

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



**DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE SİSTEMİK  
KURKUMİN UYGULAMASININ Th17 HÜCRESİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Dt. Burcu Orun**  
**Doktora Tezi**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Zuhal YETKİN AY**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim  
Birimi tarafından 3849-D1-14 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No:126**

**ISPARTA - 2015**

## KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

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

Tez Savunma Tarihi: 03/07/2015

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zuhal Yetkin Ay

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

Üye: Prof. Dr. F. Yeşim Kırzioğlu

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

Başkanı

Üye: Prof. Dr. Ezel Berker

Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

Üye: Doç. Dr. Özlem Fentoğlu

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

Üye: Yrd. Doç. Dr. Müge Çına Aksoy

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız ve Çene

Cerrahisi AD

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

Doç. Dr. Mustafa KAYAN

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

### BEYAN

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

“Deneysel Periodontitis Modelinde Sistemik Kurkumin Uygulamasının Th17 Hücreleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans/Doktora tezi Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Dt. Burcu ORUN



İmza



Danışman

Prof. Dr. Zuhal YETKİN AY

İmza

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince mesleki açıdan gelişmemde büyük desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanması aşamasında her türlü bilgi, tecrübe ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Zuhal YETKİN AY'a;

Periodontoloji eğitimim süresince verdikleri emekler nedeniyle kürsümüzün değerli hocaları Prof. Dr. F. Yeşim Kırzioğlu, Doç. Dr. Mine Öztürk Tonguç ve Doç. Dr. Özlem Fentoğlu'na;

Tezimin ve hayatımın her aşamasında yanımda olan teyzem Prof. Dr. Hacer Ergin'e,

Sabır ve anlayış içinde her konuda benden dostluğunu ve yardımını esirgemeyen Dr. Dt. Gülin Yılmaz'a,

Doktora eğitimim boyunca çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan bölüm arkadaşlarıma ve çalışanlarına,

Biyokimyasal analiz aşamasındaki yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a ve Dr. H. İbrahim Büyükbayram'a,

İmmünohistokimyasal analiz aşamasındaki yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Dilek Bayram'a ve Dr. İ. Aydın Candan'a,

İstatistiksel değerlendirmelerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ersin Uskun'a,

Tezimin fotoğraflarının elde edilmesinde büyük emeği geçen Sayın Doç. Dr. Murat Maden'e,

Morfometrik çalışmamda bana destek veren Sayın Prof. Dr. M. Bülent Özdemir'e,

Tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında bana yardımcı olan SDÜ HADYEK çalışanlarına,

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 3849-D1-14),

Tüm yaşamım boyunca destek, ilgi ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim, üzerimde sonsuz emeği olan, çok sevdiğim ailemin bütün üyelerine,

Onu tanıdığım günden itibaren sevgisini ve desteğini hep hissettiğim, hayatımda olmasından dolayı mutluluk duyduğum Lütfullah Bakır'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Burcu ORUN**

*Her zaman yanımda olan, sevgisini ve desteğini benden esirgemeyen sevgili anneme ve babama...*

## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY .....</b>	<b>ii</b>
<b>BEYAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>ÖNSÖZ.....</b>	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER .....</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....</b>	<b>x</b>
<b>TABLolar DİZİNİ .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ .....</b>	<b>xiv</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ .....</b>	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. Periodontal Hastalık .....	4
2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflaması .....	4
2.3. Gingivitis.....	4
2.4. Periodontitis .....	5
2.5. Periodontal Hastalık Etiyolojisi .....	7
2.6. Periodontitiste Konak İmmün Yanıtı .....	7
2.7. Sitokin ve Kemokin Ağı.....	8
2.7.1. IL-1 $\beta$ .....	9
2.7.2. IL-6.....	10
2.7.3. IL-23.....	11
2.7.4. TGF- $\beta$ .....	12
2.8. Adaptif İmmünite .....	13
2.8.1. Efektör CD4+ T Hücreleri .....	14
2.8.1.1. Th1 Hücreleri .....	15
2.8.1.2. Th2 Hücreleri .....	16
2.8.1.3. Tf Hücreleri.....	16
2.8.1.4. Th9 Hücreleri .....	16
2.8.1.5. Th22 Hücreleri .....	17
2.8.1.6. Treg Hücreleri .....	17
2.8.1.7. Th17 Hücreleri .....	18
2.9. Th17 Hücrelerinin Farklılaşması.....	19

2.9.1. Th17 Hücrelerinin Farklılaşmasında Rol Oynayan Transkripsiyon Faktörleri .....	19
2.9.2. Th17 Hücrelerinin Sitokin Aracılı Farklılaşması.....	21
2.9.2.1. Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$ (TGF- $\beta$ ).....	21
2.9.2.2. İnterlökin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) .....	21
2.9.2.3. İnterlökin-6 (IL-6).....	22
2.9.2.4. İnterlökin-21 (IL-21).....	23
2.9.2.5. İnterlökin-23 (IL-23).....	23
2.10. Th17 Transkripsiyonunun Negatif Yönde Düzenlenmesi.....	24
2.11. İnterlökin-17 (IL-17).....	25
2.11.1. İnterlökin-17A (IL-17A) .....	25
2.11.2. Periodontal Hastalıklarda IL-17 .....	27
2.12. Periodontal Hastalıkların Tedavisi .....	30
2.12.1. Konak Modülasyon Tedavisi .....	31
2.12.2. Fitoterapi .....	32
2.13. Fitoterapi ve Kurkumin .....	33
2.13.1. Türmerik Kompozisyonu .....	33
2.13.2. Kurkuminin Farmakokinetik Özellikleri.....	35
2.13.3. Kurkuminin Toksisitesi.....	36
2.13.4. Kurkuminin Biyolojik Etkileri .....	36
2.13.5. Kurkuminin Moleküler Hedefleri .....	36
2.13.6. Kurkuminin Antioksidan Özelliği.....	37
2.13.7. Kurkuminin Antienflamatuvar Özelliği .....	37
2.13.8. Kurkumin Kullanımının Kısıtları.....	38
2.13.8.1. Biyoyararlanım.....	38
2.13.8.2. İlaç Etkileşimleri .....	38
2.13.8.3. Yan etkileri.....	39
2.14. Diş Hekimliğinde Kurkumin Uygulamaları.....	39
2.14.1. Endodontide Kanaliçi İlaç Uygulamaları.....	39
2.14.2. Pit ve Fissür Sealant Uygulamaları .....	39
2.14.3. Fotodinamik Terapi ve Kurkumin.....	40
2.14.4. Oral Liken Planus Tedavisi.....	40
2.14.5. Plak Boyama .....	40
2.15. Periodontal Hastalıklarda Kurkumin.....	41



2.15.1. Deneysel Periodontitis Modelinde Kurkumin Uygulamaları.....	41
2.15.1.1. Kurkuminin Periodontal Hastalık Tedavisinde Kullanıldığı İnsan Çalışmaları.....	42
2.15.1.2. Topikal Uygulamalar .....	42
2.15.1.3. Kurkuminin Nanoformülasyonlarla Birlikte Kullanımı.....	42
2.15.1.4. Kurkuminin Jel Uygulamaları.....	43
2.15.1.5. Kurkuminin İrrigan Olarak Kullanımı .....	44
2.15.1.6. Kurkuminin Gargara Olarak Kullanımı .....	45
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>46</b>
3.1. Deney Hayvanları.....	46
3.2. Deney Hayvanlarının Yaşam Koşulları .....	46
3.2.1. Diyet Koşulları .....	47
3.3. Çalışma Grupları .....	47
3.4. Deneysel Periodontitis Modeli .....	48
3.5. Periodontitisin İndüklendiğinin Belirlenmesi .....	49
3.6. Biyokimyasal Analiz.....	49
3.7. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz.....	50
3.8. Kemik Yıkımının Morfometrik Olarak Değerlendirilmesi .....	52
3.9. İstatistiksel Analiz.....	53
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>54</b>
4.1. Biyokimyasal Parametreler .....	55
4.2. Histolojik İnceleme Bulguları .....	56
4.3. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları .....	57
4.4. Alveoler Kemik Kaybının Histomorfometrik İnceleme Bulguları .....	60
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>62</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>83</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>84</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>85</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>86</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>120</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>121</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A.a</b>	: Aggregatibacter actinomycetemcomitans
<b>AAP</b>	: Amerikan Periodontoloji Akademisi
<b>AP</b>	: Aktivatör protein
<b>Bcl</b>	: B hücresi lenfoma-2
<b>CD</b>	: Cep derinliği
<b>CCL</b>	: Kemokin (C-C motif) ligand
<b>cAMP</b>	: Siklik adenzin monofosfat
<b>cGMP</b>	: Siklik guanozin monofosfat
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>CTGF</b>	: Bağ doku büyüme faktörü
<b>CXCR</b>	: Kemokin reseptör
<b>CTLA</b>	: Sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen
<b>DC</b>	: Dendritik hücreler
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>Del</b>	: Gelişimsel endotelial lokus
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>DOS</b>	: Dişeti oluğu sıvısı
<b>DTKYD</b>	: Diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme
<b>EAE</b>	: Deneysel otoimmün ensefalomyelit
<b>ECM</b>	: Ekstraselüler matriks
<b>EGF</b>	: Epidermal büyüme faktörü
<b>EGR</b>	: Early growth response
<b>ELAM</b>	: Endotelial-lökosit adezyon molekülü
<b>ELISA</b>	: Enzim bağlı immünosorbent assay
<b>ERK</b>	: Ekstraselüler sinyal ilişkili kinaz
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>Fox</b>	: Forkhead box
<b>Gfi</b>	: Zinc-finger transcription factor
<b>Gİ</b>	: Gingival indeks
<b>GM-CSF</b>	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör

<b>GST</b>	: Glutasyon S-transferaz
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HER</b>	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
<b>ICAM</b>	: İnterselüler hücre adezyon molekülü
<b>ICOS</b>	: İndüklenebilir ko-stimülatör
<b>IRF</b>	: İnterferon regülatör faktör
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon- $\gamma$
<b>IRAK</b>	: Reseptör ilişkili kinaz
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>JAK</b>	: Janus kinaz
<b>KAK</b>	: Klinik ataçman kaybı
<b>KLF</b>	: Kruppel benzeri faktör
<b>KOAH</b>	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
<b>LAD</b>	: Lökosit adezyon eksikliği
<b>LOX</b>	: Lipooksijenaz
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>mSKİ</b>	: Modifiye sulkus kanama indeksi
<b>MAPK</b>	: Mitojen aktive edici protein kinaz
<b>M-CSF</b>	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
<b>MCP-1</b>	: Monosit kemoatraktan protein-1
<b>MHC</b>	: Major doku uyumluluk kompleksi
<b>MIP</b>	: Makrofaj enflamatuvar protein
<b>MMP</b>	: Matriks metalloproteinaz
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>NK</b>	: Doğal öldürücü
<b>NSAİİ</b>	: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar
<b>OPG</b>	: Osteoprotegerin
<b>PBS</b>	: Fosfat tamponlu tuz
<b>PDGF</b>	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
<b>PGE<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin-E <sub>2</sub>
<b>P. ginvivalis</b>	: Porphyromonas gingivalis
<b>P. intermedia</b>	: Prevotella intermedia
<b>Pİ</b>	: Plak indeksi

<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer lökosit
<b>PPAR</b>	: Peroksizom proliferatör aktive edilmiş reseptör
<b>RANK</b>	: Nükleer faktör kappa-B reseptör aktivatörü
<b>RANKL</b>	: Nükleer faktör kappa-B reseptör aktivatör ligandı
<b>ROR</b>	: Retinoik asit reseptör ilişkili orfan reseptör
<b>Runx</b>	: Runt-ilişkili transkripsiyon faktörü
<b>SAP</b>	: SLAM-ilişkili protein
<b>SK</b>	: Sondlamada kanama
<b>SKİ</b>	: Sulkus kanama indeksi
<b>STAT</b>	: Transkripsiyon faktörlerinin aktivatör proteini
<b>T. denticola</b>	: Treponema denticola
<b>T. forsythia</b>	: Tannerella forsythia
<b>TCF</b>	: T hücre faktörü
<b>TCR</b>	: T hücre reseptörü
<b>Tf</b>	: Foliküler yardımcı T hücreleri
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$
<b>Th</b>	: T yardımcı hücre
<b>Th-POK</b>	: Th-indükleyici POK
<b>TIMP</b>	: Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü
<b>TLR</b>	: Toll-like reseptör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör- $\alpha$
<b>Treg</b>	: Regülatör T hücreleri
<b>Ts</b>	: Sitotoksik T lenfositleri
<b>TWIST</b>	: Twist ilişkili protein
<b>VCAM</b>	: Vasküler hücre adezyon molekülü
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktör

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Periodontal hastalık ve durumların sınıflandırılması .....	6
<b>Tablo 2.</b> Çalışma gruplarındaki sıçanların çalışma başlangıcındaki ve sonundaki ağırlıkları .....	54
<b>Tablo 3.</b> Gruplara ait serum sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23, TGF- $\beta$ ) düzeyleri ..	55
<b>Tablo 4.</b> Gruplara ait boyanma dereceleri ve dağılımları ile immünohistokimyasal boyanma parametreleri.....	57

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Antijen sunan dendritik hücrelerin T hücre reseptörü (TCR) ile aktivasyonu sonucu CD4 <sup>+</sup> T hücreleri Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh ve Treg hücrelerine farklılaşır .....	15
<b>Şekil 2.</b> Kurkuminin yapısı, doğal analogları ve önemli metabolitleri .....	34
<b>Şekil 3.</b> Grupların histolojik boyanma görüntüleri. ....	56
<b>Şekil 4.</b> Grupların IL-17 için immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.....	58
<b>Şekil 5.</b> Grupların ROR $\gamma$ t için immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.....	59
<b>Şekil 6.</b> Alveoler kemik kaybının histomorfometrik değerlendirmesi.....	60
<b>Şekil 7.</b> Alveoler kemik kaybı miktarı (mm). ....	61

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> DMSO'da çözdürülmüş kurkuminin gavaj yoluyla verilmesi.....	48
<b>Resim 2.</b> Periodontitisin maksiller segmentte ligatürle bilateral olarak indüklenmesi. ....	49
<b>Resim 3.</b> Çekilen fotoğraflarda alveoler kemik kaybının belirlenmesi amacıyla bukkal yüzeyde yapılan ölçümler.....	52

## 1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar mikrobiyal dental plağa verilen konak yanıtının, genetik ve çevresel koşulların etkisi ile şekillenmesi sonucu gelişen enflamatuvar hastalıklardır. Bakteriler ve ürünleri direkt olarak konak dokuda yıkıma neden olabileceği gibi enflamatuvar yanıt ve immün sistemi uyararak indirekt olarak da doku yıkımına neden olabilir (1). Doğal bağışıklık sistemi işgalci mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattıdır ve patojenlere karşı spesifik olmayan bir yolla yanıt verir (2). Ayrıca nötrofil ve monosit gibi immün hücrelerin enfekte alanlara toplanmalarını sağlayacak olan enflamatuvar medyatörlerin lokal hücreler tarafından üretimi, kompleman sisteminin aktivasyonu, yabancı maddelerin tanınması ve yok edilmesi ile adaptif immün sistemin aktivasyonundan sorumludur (3). Hastalığın gelişimi, yayılması ve devamının bir sonucu olarak, doğal bağışıklık sistemi tarafından salınan kemokinler ve sitokinler konak yanıtını adaptif immüniteye doğru kaydırır. Adaptif immünite özelleşmiş lenfositlerden oluşur ve patojen eliminasyonu ve karşılaşılan patojenlere karşı immünolojik bellek geliştirebilme yeteneğine sahiptir (4). Antijen sunan hücrelerle aktivasyon sonrası CD4+CD8+ çift pozitif T-hücre prekürsörleri pek çok farklı matür T hücre alt grubuna farklılaşır. CD8+ T hücreleri sitotoksik T lenfositleri adını alırken, CD4+ T hücreleri yardımcı T (Th) hücresi olarak isimlendirilir (5).

Başlangıçta CD4+ Th hücreleri sadece Th1 ve Th2 hücre alt gruplarıyla sınırlandırılırken (6), yapılan son çalışmalar CD4+ T hücrelerini sitokin sekresyon ve transkripsiyon faktörü profillerine göre Th9, Th17, Th22, regülatör T hücreleri (Treg) ve foliküler yardımcı T hücreleri (Tf) olarak tanımlamıştır (5, 7-10).

Son 20 yıldır periodontitis patogenezi klasik olarak Th1/Th2 paradigmasıyla açıklanmıştır. Bu modele göre koruyucu Th1 hücreleri ve sitokinleri periodontitisin erken döneminde, destrüktif Th2 hücreleri ve sitokinleri ise hastalığın ilerleyen döneminde rol almaktadır. Ancak Th1/Th2 modeli periodontal hastalıkta T hücresi immünesi ile ilişkili bulguları tam olarak açıklayamamaktadır. Bu paradigmanın yarattığı pek çok karışıklık 2005 yılında Th17 hücrelerinin tanımlanması ile ortadan kalkmış ve konak yanıtında enfeksiyöz hastalıklara karşı interlökin-17 (IL-17) üreten



hücrelerin fizyolojik rolleri oldukça fazla çalışmaya konu olmuştur (11). Th17 hücreleri CD4+ T hücrelerinden IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-21 ve transforme edici büyüme faktörü (TGF)- $\beta$  etkisi ile farklılaşır ve retinoik asit reseptör ilişkili orfan reseptörü (ROR)  $\gamma$ t transkripsiyon faktörünü eksprese eder. Th17 hücrelerinin çoğalması ve patojenitesi için ise IL-23 gereklidir. Th17 hücreleri IL-17A'ya ek olarak IL-6, IL-9, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-26, TNF- $\alpha$ , nükleer faktör kappa-B reseptör aktivatör ligandı (RANKL) ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktörü (GM-CSF) üretir (8, 12-16). Th17 hücrelerinin çeşitli şekillerde periodontal hastalığı şiddetlendirdiği düşünülmektedir. Bunlara örnek olarak proenflamatuvar sitokin üretmesi, nötrofillerin enfeksiyon alanına toplanmasını, aktivasyonunu ve migrasyonunu stimüle etmesi, mononükleer ve/veya rezident hücrelerin aktivasyonunu indüklemesi verilebilir. Ayrıca diğer hücreleri çeşitli enflamatuvar medyatörleri üretmek üzere aktive eder ve osteoblastik hücrelerden RANKL indüksiyonu ile osteoklastogenezin stimülasyonuna neden olur (11, 17, 18).

Periodontitis tedavisinde mekanik debridman ve birlikte uygulanabilen lokal veya sistemik antimikrobiyal tedavi devam eden bakteriyel atağa karşı oluşan konak yanıtını bloke veya inhibe etmede yetersiz kalabilir. Periodontal doku yıkımının primer olarak konak yanıtıyla belirlenmesi, araştırmaları bireyin bakteriyel atağa verdiği reaksiyonu değiştirmeye yönlendirmiş ve bu amaçla konak modülasyon tedavileri geliştirilmiştir (19). Son yıllarda konak modülasyonunda üzerinde oldukça fazla çalışma yapılan bir başka yaklaşım da fitoterapidir. Literatür pek çok bitkinin antienflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel ve yara iyileşmesini hızlandırıcı özelliği olduğunu dolayısıyla periodontal hastalığın tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir (20, 21).

Zingiberaceae ailesinin bir üyesi olan *Curcuma longa*'dan elde edilen kurkumin fitoterapide kullanılan bitkilerden biri olup, kimyasal ismi 1,6-heptadien-3,5-dion-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenol)-(1E,6E)'dir (22). Son 60 yıl içerisinde 3000'den fazla çalışmada kurkuminin antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuvar, antiproliferatif, proapoptotik, analjezik, antimetastatik, antiaterosklerotik ve yara iyileştirici etkileri incelenmiştir. Çalışmalarda kurkuminin pleiotropik etkilerinin pek çok moleküler hedefle etkileşim ve bu molekülleri düzenleme kapasitesine bağlı olduğu gösterilmiştir (23). Kurkuminin insanlar

üzerindeki farmakolojik etkilerinin incelendiği çalışmalarda oral kullanımının güvenli olduğu ve doz sınırlayıcı herhangi bir toksisiteye rastlanmadığı gösterilmiştir (24).

Bu çalışmada sıçanlarda ligatürle indüklenen periodontitis modelinde oral kurkumin uygulamasının

1. Th17 hücre farklılaşması (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TGF- $\beta$ ), ekspansiyonu (IL-23) ve aktivasyonu ile eksprese edilen sitokin düzeyleri (IL-6 ve IL-17),
2. Dişeti dokularında IL-17'nin ve Th17 hücre belirteci olan ROR $\gamma$ t varlığı ve boyanma yoğunluğu,
3. Alveoler kemik kaybı

üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Periodontal Hastalık**

Dişi çevreleyen ve destekleyen sert ve yumuşak dokuların kalıtsal ya da kazanılmış bütün hastalıkları periodontal hastalık olarak adlandırılır. Bu hastalıklar gelişimsel, enflamatuvar, travmatik, neoplastik, genetik, atrofik veya metabolik orijinli olabilir (25). Periodontal hastalıklar bütün oral hastalıklar içerisinde en sık rastlanılan ve dünya popülasyonunun yaklaşık %60-90'ını etkileyen bir hastalık grubudur (25). Periodontal hastalıklar kardiyovasküler hastalık, diyabet ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) gibi pek çok hastalık için de risk faktörü olarak kabul edilmektedir (26, 27).

### **2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflaması**

Günümüze kadar periodontal hastalıkların çeşitli sınıflamaları yapılmıştır. Günümüzde kullanılan sınıflama ise Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP) tarafından klinik, radyolojik ve laboratuvar özellikler değerlendirilerek yeniden tanımlanmıştır (28), (Tablo 1).

Gingivitis ve periodontitis insanlarda en sık görülen periodontal hastalıklardır. İki hastalığın oluşumundan da primer etiyolojik faktör olarak mikrobiyal dental plak varlığı ve sürekliliği sorumlu tutulur (29, 30).

### **2.3. Gingivitis**

Periodontal hastalığın en hafif formu olan gingivitis, dişetine komşu diş yüzeylerinde mikrobiyal dental plak ve diştaşı birikimi sonucu oluşan, ataçman kaybı veya kemik yıkımının izlenmediği gingival dokuların enflamasyonudur. Dünyada yetişkinlerin yaklaşık %50-90'ı gingivitisten etkilenmektedir (25). Prevalans çocuk ve adolesan popülasyonunda en yüksek düzeye ulaşmaktadır (31).

Klasik deneysel gingivitis çalışmaları klinik gingivitisin, oral hijyen araçlarının kullanımının bırakılmasını takiben 21 gün içinde geliştiğini göstermektedir (32). Gingivite başlangıç enflamatuvar yanıt klinik olarak fark edilemese de dişetinde şişlik, kanama, ödem ve eritem zaman içinde izlenebilir hale gelir (33). Gingivite ortaya çıkan klinik belirtilerin şiddeti bireyler arasında farklılık gösterebilir (34). Dental plağa karşı oluşan gingival reaksiyondaki bu heterojenite metabolizma (puberte ve hamilelik), genetik (Down sendromu, gen polimorfizmler vs), beslenme (C vitamini eksikliği), sistemik ilaç kullanımı (dilantin, siklosporin, NSAİİ vb), sistemik faktörler (lösemi, DM, stres, immün yetmezlikler vb) ve çevresel faktörlerden (sigara vb) etkilenebilir (34). Diş destekleyen dokularda kalıcı hasar bırakmayan gingivitis, basit ve etkili oral hijyen yöntemleriyle geri döndürülebilir bir hastalıktır (25).

#### **2.4. Periodontitis**

Periodontitis alveoler kemik, sement, gingiva ve periodontal ligamentten oluşan dişin destek dokularının yıkımıyla karakterize; plak biyofilmine yanıt olarak oluşan konak enflamatuvar yanıtının neden olduğu kronik, geri dönüşümsüz, enflamatuvar bir hastalıktır (35). Periodontitis aynı patolojik süreçte gingivitisin devamı olarak kabul edilmektedir. Ancak gingivitis her zaman periodontitise dönüşmez, hastalığın oluşabilmesi için hastalığa yatkın konak varlığı gerekmektedir (36). Periodontitis oluşumundaki primer etiyolojik ajan olarak mikrobiyal dental plak kabul edilmesine rağmen doku hasarının büyük bir kısmından konağın bakterilere ve ürünlerine verdiği yanıt sorumlu tutulmaktadır (37). Periodontitis gingival sulkusun patolojik olarak derinleşmesi ile epitelyal ataçmanın apikale migrasyonu, alttaki destek bağ doku ve alveol kemiğin hasarıyla karakterizedir (38). Hastalığın klinik bulguları arasında diş çevresinde mikrobiyal dental plak formasyonu, dişetinde enflamasyon sonucu oluşan renk, şekil, kıvam ve yüzey özelliği değişimleri, sondlamada kanama, periodontal cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmeleriyle birlikte görülen ataçman kaybı, dişlerde mobilite ve sonuç olarak diş kaybı bulunmaktadır (39).

**Tablo 1.** Periodontal hastalık ve durumların sınıflandırılması (28).

<b>KLİNİK PARAMETRELER</b>	<b>DİĞER BELİRLEYİCİ ÖZELLİKLER</b>
Gingival hastalıklar	<b>A.</b> Dental plağa bağlı dişeti hastalıkları a. Sadece dental plakla ilişkili gingivitis b. Sistemik faktörlerle modifiye olan gingival hastalıklar c. İlaç alımı ile ilişkili gingivitis d. Kötü beslenme ile ilişkili gingival hastalıklar <b>B.</b> Dental plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları a. Spesifik bakteri orijinli gingival hastalıklar b. Viral orijinli gingival hastalıklar c. Mantar orijinli gingival hastalıklar d. Genetik orijinli gingival hastalıklar e. Sistemik hastalıkların gingival belirtileri f. Travmatik lezyonlar g. Yabancı cisim reaksiyonları h. Diğerleri
Kronik periodontitis	<b>A.</b> Lokalize <b>B.</b> Generalize a. Hafif: 1-2 mm KAK b. Orta: 3-4 mm KAK c. Şiddetli $\geq$ 5 mm KAK
Agresif periodontitis	<b>A.</b> Lokalize <b>B.</b> Generalize a. Hafif: 1-2 mm KAK b. Orta: 3-4 mm KAK c. Şiddetli $\geq$ 5 mm KAK Hastalar genellikle 35 yaşın altında
Sistemik hastalıkların bulgusu olarak periodontitis	<b>A.</b> Hematolojik hastalıklarla ilişkili <b>B.</b> Genetik hastalıklarla ilişkili <b>C.</b> Diğerleri
Nekrotizan periodontal hastalıklar	<b>A.</b> Nekrotizan ülseratif gingivitis <b>B.</b> Nekrotizan ülseratif periodontitis
Periyodonsiyumda oluşan apseler	<b>A.</b> Gingival apse <b>B.</b> Periodontal apse <b>C.</b> Perikoronar apse
Endodontik lezyonlarla ilişkili periodontitis	<b>A.</b> Kombine periodontal-endodontik lezyon
Gelişimsel veya kazanılmış deformiteler	<b>A.</b> Plakla indüklenmiş gingival hastalıkları modifiye eden lokalize dişlerle ilişkili faktörler <b>B.</b> Dişler etrafında mukogingival problemler <b>C.</b> Dişsiz bölgede mukogingival problemler

## **2.5. Periodontal Hastalık Etiyolojisi**

Günümüzde periodontal hastalığın bakteriyel atak ve bunun sonucunda oluşan konak yanıtının primer rol oynadığı, multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Plak bakterileri periodontitis oluşumu için gerekli ancak yeterli değildir (38, 40, 41). Mikrobiyal atağın kuvvetini mikroorganizmaların virülans faktörleri, dokulara invaze olabilmeye yetenekleri, metabolik ürünleri ile plağın kantitesi ve kompozisyonu belirler. Gingivitisin şiddetini, periodontitisin başlamasını ve ilerleyiş hızını ise konağın bu atağa karşı verdiği yanıtın kapasitesi belirler (42). Bunun yanında çeşitli risk faktörleri periodontal dokuların plağa karşı yanıtını etkileyerek konağın periodontal hastalığa olan doğal yatkınlığını modifiye edebilmektedir. Hastalık gelişiminde rol oynayan risk faktörleri arasında oral hijyen alışkanlıkları, sigara hikayesi, genetik predispozisyon, yaş, stres, cinsiyet, eğitim, diyet, sosyoekonomik durum ile diyabet, osteoporöz gibi çeşitli medikal rahatsızlıklar bulunur (43). Bu risk faktörleri konağın bakterilere karşı oluşan koruyucu mekanizmalarını şiddetlendirerek hastalığın yıkıcı doğasını arttırabilir (44).

## **2.6. Periodontitiste Konak İmmün Yanıtı**

Periodontal patojenler gibi enflamatuvar uyaranlara yanıt olarak iki farklı ancak birbiriyle bağlantılı immün yanıt meydana gelir: doğal ve kazanılmış (adaptif). Doğal bağışıklık sistemi işgalci mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattıdır ve patojenlere karşı spesifik olmayan bir yolla yanıt verir. Patojen vücuda girdiğinde hızlı bir yanıt ortaya koyar ve başlamak için hafızaya gereksinim duymaz (2).

Doğal bağışıklık sistemi nötrofil ve monosit gibi immün hücrelerin enfekte alanlara toplanmalarını sağlayacak olan enflamatuvar medyatörlerin lokal hücreler tarafından üretimi, kompleman sisteminin aktivasyonu, yabancı maddelerin tanınması ve yok edilmesi ile adaptif immün sistemin aktivasyonundan sorumludur. Gingival epitel hücreleri, PMNL (Polimorfonükleer lökosit), monosit/makrofajlar ve dendritik hücreler bakteriyel patojenlere karşı oluşturulan ilk savunma hattının

önemli birer elemanıdır. Bu hücreler patojenleri öldürebilir ve adaptif immüniteyi aktive ederek patojenlerin sınırlanmasını ve eliminasyonunu sağlayabilirler (3, 4).

Periodontal dokuların resident hücreleri epitel hücreleri, gingival ve periodontal ligament fibroblastları, endotel hücreleri, dendritik hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar ve sementoblastlardır (45). Patojenlerin varlığında bu hücreler tarafından salınan IL-8 ve CXCL10 gibi kemokinler PMNL, monosit ve T lenfositleri gibi immün hücrelerin enflamasyon alanına migrasyonunu indükler (46). İmmün hücrelerin migrasyonu resident hücrelerle birlikte periodontal doğal bağışıklığı düzenler. Bu hücrelerin aktivasyonu mikroorganizmaları tanıma, fagosite etme ve öldürme yoluyla periodontal dokuların erken defansında anahtar rol oynar. Nötrofiller periodontal bakterilere karşı oluşturulan konak defansının ilk hattını oluşturur ancak konağı mikroorganizmalardan korumanın yanında doku yıkımına da katkıda bulunarak hastalık patogenezinde rol oynar. Gingival sulkusta bazı virülans faktörleri aktive nötrofillerden kaçınarak bu hücrelerin gingival sulkusta sürekli akümülyasyonuna neden olabilir (47, 48). Aktive nötrofiller oksijen radikalleri ve proteolitik enzimler salgılayarak direkt olarak doku hasarına yol açabilir (49). Hastalığın gelişimi, yayılması ve devamının bir sonucu olarak, doğal bağışıklık sistemi tarafından salınan kemokinler ve sitokinler konak yanıtını hücre-aracılı adaptif immüniteye doğru kaydırır (50).

## **2.7. Sitokin ve Kemokin Ağı**

Sitokinler ve kemokinler (kemotaktik sitokinler) hücreler arası mesajlardır. Enfeksiyona karşı oluşan immün yanıt sitokin ve kemokin sinyalleriyle düzenlenir. Sitokinler enflamasyonun başlangıcında ve ileri evrelerinde yer alan, hücrelerden salındığında efektör hücrelerde spesifik yanıt oluşturabilen, yanıtın şiddetini ve devamlılığını düzenleyen düşük moleküler ağırlıklı, biyolojik olarak aktif proteinlerdir (51). Sitokinler kabaca proenflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılabilir. Sitokinler enflamasyonun akut ve erken kronik fazlarında epitel hücreleri ve fibroblastlar gibi rezident hücreler ve fagositlerde, yerleşmiş ve ileri lezyonlarda ise lenfositlerde üretilir. Sitokinler doğal immün yanıtta anahtar

faktörlerdir ancak regüle olmayan sitokin üretimi enflamasyon düzeyini arttırarak periodontitis etiyojisinde rol oynar (52).

### 2.7.1. IL-1 $\beta$

IL-1 $\beta$  primer olarak monosit, makrofaj, dendritik hücreler ve PMNL hücrelerinden üretilmekle birlikte epitel hücreleri, keratinositler, gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri, B hücreleri ve osteositlerde üretilir (53). IL-1 $\beta$  periodontal hastalık patogenezi yollarında görülen ilk sitokinlerdendir. Enfeksiyon varlığında konak savunmasında önemli bir role sahiptir ancak kronik enflamatuvar hastalıklarda doku hasarına da yol açabilmektedir (54).

IL-1 $\beta$  endotel hücrelerinden interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin salınımını arttırır. Keratinosit gibi hücrelerden IL-8 salınımını stimüle ederek enfeksiyon alanına nötrofil infiltrasyonunu sağlar. IL-1 $\beta$  *in vitro* ve *in vivo* olarak kemik rezorpsiyonunu bütün sitokin ve hormonlara göre daha fazla stimüle eder (55). Diğer proenflamatuvar sitokinlerle sinerjistik etki göstererek kemik yıkımını indükler (56). IL-1 $\beta$  nötrofil degranülasyonunu arttırır ve gingival fibroblastlarda kolajenaz sentezini arttırırken, matriks metalloproteinazların doku inhibitörü (TIMP) sentezini azaltır. Gingival fibroblastlar ve periodontal ligament hücrelerinden matriks metalloproteinazların (MMP) salınımını indükleyerek hem bağ dokusu yıkımına, hem de osteoklast aktivasyonuna neden olarak kemik yıkımına yol açar (57). IL-1 $\beta$ 'nin kemik rezorpsiyonunu stimülasyon mekanizması, osteoblastlardan artmış RANKL salınımının indüklenmesi ile osteoklastogenezin indirekt stimülasyonu ve kemik rezorpsiyonu şeklinde olmaktadır (55). Ayrıca IL-1 $\beta$  gingival fibroblastlardan, periodontal ligament hücrelerinden ve osteoblastlardan kemik rezorpsiyonunu stimüle eden prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) üretiminin güçlü bir stimülatörüdür (58).

Oluşturulan deneysel periodontitis modellerinde IL-1 $\beta$  ilavesinin enflamasyonu ve kemik kaybını şiddetlendirdiği gösterilmiştir (56). Yapılan deneysel çalışmalar IL-1 $\beta$  inhibisyonunun bağ doku ataçman kaybını ve enflamatuvar



infiltratın kemiğe doğru migrasyonunu inhibe ederek alveol kemik yıkımını anlamlı olarak azalttığını göstermiştir (59).

### 2.7.2. IL-6

İlk defa 1986 yılında B-hücresi stimüle edici faktör olarak adlandırılmış olan IL-6 endotel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, B hücreleri, aktive T hücreleri, monositler, makrofajlar, keratinositler, osteoblastlar, periodontal ligament hücreleri ve dendritik hücreler gibi çeşitli hücrelerden salınan pleiotropik bir sitokindir. IL-6 lipopolisakkarit (LPS), IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi çeşitli uyarılar varlığında stimüle olur (60, 61). B ve T hücre yanıtları üzerindeki etkisi ile doğal ve adaptif immünite arasında önemli bir bağlantı sağlar (62). IL-6 CD4+ hücrelerini transkripsiyon faktörlerinin aktivatör proteini (STAT)-3 aracılığıyla stimüle eder, yüksek düzeylerde IL-21 salgılamalarını sağlayarak B hücrelerinin farklılaşmasını uyarır ve indirekt olarak antikor üretimini artırır (63).

Periodontitis hastalarında IL-6 mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ve proteininin yüksek düzeylerde salındığı gösterilmiştir (64). IL-6 salımı, mononükleer hücreler/makrofajlardan IL-8 ve monosit kemotaktik protein (MCP) -1 gibi kemokinlerin ve endotel hücrelerinden ICAM-1 ve diğer adezyon moleküllerinin sekonder üretimini sağlayarak nötrofil migrasyonunu artırır (65). Aşırı IL-6 yanıtı MMP ve osteoklast aktivasyonu ile bağ doku ve kemik yıkımına, T hücrelerinin aktivasyonu ve enflamatuvar döngünün arttırılmasıyla kronik enflamatuvar bir yanıtın ortaya çıkmasına yol açar (64).

IL-6 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , lenfotoksin, prostaglandinler ve diğer araşidonik asit metabolitleriyle birlikte kemik yıkımına katkıda bulunur (66, 67). IL-6 kemik rezorbsiyonunu osteoklastlar üzerindeki direkt veya indirekt etkisi üzerinden sağlamaktadır. Osteoklast progenitör hücrelerinin matür osteoklastlara farklılaşmasını IL-6 direkt yolda regüle eder (68). IL-6'nın osteoklast farklılaşması üzerindeki indirekt etkisi ise fare kalvaryasındaki osteoblastların çözünür IL-6 reseptörü aracılı olarak IL-6 ile stimülasyonu sonucu PGE<sub>2</sub> salgılamaları ile gösterilmiştir. PGE<sub>2</sub>,

osteoklast farklılaşmasını stimüle eden RANKL üretimini arttırırken, osteoklast farklılaşmasını inhibe eden osteoprotegerin (OPG) salımını azaltmaktadır (69).

### 2.7.3. IL-23

IL-6 süper ailesinin bir üyesi olan IL-23 dendritik hücreler, makrofajlar, doğal öldürücü (NK) T hücreleri ve hafıza T hücreleri tarafından üretilir (70). IL-23 patojenik/antijenik atak varlığında oluşan erken yanıtta üretilir ve erken lokal immün yanıtın yönlendirilmesinde önemli rol oynar (71). CD4+ T hücrelerinden IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi diğer proenflamatuvar sitokinlerin sentezini uyaran IL-17 üretimini indükler, Th17 hücre polarizasyonunda rol oynayan IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi nötrofillerin hedef bölgeye immediyat göçüne yardımcı olacak medyatörlerin salımını sağlar. IL-23 spesifik hafıza hücrelerinin proliferasyonunu ve devamlılığını güçlü bir şekilde indükler (72). Buna ek olarak, IL-23 NK hücrelerini aktive eder, Treg hücrelerini kontrol eder ve antikor üretimini düzenler (73, 74).

IL-23 sağlıklı periodonsiyumda bağışıklık sistemini uyararak ve nötrofil toplanmasını sağlayarak koruyucu bir rol üstlenebilir (71). Bununla birlikte periodontal hastalık ilerledikçe IL-23/IL-17 yolunda oluşan düzensizlik sonucu IL-23 düzeyleri artarak koruyucu etkinliğini kaybeder. IL-23 Th17 hücre alt grubunu ve Th17 yanıtını stabilize ettiğinden, IL-23 yanıtındaki herhangi bir disregülasyon, Th17 hücrelerinde güçlü bir polarizasyona ve IL-17'nin sürekli üretimine yol açarak periodontal dokularda ciddi hasara yol açabilecek kronik enflamasyonun yerleşmesine neden olur (73). IL-23'ün sadece IL-17 üretimini uyararak değil aynı zamanda osteoblastların maturasyonlarını etkileyerek ve osteoblastlardan RANKL üretimini indükleyerek de periodontitisteki osteoklast oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (75).

IL-23(-) farelerde zayıflamış hümoral yanıt ve hafıza T hücrelerinin reaktivasyonunda azalma izlenmiştir (76). IL-23 B hücrelerinin proliferasyonunda veya izotip sınıf dönüşümünde rol almaktadır (77). Bu durum IL-23'ün T hücre bağımlı hümoral immün yanıtta önemi göstermektedir (76).

#### 2.7.4. TGF- $\beta$

TGF- $\beta$  lenfositler, monositler, nötrofiller, osteoblastlar ve trombositler gibi pek çok hücre tarafından sentezlenir. Hücre proliferasyonunda, farklılaşmasında, migrasyonunda, adezyonunda, apoptoziste, hücre büyümesinin inhibisyonunda, angiogenezde, immün süpresyonda, yara iyileşmesinde önemli rol oynar (78, 79).

TGF- $\beta$  enflamatuvar infiltratın düzenlenmesinde proenflamatuvar ve antienflamatuvar özelliklere sahip anahtar sitokinlerdendir. Nötrofiller, monositler, mast hücreleri ve lenfositler için kemoatraktan rol oynayarak ve IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinlerin salımına yol açarak proenflamatuvar özelliğini sergilerken; antienflamatuvar özelliği ile hücre aracılı ve humoral immün yanıtı baskılar (78, 79). İmmün sistem çeşitli mekanizmalarla TGF- $\beta$  tarafından regüle edilmektedir. Bu mekanizmalar: efektör Th hücre farklılaşmasının baskılanması, naif T hücrelerinin Treg hücrelerine dönüşümünün indüksiyonu, T ve B hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu, IL-2, IFN- $\gamma$  ve IL-4 gibi efektör sitokin üretiminin inhibisyonu, makrofaj, mast hücreleri, dendritik hücreler ve NK hücrelerinin baskılanmasıdır (80).

TGF- $\beta$ , MMP'ler gibi matris yıkıcı proteinazları baskılayarak ya da bunların inhibitörlerini indükleyerek ekstraselüler matris (ECM) proteinlerinin yıkımını inhibe eder. Pek çok hücre tipini stimüle ederek ECM moleküllerinin sentezini uyarır (81). Fizyolojik koşullarda olduğu kadar periodontitis gibi patolojik durumlarda da kolajen metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar (81). TGF- $\beta$  enflamatuvar yanıtı ve enflamasyonun rezolüsyonunu modüle eder (82). Kemik oluşumunun erken safhalarında osteoprojenitör hücrelerin proliferasyonunu uyararak erken osteoblastlar için kaynak oluşturur (78). Osteoblast farklılaşmasının sonraki fazlarında ise farklılaşmayı ve mineralizasyonu bloke eder (83).

TGF- $\beta$ 'nın T hücreleri üzerindeki en önemli etkisi aktive T hücrelerinde antiproliferatif etkiye yol açan IL-2 üretiminin baskılanmasıdır. TGF- $\beta$ 'nın Treg-indüklü granül ekzositozunu inhibisyonu ve CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin sitolitik fonksiyonları için önemli olduğu gösterilmiştir (84). T hücrelerine ek olarak TGF- $\beta$  pek çok immün hücrenin gelişimini ve fonksiyonunu modüle eder.

TGF- $\beta$  ekspresyonu ya da sinyalizasyonunda ortaya çıkan bir bozukluk periodontitis patogeneğinde rol oynamaktadır (85). Yapılan çalışmalar gingivitis, periodontitis ve periimplantitis hastalarının gingival dokularında ve DOS'unda artmış TGF- $\beta$  düzeylerine rastlandığını ve bu artışın sondlama derinliğindeki artışla korelasyon gösterdiğini göstermiştir (79, 86). Atilla ve ark. Türk toplumunda TGF- $\beta$  polimorfizminin kronik periodontitisle ilişkili olabileceğini ve polimorfik alel genin hastalığın şiddetiyle birlikte artış gösterdiğini rapor etmişlerdir (87). İlaça bağlı büyümenin izlendiği dokularda, gingivitisli ve sağlıklı gruplarla karşılaştırıldığında DOS TGF- $\beta$  düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (81). Cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviler sonrasında artmış DOS TGF- $\beta$  düzeyleri izlenmektedir (88).

## **2.8. Adaptif İmmünite**

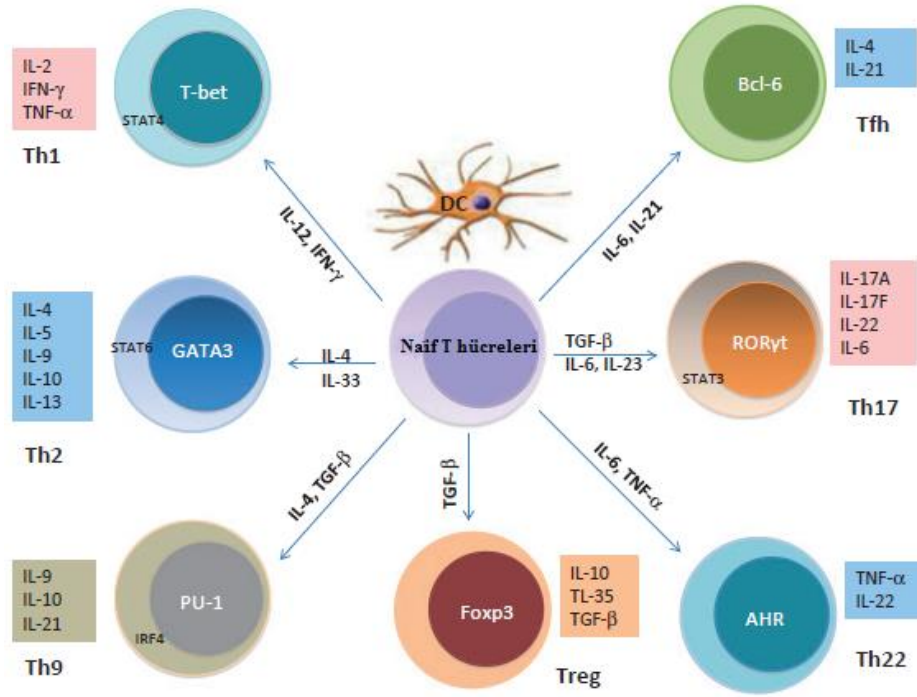
Adaptif immünite özelleşmiş lenfositlerden oluşur ve spesifik antijen üretimi, patojen eliminasyonu ve karşılaşılan patojenlere karşı immünolojik bellek geliştirebilme yeteneğine sahiptir (4). Dendritik hücreler patojen veya antijenleri fagositoz ve endositoz edebilme yeteneğine sahip en önemli antijen sunan hücrelerdendir (89). Burada belirli bir antijeni tanıma sonucu oluşan sinyaller, dendritik hücreler üzerindeki antijen/MHC ile antijen spesifik T hücreleri üzerindeki T-hücre reseptörleri arasındaki etkileşim aracılığıyla aktarılır (90). Dendritik hücrelerle birlikte makrofajların da antijen sunmada rol aldığı gösterilmiştir (91). Bu nedenle makrofajlar ve dendritik hücreler doğal ve adaptif immünite arasında bağlantı kuran önemli hücreler olarak kabul edilebilir (92).

Antijen sunan hücrelerle aktivasyon sonrası CD4+CD8+ çift pozitif T-hücre prekürsörleri pek çok farklı matür T hücre altgrubuna farklılaşır. CD4+ T hücreleri 'yardımcı T lenfositleri' (T helper-Th) adını alırken CD8+ T hücreleri sitotoksik T lenfositleri (Ts) olarak isimlendirilir (5).

### 2.8.1. Efektör CD4+ T Hücreleri

Efektör CD4+ T hücreleri adaptif immünitinin hücreleri olarak kategorize edilmekle birlikte doğal bağışıklık hücreleriyle yoğun etkileşim içindedir. Aktivasyon ve farklılaşmalarının yanısıra, Th hücreleri makrofajların fonksiyonlarını düzenler, nötrofil ve mast hücreleri gibi doğal bağışıklık hücrelerinin enfeksiyon alanlarına toplanmasını sağlar ve monositlerin dentritik hücrelere farklılaşmasını yönlendirir (93).

CD4+ Th hücreleri başlangıçta sadece Th1 ve Th2 hücre alt gruplarıyla sınırlıyken, özellikle son on yılda yapılan çalışmalar CD4+ hücrelerini sitokin sekresyon ve transkripsiyon faktörleri profillerine göre Th9, Th17, Th22, Treg ve Tf olarak karakterize etmiştir (Şekil 1) (6-10, 94). Fonksiyonel olarak farklı olan bu Th hücre altgrupları, altgruba özgü spesifik transkripsiyon regülatörü, hücre yüzey kemokin reseptörü ve anahtar sitokinlerinin ekspresyonu ile karakterize edilir. Bu altgruba özgü transkripsiyon regülatörleri ve sitokinleri çeşitli sinyal yollarını uyararak ve transkripsiyonel ve epigenetik regülatör mekanizmaları baskılayarak Th hücre farklılaşmasını başlatır ve artırır (95-97).



**Şekil 1.** Antijen sunan dendritik hücrelerin T hücre reseptörü (TCR) ile aktivasyonu sonucu CD4<sup>+</sup> T hücreleri Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh ve Treg hücrelerine farklılaşır (Liu ve ark.'tan uyarlanmıştır (94)).

### 2.8.1.1. Th1 Hücreleri

Naif CD4<sup>+</sup> T hücresi antijene makrofajlar ve dendritik hücrelerden salınan IL-12 varlığında maruz kalırsa interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) üretmesi ile karakterize Th1 fenotipine dönüşür (98). Th1 hücreleri IL-2, IL-3, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF ve lökotsin salgılayarak makrofaj, NK ve CD8<sup>+</sup> T hücrelerini aktive eder (99, 100). Th1 hücrelerinin efektör fonksiyonları makrofajların enflamasyon alanına aktivasyonu ve toplanması ile B hücrelerinden IgG2a üretiminin indüksiyonudur (101). Th1 hücreleri intraselüler patojenleri hücre aracılı olarak öldürerek veya makrofajları onları sindirmeleri için indükleyerek adaptif immüniteye katkıda bulunur (102, 103). Buna ek olarak gecikmiş tip hipersensitiviteden sorumlu hücrelerdir. Th1 yanıtının disregüle ekspansiyonu çeşitli otoimmün ve enflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (99).

### **2.8.1.2. Th2 Hücreleri**

Antijen sunan hücrelerin IL-4 sekresyonu CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin Th2 hücrelerine farklılaşmasını başlatır (103). Th2 hücreleri IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 sitokinlerini üretir (101). Hümmoral yanıtta Th2 yanıtı sorumludur ve parazitik enfeksiyonların kontrolünde gerekli olan artmış mast hücresi, eozinofil, bazofil aktivasyonu ve toplanmasında rol alır. Alerjik enflamasyonda IL-4 en önemli sitokindir ve B hücreleri tarafından IgE salınmasını sağlar (104-106). B hücrelerinin proliferasyonu ve fonksiyonunda IL-4 ve IL-13 rol oynar ayrıca IL-5 eozinofiller ve bazofiller üzerindeki IL-5 reseptörüne bağlanarak bu hücrelerin büyümelerini, farklılaşmalarını ve fonksiyonlarını kontrol eder. Bunun sonucunda üretilen histamin ve lökotrienler gibi enflamatuvar mediyatörler B hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik eder. Disregüle Th2 yanıtı astım ve alerji gibi atopik hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (107).

### **2.8.1.3. T<sub>f</sub> Hücreleri**

T foliküler (T<sub>f</sub>) hücreler lenfoid dokuların foliküler alanlarında lokalize, spesifik B hücre immünesinde rol almak için özelleşmiş Th hücre alt grubudur (108). Başlangıçta farklılaşmaları için hem IL-6 hem de IL-21'in olması gerektiği düşünülürken, yapılan çalışmalar iki sitokinden birinin T<sub>fh</sub> hücrelerinin farklılaşması için yeterli olduğunu göstermiştir (109, 110). T<sub>fh</sub> hücreleri B hücreleriyle etkileşimi sağlayan kemokin reseptörü CXCR5, CD40L, SLAM-ilişkili protein (SAP), optimal IL-21 üretimi için gereken indüklenebilir ko-stimülatör (ICOS), IL-6 ve IL-21 üretimiyle karakterizedir (111, 112).

### **2.8.1.4. Th9 Hücreleri**

Thelper 9 hücreleri IL-4 ve TGF- $\beta$  ile naif CD4<sup>+</sup> T hücrelerinden indüklenen veya Th2 hücrelerinin TGF- $\beta$  varlığında kültüre edilmesiyle elde edilen Th alt grubu olup, CXCR3, CCR3 ve CCR6 sitokin reseptörlerini eksprese ederler (113, 114). Bol

miktarda IL-9 ve IL-10 üretirler. IL-9'un TGF- $\beta$  ile birlikte Th17 hücrelerinin farklılaşmasını sağlayabildiği ve Th2, iTreg ile Th17 hücrelerinin de IL-9 üretebildikleri gösterilmiştir (115). Th9 hücreleri ürettikleri IL-9 aracılığıyla T hücre büyümesi ve proliferasyonunu stimüle eder, epitel hücrelerinden mün salgılanmasını artırır, mast hücre büyümesi ve canlılığını sürdürmesinde rol oynar ve Th2 hücreleriyle birlikte ekstraselüler parazitlerin yok edilmesinde görev alır (115, 116).

#### **2.8.1.5. Th22 Hücreleri**

Thelper 22 hücrelerinin farklılaşması IL-6 ve TNF- $\alpha$  varlığında indüklenir ve bu hücreler IL-22 üretimi ile karakterizedir (117). Th22 hücreleri çeşitli antimikrobiyal peptidleri indükleyerek epitelyal immün yanıtta rol oynar (12). Epitel hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu indükleyen IL-22, keratinosit farklılaşmasını inhibe eder (118). Pek çok çalışmada koruyucu fonksiyonuyla öne çıkan IL-22'nin, TNF- $\alpha$ 'nın proenflamatuvar yanıtını arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu nedenle IL-22 mevcut sitokinlerin varlığına bağlı olarak hem koruyucu hem de proenflamatuvar bir sitokin olarak kabul edilebilir (119). Th22 hücreleri ayrıca mukozal immünitede, otoimmün hastalıkların ve kanserin patogeneğinde rol oynar (120-122).

#### **2.8.1.6. Treg Hücreleri**

Treg hücreleri immün yanıtı baskılayarak, enflamasyonun rezolüsyonunu sağlayarak ve self-toleransın oluşmasını önleyerek immün homeostazın korunmasında önemli rol oynar (123). Foxp3 Treg oluşumu ve fonksiyonu için gereken esas transkripsiyon faktörüdür. Yapılan çalışmalar bozulmuş Foxp3 ekspresyonunun efektör hücrelerden immün cevabı arttıran sitokinlerden olan IL-2, IL-4, IL-17 ve IFN- $\gamma$  üretimini arttırdığını göstermiştir (124, 125). Treg hücreleri immün cevabı IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi anti-enflamatuvar sitokinler salgılayarak, direkt hücre-hücre teması ve antijen sunan hücrelerin aktivasyon durumunu ve



fonksiyonunu negatif yönde modüle ederek baskılar (123). Treg'lerin varlığı majör Th hücre altgruplarının aktivasyonunu da negatif yönde etkiler (101).

### 2.8.1.7. Th17 Hücreleri

Yapılan çalışmalar IL-17 üreten farklı bir CD4+ T hücre altgubu olduğunu göstermiştir. Bu hücreler yüksek derecede proenflamatuvar ve Th1/Th2 tip immün yanıtla etkin olarak temizlenemeyen ekstraselüler patojenlere karşı oluşan konak defansında önemli rol oynar. Ayrıca Th17 hücreleri ve sitokinleri çeşitli otoimmün ve enflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Geçmişte bu hastalıkların pek çoğuna Th1 immün yanıtının neden olduğu düşünülmekteyken, Th17 hücre alt grubunun tespiti Th1/Th2 paradigmasıyla açıklanamayan noktaları aydınlatmıştır (126).

Th1/Th2 modeli uzun bir süredir farklı patojenlere karşı oluşan T aracılı immün yanıtı açıklamakta kullanılmaktaydı. Hastalıkların bu modele uygunluğunun zayıflığına rağmen pek çok otoimmün ve enflamatuvar hastalık bu iki kategoriden birisine sokulmaktaydı (11). Bu modele göre Th1 hücreleri intraselüler patojenlere karşı hücre aracılı immün yanıtı yönlendirirken, Th2 hücreleri parazitik enfeksiyonlarda humoral immüniteyi yönetmektedir. Bu modelin basitliğine rağmen ekstraselüler bakterilere karşı oluşan konak yanıtındaki Th hücre tipi net değildi ve T hücreleri tarafından üretilen birçok sitokin bu iki kategoriye de tam olarak uymamaktaydı (127). Th1/Th2 modelinin yetersizliğini ortaya koyan ilk çalışmalar 1996-2004 yılları arasında yapılmıştır. İlk olarak, Infante-Duarte ve ark. *Borrelia burgdorferi* lipopeptidlerinin T hücrelerinden IL-17, TNF- $\alpha$  ve GM-CSF gibi Th1 veya Th2 alt grubuna ait olmayan sitokinlerin üretimini tetiklediğini göstermişlerdir (128). Bu bulgular, IL-17'nin CD4+ hücre kaynaklı olmasına rağmen, bu hücrelerin Th1 veya Th2 indüklü transkripsiyon faktörlerinin ve sitokinlerin yokluğunda ortaya çıktığını gösteren raporlar ile tutarlılık göstermektedir (129). İkinci olarak ise, 2000 yılında yeni bir sitokin zinciri olan p19'un keşfedilmesi Th1/Th2 paradigmasını aydınlatmada oldukça yararlı olmuştur. Bu p19 zinciri IL-12'nin p40 zinciri ile bir heterodimer oluşturarak yeni bir sitokin olan IL-23'ü ortaya çıkarmıştır. Yapılan

çalışmaların ışığında IL-17 üreten bu T hücrelerinin farklı bir altgrup olduğu bildirilmiş ve bu hücreler Th17 hücreleri olarak adlandırılmıştır (8).

Genel olarak Th1/Th2 paradigması periodontitis patogenezini açıklamada önemli bir yol gösterici olmuştur. Ancak Th17 hücrelerinin tespiti Th1/Th2 paradigmasının yarattığı pek çok karışıklığı ortadan kaldırmış ve konak defansında enfeksiyöz hastalıklara karşı IL-17 üreten hücrelerin fizyolojik rolleri birçok çalışmaya konu olmuştur (11). Th17 hücreleri proenflamatuvar sitokin üretimi ve nötrofillerin enfeksiyon alanına toplanmasını sağlayarak hücre dışı bakteriler ve mantarlara karşı oluşan konak immün yanıtında rol oynamaktadır (17, 18). Buna ek olarak Th17 hücreleri onkojenik STAT3 sinyalizasyonunun aktivasyonu ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), PEG<sub>2</sub> ve çeşitli sitokinlerin ekspresyonunu indükleyebilmektedir (100, 130).

Th17 hücreleri, ilişkili sitokin ailesi IL-17 adlandırıldıktan sonra bu ismi almıştır. Th17 hücreleri IL-17'ye ek olarak IL-6, IL-9, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-26, TNF- $\alpha$ , RANKL ve GM-CSF'yi üretir (8, 12, 13, 131-133). Yüzeylerinde ise CCR4, CCR6, IL-23R ve CD161 (18,134-139) eksprese eder.

## **2.9. Th17 Hücrelerinin Farklılaşması**

### **2.9.1. Th17 Hücrelerinin Farklılaşmasında Rol Oynayan Transkripsiyon Faktörleri**

Transkripsiyon faktörleri Th17 hücre farklılaşması ve sitokin ekspresyonu için kritiktir. Hücre türünün belirlenmesi ana regülatörler ile sinyal dönüştürücü ve STAT olmak üzere en az iki transkripsiyon faktörü gerektirir. Ana regülatörlerin aktivitesi ekspresyonlarıyla kontrol edilirken STAT proteinleri sitokinlerle fosforilasyon gibi post-transkripsiyonel modifikasyonlarla aktive edilir. Bazı STAT proteinleri ana regülatörlerin ekspresyonundan sorumludur. STAT'lar ve ana regülatörler sıklıkla direkt olarak sitokin genleriyle etkileşime girerek, sitokin üretimi regülasyonunda işbirliği yaparlar. Th17 hücreleri için gereken esas transkripsiyon faktörleri ROR $\gamma$ t ve STAT3'tür. Buna ek olarak farklılaşma sürecinin

düzenlenmesinde daha pek çok transkripsiyon faktörü gerekmektedir. Transkripsiyon faktörleri genetik ve protein düzeyinde birbiriyle etkileşime girerek sofistike bir transkripsiyonel regülatör ağ oluşturabilirler (140).

Th17 farklılaşmasının erken aşamalarında kombine TCR, TGF- $\beta$ , IL-6 ve/veya IL-1 $\beta$ -IL21 sinyali STAT3 'ü aktive ederek, Th17 altgrubuna spesifik transkripsiyon faktörleri olan ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$ t, IL-17, IL-17F ve IL-21 gibi hedef genlere bağlanması ve erken gen ekspresyonunu başlatması için çekirdeğe yer değiştirmesini sağlar. STAT3 aracılı sinyaller IL-6 ve IL-21 varlığında Treg hücre farklılaşmasında gerekli olan Th1 ilişkili transkripsiyon faktörleri T-bet ve FoxP3'ü baskılamaktadır. STAT3, IL-23R ekspresyonu için gereklidir ve IL-23'ün IL-23R'ye ekstraselüler bağlanması STAT3'ün aktivasyonunu daha da artırır. STAT3 ayrıca enflamasyon varlığında Th17 hücrelerinin iç ekspansiyonu için de önemlidir (141-144).

Th17 hücrelerinden spesifik olarak eksprese edilen ilk transkripsiyon faktörü olarak ROR $\gamma$ t tespit edilmiştir. Memeli hücrelerinde ROR $\gamma$  ve ROR $\gamma$ t olmak üzere iki farklı formda ROR bulunmaktadır. İnsan homoloğu retinoik asit reseptör ilişkili orfan reseptör-C2 (RORC2) olan ROR $\gamma$ t, Th17 hücreleri için esas transkripsiyon faktörüdür ve hem polarize olmayan CD4+ T hücrelerinin Th17 hücrelerine dönüşmesi için hem de IL-17 ekspresyonu için gerekmektedir (145). ROR $\gamma$ t(-) farelerde naif T hücrelerinin Th17 hücrelerine farklılaşmadığı ve IL-23 indüksiyonuna yanıt vermedikleri gösterilmiştir. ROR $\gamma$ t indüksiyonu STAT3'e bağımlıdır ve STAT3 ile birlikte ROR $\gamma$ t ekspresyonu daha fazla miktarda IL-17 üretimiyle sonuçlanır. Aktive CD4+ T hücrelerinde ROR $\gamma$ t'nin retroviral aşırı ekspresyonunun naif CD4+ T hücrelerinin Th17 hücrelerine farklılaşmasını ve IL-17 salımını indüklediği gösterilmiştir. Buna ek olarak ROR $\gamma$ t eksikliğinde TGF- $\beta$  ve IL-6 varlığında da Th17 hücrelerinin farklılaşmasının anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir ki bu da ROR $\gamma$ t'nin Th17 farklılaşması için ana transkripsiyon düzenleyicilerinden biri olduğunu gösterir. Th17 farklılaşmasında rol alan bir başka transkripsiyon faktörü olan ROR $\alpha$ 'nın ROR $\gamma$ t ile birlikte Th17 farklılaşmasını başlattığı gösterilmiştir (146). ROR $\alpha$  eksikliği, T hücrelerinde IL-17 ve IL-23R ekspresyonunda sadece selektif bir azalmaya neden olmaktadır. Bu sonuçlar ROR $\gamma$ t ile karşılaştırıldığında ROR $\alpha$ 'nın Th17 farklılaşmasında minör rol oynadığını

göstermektedir. ROR $\gamma$ t ve ROR $\alpha$ 'nın benzer fonksiyonlara sahip olmaları kombine konsantrasyonlarının özellikle negatif regülatörler varlığında Th17 hücre farklılaşmasında belirleyici olabileceğini gösterebilir (145).

## **2.9.2. Th17 Hücrelerinin Sitokin Aracılı Farklılaşması**

### **2.9.2.1. Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$ (TGF- $\beta$ )**

Th17 gelişimi ve işlevinde TGF- $\beta$ 'nin rolü hakkında çeşitli görüşler yer almaktadır. Bazı çalışmalar insan Th17 hücre farklılaşmasının TGF- $\beta$ 'dan bağımsız olarak gerçekleşebileceğini göstermektedir. Acosta-Rodriguez ve ark. IL-6 ve IL-1 $\beta$ 'nin Th17 hücrelerini indükleyebildiğini, Wilson ve ark. ise IL-23 ve IL-1 $\beta$ 'nin Th17 hücrelerinin farklılaşması için yeterli olduğunu göstermiştir (13, 147). Bunun aksine insan Th17 hücre farklılaşmasının TGF- $\beta$ 'ye ihtiyaç duyduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (126, 148, 149).

TGF- $\beta$  IL-2 varlığında Treg hücrelerini indüklerken, IL-6 varlığında Th17 hücrelerini indüklemektedir. TGF- $\beta$ 'nin Th17 farklılaşmasındaki rolünün, Th17 farklılaşmasını güçlü bir şekilde inhibe eden IFN- $\gamma$  ve IL-4'ün üretimini baskılayarak Th1 ve Th2'nin farklılaşmasını inhibe etmesi olduğu düşünülmektedir. Th17'nin ana regülatörü olan ROR $\gamma$ t IL-6 noksanlığında tek başına TGF- $\beta$  ile indüklenebilmektedir (80). TGF- $\beta$  ayrıca ROR $\gamma$ t ekspresyonunun inhibitörlerinin aktivitesini baskılayarak Th17 hücre farklılaşmasına neden olmaktadır (150).

### **2.9.2.2. İnterlökin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )**

IL-1 $\beta$ 'nin CD4+ T hücrelerinin antijen aracılı stimülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (151). IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-23 ile sinerjistik etki gösterir ve transkripsiyon faktörleri IRF4 ve ROR $\gamma$ t ekspresyonunu indükleyerek IL-17 üreten T hücre cevabının oluşumunda ve IL-17'nin bu hücrelerce ikincil indüksiyonunda rol oynar

(152). IL-17 ile sinerjistik etki gösterir ve IL-17, IL-1 $\beta$ 'nin daha fazla üretilmesini sağlar (56).

İnsan ve fare sistemleri arasında Th17 farklılaşmasının farelerde TGF- $\beta$  tarafından yönlendirilirken, insanlarda IL-1 $\beta$ 'nin bu rolü üstlenmesi gibi bir takım önemli farklılıklar bulunmaktadır (11). Daha önceki çalışmalar IL-1 $\beta$ 'nin IL-23 veya IL-6 ile birlikte IL-17 ekspresyonunu indükleme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (13, 153). Evans ve ark. ise IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın doğrudan Th17 hücrelerini uyarmada yetersiz olduğunu göstermiştir (154). Annunziato ve ark. IL-1 $\beta$  ve IL-23'ün CD161+ CD4+ CD45RA+ T hücrelerinden Th17 hücre yanıtını uyarmak için yeterli olduğunu bildirmiştir (155). IL-1 $\beta$ 'nin ekzojen TGF- $\beta$  yokluğunda Th17 hücre cevabını uyarabildiği ve TCR yokluğunda Th17 hücre fenotipinin devamlılığını sağlayabildiği gösterilmiştir. Sonuç olarak IL-1 $\beta$  sinyal yolunun inhibisyonu sonucu Th17 hücre yanıtının baskılanması IL-1 $\beta$ 'nin Th17 hücre yanıtındaki önemini göstermektedir (156).

### **2.9.2.3. İnterlökin-6 (IL-6)**

T helper hücrelerinin farklılaşmalarının ve fonksiyonlarının dengede kalmasını modüle eden IL-6, Th2 tipi sitokinler olan IL-4 ve IL-13'ün üretimini arttırarak Th2 hücrelerinin farklılaşmasını stimüle eder (56). Nötrofillerden IL-23 ve IL-17 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salımına ve Th17-polarize edici pozitif geri-bildirim döngüsünün kurulmasına katkıda bulunur (65).

IL-6 Th17 alt grubunun ana regülatörü olan ROR $\gamma$ t'nin aktivasyonunu ve IL-17 üretimini sağlar (157). TGF- $\beta$  ile birlikte ROR $\gamma$ t ve ROR $\alpha$  transkripsiyon faktörlerini aktive ederek Th17 hücrelerinin farklılaşmasını sağlar (63). IL-6'nın IL-17 salgılayan T helper hücreleri ve regülatör T-hücreleri arasındaki dengeyi ayarlama ana rolü üstlendiği düşünülmektedir. Çünkü IL-6 eksikliğinde TGF- $\beta$  immünsüpresif özelliği olan Treg hücrelerini aktive ederken, IL-6 varlığında immün yanıt IL-17 salgılayan Th hücre yanıtına dönüşür (56).

#### 2.9.2.4. İnterlökin-21 (IL-21)

IL-21 *in vitro* olarak TGF- $\beta$  varlığında STAT3 aktivasyonuyla naif T hücrelerinin Th17 hücrelerine farklılaşmasını uyarır. Ancak IL-21'in asıl rolü başlangıç farklılaşma programının uyarılmasından daha çok Th17 hücre havuzunu muhafaza ve amplifiye etmektir. Bununla uyumlu olarak Th17 hücreleri, IFN- $\gamma$  ve IL-4'ün Th1 ve Th2 sistemlerindeki etkilerine benzer biçimde Th17 hücrelerinin gelişimi için pozitif geri-bildirim faktörü olarak görev yapan IL-21'i bol miktarda üretir (158, 159, 160). Otokrin IL-21, IL-23R ekspresyonunu artırarak sinerjistik IL-21 ve IL-23 sinyalizasyonunun oluşmasını sağlar ve STAT3 aktivasyonuna izin vererek ROR $\gamma$ t transkripsiyonunu destekler. IL-21'in Th17 hücrelerinin farklılaşmasındaki etkisi yalnızca IL-6 ve Treg hücreleri yokluğunda belirgin hale gelir (158).

#### 2.9.2.5. İnterlökin-23 (IL-23)

Lenfositlerde IL-23 Th17 gelişimi için esas olan STAT3'ün güçlü bir şekilde fosforilasyonunu sağlarken, STAT4'ü daha zayıf bir şekilde aktive eder (161). STAT3 aktivasyonu ROR $\gamma$ t ekspresyonunu stimüle eder ve aktive olan ROR $\gamma$ t IL-17 üretimini artırır (162).

Yapılan ilk çalışmalarda gösterilen aksine IL-23 Th17 hücrelerinin naif T hücrelerinden farklılaşma basamaklarında rol almaz ancak Th17 hücreleri *in vivo* ve *in vitro* olarak fonksiyonlarını IL-23 olmaksızın devam ettiremez (163). Bu durum IL-23R'nin naif T hücrelerinde tespit edilememesi ancak Th17 hücrelerinde TGF- $\beta$  ile indüklenebilir olmasıyla tutarlıdır (164). *In vitro* olarak IL-23'ün insan naif T hücrelerine TGF- $\beta$  veya IL-6/veya IL-1 $\beta$  kombinasyonu ile birlikte eklenmesi Th17 hücre fenotipini ortaya çıkarmaktadır (165). IL-23 ayrıca IL-2, IL- $\beta$  ve TGF- $\beta$  ile kombinasyon halinde Foxp3<sup>+</sup> Treg hücrelerinin Th17 hücre fenotipine dönüştürülmesi için de önemlidir (166).

IL-12'nin Th1 hücreleri için oynadığı role benzer biçimde IL-23 de Th17 hücre alt grubunun canlılığını devam ettirmesi, stabilizasyonu, proliferasyonu ve

Th17 cevabının ekspansiyonunda önemli rol oynar (167). IL-23 ayrıca Th17 hücrelerinin efektör sitokinlerini indükler ve Th17 hücrelerinin tam farklılaşmasını ve efektör fonksiyonunu sergileyebilmesi için gereklidir (163). IL-23 tek başına IL-17 üretimini indükleyemez ancak diğer sitokinlerle sinerjistik etkisi Th17 hücre yanıtını ortaya çıkartır. Gelişmekte olan Th17 hücrelerinde IL-23 fonksiyonlarını kendi reseptörü olan IL23R'ye bağlanarak ve antienflamatuvar bir sitokin olan IL-10 ekspresyonunu bloke ederek yürütür (168, 169). IL-23 reseptörü naif mürin CD4+ T hücrelerinde sadece IL-6 veya IL-21 stimülasyonu sonrası eksprese edilir. IL-23, IL-6 ve TGF- $\beta$  varlığında farklılaşmış Th17 hücrelerinin 'patojenik' Th17 hücrelerine dönüşmesi için gereken en önemli sitokindir (159, 160, 168).

## **2.10. Th17 Transkripsiyonunun Negatif Yönde Düzenlenmesi**

CD4+ T hücre farklılaşması sırasında her hücre spesifik yanıtını oluşturabilmek için diğer hücre altgrubunun gelişimini inhibe eder. IL-4 Th1 yanıtını inhibe ederken, IFN- $\gamma$  Th2 hücre gelişimini inhibe eder. IFN- $\gamma$  ve IL-4'ün IL-17 üreten hücreleri anlamlı olarak inhibe ettiği ve bu sitokinlerin antikörlerinin eklenmesinin Th17 polarizasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (170). Th1 transkripsiyon faktörü T-bet ve Th2 transkripsiyon faktörü GATA-3 de Th17 farklılaşmasının negatif regülatörüdür (171). Naif CD4+ T hücrelerinin Th1 altgrubuna polarizasyonu için önemli bir sitokin olan IL-27'nin ROR $\gamma$ t ve ROR $\alpha$ 'yı baskılayarak Th17 hücrelerinin başlangıç farklılaşmasını bloke ettiği, CD4+ T hücrelerinden IL-10 sentezini arttırdığı ve GM-CSF, IL-17 ve IL-22 üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (171, 172). IL-25 olarak da bilinen IL-17E'nin de Th17 hücre farklılaşmasını baskıladığı gösterilmiştir (173). IL-2 çoğu T hücre altgrubu için mitojenik bir ajan olmasına rağmen IL-6R ekspresyonunu etkileyerek ve STAT5 fosforilasyonu aracılığıyla Th17 hücre farklılaşmasını negatif yönde düzenler (174). Th2 ilişkili transkripsiyon represörü Gfi-1 gibi sekonder faktörler de ROR $\gamma$ t aktivitesini inhibe ederek Th17 farklılaşmasını baskılamaktadır (140).

Ayrıca Th17 hücre farklılaşmasını negatif yönde etkileyebilecek Foxp3, Ets-1, TCF1, EGR2, Th-POK, E2A, Jagged-1-Hes-1, Foxo1 ve Foxo3a, ermin (Eomes),

TWIST1, PPAR $\gamma$ , ERK1/2, KLF4 ve Id3 gibi transkripsiyon faktörleri de rapor edilmiştir (175-187).

## **2.11. İnterlökin-17 (IL-17)**

IL-17 sitokin ailesi ilk defa 1995 yılında Yao ve ark. tarafından orijinal olarak sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen-8 (CTLA8) olarak tespit edilip klonlanmıştır (188). IL-17'nin otoimmünite ve konak defansına yol açan enflamatuvar süreçte önemli bir role sahip olduğu bilinmekteydi. Ancak imza sitokin olarak IL-17 salgılayan ve Th1 ve Th2 neslinden farklı olan üçüncü bir CD4<sup>+</sup> T hücre popülasyonu olan Th17 hücrelerinin tanımlanmasından sonra IL-17 ilgi odağı haline gelmiştir (189). IL-17 sitokin ailesi, IL-17 (IL-17A), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) ve IL-17F olmak üzere nükleotid sekanslarındaki benzerlikler baz alınarak gruplanmış 6 üyeden oluşmaktadır (190). IL-17 sitokin ailesi biyolojik fonksiyonlarını hedef hücreler üzerindeki yüzey reseptörleri aracılığıyla yürütür. IL-17A, IL-17RA ve IL-17RC'ye bağlanarak aktivite gösterir (8). IL-17RA hematopoetik hücreler tarafından yoğun olarak salınırken; osteoblastlar, fibroblastlar, endotel hücreleri, lenfositler, keratinositler, makrofajlar, dendritik hücreler, gingival epitel hücrelerinden de üretilmektedir (8, 191). IL-17RA(-) farelerin bakteriyel, fungal ve parazitik organizmaları içeren enfeksiyöz hastalıklara yatkın olduğu gösterilmiştir. Bu durum nötrofillerin IL-17 ile regülasyonu ile ortaya çıkmaktadır. IL-8, ICAM-1 ve G-CSF gibi CXC kemokinleri IL-17 sinyalizasyonu için ana gen hedefleridir. Sonuç olarak IL-17RA(-) farelerde nötrofil migrasyonu, ekspansiyonu ve toplanmasında defektler görülmektedir (11).

### **2.11.1. İnterlökin-17A (IL-17A)**

IL-17A, 155 aminoasitten oluşan ve yaklaşık 35 kDa'lık moleküler ağırlığa sahip disülfit-bağlı homodimerik bir glikoproteindir (188). IL-17 primer olarak Th17 hücreleri tarafından üretilmekle birlikte fibroblastlar, CD8<sup>+</sup> T hücreler, NK hücreler, nötrofiller, epitel hücreleri, invariyant NK hücreleri (iNKT),  $\gamma\delta$  T hücreleri, lenfoid



doku indükleyici hücreler (Lti), vasküler endotel hücreler, B hücreleri, mast hücreleri, dendritik hücreler, monositler, eozinofiller ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından da üretilen, enflamatuvar süreçte ve enfeksiyona karşı konak defansında önemli rollere sahip proenflamatuvar bir sitokindir (192).

IL-17, NF- $\kappa$ B ve MAPK (Mitojen aktive edici protein kinaz ) yollarını aktive eder (188). Fibroblastlardan, endotel ve epitel hücrelerinden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üretimini indükleyerek makrofajlardan G-CSF ve GM-CSF gibi nötrofillerin toplanması, migrasyonu ve aktivasyonunda rol oynayan moleküllerin salımını sağlar (193). Böylece doğal ve adaptif immünite arasında köprü oluşturur (194). Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve makrofaj enflamatuvar protein-2 (MIP-2) salımını artırır (195). Diğer sitokinlerle kooperasyon göstererek immün cevabı belirgin şekilde modüle eder ve enflamasyonu indükler. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , onkostatin-M ve IFN- $\gamma$  gibi çeşitli medyatörler ile sinerjik etki göstererek daha yoğun bir cevabın ortaya çıkmasını sağlar (196). Fibroblastlardan IL-6 ve IL-8 üretimini uyarır (188). Fibroblastlar üzerinde yapılan çalışmalar IL-17'nin TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ile sinerjizm göstererek IL-6 ve IL-8 üretimini arttırdığını göstermiştir (197).

Keratinositlerden ICAM-1 salımını indükler (198). iNOS ve siklooksijenaz (COX)-2 salımını indükleyerek enflamatuvar medyatörler olan PGE<sub>2</sub> ve NO üretimini artırır (199). IL-17A plazma hücrelerinin proliferasyonunda ve B hücrelerinin yaşamının devamlılığını sağlamada rol oynayarak adaptif immün yanıtta da yer alır (191).

IL-17'ye yanıt olarak salınan matriks metalloproteinazlar (MMP-1, MMP-3, MMP-9 ve MMP-13) ECM yıkımına neden olarak hücre hareketlerini kolaylaştırır (200, 201). Kemikte ise matriksin MMP'ler tarafından yıkımı kemik rezorbsiyonuna katkıda bulunur. Ayrıca osteoblastlardan RANKL salımını artırıp OPG salımını azaltır (196). Osteoklast progenitör hücre yüzeylerindeki NF- $\kappa$ B reseptör aktivatörünün (RANK) RANKL'a bağlanması sonucu aktivasyonu osteoklast oluşumu ve kemik rezorbsiyonu için gereklidir. Bu durum IL-17'nin osteoklastogenez ve kemik yıkımı üzerindeki indirekt etkisini göstermede önem taşır. Buna ilaveten IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi diğer osteoklastik faktörlerin aktivitesini arttırarak da kemik yıkımını etkiler (202).

### 2.11.2. Periodontal Hastalıklarda IL-17

Periodontitisli bireylerin gingival dokularında ve alveoler kemiklerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında IL-17 üreten hücreler daha fazla miktarda bulunmakta ve apikal bölgelerde (daha şiddetli enflamasyonun bulunduğu alanlar) koronal bölgeler ve oral mukozal alanlarla kıyaslandığında bu hücrelerin sayıları artmaktadır (203-210). Bu bulgular IL-17 üreten hücrelerin infiltrasyonunun periodontal hastalık lezyonlarındaki enflamasyonun şiddetiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Periodontitisli bireylerin gingival dokuları gingivitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında pek çok çalışmada artmış IL-17 ve/veya RORC2 mRNA ve proteinin ekspresyonunun izlendiği ve birbirleriyle korelasyon gösterdikleri bildirilmiştir. (203, 204, 208, 209, 211, 212-224). Oda ve ark. ise IL-17 pozitif örneklerin sıklığını periodontitisli hastalarda daha fazla bulurken, IL-17 düzeylerini gingivitisli hastalarda periodontitisli bireyler göre daha yüksek tespit etmişlerdir (225). Aktif lezyonlar inaktif lezyonlarla kıyaslandığında ise gingivada artmış IL-17 mRNA ve RORC2 ekspresyonu rapor edilmiştir (211, 213, 215).

Kronik veya agresif periodontitisli hastaların ve sağlıklı kontrollerin DOS veya salya IL-17 proteinini ve konsantrasyonunun total miktarını değerlendiren çeşitli çalışmalar mevcuttur (196, 206, 212, 223, 226-234). Genel olarak DOS IL-17 konsantrasyonu periodontal olarak sağlıklı grupta periodontal hastalıklı gruplardan daha yüksek bulunurken, DOS IL-17 total miktarı hastalıklı gruplarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek veya benzer bulunmuştur. Bu farklılık sağlıklı gingival bölgelerde DOS hacminin çok düşük olmasına ve enflame bölgelerde artış göstermesine bağlı olabilir. Salya IL-17 konsantrasyonunun kronik periodontitisli bireylerde azaldığını gösteren çalışmalar olduğu gibi arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (196, 234-236). Serumda ise agresif ve kronik periodontitis lezyonlarında sağlıklı kontrollere göre IL-17 düzeyleri artış göstermektedir (219, 237-241). Bu bulgular, enflame gingival dokulardaki lokal sitokin düzeylerindeki değişikliklerin sistemik dolaşımdaki sitokin düzeylerine yansıdığını gösteriyor olabilir (211).

IL-17 serum düzeylerinin cep derinliği (CD), plak indeksi (PI) ve klinik ataçman kaybı (KAK) gibi klinik parametrelerle korelasyon gösterdiği rapor

edilmiştir (196, 220, 236, 237, 241, 242). Nagireddy ve ark. IL-17 konsantrasyonunun periodontal yıkımın yaygınlığıyla pozitif korelasyon gösterdiğini ve IL-17'nin periodontal hastalık ilerleyişinde aktif olarak rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (242). Awang ve ark. DOS ve serum IL-17 düzeylerinin periodontitis hastalarında periodontal sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğunu ve CD, KAK ve sondlamada kanama (SK) ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (236). Lester ve ark. orta dereceli ve şiddetli KAK görülen bölgelerde normal-hafif KAK bölgelerine göre anlamlı olarak daha yüksek gingival IL-6, IL-17, IL-23 konsantrasyonları bildirmişlerdir (243). IL-17 konsantrasyonlarının gingival enflamasyonun erken evrelerinin bir sonucu olabileceğini ancak yerleşmiş periodontitis lezyonlarının sonucunu göstermeyebileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Johnson ve ark. CD 4-5 mm olan bölgelere komşu alanlardan alınan gingival biyopsilerde IL-17 konsantrasyonlarının CD 3 mm komşuluğunda olan alanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu, CD >6 mm ve CD <3 mm olan sağlıklı sulkuslara komşu alanlardan alınan gingival örneklerde ise IL-17 konsantrasyonlarının benzer olduğunu bildirmişlerdir (244). Ay ve ark. kronik periodontitisli bireylerin DOS örneklerinde IL-17 konsantrasyonlarının CD  $\geq$ 5 mm olan bölgelerde, CD  $\leq$  4 mm olan ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (245). Guzman ve ark. periodontitisli hastaların salya örneklerinde tespit edilen düşük IL-17 düzeylerinin klinik parametrelerle korelasyon göstermediğini ve salya düzeylerinin hastalığın varlığını ve/veya şiddetini göstermede yetersiz olduğunu bildirirken, salya IL-17 düzeylerinin periodontitisli bireylerde arttığını ve klinik parametrelerle korelasyon gösterdiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (234, 236, 246).

Th17 hücreleri aktif periodontal lezyonlarda IL-17 ve RANKL sentezi ile osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu indükleyerek, ilerleyici tipteki periodontal lezyonlarda osteoklastojenik Th fenotipi olarak rol oynar (215, 247). Belibalakis ve Bostancı periodontal dokulardaki primer RANKL kaynağı olarak Th1 veya Th17 hücrelerini göstermiştir (248). Ohyama ve ark. IL-17A salımının kemik yıkımına komşu bölgelerde daha yüksek düzeyde olduğunu bu nedenle IL-17A'nın periodontal hastalık patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini söylemişlerdir (211). Periodontal lezyonlarda T hücrelerinden IL-17 salımının fibroblastları aktive

edip, enflamatuvar medyatörler üretmelerine neden olarak enflamatuvar periodontal lezyonların şiddetini arttırdığı ve IL-17'nin sadece RANKL'ı indüklediği aynı zamanda RANK ve RANKL üretiminde rol oynayan hücrelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (204, 213). Kronik periodontitis lezyonlarından aktif alanlar pasif alanlarla karşılaştırıldığında artmış IL-17 ve RANKL mRNA salımının birbiriyle ve RORC2 ekspresyonuyla korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (204, 215).

Periodontal tedavi sonrası IL-17 düzeylerini değerlendiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben periodontal hastalıklı bireylerde CD4+ T hücre popülasyonunda IL-17+ hücrelerin yüzdesinde ve RORC transkripsiyon faktörü ekspresyon düzeylerinde azalma ile DOS ve serum IL-17 protein düzeylerinde düşüş izlenmiştir (233, 249-252). Bu veriler cerrahi olmayan periodontal tedavinin enflame gingival dokulardaki ve sistemik dolaşımdaki IL-17 düzeylerini etkileyebileceğini göstermektedir (253). Buduneli ve ark. ise DOS IL-17 konsantrasyonunun diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme (DTKYD) işleminin tamamlanmasını takiben 4. haftada arttığını ancak total miktarın değişmediğini bildirmiş ve bu durumun tedavi sonrası azalan DOS örnek hacmine bağlı olabileceğini rapor etmişlerdir (226). Erdemir ve ark. kronik periodontitis hastalarında rejeneratif tedavi sonrası DOS hacmi azalırken, IL-17 total miktarında anlamlı azalma olmadığını bildirmişlerdir (254). Prakasam ve ark. ise DTKYD işleminin salya IL-17 düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını rapor etmişlerdir (235).

IL-17'nin periodontal hastalıktaki enflamatuvar rolünün yanında koruyucu bir rol üstlenebileceğini gösteren *in vivo* çalışmalar da bulunmaktadır. IL-17RA(-) farelerde *P. gingivalis* enfeksiyonu ile oluşturulan deneysel periodontitis modelinde periodontal lezyonlarda azalmış nötrofil akümüasyonu ve artmış kemik kaybı izlenmiştir (255). Benzer bir mürin periodontal hastalık modelinde *Tannerella forsythia*'nın Th17 yanıtını baskıladığı ve sonuçta kemik kaybının arttığı rapor edilmiştir (256). Eskin ve ark. IL-17'nin endotel hücrelerinden Del-1 ekspresyonunu inhibe ederek nötrofillerin enflame periodontal dokulara sürekli ve aşırı migrasyonunu engellediğini bildirmişlerdir (257).

## 2.12. Periodontal Hastalıkların Tedavisi

Periodontal tedavinin amacı hastalığın ilerleyişini durdurmak, periodontal cebi elimine etmek, hastalığın tekrarını önlemek ve mümkünse kaybolan dokuları geri kazandırmaktır (258-260).

Dental plak periodontal hastalıkların gelişimindeki primer etiyolojik faktördür (261). Periodontal hastalıkların tedavisindeki yöntemler esas olarak periodontal dokulara komşu alanlardaki bu bakteriyel birikimi uzaklaştırmayı amaçlarken ikinci olarak lokal enflamatuvar yanıtı azaltmayı hedeflemektedir. Hastalara oral hijyen yöntemleri öğretilerek kişisel plak kontrolü optimal hale getirilir. Subgingival ve supragingival plak ile plak retansiyonunu arttıracı faktörler elimine edilerek hastaların plağı uzaklaştırabilmesi sağlanır (262).

Cerrahi olmayan periodontal tedavi sonucunda derin ceplerde azalma olmasına rağmen tedavi sonrasında patolojik cepler kalabilir (263). Bu tür vakalarda etkilenen kök yüzeylerine ulaşımı sağlayabilmek, biyofilm ve diştaşını uzaklaştırmak, morfolojiyi optimal hale getirmek ve gerektiğinde rejeneratif yöntemleri uygulayabilmek için cerrahi periodontal tedavi uygulanabilir. İyileşme sonrası idame periyoduyla uzun dönem stabil kalabilen sağlıklı bir periyodonsiyum elde edilebilir (264).

Periodontal hastalıklarda antimikrobiyal ajanlar mekanik debridmana yardım amacıyla sistemik ve lokal olmak üzere iki şekilde kullanılabilir (265). Sistemik antibiyotik uygulamalarının geleneksel mekanik tedaviye sınırlı yanıt veren hastalarda, derin periodontal cepleri olan hastalarda, tekrarlayan vakalarda, progresif veya aktif hastalık ya da özel mikrobiyolojik profillerin varlığında, akut periodontal hastalıkların tedavisinde DTKYD, subgingival irrigasyon uygulamaları ve cerrahi yöntemlere ek olarak kullanımı ile klinik olarak anlamlı sonuçlar elde edilebileceği söylenmiştir.

Sistemik antibiyotik tedavisi önemli yararlı etkilerinin yanında cep içinde etkin konsantrasyona ulaşamama, bakteriyel direnç oluşması, hasta uyumsuzluğu, fungal fırsatçı enfeksiyonların oluşabilmesi, alerji ve periodontal cep içinde yeterli lokal konsantrasyonu sağlamak için yüksek dozlarda antibiyotik kullanılması

gerekliliği gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir (266). Bu dezavantajlar periodontal hastalık tedavisinde cep içine ilaç uygulamasına izin veren yöntemlerin gelişmesiyle ortadan kaldırılmıştır. Lokal salım sistemleri dentogingival yüzeylere kolay ulaşım sağlayabilen fabrikasyon araçların antimikrobiyal ajanların direkt olarak periodontal cebe salımını sağlayan, etkin maddenin konsantrasyonunu istenilen süre boyunca istenilen düzeyde tutan sistemlerdir. Bu yolla geniş spektrumlu antiseptik ajanlar gibi sistemik uygulamanın uygun olmadığı antimikrobiyallerin kullanımı da sağlanabilir. Ayrıca lokal antibiyotik uygulamaları diğer bölgelerde ilaca dirençli mikrobiyal popülasyonların gelişmesini de önlemiş olur (267, 268).

Antibiyotiklerin yanısıra periodontal tedavide kullanılan oral antiseptikler non-spesifik antimikrobiyal mekanizmaya sahip geniş spektrumlu ajanlardır ve mikrobiyal hücrelerde çeşitli hücresel prosesleri inhibe ederek etkinliklerini gösterirler (269).

### **2.12.1. Konak Modülasyon Tedavisi**

Mekanik debridman ile birlikte uygulanan lokal ve sistemik antimikrobiyal tedavi devam eden bakteriyel atağa karşı oluşan konak yanıtını bloke veya inhibe etmede yetersiz kalabilir (270). Çalışmalar periodonsiyumdaki doku yıkımının büyük bir kısmının MMP'ler, sitokinler ve PGE<sub>2</sub> gibi konak kaynaklı enzim ve medyatörler tarafından gerçekleştirildiğini göstermiştir. Periodontal doku yıkımının primer olarak konak yanıtıyla belirlenmesi, araştırmaları bireyin bakteriyel atağa verdiği reaksiyonu değiştirmeye yönlendirmiş ve tedavi sonuçlarını iyileştirmek, hastalığın ilerleyişini yavaşlatmak, hastaların daha öngörülebilir tedavisini sağlamak ve hastalığın gelişimini önlemek amaçlı konak modülasyon terapileri geliştirilmiştir (19). Bu amaçla son 20 yılda yapılan hayvan ve insan çalışmalarında nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), düşük antimikrobiyal doz doksisisiklin, sistemik bifosfonatlar, anti-sitokin ilaçlar, çözülebilir sitokin blokörleri ve lipid medyatörleri gibi çeşitli konak modülasyon ajanları üretilmiştir (271). Son yıllarda konak modülasyonunda üzerinde oldukça fazla çalışma yapılan bir başka yaklaşım da fitoterapidir.

### 2.12.2. Fitoterapi

İlk defa Fransız hekim Dr. Henri Leclerc (1870-1953) tarafından ‘La Presse Medical’ adlı dergide kullanılan ‘fitoterapi’ terimi, son yıllarda ‘doğaya ve doğala dönüş’ akımının da etkisiyle tüm dünyada hızla kabul gören tamamlayıcı ve destekleyici bir tedavi şeklini ifade etmektedir. Fitoterapi, kelime anlamı itibariyle ‘bitkilerle tedavi veya bitkisel tedavi’ olarak tarif edilse de, aslında doğru tanımlama ‘bitkisel ilaçlarla tedavi’ dir. Fitoterapide kullanılan ilaçlara ise ‘bitkisel ilaç, fitoterapötik, fitofarmakoterapötik, fitofarmasötik, fitofarmaka’ gibi çeşitli isimler verilmektedir (272, 273).

Bitkilerden elde edilen doğal ürünler antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel ve antikanser özellikleri ile inflamatuvar medyatörleri (araşidonik asit metabolitleri, sitokinler vb), sekonder mesaj oluşturucu proteinlerin üretimini ve/veya aktivitesini (cGMP, cAMP, protein kinazlar vb), transkripsiyon faktörlerinin (AP-1, NF-κB vb) ekspresyonunu modüle ederek etki gösterir (274). Avantajları ise düşük yan etki profili, düşük maliyet, hastalar tarafından rahat kabul edilebilirliktir (273).

Periodontal patojenlerin plaktaki kolonizasyonunu ve/veya plak formasyonunu önlemek için etkin ve güvenilir ilacı belirlemek için günümüze kadar pek çok antimikrobiyal ajanla ilgili çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir (273). Çeşitli antibiyotiklere karşı oluşan bakteriyel direnç ve ortaya çıkan yan etkiler, antibiyotiklerin bu dezavantajlarını ortadan kaldıracı olan bitkisel ekstre içerikli antimikrobiyal ajanların kullanımını öne çıkarmıştır (275). Bitkisel ekstrelerin periodontolojide kullanımı günümüze kadar yoğun bir şekilde test edilmiş ve çeşitli bitkilerden elde edilen ürünlerin periodontopatojenik ve karyojenik bakterilere karşı anlamlı antibakteriyel aktivite sergiledikleri gösterilmiştir (276-278).

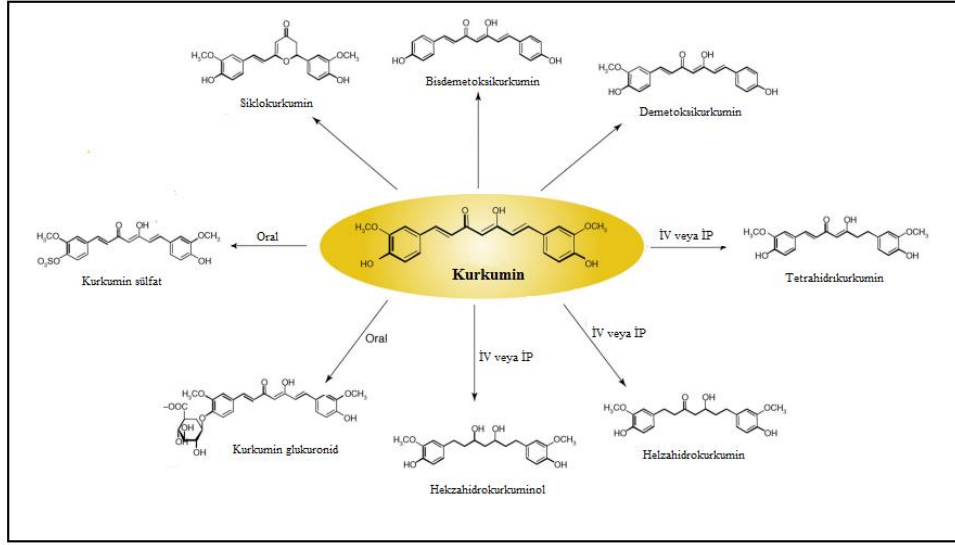
## 2.13. Fitoterapi ve Kurkumin

Türmerik, kullanımı 5000 yıllık geçmişe sahip *Curcuma longa* bitkisinden elde edilen, Hindistan'da yüzyıllar boyunca gıda maddesi olarak ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmış zencefil ailesinin bir türüdür. Altın rengi ve tadından dolayı Avrupa'da 'Hint safranı' adını almıştır. Hindistan ve Çin başta olmak üzere genellikle Asya ülkelerinde yetişir. Bu ülkelerde uzun yıllardır karın, diş, göğüs ağrısı ve menstrüel ağrıların tedavisinde kullanılmış olup, bilinen herhangi bir yan etkisi yoktur. Aynı zamanda mide ve karaciğer problemlerinde, yara iyileşmesinde ve skarların hafifletilmesinde, gaz giderici olarak, dizanteri, artrit, burkulmalar, akne, deri ve göz enfeksiyonları gibi durumların tedavilerinde ve kozmetik materyali olarak da kullanılmıştır (23). Ülkemizde ise Hint safranı, zerdeçal, safrankökü olarak adlandırılan türmerik daha çok baharat olarak kullanılmaktadır.

### 2.13.1. Türmerik Kompozisyonu

Türmerik; kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin, kurkumol, öjenol, tetrahidrokurkumin, trietilkurkumin, türmerin, türmeron ve türmeronol gibi pek çok fitokimyasal içermektedir. Kurkumin türmeriğe sarı rengini veren ve terapötik etkilerin çoğunluğundan sorumlu olan fitokimyasaldır. Pek çok çalışma kurkuminin demetoksikurkumin veya bisdemetoksikurkuminden daha aktif olduğu göstermiştir. Türmeriğin yaklaşık olarak %2-5'inin kurkuminden oluştuğu düşünülmektedir. Kurkuminin kimyasal yapısı 1,6-heptadien-3,5-dion-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil-(1E,6E) olup, keto ve enol olmak üzere iki şekli bulunmaktadır (279), (Şekil 2).





**Şekil 2.** Kurkuminin yapısı, doğal analogları ve önemli metabolitleri (Aggarwal ve Sung'dan modifiye edilmiştir (279)).

Kurkumin, türmerikten ilk olarak 1815 yılında Vogel ve Pelletier tarafından saf olmayan formda izole edilmiş, kimyasal yapısı 1910 yılında Milobedzka tarafından belirlenmiş ve sentezi 1913 yılında Lampe tarafından yapılmıştır. Asidik ve nötral pH'da keto formu baskınken, pH 7'nin üzerinde stabil olmayan enol formu izlenir. Kurkumin pH 3-7 aralığında güçlü bir H atom donörüdür, pH 8'in üzerinde elektron donörü gibi hareket etmektedir. Bu özelliği fenolik antioksidanların bağlanma aktivitesi için tipik bir mekanizmadır. Kurkumin bazik pH'a karşı dayanıksızdır ve pH 7'nin üzerinde rengi sarıdan kırmızıya doğru döner (23, 279).

Kurkuminin hidroksil grupları antioksidan özelliğini sağlarken metoksi grupları antiinflamatuvar ve antiproliferatif özelliklerini ortaya çıkarır. Kurkumin preparasyonları yaklaşık olarak %77 diferulometan, %18 demetoksikurkumin ve %5 bisdemetoksikurkumin içermektedir. Kurkumin hidrofobik özelliktedir ve dimetilsülfosit, aseton, etanol ve yağlar içinde çözünür (23, 279). En önemli yıkım ürünleri vanilin, ferulik asit, ferulometandır ve kurkuminin terapötik etkilerinin çoğu bu yıkım ürünlerine bağlıdır (280).

### 2.13.2. Kurkuminin Farmakokinetik Özellikleri

Yapılan çalışmalar kurkuminin glukuronidasyon ve sülfasyon yolu ile metabolize edilen, biyoyararlanımı düşük ve yarıömrü oldukça kısa olan bir bileşik olduğunu göstermiştir (281). Kurkuminin biyoyararlanımının düşük olmasının ana nedeni presistemik metabolizasyona uğramasıdır. Ayrıca düşük çözünürlüğü (pH 5'te maksimum çözünürlük 11 ng/mL) ve gastrointestinal kanal sıvılarına dayanıksız olması da biyoyararlanımının düşük olmasına yol açmaktadır (282).

Kurkuminin kas içi, deri altı, topikal, intranazal, pulmoner, rektal, intratrakeal, kemik iliği uygulamaları bulunmaktadır (283). Kurkuminin hızlı plazma klerensi ve konjügasyonu, baharatın terapötik yararlılığını sınırladığından kurkuminin kimyasal stabilitesini sağlamak, sistemik biyoyararlanımını ve suda çözünürlüğünü arttırmak için oral, parenteral, topikal formülasyonlar denenmiş ve kurkumini farklı maddelerle kombine etme çalışmaları yapılmıştır. Oluşturulan formülasyonlar arasında polimerik nanopartiküller, nanoemülsiyonlar, lipozomlar, ekzozomlar ve miçeller gibi çeşitli ilaç salım sistemleri bulunmaktadır (284). Lipofilik kurkuminin nanotaşıyıcılarla enkapsülasyonunun kurkuminin hastalıklı bölgede akümülesyonunu sağlarken, kurkumini yıkıma karşı koruyarak biyoyararlanımını 26 kat arttırdığı bildirilmiştir (285). Kurkuminin folik asit-konjüge polimerik bir taşıyıcıda kullanımının ise çözünürlüğünü 3200, stabilitesini ise 12 kat arttırdığı bildirilmiştir (286).

Kurkuminin piperin ve fitozom kombinasyonlarıyla kullanımının kurkuminin serum konsantrasyonunu, absorpsiyon miktarını ve biyoyararlanımını arttırdığı gösterilmiştir (287, 288).

Terapötik etkilerini optimize edebilmek için kurkuminin metabolizmasını yavaşlatan, absorpsiyonunu ve etkisini arttıran çeşitli yapısal kurkumin analogları da geliştirilmiştir. Bunlara örnek olarak 3,5-Bis (2-florobenziliden)-4-piperidon (EF24) ve 3,5-Bis (2-piridinilmetiliden)-4-piperidon (EF31) monoketon kurkumin analogları verilebilir (289).

### **2.13.3. Kurkuminin Toksisitesi**

Kurkuminin diğeri bir özelliği ise Asya ülkelerinde yüzyıllardan beri kullanılmasına rağmen herhangi bir toksik etkisinin tespit edilmemesidir (290). Yapılan bir faz 1 klinik çalışmada kurkuminin 500 mg/gün dozla başlanıp, 1, 2, 4, 8 ve 12 g/gün olacak şekilde arttırılarak 3 ay boyunca uygulanmasının hastalarda doz kısıtlayıcı toksisiteye yol açmadığı bildirilmiştir (291).

### **2.13.4. Kurkuminin Biyolojik Etkileri**

Son 60 yıl içinde 3000'den fazla çalışmada kurkuminin antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuvar, antiproliferatif, proapoptotik, analjezik, antimetastatik ve antiaterosklerotik, yara iyileştirici etkileri incelenmiştir. Çalışmalarda kurkuminin pleiotropik etkilerinin, pek çok moleküler hedefle etkileşim ve düzenleme kapasitesine bağlı olduğu gösterilmiştir (292).

### **2.13.5. Kurkuminin Moleküler Hedefleri**

Çalışmalar kurkuminin farmakolojik etkilerini çeşitli moleküler hedefleri modüle ederek gösterdiğini bildirmiştir. Bu hedefler arasında transkripsiyon faktörleri (NF-κB, AP-1, STAT, Notch-1), büyüme faktörleri (VEGF, EGF, FGF vb), büyüme faktörü reseptörleri (EGFR, HER-2), protein kinazlar (MAPK, JAK, IRAK vb), enflamatuvar sitokinler (TNF-α, IL-1β vb), adezyon molekülleri (ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1), çeşitli enzimler (COX-2, LOX, MMPler), apoptoz ilişkili proteinler (Bcl-2, kaspazlar, Fas), TLR-4, albümin, glutatyon, amiloid protein, DNA-polimeraz vb bulunmaktadır (279, 293). Ayrıca kurkuminin demir, bakır, manganez, çinko, alüminyum gibi bazı metal iyonlarına bağlanabildiği gösterilmiştir (294).

### **2.13.6. Kurkuminin Antioksidan Özelliği**

Güçlü bir antioksidan olan kurkuminin, bu etkiyi yapısında bulunan fenolik ve metilonik grupların serbest radikallerle etkileşmesi sonucu oksidan etkilerini azaltarak gösterdiği saptanmıştır (295). Janovic ve ark. kurkuminin mükemmel bir H<sup>+</sup> iyonu vericisi olduğunu ve verilen H<sup>+</sup> iyonunun daha çok metil grubundan koptuğunu belirlemişlerdir (296). Benzer olarak yapılan diğer çalışmalarda verilen iyonun kaynağının fenol grubu olduğu, böylece kurkuminin çift yönlü çalışan, güçlü antoksidan bir bileşik olduğu ortaya konulmuştur (297, 298). Kurkumin lipidleri, hemoglobini ve DNA'yı oksidatif yıkımdan koruyabilme özelliğine sahiptir. Kurkumin süperoksit anyonu, hidroksil radikali, singlet oksijen, nitrik oksit, peroksinitrit gibi reaktif oksijen radikallerini süpürücü etkisi olan güçlü bir antioksidan ajandır (24). Ayrıca katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipitlerin peroksidasyonunu da azaltır. Kurkumin hücre içi glutatyon salımını artırma ve demire bağlanabilme özelliği ile de antioksidan rol oynayabilmektedir. Bütün bu çalışmalarda kurkuminin hücrelerin redoks potansiyelini modüle etme özelliğine sahip olduğunu göstermektedir (23).

### **2.13.7. Kurkuminin Antienflamatuvar Özelliği**

Kurkumin antienflamatuvar etkisini birkaç farklı mekanizmayla göstermektedir. Bu mekanizmaların başında, proenflamatuvar ajanların salımını düzenleyen NF-κB aktivasyonunun engellenmesi gelmektedir (299, 300). Bununla birlikte bu mekanizmaya proenflamatuvar enzimler olan COX-2, 5-LOX ile iNOS enzimlerinin oluşumunun engellenmesi ve açığa çıkan enzimlere kurkuminin bağlanarak aktivitelerinin baskılanmasının da aracılık ettiği tespit edilmiştir (301, 302). Elde edilen veriler eikosanoid yolunun inhibisyonunun, kurkuminin çoğu antienflamatuvar aktivitesi için predominant mekanizma olduğunu göstermiştir (303). Kurkuminin antienflamatuvar etkisini oluşturmada önemli olan bir başka faktör de STAT3 aktivasyonunun baskılanmasıdır. Kurkuminin aynı zamanda

enflamatuvar etkinin oluşmasında görevli sitokinlerin (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ ), monosit kemoatraktan proteinin (MCP), migrasyon inhibitör proteinin (MIP), protein kinazların ve hücre yüzeyinde bulunan adhezyon moleküllerinin oluşumunu da baskılayarak antienflamatuvar etki oluşturduğu belirlenmiştir (287).

Kurkuminin antienflamatuvar özelliği antioksidan özelliği ile artıyor olabilir. Kurkuminin farmakolojik güvenilirliği ile antienflamatuvar özelliğinin kombinasyonu, kurkumini koruyucu ve terapötik yaklaşımlarda ideal bir ajan olarak göstermektedir (23).

Yapılan çalışmalar kurkuminin pankreatit, artrit, kolit, alerji, astım, kanser, viral hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörolojik hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, psöriasis, gastrik ülser, metabolik sendrom gibi hastalıklarda ve yara iyileşmesinde proenflamatuvar sinyalizasyonu düzenlediğini göstermektedir (23, 287, 304-315).

### **2.13.8. Kurkumin Kullanımının Kısıtları**

#### **2.13.8.1. Biyoyararlanım**

Kurkuminin en önemli kısıtı suda çözünürlüğünün yetersiz olması, barsaklardan emiliminin az olması, düşük doku dağılımı, nötral ve alkali pH'da gastrointestinal sistemde yıkıma uğraması, kısa yarılanma ömrüne yol açan hızlı metabolizasyonu ve hızlı sistemik eliminasyon sonucu düşük biyoyararlanımıdır (284).

#### **2.13.8.2. İlaç Etkileşimleri**

Kurkumin ilaç metabolize edici bazı enzimlerin (sitokrom p450, GST ve UDP-glukuronoziltransferaz) aktivitesini inhibe eder. Bu durum digoksin, asetaminofen ve morfin kullanan insanlarda bu ilaçların plazmada birikerek

toksisiteye neden olmasına yol açabilir. Ayrıca kurkuminle birlikte gempitabin kullanımının inatçı karın ağrılarına yol açtığı rapor edilmiştir (316).

### **2.13.8.3. Yan etkileri**

Kurkuminin günlük 0,45-3,6 gr'lık dozlarının uygulanmasının mide bulantısı ve diyareyle ilişkilendirildiği ve serumda alkale fosfataz ve laktat dehidrogenaz içeriğini arttırdığı gösterilmiştir (316).

## **2.14. Diş Hekimliğinde Kurkumin Uygulamaları**

### **2.14.1. Endodontide Kanaliçi İlaç Uygulamaları**

Kurkuminin kanal içi ilaç olarak *Enterococcus faecalis*'e karşı etkinliğinin klorheksidin, serum fizyolojik ve sodyum hipokloritle karşılaştırıldığı bir çalışmada *E. faecalis* biyofilmine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi sodyum hipoklorit gösterirken, sodyum hipokloriti kurkuminin takip ettiği bildirilmiştir. Sodyum hipokloritin istenmeyen özellikleri göz önünde bulundurulduğunda kurkuminin endodontide alternatif ilaç olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (317).

### **2.14.2. Pit ve Fissür Sealant Uygulamaları**

Diş yüzeylerindeki pit ve fissürlerin akrilik monomer, türmerik ve  $\beta$ -Apo-8'-Carotenal içeren polimerize edilebilir bir rezin sistemiyle örtülmesinin çürüklerin önlenmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (318, 319).

Prabhakar ve ark. türmeriğin %1'lik konsantrasyonunu konvansiyonel cam iyonomer simana ekledikleri çalışmalarında türmeriğin, simanın antibakteriyel etkisini ve flor salımını fiziksel özelliklerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadan arttırabileceği bildirilmiştir (320).

### **2.14.3. Fotodinamik Terapi ve Kurkumin**

Oral kavitedeki biyofilm gelişiminin engellenmesinde ve azaltılmasında fotodinamik inaktivasyon önemli bir alternatif olarak gösterilmektedir. Yapılan çalışmalar kurkuminin antioksidan, antiproliferatif ve antikarsinojenik etkilerinin uygun dalga boyunda ışık uygulamasıyla birlikte arttırılabileceğini ve kurkuminin lokalize yüzeysel enfeksiyonların fotodinamik tedavisinde fotosensitize edici ajan olarak kullanımının başarılı sonuçlar ortaya çıkardığını göstermiştir (321). Kurkuminin fotoaktivasyon etkisi için düşük konsantrasyonları yeterlidir ve dalgaboyu ~430 nm olan ışık varlığında absorbe olur. Fototoksik etkisi molekülün lipofilik özelliğine ve suda çözünürlüğünün düşük olmasına bağlıdır (322).

### **2.14.4. Oral Liken Planus Tedavisi**

Solanski ve ark. topikal steroid uygulamasından sonuç alınamayan bir rekürrent oral liken planus vakasında hastaya 4 hafta boyunca günde iki kere, 3. ve 4. haftalarda günde bir kere 500 mg sistemik kurkumin kullandırdıklarında, 4. haftanın sonunda lezyonun kaybolduğunu rapor etmişlerdir. Birinci aydan sonra kurkumin dozu 250 mg'ye düşürülerek kullanıma 2 hafta daha devam edilmiştir. Sonrasında hastaya lokal kurkumin uygulaması başlanmış ve 3 aylık takipte lezyonun tekrarlamadığı görülmüştür. Lezyonun tekrarlamaması ve steroidlerin mukozal atrofiye ve candidiazise yol açmaları, kurkuminin bu tip lezyonların tedavisinde önemli bir alternatif olabileceğini göstermektedir (323).

### **2.14.5. Plak Boyama**

Dental plağı boyayarak görünür hale gelmesini sağlayan beni-koji ve kurkuminden oluşan solüsyonun 200-500 nm'lik güce sahip bir ışık cihazıyla birlikte dental plağın tespitinde kullanılabilecek bir yöntem olduğu rapor edilmiştir (319).

## **2.15. Periodontal Hastalıklarda Kurkumin**

### **2.15.1. Deneysel Periodontitis Modelinde Kurkumin Uygulamaları**

Dong ve Zhuan, oluşturdıkları deneysel periodontitis modelinde 10 mg/kg/gün'lük kurkuminin RANKL ekspresyonunu ve alveol kemik kaybını anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca gingival dokularda azalmış IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üretimi ile ilişkili olarak daha az nötrofil migrasyonu olduğu bildirilmiştir (324).

Guimaraes ve ark. ligatürle indükledikleri deneysel periodontitis modelinde 30 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün kurkumin uygulamasının IL-6, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> sentezini inhibe ettiğini ancak kemik kaybı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonu doza bağımlı olarak inhibe olurken, p38 mitojen aktive protein kinazın aktivasyonu inhibe olmamıştır (20).

Guimaraes ve ark. indükledikleri deneysel periodontitis modelinde 30 ve 100 mg/kg/gün kurkumin uygulamasının IL-6, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ekspresyonu ve NF- $\kappa$ B ile p38 yollarının modülasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve kurkuminin her iki dozunun da enflamatuvar infiltratta anlamlı azalma sağladığını, doku yıkımını inhibe ederek gingivada kolajen içeriğini arttırdığını bildirmişlerdir (325).

Zhou ve ark. oluşturdıkları deneysel periodontitis modelinde 100 mg/kg/gün kurkumin uygulamasının IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerini anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Kurkuminin RANKL/RANK/OPG ekspresyonunu baskılayarak alveol kemik yıkımını azaltabileceği bildirilmiştir (326).

Ezzat ve Fares, oluşturdıkları deneysel periodontitis modelinde tek başına kurkumin, tek başına zencefil ve kurkumin-zencefil kombinasyonu uygulanmasının enflamatuvar yanıt ve alveol kemik kaybı üzerinde etkisini değerlendirmişler ve kurkuminin periodontal durumu iyileştirmede yetersiz kaldığını, kurkumin ve zencefil kombinasyonu ile daha umut vadeden sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir (327).



Hosadurga ve ark. %2'lik kurkumin jelin deneysel periodontitis tedavisindeki antienflamatuvar etkisini, etki süresini ve etkinliğini hiçbir tedavi uygulanmayan grup ve standart jel uygulanan grupla karşılaştırdıklarında, kurkumin jelin orta derecede antienflamatuvar etki gösterdiğini bildirilmişlerdir. Gingival indekste istatistiksel olarak anlamlı azalma olurken, cep derinliğinde ve kemik rezorbsiyonunun morfolometrik değerlendirmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmediği rapor edilmiştir (328).

Elburki ve ark. LPS ile indükledikleri deneysel periodontitis modelinde kimyasal olarak modifiye edilmiş kurkumin uygulamasının MMP-2, MMP-9, IL-1 $\beta$  düzeylerini ve alveol kemik yıkımını anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir (329).

### **2.15.1.1. Kurkuminin Periodontal Hastalık Tedavisinde Kullanıldığı İnsan Çalışmaları**

#### **2.15.1.2. Topikal Uygulamalar**

Kurkuminin oral uygulama sonrasındaki zayıf abzorbsiyonu, hızlı metabolizasyonu, suda çözünürlüğünün düşük olması gibi özellikleri kurkumini topikal uygulamalar açısından uygun bir aday haline getirmiştir. Kurkuminin kitosan-aljinat sünger, polimerik bandaj, aljinat köpük, kolajen film ve kremler gibi çeşitli formülasyonlar içerisinde biyoaktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Bu formülasyonların kurkuminin topikal uygulamasını kolaylaştırdığı ancak kurkuminin yara alanına infiltrasyonunun nano-formülasyonlarla daha da arttırılabileceği söylenmiştir (315).

#### **2.15.1.3. Kurkuminin Nanoformülasyonlarla Birlikte Kullanımı**

Mazzarino ve ark. kurkuminin oral kavitede istenen dozajda uygulanma süresini uzatmak ve bukkal mukoza tarafından emilimini arttırmak amacıyla kurkumin yüklü nano-tanecikler içeren bir mukoadeziv film geliştirmiştir. Filmlerin

en büyük avantajının içeriğindeki nanopartiküllerin kurkumini kontrollü bir şekilde, uygulama alanına direkt olarak ve uzun bir süre boyunca verebiliyor olmasıdır. Bu sonuçlar, nanopartikül içeren mukoadeziv filmlerin kurkuminin bukkal salımı için umut verici bir yaklaşım sunduğunu ve sürekli ilaç salımı gerektiren periodontal hastalıkların tedavisinde özellikle faydalı olabileceğini göstermektedir (330).

Gottumukkala ve ark. DTKYD işlemine ek olarak klorheksidinli çip ve kurkumin içeren kolajen lokal salım sistemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında başlangıçtan 3. aya kadar CD, KAK skorlarında ve *P. gingivalis*, *Treponema denticola* ve *T. forsythia* varlığında iki grupta da anlamlı azalma izlendiğini ancak klorheksidinli gruptaki azalmanın 6. aya kadar devam ederken, kurkumin grubunda CD ve bakteri miktarında hafif artışlar izlendiğini bildirmişlerdir (331).

#### **2.15.1.4. Kurkuminin Jel Uygulamaları**

Farjana ve ark. şiddetli gingivitise sahip bireylerde kurkumin jelin mekanik debridman olmaksızın günde iki kere topikal uygulanmasının yüksek kanama skorlarında anlamlı bir azalma sağladığını rapor etmişlerdir (332).

Behal ve ark. %2'lik türmerik jel içeren lokal salım sisteminin DTKYD işlemine ek olarak kullanımının tek başına DTKYD işlemine göre Pİ, Gİ, sulkus kanama indeksi (SKİ) ve CD ile *T. forsythia*, *P. gingivalis* ve *T. denticola*'nın salgıladığı tripsin-benzeri enzim aktivitesinde anlamlı azalma sağladığını bildirmişlerdir (333).

Varghese ve ark. DTKYD işlemine ek olarak her gramında 10 mg metronidazol veya 10 mg kurkumin içeren jellerin SKİ, Gİ, CD'de anlamlı azalma sağladığını bildirirken, değerlendirilen bütün parametrelerdeki azalma düzeyleri kurkumin grubunda metranidazol grubundan anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur (334).

Bhatia ve ark. DTKYD işlemine ilave olarak uygulanan %1'lik kurkumin jelin Pİ, Gİ, SK, CD, KAK değerlerini ve *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *F. nucleatum* ve *Capnocytophaga* türlerinin mikrobiyal miktarlarını sadece DTKYD uygulanan gruba göre anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir (21).

Jaswal ve ark. DTKYD işlemine ilave olarak %2'lik türmerik jel ve %1'lik klorheksidin jelin topikal subgingival uygulamasının Pİ, Gİ, CD ve KAK değerleri üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. Sonuçlarda klorheksidin jel ve DTKYD kombinasyonunun türmerik jel ile DTKYD kombinasyonuna göre ve türmerik jel ile DTKYD kombinasyonunun tek başına DTKYD işlemine göre klinik parametreleri iyileştirmede daha başarılı olduğu bildirilmiştir (335).

#### **2.15.1.5. Kurkuminin İrrigan Olarak Kullanımı**

Gottumukkala ve ark. DTKYD işlemine ek olarak %1'lik kurkumin solüsyonuyla subgingival irrigasyonu %0,2'lik klorheksidin glukonat ve serum fizyolojikle karşılaştırmışlardır. 1. ayda klinik ve mikrobiyal parametrelerde kurkumin grubunda diğer iki gruba göre daha iyi sonuçlar elde edilmesine karşın, çalışmanın sonunda kurkumin grubundaki hafif rekürrense bağlı olarak en iyi sonuçların klorheksidin grubunda izlendiğini bildirmişlerdir. Çalışma periyodu boyunca *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. gingivalis* ve *Capnocytophaga* türlerinin varlığı kurkumin ve klorheksidin grubunda benzer bulunmuştur (331).

Nandini ve ark. DTKYD işlemine ek olarak %1'lik kurkumin solüsyonuyla irrigasyonu, %0,2'lik klorheksidin ve %0,9'luk serum fizyolojik ile karşılaştırdıkları çalışmalarında Pİ, Gİ, CD skorlarındaki ve *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *A.a* ve *Fusobacterium* türlerindeki azalmanın klorheksidin grubunda kurkumin grubuna göre ve kurkumin grubunda serum fizyolojik grubuna göre daha anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (336).

Suhag ve ark. DTKYD işlemine ek olarak %1'lik kurkuminin subgingival irrigasyonunun etkilerini %0,9'luk serum fizyolojik ile %0,2'lik klorheksidinle karşılaştırmak için yaptıkları çalışmalarında, çalışmanın başlangıcında enflamasyon belirteçleri olan SK ve kırmızılığın kurkumin grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir azalma gösterdiğini ancak çalışmanın sonunda bu farklılığın anlamlı bulunmadığını bildirmişlerdir. Ortalama CD azalması ise kurkumin grubunda çalışma süresince diğer gruplardan anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur (337).

### 2.15.1.6. Kurkuminin Gargara Olarak Kullanımı

Walghmare ve ark. türmerik içeren gargara ile klorheksidin glukonat içerikli gargaranın gingivitis ve plak oluşunu üzerine etkinliklerini karşılaştırmışlar ve türmeriğin antiplak etkinlik göstermesine rağmen klorheksidinle karşılaştırıldığında daha az etkili bulunduğunu ancak bunun çalışmadaki türmerik dilüsyonuyla ilişkili olabileceğini söylemişlerdir. İki grup arasında Gİ ve total bakteri miktarındaki azalma oranları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bu çalışmada her iki gargaranın da gingival enflamasyonu azaltmada eşit düzeyde etkili olduğu ve türmerik içeren gargaraların mekanik plak kontrolüne ek olarak plak ve gingivitis oluşumunu önlemede kullanılabileceği bildirilmiştir (338).

Muglikar ve ark. kurkumin içerikli gargaranın DTKYD işlemine ek olarak kullanımının kronik gingivitis üzerine olan etkisini değerlendirdikleri ve antienflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklerini klorheksidinle karşılaştırdıkları çalışmalarında, gruplar arasında Gİ ve Pİ skorlarındaki azalmanın anlamlı farklılık göstermediğini bildirmişlerdir (339).

Mali ve ark. %0,1'lik türmerik gargaranın antiplak ajan olarak etkinliğini ve gingival enflamasyon üzerindeki etkisini %0,2'lik klorheksidin glukonatla karşılaştırdıklarında her iki gargaranın da plak ve gingivitiği önlemek için mekanik plak kontrolüne ilave olarak etkin bir şekilde kullanılabileceğini ve gargaraların benzer ve anlamlı antiplak, antienflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduklarını bildirmişlerdir (340).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Çalışma 07.11.2013 tarihli, 04 sayılı karar ile Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun bulundu ve 3849-D1-14 numarası ve 22.01.2014 tarihi ile SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından onaylandı. Deneylerin tamamı SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda (HÜDAL) gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan deney hayvanları, HÜDAL'da çalışma kriterlerine uygun deney hayvanı bulunmaması nedeniyle Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nden sağlandı.

#### **3.1. Deney Hayvanları**

Çalışma 38 adet yetişkin Wistar albino sıçan kullanılarak gerçekleştirildi. Deney sonucunda incelenecek parametreler üzerine etkisi bilindiğinden sıçanların hepsinin erkek olmasına ve yaşlarının denk olmasına (ortalama 4 aylık) özen gösterildi (341). Deney normal ağırlıklı, daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış ve sistemik olarak herhangi bir hastalığı bulunmayan sıçanlar kullanılarak gerçekleştirildi.

#### **3.2. Deney Hayvanlarının Yaşam Koşulları**

Sıçanlar deney süresince SDÜ HÜDAL'da yaşam koşulları optimize edilerek barındırıldı. Tüm deney grupları için standart oda sıcaklığı (21 °C), nem (%55-60) ve ışııkta (sabah 7.00 ve 19.00), her bir çalışma grubu ayrı kafeste olacak şekilde 4 adet Euro type-4 kafeste barındırıldı.

### 3.2.1. Diyet Koşulları

Sıçanlar standart S2 pelet sıçan yemi (kuru madde (%88), ham protein (%19), ham sellüloz (%14), ham kül (%9), HCl'de çözünmeyen kül (%1,0), kalsiyum (%0,8-1,5), fosfor (%0,5), sodyum (%0,2-0,4), NaCl (%1,0), metabolik enerji 2,550 kkal\Kg, A vitamini (IU\Kg 5000), D3 vitamini (IU\Kg 1000), E vitamini (mg\Kg 30); Zirve S2 pelet yem, Türkiye) ile ad libitum beslendi. Ayrıca sıçanların suya da sınırsız erişimi sağlandı. Çalışma başlangıcında, çalışma süresince her hafta ve sakrifikasyon yapılmadan önce sıçanların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi.

### 3.3. Çalışma Grupları

Çalışmaya katılan sıçanlar 4 gruba ayrıldı:

- Grup 1: Ligatürle periodontitis indüklenen sıçanlar (n=10)
- Grup 2: Ligatürle periodontitis indüklenen ve kurkumin uygulanan sıçanlar (n=10)
- Grup 3: Periodontal olarak sağlıklı ve kurkumin uygulanan sıçanlar (n=10)
- Grup 4: Periodontal olarak sağlıklı sıçanlar (n=8)

Kurkumin Grup 2 ve Grup 3'e üretici firmanın tavsiyelerine göre (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) ile 11 mg kurkumin/1 ml DMSO olacak şekilde çözdürülerek uygulandı. Grup 1 ve Grup 4'e ise sadece aynı hacimdeki DMSO verildi. Uygulamalara periodontitisin indüklenmesinden 1 gün önce başlanarak, her sabah saat 10.00'da, 30 mg/kg kurkumin olacak şekilde, oral gavaj yoluyla 15 gün süresince devam edildi (20), (Resim 1). Periodontitis gelişimini takiben 14. günde sıçanlar sakrifiye edildi (342, 343).



**Resim 1.** DMSO’da çözdürülmüş kurkuminin gavaj yoluyla verilmesi

#### **3.4. Deneysel Periodontitis Modeli**

Deneysel periodontitis genel anestezi altında ligatürle indüklendi. Sıçanlara intraperitoneal injeksiyon yöntemiyle 0,05 ml/100g Xylazine HCl ve 0,1 ml/100g Ketamin HC anestezi uygulandı. Anestezi derinliği “parmak kıştırma yöntemi” ile kontrol edildi. Periodontitis indüklenirken ligatürler (5,0 siyah ipek suture; Doğsan, Türkiye) bilateral olarak üst 2. molar dişlerin tam servikalinde konumlandırılarak mediopalatinal olarak düğümlendi (344). Resim 2’de sıçanın sabitlendiği özel aygıt ve ligatürün uygulandığı maksiller segment görülmektedir.



**Resim 2.** Periodontitisin maksiller segmentte ligatürle bilateral olarak indüklenmesi.

### **3.5. Periodontitisin İndüklendiğinin Belirlenmesi**

Deneysel periodontitis indüklenmeden önce sıçanların periodontal cep derinliklerinin 0,5 mm'yi geçip geçmediği sondlama ile değerlendirildi ve bütün sıçanların periodontal olarak sağlıklı olduğu görüldü. Ayrıca dental loop ile enflamasyon varlığı değerlendirildi ve herhangi bir enflamatuvar bulguya rastlanmadı. Deneysel sürecin sonunda ligatür uygulanan tüm dişlerde PCP-12 sondu (Hu-Friedy, USA) kullanılarak periodontitisin indüklendiği belirlendi (345).

### **3.6. Biyokimyasal Analiz**

Çalışmanın sonunda sıçanlar ketamin HCl (0,1 ml/100 g) ve ksilazin HCl (0,05 ml/100 g) anestezisi altında abdominal kesi yapılarak (eksanguinasyon) juguler venden 5-7 ml kanın alınmasıyla sakrifiye edildi (346, 347). Ratlar sakrifiye edildikten sonra serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, IL-23 ve TGF- $\beta$  varlığı ve düzeylerinin ticari enzim bağlı immünosorbent analizi (ELISA) kitleri aracılığıyla (IL-1 $\beta$  (Bender



MedSystems, Campus Vienna, Austria, sensitivite: 4 pg/ml), IL-6 (Bender MedSystems, Campus Vienna, Austria, sensitivite: 12 pg/ml), IL-17A (Bender MedSystems, Campus Vienna, Austria, sensitivite: 1 pg/ml), IL-23 (USCN Life, Wuhan-China, sensitivite: 5,5 pg/ml) ve TGF- $\beta$  (Bender MedSystems, Campus Vienna, Austria, sensitivite: 7,8 pg/ml) belirlenebilmesi için kan örnekleri steril enjektörler yardımıyla alınarak jelli biyokimya tüplerine aktarıldı. Yaklaşık 30 dakika dış ortamda pıhtılaşması beklenen kan örnekleri soğutmali santrifüj cihazında (NF 1200R, Nüve, Türkiye) 3000 rpm'de (RCF: 1650 g) 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu şekilde elde edilen serumlar, her örnekten 5'er porsiyon olacak şekilde kapaklı eppendorf tüplerine porsiyonlanarak -20 °C'de çalışma zamanına kadar muhafaza edildi.

Örnekler çalışmadan birkaç saat önce +4°C'ye alınarak yavaşça çözünmeleri sağlandı ve çalışma sıcaklığına (20-25 °C) gelmeleri beklendi ve kullanılmadan hemen önce vortekslenerek homojen hale getirildi. İnterlökin-23 ELISA kiti, çalışma zamanına kadar prospektüsüne uygun şekilde -20 °C'de saklandı. Çalışmadan önce, ilk olarak +4 °C'de bekletilerek yavaşça çözünmesi sağlandı, daha sonra dış ortamda çalışma sıcaklığına ulaşması beklendi. Diğer (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, TGF- $\beta$ ) ELISA kitleri ise çalışma zamanına kadar prospektüslerine uygun şekilde +4 °C'de saklandı. Çalışma sırasında microplate yıkamaları Bio-tek marka ELx 50 model otomatik strip yıkayıcı (USA) ile microplate absorbans ölçümleri Rayto RT 6000 microplate okuyucu (China) ile yapıldı. Ayrıca prosedürler sırasında Memmert marka etüv (Frankfurt, Germany) ile GFL marka shaker (Orbital Shaker 3005, Germany) kullanıldı.

### **3.7. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz**

Tüm gruplardan histolojik analiz için sol maksiller 2. molar dişi çevreleyen gingival dokular minimal travmayla elde edilerek kimyasal tespit için %10'luk nötral formaldehit içerikli kaplara alındı. Dokudaki antijenik olmayan hücre ve hücre yapılarını boyanmasını sağlamak için Mayer hematoksilen (J.T. Baker) kullanılarak zıt boyama işlemi yapıldı. Bu amaçla 4  $\mu$ m kalınlığında elde edilen parafin kesitler

37 °C'de etüvde bir saat bekletildikten sonra deparafinizasyon işlemi için Ksilol-1'de 10 dakika ve deparafinizasyon işleminin devamı olarak Ksilol-2'de 10 dakika bekletildi. Dehidratasyon işlemi için sırasıyla %100'lük alkolde 5 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika, %90'lık alkolde 5 dakika, %80'lik alkolde 5 dakika, %70'lik alkolde 5 dakika ve fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonunda 5 dakika boyunca bekletildi. Sonrasında kesitler sodyum sitrat tamponunda 600 W'a ayarlı mikrodalga fırında 1 dakika ısıtıldı ve oda sıcaklığında 20 dakika süresince dokularla birlikte soğumaya bırakıldı. Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dk bekletildikten sonra PAP Pen kalem ile polilizinli lamaların üzerindeki doku kesitlerinin etrafı çizildi ve bu işlem ileriki safhalarda da gerektiğçe tekrarlandı. %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu dokuların üzerini kaplayacak şekilde ve diğer dokularla karışmamasına dikkat edilerek damlatıldı ve işlemi takiben 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dakika bekletildikten sonra Ultra V Block (Lab Vision, Thermo Fisher Science, Freemont, CA, USA) dokunun üzerini kapatacak şekilde damlatıldı ve 10 dakika daha bekletildi. Lamalardaki son kesitlere kontrol amacıyla sekonder antikor, diğer kesitlerin üzerine ise primer antikor damlatıldıktan sonra lamalar nemli kabin içerisinde +4 °C'de bir gece bekletildi.

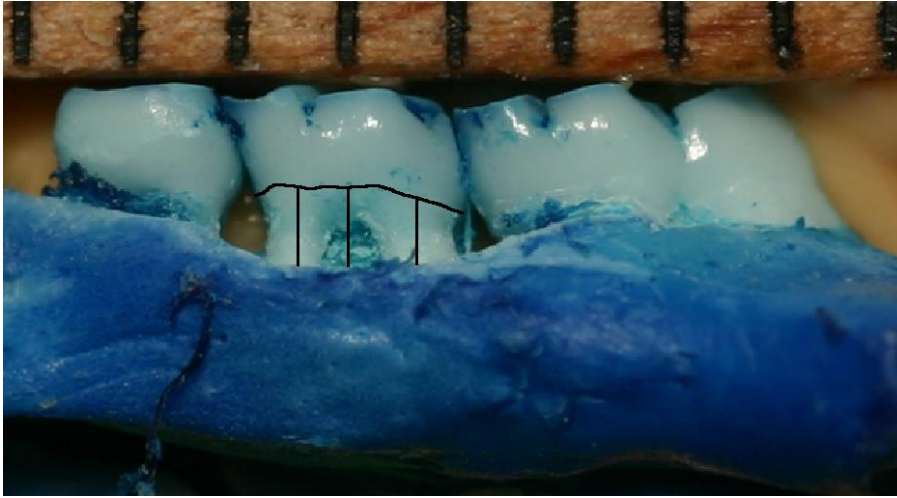
Ertesi gün kesitler PBS-1, PBS-2 ve PBS-3'te 3'er dakika bekletildi. Sekonder antikor, dokuların üzerini kaplayacak şekilde damlatılarak 10 dakika beklendikten sonra kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dakika bekletildi. Streptavidin horseradish peroksidaz (Lab Vision, Thermo Fisher Science, Freemont, CA, USA) dokunun üzerini tamamen kaplayacak şekilde damlatılıp 10 dakika beklendi. Sonrasında kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dakika daha bekletildi. Diamino benzidin solüsyonu (Lab Vision, Thermo Fisher Science, Freemont, CA, USA), dokuların üzerine damlatılıp reaksiyon vermesi için 10 dakika beklendikten sonra kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dakika bekletildi. Zıt boyama 10 saniye süresince hematoksilen ile yapıldıktan sonra kesitler çeşme suyunda 5 dakika boyunca yıkandı ve sırasıyla %70, %80, %90 ve %100'lük alkol serilerinden batır-çıkartma işlemi yapılarak geçirildi. Kesitler şeffaflaşana kadar ksilolde bekletildikten sonra entellan kullanılarak kapama yapıldı. Boyanan örnekler binoküler mikroskopta (Olympus BX50, Tokyo, Japan) incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi.

### 3.8. Kemik Yıkımının Morfometrik Olarak Değerlendirilmesi

Sakrifikasyonun ardından alveoler kemik kaybının morfometrik olarak belirlenmesi amacıyla dekapitasyon yapıldı. İzole edilen tüm maksiller segmentler +4 °C’de 24 saat %3’lük hidrojen peroksitte bekletildikten sonra +4 °C’de %10’luk formolde saklandı (346). Mine-sement sınırını belirlemek amacıyla %1’lik metilen mavisinde (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) 1 dakika bekletildi ve akan su altında yıkanıp basınçlı havayla kurutuldu. Sonrasında alveolar kemik yıkımının değerlendirilebilmesi için 8.5 megapiksel dijital kamera (Canon EOS 300D, Canon Inc., Japan) ve 100 mm’lik lensle (Canon Macro 2.8 EXES, Canon Inc., Japan) maksiller segmentlerin fotoğrafları çekildi.

Çekimler sırasında tripod kullanılarak kamera minimal odak uzaklığında yere paralel hale getirildi. Örnekler ölçü maddesi içerisine gömülerek, okluzal yüzeyleri ölçeklendirme için referans olarak yerleştirilen cetvele bakacak ve cetvelle maksimum temasa gelecek şekilde sabitlendikten sonra bukkal ve palatinal yüzeyler fotoğraflandı.

Software 3D-Doctor (v.3.5 Able Software Corp, Lexington, MA, USA) kullanılarak mine-sement sınırı ile kemik kreti arasındaki doğrusal mesafe bukkal ve palatinal yüzeylerde mesial kök, furkasyon bölgesi ve distal kök üzerinde olmak üzere 6 ölçümün ortalaması alınacak şekilde değerlendirildi (Resim 3).



**Resim 3.** Çekilen fotoğraflarda alveoler kemik kaybının belirlenmesi amacıyla bukkal yüzeyde yapılan ölçümler.

### 3.9. İstatistiksel Analiz

Parametrelerin tanımlayıcı istatistikleri medyan (minimum-maksimum) olarak verildi. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanıldı ( $p < 0,05$ ). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğu Mann-Whitney U testi (Tip-1 hatayı önlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesi ile) kullanılarak belirlendi ( $p < 0,0125$ ). Tüm istatistiksel analizler ticari bir yazılım paketi kullanılarak yapıldı (SPSS 15,0 Chicago, IL, USA).

#### 4. BULGULAR

Çalışma periyodu herhangi bir komplikasyon yaşanmadan ve hayvan kaybı gerçekleşmeden 15 günde tamamlandı. Deney sonunda periodontitisin indüklendiği bütün ratlarda periodontitis geliştiği görüldü. Çalışma boyunca ratlardaki ağırlık değişiklikleri çalışma başında ve sonunda grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,0125$ ).

**Tablo 2.** Çalışma gruplarındaki sıçanların çalışma başlangıcındaki ve sonundaki ağırlıkları.

	Periodontitisli				Periodontal sağlıklı			
	Grup 1 (n=10)		Grup 2 (n=10)		Grup 3 (n=10)		Grup 4 (n=8)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
	263	269	294	294	262	282	284	283
	231	242	289	294	306	316	316	329
	325	324	304	323	289	310	314	313
	290	293	310	323	303	304	248	270
	260	274	322	312	332	333	245	255
	359	358	265	266	248	218	267	279
	253	263	316	319	355	368	248	261
	302	301	261	265	229	281	293	312
	353	358	286	289	255	278		
	286	290	225	257	306	305		
<b>Medyan</b>	288	292	292	294	296	305	276	281
<b>Minimum</b>	231	242	225	257	229	218	245	255
<b>Maksimum</b>	359	358	322	323	355	368	316	329

#### 4.1. Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal parametrelerde serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve TGF- $\beta$  düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken ( $p>0,0125$ ), IL-23 düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ( $p<0,0125$ ) (Tablo 3). En yüksek IL-23 düzeyleri Grup 2’de bulunurken, Grup 2’yi Grup 1, Grup 4 ve Grup 3 takip etti. IL-23 düzeyleri Grup 2’de Grup 3’ten anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0,0125$ ). IL-23 düzeyleri Grup 1’de Grup 3 ve Grup 4’ten anlamlı olarak daha yüksek bulunurken ( $p<0,0125$ ), Grup 3 düzeyleri Grup 4’ten anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p<0,0125$ ). Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 2 ile Grup 4 arasında IL-23 düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0,0125$ ).

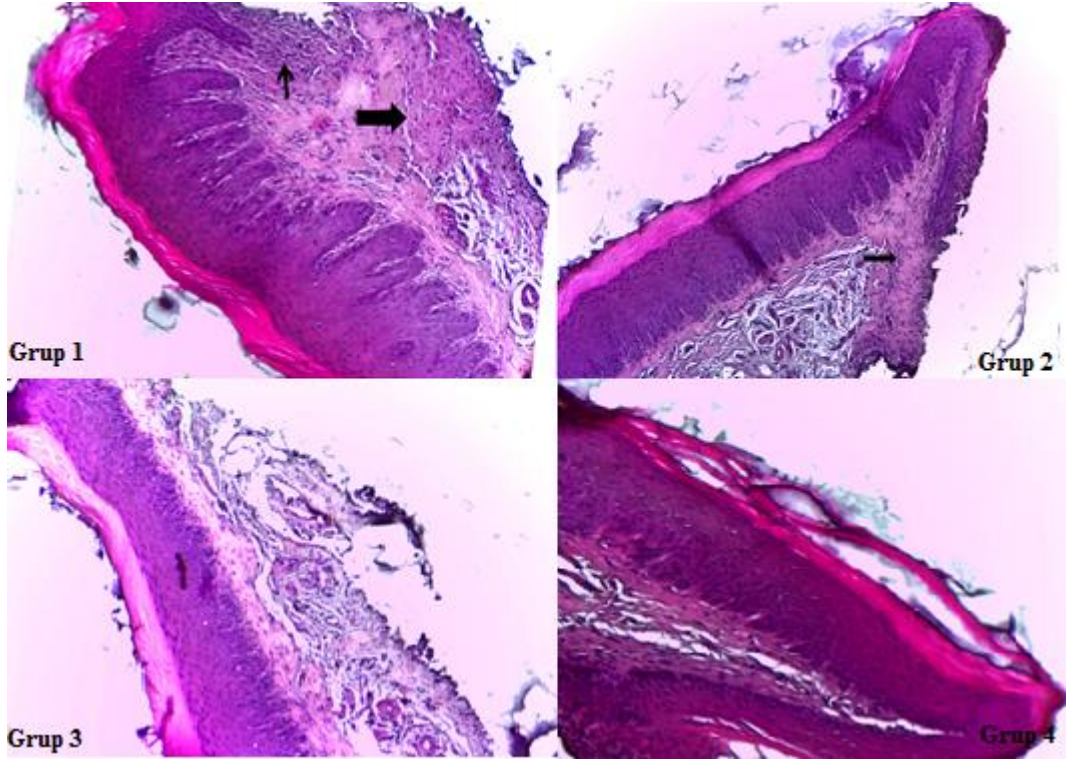
**Tablo 3.** Gruplara ait serum sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23, TGF- $\beta$ ) düzeyleri [medyan (minimum- maksimum)].

Parametreler	Grup 1 (n=10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n=10)	Grup 4 (n=8)
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	122,23 (26,14-188,64)	75,96 (13,74-149,50)	56,27 (19,44-136,50)	49,22 (17,72-171,18)
IL-6 (pg/ml)	163,96 (140,1-176,3)	170,15 (134,3-210,9)	171,19 (132,4-213,1)	142,04 (142,04-222,1)
IL-17A (pg/ml)	9,27 (6,68-11,58)	8,65 (4,70-17,64)	8,49 (6,48-14,40)	10,74 (8,34-13,84)
IL-23 (pg/ml)	40,02 (33,25-49,79) <sup>†§</sup>	46,45 (25,22-75,74) <sup>†</sup>	22,35 (12,12-62,38) <sup>**†§</sup>	27,25 (12,54-55,16) <sup>* †</sup>
TGF- $\beta$ (ng/ml)	75,77 (70,05-91,99)	77,77 (66,56-85,35)	73,47 (29,19-80,79)	77,39 (63,39-87,38)

\* Grup 1 ile anlamlı farklılık ( $p<0,0125$ ), † Grup 2 ile anlamlı farklılık ( $p<0,0125$ ), ‡ Grup 3 ile anlamlı farklılık ( $p<0,0125$ ), § Grup 4 ile anlamlı farklılık ( $p<0,0125$ ).

## 4.2. Histolojik İnceleme Bulguları

Doku örnekleri hematoxilen eozinle boyanarak ışık mikroskobu altında incelendiğinde Grup 1’de belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu (ince siyah ok) ve bağ dokusu artışı (kalın siyah ok) izlendi. Grup 2’de Grup 1’de gözlenen yapısal değişikliklerin azaldığı ancak hala bağ dokusu artışının olduğu görüldü. Grup 3 ve Grup 4’te ise doku örneklerinin normal histolojik görünümde olduğu izlendi (Şekil 3).



Şekil 3. Grupların histolojik boyanma görüntüleri.

### 4.3. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

Gruplara ait ROR $\gamma$ t ve IL-17 boyanma dereceleri 0-3 arasında değerlendirilerek Tablo 4'te sunuldu. Gingival dokuların IL-17 ve ROR $\gamma$ t ile boyanma yoğunlukları Grup 1'de diğer bütün gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi.

**Tablo 4.** Gruplara ait boyanma dereceleri ve dağılımları ile immünohistokimyasal boyanma parametreleri [medyan (minimum- maksimum)].

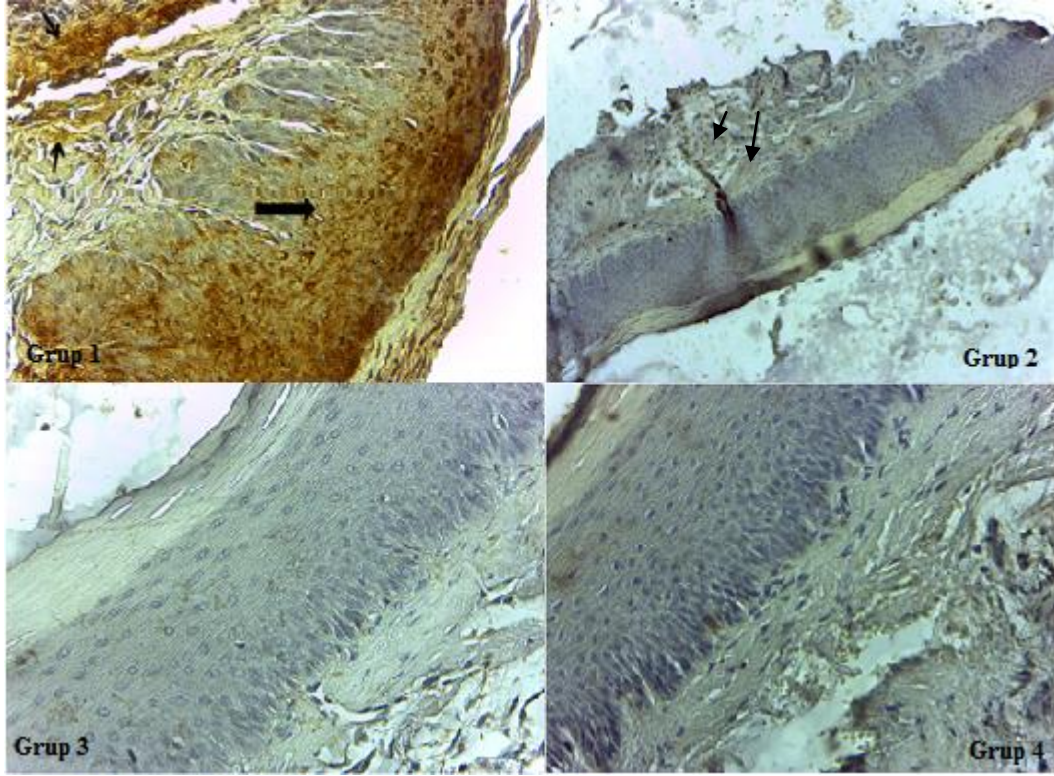
	<b>Grup 1 (n=10)</b>	<b>Grup 2 (n=10)</b>	<b>Grup 3 (n=10)</b>	<b>Grup 4 (n=8)</b>
<b>Doku</b>				
<b>IL-17 (0/1/2/3)</b>	0/1/3/6	2/6/2/0	7/2/1/0	9/1/0/0
<b>IL-17 (var/yok)</b>	10/0	8/2	3/7	1/9
<b>IL-17</b>	3,0 (1,0-3,0) <sup>†</sup>	1,0 (0,0-2,0) <sup>**‡§</sup>	0,0 (0,0-2,0) <sup>†§</sup>	0,0 (0,0-1,0) <sup>†‡</sup>
<b>ROR<math>\gamma</math>t(0/1/2/3)</b>	1/1/3/5	3/5/2/0	7/2/1/0	8/2/0/0
<b>ROR<math>\gamma</math>t(var/yok)</b>	9/1	7/3	3/7	2/8
<b>ROR<math>\gamma</math>t</b>	2,5 (0,0-3,0) <sup>†</sup>	1,0 (0,0-2,0) <sup>**‡§</sup>	0,0 (0,0-2,0) <sup>†</sup>	0,0 (0,0-1,0) <sup>†</sup>

(0/1/2/3): yok, hafif, orta, şiddetli

<sup>\*</sup> Grup 1 ile anlamlı farklılık (p<0,0125), <sup>†</sup> Grup 2 ile anlamlı farklılık (p<0,0125), <sup>‡</sup> Grup 3 ile anlamlı farklılık (p<0,0125), <sup>§</sup> Grup 4 ile anlamlı farklılık (p<0,0125).



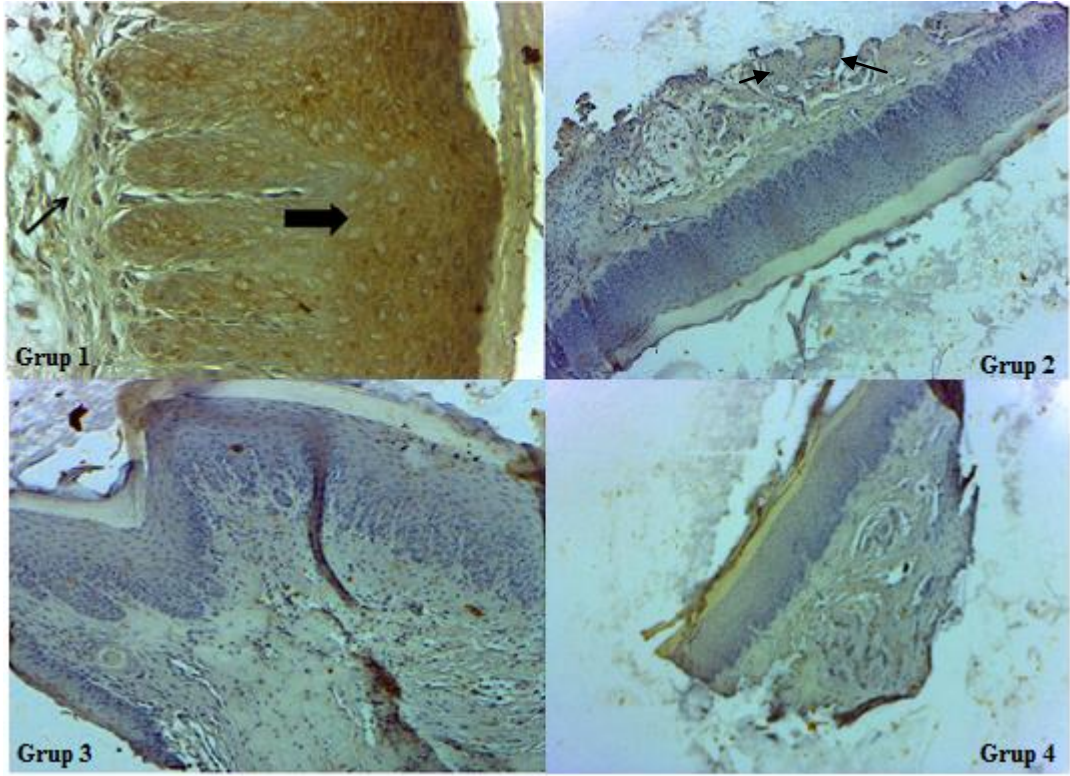
IL-17 boyanma yoğunluğunun Grup 1'de diğer gruplara göre daha fazla olduğu izlendi. IL-17 boyanma yoğunluğu Grup 1'de Grup 2'den anlamlı olarak daha fazla bulunurken ( $p<0,0125$ ), Grup 2'nin IL-17 ile boyanma yoğunluğu Grup 3 ile Grup 4'ten anlamlı olarak daha fazla bulundu ( $p<0,0125$ ). Grup 3'ün IL-17 ile boyanma yoğunluğu ise Grup 4'ten anlamlı olarak daha fazla bulundu ( $p<0,0125$ ) (Tablo 4, Şekil 4).



**Şekil 4.** Grupların IL-17 için immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.

Grup 1'de epitel dokusu (kalın siyah ok) ve bağ dokusunun (ince siyah ok) yoğun olarak boyandığı (X10), Grup 2'de bağ dokusunun (siyah ok) zayıf bir şekilde boyandığı, Grup 3 ve 4'ten elde edilen doku örneklerinin ise 17 antikoru ile boyanmadığı görüldü (Şekil 4).

ROR $\gamma$ t boyanma yoğunluğunun Grup 1’de diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Grup 1’in ROR $\gamma$ t ile boyanma yoğunluğunun Grup 2’den ve Grup 2’nin ROR $\gamma$ t ile boyanma yoğunluğunun Grup 3 ve Grup 4’ten istatistiksel olarak daha fazla olduğu görüldü ( $p < 0,0125$ ). Grup 3 ve Grup 4 arasındaki farklılık ise anlamlı bulunmadı ( $p > 0,0125$ ) (Şekil 5, Tablo 4).

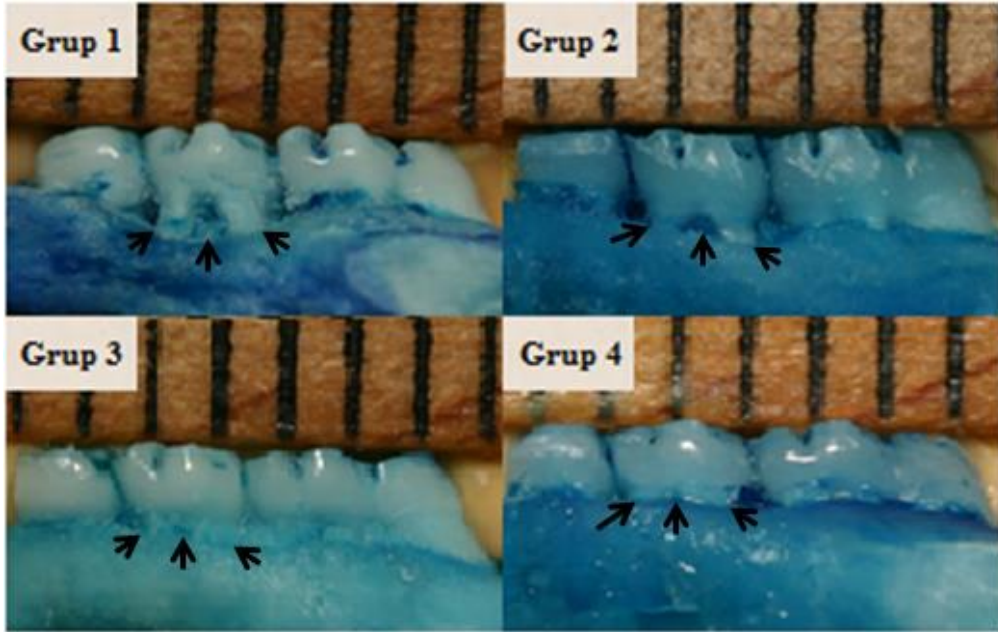


**Şekil 5.** Grupların ROR $\gamma$ t için immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.

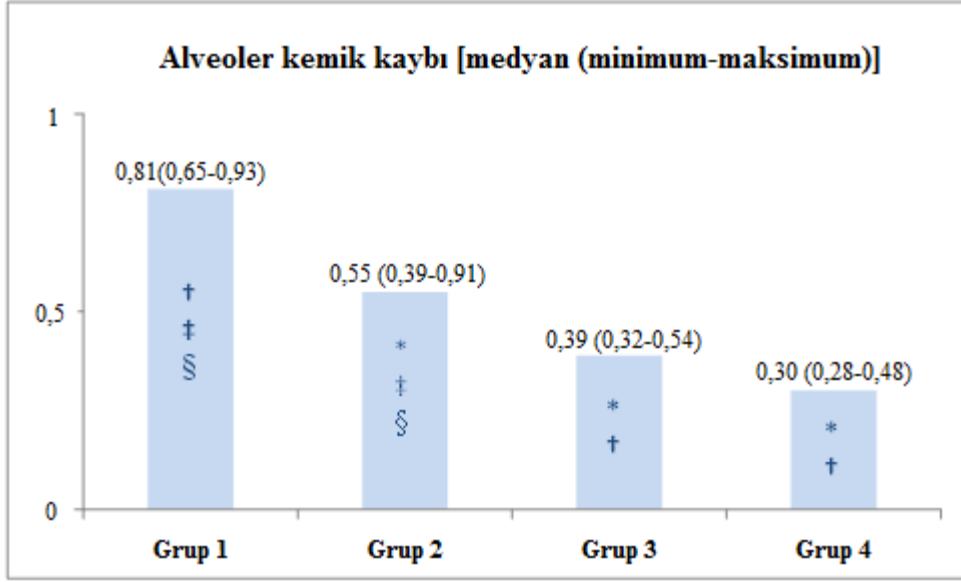
Grup 1’de epitel dokusu (kalın siyah ok) ve bağ dokusu (ince siyah ok) ROR $\gamma$ t ile yoğun boyanma gösterirken (X10), Grup 2’de ROR $\gamma$ t antikoru ile özellikle bağ dokusunda (siyah ok) zayıf bir boyanma görüldü. Grup 3 ve Grup 4’ten elde edilen doku örneklerinin ise ROR $\gamma$ t antikoru ile boyanmadığı görüldü (Şekil 5).

#### 4.4. Alveoler Kemik Kaybının Histomorfometrik İnceleme Bulguları

Alveoler kemik kaybının belirlenebilmesi için maksillaların çekilen fotoğrafları üzerinden mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki mesafe değerlendirildi (Şekil 6). Çalışmada ölçümler arası kalibrasyon, çalışmada kullanılmayacak olan 10 fotoğraf üzerinde alveoler kemik yıkımının tekrarlanan ölçümüyle belirlendi. Sınıf içi korelasyon, %95 tekrarlanabilirlik gösterdi. Gruplara ait örnek kemik yıkımı düzeyleri Şekil 6'da, gruplara ait alveoler kemik yıkımı değerleri ise Şekil 7'de gösterilmiştir. Bütün gruplarda alveoler kemik yıkımı izlenirken, en fazla alveoler kemik yıkımı Grup 1'de görüldü ( $p < 0,0125$ ). Grup 1'i sırasıyla Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 takip etti. Grup 1'de izlenen kemik kaybı miktarı Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ten istatistiksel olarak daha fazla bulundu ( $p < 0,0125$ ). Grup 2'de izlenen kemik kaybı miktarı ise Grup 3 ve Grup 4'ten anlamlı olarak daha fazla bulundu ( $p < 0,0125$ ). Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı ( $p > 0,0125$ ) (Şekil 7).



Şekil 6. Alveoler kemik kaybının histomorfometrik değerlendirilmesi.



**Şekil 7.** Alveoler kemik kaybı miktarı (mm).

\* Grup 1 ile anlamlı farklılık ( $p < 0,0125$ ), † Grup 2 ile anlamlı farklılık ( $p < 0,0125$ ), ‡ Grup 3 ile anlamlı farklılık ( $p < 0,0125$ ), § Grup 4 ile anlamlı farklılık ( $p < 0,0125$ ).

## 5. TARTIŞMA

İnsanlar üzerinde yapılan periodontitis çalışmalarında hastalığa yatkınlık, hastalığın aktivite düzeyi, ilerleyişi ve süresi gibi bireysel farklılıklarla gelişebilecek doku yanıtındaki çeşitliliğin yanısıra sigara kullanımı, oral hijyen, sistemik durum, stres ve cinsiyet, çalışma bulgularında bir takım çelişkilerin oluşmasına yol açmaktadır (348). Bu nedenle araştırmacılar deneysel çalışmalara yönelmiştir. Periodontal hastalığın deneysel modelleri insanlardakine benzer bir enfeksiyöz süreç oluşturmak, hastalık patogenezinin fizyolojisini taklit etmek ve hastalık sürecini daha iyi anlamak için kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerle periodontal hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılması, açıklanması ve uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir (349). Deneysel modellerde en sık kullanılan hayvan türleri maymunlar, köpekler, sıçanlar, tavşanlar, domuzlar, hemstırlar ve gelinciklerdir. İnsan periodontal hastalık modeline en yakın olan model maymun deneysel periodontitis modelidir ancak temin ve bakımının zor olması ile etik problemler gibi nedenlerden ötürü tercih edilmemektedir. Sıçanlar; doğal olarak periodontitise dirençli olmaları, insanlardan farklı mikrobiyal floraya sahip olmaları, elde edilen dokuların analiz için küçük boyutta olması ve çok sayıda hayvana ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlarına rağmen diğer hayvanlara göre daha ucuz ve kolay temin edilebilir olmaları, kullanımlarının kolay olması, farklı genom ve mikrobiyal durumlara sahip olabilmeleri gibi özellikleri nedeniyle periodontal hastalık patogenezinin değerlendirilmede tercih edilmektedir (350). Bu hayvanların molar bölgelerindeki periodontal anatomileri, sık gingival sulkusları ve birleşim epitelinin dış yüzeyine ataçmanı gibi insanlardakine benzerlik gösteren özellikleri de bulunmaktadır (351). Bu çalışmada en sık kullanılan türlerden birisi olan Wistar sıçanlar kullanılmıştır.

Deneysel olarak periodontal hastalığı indüklemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en sık kullanılanları inaktif bakterinin veya patojen komponentin (LPS vb) maksiller palatal gingival dokuya lokalize enjeksiyonu, oral gavaj modeli ve ligatür modelidir (352). Bakteri/LPS enjeksiyonuyla oluşturulan periodontitis modelinde mikroorganizmaların

akümülyasyonuna ve kolonizasyonuna izin veren ligatür modelinden farklı olarak konak yanıtı, bakteriyel plak oluşumunu hedef almadan bakterilerden elde edilen hücre duvarlarının oluşturduğu antijenik yanıtı hedef almaktadır. Ligatür modeli, kemirgenlerde deneysel periodontal hastalığı oluşturmak için en sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu deneysel model dişlerin sürekli büyümesi ve migrasyonu nedeniyle hastalığın uzun süreli gelişimini değerlendirmek için çok uygun değildir. Genellikle mikrobiyolojik ve immünolojik çalışmalarda kullanılır. Periodontitis sıçanlarda molar dişlerin etrafına gingival sulkus içine plak retansiyonunu sağlayacak olan ipek veya pamuk ligatür yerleştirilerek indüklenir. Bu model bakteri plağı varlığına bağımlıdır ve doğal plak oluşumuna en yakın model olarak kabul edilir (351, 353). Bu modelin kısıtlarından birisi olarak ligatürün yerleştirilmesi sırasında oluşturulan mekanik travmanın periodontal doku yıkımını arttırması gösterilebilir (349). Çalışmalar ligatür yöntemiyle belirgin alveoler kemik kaybı oluşturulabildiğini göstermiştir (354, 355). Ligatürle indüklenen kemik kaybı esas olarak kemik yıkımının 7-15. günler arasında olduğu akut periodontitis modelidir ve 15. günden itibaren kemik yıkım hızı azalır ve yıkım maksimum 30. güne kadar izlenebilir (349). Çalışmamızda doğal plak oluşumuna en yakın model olduğu göz önünde bulundurularak, 14 günlük ligatürle indüklenen periodontitis modeli tercih edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sıçanlarda 9. aydan itibaren IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  düzeyleri ile birlikte periodontal yıkım miktarının arttığını ve bazı dişlerin mobilite nedeniyle kaybedildiğini rapor etmiştir (356, 357). Normal ağırlıklı dişi ve erkek sıçanlarda ligatürle periodontitisin indüklendiği bir çalışmada ise periodontitisli dişi sıçanlarda diğer tüm gruplara göre daha yüksek düzeyde serum IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri bildirilmiştir (358). Cavagni ve ark. ise obez ratlarda spontan alveoler kemik kaybının normal ağırlıklı ratlara göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir (359). Ratlarda ligatürle periodontitisin indüklendiği bir başka çalışmada enflamatuvar durumun ve alveol kemik kaybının obez ratlarda normal ağırlıklı ratlara göre anlamlı olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir (360). Bu nedenlerle çalışmamızda ortalama 4 aylık, normal ağırlıktaki erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı.

Periodontitis dişlerin sert ve yumuşak dokularının yıkımıyla karakterize, plak biyofilmine yanıt olarak oluşan konak enflamatuvar yanıtının neden olduğu kronik, bakteriyel, enfeksiyöz, enflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitis oluşumundaki primer etiyolojik ajan olarak mikrobiyal dental plak kabul edilmesine rağmen doku hasarının büyük bir kısmından konağın bakterilere ve ürünlerine verdiği aşırı yanıt sorumlu tutulmaktadır (361). Bakteriyel biyofilm periodontitis için başlangıç faktörüdür ancak majör periodontal doku yıkımı bakteriye karşı oluşan bir seri immün enflamatuvar yanıt sonucu ortaya çıkar (251). Bu geri dönüşsüz hastalık gingival sulkusun patolojik olarak derinleşmesi ile epitelyal ataçmanın apikale migrasyonu, alttaki destek bağ doku ve alveol kemiğin yıkımıyla karakterizedir (38).

İmmün sistemin periodontitis patolojisinde ikili bir rolü vardır. İmmünolojik yanıt enfeksiyonun ve bakteri invazyonunun kontrolünü sağlamaya çalışırken aynı zamanda doku yıkımından da sorumludur. Periodontal hastalığın immün kontrolünde Th1 ve Th2 hücreleri gerekliyken, Treg hücrelerinin de baskılayıcı fonksiyonu ile bu dengeyi koruduğu gösterilmiştir. Bu dengede rol oynayan bir başka hücre altgrubu olan Th17 hücreleri ürettiği çeşitli medyatörler aracılığıyla enflamasyonun gelişmesinde rol oynamaktadır (362).

Th17 hücrelerinin farklılaşması antijenik uyarın, çeşitli sitokinler, transkripsiyon faktörleri ve sinyal yollarıyla ilişkilidir (101). Farelerde naif CD4+ T hücrelerinden Th17 farklılaşması TGF- $\beta$  ve IL-6/IL-21 veya IL-23 veya IL-23 ve IL-1 $\beta$  varlığında indüklenir. İnsanlarda Th17 farklılaşması insan kordon kanında TGF- $\beta$  ve IL-21, TGF- $\beta$  ve IL-23 (IL-1 $\beta$ /IL-6/TNF) veya TGF $\beta$  ve IL1 $\beta$  (IL-6/IL-21/IL-23) ve insan periferik kan mononükleer hücrelerinde IL-1 $\beta$  ve IL-6 (serum içeren ortam) ya da IL-1 $\beta$  ve IL-23 (serum-içeren ortam) sitokin kombinasyonlarıyla indüklenebilir (141, 363, 364). TCR aktivasyonu ile birlikte bu sitokinlerin kombinasyonu, Th17 farklılaşması için gereken esas transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$ t aracılı mekanizmaları regüle eder (365, 366).

Th17 hücreleri IL-17A'ya ek olarak IL-6, IL-9, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-26, TNF- $\alpha$ , RANKL ve GM-CSF'yi üretir (8, 12-14, 132, 133). Th17 ve Th17 ilişkili sitokinlerin periodontitisin enflamatuvar sürecinde yer aldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada kurkumin uygulamasının Th17 hücre yanıtındaki

etkisinin araştırılması amaçlandı ve Th17 hücresi farklılaşmasında önemli rolleri bulunan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23 ve TGF- $\beta$  ile Th17 hücrelerinden salınan IL-17'nin serum düzeyleri değerlendirildi. Lokal yanıtın belirlenebilmesi amacıyla dişeti dokusunda IL-17 ile Th17 hücrelerinin farklılaşmasındaki ana transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$ t'nin immünohistokimyasal boyanma düzeyleri ve alveoler kemik kaybının miktarı değerlendirildi.

Periodontal doku yıkımının primer olarak dental plağa karşı oluşan konak yanıtıyla belirlenmesi, araştırmaları bireyin bakteriyel atağa verdiği reaksiyonu değiştirmeye yönlendirmiş ve tedavi sonuçlarını iyileştirmek, hastalığın ilerleyişini yavaşlatmak, hastaların daha öngörülebilir tedavisini sağlamak ve hastalığın gelişimini önlemek amaçlı konak modülasyon tedavileri geliştirilmiştir (19). Konak modülasyon tedavilerinde son yıllarda ilgi gören bir fitoterapötik olan kurkumin antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuvar ve yara iyileştirici etkilere sahip bir fitoterapötiktir (23). Kurkumin Th17 hücrelerinin farklılaşması, proliferasyonu, canlılığını ve patojenitesini devam ettirmesi için gereken sitokinler olan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23 ve TGF- $\beta$ 'nın üretimini ve aktivitesini düzenlediğinden bu çalışmada modülatör ajan olarak tercih edilmiştir (367).

Çalışmamızda Th17 hücresiyle olan ilişkileri nedeniyle incelediğimiz sitokinlerin periodontitis patogeneğinde aldığı rol çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Periodontitis hastalarının DOS ve gingival dokularında artmış IL-1 $\beta$  düzeyleri rapor edilmiştir (56, 368-373). Ayrıca DOS IL-1 $\beta$  düzeyleri ile gingival enflamasyonun ve/veya periodontal doku yıkımının şiddeti arasında anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir (369, 370, 374-376). Kronik ve agresif periodontitisli bireylerin DOS IL-1 $\beta$  düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmazken, düzeyler gingivitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (376, 377). Bazı çalışmalar periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerin serum IL-1 $\beta$  düzeylerinin benzer olduğunu rapor ederken, serum IL-1 $\beta$  konsantrasyonunun periodontitisli bireylerde sağlıklı kontrollerden daha yüksek bulunduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (370, 373, 378-380). Stashenko ve ark. periodontitisli bölgelerden aldıkları dişeti örneklerinin tümünde yüksek konsantrasyonlarda IL-1 $\beta$  tespit ettiklerini ve periodontal olarak sağlıklı bölgelerden aldıkları doku örneklerinde IL-1 $\beta$  düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğunu



bildirmişlerdir (381). Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında periodontal hastalığın aktif olduğu alanlardaki IL-1 $\beta$  doku konsantrasyonlarının, hastalığın inaktif olduğu veya sağlıklı alanlardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle IL-1 $\beta$  hastalık şiddeti ve aktivitesinin belirlenmesinde önemli bir sitokin olarak kabul edilmektedir (382). Liukkonen ve ark. periodontal olarak sağlıklı, lokalize kronik periodontitisli ve generalize kronik periodontitisli bireylerin salya IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, sağlıklı ve lokalize kronik periodontitisli bireylerin salyaları arasında fark bulunmadığını, generalize kronik periodontitisli bireylerin salya IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarının ise diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (383). Cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrasında DOS IL-1 $\beta$  düzeylerinde azalma ve klinik parametrelerde düzelme olduğu rapor edilmiştir (384, 385).

Periodontitisli bireylerin DOS ve gingival doku örneklerinde sağlıklı kontrollere göre daha fazla IL-6 ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (386-388). Hirose ve ark. sondlamada kanama olan periodontal bölgelerden aldıkları doku örneklerinde IL-6 düzeylerinin kanamanın görülmediği bölgelere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (389). Artmış DOS ve salya IL-6 düzeylerinin gingivitis ve periodontitis varlığıyla korelasyon gösterdiği ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında serum IL-6 düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (390-392). Periodontitis hastalarından alınan plazma örneklerinde IL-6 düzeyleri sağlıklı bireylerden elde edilen örneklere göre daha yüksek bulunmuştur (393). Sistemik IL-6 düzeylerinin periodontal tedaviden etkilendiği gösterilmiştir. Periodontal tedaviden kısa süre sonra IL-6 düzeyleri artış gösterirken, klinik periodontal durumun düzelmesiyle uzun dönemde anlamlı azalma gerçekleştiği bildirilmiştir (392, 394-396).

Yapılan çalışmalar gingivitis, periodontitis ve periimplantitis hastalarının gingival doku, serum, salya ve DOS'larında artmış TGF- $\beta$  düzeylerine rastlandığını ve bu artışın klinik periodontal parametrelerle korelasyon gösterdiğini göstermektedir (79, 86, 397-400). Periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerden elde edilen dişeti dokusu örneklerinde sağlıklı kontrollerde TGF- $\beta$  düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu ve derin periodontal ceplerin olduğu alanlarda düzeylerin ceplerin daha sığ olduğu alanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (204, 397, 401). Dutzan ve ark. ise TGF- $\beta$

düzeylerinin aktif lezyonlarda inaktif alanlara göre anlamlı olarak daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (215). Beagle köpeklerde periodontitisin deneysel olarak oluşturulduğu bir çalışmada elde edilen serum örneklerinde deneysel periodontitis ilerledikçe TGF- $\beta$  düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (397). Ko ve ark. minyatür domuzlar üzerinde deneysel periodontitis oluşturdukları çalışmalarında 3. haftada dişeti TGF- $\beta$  düzeylerinin periodontitisli grupta kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğunu ancak deneysel periyod süresiyle TGF- $\beta$  düzeyleri arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (402). Cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviler sonrasında artmış DOS TGF- $\beta$  düzeyleri izlenmektedir (88). İlaça bağlı büyümelerde gingivitisli ve sağlıklı gruplarla karşılaştırıldığında artmış DOS TGF- $\beta$  düzeyleri rapor edilmiştir (81).

Periodontitis patogenezinde Th17 ve IL-17'nin rolü son yıllarda yoğun olarak araştırılmaktadır. IL-17 serum düzeylerinin CD, Pİ ve KAK gibi klinik parametrelerle korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (196, 220, 236, 237, 241, 242). Nagireddy ve ark. IL-17 konsantrasyonunun periodontal yıkımın yaygınlığıyla pozitif korelasyon gösterdiğini ve IL-17'nin periodontal hastalık ilerleyişinde aktif olarak rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (242). Awang ve ark. serum IL-17 düzeylerinin periodontitis hastalarında periodontal sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğunu ve CD, KAK ve SK ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (236). Cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben serum IL-17 protein düzeylerinde düşüş izlendiği bildirilmiştir. Bu veriler cerrahi olmayan periodontal tedavinin sistemik dolaşımdaki IL-17 düzeylerini etkileyebileceğini göstermektedir (233, 249-252).

Ligatürle indüklenen bir deneysel periodontitis modelinde kontrol, sham ve test grupları arasında periodontitisin indüklenmesinden 5 ve 7 gün sonra RANKL, OPG, IL-17 ekspresyonu değerlendirilmiştir. 7, 14 ve 28. günlerde ise mikro CT ile kemik morfolojisindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. 5. günde test grubunda RANKL/OPG ve IL-17 ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, sham grubuyla aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır. 7. günde ise gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Kemik yıkımının test grubunda 7. günde en yüksek düzeyine ulaştığı, sonrasında ise yıkımın devam etmediği bildirilmiştir. Çalışmanın yazarları bu sonuçları 7. günden sonra enflamasyonun

aşamalı olarak azalabileceğine bağlamışlardır (222). Casati ve ark. oluşturdukları ligatür indüklü periodontitis modelinde IL-17 protein düzeylerinin 11. günden sonra artış gösterdiğini bildirmişlerdir (403). Silva ve ark. da ratlarda oluşturulan periodontitis modelinde IL-17 ekspresyonunun anlamlı olarak arttığını rapor etmişlerdir (404).

Kronik periodontitisli bireylerle periodontal olarak sağlıklı bireylerin dişeti örneklerinde IL-17 konsantrasyonlarını karşılaştıran çalışmalar genel olarak konsantrasyonların periodontitisli bireylerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (203, 212, 223). Periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve hafif kronik periodontitisli bireylerde dişeti IL-17 konsantrasyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada en yüksek düzeylerin gingivitisli bölgelerde bulunduğu, bunu kronik periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bölgelerin takip ettiği rapor edilmiştir. Gingivitisli doku örneklerindeki IL-17 konsantrasyonunun diğer iki gruptan anlamlı olarak daha yüksek olduğu, periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitis grupları arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı söylenmiştir (224). Bu çalışmayla benzer biçimde Oda ve ark. IL-17 protein düzeylerini kronik periodontitisli bireylere göre gingivitisli bireylerin doku örneklerinde daha yüksek bulduklarını, IL-17 mRNA düzeylerinin ise iki grup arasında anlamlı olarak farklı bulunmadığını bildirmişlerdir (225). Johnson ve ark. CD < 3 mm, 3 mm, 4-5 mm ve >6 mm olan bölgelere komşu alanlardan aldıkları gingival biyopsi örneklerinde IL-17 konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarında en yüksek IL-17 konsantrasyonlarının CD 4-5 mm komşuluğunda olan alanlarda olduğu bildirilmiştir. CD >6 mm ve CD 3 mm ve CD <3 mm olan sulkuslara komşu alanlardan alınan gingival örneklerde ise IL-17 konsantrasyonlarının benzer ve CD 4-5 olduğu alanlara göre anlamlı olarak daha az olduğunu bildirmişlerdir (244). Cep derinliği 4-7 mm olan orta-ileri kronik periodontitisli bireylerden alınan dişeti dokularında IL-17 miktarlarının periodontal olarak sağlıklı alanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (216). Lester ve ark. ise KAK 0-2 mm (normal-hafif), 3-4 mm (orta) ve >5 mm (şiddetli) olduğu alanlardan elde ettiği dişeti örneklerinde IL-6, IL-17 ve IL-23 konsantrasyonlarının şiddetli KAK görülen alanlarda orta KAK görülen alanlardan ve IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve IL-23 konsantrasyonlarının orta KAK görülen alanlarda normal-hafif KAK görülen alanlardan anlamlı olarak daha yüksek

olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve IL-23 gingival konsantrasyonlarının KAK ile, IL-23 konsantrasyonlarının ise IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (243).

Ohyama ve ark. orta şiddetteki ve şiddetli periodontitisli hastaların dişeti IL-12, IL-17 ve IL-23 ekspresyon düzeylerinin periodontal olarak sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Periodontal lezyonlarda IL-23 reseptörünün IL-12 reseptör  $\beta$ 2'den daha fazla eksprese edildiği söylenmiştir. IL-17 ekspresyonunun özellikle kemik yıkımına komşu periodontal lezyonlarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (211). Takahashi ve ark. periodontal lezyonlarda IL-17'nin kemik yıkımında rol oynayan RANK ve RANKL eksprese eden hücrelerle ilişkili bulunduğunu rapor etmiştir (213).

Gingivitis ve periodontitisli bireylerden elde edilen doku örneklerinde IL-17, CCR4, CCR6 ve IL-23p19 gen ekspresyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, iki grup arasında sadece IL-17 ekspresyon düzeyleri arasındaki farkın anlamlı bulunduğu bildirilmiştir. Th17 hücreleri tarafından eksprese edilen CCR4 ve CCR6 periodontitisli doku örneklerinde gingivitisten daha yüksek bulunmuş ancak fark anlamlı bulunmamıştır. IL-17 gen ekspresyonunun her iki grupta da CCR4 ve CCR6 ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (214).

Çalışmamızda kurkumin uygulaması sonucunda serum IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermedi ancak literatürde anlamlı farklılık bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Elburki ve ark. LPS ile indükledikleri deneysel periodontitis modelinde, kimyasal olarak modifiye edilmiş kurkuminin (CMC 2.24) gingival doku örnekleri ve serum IL-1 $\beta$  ile IL-6 düzeyleri üzerindeki etkisini ELISA ile değerlendirmişlerdir. Bölünmüş ağız (split mouth) olarak hazırlanan çalışmada Grup 1'de ratların maksillalarının bir tarafına serum fizyolojik, Grup 2 olarak adlandırılan aynı ratlarda diğer tarafa LPS enjekte edilmiştir. Grup 3'te ratların maksillalarının bir tarafına serum fizyolojik, Grup 4 olarak adlandırılan aynı ratlarda diğer tarafa ise LPS enjekte edilmiş ve sistemik olarak CMC 2.24 verilmiştir. CMC 2.24 ratlara % 2'lik karboksimetilselülöz içinde çözündürülmüş olarak, periodontitisin indüklendiği günden başlanarak 30 mg/kg olacak şekilde 14 gün süresince oral gavajla verilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında LPS enjeksiyonunun

gingival IL-1 $\beta$  düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı ve CMC 2.24 uygulamasının bu düzeyleri %93 oranında azalttığı bildirilmiştir. IL-6 düzeylerinin ise LPS enjeksiyonundan çok fazla etkilenmediği ve CMC 2.24 uygulamasının IL-6 düzeylerini sadece %15 oranında azaltabildiği rapor edilmiştir. Serum örneklerinin sadece LPS enjekte edilen ratlardan alındığı ve bu ratlarda IL-1 $\beta$  düzeylerinin CMC 2.24 uygulaması ile neredeyse tespit edilemeyecek düzeylere kadar düştüğü bildirilmiştir. LPS-periodontitis rat grubunda IL-6 serum düzeylerinin IL-1 $\beta$  düzeylerinden daha yüksek olduğu ve CMC 2.24 uygulamasının IL-6 düzeylerini istatistiksel olarak azaltmadığı rapor edilmiştir (329). Bu çalışmada çalışmamızdan farklı olarak periodontitis LPS enjeksiyonuyla indüklenmiş ve çalışma bölünmüş ağız (split mouth) tasarımlı düzenlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda kurkumin saf olarak kullanılmışken, bu çalışmada kurkuminin kimyasal olarak modifiye edilmiş bir şekilde kullanılması bulgularımızdaki farklılığı açıklayabilir. Çalışmamızda deney periyodu başlamadan önce serum örneği alınmadığından kurkuminin sitokin düzeylerinde azalma sağlayıp sağlamadığı belirlenmemiş sadece çalışma periyodunun sonunda sitokin düzeyleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda 30 mg/kg/gün'lük kurkumin uygulaması sonucu serum IL-6 düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemişken, bazı çalışmalar gingival IL-6 düzeylerinde kurkumin uygulaması ile azalma olduğunu bildirmişlerdir. Guimaraes ve ark. kurkuminin antiinflamatuvar etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, mandibuler 1. molarlar etrafına yerleştirdikleri pamuk ligatürlerle deneysel periodontitis modeli oluşturmuşlar ve ratlara oral gavaj yoluyla 15 gün boyunca günde 30 mg/kg ve 100 mg/kg'lik kurkumini mısır yağında çözerek uygulamışlardır. Kontrol gruplarına gavajla aynı hacimdeki mısır yağı verilmiştir. Alınan dişeti örneklerinde RT-qPCR ve ELISA yöntemi ile IL-6 ekspresyon düzeyi belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarında IL-6 sitokin gen ekspresyonunun hem mRNA hem de protein düzeyinde inhibe olduğu gösterilmiştir. Sadece 30 mg/kg/gün'lük kurkumin uygulamasının IL-6 düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık sağladığı bildirilmiştir (20). Çalışmanın yazarları kurkumini çözdükleri mısır yağı ve kurkumin ile oranları hakkında bilgi vermemiştir. Aynı çalışma grubu tarafından yapılan bir başka çalışmada ratların üst 1. molar dişlerinin palatinal bölgelerindeki gingivaya 2 hafta boyunca günde iki kere olmak üzere LPS enjekte edilerek

oluşturulmuş deneysel periodontitis modelinde, ratlara günlük oral gavajla verilen 30 ve 100 mg/kg kurkuminin IL-6 ekspresyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır (325). Kurkumin uygulaması LPS enjeksiyonundan 1 gün önce başlatılmış ve mısır yağı içerisinde çözdürülerek solüsyon haline getirilmiştir. Çalışmanın sonucunda kurkumin uygulaması gingival dokularda LPS-indüklü IL-6 mRNA ekspresyonunu tamamen inhibe etmiştir. IL-6 proteininin inhibisyonu sadece 30 mg/kg kurkumin uygulanan ratlarda gerçekleşmiştir. Kurkuminin her iki dozunun da enflamatuvar infiltratta anlamlı azalma sağladığı ve doku yıkımını inhibe ederek ratların gingival dokularındaki kolajen içeriğinde artış sağladığı bildirilmiştir. Zhou ve ark. oluşturdukları ligatür indüklü deneysel periodontitis modelinde 30 gün boyunca 100 mg/kg/gün'lük kurkuminin intragastrik uygulamasının, gingival doku örneklerindeki IL-6 düzeyleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmada ratlar periodontitis ve kurkumin grubu, sadece periodontitis grubu ve kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda IL-6 ekspresyon düzeyleri sadece periodontitis grubunda, periodontitis ve kurkumin grubundan yüksek bulunurken, kurkumin ve periodontitis grubuyla kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır (326). Çalışmada kurkuminin hangi çözücü içinde, ne oranda çözdürüldüğü belirtilmemiştir. Dong ve Zhuan, ratlarda oluşturdukları ligatür indüklü deneysel periodontitis modelinde 10 mg/kg/gün'lük kurkumini 30 gün boyunca uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda gingival doku örneklerinde IL-1 $\beta$  düzeylerinde azalma ve bununla ilişkili olarak daha az nötrofil migrasyonu olduğu bildirilmiştir (324). Bu çalışmalar ve çalışmamız bulguları arasındaki farklılıklar kullanılan kurkuminin dozajından, kurkuminin verilme süresinden, deneysel modelin ve inceleme yöntemlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Literatürde deneysel periodontitis modellerinde kurkuminin IL-17, IL-23 ve TGF- $\beta$  düzeyleri üzerine etkisini değerlendiren bir çalışma ise bulunmamaktadır.

Çalışmamızda serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve TGF- $\beta$  düzeyleri arasında gruplar arası fark anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda gruplarda parametreler açısından serum minimum-maksimum değerleri incelendiğinde grup içi düzeylerde var olan dalgalanmalar farklılığın görülmemesinde etkili olmuş olabilir. Çalışmamızda dağılımın normal olmaması nedeniyle parametrik olmayan testlerle analizler

gerçekleştirilmiştir. Grup içi örnek sayılarının arttırılması durumunda Tip 2 hatanın önüne geçilebileceği ve farklı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

Sitokinlerin lokal ekspresyonlarıyla periodontal hastalık varlığı ve şiddeti arasında pozitif ilişki gösterilebilirken; kronik periodontitis, generalize agresif periodontitis, gingivitis ve periodontal sağlıklı bireyler arasında serum sitokin değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığını gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (380, 405-407). Yapılan çalışmalarda DOS ve gingival doku örneklerinden elde edilen lokal sitokin düzeylerinin, serum düzeylerine göre periodontal hastalıktaki bölgesel hücresel yanıtın durumunu daha iyi yansıtabileceği rapor edilmiştir (408). Hussain ve Ali, periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerin DOS ve serum IL-1 $\beta$  düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında gruplar arasında serum IL-1 $\beta$  konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada DOS düzeylerinin yüksek bulunmasına rağmen serum IL-1 $\beta$  düzeylerinin çok düşük olmasını ise IL-1 $\beta$ 'nın lokal olarak üretilmesi ve lokal çevrede etkinlik göstermesine bağlamışlardır (370). Bu sonuçlar KP ve sağlıklı kontroller arasında IL-1 $\beta$  konsantrasyonları arasında anlamlı farklılığın olmadığını gösteren çalışmalarla benzerlik göstermektedir (28, 29, 379, 409, 410). Al Rassam ve Taha, serum IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerinin sağlıklı ve KP'li bireyler arasında anlamlı farklılık göstermediğini bildirmişlerdir (492). Furugen ve ark. periodontitisli bireyler ve periodontal olarak sağlıklı bireylerin serum IL-6 düzeyleri arasında anlamlı fark bulamadıklarını rapor etmişlerdir (411). Gorska ve ark. IL-1 $\beta$  serum düzeylerinin gingival doku düzeylerinden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada serum IL-1 $\beta$  düzeylerinin periodontitis varlığını ve şiddetini yansıtmadığı söylenmiş, bu durum bireysel değişkenlik ve eşlik eden faktörlerle (confounding) ilişkilendirilmiştir (380). Çalışmamızdaki gruplardaki parametrelerin dağılımının normal olmaması da standardizasyonun sağlanabileceği hayvan deneylerinde bile bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bulgularımız dahilinde lokal incelemelerin bölgesel inflamatuvar durumu daha net açıklayabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir immünohistokimyasal çalışmada IL-1 $\beta$ 'nın periodontal hastalıktaki majör doku yıkımı medyatörlerinden birisi olduğu ve periodontal lezyonlarda IL-1 $\beta$  ekspresyonunun IL-6'dan anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (413). Bu nedenle IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinlerin enflame periodontal dokulardan kan

dolaşımına salınmaması sonucu serum düzeylerinin düşük olabileceği söylenmiştir. Artmış serum IL-6 konsantrasyonlarının ise geçici bakteriyemi sonucu oluşabileceği bildirilmiştir (414).

Oluşturulan deneysel periodontitis modellerinde serum sitokin düzeylerinin periodontitisin indüklendiği gruplarla sağlıklı kontroller arasında farklılık göstermediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Ma ve ark. ligatürle indükledikleri deneysel periodontitis modelinde plazma IL-1 $\beta$  düzeylerinin periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediğini, periodontitis ve serum IL-1 $\beta$  konsantrasyonları arasında ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir (415). Periodontitisin ligatürle indüklendiği bir başka çalışmada periodontitisin indüklenmesinden 15 gün sonra periodontitis grubundan elde edilen gingival doku örneklerinde IL-1 $\beta$  düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunurken, plazma IL-1 $\beta$  düzeyleri arasında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (416). Çalışmanın yazarları bu durumu periodontitis indüksiyon süresinin, IL-1 $\beta$ 'nin enflame periodontal dokulardan kan dolaşımına salınmasına yetecek kadar uzun olmamasına bağlı olabileceğini söylemişlerdir. Sistemik olarak anlamlı değişikliklerin görülebilmesi için 15 günün yeterli bir süre olmayabileceği bildirilmiştir. Buduneli ve ark. LPS ile indükledikleri periodontitis modelinde periodontal olarak sağlıklı kontrol grubu ve LPS uygulanan grup arasında IL-1 $\beta$  serum düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir. LPS grubunda IL-1 $\beta$  serum düzeylerinde artış olmamasının sebebi olarak E. coli'nin etkisinin lokalize gingivada sınırlı kalabileceği ve bu durumun sirkülasyona yansımayaabileceği veya bu proenflamatuvar sitokinin serum düzeylerinin başlangıçta artıp daha sonra konağın LPS uygulamasına karşı yanıt vermeyi durdurması sonucu azalabileceği söylenmiştir. Ayrıca çalışma kitlerinin dokuların lokal durumlarından bağımsız olarak serum konsantrasyonlarındaki ufak değişiklikleri tespit edebilecek kadar hassas olmayabileceği söylenmiştir (417). Miyajima ve ark. ligatürle periodontitis indükledikleri ratlar ile periodontal olarak sağlıklı ratlar arasında IL-6 düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir (418). Ligatürle indüklenen bir periodontitis modelinde insülin verilen diyabetik ratlarla periodontitisin indüklendiği insülin verilen diyabetik ratlar arasında serum IL-6 düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (419).



Çalışmamızda gruplar arasında anlamlı farklılık gösteren tek serum parametresi IL-23 oldu. En yüksek IL-23 düzeyleri literatürle benzer şekilde periodontitisin indüklendiği gruplarda bulundu. Literatürde periodontal hastalık varlığında IL-23 düzeylerini ve Th17 yanıtını değerlendiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bakteriyel enfeksiyon sırasında IL-23/IL-17 yolunda oluşan düzensizliklerin periodontal hastalık aktivitesi ve ilerleyişi için önemli bir etken olabileceği söylenmiştir (212, 227, 421). Ohya ve ark. IL-23 ekspresyonunun periodontal lezyonlarda kontrol bölgelerine göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca periodontal lezyonlarda IL-23 reseptör ekspresyonunun IL-12 reseptör  $\beta 2$ 'ye göre daha yüksek olduğu söylenmiştir. Çalışmada periodontal hastalığa yatkınlığın IL-12/IFN- $\gamma$  yolundan çok IL-23/IL-17 yoluyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bakteriyel enfeksiyona karşı oluşan IL-12/IFN- $\gamma$  ve IL-23/IL-17 yolları arasındaki dengenin periodontal hastalık aktivitesini belirleyebilecek etkenlerden olabileceği rapor edilmiştir (211). T hücreleri IL-23 ile kültüre edildiklerinde IL-23'ün IL-12 reseptörü aracılığıyla sinyalizasyonu inhibe ederek, IFN- $\gamma$  üretimini anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu veri IL-23'ün lenfositlerin IL-12'ye yanıtını ve bu hücrelerin IFN- $\gamma$  sekresyonunu belirlediğini göstermektedir. Bu yolla IL-23 Th1 yanıtını inhibe edebilir ve IFN- $\gamma$  sekresyonundaki azalma daha belirgin bir Th17 yanıtının ortaya çıkmasına neden olabilir (421). IL-23 periodontitis patogeneğinde rol oynayan Th17 hücresinin ekspansiyonunda rol oynayan esas sitokindir (422, 423). Th17 hücrelerinde IL-23 fonksiyonlarını kendi reseptörü olan IL23R'ye bağlanarak ve antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 ekspresyonunu bloke ederek yürütür (424-426). IL-23, *in vivo* veya *in vitro* olarak naif T hücrelerinde IL-17 üretiminin başlangıç indüksiyonu için gerekmemektedir. Ancak hafıza efektör hücrelerinden IL-17 üretimi IL-23 varlığında artmakta ve IL-23, aktive Th17 hücrelerinden IL-17 salımını devam ettirmektedir (422). Boniface ve ark. IL-23'ün IL-17'nin üretimini regüle ettiğini, IL-17'nin de insan periodontal ligament fibroblast hücrelerinde IL-23p19 ekspresyonunu etkilediğini ve iki sitokinin periodontal enflamasyonda bu şekilde kısır bir döngü oluşturabileceklerini göstermişlerdir. Bu çalışmaya göre IL-17 periodontal ligament fibroblast hücrelerinden IL-23p19 üretimini uyararak IL-23/IL-17 döngüsünü geliştirip, arttırarak doku yıkımına yol açmaktadır (422). Bir başka çalışmada, erken dönem proenflamatuvar sitokinlerden

birisi olan IL-1 $\beta$ 'nin, rezident periodontal ligament fibroblast hücrelerinden IL-23p19 üretimini arttırarak periodontitisin başlangıç ilerleyişinde Th17 polarizasyonunu sağladığı gösterilmiştir (191). Zhu ve ark. IL-17'nin periodontal ligament fibroblast hücrelerinden IL-23p19 üretimini arttırdığını ve bu hücrelerin enflamasyonun ilerleyişinin başlangıç aşamalarında IL-23 için önemli bir kaynak olduğunu göstermişlerdir (423). Allam ve ark. ise CD68+ makrofaj-benzeri hücrelerin, kronik periodontitis lezyonlarında Th17 hücre infiltrasyonu ile korelasyon gösterdiğini ve IL-23p19 üretiminin bu hücrelere bağlanabileceğini bildirmişlerdir (210).

Moutsopoulos ve ark. lökosit adezyon eksikliği tip I olan hastalarda (LAD I) IL-23'ün şiddetli periodontitis tedavisinde yardımcı olabileceğini bildirmiştir. Periodontitisli ve LAD I modeli oluşturulmuş farelerde IL-23 ve IL-17 üreten T hücreleriyle periodontal kemik yıkımı arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Farelerde IL-23'e karşı verilen rat antikorumun inaktif kontrol antikorumuna göre periodontal kemik yıkımını azalttığı bildirilmiştir (427). Wang ve ark. oral liken planus (OLP), OLP-kronik periodontitis (KP), KP ve sağlıklı kontrol hastalarının lokal lezyonlarında IL-23 ekspresyonunu karşılaştırmışlar ve IL-23p19 pozitif hücre düzeylerinin en yüksek OLP-KP grubunda bulunduğu bildirmişlerdir. IL-23 ekspresyonunun oral liken planuslu periodontal lezyonlarda artış göstermesinin lokal lezyondaki enflamatuvar yanıtı şiddetlendirebileceği söylenmiştir (208). Lester ve ark. sağlıklı ve KP'li bölgelerden aldıkları doku örneklerinde IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve IL-23 gingival konsantrasyonlarının şiddetli klinik ataçman kaybı (KAK) ve orta düzeyde KAK görülen alanlarda normal-hafif KAK görülen bölgelerden ve IL-6, IL-17 ve IL-23 konsantrasyonlarının şiddetli KAK görülen alanlarda orta KAK görülen bölgelerden anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. IL-23 konsantrasyonlarının KAK ve IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 konsantrasyonları ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. IL-23/IL-17 yolunun periodontal hastalığın kronik doğasında rol oynayabileceği ve IL-23 konsantrasyonlarının klinik ataçman kaybının görüldüğü alanlarda artış göstermesinin IL-23'ün periodontitisin ilerleyişinde rol oynadığını gösteriyor olabileceği bildirilmiştir (243).

Liukkonen ve ark. periodontitis şiddetiyle salya IL-1 $\beta$ , IL-17 ve IL-23 düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmalarında IL-17 ve IL-23 salya

konsantrasyonlarını lokalize periodontitis grubunda kontrollerden yüksek, generalize periodontitis grubundan ise daha düşük bulunmuştur. Salya IL-17 ve IL-23 konsantrasyonları arasında anlamlı korelasyon olduğu bildirilmiştir (383).

Himani ve ark. DOS IL-23 konsantrasyonunun KP'li grupta gingivitisli gruptan, gingivitisli grupta ise periodontal olarak sağlıklı gruptan daha yüksek bulmuşlardır. Buna ek olarak, KP'li bireylerde DTKYD işleminin mikrobiyal birikimi uzaklaştırıp, makrofajların ve dendritik hücrelerin uyarılmasını ortadan kaldırarak IL-23 düzeylerini azalttığı rapor edilmiştir. Çalışmada DOS IL-23 konsantrasyonunun ataçman kaybıyla doğru orantılı bulunması, IL-23'ün periodontal hastalık patogenezinde hastalığın ilerleyişini gösterebilecek önemli bir rehber olabileceği ve IL-23'ün doku yıkımı sürecinde periyodonsiyumdaki enflamatuvar aktivitenin belirteci olarak kabul edilebileceği söylenmiştir (408). Rohaninasab ve ark. periodontal mekanik tedavinin DOS IL-17 ve IL-23 düzeyleri üzerindeki etkisini şiddetli periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireyler üzerinde karşılaştırmışlardır. Test grubunda tedavi öncesi ve sonrası IL-17 ve IL-23 düzeyleri arasında anlamlı fark olduğu, tedavi öncesi ve sonrasında IL-17 ve IL-23 düzeyleri arasında ve tedavi öncesi ve sonrası IL-23 düzeyleri arasında anlamlı korelasyon olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak şiddetli KP'li hastaların IL-17 ve IL-23 düzeylerinin kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (428). Santos ve ark. KP'li zayıf ve iyi kontrollü Tip 2 DM'li bireylerde periodontal tedavinin DOS IL-23 düzeyleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. DOS örnekleri başlangıçta ve DTKYD sonrası 3 ve 6. aylarda değerlendirilmiş ve IL-23 konsantrasyonlarının 3 örnekte de gruplar arası farklılık göstermediği bildirilmiştir (429). Ribeiro ve ark. KP, KP ve tip-2 DM ve KP'li hastalarda DOS IL-23 düzeylerini karşılaştırmış ve gruplar arasında IL-23 düzeyleri arasında farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (430).

Allam ve ark. KP lezyonlarının koronali ve apikalinden ve KP'li hastaların farklı mukozal bölgelerinden aldıkları dokularda Th17 hücrelerinin ve IL23p19 üreten antijen sunan hücrelerin varlığını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Th17 hücreleri enflamatuvar KP lezyonlarının en şiddetli izlendiği apikal bölgelerde en sık bulunan T hücre altgrubu olmuş ve sayıları enflamasyonun şiddetiyle korelasyon göstermiştir. Ayrıca IL23p19 üreten hücrelerin sadece enflamasyonun en

yoğun bulunduğu apikal bölgelerde tespit edilmesi, bu hücrelerin ve IL-23'ün şiddetli KP'nin izlendiği alanlarda Th17 hücre sayısı ile ilişkili olduğunu ve Th17 immün yanıtını arttırdığını gösteriyor olabileceği söylenmiştir (210).

Luo ve ark. Th17 hücrelerinin IL-23 regülasyonu altında ekspresyon düzeylerini KP ve sağlıklı kontrollerde karşılaştırmışlardır. Hastalardan alınan kan örneklerine rhIL-23 uygulanarak Th17 farklılaşması ve ekspansiyonu tespit edilmiştir. Th17 hücreleri KP'li grupta kontrol grubundan daha yüksek bulunmuş ve rhIL-23 stimülasyonu her iki grupta da Th17 hücre sayısını anlamlı olarak yükseltmiştir. Bu çalışmada serum IL-23 düzeylerinin KP'de anlamlı artış göstermediği bildirilmiştir (431). Wang ve ark. oral liken planuslu (OLP), OLP ve KP, sadece KP ve sağlıklı kontroller üzerinde yaptıkları çalışmada serum IL-23 düzeyleri KP ve OLP-KP grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Serum IL-23 düzeyleri ile klinik parametreler Pİ, CD, Gİ, KAK arasında korelasyon bulunmazken, IL-23 ve IL-17 düzeyleri arasında OLP, KP VE OLP-KP gruplarında anlamlı pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (241).

Literatürde deneysel periodontitis modelinde kurkumin uygulamasının serum IL-23 düzeylerine etkisini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır ancak yapılan çalışmalar kurkuminin IL-23 düzeylerini düşürdüğünü bildirmektedir (367, 432-434). Çalışmamızda en yüksek IL-23 düzeyleri periodontitisin indüklendiği kurkumin uygulanan grupta bulunurken, en düşük düzeyler kurkumin uygulanan periodontal olarak sağlıklı grupta bulundu. Kurkumin verilmeyen Grup 1'de IL-23 düzeylerinin Grup 2'den düşük olması literatürdeki verilerle uyumlu değildir. Çalışmamızda Th17 hücrelerinin ana transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$ t lokal düzeyleri değerlendirildiğinde Grup 1'de Grup 2'den anlamlı olarak fazla olduğu bulundu ( $p < 0,0125$ ). IL-23, Th17 hücrelerinin devamlılığını sağlamada, ekspansiyonunda ve patojenitesini devam ettirmesinde rol oynayan esas sitokin olduğundan, kurkuminin ROR $\gamma$ t düzeylerinde neden olduğu baskılama etkisine karşılık periodontitisin indüklenmesi sonucu enflamatuvar yanıtın ortaya çıkabilmesi için IL-23 düzeylerinde artış gerçekleştiği varsayılabilir (367). Grup 3'te ise periodontitisin indüklenmemesi sonucu enflamatuvar bir yanıtın oluşmamasına ek olarak kurkuminin anti-enflamatuvar özelliği IL-23 düzeylerinin Grup 4'ten daha düşük olmasını açıklayabilir.

Çalışmamızda kurkuminin lokal Th17 yanıtı üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla gingival doku örneklerinde Th17 hücrelerinin imza sitokini olan IL-17 ve Th17 hücrelerinin esas transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$ t varlığı ve düzeyleri araştırıldı. IL-17'nin gingivada Th17 sitokinleri dışında  $\gamma\delta$  T hücreleri, NK hücreleri, B hücreleri gibi çok çeşitli hücrelerden de salınmasından ötürü periodontal lezyonlarda tek başına IL-17'nin tespiti Th17 hücrelerinin varlığını göstermede yeterli değildir (205). Bu nedenle çalışmamızda Th17 hücrelerinin varlığını gösterebilmek amacıyla ROR $\gamma$ t varlığı değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda immünohistokimyasal sonuçlar değerlendirildiğinde periodontitisin indüklendiği Grup 1'de, epitel doku ve bağ dokunun IL-17 ile boyanma yoğunluğu beklendiği gibi kurkumin uygulanan Grup 2'den anlamlı olarak daha fazla bulundu ( $p<0,0125$ ). Grup 2'de epitel doku ve bağ dokunun IL-17 ile boyanma yoğunluğu daha zayıf olmasına rağmen boyanmanın görülmediği periodontal olarak sağlıklı Grup 3 ve Grup 4 ile arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0,0125$ ). ROR $\gamma$ t ile boyanma yoğunlukları da IL-17 boyanmalarıyla benzer bulundu. Periodontitisin indüklendiği Grup 1'de, epitel doku ve bağ dokunun IL-17 ile boyanma yoğunluğunun Grup 2'den istatistiksel olarak daha fazla olduğu belirlendi ( $p<0,0125$ ). Kurkuminin uygulandığı Grup 2'de ise epitel doku ve bağ dokunun ROR $\gamma$ t ile boyanma yoğunluğunun daha zayıf olduğu ancak boyanma yoğunluğunun Grup 3 ve Grup 4'ten daha fazla olduğu görüldü ( $p<0,0125$ ). Grup 3 ve Grup 4'ten elde edilen doku örneklerinin ise ROR $\gamma$ t antikoruna ile boyanma yoğunlukları arasında anlamlı farklılık görülmedi ( $p>0,0125$ ).

Adibrad ve ark. KP'li hastalarla periodontal olarak sağlıklı bireylerde IL-17 ve RORC2 mRNA ve protein düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, çalışmamızla benzer biçimde periodontal lezyonlarda IL-17 ve RORC2 düzeylerinin sağlıklı dokulara göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca periodontal hastalıklı doku örneklerinde IL-17 ve RORC2 düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (206). Bir başka çalışmada periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı dokularda IL-17 mRNA ve protein düzeyleri ile Th17 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarında IL-17 düzeyleri ve Th17 hücre sayılarının periodontitisli dokularda artış gösterdiği bildirilmiştir (204). Aktif ve inaktif periodontal lezyonlarda IL-17 ve RORC2 düzeylerinin karşılaştırıldığı bir

çalışmada ise IL-17 ve RORC2 mRNA'ları bütün lezyonlarda tespit edilmiştir. IL-17 düzeyleri aktif lezyonlarda inaktif lezyonlara göre anlamlı olarak daha fazla bulunurken, aktif lezyonlarda görülen RORC2 düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (215). Behfarnia ve ark. periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerden aldıkları doku örneklerinde IL-4, IL-17 ve GATA-3, RORC2 ekspresyon düzeylerini karşılaştırmışlardır. Sonuçlarda IL-4, IL-17 ve GATA-3, RORC2'nin bütün doku örneklerinde eksprese edildiği ancak periodontal lezyonlarda kontrollere göre daha fazla eksprese edildikleri bildirilmiştir. Periodontal lezyonlarda IL-17 düzeyleri IL-4 düzeylerinden anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. IL-17 ve RORC2 gen ekspresyonu arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (217). Bulgularımız literatürle benzer bulundu ve hipotezimizi doğrular şekilde kurkumin uygulamasının dişeti dokusunda IL-17 ve RORC2 boyanmasını azalttığı tespit edildi.

Kurkumin uygulamasının deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik yıkımı üzerine etkisini de değerlendirdiğimiz çalışmamızda DMSO içinde çözdürülmüş kurkuminin 30 mg/kg'lık dozajının 15 gün boyunca intragastrik olarak uygulanmasının alveoler kemik yıkımını anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Yapılan morfometrik analizde en fazla kemik yıkımının kurkuminin uygulanmadığı Grup 1'de gerçekleştiği görüldü ( $p < 0,0125$ ). Grup 1'deki yıkımın kurkumin uygulanan Grup 2'den istatistiksel olarak daha fazla olduğu bulundu ( $p < 0,0125$ ). Periodontitisin indüklendiği gruplar ile periodontal olarak sağlıklı gruplar arasında da kemik kaybı miktarı anlamlı farklılık gösterirken ( $p < 0,0125$ ), Grup 3 ve Grup 4 arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı ( $p > 0,0125$ ).

Çalışmamızın biyokimyasal analizlerinde kemik yıkımıyla ilişkili sitokinlerden olan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 serum düzeyleri arasında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,0125$ ). Ancak kurkuminin, çalışmamızda değerlendirilen sitokinler dışında Th17 hücreleri tarafından salınan diğer medyatörler (RANKL, TNF- $\alpha$  vb) ve başka çeşitli mekanizmalarla da kemik yıkımı üzerinde etki gösterdiğini bildiren çalışmalar vardır. Bir başka deyişle kurkuminin kemik metabolizması üzerine etkileri farklı medyatörler ve moleküler hedefler üzerinden de incelenmiştir (435).

Bharti ve ark. RANKL'in osteoklastojenezi NF-kB aracılığıyla indüklediğini ve kurkumin uygulamasının hem NF-kB aktivasyonunu hem de RANKL ile indüklenen osteoklastojenezi inhibe ettiğini bildirmiştir (436). Kurkumin p65'in çekirdeğe dislokasyonunu ve I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın yıkımını baskılayarak NF-kB aktivasyonunu önlemektedir (251). von Metzler ve ark. kurkuminin doza bağımlı olarak osteoklast farklılaşmasını ve fonksiyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir (437). Kurkuminin ovariyektomi indüklü kemik yıkımını antioksidan kapasiteyi arttırarak ve RANKL sinyalizasyonunu etkileyerek inhibe ettiği bildirilmiştir (438).

Kurkuminin osteoklast çoğalmasını, farklılaşmasını, aktivitesini inhibe ederek ve osteoklast apoptozunu uyararak kemik yıkımını azaltabileceği bildirilmiştir (439). Ayrıca osteoklast benzeri hücrelerin canlılığını sürdürmesinde rol alan IL-1 $\beta$  ve M-CSF de kurkumin tarafından inhibe edilmektedir (440). Kurkuminin kemik mikromimarisini iyileştirdiği ve mineral yoğunluğunu arttırdığı gösterilmiştir. Kurkumin uygulamasının trabekül sayısında ve kalınlığında artış sağladığı, osteoblast sayısını arttırdığı rapor edilmiştir. Enflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$ 'nın inhibisyonunun kurkuminin kemik yıkımını önlemedeki mekanizmasında önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (441, 442).

Prostaglandin E<sub>2</sub> osteoblastlarda ve kemik iliği kök hücrelerinde RANKL mRNA ekspresyonunda artışa ve OPG mRNA ekspresyonunda azalmaya yol açmaktadır (443). Kurkuminin PGE<sub>2</sub> oluşumunu %45 inhibe ettiği gösterilmiştir. Ireson ve ark. *in vitro* çalışmalarında kurkuminin porbol indüklü PGE<sub>2</sub> üretimini neredeyse indüksiyon öncesi düzeyine kadar düşürebildiğini göstermişlerdir (444). Özetle, klinik açıdan bakıldığında, RANKL sinyal yolunun kurkumin tarafından inhibisyonu aşırı osteoklastik oluşumu baskılamak için önemli bir strateji olabilir (435).

Kurkuminin deneysel periodontitis modellerinde kemik yıkımını üzerindeki etkileriyle ilişkili çelişkili veriler bulunmaktadır. Bazı çalışmaların sonuçlarına göre kurkumin kemik yıkımı üzerinde anlamlı etki göstermemiştir. Buna örnek olarak Guimaraes ve ark. ligatürlerle indükledikleri deneysel periodontitis modelinde ratlara oral gavaj yoluyla 15 gün boyunca günde 30 mg/kg ve 100 mg/kg kurkumin uyguladıkları çalışma verilebilir. Çalışmada kemik kaybı tomografiyle

değerlendirilmiş ve kurkuminin alveol kemik kaybını önlemediği rapor edilmiştir (20). Bir başka çalışmada Hosadurga ve ark. %2'lik kurkumin jelin deneysel periodontitis tedavisindeki antienflamatuvar etkisini, hiçbir tedavi uygulanmayan grup ve standart jel uygulanan grupla karşılaştırmışlar ve jelleri ligatürlerin yerleştirilmesinden 4 hafta sonra, 6 gün boyunca her gün uygulamışlardır. Ligatürlerin yerleştirilmesinden ve jel uygulamasının başlamasından 1 hafta sonra morfometrik analizlerle kemik yıkımı değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda kemik rezorpsiyonunun morfometrik değerlendirmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmediği rapor edilmiştir (328).

Zhou ve ark. ratlarda ligatür indüklü periodontitis modelinde kurkuminin intragastrik uygulamasının alveoler kemik yıkımı üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Mandibulanın morfometrik analizinde kemik yıkımının periodontitisin indüklendiği ve kurkumin uygulanan grupta, çalışmamızı destekler şekilde kurkumin uygulanmayan gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca RANKL ve RANK ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve kurkumin uygulanan grupta daha düşük bulunmuştur (326). Dong ve Zhuan, ratlar üzerinde oluşturdukları ligatür indüklü periodontitis modelinde 10 mg/kg/gün'lük kurkumin uygulamasının kurkumin uygulanmayan periodontitis grubuna göre alveoler kemik kaybını ve RANKL ekspresyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir (324). Elburki ve ark. ratlar üzerinde oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde kimyasal olarak modifiye edilmiş kurkuminin alveol kemik kaybı üzerindeki etkisini morfometrik olarak ve mikro CT ile değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarında kurkumin uygulanan ratlarda alveol kemik yıkımının, periodontitisin indüklenmediği kontrol grubundaki ratların alveol kemik düzeyleriyle aynı olduğu bildirilmiştir (329).

Özetle deneysel periodontitis modelinde kurkumin uygulaması antienflamatuvar özelliği nedeniyle bölgedeki Th17 hücrelerini ve IL-17 üretimini baskılamış ve alveoler kemik kaybı miktarını azaltmıştır. Ancak kurkuminin Th17 hücreleri üzerindeki etkisinin tam olarak belirlenebilmesi için Th17 hücresiyle ilişkili medyatörlerin mRNA ekspresyonlarının gingival dokularda da incelenmesi yerinde olacaktır. Ayrıca Th17 hücrelerinin Th1/Th2 hücreleriyle olan ilişkisi açısından da



benzer incelemeler yapılarak kurkuminin konak modülasyonunda kullanımı hakkında öncül ve önemli bilgiler elde edilebilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Ulaşılabilir kaynaklar değerlendirildiğinde kurkuminin deneysel periodontitis modelinde Th17 hücreleri üzerinde etkisini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.
- Çalışmamızın bulguları 30 mg/kg/gün'lük kurkumin uygulamasının periodontal hastalığın bir sonucu olarak ortaya çıkan alveoler kemik kaybını azalttığını göstermiştir.
- Kurkumin uygulamasının periodontitis lezyonlarında ROR $\gamma$ t düzeylerini düşürerek Th17 farklılaşmasını baskıladığı ve Th17 hücrelerinden IL-17 ekspresyonunu azaltarak dokuyu Th17 hücrelerinin proenflamatuvar etkilerinden koruyabileceği sonucu çıkarılabilir.
- Oluşturulan deneysel periodontitis modelinde IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23 ve TGF- $\beta$  sadece serum düzeylerinin değerlendirilmesi ve kurkuminin farklı dozlarının etkilerinin karşılaştırılmaması çalışmamızın limitasyonlarıdır.
- Çalışmamızın hipotezi literatürde kurkuminin IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23 ve TGF- $\beta$  düzeyleri üzerine olan etkisi göz önünde bulundurularak oluşturuldu. Ancak çalışmamızın bulgularında gruplar arasında IL-23 düzeyleri hariç serum parametreleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı. IL-23 IL-1 $\beta$  ile birlikte IL-17 ve ROR $\gamma$ t sentezini indüklemektedir. Çalışmamızda IL-23 düzeyleri kurkumin uygulanan periodontitisli grupta beklenenin aksine en yüksek düzeyleri göstermiştir. IL-23 düzeylerindeki artışı serum IL-17 düzeylerindeki artışın takip etmemesi ancak dişeti doku örneklerindeki IL-17 düzeylerinin kurkumin uygulanan periodontitisli grupta, kurkuminin uygulanmadığı periodontitisli gruba göre daha düşük bulunması; lokal sitokin düzeylerinin sistemik düzeylere göre gerçeği yansıtmada daha başarılı olduğunu gösteriyor olabilir. Bu nedenle çalışmamızın bir sonraki basamağı olarak dişeti dokularında IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23 ve TGF- $\beta$  düzeylerinin değerlendirilmesi gösterilebilir.

## ÖZET

### **DeneySEL Periodontitis Modelinde Sistemik Kurkumin Uygulamasının Th17 Hücresi Üzerine Etkisinin incelenmesi**

Periodontitis dental biyofilmdeki mikroorganizmalara yanıt olarak ortaya çıkan kronik enflamatuvar bir durumdur. T hücrelerinin periodontitis patogeneziindeki rolleri iyi tanımlanmıştır. Th17 proenflamatuvar sitokini IL-17 aracılığıyla periodontitiste patojenik bir rol üstlenmektedir. Bu nedenle Th17 hücre yanıtının nasıl kontrol edilebileceğini anlamak periodontal hastalık kontrolünde yardımcı olacaktır. Kurkumin antiinflamatuvar ve antioksidan etki gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bitkisel kaynaklı bir fitoterapötiktir. Kurkuminin tedavi edici özellikleri romatoid artrit, obezite gibi çeşitli durumlarda araştırılmıştır ancak periodontal hastalıkta Th17 hücre farklılaşması ve yanıtı üzerindeki etkilerini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada deneysel periodontitis modelinde sistemik kurkumin uygulamasının lokal ve sistemik Th17 yanıtı ile alveoler kemik yıkımı üzerindeki etkisi değerlendirildi.

Çalışmada 38 adet erkek Wistar rat 4 gruba ayrıldı. Grup 1: periodontitisin indüklendiği ratlar (n=10); Grup 2: periodontitisin indüklendiği, kurkumin uygulanan ratlar (n=10); Grup 3: periodontal olarak sağlıklı, kurkumin uygulanan ratlar (n=10); Grup 4: kontrol (n=8). Kurkuminin oral gavaj yoluyla uygulanmasına (30 mg/kg/gün) periodontitisin indüklenmesinden 1 gün önce başlandı ve 15 gün süresince devam edildi. Ratlar sakrifiye edildikten sonra mandibulaları morfolojik, histolojik ve immünohistokimyasal analizler için kullanıldı. Serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23 ve TGF- $\beta$  düzeyleri ELISA ile değerlendirildi.

Biyokimyasal parametreler IL-23 haricinde gruplar arasında anlamlı farklılık göstermedi. En yüksek IL-23 düzeyleri Grup 2'de bulundu (p<0,0125). IL-17 ve ROR $\gamma$ t dişeti konsantrasyonları Grup 1'de Grup 2'den anlamlı olarak daha fazla bulundu (p<0,0125). Alveoler kemik kaybı Grup 1'de diğer gruplardan anlamlı olarak daha fazla bulundu (p<0,0125).

Kurkumin deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik kaybını IL-17 ve ROR $\gamma$ t ekspresyonunu baskılayarak azaltabilir.

**Anahtar kelimeler:** Kurkumin, Th17, alveolar kemik kaybı, deneysel periodontitis

## ABSTRACT

### **The Evaluation of The Effects of Systemic Curcumin on Th17 Cells in Experimental Periodontitis Model**

Periodontitis is a chronic inflammatory condition initiated by an immune response to microorganisms in the dental biofilm. The role of T cells in the pathogenesis of periodontitis is well recognized. Th17, through its proinflammatory cytokine IL-17 plays a pathogenic role in periodontitis. Therefore, understanding how Th17 cell response can be modulated may help in the management of periodontal disease. Curcumin is a plant-derived phytotherapeutic with various biological activities including anti-inflammatory and antioxidant effects. Its therapeutic applications have been studied in a variety of conditions including rheumatoid arthritis, obesity but the effects of curcumin on the differentiation and response of Th17 cells in periodontal disease have not been evaluated yet. In this study, the effect of systemic curcumin application on local and systemic Th17 response and alveolar bone loss (ABL) were investigated in an experimental periodontitis model.

38 male Wistar rats were used in the study and divided into four groups: Group 1: rats with periodontitis (n=10); Group 2: rats with periodontitis, application of curcumin (n=10); Group 3: periodontally healthy rats, application of curcumin (n=10); Group 4: controls (n=8). The administration of curcumin via oral gavage (30 mg/kg/day) was started 1 day before the induction of periodontitis and continued for 15 days. After rats were sacrificed their mandibles were collected for morphometric, histological and immunohistochemical analysis. ELISA was used to determine the serum levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-23 and TGF- $\beta$ .

The biochemical parameters were not found statistically different between groups, except IL-23 (p<0.0125). The highest value of IL-23 was found in Group 2 (p<0.0125). IL-17 and ROR $\gamma$ t gingiva concentrations were significantly higher in Group 1 than Group 2 (p<0.0125). Alveolar bone loss was significantly higher in Group 1 than the other three groups (p<0.0125).

Curcumin may decrease alveolar bone loss in experimental periodontitis model via suppressing the expression of IL-17 and ROR $\gamma$ t.

**Key Words:** Curcumin, Th17, IL-17, alveolar bone loss, experimental periodontitis

## KAYNAKLAR

1. Haake SK, Nisengard RJ, Newman MG, Miyasaki KT. Microbial interactions with the host in periodontal diseases. In: Carranza's clinical periodontology. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. 9th Ed., Philadelphia, USA; WB Saunders Company, 2002: p. 132-152.
2. Si-Tahar M, Touqui L, Chignard M. Innate immunity and inflammation—two facets of the same anti-infectious reaction. *Clin Exp Immunol.* 2009; 156: 194-198.
3. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol.* 2000 2007; 43: 41-55.
4. Janeway CA Jr. How the immune system protects the host from infection. *Microbes Infect.* 2001; 3(13): 1167-1171.
5. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VFI, Berneman ZN. Balancing between immunity and tolerance: an interplay between dendritic cells, regulatory T cells, and effector T cells. *J Leukoc Biol.* 2007; 82: 1365-1374.
6. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7: 145-173.
7. Kaplan MH. Th9 cells: differentiation and disease. *Immunol Rev.* 2013; 252: 104-115.
8. Korn, T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 485-517.
9. Trifari S, Spits H. IL-22-producing CD4+ T cells: middle-men between the immune system and its environment. *Eur J Immunol.* 2010; 40: 2369-2371.
10. Vinuesa CG, Cyster JG, How T cells earn the follicular rite of passage. *Immunity* 2011; 35: 671-680.
11. Gaffen SL, Hajishengallis G. A new inflammatory cytokine on the block: Rethinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res.* 2008; 87: 817-828.
12. Liang SC, Tan XY, Luxenberg DP, Karim R, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M, Fouser L A. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J Exp Med.* 2006; 203(10): 2271-2279.
13. Wilson N, Boniface N, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, Basham B, Smith K, Chen T, Morel F, Lecron JC, Kastelein RA, Cua DJ, McClanahan TK, Bowman EP, de Waal Malefyt R. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol.* 2007; 8: 950-957.

14. Monteleone I, Pallone F, Monteleone G. Th17-related cytokines: new players in the control of chronic intestinal inflammation. *BMC Med.* 2011; 15(9): 122-128.
15. Lubberts E. IL-17/Th17 targeting: On the road to prevent chronic destructive arthritis? *Cytokine* 2008; 41(2): 84-91.
16. Kikuta J, Wada Y, Kowada T, Wang Z, Sun-Wada GH, Nishiyama I, Mizukami S, Maiya N, Yasuda H, Kumanogoh A, Kikuchi K, Germain RN, Ishii M. Dynamic visualization of RANKL and Th17-mediated osteoclast function. *J Clin Invest.* 2013; 123(2): 866-873.
17. Duhon R, Glatigny S, Arbelaez CA, Blair TC, Oukka M, Bettelli E. Cutting edge: the pathogenicity of IFN- $\gamma$ -producing Th17 cells is independent of T-bet. *J Immunol Baltim.* 2013; 190: 4478-4482.
18. Kleinewietfeld M, Hafler DA. The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity. *Semin Immunol.* 2013; 25: 305-312.
19. Thomson RG. Modulating the host response as an adjunctive treatment for periodontitis. *Periodontol.* 2001; 22(1): 26-34.
20. Guimarães MR, Coimbra LS, de Aquino SG, Spolidorio LC, Kirkwood KL, Rossa C Jr. Potent anti-inflammatory effects of systemically administered curcumin modulate periodontal disease in vivo. *J Periodontal Res.* 2011; 46(2): 269-279.
21. Bhatia M, Urolagin SS, Pentyala KB, Urolagin SB, Menaka K B, Bhoi S. Novel Therapeutic approach for the treatment of periodontitis by curcumin. *J Clin Diagn Res.* 2014; 8(12): 65-69.
22. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules* 2014; 19(12): 20091-20112.
23. Aggarwal B, Sundaram C, Malani C, Ichikawa NH. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595: 1-75.
24. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: The story so far. *Eur J Cancer.* 2005; 41(13): 1955-1968.
25. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366(9499): 1809-1820.
26. Genco R, Grossi JSG, Ho AN, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol.* 2005; 76: 2075-2084.
27. Saremi A, Nelson RG, Tulloch-Reid M, Hanson RL, Sievers ML, Taylor GW, Shlossman M, Bennett PH, Genco R, Knowler WC. Periodontal disease and mortality in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(1): 27-32.
28. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 1-6.
29. Kornman KS, Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol.* 2008; 79(8): 1560-1568.

30. Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontol 2000*. 2003; 32: 11-23.
31. Brown LJ, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 1993; 2: 57-71.
32. Jensen SB, Loe H, Schiött CR, Theilade E. Experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*. 1968; 3(4): 284-293.
33. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965; 36: 177-187.
34. Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(4): 229-238.
35. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*. 2014; 35(1): 3-11.
36. Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2007; 43: 278-293.
37. Matthews JB, Wright HJ, Roberts A, Ling-Mountford N, Cooper PR, Chapple ILC. Neutrophil hyper-responsiveness in periodontitis. *J Dent Res*. 2007; 86: 718-722.
38. Kinane DF, Podmore M, Murray MC, Hodge PJ, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontol 2000*. 2001; 26: 54-91.
39. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009; 54(1): 11-26.
40. Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2006; 40: 77-93.
41. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13(1): 17-34.
42. Solomon S, Potârniche S, Păsărin O, Martu L, Nicolaiuc A, Ursarescu O, Source I. Evaluation of the prevalence of the periodontal disease versus systemic and local risk factors. *IJMD*. 2013; 17(3): 212-218.
43. Şahingür SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontol 2000*. 2004; 34: 57-83.
44. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 9-11.
45. Hans M, Hans VM. Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review. *J Oral Sci*. 2011; 53(3): 263-271.
46. Taub DD, Lloyd AR. Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells. *J Exp Med*. 1993; 177(6): 1809-1814.
47. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003; 82(2): 82-90.

48. Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009; 14(12): 680-685.
49. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995; 91: 1872-1885.
50. Taylor PR, Martinez-Pomares L, Stacey M, Lin HH, Brown GD, Gordon S. Macrophage receptors and immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2005; 23: 901-944.
51. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2014; 64(1): 57-80.
52. Opal SM, DePalo VA. Antiinflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117(4): 1162-1172.
53. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol* 2000. 2004; 35: 42-52.
54. Lalor SJ, Dungan LS, Sutton CE, Basdeo SA, Fletcher JM, Mills KH. Caspase-1-processed cytokines IL-1beta and IL-18 promote IL-17 production by gammadelta and CD4 T cells that mediate autoimmunity. *J Immunol*. 2011; 186: 5738-5748.
55. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol* 2000. 2010; 52: 163-220.
56. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000. 2010; 54(1): 160-194.
57. Cox SW, Eley BM, Kiili M, Asikainen A, Tervahartiala T, Sorsa T. Collagen degradation by interleukin-1beta stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Dis*. 2006; 12(1): 34-40.
58. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*. 2006; 85(7): 596-607.
59. Delima AJ, Karatzas S, Amar S, Graves DT. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *J Infect Dis*. 2002; 186(4): 511-516.
60. Kishimoto T. IL-6: from laboratory to bedside. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2005; 28(3): 177-186.
61. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine-40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005; 23: 1-21.
62. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol*. 2005; 175(6): 3463-6368.



63. Yao X, Huang J, Zhong H, Shen N, Faggioni R, Fung M, Yao Y. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol Ther.* 2014; 141(2): 125-139.
64. Nibali L, Fedele S, D'Aiuto F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.* 2012; 18(3): 236-243.
65. Saggini A, Chimenti S, Chiricozzi A. IL-6 as a druggable target in psoriasis: focus on pustular variants. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 964069.
66. Bozkurt FY, Berker E, Akkuş S, Bulut S. Relationship between interleukin-6 levels in gingival crevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71(11): 1756-60.
67. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res.* 2002; 3: 233-242.
68. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev.* 2008; 29: 403-440.
69. Assier E, Boissier MC, Dayer JM. Interleukin-6: from identification of the cytokine to development of targeted treatments. *Joint Bone Spine* 2010; 77(6): 532-536.
70. Paust HJ, Turner JE, Steinmetz OM, Peters A, Heymann F, Hölscher C, Wolf G, Kurts C, Mitrücker HW, Stahl RA, Panzer U. The IL-23/Th17 axis contributes to renal injury in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(5): 969-979.
71. McKenzie BS, Kastelein RA, Cua DJ. Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends Immunol.* 2006; 27(1): 17-23.
72. Cheung PF, Wong CK, Lam CW. Molecular mechanisms of cytokine and chemokine release from eosinophils activated by IL-17A, IL-17F, and IL-23: implication for Th17 lymphocytes-mediated allergic inflammation. *J Immunol.* 2008; 180(8): 5625-5235.
73. Tan ZY, Bealgey KW, Fang Y, Gong YM, Bao S. Interleukin-23: immunological roles and clinical implications. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41(4): 733-745.
74. Paradowska-Gorycka A, Grzybowska-Kowalczyk A, Wojtecka-Lukasik E, Maslinski S. IL-23 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol.* 2010; 71(3): 134-145.
75. Chen L, Wei XQ, Evans B, Jiang W, Aeschlimann D. IL-23 promotes osteoclast formation by up-regulation of receptor activator of NF-kappaB (RANK) expression in myeloid precursor cells. *Eur J Immunol.* 2008; 38(10): 2845-2854.
76. Ghilardi N, Kljavin N, Lucas S, Gurney AL, De Sauvage FJ. Compromised humoral and delayed-type hypersensitivity responses in IL-23-deficient mice. *J Immunol.* 2004; 172(5): 2827-2833.

77. Beadling C, Slifka MK. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. *Arch Immunol Ther Exp.* 2006; 54(1): 15-24.
78. Hughes FJ, Turner W, Belibasakis G, Martuscelli G. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontology* 2006; 41: 48-72.
79. Gürkan A, Emingil G, Cinarcik S, Berdeli A. Gingival crevicular fluid transforming growth factor-beta1 in several forms of periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(10): 906-912.
80. Yoshimura A, Wakabayashi Y, Mori T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF-beta. *J Biochem.* 2010; 147(6): 781-792.
81. Gürkan A, Afacan B, Emingil G, Töz H, Başkesen A, Atilla G. Gingival crevicular fluid transforming growth factor-beta1 in cyclosporine and tacrolimus treated renal transplant patients without gingival overgrowth. *Arch Oral Biol.* 2008; 53(8): 723-728.
82. Wahl SM, Chen W. Transforming growth factor-beta-induced regulatory T cells referee inflammatory and autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther.* 2005; 7(2): 62-68.
83. Maeda S, Hayashi M, Komiya S, Imamura T, Miyazono K. Endogenous TGF-beta signaling suppresses maturation of osteoblastic mesenchymal cells. *EMBO J.* 2004; 23(3): 552-563.
84. Mempel TR, Pittet MJ, Khazaie K, Weninger W, Weissleder R, von Boehmer H, von Andrian UH. Regulatory T cells reversibly suppress cytotoxic T cell function independent of effector differentiation. *Immunity* 2006; 25: 129-141.
85. Kaminska B, Wesolowska A, Danilkiewicz M. TGF beta signalling and its role in tumour pathogenesis. *Acta Biochim Pol.* 2005; 52(2): 329-337.
86. Ali BF, Al-Rubaie MS. Assessment of transforming growth factor beta one (Tgf-β1) immunohistochemical (IHC) expression profile in the gingival tissue of patients with different forms of periodontal diseases. *Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics* 2013; 25(Special issue 1): 96-101.
87. Atilla G, Emingil G, Köse T, Berdeli A. TGF-beta1 gene polymorphisms in periodontal diseases. *Clin Biochem.* 2006; 39(9): 929-934.
88. Sattari M, Fathiyeh A, Gholami F, Darbandi Tamijani H, Ghatreh Samani M. Effect of surgical flap on IL-1β and TGF-β concentrations in the gingival crevicular fluid of patients with moderate to severe chronic periodontitis. *Iran J Immunol.* 2011; 8(1): 20-26.
89. Steinman L. Prospects for immunotherapy directed to the T cell receptor in human autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1991; 636: 147-153.
90. Jotwani R, Palucka AK, Al-Quotub M, Nouri-Shirazi M, Kim J, Bell D, Banchereau J, Cutler CW. Mature dendritic cells infiltrate the T cell-rich region of oral mucosa in chronic periodontitis: in situ, in vivo, and in vitro studies. *J Immunol.* 2001; 167(8): 4693-4700.

91. Unanue ER. Antigen-presenting function of the macrophage. *Annu Rev Immunol.* 1984; 2: 395-428.
92. Heath WR, Carbone FR. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nat Immunol.* 2009; 10(12): 1237-1244.
93. Carballido JM, Carballido-Perrig N, Schwärzler C, Lametschwandtner G. Regulation of human T helper cell differentiation by antigen-presenting cells: the bee venom phospholipase A2 model. *Chem Immunol Allergy.* 2006; 91: 147-158.
94. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, Gottlieb PA, Kapranov P, Gingeras TR, Fazekas de St Groth B, Clayberger C, Soper DM, Ziegler SF, Bluestone JA. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4<sup>+</sup> T reg cells. *J Exp Med.* 2006; 203(7): 1701-1711.
95. Evans CM, Jenner RG. Transcription factor interplay in T helper cell differentiation. *Brief Funct Genomics.* 2013; 12(6): 499-511.
96. Hirahara K, Vahedi G, Ghoreschi K, Yang XP, Nakayamada S, Kanno Y, O'Shea JJ, Laurence A. Helper T-cell differentiation and plasticity: insights from epigenetics. *Immunology* 2011; 134(3): 235-245.
97. Kanhere A, Hertweck A, Bhatia U, Gökmen MR, Perucha E, Jackson I, Lord GM, Jenner RG. T-bet and GATA3 orchestrate Th1 and Th2 differentiation through lineage-specific targeting of distal regulatory elements. *Nat Commun.* 2012; 3: 1268-1279.
98. O'Garra A, Vieira P. T(H)1 cells control themselves by producing interleukin-10. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(6): 425-428.
99. Hermann-Kleiter N, Baier G. NFAT pulls the strings during CD4<sup>+</sup> T helper cell effector functions. *Blood* 2010; 115(15): 2989-2897.
100. Jiang S, Dong C. A complex issue on CD4(+) T-cell subsets. *Immunol Rev.* 2013; 252(1): 5-11.
101. Wan YY, Flavell RA. How diverse--CD4 effector T cells and their functions. *J Mol Cell Biol.* 2009; 1(1): 20-36.
102. Curtis MM, Rowell E, Shafiani S, Negash A, Urdahl KB, Wilson CB, Way SS. Fidelity of pathogen-specific CD4<sup>+</sup> T cells to the Th1 lineage is controlled by exogenous cytokines, interferon-gamma expression, and pathogen lifestyle. *Cell Host Microbe* 2010; 8(2): 163-173.
103. Jankovic D, Kullberg MC, Feng CG, Goldszmid RS, Collazo CM, Wilson M, Wynn TA, Kamanaka M, Flavell RA, Sher A. Conventional T-bet(+)Foxp3(-) Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. *J Exp Med.* 2007; 204(2): 273-283.
104. Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb KJ, Epstein MM. Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses. *Respir Res.* 2011; 25(12): 114-130.

105. Caraballo L, Zakzuk J. The evolution of the Th2 immune responses and its relationships with parasitic diseases and allergy. *Biomedica* 2012; 32(1): 145-157.
106. Fallon PG, Mangan NE. Suppression of TH2-type allergic reactions by helminth infection. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(3): 220-230.
107. Kavanagh H, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation by inducing murine regulatory T cells. *Allergy* 2011; 66(4): 523-531.
108. King C, Tangye SG, Mackay CR. T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2008; 26: 741-766.
109. Chtanova T, Tangye SG, Newton R, Frank N, Hodge MR, Rolph MS, Mackay CR. T follicular helper cells express a distinctive transcriptional profile, reflecting their role as non-Th1/Th2 effector cells that provide help for B cells. *J Immunol.* 2004; 173(1): 68-78.
110. Nurieva RI, Chung Y, Hwang D, Yang XO, Kang HS, Ma L, Wang YH, Watowich SS, Jetten AM, Tian Q, Dong C. Generation of T follicular helper cells is mediated by interleukin-21 but independent of T helper 1, 2, or 17 cell lineages. *Immunity* 2008; 29(1): 138-149.
111. Vogelzang A, McGuire HM, Yu D, Sprent J, Mackay CR, King C. A fundamental role for interleukin-21 in the generation of T follicular helper cells. *Immunity* 2008; 29(1): 127-137.
112. Nurieva RI, Chung Y, Martinez GJ, Yang XO, Tanaka S, Matskevitch TD, Wang YH, Dong C. Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells. *Science* 2009; 325(5943): 1001-1005.
113. Veldhoen M, Uyttenhove C, Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J, Martin B, Wilhelm C, Stockinger B. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol.* 2008; 9: 1341-1346.
114. Kara EE, Comerford I, Bastow CR, Fenix KA, Litchfield W, Handel TM, McColl SR. Distinct chemokine receptor axes regulate Th9 cell trafficking to allergic and autoimmune inflammatory sites. *J Immunol.* 2013; 191: 1110-1117.
115. Jager A, Dardalhon V, Sobel RA, Bettelli E, Kuchroo VK. Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *J Immunol.* 2009; 183: 7169-7177.
116. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, Mitsdoerffer M, Strom TB, Elyaman W, Ho IC, Khoury S, Oukka M, Kuchroo VK. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3 + T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9 + IL-10 + Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol.* 2008; 9: 1347-1355.
117. Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol.* 2009; 10(8): 857-863.

118. Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Cardinale I, Khatcherian A, Gonzalez J, Pierson KC, White TR, Pensabene C, Coats I, Novitskaya I, Lowes MA, Krueger JG. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *J Dermatol.* 2008; 159(5): 1092-1102.
119. Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, Cianfarani F, Odorisio T, Traidl-Hoffmann C, Behrendt H, Durham SR, Schmidt-Weber CB, Cavani A. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest.* 2009; 119(12): 3573-3585.
120. Zhao L, Jiang Z, Jiang Y, Ma N, Zhang Y, Feng L, Wang K. IL-22+ CD4+ T cells in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2013; 16(5): 518-526.
121. Basu R, O'Quinn DB, Silberger DJ, Schoeb TR, Fouser L, Ouyang W, Hatton RD, Weaver CT. Th22 cells are an important source of IL-22 for host protection against enteropathogenic bacteria. *Immunity* 2012; 37(6): 1061-1075.
122. Tian T, Sun Y, Li M, He N, Yuan C, Yu S, Wang M, Ji C, Ma D. Increased Th22 cells as well as Th17 cells in patients with adult T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Chim Acta.* 2013; 426: 108-113.
123. Shevach EM. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity* 2009; 30(5): 636-645.
124. Wan YY, Flavell RA. 'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol Rev.* 2007; 220: 199-213.
125. Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. *Nat Immunol.* 2007; 8(3): 277-284.
126. Manel N, Unutmaz D, Littman D. The differentiation of human TH-17 cells requires transforming growth factor- $\beta$  and induction of the nuclear receptor ROR $\gamma$ t. *Nat Immunol.* 2008; 9(6): 641-649.
127. Yawalkar N, Tschanner GG, Hunger RE, Hassan AS. Increased expression of IL-12p70 and IL-23 by multiple dendritic cell and macrophage subsets in plaque psoriasis. *J Dermatol Sci.* 2009; 54: 99-105.
128. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T. Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *J Immunol.* 2000; 165(11): 6107-6115.
129. Weaver CT, Murphy KM. The central role of the Th17 lineage in regulating the inflammatory/autoimmune axis. *Semin Immunol.* 2007; 19(6): 351-362.
130. Gu C, Wu L, Li X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine* 2013; 64(2): 477-485.

131. Beriou G, Bradshaw EM, Lozano E, Costantino CM, Hastings WD, Orban T, Elyaman W, Khoury SJ, Kuchroo VK, Baecher-Allan C, Hafler DA. TGF-beta induces IL-9 production from human Th17 cells. *J Immunol.* 2010; 185(1): 46-54.
132. Zielinski CE. Autoimmunity beyond Th17: GM-CSF producing T cells. *Cell Cycle* 2014; 13(16): 2489-2490.
133. Chung Y, Yang X, Chang SH, Ma L, Tian Q, Dong C. Expression and regulation of IL-22 in the IL-17-producing CD4+ T lymphocytes. *Cell Research* 2006; 16: 902-907.
134. Ge M, Zheng Y, Li X, Lu S, Li H, Chen F, Chen D, Shao Y, Shi J, Feng S. Differential expression profile of Th1/Th17/Th2-related chemokines and their receptors in patients with acquired bone marrow failure syndromes. *Hum Immunol.* 2013; 74: 176-180.
135. Oo YH, Banz V, Kavanagh D, Liaskou E., Withers DR, Humphreys E, Reynolds GM, LeeTurner L, Kalia N, Hubscher SG. CXCR3-dependent recruitment and CCR6-mediated positioning of Th-17 cells in the inflamed liver. *J Hepatol.* 2012; 57: 1044-1051.
136. Singh SP, Zhang HH, Foley JF, Hedrick MN, Farber JM. Human T cells that are able to produce IL-17 express the chemokine receptor CCR6. *J Immunol Baltim.* 2008; 180(1): 214-221.
137. Wang L, Yi T, Kortylewski M, Pardoll DM, Zeng D, Yu H. IL-17 can promote tumor growth through an IL-6-Stat3 signaling pathway. *J Exp Med.* 2009; 206: 1457-1464.
138. Cosmi L, Cimaz R, Maggi L, Santarasci V, Capone M, Borriello F, Frosali F, Querci V, Simonini G, Barra G, Evidence of the transient nature of the Th17 phenotype of CD4+CD161+ T cells in the synovial fluid of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011; 63: 2504-2515.
139. Miao J, Geng J, Zhang K, Li X, Li Q, Li C, Zhu P. Frequencies of circulating IL-17- producing CD4+CD161+ T cells and CD4+CD161+ T cells correlate with disease activity in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 2014; 24(2): 265-570.
140. Zhu J, Paul WE. Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunol Rev.* 2010; 238: 247-262.
141. Annunziato F, Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S. Main features of human T helper 17 cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2013; 1284: 66-70.
142. Ciofani M, Madar A, Galan C, Sellars M, Mace K, Pauli F, Agarwal A, Huang W, Parkurst CN, Muratet M. A validated regulatory network for Th17 cell specification. *Cell* 2012; 151(2): 289-303.
143. Durant L, Watford WT, Ramos HL, Laurence A, Vahedi G, Wei L, Takahashi H, Sun H. -W, Kanno Y, Powrie F, Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis. *Immunity* 2010; 32: 605-615.

144. Tuomela S, Salo V, Tripathi SK, Chen Z, Laurila K, Gupta B, Äijö T, Oikari L, Stockinger B, Lähdesmäki H. Identification of early gene expression changes during human Th17 cell differentiation. *Blood* 2012; 119:151-160.
145. Yang J, Sundrud MS, Skepner J, Yamagata T. Targeting Th17 cells in autoimmune diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2014; 35(10): 493-500.
146. Kurebayashi Y, Nagai S, Ikejiri A, Koyasu S. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. *Genes Cells* 2013; 18(4): 247-265.
147. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol.* 2007; 8(9): 942-949.
148. Volpe E, Servant N, Zollinger R, Bogiatzi SI, Hupé P, Barillot E, Soumelis V. A critical function for transforming growth factor- $\beta$ , interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human TH-17 responses. *Nat Immunol.* 2008; 9: 650-657.
149. Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, Ma L, Shah B, Panopoulos AD, Schluns KS. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* 2008; 28(1): 29-39.
150. Qin H, Wang L, Feng T, Elson CO, Niyongere SA, Lee SJ, Reynolds SL, Weaver CT, Roarty K, Serra R, Benveniste EN, Cong Y. TGF-beta promotes Th17 cell development through inhibition of SOCS3. *J Immunol.* 2009; 183(1): 97-105.
151. Ben-Sasson SZ, Hu-Li J, Quiel J, Cauchetaux S, Ratner M, Shapira I, Dinarello CA, Paul WE. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106(17): 7119-7124.
152. Seymour GJ, Gemmell E, Walsh LJ, Powell RN. Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans. *Clin Exp Immunol.* 1988; 71(1): 132-137.
153. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol.* 2007; 8(9): 942-949.
154. Evans HG, Suddason T, Jackson I, Taams LS, Lord GM. Optimal induction of T helper 17 cells in humans requires T cell receptor ligation in the context of Toll-like receptor-activated monocytes. *Proc Natl Acad Sci.* 2007; 104(43): 17034-17039.
155. Annunziato F, Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S. The phenotype of human Th17 cells and their precursors, the cytokines that mediate their differentiation and the role of Th17 cells in inflammation. *Int Immunol.* 2008; 20(11): 1361-1368.

156. Gulen MF, Kang Z, Bulek K, Youzhong W, Kim TW, Chen Y, Altuntas CZ, Sass Bak-Jensen K, McGeachy MJ, Do JS, Xiao H, Delgoffe GM, Min B, Powell JD, Tuohy VK, Cua DJ, Li X. The receptor SIGIRR suppresses Th17 cell proliferation via inhibition of the interleukin-1 receptor pathway and mTOR kinase activation. *Immunity* 2010; 32(1): 54-66.
157. Masuda K, Kishimoto T. Th17 cells: inflammation and regulation. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2014; 18(8): 611-623.
158. Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jager, Strom TB, Oukka M, Kuchroo VK. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature* 2007; 448: 484-487.
159. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Ma L, Schluns K, Tian Q, Watowich SS, Jetten AM, Dong C. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature* 2007; 448(7152): 480-483.
160. Zhou L, Ivanov II, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy De, Leonard W J, Littman DR. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nature Immunology* 2007; 8: 967-974.
161. Zambrano-Zaragoza JF, Romo-Martínez EJ, Durán-Avelar Mde J, García-Magallanes N, Vibanco-Pérez N. Th17 cells in autoimmune and infectious diseases. *Int J Inflam.* 2014; 2014: 651503.
162. Zúñiga LA, Jain R, Haines C, Cua DJ. Th17 cell development: from the cradle to the grave. *Immunol Rev.* 2013; 252(1): 78-88.
163. Chen DY, Chen YM, Chen HH, Hsieh CW, Lin CC, Lan JL. Increasing levels of circulating Th17 cells and interleukin-17 in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to anti-TNF- $\alpha$  therapy. *Arthritis Res Ther.* 2011; 13(4): 126-135.
164. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234.
165. Ganjalikhani Hakemi M, Ghaedi K, Andalib A, Hosseini M, Rezaei A. Optimization of human Th17 cell differentiation in vitro: evaluating different polarizing factors. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2011; 47(8): 581-592.
166. Valmori D, Raffin C, Raimbaud I, Ayyoub M. Human ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> TH17 cells preferentially differentiate from naive FOXP3<sup>+</sup>Treg in the presence of lineage-specific polarizing factors. *Proc Natl Acad Sci.* 2010; 107(45): 19402-19407.
167. Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol.* 2007; 19: 281-286.
168. Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, Ramos HL, Wei L, Davidson TS, Bouladou N. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- $\beta$  signalling. *Nature* 2010; 467(7318): 967-971.



169. Morrison PJ, Ballantyne SJ, Kullberg MC. Interleukin-23 and T helper 17-type responses in intestinal inflammation: from cytokines to T-cell plasticity. *Immunology* 2011; 133(4): 397-408.
170. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature Immunology* 2005; 6: 1123-1132.
171. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat Immunol.* 2006; 7: 937-945.
172. Codarri L, Gyölvézi G, Tosevski V, Hesske L, Fontana A, Magnenat L, Suter T, Becher B. ROR $\gamma$ t drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. *Nat Immunol.* 2011; 12(6): 560-567.
173. Kleinschek MA, Owyang AM, Joyce-Shaikh B, Langrish CL, Chen Y, Gorman DM, Blumenschein WM, McClanahan T, Brombacher F, Hurst SD, Kastelein RA, Cua DJ. IL-25 regulates Th17 function in autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2007; 204(1): 161-170.
174. Liao W, Lin JX, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol.* 2011; 23(5): 598-604.
175. Moisan J, Grenningloh R, Bettelli E, Oukka M. Ets-1 is a negative regulator of Th17 differentiation. *J Exp Med.* 2007; 204(12): 2825-2835.
176. Ouyang W, Beckett O, Ma Q, Paik J, DePinho RA, Li MO. Foxo proteins cooperatively control the differentiation of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2010; 11(7): 618-627.
177. Veldhoen M, Hirota K, Christensen J, O'Garra A, Stockinger B. Natural agonists for aryl hydrocarbon receptor in culture medium are essential for optimal differentiation of Th17 T cells. *J Exp Med.* 2009; 206(1): 43-49.
178. An J, Golech S, Klaewsongkram J, Zhang Y, Subedi K, Huston GE, Wood WH, Wersto RP, Becker KG, Swain SL. Krüppel-like factor 4 (KLF4) directly regulates proliferation in thymocyte development and IL-17 expression during Th17 differentiation. *FASEB J.* 2011; 25(10): 3634-4365.
179. Engel I, Zhao M, Kappes D, Taniuchi I, Kronenberg M. The transcription factor Th-POK negatively regulates Th17 differentiation in V $\alpha$ 14i NKT cells. *Blood* 2012; 120(3): 4524-4532.
180. Klotz L, Burgdorf S, Dani I, Saijo K, Flossdorf J, Hucke S, Alferink J, Nowak N, Novak N, Beyers M. The nuclear receptor PPAR gamma selectively inhibits Th17 differentiation in a T cell-intrinsic fashion and suppresses CNS autoimmunity. *J Exp Med.* 2009; 206(10): 2079-2089.

181. Maruyama T, Li J, Vaque JP, Konkel JE, Wang W, Zhang B, Zhang P, Zamarron BF, Yu D, Wu Y. Control of the differentiation of regulatory T cells and T(H)17 cells by the DNA binding inhibitor Id3. *Nat Immunol.* 2011; 12(1): 86-95.
182. Miao T, Raymond M, Bhullar P, Ghaffari E, Symonds ALJ, Meier UC, Giovannoni G, Li S, Wang P. Early growth response gene-2 controls IL-17 expression and Th17 differentiation by negatively regulating Batf. *J Immunol.* 2013; 190(1): 58-65.
183. Pham D, Walline CC, Hollister K, Dent AL, Blum JS, Firulli AB, Kaplan MH. The transcription factor Twist1 limits T helper 17 and T follicular helper cell development by repressing the gene encoding the interleukin-6 receptor  $\alpha$  chain. *J Biol Chem.* 2013; 288(38): 27423-27433.
184. You P, Xing F, Mao C, Chen Z, Zhang H, Wang Y, Xu J, Di J, Zeng S, Liu J. Jagged-1-HES-1 signaling inhibits the differentiation of TH17 cells via ROR $\gamma$ 1. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2013; 27(1): 79-93.
185. Yu Q, Sharma A, Ghosh A, Sen JM. T cell factor-1 negatively regulates expression of IL-17 family of cytokines and protects mice from experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol Baltim.* 2011; 186(7): 3946-3952.
186. Tan AH, Lam KP. Pharmacologic inhibition of MEK-ERK signaling enhances Th17 differentiation. *J Immunol.* 2010; 184(4): 1849-1857.
187. Ichiyama K, Yoshida H, Wakabayashi Y, Chinen T, Saeki K, Nakaya M. Foxp3 inhibits ROR $\gamma$ t-mediated IL-17A mRNA transcription through direct interaction with ROR $\gamma$ t. *J Biol Chem.* 2008; 283: 17003-17008.
188. Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, Rousseau AM, Painter SL, Comeau MR, Cohen JI, Spriggs MK. Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity* 1995; 3(6): 811-821.
189. Gaffen SL. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr Opin Immunol.* 2011; 23(5): 613-619.
190. Chang SH, Dong C. IL-17F: regulation, signaling and function in inflammation. *Cytokine* 2009; 46(1): 7-11.
191. Zhu L, Wu Y, Wei H, Xing X, Zhan N, Xiong H, Peng B. IL-17R activation of human periodontal ligament fibroblasts induces IL-23 p19 production: Differential involvement of NF- $\kappa$ B versus JNK/AP-1 pathways. *Mol Immunol.* 2012; 48(4): 647-656.
192. Hueber AJ, Asquith DL, Miller AM, Reilly J, Kerr S, Leipe J, Melendez AJ, McInnes IB. Mast cells express IL-17A in rheumatoid arthritis synovium. *J Immunol.* 2010; 184(7): 3336-3340.
193. Kao CY, Chen Y, Thai P, Wachi S, Huang F, Kim C, Harper RW, Wu R. IL-17 markedly up-regulates beta-defensin-2 expression in human airway epithelium via JAK and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *J Immunol.* 2004; 173(5): 3482-3491.

194. Gaffen SL. Biology of recently discovered cytokines: interleukin-17a unique inflammatory cytokine with roles in bone biology and arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2004; 6(6): 240-247.
195. Ruddy MJ, Shen F, Smith JB, Sharma A, Gaffen SL. Interleukin-17 regulates expression of the CXC chemokine LIX/CXCL5 in osteoblasts: implications for inflammation and neutrophil recruitment. *J Leukoc Biol.* 2004; 76: 135-144.
196. Özçaka O, Nalbantsoy A, Buduneli N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2011; 46(5): 592-598.
197. 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.
198. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity* 2011; 34(2): 149-162.
199. Shen F, Ruddy MJ, Plamondon P, Gaffen SL. Cytokines link osteoblasts and inflammation: microarray analysis of interleukin-17- and TNF-alpha-induced genes in bone cells. *J Leukoc Biol.* 2005; 77(3): 388-399.
200. Koenders M, Lubberts E, Oppers-Walgreen B, van den Bersselaar L, Helsen M, Di Padova F. Blocking of interleukin-17 during reactivation of experimental arthritis prevents joint inflammation and bone erosion by decreasing RANKL and interleukin-1. *Am J Pathol.* 2005; 167: 141-149.
201. Park H, Li Z, Yang X, Chang S, Nurieva R, Wang YA. Distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.* 2005; 6: 1133-1141.
202. Danks L, Takayanagi H. Immunology and bone. *J Biochem.* 2013; 154(1): 29-39.
203. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gürkan 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.
204. Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Júnior WM, Rossi MA, Silva JS. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2009; 24(1): 1-6.
205. Konermann A, Beyer M, Deschner J, Allam JP, Novak N, Winter J, Jepsen S, Jäger A. Human periodontal ligament cells facilitate leukocyte recruitment and are influenced in their immunomodulatory function by Th17 cytokine release. *Cell Immunol.* 2012; 272(2): 137-143.
206. Adibrad M, Deyhimi P, Ganjalikhani Hakemi M, Behfarnia P, Shahabuei M, Rafiee L. Signs of the presence of Th17 cells in chronic periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2012; 47(4): 525-531.

207. Parachuru VP, Coates DE, Milne TJ, Hussaini HM, Rich AM, Seymour GJ. Forkhead box P3-positive regulatory T-cells and interleukin 17-positive T-helper 17 cells in chronic inflammatory periodontal disease. *J Periodontol Res.* 2014; 49(6): 817-826.
208. Wang H, Han Q, Luo Z, Xu C, Liu J, Dan H, Xu Y, Zeng X, Chen Q. Oral lichen planus may enhance the expression of Th17-associated cytokines in local lesions of chronic periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2014; 18(6): 1647-1654.
209. Luo Z, Wang H, Wu Y, Sun Z, Wu Y. Clinical significance of IL-23 regulating IL-17A and/or IL-17F positive Th17 cells in chronic periodontitis. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 627959.
210. Allam JP, Duan Y, Heinemann F, Winter J, Götz W, Deschner J, Wenghoefer M, Bieber T, Jepsen S, Novak N. IL-23-producing CD68(+) macrophage-like cells predominate within an IL-17-polarized infiltrate in chronic periodontitis lesions. *J Clin Periodontol.* 2011; 38(10): 879-886.
211. Ohshima H, Kato-Kogoe N, Kuhara A, Nishimura F, Nakasho K, Yamanegi K, Yamada N, Hata M, Yamane J, Terada N. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. *J Dent Res.* 2009; 88(7): 633-638.
212. Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(4): 383-389.
213. Takahashi K, Azuma T, Motohira H, Kinane DF, Kitetsu S. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(4): 369-374.
214. Honda T, Aoki Y, Takahashi N, Maekawa T, Nakajima T, Ito H, Tabeta K, Okui T, Kajita K, Domon H, Yamazaki K. Elevated expression of IL-17 and IL-12 genes in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Chim Acta.* 2008; 395(1-2): 137-141.
215. Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(5): 396-403.
216. Behfarnia P, Birang R, Andalib AR, Asadi S. Comparative Evaluation of IFN $\gamma$ , IL4 and IL17 Cytokines in Healthy Gingiva and Moderate to Advanced Chronic Periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 7(2): 45-50.
217. Behfarnia P, Birang R, Pishva SS, Hakemi MG, Khorasani MM. Expression levels of th-2 and th-17 characteristic genes in healthy tissue versus periodontitis. *J Dent.* 2013; 10(1): 23-31.
218. Wang K, Miao T, Lu W, He J, Cui B, Li J, Li Y, Xiao L. Analysis of oral microbial community and Th17-associated cytokines in saliva of patients with oral lichen planus. *Microbiol Immunol.* 2015; 59(3): 105-113.

219. Corrêa JD, Madeira MF, Resende RG, Correia-Silva Jde F, Gomez RS, de Souza Dda G, Teixeira MM, Queiroz-Junior CM, da Silva TA. Association between polymorphisms in interleukin-17A and -17F genes and chronic periodontal disease. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012: 846052.
220. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, Osorio M, Wahl SM. *Porphyromonas gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun.* 2012; 39(4): 294-303.
221. Souto GR, Queiroz-Junior CM, Costa FO, Mesquita RA. Effect of smoking on immunity in human chronic periodontitis. *Immunobiology* 2014; 219(12): 909-915.
222. Takahashi S, Fukuda M, Mitani A, Fujimura T, Iwamura Y, Sato S, Kubo T, Sugita Y, Maeda H, Shinomura T, Noguchi T. Follicular dendritic cell-secreted protein is decreased in experimental periodontitis concurrently with the increase of interleukin-17 expression and the *Rankl/Opg* mRNA ratio. *J Periodontal Res.* 2014; 49(3): 390-397.
223. Mitani A, Niedbala W, Fujimura T, Mogi M, Miyamae S, Higuchi N, Abe A, Hishikawa T, Mizutani M, Ishihara Y, Nakamura H, Kurita K, Ohno N, Tanaka Y, Hattori M, Noguchi T. Increased expression of interleukin (IL)-35 and IL-17, but not IL-27, in gingival tissues with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2015; 86(2): 301-309.
224. Chitrapriya MN, Rao SR, Lavu V. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in different stages of inflammatory periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol.* 2015; 19(1): 14-17.
225. Oda T, Yoshie H, Yamazaki K. *Porphyromonas gingivalis* antigen preferentially stimulates T cells to express IL-17 but not receptor activator of NF-kappaB ligand in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 2003; 18(1): 30-36.
226. Buduneli N, Buduneli E, Kütükçüler N. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. *J Periodontol.* 2009; 80(8): 1274-1280.
227. Pradeep AR, Hadge P, Chowdhry S, Patel S, Happy D. Exploring the role of Th1 cytokines: interleukin-17 and interleukin-18 in periodontal health and disease. *J Oral Sci.* 2009; 51(2): 261-266.
228. Özçaka Ö, Buduneli N, Ceyhan BO, Akcali A, Hannah V, Nile C, Lappin DF. Is interleukin-17 involved in the interaction between polycystic ovary syndrome and gingival inflammation? *J Periodontol.* 2013; 84(12): 1827-1837.
229. Herane A, Chaparro A, Quintero A, Sanz A, Hernández M, Gaedechens D, Carrión F, Inostroza C. Th17 cytokines expression and its correlation with periodontopathogens and periodontal inflamed surface area (PISA) in patients with chronic periodontitis. *Rev Clin Periodoncia Implanto Rehabi Ora.* 2013; 6(3): 109-113.

230. Szkaradkiewicz AK, Karpinski TM, Zeidler A, Wyganowska-Swiatkowska M, Szkaradkiewicz A. Protective effect of oral Lactobacilli in pathogenesis of chronic periodontitis. *J Physiol Pharmacol.* 2011; 62(6): 685-689.
231. Shaker OG, Ghallab NA. IL-17 and IL-11 GCF levels in aggressive and chronic periodontitis patients: relation to PCR bacterial detection. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012: 174764.
232. Ay ZY, Yılmaz G, Ozdem M, Koçak H, Sütçü R, Uskun E, Tonguç MÖ, Kırzioğlu FY. The gingival crevicular fluid levels of interleukin-11 and interleukin-17 in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2012; 83(11): 1425-1431.
233. Fu QY, Zhang L, Duan L, Qian SY, Pang HX. Correlation of chronic periodontitis in tropical area and IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-17 levels. *Asian Pac J Trop Med.* 2013; 6(6): 489-492.
234. Isaza-Guzmán DM, Cardona-Vélez N, Gaviria-Correa DE, Martínez-Pabón MC, Castaño-Granada MC, Tobón-Aroyave SI. Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(1): 91-99.
235. Prakasam S, Srinivasan M. Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2014; 20(2): 171-177.
236. Awang RA, Lappin DF, MacPherson A, Riggio M, Robertson D, Hodge P, Ramage G, Culshaw S, Preshaw PM, Taylor J, Nile C. Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity. *Inflamm Res.* 2014; 63(12): 1001-1012.
237. Schenkein HA, Koertge TE, Brooks CN, Sabatini R, Purkall DE, Tew JG. IL-17 in sera from patients with aggressive periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 89(9): 943-947.
238. Duarte PM, Miranda TS, Lima JA, Dias Gonçalves TE, Santos VR, Bastos MF, Ribeiro FV. Expression of immune-inflammatory markers in sites of chronic periodontitis in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2012; 83(4): 426-434.
239. Qi Y, Feng W, Song A, Song H, Yan S, Sun Q, Yang P. Role of serum IL-23/IL-17 axis in the relationship between periodontitis and coronary heart disease. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2013; 33(2): 185-191.
240. Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, Ribeiro CP, Narciso LG, de Lima VM, Sumida DH, Coclete GA, Dezan-Júnior E, Gomes-Filho JE. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clin Oral Investig.* 2014; 18(9): 2123-2128.
241. Wang H, Luo Z, Lei L, Sun Z, Zhou M, Dan H, Zeng X, Chen Q. Interaction between oral lichen planus and chronic periodontitis with Th17-associated cytokines in serum. *Inflammation* 2013; 36(3): 696-704.

242. Nagireddy RR, Chavan V, Subramanyam MB, Reddy VS, Pasupuleti MK, Avula KK. Estimation of interleukin-17 levels in gingival crevicular fluid from healthy individuals and patients with chronic periodontitis. *J NTR Univ Health Sci.* 2013; 2: 191-195.
243. Lester SR, Bain JL, Johnson RB, Serio FG. Gingival concentrations of interleukin-23 and -17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss. *J Periodontol.* 2007; 78(8): 1545-1550.
244. Johnson RB, Wood N, Serio FG. Interleukin-11 and IL-17 and the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol.* 2004; 75(1): 37-43.
245. Ay ZY, Sütçü R, Uskun E, Bozkurt FY, Berker E. The impact of the IL-11:IL-17 ratio on the chronic periodontitis pathogenesis: a preliminary report. *Oral Dis.* 2009; 15(1): 93-99.
246. Gürsoy UK, Yıldız Çiftlikli S, Könönen E, Gürsoy M, Doğan B. Salivary interleukin-17 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in relation to periodontitis and glycemic status in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes.* 2014; DOI: 10.1111/1753-0407.12228.
247. Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, González FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011; 90(10): 1164-1170.
248. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(3): 239-248.
249. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Bastos MF, Faveri M. 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.
250. Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. *J Periodontol.* 2012; 83(8): 1018-1027.
251. Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. Effect of non-Surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2011; 38(6): 509-516.
252. Shirmohammadi A, Babaloo Z, Eskandari A, Purabbas R, Babaloo A. The Effects of One-Stage Full-Mouth Disinfection and Quadrant-Wise Scaling and Root Planing on Serum Levels of IL-17 and IL-1 $\beta$  and Clinical Parameters (A randomized Controlled Trial Study). *J Dent.* 2013; 10(3): 248-255.
253. Cheng WC, Hughes FJ, Taams LS. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014; 41(6): 541-549.
254. Erdemir EO, Hendek MK, Keceli HG, Apan TZ. Crevicular fluid levels of interleukin-8, interleukin-17 and soluble intercellular adhesion molecule-1 after regenerative periodontal therapy. *Eur J Dent.* 2015; 9(1): 60-65.

255. Yu JJ, Ruddy MJ, Wong GC, Sfintescu C, Baker PJ, Smith JB. An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. *Blood* 2007; 109: 3794-3802.
256. Settem RP, Honma K, Nakajima T, Phansopa C, Roy S, Stafford GP, Sharma A. A bacterial glycan core linked to surface (S)-layer proteins modulates host immunity through Th17 suppression. *Mucosal Immunol.* 2013; 6(2): 415-426.
257. Eskin MA, Jotwani R, Abe T, Chmelar J, Lim JH, Liang S, Ciero PA, Krauss JL, Li F, Rauner M, Hofbauer LC, Choi EY, Chung KJ, Hashim A, Curtis MA, Chavakis T, Hajishengallis G. The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. *Nat Immunol.* 2012; 13(5): 465-473.
258. Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol.* 1986; 13(6): 590-596.
259. Rams TE, Listgarten MA, Slots J. Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(4): 346-354.
260. Eickholz P, Kaltschmitt J, Berbig J, Reitmeir P, Pretzl B. Tooth loss after active periodontal therapy. 1: patient-related factors for risk, prognosis, and quality of outcome. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 165-174.
261. Dalwai F, Spratt DA, Pratten J. Modeling shifts in microbial populations associated with health or disease. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72(5): 3678-3684.
262. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res.* 2003; 82: 82-90.
263. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1984; 11(1): 63-76.
264. Lindhe J, Nyman S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1984; 11(8): 504-14.
265. Jolkovsky DL, Cianco S. Chemotherapeutic Agents. In: Carranza's clinical periodontology. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. 10 th Ed., Philadelphia, USA; W.B Saunders Company, 2006: p. 799-808.
266. Bidault P, Chandad F, Grenier D. Systemic antibiotic therapy in the treatment of periodontitis. *J Can Dent Assoc.* 2007; 73(6): 515-20.
267. Jain R, Mohan R, Amarnath BJ, Krishna KM, Mehrotra S, Mark R. Herbs in periodontology -Local drug delivery. *WJPR* 2014; 3(2): 1831-1840.
268. Gottumukkala SN, Sudarshan S, Mantena SR. Comparative evaluation of the efficacy of two controlled release devices: Chlorhexidine chips and indigenous curcumin based collagen as local drug delivery systems. *Contemp Clin Dent.* 2014; 5(2): 175-181.



269. Teles RP, Teles FR. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res.* 2009; 23(1): 39-48.
270. Reddy MS, Narendera Babu M. How beneficial is bacterial prophylaxis to periodontal health? *J Investig Clin Dent.* 2011; 2(2): 95-101.
271. Anarthe R, Mani A, Marawar PP. Host Modulatory Therapy: A Novel Approach in Periodontal Therapy. *OSR J Pharm Biol Sci.* 2013; 3(4): 9-13.
272. Encyclopedia Britannica Online, s. v. "phytotherapy", 2015, <http://global.britannica.com/EBchecked/topic/1936369/phytotherapy>.
273. Rao NJ, Subash KR, Kumar KS. Role of Phytotherapy in Gingivitis: A Review. *International Journal of Pharmacology* 2012; 8: 1-5.
274. Bellik Y, Boukraâ L, Alzahrani HA, Bakhotmah BA, Abdellah F, Hammoudi SM, Iguer-Ouada M. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti allergic activities of phytochemicals: an update. *Molecule* 2012; 18(1): 322-353.
275. Suchetha A, Lakshmi P, Akanksha G, Bhopale D, Bhat D, Mundinamane DB. Phytoagents-To fight the pathogens. *UJP.* 2014; 3(1): 9-13.
276. Balappanavar AY, Sardana V, Singh M. Comparison of the effectiveness of 0.5% tea, 2% neem and 0.2% chlorhexidine mouthwashes on oral health: a randomized control trial. *Indian J Dent Res.* 2013; 24(1): 26-34.
277. Vahabi S, Najafi E, Alizadeh S. In vitro antimicrobial effects of some herbal essences against oral pathogens. *J Med Plant Res.* 2011; 5(19): 4870-4878.
278. Mukherjee M, Bandyopadhyay P, Kundu D. Exploring the role of cranberry polyphenols in periodontitis: A brief review. *J Indian Soc Periodontol.* 2014; 18(2): 136-139.
279. Aggarwal BB, Sung B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol Sci.* 2009; 30(2): 85-94.
280. Shen L, Ji HF. The pharmacology of curcumin: is it the degradation products? *Trends Mol Med.* 2012; 18: 138-144.
281. Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, Lin JK. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal.* 1997; 15(12): 1867-1876.
282. Maiti K, Mukherjee K, Gantait A, Saha BP, Mukherjee PK. Curcumin-phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. *Int J Pharm.* 2007; 330(1-2): 155-163.
283. Helson L. Curcumin (diferuloylmethane) delivery methods: a review. *Biofactors* 2013; 39(1): 21-26.
284. Bansal SS, Goel M, Aqil F, Vadhanam MV, Gupta RC. Advanced drug delivery systems of curcumin for cancer chemoprevention. *Cancer Prev Res (Phila).* 2011; 4(8): 1158-1171.

285. Shaikh J, Ankola DD, Beniwal V, Singh D, Kumar MN. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *Eur J Pharm Sci.* 2009; 37(3-4): 223-230.
286. Salmaso S, Bersani S, Semenzato A, Caliceti P. New cyclodextrin bioconjugates for active tumour targeting. *J Drug Target.* 2007; 15(6): 379-390.
287. Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev.* 2009; 14(2): 141-153.
288. Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med.* 1998; 64(4): 353-6.
289. Olivera A, Moore TW, Hu F, Brown AP, Sun A, Liotta DC, Snyder JP, Yoon Y, Shim H, Marcus AI, Miller AH, Pace TW. Inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway by the curcumin analog, 3,5-Bis(2-pyridinylmethylidene)-4-piperidone (EF31): anti-inflammatory and anti-cancer properties. *Int Immunopharmacol.* 2012; 12(2): 368-377.
290. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med.* 1991; 57(1): 1-7.
291. Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA, Normolle DP, Djuric Z, Brenner DE. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17(6): 1411-1417.
292. Chueh SC, Lai MK, Liu IS, Teng FC, Chen J. Curcumin enhances the immunosuppressive activity of cyclosporine in rat cardiac allografts and in mixed lymphocyte reactions. *Transplant Proc.* 2003; 35(4): 1603-1605.
293. Shishodia S. Molecular mechanisms of curcumin action: gene expression. *Biofactors* 2013; 39(1): 37-55.
294. Zhou H, Beevers CS, Huang S. The targets of curcumin. *Curr Drug Targets.* 2011; 12(3): 332-347.
295. Wright JS. Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *J Mol Struct.* 2002; 591: 207-217.
296. Jovanovic SV, Steenken S, Borne CW, Simic MG. H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. *J Am Chem Soc.* 1999; 121: 9677-9681.
297. Barclay LR, Vinqvist MR, Mukai K, Goto H, Hashimoto Y, Tokunaga A, Uno H. On the antioxidant mechanism of curcumin: classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Org Lett.* 2000; 2(18): 2841-2853.
298. Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, Kumar MS, Unnikrishnan MK, Satav JG, Mohan H. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med.* 2003; 35(5): 475-484.

299. Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-kappa B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane) [corrected]. *J Biol Chem.* 1995; 270(42): 24995-5000.
300. Weber WM, Hunsaker LA, Roybal CN, Bobrovnikova-Marjon EV, Abcouwer SF, Royer RE, Deck LM, Vander Jagt DL. *V. Bioorg Med Chem.* 2006; 14(7): 2450-2461.
301. Hong J, Bose M, Ju J, Ryu JH, Chen X, Sang S, Lee MJ, Yang CS. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* 2004; 25(9): 1671-1679.
302. Prasad NS, Raghavendra R, Lokesh BR, Naidu KA. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2004; 70(6): 521-528.
303. Rao CV. Regulation of COX and LOX by curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595: 213-326.
304. Yu W, Xu G, Ren G, Xu X, Yuan H, Qi X, Tian K. Preventive action of curcumin in experimental acute pancreatitis in mouse. *Indian J Med Res.* 2011; 134(5): 717-724.
305. Okamoto Y, Tanaka M, Fukui T, Masuzawa T. Inhibition of interleukin 17 production by curcumin in mice with collagen-induced arthritis. *Biomedical Research* 2011; 22(3): 299-304.
306. Shehzad A, Rehman G, Lee YS. Curcumin in inflammatory diseases. *Biofactors* 2013; 39(1): 69-77.
307. Kurup VP, Barrios CS. Immunomodulatory effects of curcumin in allergy. *Mol Nutr Food Res.* 2008; 52(9): 1031-1039.
308. Ma J, Liu J, Yu H, Wang Q, Chen Y, Xiang L. Curcumin promotes nerve regeneration and functional recovery in rat model of nerve crush injury. *Neurosci Lett.* 2013; 547: 26-31.
309. Sordillo PP, Helson L. Curcumin suppression of cytokine release and cytokine storm. A potential therapy for patients with Ebola and other severe viral infections. *In Vivo* 2015; 29(1): 1-4.
310. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curcumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* 2008; 75(4): 787-809.
311. Xie L, Li XK, Funeshima-Fuji N, Kimura H, Matsumoto Y, Isaka Y, Takahara S. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by curcumin treatment through inhibition of IL-17 production. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9(5): 575-581.
312. Sun J, Zhao Y, Hu J. Curcumin inhibits imiquimod-induced psoriasis-like inflammation by inhibiting IL-1beta and IL-6 production in mice. *PLoS One* 2013; 8(6): e67078.

313. Swarnakar S, Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Maity P, Sharma AV. Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *J Biol Chem.* 2005; 280(10): 9409-9415.
314. Panahi Y, Khalili N, Hosseini MS, Abbasiazari M, Sahebka A. Lipid-modifying effects of adjunctive therapy with curcuminoids–piperine combination in patients with metabolic syndrome: Results of a randomized controlled trial. *Complement Ther Med.* 2014; 22(5): 851-857.
315. Akbik D, Ghadiri M, Chrzanowski W, Rohanzadeh R. Curcumin as a wound healing agent. *Life Sci.* 2014; 116(1): 1-7.
316. Gupta SC, Kismali G, Aggarwal BB. Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *Biofactors* 2013; 39(1): 2-13.
317. Neelakantan P, Subbarao C, Sharma S, Subbarao CV, Garcia-Godoy F, Gutmann JL. Effectiveness of curcumin against *Enterococcus faecalis*. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(6): 1453-1457.
318. Chaturvedi TP. Uses of turmeric in dentistry: an update. *Indian J Dent Res.* 2009; 20(1): 107-119.
319. Devaraj SD, Neelakantan P. Curcumin- pharmacological actions and its role in dentistry. *Asian J Pharmaceut Res Health Care.* 2014; 6(1): 19-22.
320. Yavagal CM, Karuna YM, Mythri P. Effect of turmeric incorporation on fluoride release, antibacterial activity and physical properties of glass ionomer cement: an in-vitro comparative study. *Int J Ayurvedic Med.* 2014; 5(1): 91-101.
321. Paschoal MA, Lin M, Santos-Pinto L, Duarte S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Streptococcus mutans* using curcumin and toluidine blue activated by a novel LED device. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(2): 885-890.
322. Carvalho MT, Dovigo LN, Rastelli ANS, Bagnato VS. Study on the curcumin Dynamics and distribution through living biofilms. *Mechanisms for Low-Light Therapy VIII* 2013; 8569.
323. Solanki S, Prasad S, Chinmaya BR, Tandon S, Ashwini B. The magic of herbal curcumin therapy in recurrent oral lichen planus. *AJethno* 2014; 1(1): 96-101.
324. Dong C, Zhuan B. Curcumin decreases alveolar bone resorption during experimental periodontitis in rats. 2009; September 24: Seq #12 - Poster Session III.
325. Guimarães MR, de Aquino SG, Coimbra LS, Spolidorio LC, Kirkwood KL, Rossa C Jr. Curcumin modulates the immune response associated with LPS-induced periodontal disease in rats. *Innate Immun.* 2012; 18(1): 155-163.
326. Zhou T, Chen D, Li Q, Sun X, Song Y, Wang C. Curcumin inhibits inflammatory response and bone loss during experimental periodontitis in rats. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(2): 349-356.

327. Ezzat BA, Fares AE. the effect of orally administered curcumin and /or ginger on escherichia coli induced periodontitis in rats (histopathological, immunohistochemical, and stereomicroscopic study. *EDJ*. 2014; 60(2): 1465-1477.
328. Hosadurga RR, Rao SN, Jose J, Rompicharla NC, Shakil M, Shashidhara R. valuation of the efficacy of 2% curcumin gel in the treatment of experimental periodontitis. *Pharmacognosy Res*. 2014; 6(4): 326-333.
329. Elburki MS, Rossa C, Guimaraes MR, Goodenough M, Lee HM, Curylofo FA, Zhang Y, Johnson F, Golub LM. A novel chemically modified curcumin reduces severity of experimental periodontal disease in rats: initial observations. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 959471.
330. Mazzarino L, Borsali R, Lemos-Senna E. Mucoadhesive films containing chitosan-coated nanoparticles: a new strategy for buccal curcumin release. *J Pharm Sci*. 2014; 103(11): 3764-3771.
331. Gottumukkala SNVS, Koneru S, Mannem S, Mandalapu N. Effectiveness of subgingival irrigation of an indigenous 1% curcumin solution on clinical and microbiological parameters in chronic periodontitis patients: A pilot randomized clinical trial. *Contemp Clin Dent*. 2013; 4(2): 186-191.
332. Farjana HN, Chandrasekaran SC, Gita B. Effect of Oral Curcuma Gel in Gingivitis Management-A Pilot Study. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(12): 8-10.
333. Behal R, Mali AM, Gilda SS, Paradkar AR. Evaluation of local drug-delivery system containing 2% whole turmeric gel used as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis: A clinical and microbiological study. *J Indian Soc Periodontol*. 2011; 15(1): 35-38.
334. Varghese MK, Nagarathna DV, Litty S. Curcumin and metronidazole in periodontal therapy. *IJRAP*. 2014; 5(6): 680-684.
335. Jaswal R, Dhawan S, Grover V, Malhotra R. Comparative evaluation of single application of 2% whole turmeric gel versus 1% chlorhexidine gel in chronic periodontitis patients: A pilot study. *J Indian Soc Periodontol*. 2014; 18: 575-580.
336. Nandini N, Vidya D, Komal A. Comparative evaluation of 1% Curcumin solution and 0.2% Chlorhexidine irrigation as an adjunct to scaling and root planing in management of chronic periodontitis: A clinico-microbiological study. *J Pharma Biomed Sci*. 2012; 14: 1-6.
337. Suhag A, Dixit J, Dhan P. Role of curcumin as a subgingival irrigant: a pilot study. *Perio 2007*; 4(2): 115-121.
338. Waghmare PF, Chaudhari AU, Karhadkar VM, Jamkhande AS. Comparative Evaluation of Turmeric and Chlorhexidine Gluconate Mouthwash in Prevention of Plaque Formation and Gingivitis: A Clinical and Microbiological Study. *J Contemp Dent Pract*. 2011; 12(4): 221-224.
339. Muglikar S, Patil KC, Shivswami S, Hegde R. Efficacy of curcumin in the treatment of chronic gingivitis: a pilot study. *Oral Health Prev Dent*. 2013; 11(1): 81-86.

340. Mali AM, Behal R, Gilda SS. Comparative evaluation of 0.1% turmeric mouthwash with 0.2% chlorhexidine gluconate in prevention of plaque and gingivitis: A clinical and microbiological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2012; 16(3): 386-391.
341. Grauballe MC, Bentzen BH, Björnsson M, Moe D, Jonassen TE, Bendtzen K, Stoltze K, Holmstrup P. The effect of spironolactone on experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2005; 40(3): 212-217.
342. Nishikawa T, Naruse K, Kobayashi Y, Miyajima S, Mizutani M, Kikuchi T, Soboku K, Nakamura N, Sokabe A, Tosaki T, Hata M, Ohno N, Noguchi T, Matsubara T. Involvement of nitrosative stress in experimental periodontitis in diabetic rats. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(4): 342-349.
343. Culic C, Parvu AE, Alb SF, Alb C, Pop A. Effect of cimetidine on nitro-oxidative stress in a rat model of periodontitis. *Clujul Medical.* 2014; 87(3): 177-181.
344. Kara M, Kesim S, Aral CA, Elmali F. Effect of Grape Seed Extract Upon Plasma Oxidative Status and Alveolar Bone, in Ligature Induced Periodontitis. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2013; 27(5): 4131-4136.
345. Björnsson 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.
346. de Lima V, Bezerra MM, de Menezes Alencar VB, Vidal FD, da Rocha FA, de Castro Brito GA, de Albuquerque Ribeiro R. Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108(2): 123-129.
347. Fujishiro N, Anan H, Hamachi T, Maeda K. The role of macrophages in the periodontal regeneration using Emdogain gel. *J Periodontal Res.* 2008; 43(2): 143-155.
348. Dumitrescu AL, Abd-El-Aleem S, Morales-Aza B, Donaldson LF. A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(8): 596-603.
349. de Molon RS, de Avila ED, Boas Nogueira AV, Chaves de Souza JA, Avila-Campos MJ, de Andrade CR, Cirelli JA. Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice. *J Periodontol.* 2014; 85(3): 465-477.
350. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 754857. doi: 10.1155/2011/754857. Epub
351. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J.* 2010; 4: 37-47.
352. Sartori R, Li F, Kirkwood KL. MAP kinase phosphatase-1 protects against inflammatory bone loss. *J Dent Res.* 2009; 88(12): 1125-1130.

353. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Lowdose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35: 613-616.
354. Saadi-Thiers K, Huck O, Simonis P. Periodontal and systemic responses in various mice models of experimental periodontitis: Respective roles of inflammation duration and *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Periodontol.* 2013; 84: 396-406.
355. Yuan H, Gupte R, Zelkha S, Amar S. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand antagonists inhibit tissue inflammation and bone loss in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011; 38: 1029-1036.
356. 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; 5: 89-105.
357. Liang S, Hosur KB, Domon H, Hajishengallis G. Periodontal inflammation and bone loss in aged mice. *J Periodontal Res.* 2010; 45(4): 574-578.
358. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Turnage AA, Naftel JP, Johnson RB. Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009; 44(1): 133-140.
359. Cavagni J, Wagner TP, Gaio EJ, Rêgo RO, Torres IL, Rösing CK. Obesity may increase the occurrence of spontaneous periodontal disease in Wistar rats. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(8): 1034-1039.
360. Verzeletti GN, Gaio EJ, Linhares DS, Rösing CK. Effect of obesity on alveolar bone loss in experimental periodontitis in Wistar rats. *J Appl Oral Sci.* 2012; 20(2): 218-221.
361. Matthews JB, Wright HJ, Roberts A, Cooper PR, Chapple IL. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin Exp Immunol.* 2007; 147: 255-264.
362. Parachuru VPB, Coates DE, Milne TJ, Hussaini HM, Rich AM, Seymour GJ. Forkhead box P3-positive regulatory T-cells and interleukin 17-positive T-helper 17 cells in chronic inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2014; 49(6): 817-826.
363. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441(7090): 235-238.
364. Tuomela S, Salo V, Tripathi SK, Chen Z, Laurila K, Gupta B, Äijö T, Oikari L, Stockinger B, Lähdesmäki H, Lahesmaa R. Identification of early gene expression changes during human Th17 cell differentiation. *Blood* 2012; 119(23): 151-160.

365. Laurence A, Tato CM, Davidson TS, Kanno Y, Chen Z, Yao Z, Blank RB, Meylan F, Siegel R, Hennighausen L, Shevach EM, O'shea JJ. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity* 2007; 26(3): 371-381.
366. Yang L, Anderson D, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo V. K, Hafler DA. IL-21 and TGF- $\beta$  are required for differentiation of human Th17 cells. *Nature* 2008; 454: 350-352.
367. Xie L, Li XK, Takahara S. Curcumin has bright prospects for the treatment of multiple sclerosis *Int Immunopharmacol.* 2011; 11(3): 323-330.
368. Yücel OO, Berker E, Gariboğlu S, Otlu H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(5): 365-370.
369. Teles RP, Gursky LC, Faveri M, Rosa EA, Teles FR, Feres M, Socransky SS, Haffajee AD. Relationships between subgingival microbiota and GCF biomarkers in generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(4): 313-323.
370. Hussain AA, Ali BG. Evaluation of interleukin 1 $\beta$  levels in gingival crevicular fluid and serum of patients with gingivitis and chronic periodontitis. *IOSR-JDMS.* 2011; 13(11): 70-75.
371. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 1989; 24(6): 362-367.
372. 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.
373. Keles GG, Acikgoz G, Ayas B, Sakallioğlu E, Firatli E. Determination of systemically & locally induced periodontal defects in rats. *Indian J Med Res.* 2005; 121(3): 176-184.
374. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(1): 48-53.
375. Kowalski J, Górska R, Dragan M, Kozak I. Clinical state of the patients with periodontitis, IL-1 polymorphism and pathogens in periodontal pocket--is there a link? *Adv Med Sci.* 2006; 51(1): 9-12.
376. Toyman U, Tüter G, Kurtiş B, Kıvrak E, Bozkurt Ş, Yücel AA, Serdar M. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1- $\beta$  in patients with different periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2015; 50(1): 44-51.
377. Faizuddin M, Bharathi SH, Rohini NV. Estimation of interleukin-1beta levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2003; 38(2): 111-114.



378. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(7): 541-549.
379. de Queiroz AC, Taba M Jr, O'Connell PA, da Nóbrega PB, Costa PP, Kawata VK, Trevisan GL, Novaes AB Jr, de Souza SL, Palioto DB, Grisi MF. Inflammation markers in healthy and periodontitis patients: a preliminary data screening. *Braz Dent J.* 2008; 19(1): 3-8.
380. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(12): 1046-1052.
381. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol.* 1991; 62(8): 504-509.
382. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack 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.
383. Liukkonen J, Gürsoy UK, Suominen AL, Könönen E. Salivary levels of IL-1 $\beta$ , IL-17, and IL-23 in localised and generalised periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(13): 117.
384. de Lima Oliveira AP, de Faveri M, Gursky LC, Mestnik MJ, Feres M, Haffajee AD, Socransky SS, Teles RP. Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(3): 295-302.
385. Holmlund A, Hänström L, Lerner UH. Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(6): 475-482.
386. Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *Oral Dis.* 1998; 4(1): 43-47.
387. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(2): 145-153.
388. Noh MK, Jung M, Kim SH, Lee SR, Park KH, Kim DH, Kim HH, Park YG. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp Ther Med.* 2013; 6(3): 847-851.
389. 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.
390. Becerik S, Ozçaka O, Nalbantsoy A, Atilla G, Celec P, Behuliak M, Emingil G. Effects of menstrual cycle on periodontal health and gingival crevicular fluid markers. *J Periodontol.* 2010; 81(5): 673-681.

391. Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 2010; 81(3): 384-391.
392. 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.
393. Loos BG. Systemic effects of periodontitis. *Ann R Australas Coll Dent Surg.* 2006; 18: 27-39.
394. D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Periodontal therapy: a novel acute inflammatory model. *Inflamm Res.* 2005; 54(10): 412-424.
395. Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 2007; 356(9): 911-920.
396. Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MC, de Souza AM, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Novaes AB, Gerlach RF. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol.* 2009; 80(4): 594-602.
397. Skaleric U, Kramar B, Petelin M, Pavlica Z, Wahl SM. Changes in TGF-beta 1 levels in gingiva, crevicular fluid and serum associated with periodontal inflammation in humans and dogs. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105(2): 136-142.
398. Khalaf H, Lönn J, Bengtsson T. Cytokines and chemokines are differentially expressed in patients with periodontitis: possible role for TGF- $\beta$ 1 as a marker for disease progression. *Cytokine* 2014; 67(1): 29-35.
399. Matarese G, Isola G, Anastasi GP, Favalaro A, Milardi D, Vermiglio G, Vita G, Cordasco G, Cutroneo G. Immunohistochemical analysis of TGF- $\beta$ 1 and VEGF in gingival and periodontal tissues: a role of these biomarkers in the pathogenesis of scleroderma and periodontal disease. *Int J Mol Med.* 2012; 30(3): 502-508.
400. Leite AC, Carneiro VM, Morandini AC, Ramos-Junior ES, Guimarães MC. Effects of periodontal therapy on white blood cell count and levels of transforming growth factor beta in serum of subjects with severe periodontitis. *Cell Mol Biol.* 2015; 61(1): 72-80.
401. Mize TW, Sundararaj KP, Leite RS, Huang Y. Increased and correlated expression of connective tissue growth factor and transforming growth factor beta 1 in surgically removed periodontal tissues with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2015; 50(3): 315-319.
402. Ko WL, Wang JC, Chen CC, Wu YM, Tsai CC. TGF-beta 1 in the experimentally induced inflammatory periodontal tissues in miniature swines. *Kaohsiung J Med Sci.* 1999; 15(6): 315-321.

403. Casati MZ, Algayer C, Cardoso da Cruz G, Ribeiro FV, Casarin RC, Pimentel SP, Cirano FR. Resveratrol decreases periodontal breakdown and modulates local levels of cytokines during periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2013; 84(10): 58-64.
404. Silva JA, Ferrucci DL, Peroni LA, Abrahão PG, Salamene AF, Rossa-Junior C, Carvalho HF, Stach-Machado DR. Sequential IL-23 and IL-17 and increased Mmp8 and Mmp14 expression characterize the progression of an experimental model of periodontal disease in type 1 diabetes. *J Cell Physiol.* 2012; 227(6): 2441-2450.
405. Scheres N, Laine ML, de Vries TJ, Everts V, van Winkelhoff AJ. Gingival and periodontal ligament fibroblasts differ in their inflammatory response to viable *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res.* 2010; 45(2): 262-270.
406. Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol.* 2012; 83(10): 1304-1313.
407. Chen CC, Chang KL, Huang JF, Huang JS, Tsai CC. Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci.* 1997; 13(10): 609-617.
408. Himani GS1, Prabhuji ML, Karthikeyan BV. Gingival crevicular fluid and interleukin-23 concentration in systemically healthy subjects: their relationship in periodontal health and disease. *J Periodontal Res.* 2014; 49(2): 237-245.
409. 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; 21: 256-260.
410. Elkhoul AM. The efficacy of host response modulation therapy (omega-3 plus low-dose aspirin) as an adjunctive treatment of chronic periodontitis (clinical and biochemical study). *J Periodontal Res.* 2011; 46(2): 261-268.
411. Al-Rassam ZT, Taha MYM. Serum cytokines profiles and some salivary parameters in chronic periodontitis patients in Mosul-Iraq. *IJSBAR.* 2014; 16(1): 339-350.
412. Furugen R, Hayashida H, Yamaguchi N, Yoshihara A, Ogawa H, Miyazaki H, Saito T. The relationship between periodontal condition and serum levels of resistin and adiponectin in elderly Japanese. *J Periodontal Res.* 2008; 43(5): 556-562.
413. Ford PJ, Yamazaki K, Seymour GJ. Cardiovascular and oral disease interactions: What is the evidence? *Prim Dent Care.* 2007; 14(2): 59-66.
414. Pussinen PJ, Mattila K. Periodontal infections and atherosclerosis: Mere associations? *Curr Opin Lipidol.* 2004; 15(5): 583-588.
415. Ma S, Guo J, You X, Xia W, Yan F. Expressions of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 within aortas and uteri of rats with various severities of ligature-induced periodontitis. *Inflammation* 2011; 34(4): 260-268.

416. Aziz SA, Hamzah N, Fauzi AR, Yusof YAM, Ibrahim N, Rahman MA, Ghafar NA, Baharin B. The effect of gelam (*Melaleuca cajuputi*) honey on inflammatory mediators in periodontitis-induced Sprague-Dawley rats. *IJARNP*. 2014; 7(3): 7-16
417. Buduneli E, Buduneli N, Vardar-Sengül S, Kardeşler L, Atilla G, Lappin D, Kinane DF. 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.
418. Miyajima S, Naruse K, Kobayashi Y, Nakamura N, Nishikawa T, Adachi K, Suzuki Y, Kikuchi T, Mitani A, Mizutani M, Ohno N, Noguchi T, Matsubara T. Periodontitis-activated monocytes/ macrophages cause aortic inflammation. *Sci Rep*. 2014; 4: 5171-5179.
419. Xynogala I, Pepelassi E, Perrea D, Agrogiannis G, Pantopoulou A, Patsouris E, Vrotsos I. Adiponectin and interleukin-6 levels in insulin-treated diabetic rats with experimental periodontitis. *Braz Oral Res*. 2012; 26(1): 71-76.
420. Lankford CS, Frucht DM. A unique role for IL-23 in promoting cellular immunity. *J Leukoc Biol*. 2003; 73(1): 49-56.
421. Sieve AN, Meeks KD, Lee S, Berg RE. A novel immunoregulatory function for IL-23: Inhibition of IL-12-dependent IFN- $\gamma$  production. *Eur J Immunol*. 2010; 40(8): 2236-2247.
422. Boniface K, Blom B, Liu YJ, de Waal Malefyt R. From interleukin-23 to T-helper 17 cells: human T-helper cell differentiation revisited. *Immunol Rev*. 2008; 226: 132-146.
423. Zhu L, Wu Y, Wei H, Xing X, Zhan N, Xiong H, Peng B. IL-17R activation of human periodontal ligament fibroblasts induces IL-23 p19 production: Differential involvement of NF- $\kappa$ B versus JNK/AP-1 pathways. *Mol Immunol*. 2011; 48(4): 647-656.
424. Hirahara K, Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Kanno Y, O'Shea JJ. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010; 21(6): 425-434.
425. Haines CJ, Chen Y, Blumenschein WM, Jain R, Chang C, Joyce-Shaikh B, Porth K, Boniface K, Mattson J, Basham B, Anderton SM, McClanahan TK, Sadekova S, Cua DJ. Autoimmune memory T helper 17 cell function and expansion are dependent on interleukin-23. *Cell Rep*. 2013; 3(5): 1378-1388.
426. Lee Y, Awasthi A, Yosef N, Quintana FJ, Xiao S, Peters A, Wu C, Kleinewietfeld M, Kunder S, Hafler DA, Sobel RA, Regev A, Kuchroo VK. Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat Immunol*. 2012; 13(10): 991-999.
427. Moutsopoulos NM, Konkel J, Sarmadi M, Eskin MA, Wild T, Dutzan N, Abusleme L, Zenobia C, Hosur KB, Abe T, Uzel G, Chen W, Chavakis T, Holland SM, Hajishengallis G. Defective neutrophil recruitment in leukocyte adhesion deficiency type I disease causes local IL-17-driven inflammatory bone loss. *Sci Transl Med*. 2014; 6(229): 229-240.

428. Rohaninasab M, Sattari M, Abedi H, Zarenejad N. The effect of periodontal therapy on IL-17 and IL-23 in Gingival Crevicular Fluid (GCF) of patients with severe periodontitis. *CJDR*. 2013; 2(1): 32-38.
429. Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Napimoga MH, Bastos MF, Duarte PM. Cytokine levels in sites of chronic periodontitis of poorly controlled and well-controlled type 2 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(12): 1049-1058.
430. Ribeiro FV, de Mendonça AC, Santos VR, Bastos MF, Figueiredo LC, Duarte PM. Cytokines and bone-related factors in systemically healthy patients with chronic periodontitis and patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2011; 82(8): 1187-96.
431. Luo Z, Wang H, Wu Y, Sun Z, Wu Y. Clinical significance of IL-23 regulating IL-17A and/or IL-17F positive Th17 cells in chronic periodontitis. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 627959.
432. Kanakasabai S, Casalini E, Walline CC, Mo C, Chearwae W, Bright JJ. Differential regulation of CD4(+) T helper cell responses by curcumin in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Nutr Biochem*. 2012; 23(11): 1498-1507.
433. Bereswill S, Muñoz M, Fischer A, Plickert R, Haag LM, Otto B, Kühl AA, Loddenkemper C, Göbel UB, Heimesaat MM. Anti-inflammatory effects of resveratrol, curcumin and simvastatin in acute small intestinal inflammation. *PLoS One* 2010; 5(12): 15099.
434. El-Wakkad A, Badr AM, Sibaii H, Mohsen E, El-Deeb S. The effect of curcumin on T helper 1/T helper 17 balance in rat collagen-induced arthritis model. *GJP*. 2015; 9(1): 87-96.
435. Folwarczna J, Zych M, Trzeciak HI. Effects of curcumin on the skeletal system in rats. *Pharmacol Rep*. 2010; 62(5): 900-909.
436. Bharti AC, Takada Y, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits receptor activator of NF-kappa B ligand-induced NF-kappa B activation in osteoclast precursors and suppresses osteoclastogenesis. *J Immunol*. 2004; 172(10): 5940-5947.
437. von Metzler , Kriebel H, Kuckelkorn U, Heider U, Jakob C, Kaiser M, Fleissner C, Terpos E, Sezer O. Curcumin diminishes human osteoclastogenesis by inhibition of the signalosome-associated I kappaB kinase. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009; 135(2): 173-179.
438. Kim WK, Ke K, Sul OJ, Kim HJ, Kim SH, Lee MH, Kim HJ, Kim SY, Chung HT, Choi HS. Curcumin protects against ovariectomy-induced bone loss and decreases osteoclastogenesis. *J Cell Biochem*. 2011; 112(11): 3159-3166.
439. Bell NH. RANK ligand and the regulation of skeletal remodeling. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1120-1122.
440. Fuller K, Owens JM, Jagger CJ, Wilson A, Moss R, Chambers T J. Macrophage colony-stimulating factor stimulates survival and chemotactic behavior in isolated osteoclasts. *J Exp Med*. 1993; 178: 1733-1744.

441. Yang MW, Wang TH, Yan PP, Chu LW, Yu J, Gao ZD, Li YZ, Guo BL. Curcumin improves bone microarchitecture and enhances mineral density in APP/PS1 transgenic mice. *Phytomedicine* 2011; 18(2-3): 205-213.
442. Hussan F, Ibraheem NG, Kamarudin TA, Shuid AN, Soelaiman IN, Othman F. Evid Curcumin Protects against ovariectomy-induced bone changes in rat model. *Based Complement Alternat Med.* 2012; 174916.
443. Brändström H, Jonsson KB, Ohlsson C, Vidal O, Ljunghall S, Ljunggren O. Regulation of osteoprotegerin mRNA levels by prostaglandin E2 in human bone marrow stroma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 247(2): 338-41.
444. Ireson C, Orr S, Jones DJ, Verschoyle R, Lim CK, Luo JL, Howells L, Plummer S, Jukes R, Williams M, Steward WP, Gescher A. Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. *Cancer Res.* 2001; 61(3): 1058-64.

## EKLER

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

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
07.11.2013	32	04

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07 KASIM 2013 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Zuhale YETKİN AY'ın yürütücüsü olduğu Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ, Arş. Gör. İ. Aydın CANDAN, Arş. Gör. Halil İbrahim BÜYÜKBAYRAM, Dt. Burcu ORUN'un yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Deneysel periodontitis modelinde sistemik kurkumin uygulamasının Th17 hücreleri üzerine etkisinin incelenmesi." başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sıçan (Wistar Albino)	Erkek	38	4-5 ay / 200-250 gr

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

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

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

<b>Adı:</b>	BURCU	<b>Soyadı:</b>	ORUN
<b>Doğ. Yeri:</b>	ANKARA	<b>Doğ. Tar.:</b>	30.09.1983
<b>Email:</b>	burcu0683@yahoo.com.tr		

### Eğitim düzeyi

	<b>Mezun Old. Kurum</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Doktora</b>	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2010-Devam ediyor
<b>Lisans</b>	Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2006
<b>Lise</b>	Ayşe Melahat Erkin Anadolu Lisesi	2001

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>ÜDS Puanı</b>	<b>(Diğer) Puanı</b>
İngilizce	82.5	

### Yayımları

#### Uluslararası Bildiri

Yetkin Ay Z, Çağlar F, **Orun B**, Uskun E. The dental anxiety and its effects on obesity and periodontitis. International Dental Journal 2013; 63: 93.

#### Ulusal Bildiri

Yetkin Ay Z, Çağlar F, **Orun B**, Uskun E. Hastaların Oral Sağlık, Dental Anksiyete Düzeyleri Ve Belirleyicileri İle İlgili Kendi Bildirimlerinin Ölçek Sonuçlarıyla Tutarlılığı. Türk Periodontoloji Derneği 43. Bilimsel Kongresi 09-11.05.2013, İzmir.



Yetkin Ay Z, Çağlar F, **Orun B**, Uskun E. Hastaların ağız sağlığı, dental anksiyete düzeyleri ve olası belirleyicileri ile ilgili bildirimlerinin ölçek sonuçlarıyla tutarlılığı. SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi 2014; 5(2): 56-61.