Mocanu B, Didilescu A, Mohora M, et al. Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand* 2014; 72(1): 42-47.
- 238.Tonguc MO, Ozturk O, Sutcu R, Ceyhan BM, Kilinc G, Sonmez Y, et al. The impact of smoking status on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2011; 82(9): 1320-1328.
- 239.Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J* 2010; 55(1): 70-78.
- 240.Oktay S, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Velsko IM, Holliday S, Kesavalu LN. Periodontitis in Rats Induces Systemic Oxidative Stress That is Controlled by Bone-Targeted Antiresorptives. *J Periodontol*. 2014: 1-11.

241. Will A, Blank C, Rollinghoff M, Moll H. Murine epidermal Langerhans cells are potent stimulators of an antigen-specific T cell response to *Leishmania major*, the cause of cutaneous leishmaniasis. *Eur J Immunol* 1992; 22(6): 1341-1347.
242. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(7): 515-521.
243. Soory M. Inflammatory mechanisms and redox status in periodontal and cardiometabolic diseases: effects of adjunctive nutritional antioxidants and statins. *Infect Disord Drug Targets* 2012; 12(4): 301-315.
244. Bastos AS, Graves DT, Loureiro AP, Rossa Junior C, Abdalla DS, Faulin Tdo E, et al. Lipid peroxidation is associated with the severity of periodontal disease and local inflammatory markers in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(8): E1353-62.
245. Chapple IL, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol* 2002; 55(6): 367-373.
246. Pavlica Z, Petelin M, Nemec A, Erzen D, Skaleric U. Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res* 2004; 65(11): 1584-1588.
247. Chapple IL, Milward MR, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr* 2007; 137(3): 657-664.
248. Mattson MP, Chan SL. Calcium orchestrates apoptosis. *Nat Cell Biol* 2003; 5(12): 1041-1043.
249. Schwartz LM, Kosz L, Kay BK. Gene activation is required for developmentally programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(17): 6594-6598.
250. Osborne BA. Induction of genes during apoptosis: examples from the immune system. *Semin Cancer Biol* 1995; 6(1): 27-33.
251. Ameisen JC. The origin of programmed cell death. *Science* 1996; 272(5266): 1278-1279.
252. Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell* 1986; 44(6): 817-829.
253. Vaux DL, Haecker G, Strasser A. An evolutionary perspective on apoptosis. *Cell* 1994; 76(5):777-779.
254. Hengartner MO, Ellis RE, Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* gene *ced-9* protects cells from programmed cell death. *Nature* 1992; 356(6369): 494-499.
255. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26(4): 239-257.
256. Popov SG, Villasmil R, Bernardi J, Grene E, Cardwell J, Wu A, et al. Lethal toxin of *Bacillus anthracis* causes apoptosis of macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293(1): 349-355.

257. Brune B. Nitric oxide: NO apoptosis or turning it ON? *Cell Death Differ* 2003; 10(8): 864-869.
258. Martorelli de Lima AF, Cury CC, Palioto DB, Duro AM, da Silva RC, Wolff LF. Therapy with adjunctive doxycycline local delivery in patients with type 1 diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(8): 648-653.
259. Mountz JD, Zhou T, Su X, Cheng J, Pierson M, Bluethmann H, et al. Autoimmune disease results from multiple interactive defects in apoptosis induction molecules and signaling pathways. *Behring Inst Mitt* 1996; (97)(97): 200-219.
260. Xu C, Hao Y, Wei B, Ma J, Li J, Huang Q, et al. Apoptotic gene expression by human periodontal ligament cells following cyclic stretch. *J Periodontal Res*. 2011; 46(6): 742-748.
261. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 2002; 296(5573): 1635-1636.
262. Dejean LM, Martinez-Caballero S, Kinnally KW. Is MAC the knife that cuts cytochrome c from mitochondria during apoptosis? *Cell Death Differ* 2006; 13(8): 1387-1395.
263. Susin SA, Daugas E, Ravagnan L, Samejima K, Zamzami N, Loeffler M, et al. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J Exp Med* 2000; 192(4): 571-580.
264. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999; 397(6718): 441-446.
265. Del Puerto HL, Martins AS, Milsted A, Souza-Fagundes EM, Braz GF, Hissa B, et al. Canine distemper virus induces apoptosis in cervical tumor derived cell lines. *Virology* 2011; 8: 334-422X-8-334.
266. Liu HC, Chen GG, Vlantis AC, Tse GM, Chan AT, van Hasselt CA. Inhibition of apoptosis in human laryngeal cancer cells by E6 and E7 oncoproteins of human papillomavirus 16. *J Cell Biochem* 2008; 103(4): 1125-1143.
267. Niu XY, Peng ZL, Duan WQ, Wang H, Wang P. Inhibition of HPV 16 E6 oncogene expression by RNA interference in vitro and in vivo. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16(2): 743-751.
268. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Dec 29; 266(3): 699-717.
269. Farhana L, Dawson MI, Fontana JA. Apoptosis induction by a novel retinoid-related molecule requires nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Res* 2005; 65(11): 4909-4917.
270. Lee JC, Chen HH, Wei HL, Chao YC. Superinfection-induced apoptosis and its correlation with the reduction of viral progeny in cells persistently infected with Hz-1 baculovirus. *J Virol* 1993; 67(12): 6989-6994.

271. Kandel D. Reaching the hard-to-reach: illicit drug use among high school absentees. *Addict Dis* 1975; 1(4): 465-480.
272. Johansson A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response. *Toxins (Basel)* 2011; 3(3): 242-259.
273. Pulla VK, Battu MB, Alvala M, Sriram D, Yogeewari P. Can targeting SIRT-1 to treat type 2 diabetes be a good strategy? A review. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16(8): 819-832.
274. Chen Z, Casiano CA, Fletcher HM. Protease-active extracellular protein preparations from *Porphyromonas gingivalis* W83 induce N-cadherin proteolysis, loss of cell adhesion, and apoptosis in human epithelial cells. *J Periodontol.* 2001; 72(5): 641-650.
275. Johansson A, Kalfas S. Characterization of the proteinase-dependent cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis*. *Eur J Oral Sci* 1998; 106(4): 863-871.
276. Morioka M, Hinode D, Nagata A, Hayashi H, Ichimiya S, Ueda M, et al. Cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis* toward cultured human gingival fibroblasts. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8(4): 203-207.
277. Shah HN, Gharbia SE, O'Toole CM. Assessment of the relative cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis* cells, products, and components on human epithelial cell lines. *J Periodontol.* 1992; 63(1): 44-51.
278. Featherly K. Emerging technologies: The PARIS project. *Healthc Inform* 2005; 22(1): 25.
279. Wang PL, Shirasu S, Shinohara M, Daito M, Oido M, Kowashi Y, et al. Induction of apoptosis in human gingival fibroblasts by a *Porphyromonas gingivalis* protease preparation. *Arch Oral Biol.* 1999; 44(4): 337-342.
280. Baba A, Abe N, Kadowaki T, Nakanishi H, Ohishi M, Asao T, et al. Arg-gingipain is responsible for the degradation of cell adhesion molecules of human gingival fibroblasts and their death induced by *Porphyromonas gingivalis*. *Biol Chem* 2001; 382(5): 817-824.
281. Hintermann E, Haake SK, Christen U, Sharabi A, Quaranta V. Discrete proteolysis of focal contact and adherens junction components in *Porphyromonas gingivalis*-infected oral keratinocytes: a strategy for cell adhesion and migration disabling. *Infect Immun* 2002; 70(10): 5846-5856.
282. Katz J, Yang QB, Zhang P, Potempa J, Travis J, Michalek SM, et al. Hydrolysis of epithelial junctional proteins by *Porphyromonas gingivalis* gingipains. *Infect Immun* 2002; 70(5): 2512-2518.
283. Tada H, Sugawara S, Nemoto E, Imamura T, Potempa J, Travis J, et al. Proteolysis of ICAM-1 on human oral epithelial cells by gingipains. *J Dent Res* 2003; 82(10): 796-801.
284. Nakhjiri SF, Park Y, Yilmaz O, Chung WO, Watanabe K, El-Sabaeny A, et al. Inhibition of epithelial cell apoptosis by *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 200(2): 145-149.

285. Yilmaz O, Jungas T, Verbeke P, Ojcius DM. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway contributes to survival of primary epithelial cells infected with the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 2004; 72(7): 3743-3751.
286. Moulding DA, Akgul C, Derouet M, White MR, Edwards SW. BCL-2 family expression in human neutrophils during delayed and accelerated apoptosis. *J Leukoc Biol* 2001; 70(5): 783-792.
287. Ekuni D, Endo Y, Irie K, Azuma T, Tamaki N, Tomofuji T, et al. Imbalance of oxidative/anti-oxidative status induced by periodontitis is involved in apoptosis of rat submandibular glands. *Arch Oral Biol*. 2010; 55(2): 170-176.
288. Vardar-Sengul S, Arora S, Baylas H, Mercola D. Expression profile of human gingival fibroblasts induced by interleukin-1beta reveals central role of nuclear factor-kappa B in stabilizing human gingival fibroblasts during inflammation. *J Periodontol*. 2009; 80(5): 833-849.
289. Epner DE, Sawa A, Isaacs JT. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression during apoptosis and proliferation of rat ventral prostate. *Biol Reprod* 1999; 61(3): 687-691.
290. Bharti AC, Aggarwal BB. Ranking the role of RANK ligand in apoptosis. *Apoptosis* 2004; 9(6): 677-690.
291. Zhang YJ, Xu L, Wang XD, Shi L, Wang ZF. Effects of vascular endothelial growth factor on apoptosis of sinusoidal endothelial cells caused by ethanol: experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2007; 87(44): 3138-3142.
292. Alikhani M, Alikhani Z, Graves DT. Apoptotic effects of LPS on fibroblasts are indirectly mediated through TNFR1. *J Dent Res* 2004; 83(9): 671-676.
293. Mori G, Brunetti G, Colucci S, Ciccolella F, Coricciati M, Pignataro P, et al. Alteration of activity and survival of osteoblasts obtained from human periodontitis patients: role of TRAIL. *J Biol Regul Homeost Agents* 2007; 21(3-4): 105-114.
294. Nielsen H. Acute febrile neutrophilic dermatosis (Sweet's syndrome) in metastatic breast cancer. *Eur J Cancer* 1992; 28A(8-9): 1590-1591.
295. Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2000; 24: 239-252.
296. Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003; 8(1): 12-37.
297. Bhatavadekar NB, Williams RC. New directions in host modulation for the management of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2009; 36(2): 124-126.
298. Leitao RF, Ribeiro RA, Chaves HV, Rocha FA, Lima V, Brito GA. Nitric oxide synthase inhibition prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2005; 76(6): 956-963.
299. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000; 35(6): 369-373.

300. Trepicchio WL, Bozza M, Pedneault G, Dorner AJ. Recombinant human IL-11 attenuates the inflammatory response through down-regulation of proinflammatory cytokine release and nitric oxide production. *J Immunol.* 1996; 157(8): 3627-3634.
301. Martuscelli G, Fiorellini JP, Crohin CC, Howell TH. The effect of interleukin-11 on the progression of ligature-induced periodontal disease in the beagle dog. *J Periodontol.* 2000; 71(4): 573-578.
302. Leng SX, Elias JA. Interleukin-11 inhibits macrophage interleukin-12 production. *J Immunol.* 1997; 159(5): 2161-2168.
303. Vardar S, Buduneli E, Baylas H, Berdeli AH, Buduneli N, Atilla G. Individual and combined effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitor and omega-3 fatty acid on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2005; 76(1): 99-106.
304. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000.* 2008; 48: 92-110.
305. Soeken KL, Miller SA, Ernst E. Herbal medicines for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford).* 2000; 42(5): 652-659.
306. Spelman K, Burns J, Nichols D, Winters N, Ottersberg S, Tenborg M. Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Altern Med Rev.* 2006; 11(2): 128-150.
307. Kim MS, Yi JM, Kim SH, Hong SH, Kim HM. Madimadi, Korean folk medicine, blocks TNF-alpha, IL-1beta, and IL-8 production by activated human immune cells. *Cytokine.* 2004; 25(4): 179-186.
308. Plaeger SF. Clinical immunology and traditional herbal medicines. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003; 10(3): 337-338.
309. Golub LM, Suomalainen K, Sorsa T. Host modulation with tetracyclines and their chemically modified analogues. *Curr Opin Dent.* 1992; 2: 80-90.
310. Nelson ML. Chemical and biological dynamics of tetracyclines. *Adv Dent Res.* 1998; 12(2): 5-11.
311. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001; 65(2): 232-60.
312. Goodson JM. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994; 5: 142-168.
313. Shapira L, Soskolne WA, Houry Y, Barak V, Halabi A, Stabholz A. Protection against endotoxic shock and lipopolysaccharide-induced local inflammation by tetracycline: correlation with inhibition of cytokine secretion. *Infect Immun.* 1996; 64(3): 825-828.
314. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino A, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1984; 19(6): 651-655.

- 315.Sorsa T, Saari H, Kontinen YT, Suomalainen K, Lindy S, Uitto VJ. Non-proteolytic activation of latent human neutrophil collagenase and its role in matrix destruction in periodontal diseases. *Int J Tissue React.* 1989; 11(4): 153-159.
- 316.Golub LM, Lee HM, Lehrer G, Nemiroff A, McNamara TF, Kaplan R, et al. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J Periodontal Res.* 1983; 18(5): 516-526.
- 317.Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Greenwald RA, Rifkin BR. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: new therapeutic implications for an old family of drugs. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991; 2(3): 297-321.
- 318.Michaelis J, Vissers MC, Winterbourn CC. Human neutrophil collagenase cleaves alpha 1-antitrypsin. *Biochem J.* 1990; 270(3): 809-814.
- 319.Golub LM, Evans RT, McNamara TF, Lee HM, Ramamurthy NS. A non-antimicrobial tetracycline inhibits gingival matrix metalloproteinases and bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis in rats. *Ann N Y Acad Sci.* 1994; 732: 96-111.
- 320.Gomes BC, Golub LM, Ramamurthy NS. Tetracyclines inhibit parathyroid hormone-induced bone resorption in organ culture. *Experientia.* 1984; 40(11): 1273-1275.
- 321.Park JB. Effects of doxycycline, minocycline, and tetracycline on cell proliferation, differentiation, and protein expression in osteoprecursor cells. *J Craniofac Surg.* 2011; 22(5): 1839-1842.
- 322.Ozdemir SP, Kurtis B, Tuter G, Bozkurt S, Gultekin SE, Senguven B, et al. Effects of low-dose doxycycline and bisphosphonate clodronate on alveolar bone loss and gingival levels of matrix metalloproteinase-9 and interleukin-1beta in rats with diabetes: a histomorphometric and immunohistochemical study. *J Periodontol.* 2012; 83(9): 1172-1182.
- 323.Wikesjo UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res.* 1986; 21(4): 322-329.
- 324.Terranova VP, Hic S, Franzetti L, Lyall RM, Wikesjo UM. A biochemical approach to periodontal regeneration. AFSCM: assays for specific cell migration. *J Periodontol.* 1987; 58(4): 247-257.
- 325.Peros WJ, Gibbons RJ. Influence of sublethal antibiotic concentrations on bacterial adherence to saliva-treated hydroxyapatite. *Infect Immun.* 1982; 35(1): 326-334.
- 326.Tamargo RJ, Bok RA, Brem H. Angiogenesis inhibition by minocycline. *Cancer Res.* 1991; 51(2): 672-675.
- 327.Hanemaaijer R, Visser H, Koolwijk P, Sorsa T, Salo T, Golub LM, et al. Inhibition of MMP synthesis by doxycycline and chemically modified tetracyclines (CMTs) in human endothelial cells. *Adv Dent Res.* 1998; 12(2): 114-118.

328. Yrjanheikki J, Tikka T, Keinanen R, Goldsteins G, Chan PH, Koistinaho J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(23): 13496-13500.
329. Louis F. Rose, Robert J. Genco, D. Walter Cohen, Brian L. Mealey. *Periodontal Medicine*. 2000.
330. Golub LM, Wolff M, Lee HM, McNamara TF, Ramamurthy NS, Zambon J, et al. Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodontal Res*. 1985; 20(1): 12-23.
331. Golub LM, Lee HM, Stoner JA, Sorsa T, Reinhardt RA, Wolff MS, et al. Subantimicrobial-dose doxycycline modulates gingival crevicular fluid biomarkers of periodontitis in postmenopausal osteopenic women. *J Periodontol*. 2008; 79(8): 1409-1418.
332. O'Dell JR, Elliott JR, Mallek JA, Mikuls TR, Weaver CA, Glickstein S, et al. Treatment of early seropositive rheumatoid arthritis: doxycycline plus methotrexate versus methotrexate alone. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(2): 621-627.
333. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol*. 1997; 24(10): 767-776.
334. Needleman I, Suvan J, Gilthorpe MS, Tucker R, St George G, Giannobile W, et al. A randomized-controlled trial of low-dose doxycycline for periodontitis in smokers. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(4): 325-333.
335. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Giannoni M, Monaco A. Long-term efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline as an adjunctive treatment to scaling and root planing: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2011; 82(11): 1570-1581.
336. Tanaka S. An electron-microscopic observation on the collagen fibril arrangement in the outermost layer of dog dentine as revealed by tangential sections. *Shika Kiso Igakkai Zasshi*. 1989 Dec; 31(6): 724-730.
337. Parvu AE, Alb SF, Craciun A, Taulescu MA. Efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline against nitrosative stress in chronic periodontitis. *Acta Pharmacol Sin*. 2013; 34(2): 247-254.
338. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993; 64(5 Suppl): 474-484.
339. Cazalis J, Bodet C, Gagnon G, Grenier D. Doxycycline reduces lipopolysaccharide-induced inflammatory mediator secretion in macrophage and ex vivo human whole blood models. *J Periodontol*. 2008; 79(9): 1762-1768.
340. Emingil G, Gurkan A, Atilla G, Kantarci A. Subantimicrobial-dose doxycycline and cytokine-chemokine levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontol*. 2011; 82(3): 452-461.

341. Michael G. Newman, Henry Takei, Perry R. Klokkevold and Fermin A. Carranza. Carranza's Clinical Periodontology. 10th ed.: Elsevier; 2006.
342. Wang X, Bowman PD, Kerwin SM, Stavchansky S. Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed Chromatogr.* 2007; 21(4): 343-350.
343. Natarajan K, Singh S, Burke TR, Jr, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93(17): 9090-9095.
344. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia.* 2002; 73 Suppl 1: S53-63.
345. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia.* 2002; 73 Suppl 1: S1-6.
346. Guarini L, Su ZZ, Zucker S, Lin J, Grunberger D, Fisher PB. Growth inhibition and modulation of antigenic phenotype in human melanoma and glioblastoma multiforme cells by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Cell Mol Biol.* 1992; 38(5): 513-527.
347. Kang NJ, Lee KW, Shin BJ, Jung SK, Hwang MK, Bode AM, et al. Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. *Carcinogenesis.* 2009; 30(2): 321-330.
348. Davarci I, Alp H, Ozgur T, Karcioğlu M, Tuzcu K, Evliyaoglu O, et al. Ameliorating effects of CAPE on oxidative damage caused by pneumoperitoneum in rat lung tissue. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7(7): 1698-1705.
349. Oktar S, Aydin M, Yonden Z, Alcin E, Ilhan S, Nacar A. Effects of caffeic acid phenethyl ester on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2010; 10(4): 298-302.
350. Vardi N, Parlakpinar H, Ozturk F, Acet A. Gentamicin-induced nephrotoxicity and protective effect of caffeic acid phenethyl ester in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005; 19(2): 173-177.
351. Goodwin JS, Ceuppens J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol.* 1983; 3(4): 295-315.
352. Honn KV, Grossi IM, Steinert BW, Chopra H, Onoda J, Nelson KK, et al. Lipoxygenase regulation of membrane expression of tumor cell glycoproteins and subsequent metastasis. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res.* 1989; 19: 439-443.
353. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston GA, Barrett JC. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Res.* 1995; 55(16): 3576-3583.

354. Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, Oltz EM, Efros L, Caldwell M, et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia*. 1988; 44(3): 230-232.
355. Su ZZ, Lin J, Grunberger D, Fisher PB. Growth suppression and toxicity induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in type 5 adenovirus-transformed rat embryo cells correlate directly with transformation progression. *Cancer Res*. 1994; 54(7): 1865-1870.
356. Weitzman SA, Gordon LI. Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. *Blood*. 1990; 76(4): 655-663.
357. Funk CD, Funk LB, Kennedy ME, Pong AS, Fitzgerald GA. Human platelet/erythroleukemia cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. *FASEB J*. 1991; 5(9): 2304-2312.
358. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem*. 1991; 266(20): 12866-12872.
359. Mestre JR, Subbaramaiah K, Sacks PG, Schantz SP, Tanabe T, Inoue H, et al. Retinoids suppress phorbol ester-mediated induction of cyclooxygenase-2. *Cancer Res*. 1997; 57(6): 1081-1085.
360. Mestre JR, Subbaramaiah K, Sacks PG, Schantz SP, Tanabe T, Inoue H, et al. Retinoids suppress epidermal growth factor-induced transcription of cyclooxygenase-2 in human oral squamous carcinoma cells. *Cancer Res*. 1997; 57(14): 2890-2895.
361. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, et al. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem*. 1998; 273(34): 21875-21882.
362. Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X, et al. Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), IL-6 and IL-1beta levels and ameliorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. *Biol Pharm Bull*. 2014; 37(3): 347-354.
363. Juman S, Yasui N, Ikeda K, Ueda A, Sakanaka M, Negishi H, et al. Caffeic acid phenethyl ester suppresses the production of pro-inflammatory cytokines in hypertrophic adipocytes through lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Biol Pharm Bull*. 2012; 35(11): 1941-1946.
364. Orban Z, Mitsiades N, Burke TR, Jr, Tsokos M, Chrousos GP. Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation. *Neuroimmunomodulation*. 2000; 7(2): 99-105.

- 365.Santos FA, Bastos EM, Rodrigues PH, de Uzeda M, de Carvalho MA, Farias Lde M, et al. Susceptibility of *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens* (and *Porphyromonas gingivalis*) to propolis (bee glue) and other antimicrobial agents. *Anaerobe*. 2002; 8(1): 9-15.
- 366.Coutinho A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment: a clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res* 2012; 23(2): 294-9290.100449.
- 367.Sanghani NN, Bm S, S S. Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis - a clinicomicrobiologic study. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(9): ZC41-4.
- 368.Gunay A, Arpag OF, Atilgan S, Yaman F, Atalay Y, Acikan I. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Des Devel Ther*. 2014; 8: 2069-2074.
- 369.Ang ES, Pavlos NJ, Chai LY, Qi M, Cheng TS, Steer JH, et al. Caffeic acid phenethyl ester, an active component of honeybee propolis attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via the suppression of RANKL-induced NF-kappaB and NFAT activity. *J Cell Physiol*. 2009; 221(3): 642-649.
- 370.Kaynak D, Meffert R, Gunhan M, Gunhan O, Ozkaya O. A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol*. 2000; 71(5): 790-796.
- 371.Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res*. 2003; 38(6): 543-550.
- 372.Hasturk H, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Kantarci A. 1-Tetradecanol complex: therapeutic actions in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2009; 80(7): 1103-1113.
- 373.Uz E, Sogut S, Sahin S, Var A, Ozyurt H, Gulec M, et al. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol*. 2002; 20(4): 264-270.
- 374.Saltman DL, Hunger SP, Turner GE. Molecular analysis of chromosome aberrations in hematological malignancies. Southern hybridization. *Methods Mol Biol*. 1994; 29: 437-448.
- 375.Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res*. 2003; 38(6): 543-550.
- 376.Grauballe MC, Bentzen BH, Bjornsson M, Moe D, Jonassen TE, Bendtzen K, et al. The effect of spironolactone on experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2005; 40(3): 212-217.

- 377.Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.* 1966; 16(2): 359-364.
- 378.Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25(1): 192-205.
- 379.Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1976; 71(4): 952-958.
- 380.Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275.
- 381.Lindhe J, Ericsson I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. *J Periodontol.* 1978; 49(7): 343-350.
- 382.Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1979; 6(5): 351-382.
- 383.Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol.* 1985; 56(8): 447-456.
- 384.Cosyn J, Sabzevar MM. A systematic review on the effects of subgingival chlorhexidine gel administration in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2005; 76(11): 1805-1813.
- 385.Silva JA, Lorencini M, Peroni LA, De La Hoz CL, Carvalho HF, Stach-Machado DR. The influence of type I diabetes mellitus on the expression and activity of gelatinases (matrix metalloproteinases-2 and -9) in induced periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2008; 43(1): 48-54.
- 386.Reiter RJ. Mechanisms of cancer inhibition by melatonin. *J Pineal Res.* 2004; 37(3): 213-214.
- 387.Schonberg SA, Rudra PK, Noding R, Skorpen F, Bjerve KS, Krokan HE. Evidence that changes in Se-glutathione peroxidase levels affect the sensitivity of human tumour cell lines to n-3 fatty acids. *Carcinogenesis.* 1997; 18(10): 1897-1904.
- 388.Tuzun A, Erdil A, Inal V, Aydin A, Bagci S, Yesilova Z, et al. Oxidative stress and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Biochem.* 2002; 35(7): 569-572.
- 389.Guarnieri C, Zucchelli G, Bernardi F, Sceda M, Valentini AF, Calandriello M. Enhanced superoxide production with no change of the antioxidant activity in gingival fluid of patients with chronic adult periodontitis. *Free Radic Res Commun.* 1991; 15(1): 11-16.
- 390.Wei PF, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2004; 39(5): 287-293.

391. Koulouri O, Lappin DF, Radvar M, Kinane DF. Cell division, synthetic capacity and apoptosis in periodontal lesions analysed by in situ hybridisation and immunohistochemistry. *J Clin Periodontol.* 1999; 26(8): 552-559.
392. Bonelli J, Waldhausl W, Magometschnigg D, Schwarzmeier J, Korn A, Hitzberger G. Effect of exercise and of prolonged oral administration of propranolol on haemodynamic variables, plasma renin concentration, plasma aldosterone and c-AMP. *Eur J Clin Invest.* 1977; 7(5): 337-343.
393. Pontes Andersen CC, Flyvbjerg A, Buschard K, Holmstrup P. Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies. *J Periodontol.* 2007; 78(7): 1264-1275.
394. Listgarten MA. Similarity of epithelial relationships in the gingiva of rat and man. *J Periodontol.* 1975; 46(11): 677-680.
395. Higuchi T, Kinoshita A, Takahashi K, Oda S, Ishikawa I. Bone regeneration by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in rat mandibular defects. An experimental model of defect filling. *J Periodontol.* 1999; 70(9): 1026-1031.
396. Tani-Ishii N, Minamida G, Saitoh D, Chieda K, Omuro H, Sugaya A, et al. Inhibitory effects of incadronate on the progression of rat experimental periodontitis by porphyromonas gingivalis infection. *J Periodontol.* 2003; 74(5): 603-609.
397. Polak D, Wilensky A, Shapira L, Halabi A, Goldstein D, Weiss EI, et al. Mouse model of experimental periodontitis induced by Porphyromonas gingivalis/Fusobacterium nucleatum infection: bone loss and host response. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(5): 406-410.
398. Rogers JE, Li F, Coatney DD, Rossa C, Bronson P, Krieder JM, et al. Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide-mediated experimental bone loss model for aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78(3): 550-558.
399. Rogers JE, Li F, Coatney DD, Otremba J, Kriegl JM, Protter TA, et al. A p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor arrests active alveolar bone loss in a rat periodontitis model. *J Periodontol.* 2007; 78(10): 1992-1998.
400. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Turnage AA, Naftel JP, et al. Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009; 44(1): 133-140.
401. Di Paola R, Mazzon E, Zito D, Maiere D, Britti D, Genovese T, et al. Effects of Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(10): 1062-1068.
402. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004; 39(2): 101-106.
403. Toker H, Ozdemir H, Eren K, Ozer H, Sahin G. N-acetylcysteine, a thiol antioxidant, decreases alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2009; 80(4): 672-678.

404. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35(5): 613-616.
405. Ha J, Choi HS, Lee Y, Lee ZH, Kim HH. Caffeic acid phenethyl ester inhibits osteoclastogenesis by suppressing NF kappaB and downregulating NFATc1 and c-Fos. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9(6): 774-780.
406. Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 299(3): 915-920.
407. Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Cetin A, Yakan B. Alveolar Bone Protective and Hypoglycemic Effects of Systemic Propolis Treatment in Experimental Periodontitis and Diabetes Mellitus. *J Med Food.* 2014.
408. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004; 32(7): 511-520.
409. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gurgan C, Sorsa T, Konttinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J Dent Res.* 2007; 86(4): 347-351.
410. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol.* 2000; 71(8): 1375-1384.
411. Ma S, Guo J, You X, Xia W, Yan F. Expressions of interleukin-1beta and interleukin-6 within aortas and uteri of rats with various severities of ligature-induced periodontitis. *Inflammation* 2011; 34(4): 260-268.
412. Tokoro Y, Yamamoto T, Hara K. IL-1 beta mRNA as the predominant inflammatory cytokine transcript: correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva. *J Oral Pathol Med.* 1996; 25(5): 225-231.
413. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontal Res.* 1997; 32(6): 524-529.
414. Trombone AP, Ferreira SB, Jr, Raimundo FM, de Moura KC, Avila-Campos MJ, Silva JS, et al. Experimental periodontitis in mice selected for maximal or minimal inflammatory reactions: increased inflammatory immune responsiveness drives increased alveolar bone loss without enhancing the control of periodontal infection. *J Periodontal Res.* 2009; 44(4): 443-451.
415. Payne JB, Stoner JA, Nummikoski PV, Reinhardt RA, Goren AD, Wolff MS, et al. Subantimicrobial dose doxycycline effects on alveolar bone loss in postmenopausal women. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(9): 776-787.
416. Gu Y, Lee HM, Sorsa T, Simon SR, Golub LM. Doxycycline [corrected] inhibits mononuclear cell-mediated connective tissue breakdown. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010; 58(2): 218-225.

417. Yang JW, Jung WK, Lee CM, Yea SS, Choi YH, Kim GY, et al. Caffeic acid phenethyl ester inhibits the inflammatory effects of interleukin-1beta in human corneal fibroblasts. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2014; 36(5): 371-377.
418. Kotnik P, Keuper M, Wabitsch M, Fischer-Posovszky P. Interleukin-1beta downregulates RBP4 secretion in human adipocytes. *PLoS One*. 2013; 8(2): e57796.
419. Haddad JJ. Nuclear factor (NF)-kappa B blockade attenuates but does not abrogate LPS-mediated interleukin (IL)-1 beta biosynthesis in alveolar epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 293(1): 252-257.
420. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol*. 2010; 81(7): 1056-1063.
421. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(12): 1046-1052.
422. Graves DT. The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. *Clin Infect Dis*. 1999; 28(3): 482-490.
423. Paracatu LC, Faria CM, Quinello C, Renno C, Palmeira P, Zeraik ML, et al. Caffeic Acid phenethyl ester: consequences of its hydrophobicity in the oxidative functions and cytokine release by leukocytes. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014: 793629.
424. Larki-Harchegani A, Hemmati AA, Arzi A, Ghafurian-Boroojerdnia M, Shabib S, Zadkarami MR, et al. Evaluation of the Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Prostaglandin E2 and Two Key Cytokines Involved in Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis. *Iran J Basic Med Sci*. 2013; 16(7): 850-857.
425. Mysliwska J, Bryl E, Foerster J, Mysliwski A. Increase of interleukin 6 and decrease of interleukin 2 production during the ageing process are influenced by the health status. *Mech Ageing Dev*. 1998; 100(3): 313-328.
426. Buhlin K, Gustafsson A, Pockley AG, Frostegard J, Klinge B. Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur Heart J*. 2003; 24(23): 2099-2107.
427. Yamazaki K, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, et al. Relationship of periodontal infection to serum antibody levels to periodontopathic bacteria and inflammatory markers in periodontitis patients with coronary heart disease. *Clin Exp Immunol*. 2007; 149(3): 445-452.
428. Passoja A, Knuutila M, Hiltunen L, Karttunen R, Niemela O, Raunio T, et al. Serum interleukin-6 may modulate periodontal inflammation in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(8): 687-693.

429. Furugen R, Hayashida H, Yamaguchi N, Yoshihara A, Ogawa H, Miyazaki H, et al. The relationship between periodontal condition and serum levels of resistin and adiponectin in elderly Japanese. *J Periodontal Res.* 2008; 43(5): 556-562.
430. Choi DH, Moon IS, Choi BK, Paik JW, Kim YS, Choi SH, et al. Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2004; 39(1): 20-26.
431. Korish AA, Arafa MM. Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Braz J Infect Dis* 2011; 15(4): 332-338.
432. Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A, Mitchell T, Kinane DF. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol.* 2001; 123(2): 294-300.
433. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res.* 2008; 79(3): 360-376.
434. Gaddis DE, Maynard CL, Weaver CT, Michalek SM, Katz J. Role of TLR2-dependent IL-10 production in the inhibition of the initial IFN-gamma T cell response to *Porphyromonas gingivalis*. *J Leukoc Biol.* 2013; 93(1): 21-31.
435. Sasaki H, Hou L, Belani A, Wang CY, Uchiyama T, Muller R, et al. IL-10, but not IL-4, suppresses infection-stimulated bone resorption in vivo. *J Immunol.* 2000; 165(7): 3626-3630.
436. Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, et al. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014; 41(9): 853-861.
437. Reis C, DA Costa AV, Guimaraes JT, Tuna D, Braga AC, Pacheco JJ, et al. Clinical improvement following therapy for periodontitis: Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Exp Ther Med.* 2014; 8(1): 323-327.
438. Kucuk A, Kabadere S, Tosun M, Koken T, Kinaci MK, Isikli B, et al. Protective effects of doxycycline in ischemia/reperfusion injury on kidney. *J Physiol Biochem.* 2009; 65(2): 183-191.
439. Chung DR, Lee YS, Lee SS. Kinetics of inflammatory cytokines in patients with scrub typhus receiving doxycycline treatment. *J Infect.* 2008; 56(1): 44-50.
440. Mpiga P, Mansour S, Morisset R, Beaulieu R, Ravaoarino M. Sustained interleukin-6 and interleukin-8 expression following infection with *Chlamydia trachomatis* serovar L2 in a HeLa/THP-1 cell co-culture model. *Scand J Immunol.* 2006; 63(3): 199-207.
441. Sy LB, Yang LK, Chiu CJ, Wu WM. The immunoregulatory effects of caffeic acid phenethyl ester on the cytokine secretion of peripheral blood mononuclear cells from asthmatic children. *Pediatr Neonatol.* 2011; 52(6): 327-331.
442. Wang LC, Lin YL, Liang YC, Yang YH, Lee JH, Yu HH, et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the functions of human monocyte-derived dendritic cells. *BMC Immunol.* 2009; 10: 39-2172-10-39.

443. Linard C, Marquette C, Mathieu J, Pennequin A, Clarencon D, Mathe D. Acute induction of inflammatory cytokine expression after gamma-irradiation in the rat: effect of an NF-kappaB inhibitor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004; 58(2): 427-434.
444. Celik S, Erdogan S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects brain against oxidative stress and inflammation induced by diabetes in rats. *Mol Cell Biochem.* 2008; 312(1-2): 39-46.
445. Domeij H, Yucel-Lindberg T, Modeer T. Cell interactions between human gingival fibroblasts and monocytes stimulate the production of matrix metalloproteinase-1 in gingival fibroblasts. *J Periodontol Res.* 2006; 41(2): 108-117.
446. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(2): 100-109.
447. Li H, Ezra DG, Burton MJ, Bailly M. Doxycycline prevents matrix remodeling and contraction by trichiasis-derived conjunctival fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013; 54(7): 4675-4682.
448. Wu LM, Fan L, Chen LL. Precondition with doxycycline administration abates ischemia/reperfusion injury and reduces the expression of matrix metalloproteinase-1/9 in myocardium in rat in vivo. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2007; 19(11): 679-682.
449. Gencer S, Cebeci A, Irmak-Yazicioglu MB. Matrix metalloproteinase gene expressions might be oxidative stress targets in gastric cancer cell lines. *Chin J Cancer Res.* 2013; 25(3): 322-333.
450. Kuula H, Salo T, Pirila E, Tuomainen AM, Jauhiainen M, Uitto VJ, et al. Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infect Immun.* 2009; 77(2): 850-859.
451. Sorsa T, Tervahartiala T, Leppilahti J, Hernandez M, Gamonal J, Tuomainen AM, et al. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res.* 2011; 63(2): 108-113.
452. Gorska R, Nedzi-Gora M. The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2006; 54(6): 419-426.
453. Mashayekhi F, Aghahoseini F, Rezaie A, Zamani MJ, Khorasani R, Abdollahi M. Alteration of cyclic nucleotides levels and oxidative stress in saliva of human subjects with periodontitis. *J Contemp Dent Pract.* 2005; 6(4): 46-53.
454. Zeydanli EN, Kandilci HB, Turan B. Doxycycline ameliorates vascular endothelial and contractile dysfunction in the thoracic aorta of diabetic rats. *Cardiovasc Toxicol.* 2011; 11(2): 134-147.

- 455.dos Santos JS, Monte-Alto-Costa A. Caffeic acid phenethyl ester improves burn healing in rats through anti-inflammatory and antioxidant effects. *J Burn Care Res.* 2013; 34(6): 682-688.
- 456.Uzar E, Koyuncuoglu HR, Uz E, Yilmaz HR, Kutluhan S, Kilbas S, et al. The activities of antioxidant enzymes and the level of malondialdehyde in cerebellum of rats subjected to methotrexate: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Mol Cell Biochem.* 2006; 291(1-2): 63-68.
- 457.Mollaoglu H, Gokcimen A, Ozguner F, Oktem F, Koyu A, Kocak A, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents cadmium-induced cardiac impairment in rat. *Toxicology.* 2006; 227(1-2): 15-20.
- 458.Ilhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Ciralik H, Akyol O. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999; 16(4): 458-463.
- 459.Iraz M, Ozerol E, Gulec M, Tasdemir S, Idiz N, Fadillioglu E, et al. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. *Cell Biochem Funct.* 2006; 24(4): 357-361.
- 460.Firatli E, Unal T, Onan U, Sandalli P. Antioxidative activities of some chemotherapeutics. A possible mechanism in reducing gingival inflammation. *J Clin Periodontol.* 1994; 21(10): 680-683.
- 461.Esrefoglu M, Iraz M, Ates B, Gul M. Melatonin and CAPE are able to prevent the liver from oxidative damage in rats: an ultrastructural and biochemical study. *Ultrastruct Pathol.* 2012; 36(3): 171-178.
- 462.Gong P, Chen F, Liu X, Gong X, Wang J, Ma Y. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against cadmium-induced renal damage in mice. *J Toxicol Sci.* 2012; 37(2): 415-425.
- 463.Bai H, Liu R, Chen HL, Zhang W, Wang X, Zhang XD, et al. Enhanced antioxidant effect of caffeic acid phenethyl ester and Trolox in combination against radiation induced-oxidative stress. *Chem Biol Interact.* 2014; 207: 7-15.
- 464.Shi Y, Wu X, Gong Y, Qiu Y, Zhang H, Huang Z, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on retinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Curr Eye Res.* 2010; 35(10): 930-937.
- 465.Takeuchi R, Matsumoto H, Akimoto Y, Fujii A. Reduction in lipopolysaccharide-induced apoptosis of fibroblasts obtained from a patient with gingival overgrowth during nifedipine-treatment. *Arch Oral Biol.* 2011; 56(10): 1073-1080.
- 466.Mogi M, Otagoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1999; 44(6): 535-539.
- 467.Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 2007; 356(9): 911-920.

468. Anuradha CD, Kanno S, Hirano S. Oxidative damage to mitochondria is a preliminary step to caspase-3 activation in fluoride-induced apoptosis in HL-60 cells. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31(3): 367-373.
469. Tunali M, Ataoglu T, Celik I. Apoptosis: an underlying factor for accelerated periodontal disease associated with diabetes in rats. *Clin Oral Investig*. 2014; 18(7): 1825-1833.
470. Orsucci D, Calsolaro V, Mancuso M, Siciliano G. Neuroprotective effects of tetracyclines: molecular targets, animal models and human disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2009; 8(3): 222-231.
471. Sanchez Mejia RO, Ona VO, Li M, Friedlander RM. Minocycline reduces traumatic brain injury-mediated caspase-1 activation, tissue damage, and neurological dysfunction. *Neurosurgery*. 2001; 48(6): 1393-9; discussion 1399-401.
472. Ryu JK, Choi HB, McLarnon JG. Combined minocycline plus pyruvate treatment enhances effects of each agent to inhibit inflammation, oxidative damage, and neuronal loss in an excitotoxic animal model of Huntington's disease. *Neuroscience*. 2006; 141(4): 1835-1848.
473. Fatih Yasar N, Ozdemir R, Ihtiyar E, Erkasap N, Koken T, Tosun M, et al. Effects of doxycycline on intestinal ischemia reperfusion injury induced by abdominal compartment syndrome in a rat model. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2010; 71(3):186-198.
474. Ihtiyar E, Yasar NF, Erkasap N, Koken T, Tosun M, Oner S, et al. Effects of doxycycline on renal ischemia reperfusion injury induced by abdominal compartment syndrome. *J Surg Res*. 2011; 167(1): 113-120.
475. Lai HC, Yeh YC, Ting CT, Lee WL, Lee HW, Wang LC, et al. Doxycycline suppresses doxorubicin-induced oxidative stress and cellular apoptosis in mouse hearts. *Eur J Pharmacol*. 2010; 644(1-3): 176-187.
476. Yeh YC, Lai HC, Ting CT, Lee WL, Wang LC, Wang KY, et al. Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *Biochem Pharmacol*. 2007; 74(7): 969-980.
477. Guney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on fluoride-induced oxidative stress and apoptosis in rat endometrium. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2007; 24(2): 86-91.
478. Amodio R, De Ruvo C, Sacchetti A, Di Santo A, Martelli N, Di Matteo V, et al. Caffeic acid phenethyl ester blocks apoptosis induced by low potassium in cerebellar granule cells. *Int J Dev Neurosci*. 2003; 21(7): 379-389.
479. Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology*. 2005; 209(1): 1-14.
480. Nakamura-Kiyama M, Ono K, Masuda W, Hitomi S, Matsuo K, Usui M, et al. Changes of salivary functions in experimental periodontitis model rats. *Arch Oral Biol*. 2014; 59(2): 125-132.

481. Zhang XD, Timofeyev V, Li N, Myers RE, Zhang DM, Singapuri A, et al. Critical roles of a small conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel (SK3) in the repolarization process of atrial myocytes. *Cardiovasc Res.* 2014; 101(2): 317-325.
482. Nam JH, Shin DH, Zheng H, Kang JS, Kim WK, Kim SJ. Inhibition of store-operated Ca^{2+} entry channels and K^{+} channels by caffeic acid phenethyl ester in T lymphocytes. *Eur J Pharmacol.* 2009; 612(1-3): 153-160.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Umut	Soyadı: YİĞİT
Doğum Yeri	Burdur	Doğum Tarihi: 25.02.1985
Uyruğu	T.C.	Tel: 05053470852
E-mail	dtumutyigit15@hotmail.com	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji	2008-Devam Ediyor
Lisans	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2003-2008
Lise	Bucak Anadolu Lisesi	2000-2003

Yabancı Dilleri	ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	83.75	

Seminerleri

1. Dermatozlar ve Periodontal Hastalık İlişkisi.
2. Periodontolojide Hücre Kültürü Çalışmalarındaki Gelişmeler

Yayımlar

Hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

1. Yetkin Ay Z., Fentoğlu Ö., Tözüm M., **Yiğit U.**, Uskun E., Kırzioğlu F.Y. Kalay Florid ve Sodyum Heksametafosfat İçeren Bir Diş Macununun Plak İndeksi ve Gingival İndeks Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2011;21(2):1-4.

Sertifikalar

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 20-28 Haziran 2011, Isparta

Katıldığı workshoplar

1. Selection Criterias of Biomaterials, Nobel Biocare Türkiye Sempozyumu, 15 Kasım 2014, Antalya.

Katıldığı sempozyum ve kongreler

1. Türk Periodontoloji Derneği 41. Bilimsel Kongresi, 20-22 Mayıs 2011, İstanbul.
2. Peridental Regeneration: Current and Future Aspects Symposium, 9-10 Haziran 2011, Konya.
3. 17. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, 19-22 Nisan 2012, Antalya.
4. İnönü Üniversitesi Uluslararası Dişhekimliği Kongresi, 26-28 Nisan 2012, Malatya.
5. EuroPerio 7, 6-9 Haziran 2012, Viyana, Avusturya.
6. 4th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 26-29 Haziran 2012, Isparta.
7. Türk Periodontoloji Derneği 44. Bilimsel Kongresi, 09-10 Mayıs 2014, İstanbul.
8. 20. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi, 29-31 Mayıs 2014, Kuşadası, Aydın.
9. 5th International Congress On Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 9-12 Eylül 2014, Isparta.
10. Nobel Biocare Türkiye Sempozyumu, 14-15 Kasım 2014, Antalya.

EKLER

Etik Kurul İzni



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.SDÜ.0.05.06.00 - 203
KONU: Etik Kurul Kararı

14/08/2012

SAYIN
Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU
(SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.)

İlgi: 13.08.2012 tarih ve 203 sayılı dilekçenize istinaden, 17.05.2012 tarih ve 03 sayılı karara ek olarak;

“Ratlarda oluşturulan Deneysel Periodontitis Modelinde CAPE (caffeic acid phenethyl ester) ile düşük doz Doksisisiklinin Oksidatif Stres, Sitokin ve Apoptosis Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışma için yapmış olduğunuz materyal-metod kısmındaki değişiklikler; Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **14 AĞUSTOS 2012** tarih ve **09** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Efkan UZ
SDÜ-HADYEK Başkanı

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

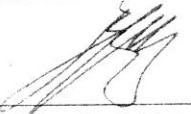




TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
14.08.2012	26	09

İlgi:13.08.2012 tarih ve 203 sayılı dilekçenize istinaden, 17.05.2012 tarih ve 03 sayılı karara ek olarak;

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14 AĞUSTOS 2012 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. Öğretim Üyesi **Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU**'nun yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU, Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ, Doktora Öğrencisi Umut YİĞİT, Doktora Öğrencisi Mehmet AYKUR'un yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, **"Ratlarda oluşturulan Deneysel Periodontitis Modelinde CAPE (caffeic acid phenethyl ester) ile düşük doz Doksisisiklinin Oksidatif Stres, Sitokin ve Apoptozis Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması"** başlıklı çalışma için yapmış olduğunuz materyal-metod kısmındaki değişiklikler;

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efkân UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
		KATILMADI
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
