

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

**DENEYSEL PERİODONTİTİSTE MELATONİNİN PERİODONTAL KEMİK
YIKIMI VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

Muhsin ÖZDEM

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Ramazan YILMAZ

2011-İSPARTA

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

**DENEYSEL PERİODONTİTİSTE MELATONİNİN PERİODONTAL KEMİK
YIKIMI VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

MUHSİN ÖZDEM

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Ramazan YILMAZ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
1853-D-09 Proje numarası ile desteklenmiştir
Tez. No: 60**

2011-İSPARTA

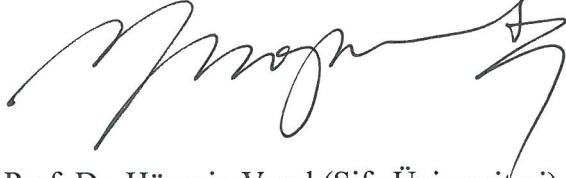
KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Periodontoloji Anabilim Dalı Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/ 04 /2011

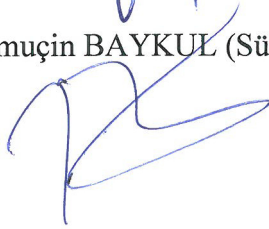
Tez Danışmanı: Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi)




Üye : Prof. Dr. Hüseyin Vural (Şifa Üniversitesi)



Üye : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL (Süleyman Demirel Üniversitesi)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ (Süleyman Demirel Üniversitesi)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi)

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

Prof. Dr. Serpil DEMİRCİ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim boyunca ve tez çalışmamın hazırlanmasında deneyim ve birikimlerini esirgemeyen, her konuda desteğini hissettiğim sayın hocam Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU'na, özellikle tez çalışmam süresince büyük desteği olan sayın hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ, Yrd. Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU ve Doç. Dr. Zuhâl YETKİN AY'a,

Tez çalışmamda bilgi ve desteğini esirgemeyen SDÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. H. Ramazan YILMAZ'a, SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hüseyin VURAL'a,

Her zaman yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ömer GÜNHAN'a,

Anlayış içinde gösterdikleri destekten dolayı bölüm arkadaşlarım Gülin YILMAZ, Güliz ÖNGÜÇ, Fethiye ÇAĞLAR, Burak DOĞAN, Gizem TORUMTAY, Umut YİĞİT, Memduha TÖZÜM, Buket KILINÇ ve Burcu ORUN'a.

Değerli yardımlarından dolayı SDÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki Dr. Ahmet KOÇAK'a ve diğer araştırma görevlisi arkadaşlara

SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki araştırma görevlisi Betül MERMİ, Firdevs AYLAK'a ve diğer çalışanlara,

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 1853-D-09),

Her zaman yanımda olan sevgili aileme gösterdikleri sabır, anlayış ve her türlü maddi manevi desteklerinden dolayı sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım...

Dt. Muhsin ÖZDEM

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	x
Resimler	xi
Tablolar	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Oksidatif Stres	4
2.1.1. Serbest Radikaller/Reaktif Oksijen Türleri	4
2.1.2. Süperoksit Radikali	7
2.1.3. Singlet Oksijen Radikali	9
2.1.4. Hidroksil Radikali	10
2.1.5. Hidrojen Peroksit Radikali	13
2.1.6. Nitrik Oksit	14
2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Mekanizmaya Etkileri	18
2.2.1. Proteinler Üzerine Etkileri	18
2.2.2. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	18
2.2.3. Membran Lipitleri Üzerine Etkileri	18
2.3. Antioksidanlar	19
2.3.1. Antioksidan Savunma Sistemleri	19
2.3.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	20
2.3.3. Süperoksit Dismutaz	21
2.3.4. Glutatyon Peroksidaz	22
2.3.5. Katalaz	23
2.3.6. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	24
2.4. Periodontal Hastalık	25
2.4.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	27
2.4.1.1. Gingival Hastalıklar	29
2.4.1.2. Periodontitis	32
2.4.1.3. Kronik Periodontitis	32
2.4.1.4. Agresif Periodontitis	33
2.4.1.5. Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitis	34
2.4.1.6. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar	34
2.4.1.7. Periodonsiyum Abseleri	35
2.4.1.8. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis	35
2.4.1.9. Gelişimsel Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar	36
2.4.2. Periodontal Hastalık Patogenezi	36
2.4.3. Periodontitis Oksidatif Stres	39
2.5. Melatonin	41
2.5.1. Melatonin Metabolizması	44

2.5.2. Melatoninin Biyolojik Etkileri	46
2.5.3. Melatoninin Antioksidan Etkisi	48
2.5.3.1. Direkt Antioksidan Etki	48
2.5.3.2. Antioksidan Enzim Aracılı Antioksidan Etki	49
2.5.3.3. Prooksidan Enzim Aracılı Antioksidan Etki	50
2.5.4. Melatonin ve İmmünmodülasyon	51
2.5.5. Melatonin ve Kemik Formasyonu	52
2.5.6. Melatonin ve Periodontal Hastalık	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
3.1. Deney Hayvanları	56
3.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	56
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	57
3.4. Çalışma Gruplarının Tanımlanması	58
3.5. Deneysel Düzen	59
3.6. Alveolar Kemik Kaybının Ölçülmesi	61
3.7. Histopatolojik Değerlendirme	62
3.8. Serum Örneklerinin Toplanması, Deney İçin Hazırlanması ve Laboratuvar Analizleri.	63
3.9. Biyokimyasal Analizler	63
3.9.1. Serum Oksidatif Stres Parametrelerinin Ölçülmesi	63
3.9.2. MDA Analizi	63
3.9.3. SOD Analizi	64
3.9.4. GSH-Px Analizi	64
3.9.5. Serum Melatonin Seviyesinin Ölçülmesi	64
3.9.6. Dişeti Doku Örneklerinde Melatonin Seviyesinin Belirlenmesi	65
3.10. İstatistiksel Analizler	65
4. BULGULAR	66
4.1. Histomorfometrik Bulgular	66
4.2. Histopatolojik Bulgular	79
4.3. Serum MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri	77
4.4. Serum Melatonin Seviyeleri	80
4.5. Dişeti Melatonin Seviyeleri	83
5. TARTIŞMA	87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	98
ÖZET	99
ABSTRACT	100
KAYNAKLAR	101

EKLER

1. SDÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı **119**

ÖZGEÇMİŞ **120**

SİMGELER ve KISALTMALAR

A.actinomycescomitans	:Aggregatibacter actinomycescomitans
AAP	: Amerikan Periodontoloji Akademisi
AFA	: Arilamin Formamidaz
AFMK	: N ¹ -asetil- N ² -formil-5-metoksikinüramin
AKT	: Alveolar Kret Tepesi
AMK	: N ¹ -asetil-5-metoksikinüramin
C	: Karbon
CCl₄	: Karbon Tetraklorür
CCl₃	:Triklormetil
CPI	: Community periodontal index
CRP	: C-reaktif protein
Cu⁺²	: Bakır iyonu
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EHS	: Enflamatuvar hücre skorlaması
ELISA	: Enzim bağlı immunosorbant assay
Fe⁺²	: Demir
GABA	: Gamma-Aminobutyric acid
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutatyon
GSSG-Rd	: Glutatyon redüktaz
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
H	: Hidrojen
HE	: Hematoksilen eozin
H₂O*	: Uyarılmış su molekülü
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorik asit

HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HNA	: Hidroksinoneal
ICAM-1	: İnterselüler adezyon molekülü
IL	: İnterlökin
IDO	: Dioksijenaz
i.p	: İnterperitoneal
KAT	: Katalaz
LHRH	: Lüteinizan hormonu serbestleştirici hormon
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MSS	: Mine Sement Sınırı
Mn	: Manganez
MPO	: Myeloperoksidaz
N₂	: Nitrojen
NAD(P)H	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAS	: N- asetil serotonin
NAT	: N- asetiltransferaz
NBT	: NBT Nitro Blue Tetrazolium
NF-κB	: Nüklear faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
NO₂	: Nitrojen dioksit
NO₃⁻	: Nitrata
NOs	: Nitrik oksit sentaz
NÜG	: Nekrotizan Ülseratif Gingivitis
NÜP	: Nekrotizan Ülseratif Periodontitis
O₂	: Oksijen
¹O₂	: Singlet oksijen
O₂	: Süperoksit
OH	: Hidroksil radikali
ONOO	: Peroksinitrit
PGE₂	: Prostaglandin-E ₂

PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
RANKL	: Nükleer faktör kappa B ligandın reseptör aktivatörü
RO	: Alkoksil radikali
ROO	: Peroksil radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri
S	: Kükürt
sh	: Standard hata
ss	: Standard sapma
Ss	: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulanan grup
Sm	: Sağlıklı+melatonin uygulanan grup
Ps	: Periodontitis+serum uygulanan grup
Pm	: Periodontitis+melatonin uygulanan grup
TBA	: Tiobarbitürik asit
TBARS	: Tiobarbitürik reaktif substans
TCA	: Triklor asetik asid
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α
TRH	: Tiyotropin serbestleştirici hormon
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü
vit-A	: vitamin A
vit-C	: vitamin C
vit-E	: vitamin E
Zn	: Çinko
\bar{x}	: Ortalama

μmol	: Mikromol
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm^2	: Milimetrekare
pg/ml	: Pikogram/mililitre
pg/mg	: Pikogram/miligram

ŞEKİLLER

Şekil 1:	: Haber-Weiss reaksiyonu ve mekanizması	11
Şekil 2:	: H₂O₂ oluşumu ve enzimler aracılığıyla ortamdan uzaklaştırılması (Gutteridge JM et al., 1990).	13
Şekil 3:	: NO Sentezi	15
Şekil 4:	: Glutatyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü	23
Şekil 5:	: Periodontitis modeli	38
Şekil 6:	: Melatoninin kimyasal yapısı ve sentezi	45
Şekil 7:	: Deney Programı	60
Şekil 8:	: Dişeti dokusu melatonin seviyelerinin gruplara göre dağılımı	86

RESİMLER

Resim 1:	Sıçan çene örneklerinde metilen mavisi uygulaması.	61
Resim 2:	Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik uygulanan Ps grubuna ait histopatolojik kesit	69
Resim 3:	Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik uygulanan Ps grubuna ait histopatolojik kesit	70
Resim 4:	Deneysel periodontitis oluşturulan ve melatonin uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit	71
Resim 5:	Deneysel periodontitis oluşturulan ve melatonin uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit	72
Resim 6:	Periodontal açıdan sağlıklı ve serum fizyolojik uygulanan Ss grubuna ait histopatolojik kesit	73
Resim 7:	Periodontal açıdan sağlıklı ve serum fizyolojik uygulanan Ss grubuna ait histopatolojik kesit	74
Resim 8:	Periodontal açıdan sağlıklı ve melatonin uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit	75
Resim 9:	Periodontal açıdan sağlıklı ve melatonin uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit	76

TABLÖLAR

Tablo 1:	ROT, simgeleri ve elektron yapıları	6
Tablo 2:	Serbest radikallerin oluşumu	17
Tablo 3:	AAP tarafından 1999'da yapılan periodontal hastalık sınıflandırması.	28
Tablo 4:	Dental Plağa Bağlı Gingival Hastalıklar	30
Tablo 5:	Dental Plağa Bağlı Olmayan Gingival Hastalıklar	31
Tablo 6:	Kronik Periodontitis	33
Tablo 7:	Melatoninin biyolojik oluşumlar üzerine etkisi	47
Tablo 8:	MSS-AKT Arasındaki Mesafenin (mm) Gruplar Arası Karşılaştırılması	67
Tablo 9:	Alveolar Kemik Yıkım Alanının (mm ²) Gruplar Arası Karşılaştırılması	68
Tablo10:	Serum MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri	78
Tablo 11:	Serum MDA, SOD ve GSH-Px seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	79
Tablo 12:	Serum melatonin seviyeleri	81
Tablo 13:	Serum melatonin seviyeleri gruplar arası karşılaştırılması	82
Tablo 14:	Dişeti dokusu melatonin seviyeleri	84
Tablo 15:	Dişeti dokusu melatonin seviyelerinin (pg/mg protein) Gruplar Arası Karşılaştırılması	85

1. GİRİŞ

Oksijen (O₂) canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Hidrojen (H), karbon (C), nitrojen (N₂) ve kükürt (S) ile birlikte organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur. Özellikle aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle önemlidir (Gustafsson and Asman, 1996). Reaktif oksijen türleri (ROT) enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir (Reiter et al., 2000).

Yüksek enerji üretimi ile gerçekleşen moleküler oksijenin indirgenmesi serbest radikallerin ve/veya ROT'ların oluşmasına sebep olmaktadır. ROT'lar yüksek konsantrasyonda hücresel yapılara, nükleik asitlere, lipidlere ve proteinlere zarar verirler (Tan et al., 2002). ROT'un etkilerinden korunmak için hücreler defans mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalardan bir kısmı antioksidan defans sistemi olarak adlandırılmaktadır. ROT ve antioksidanlar arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge ROT'lar lehine bozulursa hücrede ROT'lar artmakta, hücre fonksiyonları üzerine olumsuz etki yapmaktadır. ROT'un neden olduğu bu biyolojik hasar (oksidatif hasar) 'oksidatif stres' ve 'nitrosatif stres' olarak tanımlanmaktadır (Valko et al., 2007).

Periodontal hastalık periodontal cep içerisinde diş yüzeyinde kolonize olan bir grup Gram (-) negatif bakteri varlığında gelişen kronik enflamatuvar bir hastalıktır (Battino et al., 1999, Ridgeway 2000). Bakteri ve bakteri ürünlerinin direkt patolojik etkisi ve konak cevabını içeren indirekt mekanizmalarla gelişen, periodontal doku ve alveolar kemik kaybı ile karakterize bir hastalıktır (Chapple et al., 1997).

Periodontal hastalıkta oluşan ROT ve reaktif nitrojen türleri (RNT) seviyesindeki artışın periodontal dokulardaki oksidatif hasardan sorumlu olduğu düşünülmektedir (Sies 1997). Periodontal hastalıktaki antioksidan miktarı ile lipid peroksidasyon ürünleri arasındaki ilişkinin ters orantılı olduğu belirtilmektedir (Reiter 2004). ROT üretimindeki artışla eş zamanlı olarak antioksidan defans mekanizmasında bir azalma olmaktadır. Pro-oksidan ve anti-oksidan sistem

arasındaki bu dengesizlik ileri oksidatif hasara ve periodontal dokunun yıkımına neden olabilmektedir (Halliwell 1994, Allegra et al., 2003).

Periodontal hastalıkta polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonunun önemli bir rolü vardır. Bu hücreler dokuda hasara neden olan ROT'u yüksek miktarda üretmektedirler (Kimura et al., 1993). Ancak periodontal doku yıkımında ROT'un etki derecesi tam olarak bilinmemektedir (Tan et al., 2002). Ayrıca periodontitis süresinde oluşan bu ROT'un kan dolaşımı aracılığıyla diğer organlara yayılımının kardiyovasküler hastalıklar gibi diğer başka hastalıkların oluşumunu şiddetlendirebildiği düşünülmektedir (Battino et al., 1999).

Periodontal dokularda oksidatif stresin oluşumunda periodontopatojenlerin önemli rolü vardır. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi bakterilerin periodontal dokularda oksidatif stresi arttırdığı tespit edilmiştir ancak oksidatif stresle periodontal patojen arasındaki ilişki açık değildir (Roth et al., 1999).

Melatonin ışığın olmadığı durumlarda pineal (epifiz) bezden salgılanan ve bir çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde etkisi olan bir hormondur. Melatoninin immunitiyi artırıcı ve antioksidan özelliği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Cardinali et al., 2003, Silenko et al., 1991, Moore et al., 1994). Melatoninin çeşitli ROT'ları, hidroksil radikali (OH), lipid peroksil radikali (ROO), hidrojen peroksiti (H₂O₂) (Silenko et al., 1991, Zavodnik et al., 2006) ve oksijeni (singlet oxygen [¹O₂]) (Ianas et al., 1991) direkt nötralize ettiği bilinmektedir. Yüksek lipofilik yapısı sebebiyle melatonin hücre membranına ve mitokondrinin de bulunduğu diğer hücre kompartmanlarına kolaylıkla ulaşmakta ve yüksek konsantrasyonda bulunabilmektedir (Tan et al., 2000a).

Melatoninin direkt antioksidan etkisinin yanında indirekt antioksidan etkisi de rapor edilmektedir. Melatonin enzimlerle etkileşime girerek nitrik oksit (NO) ürün sentezini düzenleyebilmektedir (Beyer al., 1998). Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik dozu glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (KAT) enzim aktivitesini ve gen ekspresyonunu artırmaktadır (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000).

Melatoninin antioksidan özelliği, serbest radikal hasarının ana nedeni olarak bulunduğu hastalıklarda terapötik kullanımını düşündürmüştür (Sirinivasan et al.,

2005). Deneysel araştırmalarda Parkinson, Alzheimer (Brusco et al., 1998), epilepsi (Sirinivasan et al., 2005), infeksiyöz ve enflamatuvar (Mayo et al., 2005) hastalıkların tedavisinde yararlı etkisi gösterilmiştir. Yaşlanma gibi fizyolojik sürece de yararlı etkisi bulunmuştur (Sirinivasan et al., 2005). Ayrıca melatonin neoplastik hücre kültürlerinde antiproliferatif etki göstermiştir (Reiter et al., 2004, Miller et al., 2006).

Enflamatuvar süreç, plazma melatonin konsantrasyonunun artması yönünde etki edebilir ve oral kavitede melatonin artışına neden olabilir. Salya melatonin düzeyinin periodontal hastalığın derecesine göre değişkenlik gösterdiği belirtilmektedir. Salya melatonin seviyesindeki artış periodontal enflamatuvar süreçte organizmanın defansif cevabını geliştirebilir (Cutando et al., 2003, Cutando et al., 2006)

Melatoninin fibroblast aktivitesi ve kemik rejenerasyonu üzerine yararlı etkileri yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Roth et al., 1999, Cutando et al., 2007a). Tip I kollajen sentezini stimüle ettiği ve kemik formasyonunu arttırdığı belirtilmektedir. Dolayısıyla, lokal olarak oral kavitedeki viral, fungal, bakteriyel, mekanik hasarlarda, diş çekimi nedeniyle oluşan ve cerrahi sonrası yaralarda, diğer oral cerrahilerde terapötik olarak ve Sjögren Sendromu gibi çeşitli otoimmün hastalıklarda, periodontal hastalıklarda ve oral kanserlerde kemik formasyonuna yardımcı olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Tan et al., 2000b).

Bu çalışmada, ratlarda deneysel periodontitiste serum melatonin uygulamasının,

- a) Periodontal kemik yıkımına etkisinin histomorfometrik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi.
- b) Serum malondialdehid (MDA), SOD, GSH-Px enzim seviyelerine etkisinin değerlendirilmesi ve
- c) Dişetindeki melatonin düzeylerinin saptanması amaçlanmı

2. GENEL BİLGİLER

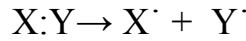
2.1. Oksidatif Stres

2.1.1. Serbest Radikaller/ Reaktif Oksijen Türleri

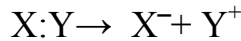
Atomlarda bulunan elektronlar orbital adı verilen bölgede çift olarak bulunurlar. Moleküllerin birçoğu çift elektronlu, çok azı ise tek elektrondur. Tek elektrona sahip bu moleküller eksik elektronlu olarak tarif edilmektedirler. Aynı zamanda bu moleküller oldukça reaktif özellikte olup kararsızdırlar. Kararsız yapıdaki bu moleküller başka bir moleküle etkileşime girerek bir elektron alır veya bir elektron verirler (Knight 2000). Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla paylaşılmamış elektron taşıyan fizyolojik ve patolojik süreçte üretilebilen oldukça aktif atom ve moleküllerdir. Oldukça kararsız olan bu radikaller organik ve inorganik şeklinde bulunabilirler. Bu moleküller çevrelerindeki moleküllerle çabucak reaksiyona girme ve bu son yörünge elektronlarını paylaşma eğilimindedirler. Moleküllerin dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini artırır. Bu nedenle serbest radikaller aktifliği yüksek olan moleküllerdir (Knight 2000, Valko et al., 2007). O₂ yapısı gereği bütün hücrelere kolayca ulaşan ve en çok kullanılan bir moleküldür. Radikal olmaya uygun yapısı nedeniyle serbest radikal denildiğinde, serbest oksijen radikalleri veya daha genel bir ifade ile reaktif oksijen türleri 'ROT' tarif edilmektedir. ROT'lar normal şartlar altında organizmada devamlı oluşmaktadırlar. Serbest radikaller pozitif veya negatif yüklü ya da nötral olabilirler ve en sık elektron transferi sonucunda oluşurlar. En önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Seifried et al., 2007). Reaktif oksijen molekülleri: Radikaller; tek elektronunu bir başka moleküle verebilenler ve radikal olmayanlar; elektron eksikliği olmadığı halde zayıf bir şekilde

birleşebilenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Reiter et al., 1995, Reiter 1996). Serbest radikaller vücutta 3 yolla meydana gelir.

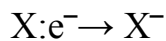
1. Kovalent bağların homolitik olarak kırılması: Kovalent bağlı normal bir molekülün her parçasında ortak elektronlardan biri kalacak şekilde homolitik bölünme. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde paylaşılmamış elektron kalır.



2. Normal bir molekülden bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılammış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Askorbik asit, glutatyon, tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.



3. Normal bir moleküle elektron transferi: Normal bir moleküle bir elektron eklenmesi ile oluşur. Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin O₂'nin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksit (O₂⁻) oluşumuna neden olur.



Bu üç tepkimeden herhangi biri oluştuğunda, radikal olmayan radikal haline gelir. Serbest radikaller ile radikal olmayanların tepkimeleri sonucu, moleküller sıra ile serbest radikallere dönüşerek hasar zincirini yayarlar (Valko et al., 2007, Chapple , 1997, Seifried et al., 2007).

O₂ ve nitrojen dioksit (NO₂) molekülleri serbest radikal kaynaklarıdır. Organizmada oluşan serbest radikallerin en önemlileri ve büyük kısmı oksijen kaynaklı radikallerdir. O₂ toksik etkili olmamakla birlikte aerobik hücre metabolizması sırasında serbest oksijen radikallerine dönüşür. O₂'nin indirgenmesinden, ROT olan OH radikali ve O₂⁻ oluşmaktadır. Ayrıca ¹O₂ ve H₂O₂ molekülleri, radikal olmayan ROT olarak bilinmektedir. Oksijen kaynaklı olmayan diğer serbest radikaller ise nitrik oksit (NO), peroksinitrit (ONOO⁻), LPO sırasında oluşan ROO ve karaciğerdeki karbon tetraklorür (CCl₄) metabolizması sırasında oluşan triklorometil (CCl₃) radikalidir (Seifried et al., 2004, Lam et al., 2008).

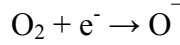
Tablo 1. ROT, simgeleri ve elektron yapıları (Sies 1997).

ROT	Simgesi	Elektron Yapısı
Süperoksit radikali	O ₂ ⁻	$\left[\cdot \ddot{\text{O}} : \ddot{\text{O}} \right]^{-}$
Hidroksil radikali	·OH	$\cdot \ddot{\text{O}} : \text{H}$
Singlet oksijen radikali	¹ O ₂	$\cdot \ddot{\text{O}} : \ddot{\text{O}} \cdot$
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	$\text{H} : \ddot{\text{O}} : \ddot{\text{O}} : \text{H}$

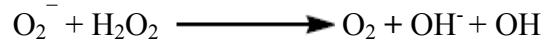
(Sies H. 1997).

2.1.2. Süperoksit Radikali:

O_2^- radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. O_2^- , O_2 indirgenmesi ile oluşan ilk üründür. En önemli kaynağı, mitokondriyal elektron iletim zinciridir.



Diğer radikallere göre reaktivitesi daha azdır ve oluşumlarına neden olduğu diğer radikallerle birlikte organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. Haber-Weiss olarak isimlendirilen reaksiyon sonucunda OH radikalinin oluşması, O_2^- anyon radikallerinin doku hasara yol açmasındaki esas mekanizmadır.



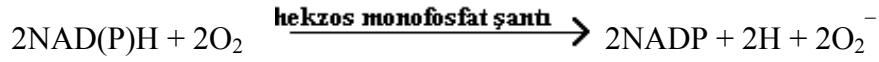
O_2^- radikali çeşitli mekanizmalarla üretilmektedir. Yarılanma süresi uzun, ancak tepkisi düşük bir radikaldir. O_2^- , O_2 'nin oksidatif fosforilasyon esnasında nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAD(P)H)-oksidaz veya ksantin-oksidaz gibi enzimlerin katalizörlüğünde bir elektron indirgenmesi sonucunda meydana gelmektedir. O_2^- radikalinin yarılanma ömrü SOD varlığına bağlıdır.

İndirgeyici moleküller O_2 'ye tek elektron verip kendileri oksitlenirken O_2^- oluşur. Hidrokininler, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotitler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken O_2^- yapımına neden olurlar.

Çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere yüzlerce enzim katalitik etkisi sırasında O_2^- radikali bir ürün olarak oluşabilir (Mruk et al., 2002).

Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda O_2^- üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif olan türlerin oluşumunda başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücre fonksiyonları için gerekli de olabilir. Dokularda O_2^- 'in en önemli kaynağı, PMNL fonksiyonudur. Daha az miktarda olmakla birlikte eozinofil ve lenfositler de

antibakteriyel bir ajan olarak O_2^- üretirler. PMNL'lerde O_2^- üretimi membran bağı azalmış NADPH-OKSİDAZ şantı veya heksoz monofosfat şantı yolu ile gerçekleşir (Knight 2000, Mruk et al., 2002).

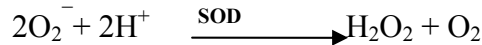


O_2^- radikali OH radikaline göre daha zayıf reaktif özelliği olan bir moleküldür, yine de biyolojik moleküllere zarar verebilir. Hücre hasarına neden olarak sıvı ortamda spontan olarak H_2O_2 ve O_2 radikaline dönüşebilir. O_2^- 'nin kemik yıkım mekanizmasında görev aldığı özellikle osteoklastların kemiğe yakın yüzeylerinde bulunduğu gösterilmiştir (Peskin 1997).

Hücre sel koşullarda üretilen oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale verirse tekrar O_2^- 'ye oksitlenir. O_2^- 'den daha oksitleyici olan O_2^- bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir.



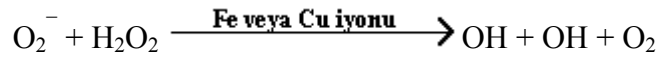
Bu tepkime biyolojik moleküllerin oksidasyonuna olduğundan tercih edilmez. Dokulardan O_2^- 'nin uzaklaştırılması, H_2O_2 spontan dismutasyonu yolu ile olur. Aerobik canlılarda O_2^- 'lerin H_2O_2 'ye çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan SOD tarafından katalizlenir.



SOD tarafından katalizlenen bu tepkime 'dismutasyon tepkimesi' diye adlandırılır. O_2^- özellikle hafif asidik koşullarda SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla da H_2O_2 'ye çevrilebilir. SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde O_2^- birikimine izin verilmez. Ancak çeşitli patolojik durumlarda O_2^- yapımının artmasıyla O_2^- 'e özgü tepkimeler görülmeye başlar. H_2O_2 , GSH-Px ve KAT enzimleri ile uzaklaştırılır (Knight 2000, Peskin 1997, Juranek and Bezek, 2005).



O_2^- metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olur. Kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar ve metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. O_2^- radikali H_2O_2 radikali ile reaksiyona girerek daha etkili OH radikaline de dönüşebilir. Bu reaksiyon için metal iyonlarına demir (Fe^{+2}) ve bakır (Cu^{+2}) gereksinimi vardır.



O_2^- hücre zarlarının fibrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada kolayca daha kolayca bir proton olarak HO radikalini oluşturur. Bu radikalde çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu başlatabilir ve antioksidanları oksitleyebilir.

2.1.3. Singlet oksijen radikali:

O_2 'nin yüksek enerji ile uyarılan bu formunda reaktivite çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip yeniden O_2 'ye dönüşebilir. Başlıca şu mekanizmalarla vücutta oluşabilir:

- Pigmentlerin (örneğin flavin içeren nükleotitler, retinal, billuribin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla,
- Hidroksiperoksillerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde,
- Kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında,
- Prostoglandin endoperoksit sentaz, sitokrom p450 tepkimeleri, myelo/kloro/laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri sırasında.

O₂'nin bu enerjistik reaksiyonu sonucunda iki tip ¹O₂ üretilir.

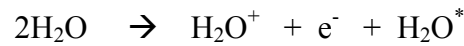
- Sigma singlet oksijen: Enerjisi daha fazladır ve çok kısa ömürlüdür.
- Delta singlet oksijen: Daha uzun ömürlüdür ve gözlenen kimyasal reaksiyonlardan sorumlu form olduğu kabul edilmektedir.

¹O₂ diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları ¹O₂'nin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek ROO radikalini, oluşturur ve OH kadar etkin bir şekilde LPO'nu başlatabilir (Knight 2000, Khan and Kasha 1994).

2.1.4. Hidroksil radikali:

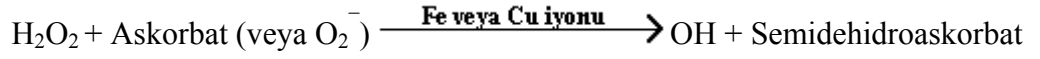
Reaktif radikallerden birisi olarak bilinen bu radikal DNA sarmallarında kırılmaya sebep olur, hidroksilasyon için temel oluşturur. Gen mutasyonlarına neden olarak malign transformasyonlara veya hücre ölümlerine sebep olur. OH radikalleri birkaç yolla oluşur. Suyun hidroliziyle ya da parçalanmasıyla H₂ radikalleri ve OH radikalleri oluşabilir. Aynı zamanda OH ve demirin birleşmesiyle oluşabilir (Fenton Reaksiyonu). Diğer de Haber-Weiss reaksiyonudur. En reaktif ROT'lardan olan OH radikalleri vücuttaki ROT hasarının en önemli sorumlularıdır. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen OH radikali canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir.

1. İyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması gerçekleşir.



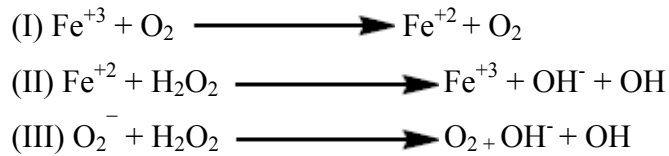
Uyarılmış su molekülü (H_2O^*) homolitik yıkım ile; H_2O^+ ise bir su molekülü ile tepkimeye girerek OH radikali oluştururlar. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen OH, radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu başlıca kimyasal türdür.

2. H_2O_2 eksik indirgenmesi ile OH yapımı, vücutta bu radikalin en önemli kaynağıdır. H_2O_2 'nin iki elektron ile indirgenmesi ile H_2O su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi OH yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe ve Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Askorbik asit, O_2^- gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu tekrar indirgendiğinden H_2O_2 'den OH yapımı sürekli bir duruma gelir.



Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi olarak adlandırılan bu tepkime ile OH oluşacağı vücutta üretilen H_2O_2 derişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlıdır. O_2^- hem H_2O_2 derişiminin hem de serbest metal iyonunun varlığına bağlıdır. O_2^- H_2O_2 'nin öncülü, hem de metalleri indirgeyici bir tür olarak, proteinlere bağlı metallerin indirgenip serbest kalmasına neden olabildiğinden, biyolojik koşullarda O_2^- oluşumunun arttığı ortamda OH üretimi kaçınılmazdır. Fenton tepkimesini katalizleyen en aktif metal iyonları demir veya bakırdır (Sharpe et al., 2003, Liochev and Fridovich, 2002).

Haber-Weiss tepkimesi olarak bilinen bu tepkime Fe^{+2} , Cu^{+2} iyonları tarafından katalizlenmektedir Şekil 1.



Şekil 1. Haber-Weiss reaksiyonu ve mekanizması (Sharpe et al, 2003).

Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan OH, su dahil ortamda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer. Hidroksil radikalının tepkimeleri başlıca :

- a) Elektron transfer tepkimeleri
- b) Hidrojen çıkarma tepkimeleri
- c) Katılma tepkimeleri

Bütün bu tepkimeler, OH'ın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır. Katılma tepkimeleri, özellikle elektronca zengin moleküllerle (pürin, primidin bazları, aromatik amino asitler gibi) gerçekleşir. OH radikalının organik moleküllerden hidrojen atomu alarak suya indirgendiği tepkime, hidrojen çıkarma tepkimesi olarak bilinir. OH radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Her tür biyolojik molekül OH'in bir hedefi ise de özellikle elektronca zengin bileşikler tercihli hedeflerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir.

- DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir. İleri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur.

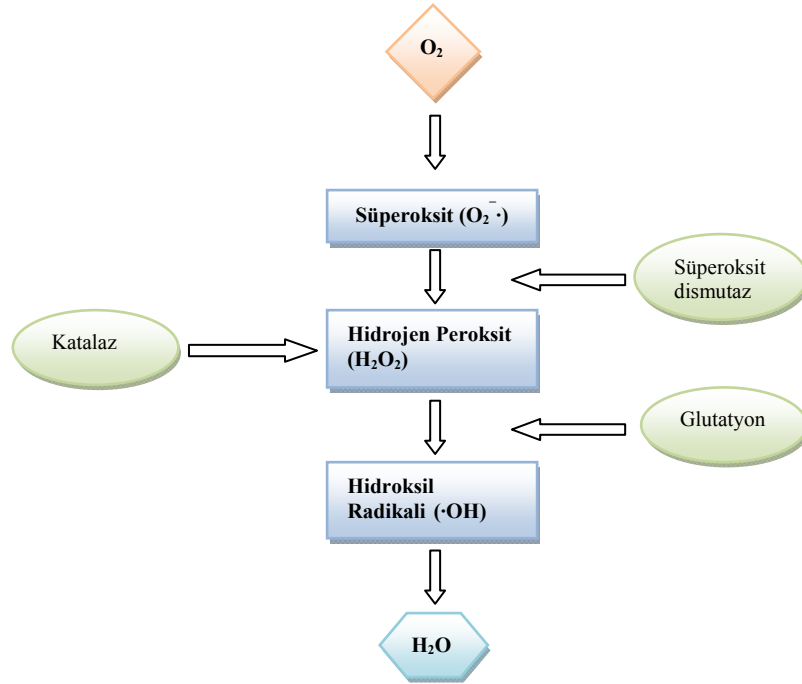
- Proteinler üzerinde oluşan oksidasyonlar yapı değişimine neden olacağından proteinleri proteolitik yıkıma götürür.

- Hücre zarı su içermediğinden OH'in başlıca hedefi yağ asididir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini arttırıp yine hücre ölümüne neden olabilir.

Özellikle OH yapımını katalizlemelerindeki etkileri nedeniyle, canlılarda metal iyonlarının radikal hasarlarından birinci derecede sorumludurlar ve bu etkiye sahip olmadıkları formda (proteine bağlı) tutulmalıdır (Knight 2000).

2.1.5. Hidrojen peroksit radikali:

H_2O_2 , O_2 'nin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da $O_2^{\cdot-}$ 'in enzimatik ve non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur (Şekil 2).



Şekil 2. H_2O_2 oluşumu ve enzimler aracılığıyla ortamdaki uzaklaştırılması (Gutteridge et al., 1990).

Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. H_2O_2 'nin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır, gibi metal iyonlarının varlığında OH radikalinin öncülü olarak davranmasıdır.

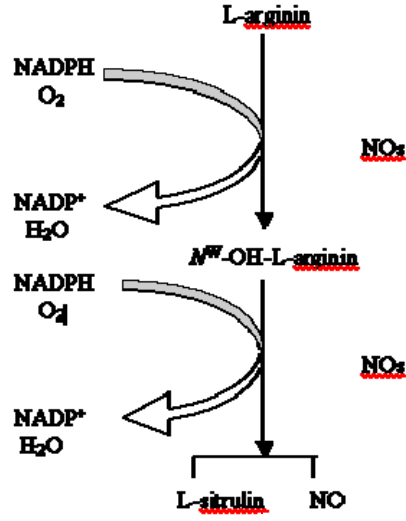
H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir Fe^{+2} ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında LPO gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Ayrıca bu radikal intraselüler olayları tetikleyerek birçok pro-enflamatuar sitokin transkripsiyonundan sorumlu nükleer faktör kapp-B (NF- κ B)'nin oksidasyonunda rol oynar. Oksitleyici özelliği

nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu görevi antioksidan enzimler KAT ve GSH-Px yerine getirir (Imlay et al., 1988, Gutteridge et al., 1990, , Winterbourn 1995).

2.1.6. Nitrik Oksit:

NO, çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Paylaşılmamış elektron aslında (nitrojen) N_2 atomuna ait ise de, bu elektronun hem N_2 hem de O_2 atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür.

NO hücrel patofizyolojide önemli rol oynayan çözünebilir, serbest radikal gazıdır. Vazodilatör mesajı endotelden düz kasa taşıyan bir enerji aktarıcısı olarak, santral ve periferel sinirsel aktarımda ve bağışıklıkta aktif rol oynar. Sonuçta hücrede ve hücre dışında taşınan NO miktarı çok hassastır. O_2 radikalleri çok sayıdaki enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile fiziksel/kimyasal mekanizmalarla oluşturulurlar (Şekil 3). Oysa vücudumuzda NO sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Vücuda giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi sırasında oluşan NO bir tarafa bırakılacak olursa, endojen oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOs) enzimidir. Bu enzimin nöronal, endotelial ve indüklenbilir olmak üzere 3 formu vardır (Valko et al., 2007).



Şekil 3. NO Sentezi (Valko et al., 2007).

Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ye antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik değişimde üretilen NO esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. O₂ radikallerindeki durumun aksine, NO'ü ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda NO stabil değildir. Derişiminin artması ile oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki derişimi ile kendi ömrü arasında ters bir orantı vardır (Knight 2000, Valko et al., 2005, Valko et al., 2007).

Radikalik tepkimeler şu durumlarda sona erer.

- Oluşan radikallerin antioksidanlar ile indirgenmesi
- Radikallerin birbirleri ile tepkimeleri
- Ortamda tepkimeye girebilecek bileşik kalmaması

Buna göre hücrel koşullarda, oluşan radikalin çok erken safhalarda indirgenmesi biyomoleküllerin korunması bakımından hayati öneme sahiptir.

Fizyolojik olarak endojen kaynaklı olarak ROT'ların indirgenme-yükseltgenme tepkimelerinde, mitokondriyal, endoplazmik ve nükleer elektron iletim sistemlerinde, peroksizomlarda, monosit ve nötrofillerin fagositozu gibi metabolik olaylar sırasında bol miktarda üretilir. Ayrıca bu moleküller hücre içerisinde x ışınları gibi radyant enerjinin Emilimi, hava kirliliği, sigara dumanı, ilaç kullanımı (nitrofurantoin gibi), solventler gibi çevresel faktörlü eksojen kaynaklı olarak da oluşabilir (Valko et al., 2007).

ROT'lar çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, kanser, yaşlılık, Behçet hastalığı gibi çok sayıda hastalıkta ROT üretiminin arttığı ve antioksidan savunmaların yetersiz olduğu gösterilmiştir. Bu hastalıklarla ilişkili olarak ROT'ların biyolojik etkisi; hücre membranı lipoproteinlerine ve yağ asitlerine ve LPO reaksiyon zincirini başlatarak, membran proteinlerine hasar verip yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olmasıdır (Gutteridge 1995, Valko et al., 2007,).

Tablo 2. Serbest radikallerin oluşumu

Serbest Radikal	Oluşumu
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	O_2 'nin, enzimatik veya nonenzimatik yolla bir elektron redüksiyonu
Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	Suyun radyolizi, H_2O_2 'in metal-katalizli parçalanması, NO ve $O_2^{\cdot-}$ etkileşmesi
Alkoksil ($RO\cdot$) ve peroksil ($ROO\cdot$) radikalleri	Hidroperoksitleri metal-katalizli Parçalanması
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	$O_2^{\cdot-}$ 'in dismutasyonu, şekerlerin Oksidasyonu
Demir-oksijen kompleksi	Hemoglobin, Miyoglobin, vb.
Singlet oksijen (1O_2)	Fotosensitizasyon ile oksidasyon, $ROO\cdot$ radikalleri arasındaki biyomoleküler etkileşimler, hipoklorit ve H_2O_2 reaksiyonu
Lipit ve protein hidroperoksitler	Lipit ve proteinlerin oksidasyonu
Nitrojen dioksit (NO_2)	$ROO\cdot$ radikali ve NO reaksiyonu, hava kirliliği ve sigara
Nitrik oksit (NO)	NO sentaz, nitrozotiyol ve hava kirliliği
Tiyil radikalleri	Tiyollerden hidrojen atomu transferi
Protein radikalleri	Proteinlerden hidrojen atomu transferi

(Gutteridge 1995, Valko et al., 2007).

2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Mekanizmaya Etkileri

Serbest radikaller ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki varolan denge oksidanlar lehine bozulduğunda serbest radikaller; protein, karbonhidrat, lipit ve DNA gibi biyomoleküller ile etkileşerek hücrede metabolik değişikliklere neden olmaktadır (Halliwell et al., 1992, Gutteridge and Halliwell, 2000, Knight 2000) Valko et al., 2007).

2.2.1. Proteinler Üzerine Etkileri: Proteinler serbest radikallerin etkilerine karşı, lipitlere kıyasla daha az hassastır ve etkilenme dereceleri amino asit içeriklerine bağlıdır. Serbest radikallere bağlı olarak proteinlerin fragmentasyonu ve agregasyonu veya çapraz bağlanmaları, aminoasitlerin modifikasyonu gibi yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. Meydana gelen bu değişiklikler sonucunda proteinler proteolize daha duyarlı hale gelmektedirler. Serbest radikaller benzer reaksiyonlara membran proteinlerinde de neden olmaktadır. Bu nedenle enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarını bozarak, immün sistemi uyarabilecek antijenik değişikliklere de neden olabilirler (Morrow et al., 1999, Leutner et al., 2001, Valko et al., 2005).

2.2.2. Karbonhidratlar Üzerinde Etkileri: Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler otooksidasyona uğrayarak O_2^- ve H_2O_2 radikallerini meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonu, çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, göz hastalıkları, kanser, hipertansiyon, romatoid artrit, yaşlılık ve hastalık gibi durumlarda serbest radikal üretimine karşı antioksidan mekanizmaların yetersiz olduğu gösterilmiştir (Quinlan and Gutteridge 1988, Valko et al., 2005).

2.2.3. Membran Lipitleri Üzerinde Etkileri: Serbest radikaller hücre komponentleri ile etkileşim için hücre membran bariyerini geçmek zorundadır. Hücre zarı oksidatif hasara oldukça duyarlıdır. Yağ asidi zincirinden, serbest radikallerin etkisi ile hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin de

radikal özelliği kazanmasına neden olur. LPO, çoklu doymamış yağ asidinin (PUFA) radikaller ile oksidasyonu sonucu başlar, zincir reaksiyonları şeklinde devam eder ve sonucunda (Malondialdehit) MDA, 4-hidroksinoneal (HNA), alkoller, etan ve pentan oluşur. LPO sonucu membran bütünlüğü bozulması ile membran proteinleri, reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olurlar. PUFA'nın peroksidasyonu sırasında MDA oluşmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir belirleyicisi değildir, ancak LPO'nun derecesi ile iyi korelasyon göstermektedir.

2.3. Antioksidanlar

2.3.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROT'ların düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için canlılarda antioksidan savunma sistemleri geliştirilmiştir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya ROT toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Antioksidanlar, endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirler. Antioksidanların değişik şekillerde sınıflandırılması mümkündür. ROT'un meydana gelişini engelleyenler ve mevcut serbest radikalleri etkisiz hale getirenler şeklinde bir sınıflama olabileceği gibi, enzim yapısında olanlar ve enzim yapısında olmayanlar şeklinde bir sınıflandırma yapılması da mümkündür (Cheeseman et al., 1993).

Antioksidan Etki Tipleri:

a. Toplayıcı etki

- b. Bastırıcı etki
- c. Onarıcı etki
- d. Zincir kırıcı etki

ROT'ları etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine "toplayıcı etki" denir. ROT ile etkileşip onlara bir H₂ aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya "bastırıcı etki" denir. ROT'ları kendilerine bağlayarak (hemoglobin gibi) zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye "zincir kırıcı etki" denmektedir (İsbir 1994).

2.3.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

A) Endojen Antioksidanlar:

1. Enzimler:

- Süperoksit dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon redüktaz
- Glutasyon-S-transferaz .

2. Enzim Olmayanlar:

-Lipid fazda bulunanlar: α - tokoferol (vitamin E (vit-E)), β -karoten (vitamin A (vit-A)).

-Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar: Askorbik asit (vitamin C (vit-C)), ürat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, albumin, billirubin, glutasyon.

-Hem sıvı hem de lipid fazda bulunanlar: Melatonin (Holmes et al., 2002).

B) Ekzojen Antioksidanlar:

1. Ksantin Oksidaz İnhibitörleri: Allopürinol, oksipürinol, folik asit, pterin aldehit, tungsten.

2. Soya Fasülyesi İnhibitörleri: Ksantin dehidrogenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

3. NADPH Oksidaz İnhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (Altınışik, 2010).

C) Gıda Antioksidanları:

1. Butylated hidroksitoluen

2. Butylated hidroksiyanisol

3. Sodyum benzoat

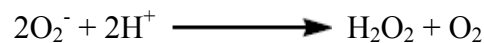
4. Ethoksikuin

5. Propil galat

6. Fe-süperoksit dismutaz (Altınışik, 2010)

2.3.3. Süperoksit Dismutaz

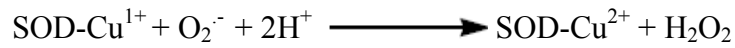
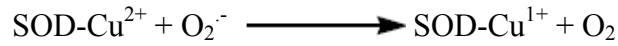
SOD enzimi, O_2^- radikalinin H_2O_2 ve moleküler O_2 'ye dönüşümünü katalizlemektedir. SOD enzimi, O_2^- düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol üstlenmektedir (Gürdal ve Ademoğlu 2005). SOD'un katalizlediği reaksiyon aşağıdaki şekildedir:



Bu reaksiyon spontan şekilde meydana gelebilir, fakat SOD tarafından katalizlendiğinde reaksiyon hızı yaklaşık 4000 kat artabilmektedir. İnsanlarda SOD'un üç tipi bulunmaktadır. Bunlardan ikisi sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn içeren izomer (Cu/Zn-SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, Mn(Manganez) ihtiva eden izomerdir (Mn-SOD). Üçüncü tip ise ekstraselüler SOD'dur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür. Genel olarak, hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu/Zn-SOD'dur (Onat et al., 2002).

Radikallere karşı hücreyi koruyan savunma mekanizmaları arasında SOD enzimi ilk görevi üstlenir. SOD enzimi ile katalizlenen tepkime sonucu oluşan ürünlerin birikmesi KAT enzimi tarafından bertaraf edilmektedir. Fizyolojik şartlarda metabolik aşamalarda O₂ radikalinin oluşumu oldukça fazladır. O₂⁻ radikalinin hücre içi konsantrasyonunu düşük düzeylerde tutarak O₂⁻ seviyelerinin kontrolünü sağlayıp hücreleri O₂⁻ radikallerinin etkilerinden korur. Bu şekilde hücrelerdeki lipid peroksidasyonu da inhibe edilmektedir.

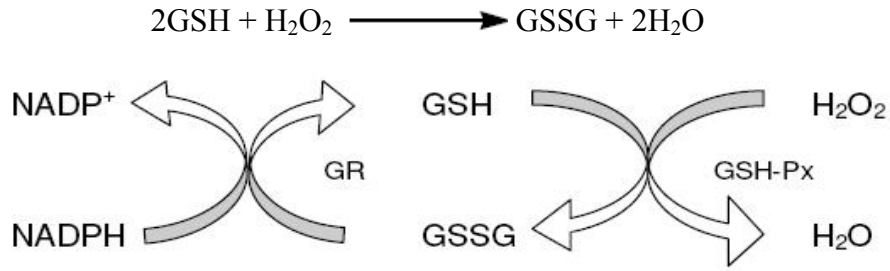
SOD'un O₂⁻ anyon radikaline etkisi şöyle özetlenebilir; O₂⁻ anyonu, Cu²⁺ ve bir arginin rezidüsü'nün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda O₂⁻'ten bir elektron Cu²⁺'a transfer olurken Cu¹⁺ ve moleküler O₂ meydana gelir. İkinci bir O₂⁻ anyonu Cu¹⁺'dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak H₂O₂ oluştururken, enzim tekrar Cu²⁺ formuna dönmüş olur (Gürdal ve Ademoğlu 2005).



2.3.4. Glutatyon Peroksidaz

GSH-Px, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıda olup 4 selenyum atomu içermektedir. Yapısında selenyum metalini içermesi nedeniyle metalloenzim grubunda değerlendirilmektedir (Urso and Clarkson , 2003). Diyetteki selenyum desteği enzim aktivitesini modüle etmektedir. Enzim aktivitesi heksoz monofosfat yolunda üretilen NADPH'a bağımlıdır. Düşük

konsantrasyonlardaki H_2O_2 , öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutatyonun okside glutatyona çevrildiği ortamda H_2O_2 'yi yüksek spesifite ile detoksifiye etmektedir. Redükte glutatyonun (GSH), okside glutatyon (GSSG) haline dönüştüğü reaksiyonda GSH-Px enzimiyle H_2O_2 , H_2O 'ya indirgenmiş olur. Sonraki aşamada glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak, GSSG redükte hale dönüştürülmektedir (Gürdal ve Ademoğlu 2005) (Şekil 4).



Şekil 4. Glutatyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü. (GSH: Redükte Glutatyon, GSSG: Okside Glutatyon, GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz, GR: Glutatyon Redüktaz, H_2O_2 : Hidrojen Peroksit) (Gürdal ve Ademoğlu, 2005).

GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engellemektedir. GSH-Px aktivitesi düşük olan makrofajlarda başlatılan solunum patlamasını takiben, H_2O_2 salınımının arttığı gösterilmiştir. Eritrositlerde de GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (Gürdal ve Ademoğlu 2005). Ortamda H_2O_2 düşük konsantrasyonda bulunduğundan GSH-Px enzimi KAT enzimine göre daha etkili bir antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır (Urso and Clarkson 2003).

2.3.5. Katalaz

Glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Her biri ferriprotoporfirin grubu içeren dört adet alt üniteden oluşmuştur. Enzimin molekül ağırlığı 240.000 daldondur.

Ferriprotoporfirin, prostetik grubunda Fe^{+3} atomu bulunan protoporfirin IX halkasıdır.

Eritrositler yüksek oranda katalaz içermekte olup, katalaz aktivitesinin %98'den fazlasını sağlarlar. KAT enzim aktivitesinin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Destek dokuda ise en düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (85). Enzim dokularda başlıca mitokondride ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunmaktadır. Bundan başka endoplazmik retikulum ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir (Gürdal ve Ademoğlu 2005). KAT, H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda oldukça etkilidir (Halliwell 1973).

KAT, okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan H_2O_2 direkt olarak suya dönüştürür. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda H_2O_2 'yi substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px) devreye girerek H_2O_2 'yi ortamdaki uzaklaştırırlar. Aynı etkileri gösteren KAT ve GSH-Px enzimleri, hücre içi yerleşimleri ve etki yerleri bakımından farklılıklar gösterirler. KAT enzimi peroksizomlarda daha etkin iken, GSH-Px enzimi başlıca olarak sitozol ve mitokondride etkindir.

Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir:



KAT'ın indirgeyici aktivitesi H_2O_2 ve metil-etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmediği bilinmektedir (Gürdal ve Ademoğlu 2005).

2.3.6. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidan bileşiklerin etki şekli ve etkinlik düzeyi oldukça farklıdır. Antioksidanlar; ROT ve nitrojen türlerinin temizlenmesi, oksidatif stresle

hasarlanmış dokuların tamiri, diğer antioksidanların onarımı/yenilenmesi ve metal şelasyonu gibi farklı etki şekillerinden birini veya birkaçını ortaya koyarlar. İdeal bir antioksidan bilinen bu etki şekillerinden çoğunu yerine getirebilir. Biyolojik sistemlerde oksidanların yıkımı ve oluşumu arasındaki denge, hücre ve dokunun biyolojik bütünlüğünün sürdürülmesinde önemlidir (Krinsky 1992).

Antioksidanlar dört farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler:

1. Süpürücü Etki (Temizleme Etkisi) (Scavenging): ROT'u etkileyerek onları tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu şekilde etki gösterir.
2. Bastırıcı Etki (Baskılama Etkisi) (Quencher): Vitaminler, flavonoidler ve trimetazidin, radikallere bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya onları inaktif forma dönüştüren bir etkiye sahiptir.
3. Onarıcı Etki (Onarma Etkisi) (Repair): Bu grupta DNA tamir enzimleri, metiyonin sülfoksit redüktaz sayılabilir.
4. Zincir Kırıcı Etki (Zincir Koparma Etkisi) (Chain breaking): Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye denir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller bu tip etki göstermektedir (Klouche et al., 2004).

2.4. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalık dental plaktaki bakteriler ve bakteriyel ürünlerin neden olduğu, destek doku (kemik ve bağ dokusu) yıkımı ile karakterize kronik, enflamatuvar, enfeksiyöz bir hastalıktır (Loesche and Grossman 2001, Gaspersic et al., 2002, Gomez-Moreno et al., 2007).

Enfeksiyöz hastalıklar arasında toplumda yüksek prevalansa sahip olan periodontal hastalık, ileri düzeyde etkilenen bireylerde erken diş kayıplarına neden olmaktadır (Loesche and Grossman 2001). Periodontal hastalığın iki önemli tipini gingivitis ve periodontitis oluşturmaktadır (Newman 2001). Gingivitis terimi dental mikrobiyal plağa bağlı olarak gelişen diş çevresindeki yumuşak dokuların enflamasyonunu ifade etmektedir. Metabolik, genetik, çevresel ve diğer faktörler gingiviti etkilemekte (Tatakis and Trombelli 2004), klinik olarak dişetinde renk, kontur, yapı ve ısı bakımından değişiklik meydana gelmekte, DOS artışı ve sondlamada kanama gözlemlenmektedir (Mariotti 1999). Gingivitisin en erken ve en önemli bulgusu sondlamada kanamadır. Sondlamada kanama hastalığın şiddetine göre değişiklik göstermektedir (Mickels et al., 2001). Histopatolojik olarak; bazal birleşim epitelinin proliferasyonu apikal ve lateral hücre migrasyonuna neden olmakta, birleşim epiteline komşu kan damarlarında vaskulit, kollajen tipinde değişiklik ile beraber kollajen fibrillerde ileri yıkımlar, fibroblastlarda sitopatolojik değişiklikler, enflamatuvar ve immün hücre infiltrasyonunda artış meydana gelmektedir. Enflamasyonun klinik bir bulgusu olarak dişetinde, pembeden kırmızı ve mavimsi kırmızıya doğru bir renk değişikliği meydana gelmektedir. Renkteki bu değişiklik vaskülarizasyona bağlı olarak gerçekleşmektedir. Sağlıklı formdan enflame dişetine doğru histopatolojik değişikliklere bağlı olarak dişeti daha parlak, gevşek ve yüzey pürüzlülüğü azalmış bir form alır (Mariotti 1999).

Periodontitis ise dişeti kenarındaki mikrobiyal dental plağın primer etken olduğu gingivitisin ilerlemesi ile gelişen ve diş destekleyen periodontal ligament, alveolar kemik ve yumuşak dokulardaki yıkım ile karakterize enflamatuvar bir hastalıktır (Kinane 2000, Warwas et al., 2000).

Klinik olarak periodontitiste, dişetinde enflamasyona ilave olarak ataçman kaybı, alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu görülmektedir. Ayrıca dişeti çekilmesi, kuvvete bağlı olarak dişeti kanaması, artan mobilite ve ileri destek doku kaybına bağlı olarak diş kaybı görülebilmektedir. Periodontitisin histopatolojik karakteristiğinde periodontal cep oluşumu, birleşim epitelinin mine-sement sınırından apikale lokasyonu cep epiteline komşu alanlarda kollajen fibril kaybı, kemik kaybı, birleşim ve cep epitelinde çok sayıda polimorfonükleer lökosit varlığı, plazma, lenfosit ve makrofajların varlığı görülmektedir.

Periodontitiste hastalığın primer nedeni, bakteriyel enfeksiyondur. Dental plak içerisindeki birkaç bakteri türünün periodontitisle ilişkili olduğu bilinmektedir. Periodontal hastalıkta asıl etyolojik ajan subgingival alandaki mikrobiyal dental plak içerisinde yer alan gram (-) anaerobik, fakültatif ve virülan bakterilerdir. *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* bu bakterilerden birkaçıdır (Flemming 1999). Periodontal hastalığın ilerlemesi bakteri ve bakteri ürünlerine karşı oluşan konak cevabına bağlıdır. Konak cevabı spesifik bakteriyel antijenlere karşı antikor ya da hücrel reaksiyonlar şeklinde gelişir. Bu reaksiyonlara bağlı olarak olayın lokalize kalması sağlanarak ciddi ve sistemik bir enfeksiyonun önüne geçilmiş olur. Konağa bağlı doku yıkımında bakteriler ve ürünleri dokuda enflamatuvar cevabı indükleyerek, polimorfonükleer lökosit migrasyonuna, fibroblastlarda farklılaşmaya, makrofajların aktivasyonu ile İnterlökin-1 (IL-1), Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), prostoglandinler ve hidrolitik enzimler gibi bir takım ürünlerin salınımına neden olarak sert ve yumuşak doku yıkımı gerçekleşmektedir (Assuma et al., 1998, Silva et al., 2008).

2.4.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalığın etyopatogenezinine ilişkin yapılan araştırmaların sonuçları sınıflandırmada değişikliğe sebep olmuştur. Periodontal hastalık ve durumların sınıflandırmasına yönelik son değerlendirme uluslararası düzeyde yapılan, Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin (AAP) 1999'da düzenlediği çalıştayda (1999 International Workshop for the Classification of the Periodontal Diseases) gerçekleştirilmiştir. 1989 yılında yapılan sınıflandırmada eksiklikler kısmende olsa 1999 yılında giderilmeye çalışılmış, gingival hastalıklar adı altında ayrı bir başlık oluşturulmuştur. Sınıflandırma da sistemik durum, hastalık yaşı, ilerleme hızı değerlendirme kapsamına alınarak tanımlamadaki sınırlar belirginleştirilmiştir (Armitage 1999) (Tablo 3).

Tablo 3. AAP tarafından 1999’da yapılan periodontal hastalık sınıflandırması.

Gingival Hastalıklar
Dental plağa bağlı gingival hastalıklar
Dental plağa bağlı olmayan gingival lezyonlar
Kronik Periodontitis
Lokalize kronik periodontitis
Generalize kronik periodontitis
Agresif Periodontitis
Lokalize agresif periodontitis
Generalize agresif periodontitis
Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olarak Periodontitis
Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
Nekrotizan ülseratif gingivitis (NÜG)
Nekrotizan ülseratif periodontitis (NÜP)
Periodonsiyumun Abseleri
Gingival abseler
Periodontal abseler
Perikoronar abseler
Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
Endodontik-periodontal lezyon
Periodontal-endodontik lezyon
Kombine lezyon
Gelişimsel ve Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar
Dental plağa bağlı dişeti hastalıklarını veya periodontitisi modifiye veya predispoze eden dişle ilişkili faktörler
Dişin etrafındaki mukogingival deformiteler ve durumlar
Dişsiz alanlarda mukogingival deformiteler ve durumlar
Oklüzal travma

(Armitage 1999)

2.4.1.1. Gingival Hastalıklar

Gingivitis, dental plak formasyonuna bağlı olarak gelişen gingival hastalıkların en sık görülen formudur. Gingivitiste enflamasyona bağlı dişeti değişiklikleri görülür. Ödem, kırmızılık ve sondlamada kanama eğilimi, dişeti yüzeyindeki pürüzlülüğün kaybolması bu dönemde görülen değişikliklerdir. Gingivitis varlığında histopatolojik olarak vasküler permeabilite artışı, lökosit invazyonu, retepeglerde uzama görülür. Klinik enflamasyon bulguları dişeti ile sınırlı olan gingivitiste, ataçman kaybı görülmez. Dental plağa bağlı enflamasyon periodontitisin başlangıcında ve periodontal tedavi gören alanlarda da gelişebilir (Mariotti 1999, Albandar 2002).

Dental plağa bağlı olan gingivitis; mikrobiyal dental plağa konak enflamatuvar hücrelerin verdiği cevaba bağlı olarak gelişir. Bu cevabı sistemik faktörler (diabetes mellitus, hamilelik, puberte...), lokal faktörler (diş aıt anatomik faktörler, plak retansiyonunu artırıcı restorasyonlar, mobilite, çürük...) medikasyonlar (antikonvülsan, immünosupresif ve oral kontraseptifler) ve malnütrisyon gibi durumlar etkileyebilir (Armitage 1999).

Tablo 4. Dental plağa bağlı gingival hastalıklar.

I. Yalnızca Dental Plak ile İlişkili Olan Gingivitis	III. İlaç ile Modifiye Olan Gingival Hastalıklar
A. Lokal Faktörlerin Katkısı Bulunmadan Gelişen Gingivitis	A. İlaça Bağlı Gelişen Gingival Hastalıklar
B. Lokal Faktörler ile Birlikte Gelişen Gingivitis	1. İlaça Bağlı Gingival Büyümeler
II. Sistemik Hastalıkların Modifiye Ettiği Gingival Hastalıklar	2. İlaça Bağlı Gingivitis
A. Endokrin Sistem ile İlişkili Olarak Gelişen Gingival Hastalıklar	a. Oral Kontraseptif ile İlişkili Gingivitis
1. Puberte ile İlişkili Gingivitis	b. Diğerleri
2. Menstrüel Siklüs ile İlişkili Gingivitis	IV. Malnütrisyona Bağlı Gelişen Gingival Hastalıklar
3. Hamilelik ile İlişkili Olan Gingival Hastalıklar	A. Askorbik Asit Eksikliğine Bağlı Gelişen Gingivitis
a. Gingivitis	B. Diğerleri
b. Piyojenik Granülom	
4. Diyabet ile İlişkili Gingivitis	
B. Kan Diskrazileri ile İlişkili Gingival Hastalıklar	
1. Lösemiye Bağlı Gelişen Gingivitis	
2. Diğerleri	

(Armitage 1999).

Dental plağa bağlı olmayan gingivitis, bakteriyel, viral, genetik, bazı sistemik durumlar, travma ve yabancı cisim reaksiyonlarına bağlı gelişebilmektedir (Armitage 1999, Albandar 2002).

Tablo 5. Dental plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar

I.Spesifik Bakteriyel Orijinli Gingival Hastalıklar	V. Sistemik Durumların Gingival Belirtileri
A.Neisseria gonorhea	A.Mukokütanöz Lezyonlar
B.Treponema pallidum	1. Liken planus
C.Streptokok Türleri	1. Pemfigoid
D.Diğerleri	2. Pemfigus vulgaris
II.Viral Orijinli Gingival Hastalıklar	3. Eritema multiforme
A.Herpesvirüs enfeksiyonları	4. Lupus eritematozus
1. Primer Herpetik Gingivostomatit	5. İlacı bağlı
2. Rekürrent Oral Herpesler	6. Diğerleri
3. Varicella Zoster	B.Alerjik Reaksiyonlar
B.Diğerleri	1. Dental restoratif materyaller
III.Fungal Orijinli Gingival Hastalıklar	a. Cıva
A. Kandida Enfeksiyonları: Generalize gingival Kandidozis	b. Nikel
B. Linear Gingival Eritem	c.Akrilik
C. Histoplazmozis	d. Diğerleri
D. Diğerleri	2. Reaksiyona neden olan materyaller
IV.Genetik Orijinli Gingival Hastalıklar	a.Diş macunları
A.Herediter Gingival Fibromatozis	b.Gargaralar
B.Diğerleri	c.Sakız içerikleri
	d.Yiyecekler ve katkı maddeleri
	3. Diğerleri
	VI.Travmatik Lezyonlar
	A.Kimyasal Yaralanmalar
	B.Fiziksel Yaralanmalar
	C.Termal Yaralanmalar
	VII.Yabancı Cisim Reaksiyonları
	VIII.Nedeni Belli Olmayan Gingival Hastalıklar

(Armitage 1999, Albandar 2002).

2.4.1.2. Periodontitis:

Periodontitis gingivitisin ilerlemesi sonucu periodontal ataçman ve kemik kaybına neden olan kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Bu duruma genellikle cep formasyonunda eşlik etmektedir. 1999 yılında yapılan sınıflamaya göre periodontitis 3 temel gruba ayrılmıştır:

- Kronik Periodontitis
- Agresif Periodontitis
- Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olan Periodontitis

2.4.1.3. Kronik Periodontitis

Periodontitis sınıflamasının en sık rastlanılan formudur. Mikrobiyal dental plak ve diştaşı oluşumuna bağlı gelişen hastalık yavaş ilerlemesi ile birlikte episodik olarak şiddetli yıkım dönemleri gösterebilir. Çoğunlukla yetişkinlerde görülmekle birlikte çocuklarda da izlenebilir. Yıkım şiddetindeki artış konak bakteri etkileşimine tesir edecek sistemik, lokal ve çevresel faktörlerden meydana gelebilir (Loesche and Grossman 2001).

Kronik Periodontitisin Özellikleri

- Erişkinlerde prevalansı yüksektir nadiren de olsa çocuklarda izlenebilir.
- Genellikle subgingival diştaşı gözlenir, değişken mikrobiyal durum söz konusudur.
- Yıkım şiddeti lokal faktörler (dental plak miktarı, diştaşı miktarı ve mikrobiyal içerik) ile ilişkilidir.

- İlerleyen ataçman kaybı ve cep oluşumu ile karakterize olup, yavaş ve orta derecede ilerler, dönemsel olarak yıkım hızında artış gözlenebilir.
- Hastalığın şiddeti sistemik hastalıklar (Diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık), sistemik durumlar (puberte, hamilelik), lokal faktörler (anatomik varyasyonlar, okluzal travma, mukogingival deformiteler, dental restorasyonlar), çevresel faktörler (emosyonel stres gibi) ve genetik faktörler tarafından etkilenir.

Kronik periodontitis etkilenilen alanın değerlendirilmesine göre iki alt gruba ve hastalığın şiddetini gösteren ataçman kaybı miktarına göre üç alt gruba ayrılır (Armitage 1999).

Tablo 6. Kronik periodontitis.

Kronik Periodontitis	
• Lokalize Form: Etkilenen alan % 30'dan az	• Hafif: 1-2 mm'lik klinik ataçman kaybı
• Generalize Form: Etkilenen alan %30'dan fazla	• Orta:3-4 mm'lik klinik ataçman kaybı
	• Şiddetli: 5mm ve fazla klinik ataçman kaybı

(Armitage 1999).

2.4.1.4. Agresif Periodontitis

Sistemik olarak sağlıklı olan bireyde yoğun miktarda dental plak ve diştaşı olmamasına rağmen periodontal dokuda şiddetli yıkım ile karakterizedir. Şiddetli ataçman kaybı ve kemik yıkımı bunun göstergesidir. Genetik yatkınlığa bağlı ailesel

agresif periodontitis hikayesi tespit edilebilir (Armitage 1999, Hughes et al., 2006). Hastalığın klinik tablosuna ek olarak mikrobiyolojik ve immünolojik özelliklerde tabloda yer alabilir. Etkilenen bölgelerde *A. actinomycetemcomitans* varlığı, fagosit fonksiyonlarında defekt, duyarlı makrofaj salınımında artış (TNF- α , IL-1 β ve PGE₂) agresif periodontitiste sıklıkla gözlenen mikrobiyolojik ve immünolojik değişikliklerdir (Tonetti and Mombelli 1999, Gajardo et al., 2005).

2.4.1.5. Sistemik Hastalıkların Bulgusu Olarak Periodontitis

Sistemik ve genetik hastalıktan etkilenen birçok bireyde periodontitis gelişimi gözlenmektedir. Genel olarak bu hastalıkların periodontitis oluşumundaki etkisi nötropeni ve lökosit adezyon yetersizliğine bağlı konak savunma sistemindeki zafiyettir. Hastalığın klinik bulgusu agresif periodontitis ile karıştırılabilir. Lokal faktörlerin (yoğun plak birikimi ve dıştaşı oluşumu) açık olarak bulunmadığı ve sistemik hastalık ya da durumun predispozan faktör olduğu durumlar için ‘sistemik hastalığın bir belirtisi ya da bulgusu olan periodontitis, lokal faktörlerin periodontal yıkımı net olarak etkilediği bununla birlikte diyabet ve HIV enfeksiyonu gibi faktörlerin de yıkımı şiddetlendirdiği durumlarda ‘sistemik durum tarafından modifiye edilen periodontitis’ tanısı konulabilir (Armitage 1999).

2.4.1.6. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar

Klinik olarak beyaz-gri renkli psödomembranlarla kaplı ülser alanlar, papillerde krater benzeri formlar, nekrotik dişeti, spontan kanama, kötü ağız kokusu ve ağrı görülebilir. Bu tabloya sistemik olarak ateş, lenfadenopati ve huzursuzluk eklenebilir. Nekrotizan periodontal hastalıkların iki alt tipi mevcuttur. Bunlar

Nekrotizan Ülseratif Gingivitis (NÜG) ve Nekrotizan Ülseratif Periodontitistir (NÜP). Doku nekrozunun görüldüğü iki grup arasındaki belirgin fark NÜP’te klinik ataçman kaybı ve alveolar kemik yıkımının olmasıdır (Armitage 1999, Gaggl et al., 2006).

2.4.1.7. Periodonsiyumun Abseleri

Üç alt grubu vardır. Gingival abse, periodontal abse ve perikoronel abse.

Gingival abse; dişetinde veya interdental papilde lokalize olabilen, hafif kırmızılık ve şişlik gösteren ağrılı bir lezyondur.

Periodontal abse; periodontal alanda dişeti duvarında lokalize olan püy oluşumuna bağlı olarak ataçman ve alveolar kemik yıkımının görüldüğü bir lezyondur.

Perikoronel abse; genellikle sürmesini tamamlamamış bir dişin üzerindeki dişeti dokusunda olan ve püy oluşumuna rastlanılan bir lezyondur (Herrera et al., 2000a).

2.4.1.8. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis:

Endodontik periodontal lezyonlar; pulpal enfeksiyon ilerleyerek periodontal problemlere neden olacak değişikliklere yol açar.

Periodontal endodontik lezyonlar; periodontal cepteki bakteriyel enfeksiyon, aksesuar kanallar aracılığıyla pulpaya ulaşarak, nekroza neden olur.

Kombine lezyon; hem pulpal hem de periapikal lezyon varlığında oluşan lezyondur (Herrera et al., 2000b, Armitage 1999).

2.4.1.9. Gelişimsel Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar

Dişle ilgili anatomik varyasyonlar, dental restorasyonlar, kök rezorbsiyonu ve fraktürleri, dişeti çekilmesi, keratinize dişeti yetersizliği, azalmış vestibuler derinlik, yüksek frenilum ve kas ataçmanı, mukogingival deformiteler, vertikal-horizontal kret yetersizlikleri, keratinize dişeti yetersizliği, primer ve sekonder okluzal travma bu sınıflama içerisinde yer alır (Armitage 1999, Schonfeld 2008).

2.4.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontal hastalıkta, enflamatuvar cevabı dişeti oluğunda yer alan ve kolonize olan mikroorganizmalar ve onların ürünleri başlatırlar. Periodontal hastalıkta esas etyolojik faktör subgingival mikrobiyal dental plak içerisindeki gram (-) anaerobik, fakültatif bakterilerdir. Ancak bunun yanısıra mikrobiyal ürünlere karşı oluşan konak cevabı bu sürecin önemli bir basamağını oluşturmaktadır.

Periodontal hastalıktaki doku yıkımına;

- Bakteriyel ve konak etkileşiminin yanı sıra,
- Genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle; hücre ve moleküler komponentlerin yıkım ve tamirinde rol oynayan proteolitik enzimler ve inhibitörleri ile,
- ROT ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasının neden olacağı düşünülmektedir (Loesche and Grossman, 2001).

Periodontal hastalık patogenezi, Page ve Schroeder tarafından histopatolojik olarak 4 aşamada incelenmiştir (Schroeder et al., 1975)

1. **Başlangıç Lezyonu:** Dental plak oluşumunu takiben 2-4 gün içerisinde gelişir. Bu safhada gingival alanda görülen değişiklikler

vazodilatasyon ve buna bağlı olarak gelişen kan akımında artıştır. Gingival enflamasyonla ilişkili olarak birleşim epiteli ve gingival sulkusta PMNL gocu gozlenir. Bağ dokusunda perivasküler alanda kollajen yapıda azalma, iltihabi hucrerler ve serum proteinlerinde ise artış gorlur. Tüm bu değişiklikler nötrofillerin blgeye kemotaksisi, oluşan bakteriyel ürünlerin toksik etkisi ve vazodilatasyona bağlı olarak gelişmektedir.

2. Erken Lezyon: Dental plak birikiminin 4-7. günü içerisinde oluşur. Bu safhada kapiller proliferasyonu, retepegler arası kapiller artışı ve eritem ve sondlamada kanama gozlenir. Bağ dokusunda yoğun lenfosit infiltrasyonu gorlur. Lenfositlerin % 75'ini T hucrerleri oluşturur. Lenfositlerle beraber nötrofil, makrofaj, plazma ve mast hucrerlerine rastlanabilir. Kollajen yıkım miktarında artış ve birleşim epitelinde retepeg oluşumu gorlur.

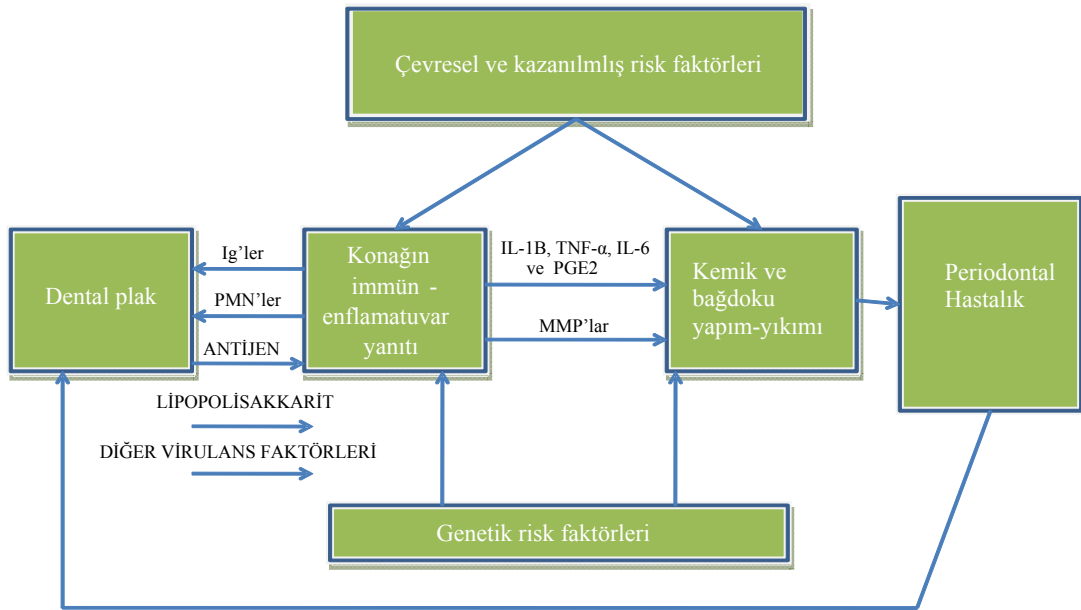
3. Yerleşmiş Lezyon: Dental plak oluşumunu takiben 14. günden sonra oluşur. Yoğun plazma huce infiltrasyonu, yerleşik lezyonun en önemli karakteristik özelliğidir. Erken lezyonda gorlen bağ dokusu kaybı bu aşamada da devam etmektedir. Birleşim epiteli apikal ve lateral ynde proliferer olur. Kollajenaz aktivitesine bağlı olarak kollajen yıkımı devam eder. Klinik olarak gingivada orta veya Şiddetli düzeyde enflamasyon gozlenir. Bu aşamaya kadar olan değişiklikler, gingivitis ve periodontitis patogenezinin ortak sürecini oluşturur.

4. İlerlemiş Lezyon: 'Periodontal yıkım fazı' olarak değerlendirilen bu safha yerleşmiş lezyonun alveolar kemiğe ilerlemesiyle karakterizedir. Plazma hucresi, lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu bu aşamada sz konusudur. Aynı zamanda cep formasyonu, cep epitelinde ülserasyonlar ve alveolar kemik kaybı mevcuttur. Bu aşama 'periodontitis' olarak adlandırılmaktadır (Tatakis and Kumar, 2005).

Gingivitisten periodontitise geçişteki mekanizmalar tam olarak tespit edilememiştir. Bununla birlikte periodontitisten önce gingivitis gelişimine rağmen gingivitisten her zaman periodontitise geçiş gozlenmez.

Periodontitiste periodontal ligament ve alveolar kemikte yıkım gözlenir. Epitelyal ataçman kök yüzeyi boyunca apikal yönde migrasyon gösterir, kemikte rezorpsiyon meydana gelir. Periodontitis; gingivitisten klinik olarak bağ doku ataçman kaybı varlığı ile ayrılır. Histopatolojik olarak periodontitis lezyonunda plazma hücrelerinin varlığı bariz olarak daha baskındır (Page et al., 1997).

Periodontal hastalığın patogenezinde esas olarak Gram (-) anaerob bakteriler etkindir. Bununla birlikte hastalığın ilerleyişinde; konak doku cevabı, çevresel faktörler ve genetik duyarlılık önemli rol oynar (Şekil 5). Bununla ilişkili olarak çeşitli sistemik durum ve hastalığın konak doku cevabına etki ederek periodontal hastalığa yatkınlığa neden olabileceği, diğer taraftan periodontal enfeksiyonunda bazı sistemik hastalıklar için risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (Loesche and Grossman, 2001).



Şekil 5: Periodontitis modeli (Loesche and Grossman, 2001).

Bakteriler ve virulans faktörleri patojenik mikroorganizmaların yok edilmesini sağlayan bir immün-enflamatuvar cevaba neden olur. Bu cevaba bağlı olarak pro-enflamatuvar mediyatörler aracılığıyla doku yıkımı gelişebilir. Bakteriler tarafından

salınan endotoksinler, proteazlar ve kemotaktik peptid gibi ürünler enflamasyon ile birlikte epitelyal cep tabanından bağ dokularına geçerek konak cevabı uyarılır; IL-1, IL-6, TNF- α , PGE2 gibi proenflamatuvar sitokinlerin ve matriks metalloproteinaz (MMP) gibi konak enzimlerinin salımı artar ve bunun sonucunda periodontal doku yıkımı gerçekleşir (Tsai et al., 2005, Borges et al., 2007).

Bakteriyel ürünler enflamasyon ile birlikte, epitelyal cep tabanında oluşan ülser alanlardan derin dokulara geçiş gösterir ve dolaşıma geçme riski artar (Bascones et al., 2004, D'Aiuto et al., 2005). Periodontal hastalıkta özellikle ileri periodontal yıkımın görüldüğü durumlarda serumdaki enflamatuvar mediyatörlerin arttığı gösterilmiştir (Araya et al., 2003, Blach et al., 2009). Ayrıca periodontal hastalığın tedavisini takiben serumda IL-6, TNF- α ve C-Reaktif Protein (CRP) gibi mediyatör düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Periodontal hastalık aynı zamanda İnterselüler Adezyon Molekülü-1 (ICAM-1), Vasküselüler Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1), E-selektin moleküllerinin artmış serum düzeyleriyle ve endotelyal disfonksiyonla ilişkilendirilmiştir. Periodontal tedaviyi takiben endotelyal iyileşme ve hücre adezyon molekül seviyelerinde düşüş belirlenmiştir. Bu durum periodontal enflamasyonun sadece oral dokularla sınırlı kalmadığını göstermektedir. Sağlıklı periodontal yapının yeniden teminini hedefleyen periodontal terapilerin sonuçlarını değerlendiren diğer çalışmalar; periodontitisin konakta lokal ve sistemik immün-enflamatuvar yanıtı uyardığını, periodontal enflamasyonun azaltılmasının konakta sistemik olarak önemli düzeyde pozitif etkileri olduğunu göstermektedir. (Beck and Offenbacher 2005, Mealey and Rose 2008, Offenbacher et al., 2009,).

2.4.3. Periodontitis ve Oksidatif Stres

Periodontitiste doku yıkımını ağırlıklı olarak spesifik bir grup bakteri ve ürünlerine karşı gelişen anormal plak cevabı yönlendirir. Bu tip konak cevabı; aşırı proteolitik enzim ve ROT üretimiyle ilişkili yüksek düzeyde enflamasyonla karakterizedir (Chapple 2006, Matthews et al., 2007).

ROT'un periodontal hastalıktaki rolü değerlendirildiğinde; kollajende oluşan oksidasyona bağlı değişikliklerin dokular içerisine nötrofil migrasyonunun gecikmesine neden olduğu ve dokuların ROT üretme potansiyelini arttırdığı, bu iki faktörün periodontal hastalık patogenezinde ön plana çıktığı düşünülmektedir. ROT'un periodontal hastalıktaki üretim mekanizması; bakterilerin öldürülmesi ve sindirilmelerine yardımcı, bakteriyel fagositoz ile proteolitik enzimlerin ve immün düzenleyici bileşiklerin sekresyonu gibi olayların birleşimi olarak tanımlanan 'respiratuvar patlama' olayına dayanır. Bu işlem sırasında non-mitokondriyal oksidatif metabolizmada bir artış olur ve sonucunda lökositlerin NAD(P)H-oksidad kompleksini yoluyla O_2^- ve diğer ROT'lar açığa çıkar. Ayrıca nötrofillerin aktivasyonu ve fagositozu sırasında fagozom içine salınan MPO enzimi de ROT'un oluşmasında önemlidir (Matthews et al. 2007, Milward et al. 2007).

Gingivitis, kronik periodontitis ve agresif periodontitiste MPO seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. Hastalıklı bölgelerde yüksek seviyelerde MPO'nun varlığı, dokulardaki nötrofil infiltrasyonunun potansiyel bir belirleyicisi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca bu enzimin varlığı, HOCl ve diğer radikallerin lokal olarak üretiminin olduğuna ve oksidatif stresin, periodontitis patolojisinde önemli olduğu yönündeki fikirleri güçlendirmektedir.

Birçok çalışmada, periodontitisli bireylerde sağlıklılara göre ROT'un indüklediği doku hasarı tespit edilmiştir. Periodontitiste; antioksidan enzim aktivitesinin enflame periodontal dokularda ve DOS'da arttığı ve cep derinliği artışıyla tersine ilişki gösterdiği belirlenmiştir (Chapple et al. 2007).

Ayrıca, doku hasarı doğrudan oksidatif strese, dolaylı olarak da NF- κ B gibi redoksa duyarlı gen transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve pro-enflamatuvar sitokin/kemokin üretimine bağlı olarak gelişir. Sonuç olarak periodontal enflamasyon, periferik vasküler yapıda tetkik edilebilir düzeyde bir enflamatuvar cevap durumuna yol açmaktadır (Matthews et al., 2007, Milward et al., 2007).

Periodontal hastalık sürecinde bağ dokunun patolojik yıkımında ROT'un etkinliği, konağın bakteriyel invazyona cevabının temeli olan nötrofil infiltrasyonuna dayanır. Periodontal dokuda OH, H_2O_2 ve O_2^- radikallerinin oluşumu, nötrofil ve makrofajların aktivasyonundan kaynak alır. O_2^- radikalinin, osteoklastik aktivite ve kemik rezorpsiyonuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. OH radikali ise;

vazodilatasyon, NF-κB esaslı sinyal ileti yolları aracılığıyla IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, β-interferon gibi pro-enflamatuvar sitokin salımı ve kemik rezorpsiyonu gibi birçok süreçle ilişkili olan LPO'ya neden olur. ROT, membran ve lipoproteinlerdeki PUFA ile etkileşime girdiğinde, LPO süreci başlar. Gelişen LPO zincirinde; yağ asitleri, lipit peroksidlerinin primer ürünlerine ve sekonder metabolitlere dönüştürülür. Lipit peroksidlerin kontrolsüz üretimi, hücre bütünlüğüne ciddi hasar verebilecek düzeyde oksidatif stresle sonuçlanır (Chapple 2006, Akalin et al., 2007).

Periodontitis varlığında serum antioksidan düzeylerini değerlendiren bir çalışmada ise; hastalığın şiddetindeki artışla serumdaki C vitamini, billirubin ve total antioksidan kapasite düzeyleri arasında zıt korelasyon belirlenmiştir. Serum antioksidan konsantrasyonlarındaki artışın, periodontitis riskini göreceli olarak azalttığı öne sürülmüştür (Chapple 2007).

Yaşlanma ve çeşitli hastalıkların patogeneğinde, oksidatif hasar sonucu oluşan mitokondriyal DNA mutasyonlarının rol oynadığı düşünülmektedir. Periodontitisli bireylerin örneklerinde de mitokondriyal DNA mutasyonlarına rastlanmıştır (Canakci et al., 2009).

Genel bir bakışla, periodontitiste ROT aktivitesine bağlı olarak NF-κB aktivasyonu yoluyla sitokin stimülasyonu; IL-1, IL-6, TNF-α gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu ve LPO yoluyla PGE₂ üretimi ve O₂⁻ salımı gibi mekanizmalar aracılığıyla doku harabiyeti geliştiği, antioksidanların oksidatif dengeyi koruyacak düzeyin altına düştükleri ifade edilebilir. Periodontal hastalık varlığının sistemik düzeyde enflamatuvar bir duruma neden olmasında ROT aktivitesi önemli rol oynuyor olabilir (Chapple 2006).

2.5. Melatonin

Melatonin ışığın olmadığı durumlarda pineal bezden salgılanan, uyku, sirkadyen ritim, immünite ve üreme gibi bir çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde etkisi olan bir hormondur. Pineal bez (epifiz bezi) insanlarda

üçüncü ventrikülün arkasında, mezensefalunun superior kollikulusları arasındaki alanda yer almaktadır. Yaklaşık 50-200 mg ağırlığındaki pineal bez septum ile ayrılan hücre lobüllerine sahiptir. Nöroglia ve Pinealosit adı verilen iki çeşit hücre tipine sahiptir. Anatomik yerleşimi nedeniyle radyolojik olarak belirleyici bir özelliği vardır. Pineal bez yaşla birlikte çeşitli derecelerde kalsifikasyon göstermesine rağmen hayat boyu aktivasyonunu sürdürmektedir (Favaron et al., 2008). İnsan vücudunda böbreklerden sonra en fazla kan akımına sahip organ olan pineal bez, Descartes tarafından 'ruhun tahtı' olarak tanımlanmıştır. Lerner yaptığı çalışmada pineal bez ekstrelerinin kurbağa derisinin renginde açılmaya neden olduğunu ve melanin granüllerinin agregasyona uğradığını belirlemiştir. Daha sonra ekstrelerden izole ettiği bu maddeye melatonin ismini vermiştir (Lerner et al., 1959, Brzezinski 1997). Memeli canlılarda fotik informasyonları nöroendokrin sinyallere dönüştürebilen pineal bez, retinadan aldığı görsel iletilere yanıt olarak melatonin salgılamaktadır (Reiter 1993).

Nöroendokrin bez olarak kabul edilen pineal bezin endokrin fonksiyonu sinirsel inervasyona bağlı olarak gerçekleşmektedir. Gözlere gelen aydınlık ya da karanlık uyaranlarına bağlı olarak pineal bezden melatonin salgılanmaktadır. Karanlıkta melatonin salgılanmasında artış olması sebebiyle karanlık hormonu olarak da adlandırılmaktadır. Işık uyaranları, retinadaki fotoreseptörlerde nöral bir iletiye dönüştürülmekte ve retino-hipotalamik yolu meydana getiren ganglion hücre aksonları ile hipotalamusa iletilir. Bu lifler normal optik sistemden ayrılarak, anterior hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeklerinde sonlanır. Burada sinaps oluşturan lifler hipotalamusun paraventriküler çekirdeklerine giderler, impulslar daha sonra üst torakal omurilik bölgesinde intermediolateral kordon içerisinde iletilir. Bu preganglionik nöronların aksonları, omurilikten ayrılır ve sempatik yolla süperior servikal gangliondaki postsinaptik nöronlar ile sinaps yaparlar. Postganglionik adrenerjik lifler, nevrakstan geçerek pineal bezde sonlanırlar. Pineal bezi inerve eden sinir lifleri beze internal karotid sinir ile ulaşırlar. Servikal omurilikte hasar durumunda, kandaki melatonin ritmide etkilenmektedir (Erlich and Apuzzo, 1985, Moller and Baeres, 2002, Favaron et al., 2008).

Pineal bezin sekresyonları:

Pineal bez biyolojik aminleri; Norepinefrin, histamin, serotonin, melatonin ve diğer ilgili indolaminler; dopamin ve oktopamin.

Pineal bez peptidleri: LHRH (Lüteinizan hormonu serbestleştirici hormon), TRH (Tiyotropin serbestleştirici hormon), somatostatin, oksitosin analogu vazotosin.

Pineal bez ayrıca inhibitör bir nörotransmitter olan GABA, epifizin isimli bir protein ile nörofizine benzer bir protein içerir. Ayrıca henüz karakterize edilmemiş peptidlerin pinealin gonodotropin inhibitör etkilerine aracılık ettiği düşünülmektedir (Arendt 1988).

Pineal bezden ve diğer organlardan salgılanan melatonin (*N*-acetyl-5-methoxy-tryptamine), hormondan daha çok bir antioksidan ve anti-enflamatuvar özelliği taşıyan bir maddedir. İlk olarak 1917 yılında tanımlanan melatonin 1958 yılına kadar izole edilememiştir (Cutando et al., 2007a). Melatonin 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından belirlenmiştir (Yazıcı ve Köse 2004). Pinealositler tarafından üretilen melatoninin keşfinden bugüne birçok önemli fonksiyonu tespit edilmiştir (Klein et al., 1996). Pinealositler tarafından kandan alınan tryptophan serotonin ile birlikte hidrosilasyon ve dekarboksilasyona uğramaktadır. Özellikle gece periyodunda serotonin *N*-asetiltransferaz (NAT) enzimi ile *N*-asetil serotoninine (NAS) dönüştürülmektedir. *N*-asetil serotonin hidroksiindol-*O*-metiltransferaz enzimi ile melatonin formuna dönüştürülmektedir. Melatonin gece boyunca β adrenerjik reseptörlerinin postsnaptik aktivasyonu ile salınmaktadır (Roseboom et al., 1996). Melanositlerin gece süresince salımı nedeniyle karanlık alanda kimyasal salımı gerçekleşmektedir. Işık pinealosit aktivasyonunu inhibe ederek melatonin sentezini azaltmaktadır (Brainard et al., 2001). Pinealositler ışık yoğunluğundaki değişikliklere cevap vererek suprakiazmatik çekirdek üzerine etki ederek sirkadyen ritmi senkronize ederler; bu ritm özellikle biyolojik saat ile örneğin hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeği ile yönetilmektedir (Kalsbeek and Buijs, 2002). Melatoninin sentezi noradrenerjik mekanizma ile kontrol edilir ki bu gözden gelen nöral stimulus ile indirekt olarak düzenlenmektedir. Işık yoğunluğu ile ilgili bilgiler suprakiazmatik çekirdeğe retino hipotalamik yol ile ulaşmaktadır. Bundan sonra bir elektiriksel nöral sinyal üst servikal korda ve superior servikal gangliaya iletiliyor,

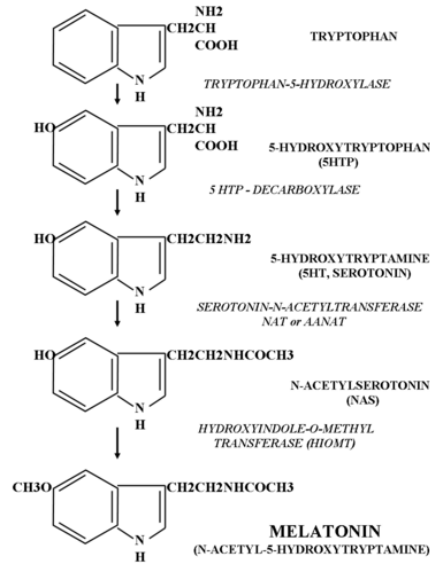
bu pineal (epifiz) beze postganglionik sempatik fibriller boyunca ulaştırılıyor (Gomez-Moreno et al., 2007). Sağlıklı bireylerde en fazla melatonin sentezi gece yarısı ile saat 02:00 arasında meydana gelmektedir. Bununla birlikte gün boyunca minimum üretim olmaktadır (Simonneaux and Ribelayga, 2003). Karanlıkta noradrenalinlerin salımının gerçekleşmesi ile birlikte pineal enzimler melatonin sentez ve salımını aktive ederler. Melatoninin sirkadyen sinyali fotoperiodik memelilerde, tekrarlanan siklusta mevsimsel değişiklikler ile gerçekleşmekte ve onun bağlanacağı membran reseptörlerini de etkilemektedir (Cajochen et al., 2003). Bir çok çalışmada melatoninin çok kompleks özelliklerinin olduğu belirtilmektedir. Bu araştırmalarda melatoninin reseptörler üzerindeki aktivitesinden bağımsız olarak mekanizması ve hücreler arasındaki ilişki vurgulanmaktadır. Bu yüzden melatonin çok önemli güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olarak gösterilmiştir. Sonuç olarak melatonin sadece bir hormon olarak değil, aynı zamanda moleküler hasara karşı güçlü bir koruyucu olarak etki göstermektedirler (Gomez-Moreno et al., 2007).

2.5.1. Melatonin Metabolizması

Melatonin sentezi sirkadyen ritme bağlı olarak farklılık gösterir. Işık varlığında hiperpolarize olan hücreleri, karanlıkla birlikte depolarize olarak, pineal bezden melatonin sentezini başlatırlar. Karanlıkla birlikte ışığa duyarlı fotoreseptör hücrelerinden norepinefrin salgılanmaktadır. Salgılanan norepinefrin, hem triptofanın dolaşımdan beze girişini artırmakta, hem de b1 reseptörleri ile membrandaki adenil siklazı aktive etmektedir. Bunun sonucunda intraselüler cAMP seviyelerini yükseltmektedir (Arendt 1988). Triptofanın dolaşım sisteminden aktif transportla pinealosit içine alınmasıyla birlikte melatoninin sentez süreci başlar ve bu durum birbirini takip eden dört enzimatik reaksiyonla tamamlanır:

- Hidroksilasyon reaksiyonu ile 5-OH triptofan oluşumu,
- Dekarboksilasyon ile seratonine dönüşümü

- N-Asetilasyon ve
- O-metilasyon reaksiyonlarıyla serotoninden melatonin (*N-asetil-5-metoksi-triptamin*) oluşmaktadır (Sugden 1989).



Şekil 6. Melatoninin kimyasal yapısı ve sentezi (Brzezinski 1997)

Melatonin sentezinde rol oynayan NAT aktivitesinin yükselmesi ile birlikte melatonin salgılanımı artmaktadır (Brzezinski 1997) (Şekil 6).

Melatonin salımı doğumdan genç erişkinlik dönemine kadar artmakta, sirkadyen yapısını kazanmaktadır. Erişkinlerde serum melatonin konsantrasyonu gündüze göre gece, 3-10 kat daha yüksektir. Melatonin seviyesi gece 02:00-04:00 saatleri arasında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. İlerleyen saatlerde melatonin seviyesi giderek azalmaktadır (Reiter 1993). Yine ilerleyen yaşla birlikte melatonin seviyesi azalmaktadır (Poeggeler et al., 1993).

Melatonin pineal bezde sentezlendikten sonra, direkt olarak dolaşıma verilir, membran reseptörleri sayesinde hedef hücrelerine ulaşır. Yapılan çalışmalarda beyinin çeşitli alanlarında, kan damarlarında, ovaryumlarda, bağırsaklarda ve karaciğerde melatonin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (Brzezinski 1997, Yazıcı ve Köse 2004). Lipofilik özelliği sayesinde melatonin hücrenin tüm fraksiyonlarına kolaylıkla girebilmektedir (Reiter 1993).

Melatoninin inaktivasyonu karaciğerde gerçekleştirilir, indol halkasının 6. bölgesinden hidroksile edilen melatonin, daha sonra sülfat veya glukuronik asit ile konjuge edilerek idrarla atılır. Melatoninin idrardaki metaboliti olan 6-sülfatoksi melatonin düzeyleri, sentez ve yıkım için de iyi bir göstergedir (Hardeland et al., 1993).

2.5.2. Melatoninin Biyolojik Etkileri

Melatoninin başta sirkadyen ritim olmak üzere uyku, duygu durumu, immunité, termoregülasyon, cinsel olgunlaşma ve üreme gibi çeşitli biyolojik olaylarla ilişkisi bildirilmiştir. Buna ek olarak yapılan çalışmalarda antiproliferatif ve antioksidan etkilere sahip olduğu belirtilen melatoninin kanser tedavisinde ve yaşlanmanın önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Brzezinski, 1997) (Tablo 7).

Tablo 7. Melatoninin biyolojik oluşumlar üzerine etkisi.

Biyolojik Oluşum	Melatoninin Etkisi	Etki Mekanizması	Kaynak
Uyku	Hipnotik etki ve uykuya eğilimin artması (Uykuya dalış hızı ile uyku süre ve kalitesinin artması).	-Hipotermik etki (farmakolojik dozlarda) -Limbik sistem üzerinde reseptör aracılığı etki.	Plasebo kontrollü klinik araştırmalar.
Sirkadyen Ritm	-Sirkadyen ritimlerin kontrolü -Aydınlık-karanlık siklusunun düzenlemesi.	-Gözlerden ve suprakiazmatik nükleustan gelen nöral uyarılara cevap olarak melatonin salımı - Nöral ve periferik dokularda reseptör aracılı etkiler -Termoregülasyon.	Işığın ve aydınlık –karanlık siklusunun melatonin salımına etkisini araştıran çalışmalar.
Duygudurum	Mevsimsel affektif bozukluk ve depresyon gibi siklik duygu hastalıkları üzerine düzenleyici etki.	Bilinmiyor (fakat tedavide kullanılan tüm antidepresanlar melatonin üretimini arttırmaktadır.)	Melatonin salımını ile ilgili karşılaştırmalı klinik araştırmalar ve duygudurum bozukluklarında fototerapi çalışmaları
İmmünite	Artmış İmmün Yanıt	-T-Helper lenfositler tarafından interlökin yapımının artması -Granülosit ve makrofajlarda, artmış koloni uyarıcı faktörün üretimi ile kemik iliği hücrelerinin apoptozisten korunması -Direkt antiproliferatif etki (antimitotik aktivite). -İmmünmodülatör etki (immün yanıtın artmasıyla tümör büyümesinin baskılanması) -Antioksidan etki -Hipotalamik-hipofizer gonadal eksenin baskılanması (serumda düşük LH ve yüksek prolaktin seviyeleri). -Seks steroidlerinin üretimi üzerine düzenleyici etki .	İnsanlarda birkaç kontrolsüz araştırma. Hayvanlar ve insanlarda neoplastik hücrelerle ve hücre soylarıyla in vivo ve in vitro çalışmalar; birkaç kontrolsüz araştırma.
Kanser	Antiproliferatif Etkiler		
Seksüel olgunlaşma ve üreme	Antigonadal, anovulatuvar etkiler		Melatonin salımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik çalışmalar
Yaşlanma	Hücre hasarının önlenmesi ve diğer koruyucu etkiler	Antioksidan etki	Hayvanlarda in vivo ve in vitro araştırmalar

(Brzezinski 1997)

2.5.3. Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatoninin antioksidan özelliği ilk kez lanas ve ark tarafından ortaya konulmuş ve daha sonraki yapılan çalışmalarla bu durum desteklenmiştir (lanas et al.,1991). Melatoninin antioksidan özelliğini 3 ana başlık altında toplamak mümkündür.

2.5.3.1. Direkt Antioksidan Etki

Melatoninin direkt olarak 1O_2 , OH, H_2O_2 , HOCl, NO, $ONOO^-$ gibi oksidatif strese neden olan serbest radikallerin detoksifiye ettiği ve bunların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önlediği bildirilmektedir (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000). Melatoninin yapısında bulunan pirol halkası melatonine antioksidan özellik kazandırır. O_2 varlığında, melatoninin pirol halkasının indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı, yüksek reaktiviteye sahip olan, N^1 -asetil- N^2 -formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumu ile sonuçlanır (Hardeland et al., 1993). Aynı zamanda H_2O_2 varlığında melatoninin AFMK oluşturduğu ve radikal tutucu etki gösterdiği belirtilmektedir (Reiter et al., 2000).

Melatonin yüksek bir afinite ile OH $^{\cdot}$ radikalini bağlayarak, indolil katyon radikalini oluşturmaktadır. Bu radikalde O_2 'yi yakalayarak AFMK'ya dönüşmektedir. Daha sonra AFMK arilamin formamidaz (AFA)'nın katalizlediği reaksiyonla N^1 -asetil-5-metoksikinüramin (AMK)'e dönüşmektedir. Ayrıca OH varlığında indolil radikali, 3-hidroksimelatonin oluşturmaktadır. Oluşan bu metabolitin idrar seviyesi radikal oluşum miktarının göstergesi olarak kullanılmaktadır (Hardeland et al., 1993).

Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda melatoninin en güçlü antioksidanlardan biri olduğu gösterilmektedir. Melatonin, zincir reaksiyonlarını kırabilen alfa-tokoferol, askorbat ve GSH gibi antioksidanlardan farklı olarak LPO'yu peroksil

radikalini yakalayarak sonlandırmaktadır. Bu antioksidanlarla kıyaslandığında melatoninin GSH'dan 5 kat ve mannitolden 14 kat daha güçlü bir şekilde OH⁻ radikalini yakaladığı in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (Tan et al., 1993).

Melatonin 5-OH-triptofan, 5-OH-triptamin ve serotonin ile kıyaslandığında, NO oluşumunu azaltan en güçlü indol olduğu belirlenmiştir. Melatoninin doza bağımlı bir şekilde, in vitro koşullarda, ONOO⁻'in neden olduğu oksidasyonu önlediği ve kendisi nitrasyona uğrayarak ONOO⁻'i detoksifiye ettiği; in vivo modelde de nitrotirozin oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000).

2.5.3.2. Antioksidan Enzim Aracılı Antioksidan Etki

Melatoninin GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve g-glutamilsistein sentetaz, SOD gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını arttırarak oksidatif stresi baskıladığı ortaya konulmuştur (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000).

Yapılan hayvan modeli çalışmalarda gündüze kıyasla, gece öldürülen ratların beyin GSH-Px aktivitesinin daha yüksek bulunması, melatoninin antioksidan etkisine bağlanmaktadır. Melatoninin etkisi ile beyin, pineal bez, kalp, akciğer, karaciğer, bağırsak, eritrosit aktiviteleri, yaklaşık olarak % 22 ile % 138 oranında arttığı belirtilmiştir. Ratlarda özellikle beyin dokusu, karaciğer ve böbrekte GSH-Px aktivitesinin melatonin uygulamasından 3 saat sonra arttığı görülmüştür (Pahkla et al., 1998). Bir diğer çalışmada pinealektomi yapılan ratlarda beyin, akciğer ve karaciğer, GSH-Px aktivitelerinde anlamlı düşüşler tespit edilmiştir (Reiter 1993).

Sürekli karanlıkta bırakılan kuşların beyninde GSSG-Rd aktivitesinin daha yüksek olduğu, melatonin uygulanan ratlarda karaciğer GSSG-Rd aktivitesinin yaklaşık 2 kat arttığı, deney hayvanlarında ekzojen melatonin ile aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Pablos et al., 1998).

İnsan endotel hücrelerinde melatonin etkisi ile g-glutamilsistein sentetazın total GSH içeriğinin yükseldiği, öne sürülmüştür (Urata et al., 1999).

Ratlara uygulanan melatoninin beyin dokusunda Mn-SOD ve CuZn-SOD sentezini artırdığı ve beyin dokusunu oksidatif hasara karşı koruduğu (Kotler et al., 1998), ayrıca melatoninin fetus üzerine olan etkisine bakıldığında, anne rata verilen melatoninin plasentadan geçerek fetusun beyinde SOD aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Thomas et al., 1998).

2.5.3.3. Prooksidan Enzim Aracılı Antioksidan Etki

Melatoninin oksidan-antioksidan sistem üzerine olan bir başka etkisi de, prooksidan enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmasıdır. In vitro ve in vivo şartlarda, melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarda NO ve ileri aşamada $ONOO^-$ oluşumuna sebep olan nitrik oksit sentetaz (NOs) aktivitesini, inhibe ettiği bildirilmektedir (Bettahi et al., 1998). NOs üzerine inhibe edici etkisi bilinen melatoninin beyin iske mi/reperfüzyon modelinde düzeltici etkisi olabileceği belirtilmektedir (Guerrero et al., 1997).

Oksidatif doku hasarına yol açan kainik asit (Giusti et al., 1996), sentetik seks steroidleri, siklosporin A, streptozotosin (Montilla et al., 1998), alloksan (Pierrefiche et al., 1993), adriyamisin (Montilla et al., 1997), L-sistein (Yamamoto 1996) gibi toksinlerle indüklenen oksidatif stresin melatonin ile önlenemediği, in vivo çalışmalar da gösterilmiştir.

Melatonin hem lipid hem de suda çözünebilmektedir, bu sayede organizmada geniş alanda antioksidan etki göstermektedir. Melatonin için bilinen bir bariyer olmaması, melatoninin tüm hücre içi komponentlere ulaşabilmesini sağlamaktadır. Aynı şekilde melatonin kan-beyin bariyerini ve plasentayı rahatlıkla geçebilmektedir. Bu özellikleri sebebiyle melatonin hücre zarını, organelleri ve çekirdeği serbest radikal hasarından koruyabilmektedir. Hücre membranının fosfolipid tabakasının dış yüzeyine tutunan melatonin, serbest radikallerle membrandan önce temas geçer

ve onları inhibe eder. Böylece membran korunmuş olur. Melatonin hücrenin çekirdeğine kadar ulaşabilme özelliği sayesinde DNA' nın oksidatif hasara karşı korunmasında önemli bir üstünlük sağlamaktadır. Ayrıca melatonin H₂O₂, O₂, OH, gibi mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan radikallerin üretimini azaltmaktadır (Arendt 1988). Melatonin diğer antioksidanlardan farklı olarak, çok yüksek dozlarda uzun süre kullanımlarda dahi toksik bir etki göstermediği belirtilmektedir (Reiter 1993).

Bir çok deneysel çalışmada melatoninin, patogenezinde serbest radikal hasarın olduğu düşünülen Alzheimer hastalığı (Brusco et al., 1998), epilepsi (Sirinivasan et al., 2005), infeksiyöz ve enflamatuvar hastalıklar (Mayo et al., 2005) ve yaşlanma (Srinivasan et al., 2005) gibi fizyolojik sürecin tedavisinde yararlı etkisi gösterilmiştir.

Genel olarak melatoninin antioksidan özelliklerine bakıldığında, proinflamatuvar sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin sentezinin azaltılmasını da kapsayan çok geniş bir etki alanına sahip olduğu görülmektedir (Reiter 2003).

2.5.4. Melatonin ve İmmünmodülasyon

Melatonin ve immün sistem arasındaki ilişkiye yönelik ayrıntılı bilgi literatürde yer almaktadır (Gonzalez-Haba et al., 1995). Melatonin seviyesinde azalmanın meydana geldiği bir kaç durumda immundepresyon gerçekleştiği rapor edilmiştir (Maestroni 2001). Yine bazı immundepresif reaksiyonlara melatonin ile ters etki gösteren ilaçların neden olduğu belirtilmektedir (Gorgun et al., 2002). Melatonin ve interlökin-2 (IL-2)'nin nöroimmünomodülatör fonksiyonları ve melatoninin IL-2'nin endojenik üretimini artırdığı bilinmektedir (Lissoni et al., 1998). Gece vakti kandaki IL-2 seviyesindeki artış kandaki melatonin seviyesindeki artışa bağlı olarak gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Guerrero et al., 2000). Melatoninin IL-2 ve interferon-gamma üretimi ile birlikte CD4⁺ lenfositleri aktive etmektedir (Garcia-Maurino et al., 1997). Bu durum melatoninin, CD4⁺ hücrelerinin

ve monositlerin aktivasyonlarının modülasyonu ile immün fonksiyonların regülasyonunda yer aldığını düşündürmektedir (Garcia-Maurino et al., 2000). IL-2'nin sitolitik mekanizmada müdahil olan doğal katil hücrelerin aktivasyonunu stimule etmesi ve bu sitokinin üretimini melatoninin arttırıcı etkisi nedeni ile, melatoninin kanser ile mücadelede kullanılabileceği belirtilmektedir (Lardone et al., 2006, Martin et al., 2006). Melatoninin akciğer, böbrek, prostat, mide ve bağırsak gibi belirli kanserlerin tedavisinde kullanılan anti-neoplastik bir ajan olduğu bilinmektedir (Reiter et al., 2004, Miller et al., 2006).

2.5.5. Melatonin Ve Kemik Formasyonu

Melatonin kemik formasyonunu ve osteoblast farklılaşmasını artırmaktadır (Roth et al., 1999, Cutando et al., 2007b). Mikromolar konsantrasyonda melatoninin insan osteoblastlarında tip I kollajen fibril sentezini stimule ettiği in vitro olarak gösterilmiştir (Nakade et al., 1999). Ayrıca melatonin 12-21 günlük periyotta kemik sialoprotein sentezini, preosteoblastlarda osteokalsin ve osteopontin, alkalın fosfataz ve kemiğe ait diğer protein belirteçlerini artırmakta, osteoklast farklılaşmasını azaltmaktadır. Bu aktivite indolaminin membran reseptörleri ile yönetilmektedir. Melatonin için diğer bir hedef hücre, serbest radikal oluşumunun gerçekleştiği kemik rezorbsiyonunda görevli olan osteoklastlardır. ROT'lar enflamatuvar durumda meydana gelen kemik rezorbsiyonunda önemli rol oynayabilirler. ROT aktif fagositler, monositler, makrofajlar ve nötrofiller tarafından üretilmektedir. Kronik enflamatuvar hastalıklarda bu hücrelerin kemik yüzeyine komşu alanlarda birikmesi ve bu hücrelerden ROT üretilmesi nedeniyle osteoklastların stimülasyonu ve direkt olarak matriks yıkımının artmasından bu hücreler sorumlu olabilir.

Nükleer faktör-kappa B ligandın reseptör aktivatörünün (RANKL), RANK ve osteoprotegerinin osteoklast farklılaşma ve fonksiyona ait düzenleyici mekanizmadaki rolü bilinmektedir. RANKL-RANK sinyalizasyonu fizyolojik

osteoklast gelişiminde önemlidir ve patolojik kemik yıkımında önemli bir rol oynamaktadır (Yasuda 2006). Melatonin kemik miktarını artırırken, kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektedir. Melatonin doza bağlı olarak kemik iliği hücrelerinden kaynaklanan osteoklastların oluşturduğu rezorpsiyon alanlarını ve sayısını azaltmaktadır. Farelerde melatoninin farmakolojik dozu kemik rezorpsiyonunun inhibisyonuna ve kemik kütlesinin artmasına neden olmaktadır. Melatoninin bu iskeletsel etkisi RANKL üzerinden osteoklast formasyon ve aktivasyonu ile gerçekleşmektedir (Boyce et al., 2006, Yasuda 2006). Genç farelerde melatoninin farmakolojik dozunun uygulanması trabeküler kemik kitlesini ve kemik mineral densitesini arttırmaktadır. Yapılan bir in vivo çalışmada açık olarak melatoninin, doza bağlı kemik rezorpsiyonuna yönelik osteoklast sayısı, osteoklast yüzeyi ve kemik yüzeyine ilişkin histomorfometrik parametreleri azalttığı gösterilmiştir (Koyama et al., 2002).

2.5.6. Melatonin ve Periodontal Hastalık

Periodontal hastalık çok yaygın kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Bu hastalığın gingivitten başlayarak periodontitise kadar uzanan safhaları vardır (Battino et al., 1999). Periodontal hastalığa bağlı periodontal doku yıkımı diş kaybına neden olmaktadır (Chapple 1997). Periodontal hastalığın etyopatolojisi ve etyopatogenezi açık olmamakla birlikte ağız içerisindeki mikroorganizmaların bir süreci başlatarak sağlıklı dokuya saldırdıkları bilinmektedir. Bakteri kaynaklı toksik ürünlerin direkt etkisi ve immun sistemin bakteriyel enfeksiyon ile stimülasyonu sonucunda periodontal dokuda hasar oluşmaktadır (Zambon et al., 1988). Periodontal hastalıkta, bakterilerden ve immun cevaba bağlı olarak defans hücrelerinden serbest radikal üretilmektedir (Gustafsson and Asman, 1996). Periodontal hastalıkta oluşan reaktif oksijen ve nitrojen türlerindeki artışın periodontal dokulardaki oksidatif hasardan sorumlu olduğu düşünülmektedir (Kimura et al., 1993). Serbest radikal üretimindeki artışla eş zamanlı olarak

antioksidan defans mekanizmasında bir azalma olmaktadır. Prooksidan ve antioksidan sistem arasındaki bu dengesizlik ileri oksidatif hasara ve periodontal dokunun yıkımına neden olabilmektedir (Halliwell 1994). Bir antioksidan olarak melatonin serbest radikal temizleyici, immunitiyi destekleyici etkiye sahiptir. Pineal bez haricinde melatoninin retina, overlerde, lenste, gastrointestinal yolda ve immun sistem hücrelerinde üretimi gösterilmiştir. Ayrıca son araştırmalar melatoninin kemik rejenerasyonu ve fibroblast aktivitesi üzerine yararlı etkisini göstermektedir (Cardinali et al, 2003). Daha önceki verilerde periodontal hastalıkta LPO ürünleri ve antioksidanların miktarı arasındaki ters ilişkinin varlığı ortaya konulmuştur. PMNL infiltrasyonu periodontal hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Bu hücreler doku hasarına neden olan yüksek miktarda ROT üretmektedirler. Ayrıca periodontitiste dişetine ve DOS olan nötrofil migrasyonu, anormal seviyede ROT üretimine neden olmakta ve dolaşım yolu ile diğer organları etkileyerek, kardiyovasküler hastalıklar ve benzeri diğer hastalıkları şiddetlendirmektedir (Battino et al., 1999). Melatonin yüksek lipofilik yapısı nedeniyle organizmadaki her hücreye ulaşmaktadır. Kemik iliği, bağırsaklar ve çekirdek ve mitokondri gibi subelüler organellerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Melatonin kana geçişinden sonra salyadan oral kaviteye pasif olarak geçmektedir (Cutando et al., 2007). Melatonin konsantrasyonu salya için % 24 iken, bu oran plazmada %33 tür. Plazma melatoninin yaklaşık % 70'i albumine bağlanmaktadır ve bu melatonin farkedilebilir düzeyde salyaya geçmemektedir (Cutando et al., 2003). Salyadaki melatoninin sirkülasyondaki albümine bağlı olmadığı için serbest melatonin seviyesini göstermektedir (Laakso et al., 1990). Oral kavitedeki antioksidan potansiyelin az bir kısmı ürik asit ve daha az oranda vit-C ve albumin ile ilişkilidir.

Enflamatuvar süreç, periodontitiste plazma melatonin konsantrasyonu artışını tetikleyebilmektedir. Bu durum oral kavitede melatonin artışına sebep olmakta, indolaminin koruyucu bir rol oynadığı belirtilmektedir. Aşırı periodontal hasara sahip yaşlı hastalarda melatonin seviyesinde anlamlı düzeyde artış olmaktadır. Bu nedenle periodontal hastalıkta melatonin artışı sekonder olarak bu patolojilerde serbest radikal ürünlerini artırıyor olabilir (Cutando et al., 2003).

Melatoninin antioksidan ve antienflamatuvar etkisi nedeniyle, salya melatonin düzeyindeki bir artış periodontal enflamatuvar sürece etki ederek, organizmanın

defansif cevabını geliştirebilmektedir (Reiter et al., 1995, Martin et al., 2000, Tan et al., 2000b, Allegra et al., 2003) . Bir çalışmada salya melatonin düzeyinin periodontal hastalığın derecesine göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Periodontal hastalığın derecesi artarken salya melatonin seviyesi azalmaktadır. Bu durum melatoninin dış bakteriyel saldırılardan vücudu koruyabileceğini göstermektedir (Cutando et al., 2006).

Melatoninin antioksidan özelliğinin yanısıra immunitiyi desteklemekte ve kemik remodelliğini ve proliferasyonunu artırmaktadır. Melatoninin salya vasıtasıyla oral kaviteye salımının oral sağlık için yararı yeni tanımlanmıştır. Periodontal hastalıklı bireylerin salyalarındaki oksidatif stres parametrelerinin belirlenmesi bu hastalığa olan duyarlılığa ve prognoza yönelik önemli bilgi sağlayabilecektir. Bu hastalarda melatonin uygulaması periodontal hastalık ve yükselen oksidatif stres seviyesinin azaltılmasında kullanılabilir. Uygulanan melatonin enflamatuvar patolojiler sonucunda oluşan ROT hasarına karşı oral kaviteyi koruyabilir ve alveolar kemik kaybını azaltabilir. Sonuç olarak salya melatonin seviyesi normalden daha az seviyede olan hastalarda özellikle yaşlı bireylerde veya tükürük bezlerinin malfonksiyonu ile karakterize patolojilerde oral kavitede hastalık gelişim kapasitesi yükselebilir. Bu hastalarda melatoninin lokal veya sistemik olarak uygulanması uygun olabilir (Cutando et al, 2006. Palaoglu ve Beşkonaklı 1998).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay (12. 05. 2009, 12/03) alınarak yapılan çalışmamız, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 1853-D-09 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen, Wistar-albino cinsi, genç erişkin (ortalama 4-5 aylık) 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarının üretim biriminden temin edildi. Tüm hayvanlar aynı şartlarda, standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık), ısı (25° C) sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Sıçanlar havalandırma tertibatı olan odalarda özel olarak hazırlanmış kafeslerde bakıma alındı.

3.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

1. Derin dondurucu (Aeg, Beko, Türkiye)
2. Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 32 R, Hettich Universal 320, Almanya)
3. Hassas terazi (Shimadzu AX200, Japonya)

4. UV spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japonya)
5. Vorteks (Nüve NM 100, Türkiye)
6. Otomatik pipetler (Eppendorf Research 10-100-1000-5000, Almanya)
7. Su banyosu (Termal Laboratuvar aletleri 820-3, Türkiye)
8. Homojenizatör (Heidolph DIAX 900, Almanya)
9. Stereomikroskop (SZ-PT STU1, Olympus C3040-ADL, Japan)
10. Fiber Optical İlluminator (Japan)

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Sodium Hidroksit, Sigma Aldrich
2. Sodium Carbonate, Sigma Aldrich
3. Tri sodium sitrat dihidrat, Merck
4. Xanthine, Sigma Aldrich
5. Triclor asetic acid (TCA), Sigma Aldrich
6. 2- thiobarbituric acid (TBA), Merck
7. Folin & Ciocalteu's Phenol, Merck
8. Sodyum EDTA, Sigma Aldrich
9. Xanthine Oxidase, Sigma Aldrich
10. Choloroform, Sigma Aldrich
11. Ammonium sulfate, Merck
12. β -Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate, Merck
13. Glutathione Redüktaz, Sigma Aldrich
14. Sulfanilamide, Sigma Aldrich
15. Cupric sulfate pentahydrate, Merck
16. Sulfuric acid %98-95, Sigma Aldrich
17. L(+) Tartarik asit, Merck
18. Zinc sulfate, Merck
19. Potassium nitrate, Merck

20. Sodium Borate, Sigma Aldrich
21. Adenosine, Sigma Aldrich
22. Sodium Cyanide, Sigma Aldrich
23. Sodium azide, Merck
24. Hidrojen peroksit %30, Fluka
25. Ketamin HCl, İNTERHAS AŞ
26. Ksilazin, Alfasan

3.4. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Deney hayvanları rastgele 4 gruba ayrıldı.

Ss: Sağlıklı+serum, n=7: Periodontal açıdan sağlıklı ve günde bir doz intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik uygulanan grup. Bu grupta 10 mg/kg/gün i.p serum fizyolojik uygulandı.

Sm: Sağlıklı+melatonin, n=7: Periodontal açıdan sağlıklı ve günde bir doz i.p melatonin uygulanan grup. Aynı ortamda yaşayan ve aynı şartlara tabii tutulan bu grupta 10 mg/kg/gün i.p melatonin uygulandı.

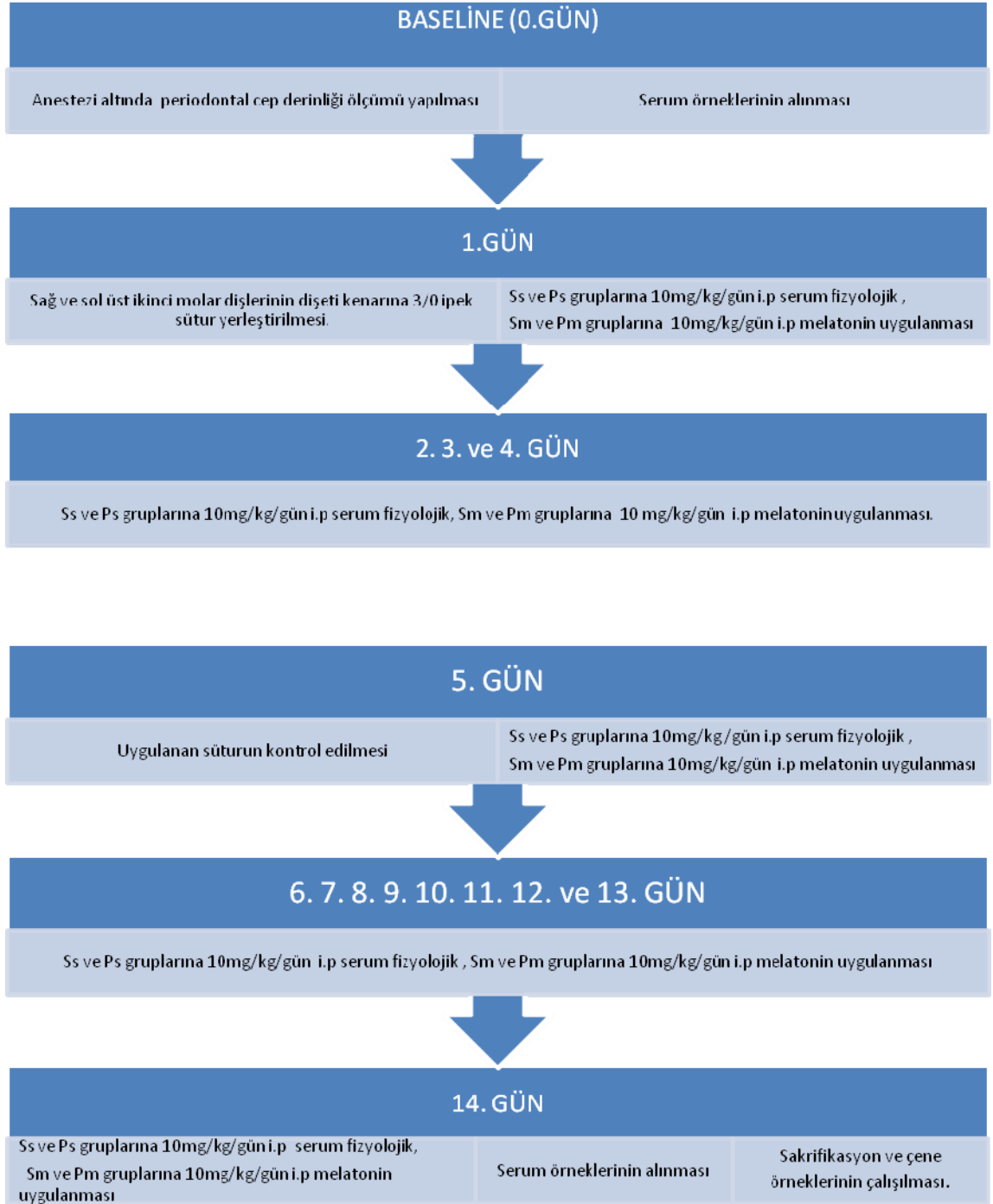
Ps: Periodontitis+serum, n=8: Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik uygulanan grup. Bu grupta da deneysel periodontitis oluşturulmasını takiben 10 mg/kg/gün i.p serum fizyolojik uygulandı.

Pm: Periodontitis+melatonin, n=8: Deneysel periodontitis oluşturulan ve günde bir doz i.p melatonin uygulanan grup. Bu grupta yukarıda anlatıldığı şekilde deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra, 10 mg/kg/gün melatonin uygulandı.

3.5. Deneysel Düzen

Klinik Ölçüm: Sıçanlarda, anestezi altında (Hu-friedy, PCP-12 USA) sondu ile periodontal cep derinliği ölçümü yapılarak sıçanlar periodontal sağlık açısından değerlendirildi (Bjornsson et al., 2003).

Uygulama öncesi ratlar 25 mg/kg ketamin hidroklorid ve 50 mg/kg ksilazin (Kaynak ve ark., 2000) kombinasyonu kullanılarak genel anestezi altına alındı. Sıçanların sağ ve sol üst ikinci molar dişlerinin dişeti kenarlarına 3/0 ipek suture yerleştirilerek deneysel periodontitis oluşturuldu (Hasturk ve ark., 2009). Deney grubundaki ratlara düzenli olarak 10 mg/kg/gün i.p melatonin uygulandı (Armagan ve ark., 2006). Enjeksiyonlar için 0.30 x 13 mm lik iğneye sahip insülin enjektörleri kullanıldı. Tüm ratlar 14. günde anestezi altında kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi (Şekil 7). Sakrifikasyonu takiben maksilla diseke edilerek kaslar ve yumuşak dokular uzaklaştırıldı. Alınan örnekler % 10'luk formalin ile fikse edildi (de Lima et al., 2000). Her bir sıçanın üst çenesi sağ ve sol yarım çene olmak üzere iki parça halinde değerlendirildi. Bir yarım çenede kemiğe yönelik histopatolojik değerlendirme, diğer yarım çenede histomorfometrik ve dişeti dokusunda oksidatif stres parametrelerine yönelik değerlendirme yapıldı.

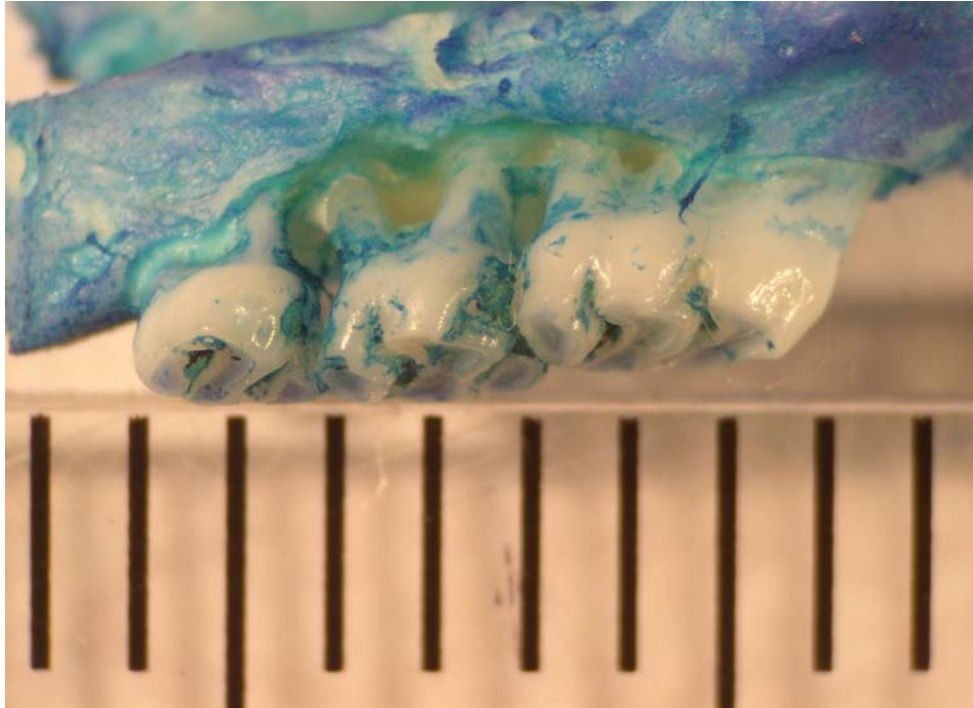


Şekil 7. Deney Programı.

3.6. Alveolar Kemik Kaybının Ölçülmesi

Sıçanların serum örnekleri alındıktan sonra baş kısmı vücuttan ayrılarak sadece üst çene kalacak şekilde dokular uzaklaştırıldı. Analiz için dişeti dokusu disekt edildikten sonra üst çene örnekleri 24 saat boyunca % 3'lük H_2O_2 de bekletildi. Mine-sement sınırını belirlemek için su ile dilue edilen %1'lik metilen mavisi (1 g/100 ml) ile bir dakika boyunca boyandı (Şekil 8). Alveolar kemik yüksekliği, bir stereomikroskop (%40 büyütme) altında mine-sement sınırı ve alveolar kemik kreti arasındaki mesafe kaydedilerek ölçüldü. Alveolar kemik seviyesini tespit için yapılan ölçümler bukkal alanda üç noktada gerçekleştirildi (Grauballe et al., 2005). Her diş için ortalama bir değer hesaplandı. Ölçümler dijital fotoğraf makinası ile kayıt altına alınarak bilgisayar ortamında 'Image J (National Institutes of Health in USA)' adlı program ile standardize olarak değerlendirildi.

Resim 1. Sıçan çene örneklerinde metilen mavisi uygulaması.



3.7. Histopatolojik Değerlendirme

Maksilla örnekleri %10'luk formalinle fikse edilerek, %10'luk formik asit ile demineralize edildi. Daha sonra örnekler dehidrate edilerek parafin içerisine gömüldü ve molar bölgeden mezio-distal ekseninde longitudinal olarak kesitler alınarak hematoksilin ve eosin ile boyama yapıldı. Bukkal ve lingual alandan 6 µm'lik kesitler alındı (Kaynak ve ark., 2000).

Enflamasyon bulgularının değerlendirilmesinde aşağıda belirtilen kriterler dikkate alındı. Enflamasyon akut ve kronik olarak iki tiptir:

Akut enflamasyon: Vasküler ve hücrel değişiklikler,

a) Arteriollerde vazokonstriksiyon bunu takiben vasodilatasyon

b) Vasküler permeabilite artışı (eksudasyon ve ödem)

c) PMNL'lerin migrasyonu

Kronik Enflamasyon

1. Başlıca makrofaj, yanı sıra lenfosit ve plazma hücre ve eozinofil infiltrasyonu

2. Fibroblast ve küçük kan damarları proliferasyonu

Enflamatuvar Hücre Skorlaması (EHS)

Enflamatuvar hücre infiltrasyonunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi hücrelerin varlığının skorlanması ile yapıldı.

Skor 0: Hücrelerin yokluğu

Skor 1: Minimum düzeyde hücre varlığı

Skor 2: Orta düzeyde hücre varlığı

Skor 3: Yüksek düzeyde hücre varlığı (Lins et al., 2008, Kaynak ve ark, 2000).

3.8. Serum Örneklerinin Toplanması, Deney İçin Hazırlanması ve Laboratuvar Analizleri.

Çalışmada tüm sıçanlardan kan örnekleri alındı. Örnekler 1500 rpm'de +4°C'de 10dk boyunca santrifüje edilerek serum örnekleri ayrıldı. Eppendorf tüplerine alınan serum örnekleri analiz gününe kadar -20°C de saklandı.

3.9. Biyokimyasal Analizler

3.9.1. Serum Oksidatif Stres Parametrelerinin Ölçülmesi

Serum örneklerinde MDA düzeyi, SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemle ölçülerek değerlendirildi.

3.9.2. MDA Analizi

MDA miktarı Draper ve Hadley'in metodu ile çalışıldı (Draper and Hadley, 1990). Bu yöntemde, MDA ile tiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonunun meydana getirdiği renk oluşumu spektrofotometrik olarak 532 nm'de köre karşı yapılan ölçümler ile değerlendirildi.

3.9.3. SOD Analizi

Total SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (Sun et al., 1988). Bu metod, Nitro Blue Tetrazoliumu (NBT) indirgemesi prensibine dayanmaktadır. İndirgenme olayı oluşan O_2^- radikallerinin ortamdaki NBT ile reaksiyona girmesi sonucu oluşur ve bu reaksiyona bağlı olarak renkli formazon oluşur. Bu kompleks en fazla absorbans değerini 560 nm'de verir. Ortamda SOD bulunduğu indirgenme olmayarak enzimin miktarı ve aktivitesiyle ilişkili şekilde açık renk izlenmekte, SOD bulunmayan ortamda indirgenme oluşup mavi-mor renk oluşmaktadır.

3.9.4. GSH-Px Analizi

GSH-Px aktivitesinin tayini Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (Paglia and Valentine, 1967). GSH-Px görevi, H_2O_2 'nin bulunduğu ortamda, GSH'nin, GSSG'ye yükseltgenmesini katalizlemektir. H_2O_2 varlığında GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivite tayini NADPH'nin $NADP^+$ 'ya yükseltgenmesi esnasındaki absorbans düşüşünün 340 nm'de değerlendirilmesiyle gerçekleştirildi.

3.9.5. Serum Melatonin Seviyesinin Ölçülmesi

Serum melatonin seviyesi ELISA (ELISA Kit for Rat Melatonin (MT) Cat. No: 0908 Ra Size: 96 tests, Uscn Life Sience Inc. Wuhan, P.R. China) yöntemi ile tespit edildi.

3.9.6. Dişeti Doku Örneklerinde Melatonin Seviyesinin Belirlenmesi

Homojenizasyon için:

Sıçanlardan elde edilen dişeti örnekleri tartılarak fosfat tamponu (pH 7.4) ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) Marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya) Markalı sonikatör ile sonike edilerek homojenizasyonu tamamlandı. Doku örneği, Eppendorf 5415-R (Almanya) marka soğutmalı santrifüj ile 4000 devir/dk, 15 dk. santrifüj edildi ve süpernatantı alınarak eppendorf tüplere aktarıldı.

Dişeti melatonin seviyesi de ELİSA yöntemiyle (ELISA Kit for Rat Melatonin (MT) Cat. No: 0908Ra Size: 96 tests, Uscn Life Science Inc. Wuhan, P.R. China) saptandı.

3.10. İstatistiksel Analizler

İstatistikler, Windows'a uyumlu SPSS 15.0 programı ile yapıldı. Grupların dağılımları non-parametrik bir test olan "One-sample Kolmogorov-Smirnov Testi" ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi kullanıldı. Post hoc multiple comparison testlerden LSD testi kullanıldı.

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata olarak verildi ve istatistiksel anlamlılık için; $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histomorfometrik Bulgular:

Histomorfometrik değerlendirme de Ps ve Pm grubuna ait mine-sement sınırı (MSS) ile alveolar kret tepesi (AKT) arasındaki mesafe değerleri (mm) ve alveolar kemik yıkım alanlarına ait ölçüm değerleri (mm²) Tablo 8 ve Tablo 9'da gösterilmiştir. MSS-AKT arasındaki mesafe bakımından Ps ve Pm grupları birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı (p>0.05) (Tablo 8). Alveolar kemik yıkım alanı ölçümleri de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (p>0.05) (Tablo 9).

Tablo 8. MSS-AKT Arasındaki Mesafenin (mm) Gruplar Arası Karşılaştırılması.

Gruplar	n	\bar{x}	ss	sh	En düşük	En yüksek	p değeri
Ps	7	1,436	0,353	0,125	1,077	2,137	0,865
Pm	8	1,410	0,156	0,059	1,130	1,609	0,865
Toplam	15	1,424	0,270	0,069	1,077	2,137	0,865

\bar{x} :Ortalama, ss: Standart Sapma, sh:Standart Hata,
Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.
Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.
MS: Mine-Sement Sınırı, AKT: Alveolar Kret Tepesi,
*p≤0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

Tablo 9. Alveolar Kemik Yıkım Alanının (mm²) Gruplar Arası Karşılaştırılması

Gruplar	n	\bar{x}	ss	sh	En düşük	En yüksek	p değeri
Ps	7	9,340	3,816	1,349	4,276	17,059	0,538
Pm	8	8,365	1,486	0,562	6,976	11,255	0,538
Toplam	15	8,885	2,912	0,751	4,276	17,059	0,538

\bar{x} :Ortalama, ss:Standart Sapma, sh:Standart Hata,

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

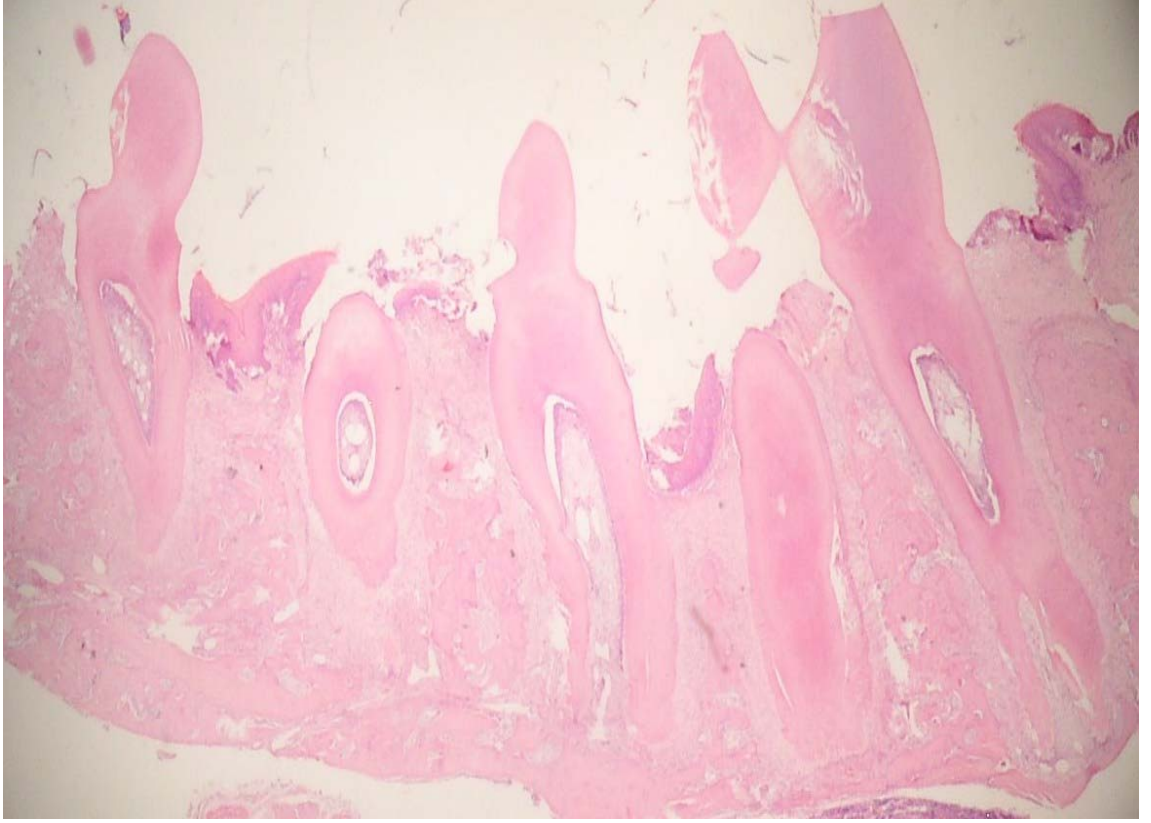
Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

*p≤0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık...

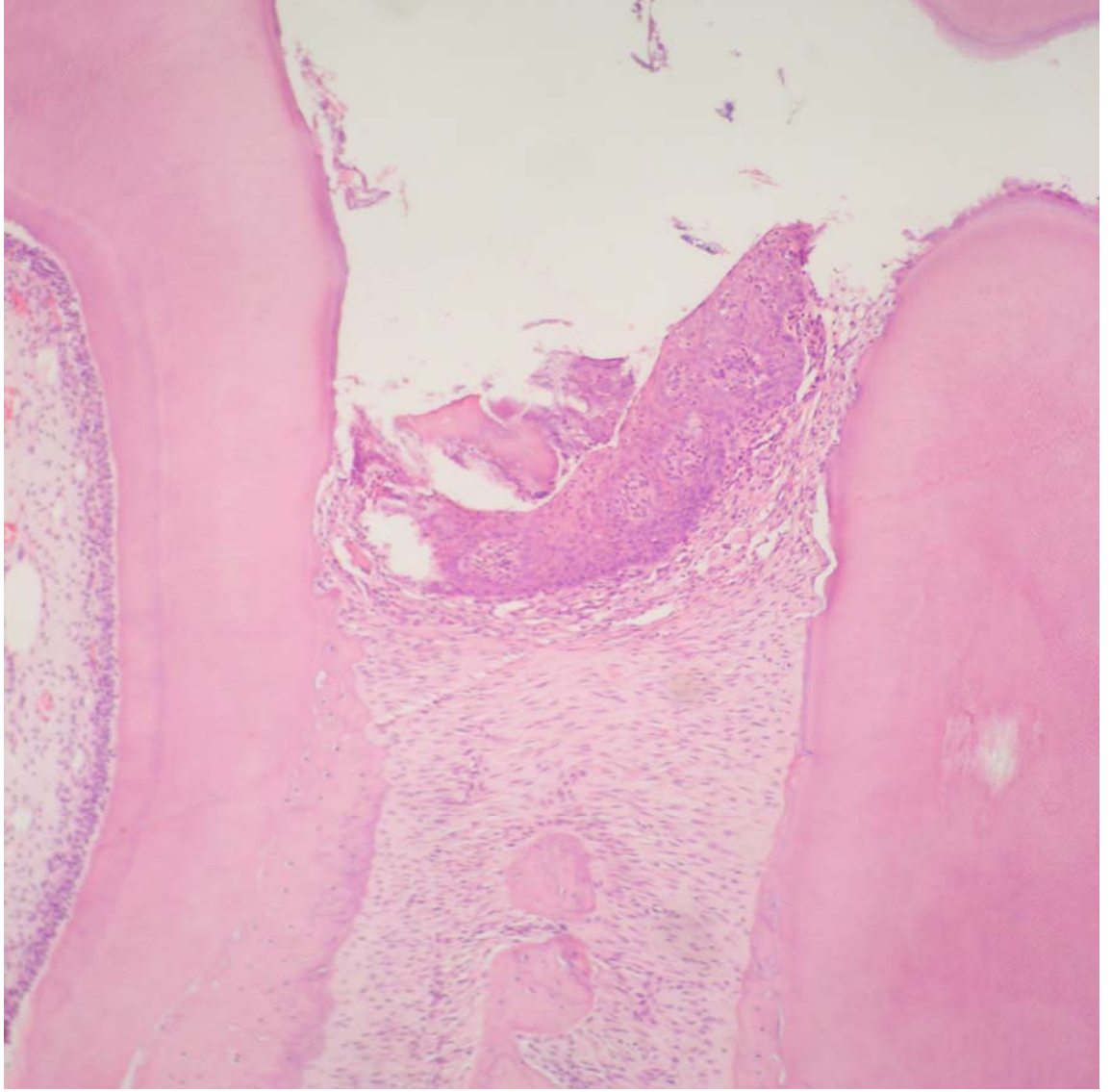
4.2. Histopatolojik Bulgular:

Yapılan incelemede;

Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan grupta (Grup Ps), epitelyal ataçmanın ileri seviyede kaybı (kökün orta üçlüsüne kadar göçü), şiddetli enflamasyon varlığı (Enflamatuvar Hücre Skorlaması 3), PMNL yoğunlukta olduğu (Akut enflamasyon) ve kemikte rezorpsiyon saptanmıştır (Resim 2, 3).

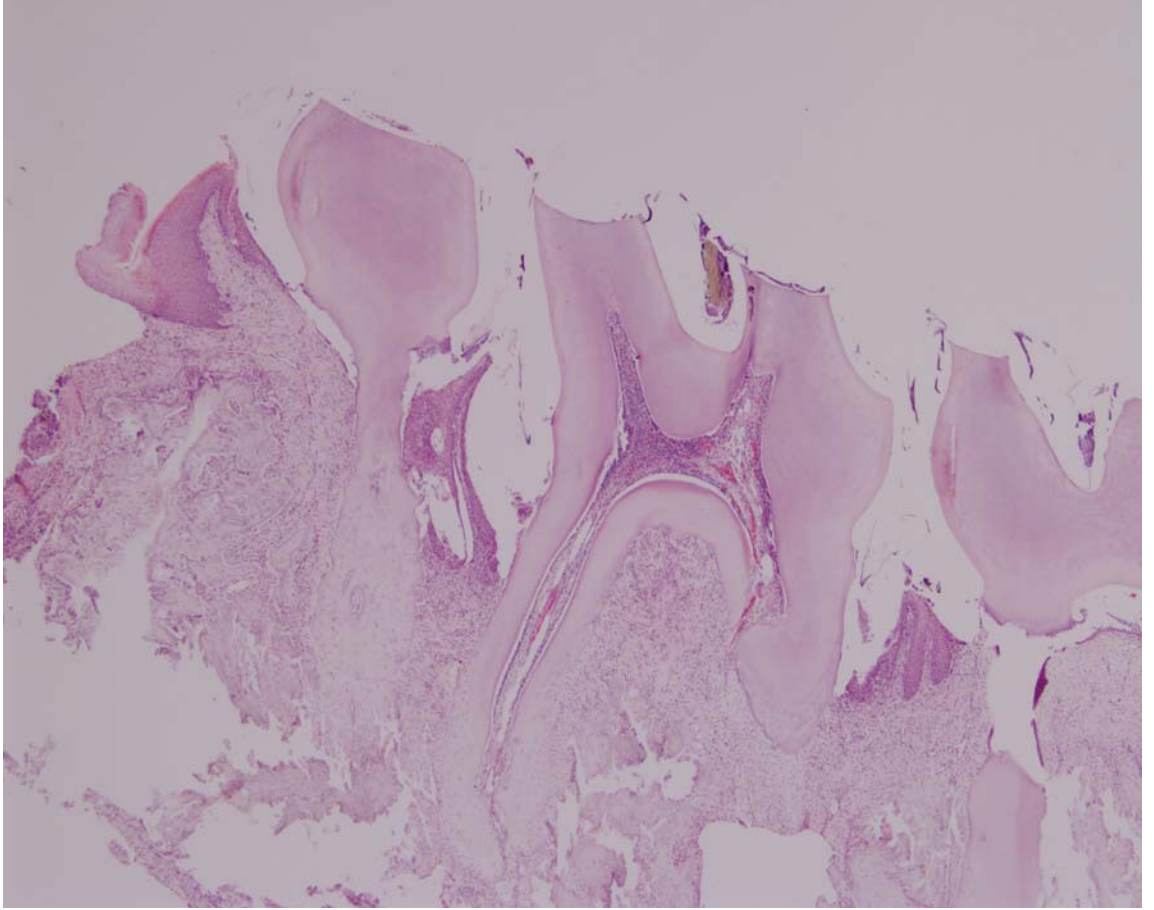


Resim 2: Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Ps grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 40).

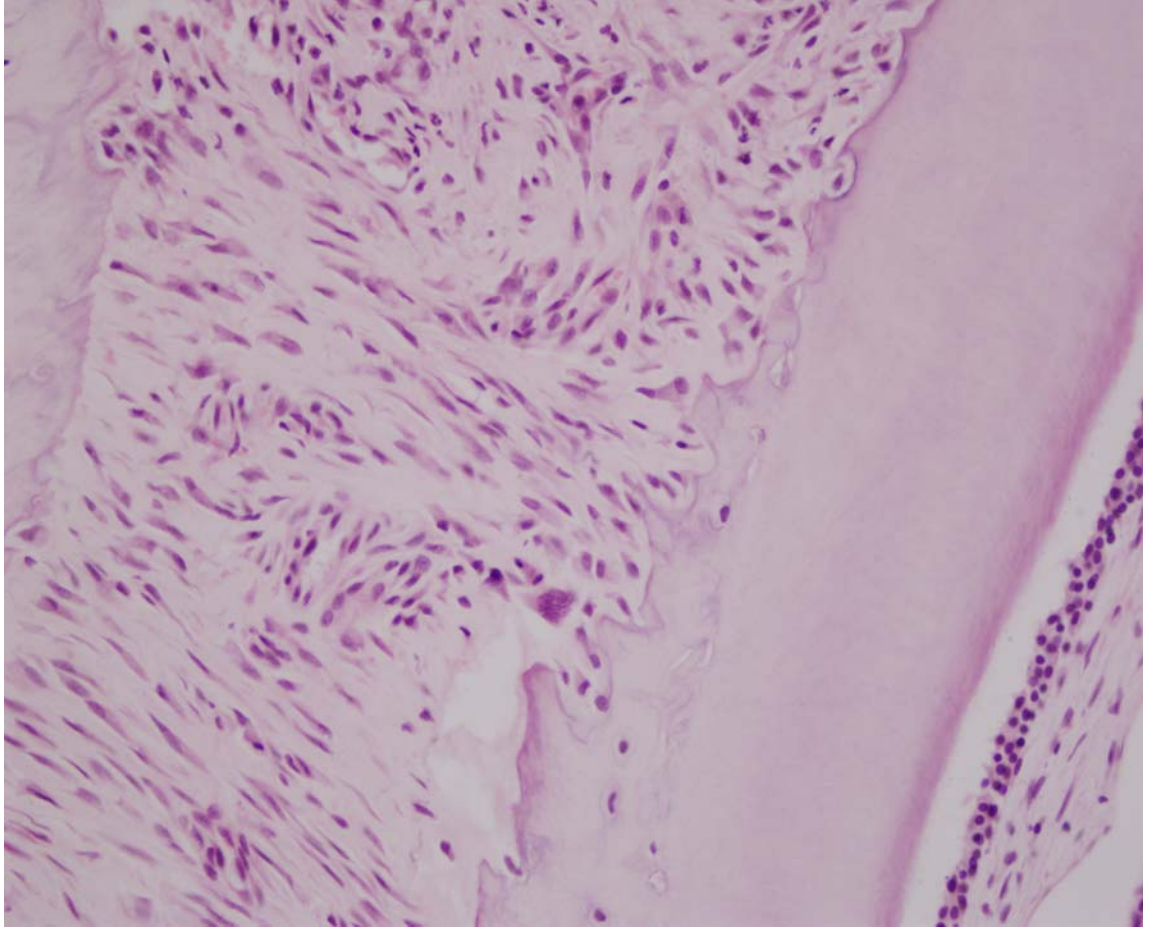


Resim 3: Deneysel periodontitis oluşturulan ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Ps grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 200).

Deneysel periodontitis oluşturulan ve günde bir doz i.p melatonin (10mg/kg/gün) uygulanan grupta (Grup Pm) epitelyal ataçmanın kökün 1/3 koronalini aştığı, şiddetli enflamasyon varlığı ((Enflamatuvar Hücre Skorlaması 3), PMNL ve lenfosit hücre varlığı (akut + kronik enflamasyon), kemikte rezorpsiyon saptanmıştır (Resim 4, 5).

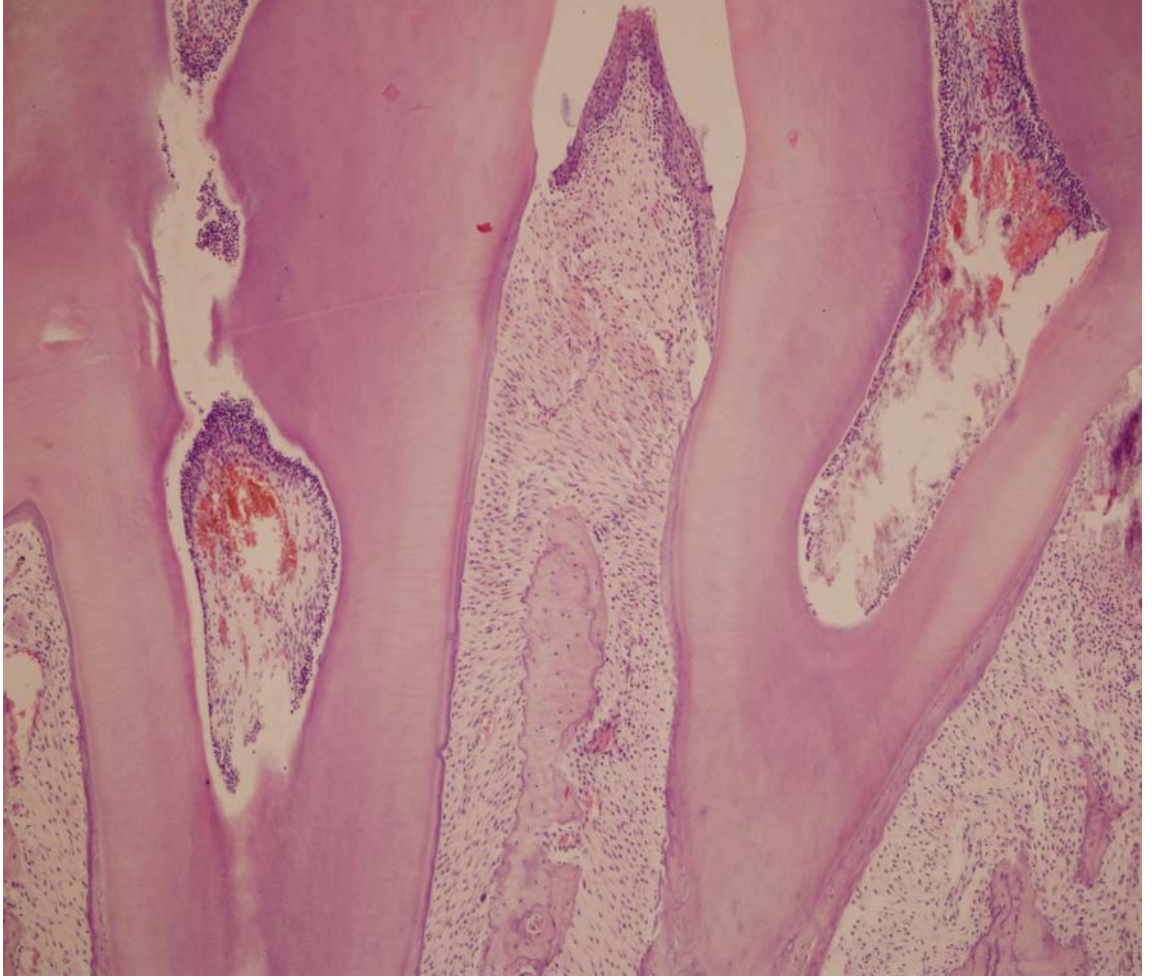


Resim 4: Deneysel periodontitis oluşturulan ve melatonin (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 40).

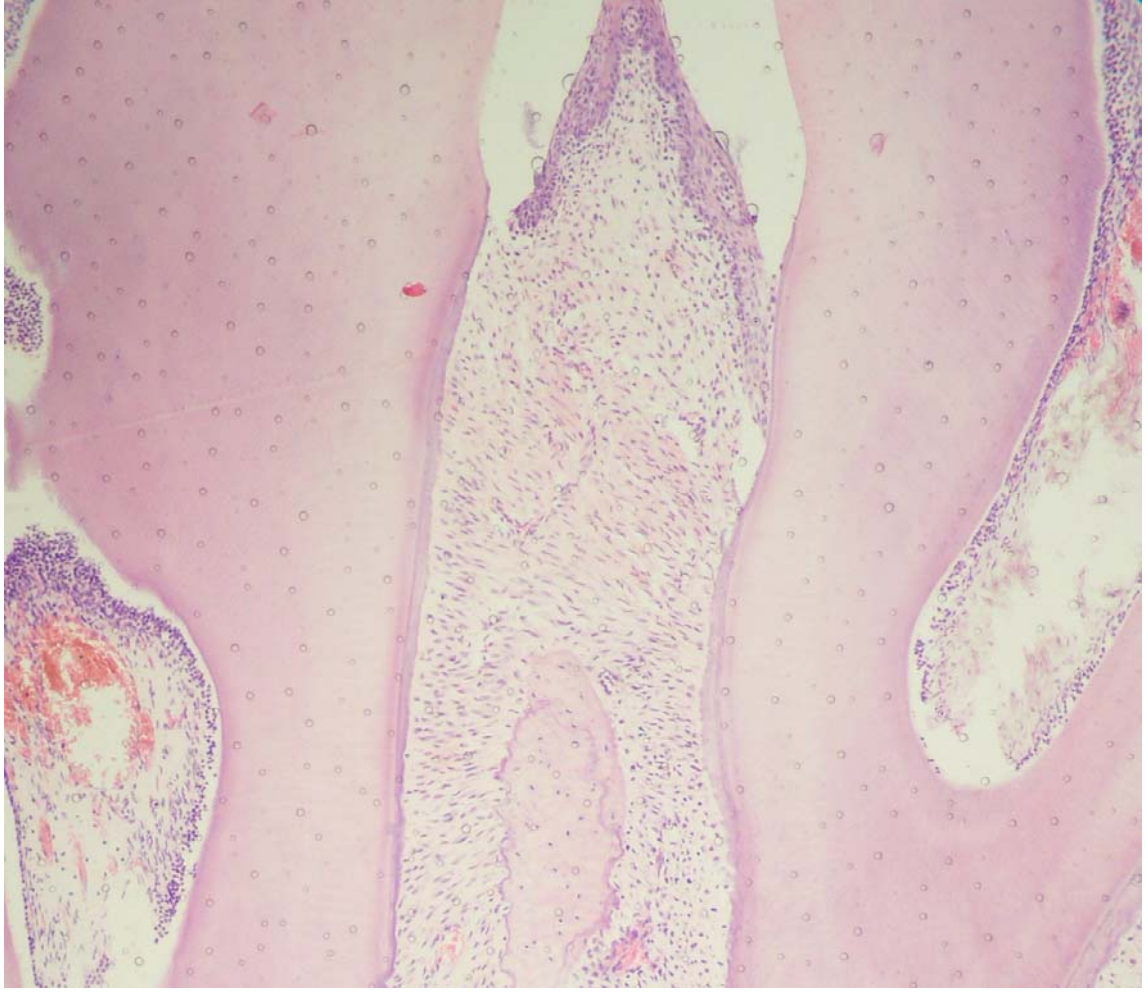


Resim 5: Deneysel periodontitis oluşturulan ve melatonin (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Pm grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 400).

Periodontal açıdan sağlıklı ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan grupta (Grup Ss), epitelyal ataçmanın kökün 2/3'lük kısmında olduğu, hafif enflamasyon varlığı (Enflamatuvar Hücre Skorlaması 1) ve PMNL hücre varlığı saptanmıştır (Resim 6,7).

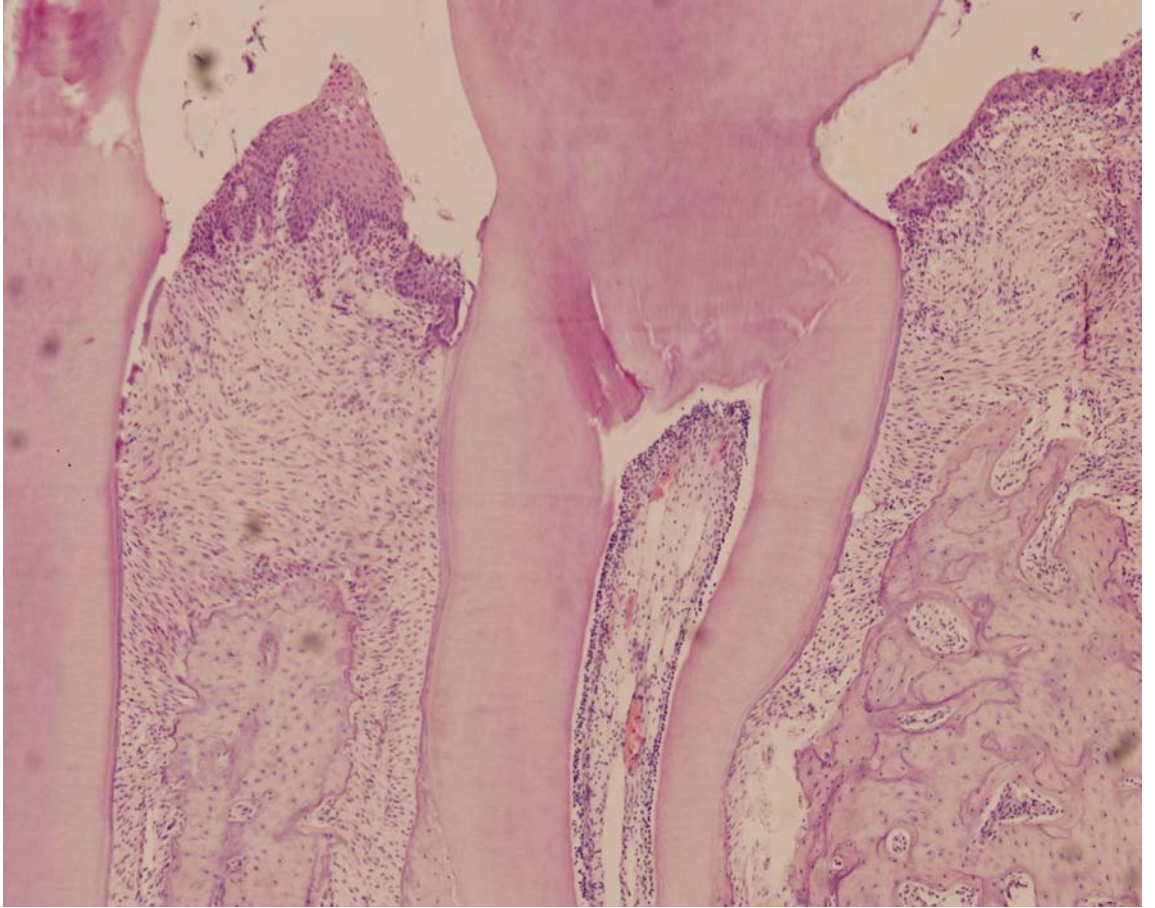


Resim 6: Periodontal açıdan sağlıklı ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Ss grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 100).

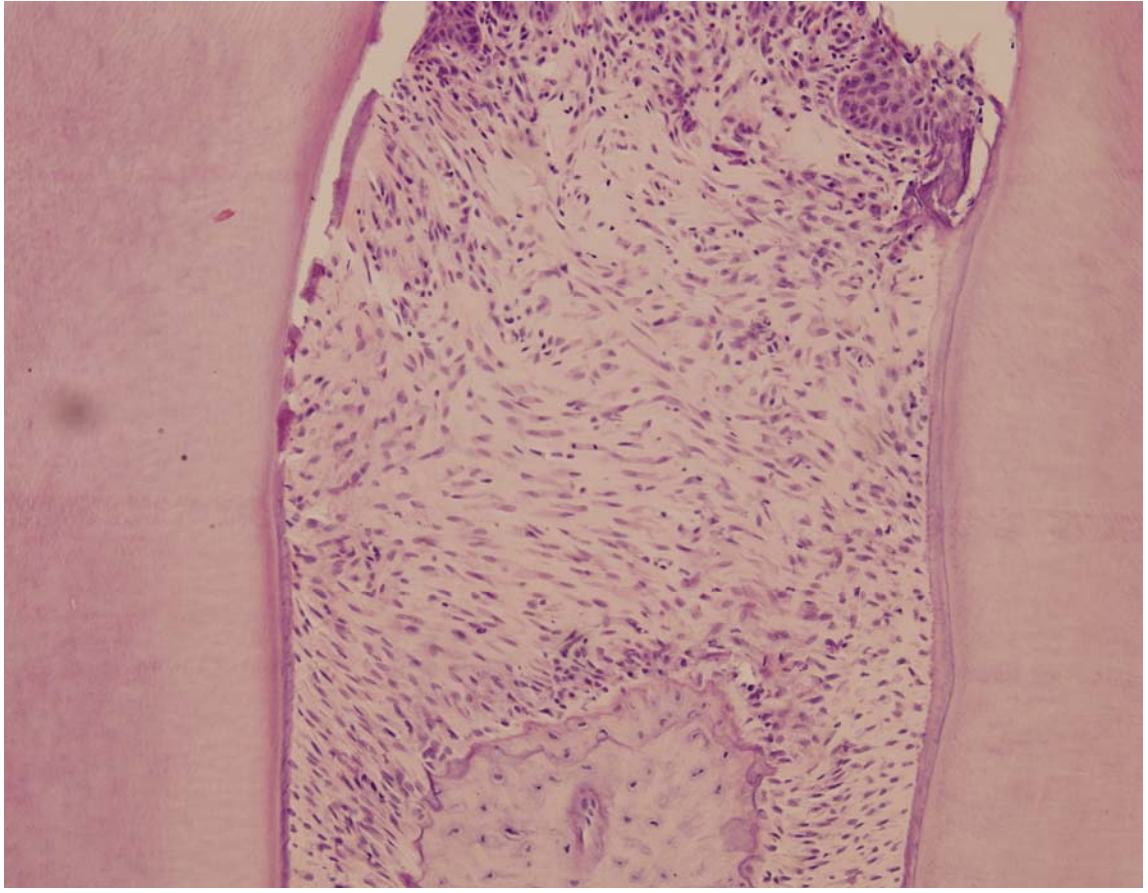


Resim 7: Periodontal açıdan sağlıklı ve serum fizyolojik (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Ss grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 200).

Periodontal açıdan sağlıklı ve 10 mg/kg/gün i.p melatonin uygulanan grupta (Grup Sm), epitelyal ataçman normal fizyolojik pozisyonunda, hafif enflamasyon varlığı (Enflamatuvar Hücre Skorlaması 1) ve PMNL hücre varlığı saptanmıştır (Resim 8,9).



Resim 8: Periodontal açıdan sağlıklı ve melatonin (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Sm grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 100).



Resim 9: Periodontal açıdan sağlıklı ve melatonin (10 mg/kg/gün i.p) uygulanan Sm grubuna ait histopatolojik kesit (H.E. X 200).

4.3. Serum MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri:

Çalışmamızda oluşturulan 4 gruba ait, sıçan serum örneklerinde SOD, GSH-Px enzim seviyeleri ve MDA seviyeleri Tablo 10 ve Tablo 11’de gösterilmiştir. Antioksidan enzimlerden olan SOD düzeyinin grup Ss’ye kıyasla grup Sm’de ve benzer şekilde grup Ps’ye kıyasla grup Pm’de istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı ($p \leq 0.05$). SOD enzim seviyesinin grup Pm’de en yüksek, grup Ps’de en düşük, GSH-Px enzim seviyesinin grup Sm’de en yüksek, grup Ps’de en düşük değere sahip olduğu belirlendi. MDA seviyesinin ise grup Ps’de en yüksek, grup Sm’de en düşük seviyede olduğu belirlendi (Tablo 10). SOD enzim seviyesinin gruplar arası karşılaştırmalarda grup Ss-Ps, Ss-Pm, Sm-Ps ve Ps-Pm arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark tespit edildi ($p \leq 0.05$), bununla birlikte Sm-Pm grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptandı. GSH-Px enzim seviyesinin grup Ss-Ps, Ss-Pm, Sm-Ps ve Sm-Pm arasında istatistiksel olarak farklıydı ($p \leq 0.05$). MDA seviyesi açısından grup Ss-Sm, Ss-Ps, Sm-Ps, Sm-Pm ve Ps-Pm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı, bununla birlikte grup Ss-Pm arasında anlamlı fark bulunamadı ($p \leq 0.05$) (Tablo 11).

Tablo 10. Serum MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri.

Gruplar	SOD (U/ml)	GSH-Px (U/ml)	MDA (μmol/ml)
Ss (n = 6)	10,15 \pm 0,34	399,37 \pm 82,99	2,58 \pm 0,19
Sm (n=7)	10,61 \pm 0,64	438,31 \pm 86,36	2,11 \pm 0,33
Ps (n=7)	9,94 \pm 0,49	263,37 \pm 87,01	2,84 \pm 0,18
Pm (n=8)	11,32 \pm 0,28	281,16 \pm 78,71	2,40 \pm 0,18
p değeri	0,000*	0,001*	0,000*

Ss: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

Sm: Sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

MDA: Malondialdehid

SOD: Süperoksit Dismutaz

GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir.

* $p \leq 0.05$ gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

Tablo 11. Serum MDA,SOD ve GSH-Px seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Gruplar	SOD (U/ml)		GSH-Px (U/ml)		MDA (μ mol/ml)	
	\bar{x} farkı \pm sh	p değeri	\bar{x} farkı \pm sh	p değeri	\bar{x} farkı \pm sh	p değeri
Ss-Sm	0,46 \pm 0,25	0,079	-17,78 \pm 46,82	0,707	0,46 \pm 0,13	0,001*
Ss-Ps	-0,71 \pm 0,23	0,006*	-174,94 \pm 43,55	0,001*	0,25 \pm 0,12	0,038*
Ss-Pm	0,67 \pm 0,24	0,010*	-135,99 \pm 44,97	0,006*	0,17 \pm 0,12	0,15
Sm-Ps	-1,17 \pm 0,24	0,000*	-157,15 \pm 45,44	0,002*	-0,72 \pm 0,12	0,000*
Sm-Pm	0,21 \pm 0,25	0,404	-118,20 \pm 46,81	0,019*	-29,02 \pm 0,13	0,029*
Ps-Pm	1,38 \pm 0,23	0,000*	38,94 \pm 43,55	0,38	0,43 \pm 0,12	0,001*

Ss: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

Sm: Sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

MDA: Malondialdehid

SOD: Süperoksit Dismutaz

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

\bar{x} farkı \pm sh: Ortalama Farkı \pm Standard Hata

*p \leq 0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

4.4. Serum Melatonin Seviyeleri:

Her 4 gruba ait serum melatonin seviyelerinin (pg/ml) ortalamaları değerlendirildiğinde, 4 grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p \leq 0.05$). Serum melatonin seviyelerine ait en yüksek ortalama Pm grubundayken, en düşük ortalama Ss grubundaydı (Tablo 12). Serum melatonin seviyesine yönelik yapılan gruplar arası değerlendirmede sadece grup Ss-Sm, Ss-Pm, arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p \leq 0.05$) (Tablo 13).

Tablo 12: Serum melatonin seviyeleri (pg/ml)

Gruplar	$\bar{X} \pm ss$	En düşük	En yüksek
Ss (n=6)	8,86 \pm 1,24	7,26	11,23
Sm (n=7)	10,01 \pm 1,09	9,12	11,92
Ps (n=7)	9,40 \pm 0,56	8,66	10,15
Pm (n=8)	10,16 \pm 0,84	8,66	11,16
p değeri	0,062	0,062	0,062

Ss: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

Sm: Sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

$\bar{X} \pm ss$: ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir.

*p \leq 0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

Tablo 13. Serum melatonin seviyeleri (pg/ml) gruplar arası karşılaştırılması.

Gruplar	\bar{x} farkı±sh	p değeri	En düşük	En yüksek
Ss-Sm	-1,15±0,53	0,040*	-2,26	-0,056
Ss-Ps	-0,54 ±0,51	0,300	-160	0,517
Ss-Pm	-1,30 ± 0,49	0,015*	-2,33	-0,28
Sm-Ps	-0,61±0,53	0,259	-0,48	1,71
Sm-Pm	-0,15±0,51	0,774	-1,22	0,91
Ps-Pm	-0,76±0,23	0,496	-1,79	0,25

Ss; sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

Sm; sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps; periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm; periodontitis+melatonin uygulaması.

\bar{x} farkı±sh: Ortalama fark± Standard hata

*p≤0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

4.5. Dişeti Melatonin Seviyeleri:

Her 4 gruba ait dişeti dokusu melatonin seviyelerinin (pg/mg protein) ortalamaları değerlendirildiğinde, 4 grup arasında da fark olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p \leq 0.05$). Dişeti dokusu melatonin seviyelerine ait en yüksek ortalama Sm grubundayken, en düşük ortalama Ps grubundaydı (Tablo 14). Dişeti dokusu melatonin seviyesine yönelik yapılan gruplar arası değerlendirmede grup Ss-Sm, Ss-Ps, Ss-Pm, Sm-Ps, Sm-Pm, Ps-Pm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p \leq 0.05$) (Tablo 15). Dişeti dokusu melatonin seviyelerinin gruplara göre dağılımı Şekil 9'da gösterildi.

Tablo 14. Dişeti dokusu melatonin seviyeleri (pg/mg protein).

Gruplar	$\bar{x} \pm ss$	En düşük	En yüksek
Ss (n=6)	186,80±10,37	177,21	196,41
Sm (n=7)	225,52±10,21	214,80	236,25
Ps (n=7)	74,67±3,72	71,56	77,80
Pm (n=8)	171,70±5,17	166,92	176,49
p değeri	0,000*		

Ss: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

Sm: Sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

$\bar{x} \pm ss$: Ortalama± standart sapma,

*p≤0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.

Tablo 15. Dişeti dokusu melatonin seviyelerinin (pg/mg protein) gruplar arası karşılaştırılması.

Gruplar	\bar{X} farkı \pmsh	p değeri	En düşük	En yüksek
Ss-Sm	-38,71 \pm 4,28	0,0001*	-50,55	-26,88
Ss-Ps	112,13 \pm 3,98	0,0001*	101,13	123,14
Ss-Pm	15,10 \pm 4,12	0,006*	3,74	26,47
Sm-Ps	150,85 \pm 4,16	0,0001*	139,37	162, 34
Sm-Pm	53,82 \pm 4,28	0,0001*	41, 99	65,65
Ps-Pm	-97,03 \pm 3,98	0,0001*	38,94	-108, 04

Ss: Sağlıklı+serum fizyolojik uygulaması.

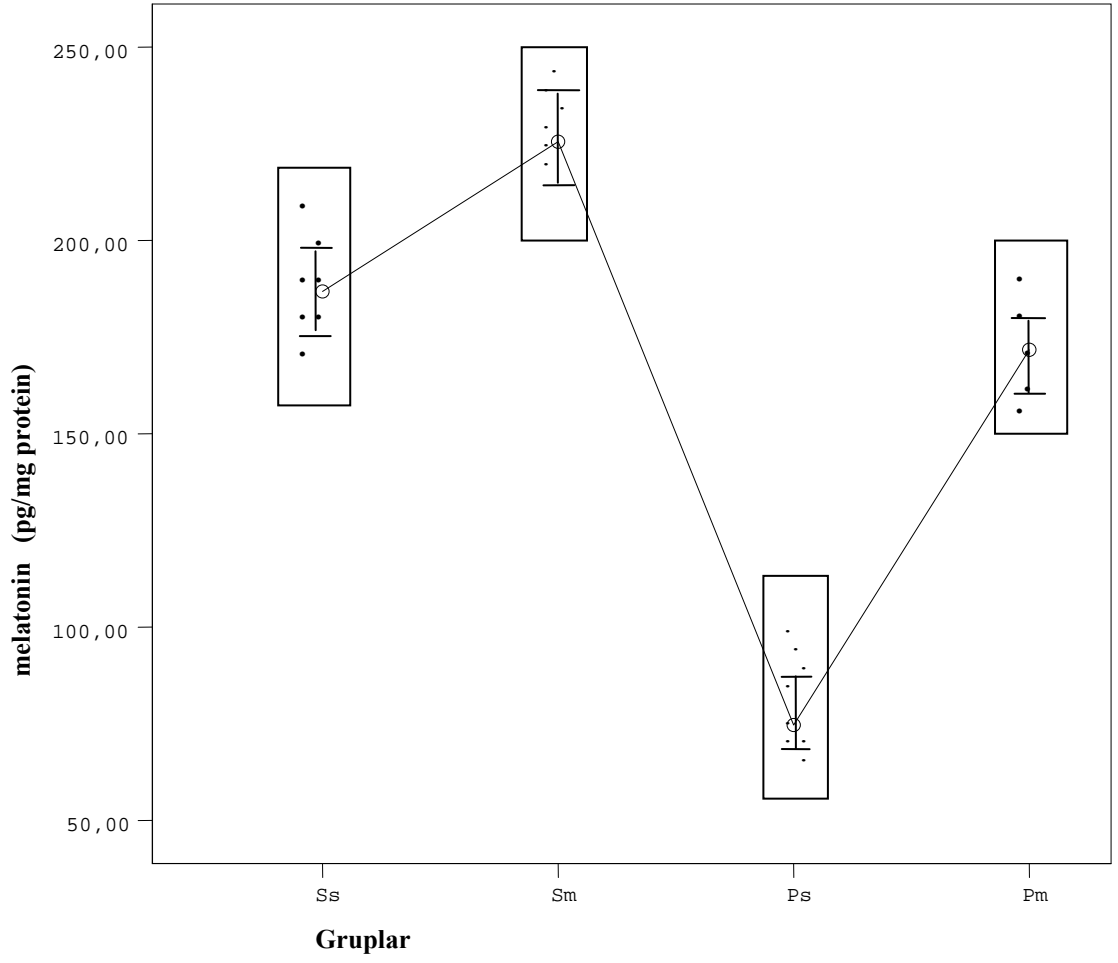
Sm: Sağlıklı+melatonin uygulaması.

Ps: Periodontitis+serum fizyolojik uygulaması.

Pm: Periodontitis+melatonin uygulaması.

\bar{X} farkı \pm sh: ortalama farkı \pm standart hata

*p \leq 0.05 gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık.



Şekil 8. Dişeti dokusu melatonin seviyelerinin gruplara göre dağılımı.

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalık dental plaktaki bakteriler ve bakteriyel ürünlerin neden olduğu, destek doku (kemik ve bağ dokusu) yıkımı ile karakterize kronik, enflamatuvar, enfeksiyöz bir hastalıktır (Loesche and Grossman 2001, Gaspersic et al., 2002, Gomez-Moreno et al., 2007). Toplumda enfeksiyöz hastalıklar arasında yüksek prevalansa sahip olan periodontal hastalık, özellikle ileri seviyede etkilenen bireylerde erken diş kayıplarına neden olmaktadır (Loesche and Grossman 2001). Klinik olarak periodontitiste, dişetinde enflamasyona ilave olarak ataçman kaybı, alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu görülmektedir. Periodontitisin histopatolojik karakteristiğinde periodontal cep oluşumu, birleşim epitelinin mine-sement sınırından apikale lokasyonu, cep epiteline komşu alanlarda kollajen fibril kaybı, kemik kaybı, birleşim ve cep epitelinde çok sayıda polimorfonükleer lökosit varlığı, plazma, lenfosit ve makrofajların varlığı görülmektedir. Periodontal hastalığın ilerlemesi bakteri ve bakteri ürünlerine karşı oluşan konak cevabına bağlıdır. Konağa bağlı doku yıkımında bakteriler ve ürünleri dokuda enflamatuvar cevabı indükleyerek, polimorfonükleer lökosit migrasyonuna, fibroblastlarda farklılaşmaya, makrofajların aktivasyonu ile İnterlökin-1 (IL-1), Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), prostoglandinler ve hidrolitik enzimler gibi bir takım ürünlerin salınımına neden olarak sert ve yumuşak doku yıkımı gerçekleşmektedir (Assuma et al., 1998, Silva et al., 2008,). Konak cevabı spesifik bakteriyel antijenlere karşı antikor ya da hücrel reaksiyonlar şeklinde gelişir. Bu reaksiyonlara bağlı olarak olayın lokalize kalması sağlanarak ciddi ve sistemik bir enfeksiyonun önüne geçilmektedir.

Periodontal hastalıkta oluşan reaktif oksijen ve nitrojen türlerindeki artışın periodontal dokulardaki oksidatif hasardan sorumlu olduğu düşünülmektedir (Kimura et al., 1993). ROT, organizmada fizyolojik olarak metabolik aktivite ve enerji üretilmesi sürecinde oluşmaktadır. Hücre bileşenlerinin oksidatif hasara uğratılmasında, immün sistem hücrelerinin antimikrobiyal ve sitotoksik etki göstermesinde, hücre içi ve hücreler arası sinyal iletimi ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde, reseptörlerin ve nükleer faktörlerin aktivasyonunda, hücre bileşenlerinin oksidatif hasara uğratılmasında, immün sistem hücrelerinin

antimikrobiyal etki göstermesinde ön plandadır. Ayrıca dejeneratif hastalık süreçlerinde de rol oynamaktadır. Bununla birlikte periodontal doku yıkımında, ROT'un etki derecesi tam olarak bilinmemektedir (Tan et al., 2002).

ROT ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki denge oksidanlar lehine bozulduğunda, ROT'lar lipit, protein, karbonhidrat ve DNA gibi biyomoleküller ile etkileşime girerek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olmaktadır (Gutteridge et al., 2000, Valko et al., 2007). Hücre zarı, içerdiği PUFA nedeniyle oksidatif hasara oldukça duyarlıdır. Yağ asidi zincirinden, ROT'ların etkisi ile hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin de radikal özelliği kazanmasına neden olur. LPO, PUFA'nın radikaller ile oksidasyonu sonucu başlar, LPO zincir reaksiyonları şeklinde devam eder ve sonucunda MDA, 4-hidroksinoneal (HNE), alkanlar, alkoller, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması ile etan, pentan gibi uçucu gazların oluşumu ile sonlanır. LPO sonucu membran bütünlüğü bozulur ve membran proteinleri, reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olurlar ve hücre komponentlerine zarar verirler (Gutteridge 1995, Erdal ve ark., 2005, Chapple 2006, Akalın ve ark., 2007). Genel olarak LPO ürünleri yüksek moleküler aktivitelerinden dolayı immün cevabın artmasına, fibrozis veya enflamasyona, tiyol içerikli enzimlerin etkisiz hale gelmesine, gen transkripsiyonuna veya apoptozisin tetiklenmesine yol açabilirler.

ROT'un periodontal hastalıktaki üretim mekanizması; bakterilerin öldürülmesi ve sindirilmelerine yardımcı, bakteriyel fagositoz ile proteolitik enzimlerin ve immün düzenleyici bileşiklerin sekresyonu gibi olayların birleşimi olarak tanımlanan 'respiratuvar patlama' olayına dayanır. Bu işlem sırasında non-mitokondriyal oksidatif metabolizmada bir artış olur ve sonucunda lökositlerin NAD(P)H-oksidad kompleksini yoluyla O_2^- ve diğer ROT'lar açığa çıkar (Matthews et al., 2007, Milward et al., 2007).

Periodontitiste ROT aktivitesine bağlı olarak NF- κ B aktivasyonu yoluyla sitokin stimülasyonu; IL-1, IL-6, TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu ve LPO yoluyla PGE₂ üretimi ve O_2^- salımı gibi mekanizmalar aracılığıyla doku harabiyeti geliştiği, antioksidanların oksidatif dengeyi koruyacak düzeyin altında kaldıkları ifade edilmektedir. Ayrıca periodontal hastalık varlığının

sistemik düzeyde enflamatuvar bir duruma neden olmasında ROT aktivitesinin önemli rol alabileceği düşünülmektedir (Chapple 2006).

Çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan deneysel periodontitiste melatonin uygulamasının, histomorfometrik ve histopatolojik olarak periodontal kemik yıkımına, serum MDA, SOD, GSH-Px enzim seviyelerine etkisinin değerlendirilmesi ve dişetindeki melatonin düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Ulaşılabilir kaynaklar göz önüne alındığında çalışmamız bu amaca yönelik ilk araştırmadır.

Literatürde hayvanlarda periodontitis oluşturulmasında çeşitli deneysel periodontitis modelleri yer almaktadır (Kuhr et al., 2004, Vardar-Sengul et al., 2008, Hastürk H et al., 2009). Bu modellerden biri ligatür uygulamasıdır (de Lima V et al., 2000). Bu modelde dentogingival alana yerleştirilen ligatür, plak formasyonu ve bakteri miktarını artıran bir faktör olarak plak-konak ilişkisinde etkili olmaktadır (Di Paola R et al., 2005, Toker ve ark., 2009).

İnsan hastalıklarının bir modeli olan hayvan çalışmalarında kaçınılmaz olarak limitasyonlar mevcuttur. Sıçanların molar dişleri insanlardaki molar dişler ile anatomik ve yapısal konfigürasyon olarak benzerdir. Ancak sıçanlardaki molar dişler küçüktür ve herhangi bir periodontal tedavi uygulamak oldukça zordur. Bu modelde uygulamanın kısa periyotta (≤ 15 gün) olması tavsiye edilmektedir (Kuhr , et al., 2004). Ek olarak periodontitisin indüklenmesini takiben doku travması ve mikrobiyal birikimin doku yıkım sürecini hızlandırması ile akut bir gidişat da söz konusu olabilmektedir. Lima et al. (2000) bu modelde, periodontitis indüklendikten 7 gün sonra anlamlı alveolar kemik kaybı olduğunu ve alveolar kemik kaybının 7. ve 11. günler arasında maksimum seviyeye ulaştığını rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada maksimum alveolar kemik kaybının ligatür yerleştirilmesinden 9 gün sonra meydana geldiği tespit edilmiştir (Sallay et al., 1982). Çalışmamızda sıçanlarda 3/0 ipek sütür ile oluşturulan deneysel periodontitis 14. günde değerlendirildi.

Sıçan çalışmalarında, özellikle ligatür indüklemesi ile oluşturulan deneysel periodontitiste, alveolar kemik kaybı değerlendirildiğinde kontrol ve ligatür grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu rapor edilmiştir (Semenoff et al., 2008, de Lima et al., 2000). Deneysel periodontitise bağlı kemik yıkımının değerlendirilmesinde bazı çalışmalarda mesafe ölçümü (Evans et al., 1992), bazılarında ise alan ölçümü metodu kullanılmıştır (Burckhardt et al., 1981). Kuhr et

al. (2004) ise deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlarda periodontal kemik yıkımının değerlendirilmesinde mesafe ölçümü (kemik yıkım alanında, mine–sement ve alveolar kemik kreti arasındaki mesafenin ölçülmesi) ve alan ölçümü (kemik kaybının görüldüğü kök yüzey alanlarının değerlendirilmesi) metodlarını beraber kullanarak kıyaslamışlardır. Bu çalışmada alan ölçüm metodunda kemik kaybının gruplar arası değerlendirilmesinde bulunan fark anlamlı değil iken, mesafe ölçüm metodunda gruplar arası fark anlamlı tespit edilmiştir. Bu farklı sonuçlar alan ölçümü metodunda ligatürün sıçanların 2. molar dişine uygulamasına rağmen ligatürün uygulanmadığı 1. molar dişin distal, 3. molar dişin mezialindeki bir kısım kemik alanının değerlendirilmiş olabileceği, mesafe ölçüm metodunda ligatürün uygulandığı ve uygulama dışındaki bölgelerde her dişe ait çok sayıda mesafe ölçümü yapılmasının, bölgelerin tam olarak değerlendirilmesine izin vermiş olabileceği şeklinde açıklanmıştır (Kuhr et al., 2004).

Çalışmamızda deneysel periodontitis oluşturduğumuz sıçanlarda alveolar kemiğin histomorfometrik değerlendirmesinde MSS-AKT arasındaki mesafe değerleri mm ve alveolar kemik yıkım alanları mm² olarak saptandı. Pm grubunda, hem mesafe ölçümü hem de alan ölçümü metodları ile Ps grubuna kıyasla daha düşük ortalama değerleri saptanmasına rağmen istatistiksel olarak gruplar arası önemli farklılık bulunmadı (p>0.05).

Literatürde, sıçanlarda deneysel periodontitiste histopatolojik olarak, birleşim epitelinin apikale migrasyonu, alveolar kemik rezorpsiyonu, PMNL infiltrasyonu ve enflamatuvar cevabın ilerleyişinin değerlendirildiği görülmektedir (Kaynak D ve ark., 2000, Lima et al., 2000, Kuhr ve ark., 2004, Grauballe et al., 2005, Tomofuji et al., 2008, Toker ve ark., 2008, Hastürk ve ark., 2009, Toker ve ark., 2009, Tomofuji et al., 2009, Bak et al., 2010).

Çalışmamızda da birleşim epitelinin apikale migrasyonu (birleşim epitelinin en apikal kısmı ve mine-sement birleşimi arasındaki mesafe), alveolar kemik rezorpsiyonunun derecesi (alveolar kemik kreti ve mine-sement birleşimi arasındaki mesafe) ve PMNL birikimi histopatolojik açıdan gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirildi.

Literatürde hayvanlarda deneysel periodontitiste Koenzim Q₁₀, propolis ve N-Asetilsistein, Vit+C, kakao ile zenginleştirilmiş diyet, proanthosiyanidin gibi antioksidanların etkilerinin değerlendirildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Shizukuishi et al., 1984, Toker ve ark., 2008, Tomofuji et al., 2008, Toker ve ark., 2009, Tomofuji et al., 2009, Govindaraj et al., 2010).

Melatonin de bir antioksidan olarak, serbest radikal temizleyici ve immunitiyi destekleyici özelliklere sahiptir (Ilanas et al., 1991). OH, ROO, H₂O₂ (Silenko et al., 1991, Zavodnik et al., 2006) ve O₂⁻ (Ilanas et al., 1991) gibi çeşitli ROT'ları direkt nötralize ettiği ve indirekt yolla enzimlerle etkileşime girerek NO ürün sentezini düzenlediği rapor edilmiştir (Beyer et al., 1998).

Deneysel periodontitis oluşturulan ve antioksidan olarak Vit C'nin uygulandığı bir çalışmada, sıçanlarda, kontrollere kıyasla, periodontitis ve periodontitis+Vit C grupları arasında birleşim epitelinin apikale migrasyonu ve alveolar kemik rezorpsiyonu açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. PMNL yoğunluğu açısından, periodontitis+Vit C grubunda, periodontitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Tomofuji et al., 2009). Toker ve ark. (2009) deneysel periodontitis oluşturdukları ratlarda NAS uygulaması ile gruplarda doza bağlı olarak enflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığını ancak bu azalmanın istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda histopatolojik olarak Ps ve Pm grupları arasında birleşim epitelinin apikale migrasyonu alveolar kemik rezorpsiyonu ve enflamatuvar infiltrat yoğunluğu benzer bulundu. Ancak enflamatuvar hücrelerin çeşitliliği değerlendirildiğinde Pm grubunda hem PMNL'ler hem de lenfositler görüldü. PMNL'lerin Ps grubunda Pm grubuna kıyasla önemli derecede yoğun olduğu dikkat çekti. Ss ve Sm gruplarında birleşim epitelinin apikal migrasyonu ve alveolar kemik kaybı yoktu ve enflamatuvar infiltrat açısından çok az sayıda PMNL varlığı ile periodontitis gruplarından farklılık sergilediler. Dolayısıyla literatür bilgileri ve çalışmamız bulguları ışığında uygulanan bu farmakolojik dozda melatoninin sıçanlarda deneysel periodontitiste enflamatuvar hücre infiltratında PMNL yoğunluğunu azalttığı ancak alveolar kemik yıkımını engellemede çok etkili olamadığı söylenebilir.

Sıçanlarda melatoninin yüksek dozda (50 mg/kg) vücut ısısını düşürücü, düşük dozda (25 µg) ise vücut ısısını arttırıcı bir etki göstermektedir ve hipertermik etki hipotermik etkiye göre daha uzun sürmektedir (Yönel ve ark., 1996). Sahna et al. (2005) çalışmalarında 10 mg/kg melatoninin in vivo İskemi/Reperfüzyon'da infarkt alanını ve miyokarda oksidatif stresi anlamlı düzeyde azalttığını belirlemiştir. Melatoninin farmakolojik dozu olan 1-10 mg arasında kullanılması ile hem in vivo hem de in vitro olarak lipid peroksidasyonunun ve nükleer DNA'da oksidatif hasarın azaldığı tespit edilmiştir (Reiter 1998). Sıçanlar ile yapılan birçok deneysel çalışmada melatoninin 10 mg/kg'lık dozu tercih edilmiştir (Raghaverda et al., 2000, Öztürk ve ark., 2002, Ayata ve ark., 2004, Armağan ve ark., 2006, Oktem ve ark., 2006). Bu nedenle biz de çalışmamızda melatoninin 10 mg/kg dozda uyguladık. Bu çalışmada melatoninin doza bağlı etkisi ile ilgili bir yaklaşımda bulunulmadı.

ROT biyomoleküller üzerine etkisiyle hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere yol açar ve non-enzimatik LPO'nun son ürünü olarak MDA oluşur. MDA membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da iyon geçirgenliğinin, enzim aktivitesinin ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerinin değişimiyle sonuçlanır. MDA bu özelliği nedeniyle DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir. MDA patofizyolojik olarak, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, GSH S-transferaz ve GSH redüktaz gibi enzimleri inaktive edebilmesinin yanısıra protein sentezini inhibe edebilir (Moore et al., 1998). Ayrıca MDA, LPO ve prostaglandin biyosentezinin doğal bir ürünü olan, mutajenik ve karsinojenik bir alkoksil radikalidir ve peroksidasyon düzeyinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır (Marnett et al., 1999). MDA'dan başka LPO göstergeleri HNE ve TBARS (Tiobarbitürik Reaktif Substans) olarak ifade edilmektedir (Erdal ve ark., 2005, Panjamurthy et al., 2005, Borges et al., 2007). Literatürde periodontitiste oksidatif stresle ilişkili LPO ve TBARS seviyelerinin değerlendirildiği çok sayıda çalışma mevcuttur (Del Rio et al., 2005, Akalın ve ark., 2007, Borges et al., 2007, Kurtis ve ark., 2007, Tüter ve ark., 2007, Guentsch et al., 2008, Fentoğlu ve ark., 2010, Wei et al., 2010). Literatürde MDA düzeylerinin periodontal hastalık durumunun şiddeti ile ilişkili olarak arttığı rapor edilmiştir (Akalın ve ark., 2007, Khalili and Biloklytska 2008,

Wei et al., 2010). Çalışmamızda da oksidatif stres belirteci olarak serum MDA düzeyleri değerlendirildi.

Fizyolojik olarak metabolik aşamalarda O_2^- radikalinin oluşumu oldukça fazladır. SOD enzimi O_2^- radikalinin, hücre içi konsantrasyonunu düşük düzeylerde tutarak hücreleri olumsuz etkilerinden korur. Bu şekilde hücredeki LPO da inhibe edilir. Ayrıca SOD enzimi, O_2^- radikalinin H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalizlemekte ve O_2^- düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol üstlenmektedir (Gürdal ve Ademoğlu 2005). Periodontitisli hastalarda SOD aktivitesinin, oksidatif stresle ilişkili olarak arttığı bilinmesine rağmen SOD düzeylerinin periodontitis şiddeti ile ilişkilendirildiği çalışmalarda farklı sonuçlar rapor edilmiştir (NA et al., 2005, Akalın ve ark., 2005, Toklu ve ark., 2006, NA et al., 2006, Agnihotri et al., 2009, Wei et al., 2010). NA et al. (2005) SOD seviyesinin periodontitislilerde kontrollere kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirirken, Akalın FA ve ark. (2009) yüksek periodontal parametrelere sahip bireylerde düşük SOD seviyesi rapor etmişlerdir.

GSH-Px, H_2O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesinden sorumludur. GSH'nin GSSG haline dönüştüğü reaksiyonda GSH-Px enzimiyle H_2O_2 H_2O 'ya indirgenmiş olur (Gürdal ve Ademoğlu 2005). Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu görevi antioksidan enzimler olan GSH-Px ve KAT yerine getirir (Gutteridge et al., 1990, Imlay et al., 1988, Winterbourn 1995). Ortamda H_2O_2 düşük konsantrasyonda bulunduğu GSH-Px enzimi KAT enzimine göre daha etkili bir antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H_2O_2 artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır (Urso and Clarkson 2003). Literatürde periodontitisle ilişkili olarak GSH-Px enziminin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (Panjamurty et al., 2005, Borges et al., 2007, Sobaniec et al., 2007, Guentsch et al., 2008, Tonguç ve ark., 2011). Panjamurty et al. (2005) periodontitisli hastalarda sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında GSH-Px'in de içinde yer aldığı enzimatik antioksidan seviyesinin anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Wei PF et al. (2004) GSH-Px miktarının, periodontitiste sağlıklılarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Sobaniec et al. (2007) GSH-Px seviyesinde periodontal

hastalıklı bireylerde sağlıklılar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalma olduğunu saptamışlardır.

Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik dozda GSH-Px, SOD ve KAT enzim aktivitesini ve gen ekspresyonunu arttırdığı ifade edilmektedir (Reiter et al., 1995, Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000, Oktem ve ark., 2005). Bu nedenle çalışmamızda melatoninin etki ettiği rapor edilmiş antioksidan enzimlerden SOD ve GSH-Px değerlendirildi.

Melatoninin radyasyona bağlı oksidatif stresle ilişkili doku hasarı üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda, melatonin uygulaması ile doku örneklerinde MDA düzeylerinde azalma saptanırken, antioksidan enzim düzeylerinin arttığı ya da azaldığı bildirilmiştir (Ayata ve ark., 2004, Öktem ve ark., 2005).

Diabetik sıçanlarda testis dokularında melatoninin etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, melatonin uygulanan grupta MDA seviyesinin azaldığı ancak bunun anlamlı olmadığı, GSH-Px seviyesinin değişiklik göstermediği ancak SOD ve KAT'ın anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. (Armağan ve ark., 2006).

Başka bir çalışmada sıçan hipokampus hasarında melatonin uygulamasıyla SOD, GSH-Px aktivitelerinin arttığı, MDA seviyelerinin ise anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Kuş ve ark., 2007). Sıçanlarda, akut/kronik melatonin uygulamalarında beyin dokusu Mn-SOD ve CuZn-SOD sentezi artarken bu yolla oksidatif hasara karşı beyin dokusunun korunduğu, anne sıçana verilen melatoninin plasentadan geçebildiği ve fetus beyininde SOD aktivitesini arttırdığı ifade edilmiştir (Thomas et al., 1998).

Cutando et al. (2007b) diş çekimini takiben soket içerisine lokal melatonin uygulamışlar ve melatoninin diş çekimi sonrası artan plazma LPO ve NO seviyelerinin ve GSSG/GSH oranının normal değerlere dönmesinde restoratif etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, dental implantların osseointegrasyonunda topikal melatonin uygulaması yeni kemik formasyonunda, kemik densitesinde, implantın temasta olduğu kemikte anlamlı artışa neden olmuştur (Cutando et al., 2008, Koyama et al., 2002, Calvo-Guirado et al., 2010). Benzer bir çalışmada topikal melatonin uygulamasının osseointegrasyonda yeni kemik formasyonunu anlamlı şekilde arttırdığı ve topikal melatonin uygulamasının dental implant

yerleştirilmesinde biomimetik ajan olarak hareket edebileceği ileri sürülmüştür (Guardia et al., 2009).

Çalışmamızda deneysel periodontitisin MDA düzeyini arttırdığı, antioksidan enzimlerden SOD ve GSH-Px düzeylerinde azalmaya yol açtığı saptandı. Melatonin uygulamasıyla deneysel periodontitiste MDA düzeylerinde anlamlı azalma belirlendi. SOD düzeylerinin melatonin uygulanan gruplarda uygulanmayanlara kıyasla, anlamlı şekilde arttığı görüldü. GSH-Px seviyeleri, melatonin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak önemli olmasa da yüksekti.

Bu bulgular, melatoninin hem direkt yolla ROT üzerinde süpürücü etki göstererek, hem de indirekt olarak antioksidan enzim seviyesini arttırmak suretiyle oksidatif stresi ve ilişkili hasarı, azaltabileceğini desteklemiştir (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000, Oktem ve ark., 2005). SOD enziminin melatonin uygulananımla önemli yükselişi, periodontitis varlığında melatoninin SOD sentezini önemli derecede arttırdığı fikrini kuvvetlendirmektedir (Beyer et al., 1998, Reiter et al., 2000). Ancak ek olarak deneysel periodontitiste, melatonin uygulamasının antioksidan enzimlerin kullanımı miktarında farklılık oluşturabileceği de düşünölmelidir.

Melatonin yüksek lipofilik yapısı sayesinde organizmadaki hücreler arası matrikse ve hücrelerin tüm fraksiyonlarına kolaylıkla ulaşabilmektedir (Reiter 1993). Yapılan çalışmalarda beyin çeşitli alanlarında, kan damarlarında, ovaryumlarda, bağırsaklarda ve karaciğerde melatonin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Melatonin pineal bezden salgılanmasını takiben dolaşım yolu ile hedef hücrelerdeki membran reseptörlerine bağlanmaktadır (Brzezinski 1997, Yazıcı ve Köse 2004).

Melatonin kana geçişinden sonra pasif difüzyonla salyaya ve daha sonra oral kaviteye geçmektedir (Cutando et al., 2007a). Plazma melatonininin yaklaşık % 70'i albumine bağlanmaktadır. Özellikle sistemik etki açısından yüksek miktardaki albumine bağlı melatoninin önemli olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca bu durum melatoninin salyaya serbest difüzyonunu azaltmaktadır (Cutando et al., 2003).

Literatürde serum ve salya melatonin düzeyleri ile periodontal durum arasındaki ilişkinin değerlendirildiği ve farklı sonuçların rapor edildiği, az sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Cutando et al. (2003, 2006) yaptıkları iki çalışmada CPI

(Community Periodontal Index) indeksi değerindeki artış ile plazma melatonin düzeylerinin arttığını, salya melatonin düzeylerinin plazma değerleriyle paralel olduğunu rapor etmişlerdir. Melatonin düzeylerinde periodontal hastalığın ilerlemesiyle meydana gelen yükselişin enflamatuvar süreç ile ilişkili olabileceğine ve melatoninin koruyucu rolüne dikkat çekilmiştir. Farklı olarak Gomez-Moreno et al. (2007) periodontal hastalığın varlığında salya melatonin seviyelerinin azaldığını ve plazma melatonin seviyelerindeki değişiklikle benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada periodontal hastalığın şiddeti ile salya melatonin düzeyleri arasında negatif ilişki rapor edilmiştir (Cutando et al., 2006). DOS melatonin düzeyleri ise salya melatonin düzeylerinden oldukça düşüktür ve periodontitis varlığı ile daha da azalmaktadır (Srinath et al., 2010).

Literatürde melatonin düzeyleri, serum/plazmanın yanı sıra enflamasyon varlığında çeşitli dokularda da değerlendirilmiştir. Lardone et al. (2006) farelerde timus, dalak ve karaciğerde melatonin varlığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada ilgili dokulardaki melatonin konsantrasyonu ile oksidatif hasar şiddeti arasında ters ilişki tespit edilmiştir. Bubenik et al. (1998) domuzlarda şiddetli mide ülseri varlığında kan plazma ve mide dokularında melatonin konsantrasyonunun anlamlı olarak düşük seviyede olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda Cutando et al. (2003,2006) çalışmaları ile uyumlu olarak deneysel periodontitiste serum melatonin düzeylerinin arttığı, ilave verilen melatonin ile artışın belirginleştiği görüldü. Bilindiği kadarıyla çalışmamız dişetinde melatonin varlığı ve düzeylerinin belirlendiği ilk araştırmadır. Bütün deneklerde dişetinde melatonin saptandı. Literatürde yer alan farklı dokularda yapılmış çalışma bulgularına benzer olarak deneysel periodontitiste, ilave melatonine rağmen sağlıklı kontrollere kıyasla dişeti melatonin düzeylerinin daha düşük olduğu belirlendi. Bu bulgular, oksidatif stresin kontrolünde görev alan melatoninin doku konsantrasyonunun lokal enflamasyonda düştüğünü ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda sıçanlardan elde edilen dişeti miktarının az olması nedeniyle dişetinde, oksidatif stres parametrelerine ilişkin bir değerlendirme yapılamadı. Ayrıca periodontitis yıkım şiddetine bağlı oksidatif hasar artışının doku melatonin düzeyine olabilecek etkileri de çalışmamız kapsamında değerlendirilmedi.

Literatürde melatonin uygulaması ile kütanöz kızarıklık, abdominal kramp, başağrısı epizodları (Papavasiliou et al., 1972) ateş, titreme, atralji, myalji, lökopeni ve hepatik enzimlerin az miktarda geri dönüşümlü yükselişi yan etkiler olarak rapor edilmiştir (Neri 1994). Çalışmamızda sıçanlarda melatonine bağlı herhangi bir yan etki saptanmadı. Fakat ölüm nedenini tespit edemediğimiz birisi Ss diğeri Ps grubunda olmak üzere 2 adet sıçan kaybedildi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızın bulguları,

Farmakolojik dozajda melatonin uygulaması ile periodontal yıkımda histopatolojik ve histomorfometrik olarak farklılık saptanmamasına rağmen, melatoninin MDA seviyesini azaltmak ve antioksidan enzim seviyesini arttırmak suretiyle oksidatif stresi ve ilişkili hasarı azaltabileceğini desteklemiştir.

Melatoninin endojen olması, toksik olmaması, vücut sıvılarına hızlı bir şekilde difüze olması, tüm hücre kompartmanlarına penetre olması, in vivo olarak potent olması, özellikle yüksek toksik etkiye sahip OH için güçlü bir nötralize edici olması ve pro-oksidan olayda yer almadan antioksidan enzimleri stimule etmesi (Cutando et al., 2006) gibi sahip olduğu önemli fonksiyonları oral sağlığın geliştirilmesinde kullanılabileceği fikrini akla getirmektedir.

Özellikle periodontal hastalıkta melatonin, ROT oluşumuna bağlı hasarın azaltılması, plak mikroorganizmalarınca baskılanmış immün cevabın uyarılması ve sonuçta alveolar kemik kaybının sınırlandırılmasında potansiyel bir ajan olarak düşünülebilir.

Bununla birlikte melatoninin etkinliğine ilişkin farklı dozajlardaki uygulamalarının değerlendirildiği az sayıda çalışma vardır. Dolayısıyla melatoninin farklı dozaj uygulamalarının değerlendirildiği ek çalışmalara yapılabilir.

ÖZET

Deneyisel Periodontitiste Melatoninin Periodontal Kemik Yıkımı ve Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi

Bu çalışmanın amacı sıçanlarda oluşturulan deneyisel periodontitiste melatoninin, periodontal kemik yıkımına, serum malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim seviyelerine etkisinin değerlendirilmesi ve dişetindeki melatonin düzeylerinin saptanmasıdır.

Çalışmada, 30 Wistar-albino cinsi, erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Sağlıklı(S) serum fizyolojik(s), S melatonin(m), Periodontitis(P)s ve Pm olarak 4 gruba ayrıldı, Histomorfometrik ve histopatolojik değerlendirme için sıçan doku örnekleri alındı. MDA, SOD, GSH-Px ve melatonin düzeylerini belirlemek için serum örnekleri toplandı. Melatonin düzeylerini belirlemek için dişeti dokusu toplandı.

Histopatolojik ve histomorfometrik olarak Ps ve Pm grupları benzerdi. Ancak PMNL yoğunluğu Pm grubunda Ps grubundan daha azdı. SOD ve GSH-Px seviyeleri P gruplarında S gruplarına göre daha düşük iken, MDA düzeyi S gruplarına göre P gruplarında daha yüksekti. Melatonin uygulaması MDA düzeylerinde azalmaya, SOD ve GSH-Px düzeylerinde artışa yol açtı. Dişeti melatonin seviyeleri Ps grubunda anlamlı olarak düşük belirlendi.

Çalışmamız deneyisel periodontitiste, melatoninin direkt ROT üzerinde süpürücü etkisi, indirekt olarak antioksidan enzim seviyesini arttırması ve enflamasyonda melatonin doku konsantrasyonunun azalması nedeniyle, melatoninin oksidatif stresi ve ilişkili hasarı, azaltabileceğini desteklemiştir.

Anahtar sözcükler: Deneyisel periodontitis, antioksidan enzimler, melatonin.

ABSTRACT

The Effect of Melatonin on Periodontal Bone Destruction and Oxidative Stress Parameters in Experimental Periodontitis

The purpose of this study was to evaluate the effect of melatonin on periodontal bone destruction and serum malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and determine the level of gingiva melatonin in experimental rat periodontitis.

In the study, 30 Wistar Albino male rats were used. Rats were divided into 4 groups as Healthy(S) saline solution(s), Melatonin(m), Periodontitis(P)s and Pm. Rat tissue samples were obtained for histomorphometric and histopathologic evaluation. Serum samples were collected in order to determine levels of MDA, SOD, GSH-Px and melatonin. Gingival tissues were gathered to determine the levels of melatonin.

Ps and Pm groups were similar in histopathological and histomorphometric evaluation. However PMNL density in Pm group was lower than Ps group. While SOD and GSH-Px levels in P groups were lower than S groups. MDA levels were higher in P groups when compared with S groups. Melatonin was led to a decrease in MDA levels and an increase in SOD and GSH-Px levels. Gingival melatonin levels were determined significantly lower in Ps group.

Our study supported that melatonin by virtue of its ability to directly scavenges ROS, indirectly stimulates antioxidant enzymes and decrease of tissue concentration levels of melatonin in inflammation, melatonin may reduce oxidative stress and associated damage in experimental periodontitis.

Keywords: Experimental periodontitis, antioxidant enzymes, melatonin.

KAYNAKLAR

Agnihotri R, Pandurang P, Kamath S, Goyal R. Association of cigarette smoking with superoxide dismutase enzyme levels in subjects with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009 April; 80: 657-62.

Akalın FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol*. 2005 Mar; 32(3): 238-243.

Akalın FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2007 Jul; 34(7): 558-65.

Akalın FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in pregnant women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009; 80(3): 457-467.

Altınışik M. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar, www.mustafaaltinisik.org.uk (Erişim Tarihi 17. 03.2010).

Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002; 29: 177-206.

Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res*. 2003; 34(1): 1-10.

Araya AV, Pavez V, Perez C, Gonzalez F, Columbo A, Aguirre A, Schiattino I, Aguilon JC. Ex vivo lipopolysaccharide (LPS)-induced TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and PGE2 secretion in whole blood from Type 1 diabetes mellitus patients with or without aggressive periodontitis. *Eur Cytokine Netw*. 2003; 14(3): 128-133.

Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Ozcelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl*. 2006 Sep; 8(5): 595-600. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988; 29(2): 205-229.

Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Ozcelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl*. 2006; 8(5): 595-600.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 1-6.

- Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol.* 1998; 160(1): 403-409.
- Ayata A, Mollaoglu H, Yilmaz HR, Akturk O, Ozguner F, Altuntas I. Oxidative stress-mediated skin damage in an experimental mobile phone model can be prevented by melatonin. *J Dermatol.* 2004 Nov; 31(11): 878-83.
- Bak EJ, Park HG, Kim M, Kim SW et al. The effect of metformin on alveolar bone in ligature-induced periodontitis in rats: a pilot study. *J Periodontol.* 2010; 81: 412-9.
- Bascones A, Gamonal J, Gomez M, Silva A, Gonzalez MA. New knowledge of the pathogenesis of periodontal disease. *Quintessence Int.* 2004; 35(9): 706-716.
- Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999; 10(4): 458-476.
- Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol.* 2005; 76(11 Suppl): 2089-2100.
- Bettahi I, Guerrero JM, Reiter RJ, Osuna C. Physiological concentrations of melatonin inhibit the norepinephrine-induced activation of prostaglandin E2 and cyclic AMP production in rat hypothalamus: a mechanism involving inhibition of nitric oxide synthase. *J Pineal Res.* 1998; 25(1): 34-40.
- Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin--an emerging mystery. *Biochem Pharmacol.* 1998; 56(10): 1265-1272.
- Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. The influence of diet consistency, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontol Res.* 2003; 38(6): 543-550.
- Blach A, Franek E, Witula A, Kolonko A, Chudek J, Drugacz J, Wiecek A. The influence of chronic periodontitis on serum TNF-alpha, IL-6 and hs-CRP concentrations, and function of graft and survival of kidney transplant recipients. *Clin Transplant.* 2009; 23(2): 213-219.
- Borges I, Jr., Moreira EA, Filho DW, de Oliveira TB, da Silva MB, Frode TS. Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm.* 2007; 2007: 457-494.
- Boyce BF, Schwarz EM, Xing L. Osteoclast precursors: cytokine-stimulated immunomodulators of inflammatory bone disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2006; 18(4): 427-432.
- Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, Byrne B, Glickman G, Gerner E, Rollag MD. Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor. *J Neurosci.* 2001; 21(16): 6405-6412.

- Brusco LI, Marquez M, Cardinali DP. Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin: Case report. *J Pineal Res.* 1998; 25(4): 260-263.
- Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med.* 1997; 336(3): 186-195.
- Bubenik GA, Ayles HL, Friendship RM, Brown GM, Ball RO. Relationship between melatonin levels in plasma and gastrointestinal tissues and the incidence and severity of gastric ulcers in pigs. *J Pineal Res.* 1998 Jan; 24(1): 62-6.
- Burckhardt JJ, Gaegauf-Zollinger R, Guggenheim B. Development of immunological sensitization and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with *Actinomyces viscosus*. *Infect. Immun* 1981; 31: 971-977.
- Cajochen C, Krauchi K, Wirz-Justice A. Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *J Neuroendocrinol.* 2003; 15(4): 432-437.
- Calvo-Guirado JL, Ramírez-Fernández MP, Gómez-Moreno G, Maté-Sánchez JE, Delgado-Ruiz R, Guardia J, López-Marí L, et al. Melatonin stimulates the growth of new bone around implants in the tibia of rabbits. *J Pineal Res.* 2010 Nov; 49(4): 356-63.
- Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine and Malondialdehyde and its Relationship with Antioxidant Enzymes in Saliva of Periodontitis Patients. *Europe Journal of Dentistry.* 2009 April; 3; 100-106.
- Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, Cutrera RA, Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res.* 2003; 34(2): 81-87.
- Chapple IL. Oxidative stress, nutrition and neutrogenomics in periodontal health and disease. *Int J Dent Hyg* 2006; 4 Suppl 1:15-21; discussion 50-2.
- Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(5): 287-296.
- Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect. *J Clin Periodontol* 2007; 34(2): 103-10
- Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR et al. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem.* 1997; 34(Pt 4): 412-421.
- Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol* 2000 2007; 43: 160-232
- Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med.* 1993; 14(3): 191-7.

- Cutando A, Arana C, Gómez-Moreno G, Escames G, López A, Ferrera MJ, Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D. Local application of melatonin into alveolar sockets of beagle dogs reduces tooth removal-induced oxidative stress. *J Periodontol.* 2007b Mar;78(3): 576-83.
- Cutando A, Galindo P, Gomez-Moreno G, Arana C, Bolanos J, Acuna-Castroviejo D et al. Relationship between salivary melatonin and severity of periodontal disease. *J Periodontol.* 2006; 77(9): 1533-1538.
- Cutando A, Gomez-Moreno G, Arana C, Acuna-Castroviejo D, Reiter RJ. Melatonin: potential functions in the oral cavity. *J Periodontol.* 2007a; 78(6): 1094-1102.
- Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Muñoz F, Lopez-Peña M, Stephenson J, Reiter RJ. Melatonin stimulates osteointegration of dental implants. *J Pineal Res.* 2008 Sep; 45(2): 174-9. Epub 2008 Feb 19.
- Cutando A, Gomez-Moreno G, Villalba J, Ferrera MJ, Escames G, Acuna-Castroviejo D. Relationship between salivary melatonin levels and periodontal status in diabetic patients. *J Pineal Res.* 2003; 35(4): 239-244.
- D'Aiuto F, Graziani F, Tete S, Gabriele M, Tonetti MS. Periodontitis: from local infection to systemic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2005; 18(3 Suppl): 1-11.
- de Lima V, Bezerra MM, de Menezes Alencar VB, Vidal FD, da Rocha FA, de Castro Brito GA et al. Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108(2): 123-129.
- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15(4): 316-28
- Di Paola R, Mazzon E, Zito D, Maiere D, Britti D, Genovese T et al. Effects of Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005 Oct; 32(10): 1062-8.
- Draper, HH ,M Hadley. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186 (421-431).
- Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, Baybaş S. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. *Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi* 2005; 18(3): 129-135.
- Erlich SS, Apuzzo ML. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. *J Neurosurg.* 1985; 63(3): 321-341.
- Eun Jung Bak, Hong Gyu Park, Minyoung Kim, Sung Whan Kim, Sungwuk Kim, Seong-Ho Choi, Jeong-Heon Cha and Yun-Jung Yoo. The effect of metformin on alveolar bone in ligature-induced periodontitis in rats: a pilot study. *J Periodontol* 2010; 81(3): 412-9.

- Evans RT, Klausen B, Sojar HT, Bedi GS, Sfintescu C, Ramamurthy NS, Golub LM, and Genco RJ. Immunization with *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriae protects against periodontal destruction. *Infect. Immun.* 1992; 60: 2926-2935.
- Favaron PO, Mancanares CA, De Carvalho AF, Ambrosio CE, Leiser R, Miglino MA. Gross and microscopic anatomy of the pineal gland in *Nasua nasua-coati* (Linnaeus, 1766). *Anat Histol Embryol.* 2008; 37(6): 464-468.
- Fentoğlu O, Oz G, Taşdelen P, Uskun E, Aykaç Y, Bozkurt FY: Periodontal status in subjects with hyperlipidemia. *J Periodontol*; 2009 Feb; 80(2): 267-73.
- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999; 4: 32-38.
- Gaggl AJ, Rainer H, Grund E, Chiari FM. Local oxygen therapy for treating acute necrotizing periodontal disease in smokers. *J Periodontol.* 2006; 77(1): 31-38.
- Gajardo M, Silva N, Gomez L, Leon R, Parra B, Contreras A, Gamonal J. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. *J Periodontol.* 2005; 6(2): 289-294.
- Garcia-Maurino S, Gonzalez-Haba MG, Calvo JR, Rafii-El-Idrissi M, Sanchez-Margalet V, Goberna R, Guerrero JM. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4+ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *J Immunol.* 1997; 159(2): 574-581.
- Garcia-Maurino S, Pozo D, Calvo JR, Guerrero JM. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines. *J Pineal Res.* 2000; 29(3): 129-137.
- Garfinkel D, Laudon M, Nof D, Zisapel N. Improvement of sleep quality in elderly people by controlled release melatonin. *Lancet.* 1995, 346/89743(541-544).
- Gaspersic R, Stiblar-Martincic D, Skaleric U. Influence of restraint stress on ligature-induced periodontitis in rats. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110(2): 125-129.
- Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J.* 1996; 10(8): 891-896.
- Gomez-Moreno G, Cutando-Soriano A, Arana C, Galindo P, Bolanos J, Acuna-Castroviejo D, Wang HL. Melatonin expression in periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2007; 42(6): 536-540.
- Gonzalez-Haba MG, Garcia-Maurino S, Calvo JR, Goberna R, Guerrero JM. High-affinity binding of melatonin by human circulating T lymphocytes (CD4+). *FASEB J.* 1995; 9(13): 1331-1335.

Gorgun FM, Ozturk Z, Gumustas MK, Kokoglu E. Melatonin administration affects plasma total sialic acid and lipid peroxidation levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J Toxicol Environ Health A*. 2002; 65(10): 695-700.

Govindaraj J, Emmadi P, Deepalakshmi, Rajaram V, Prakash G, Puvanakrishnan R.

Protective effect of proanthocyanidins on endotoxin induced experimental periodontitis in rats. *Indian J Exp Biol*. 2010 Feb; 48(2): 133-42.

Grauballe MC, Bentzen BH, Bjornsson 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.

Guardia J, Gómez-Moreno G, Ferrera MJ, Cutando A. Evaluation of Effects of Topic Melatonin on Implant Surface at 5 and 8 Weeks in Beagle Dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2009 Aug 3.

Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig*. 2008 Dec; 12(4): 345-52.

Guerrero JM, Pozo D, Garcia-Maurino S, Osuna C, Molinero P, Calvo JR. Involvement of nuclear receptors in the enhanced IL-2 production by melatonin in Jurkat cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 917: 397-403.

Guerrero JM, Reiter RJ, Ortiz GG, Pablos MI, Sewerynek E, Chuang JI. Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Pineal Res*. 1997; 23(1): 24-31.

Gustafsson A, Asman B. Increased release of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc delta-receptor stimulation. *J Clin Periodontol*. 1996; 23(1): 38-44.

Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995; 41(12 Pt 2): 1819-1828.

Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 899: 136-147.

Gutteridge JM, Maitl L, Poyer L. Superoxide dismutase and Fenton chemistry. Reaction of ferric-EDTA complex and ferric-bipyridyl complex with hydrogen peroxide without the apparent formation of iron(II). *Biochem J*. 1990; 269(1): 169-174.

Gürdal F, Ademoğlu E. Biokimya. Nobel Kitap Evi. 746-747, 2005

Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994; 344(8924): 721-724.

- Halliwell B. Superoxide dismutase: a contaminant of bovine catalase. *Biochem J.* 1973 Oct;135(2): 379-81.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992; 119(6): 598-620.
- Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev.* 1993; 17(3): 347-357.
- Hasturk H, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Kantarci A. 1-Tetradecanol complex: therapeutic actions in experimental periodontitis. *J Periodontol.* 2009;80(7): 1103-1113.
- Herrera D, Roldan S, Gonzalez I, Sanz M. The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings. *J Clin Periodontol.* 2000a;27(6):387-394.
- Herrera D, Roldan S, Sanz M. The periodontal abscess: a review. *J Clin Periodontol.* 2000b; 27(6): 377-386.
- Hughes FJ, Syed M, Koshy B, Bostanci N, McKay IJ, Curtis MA, Marcenes W, Croucher RE. Prognostic factors in the treatment of generalized aggressive periodontitis: II. Effects of smoking on initial outcome. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(9): 671-676.
- Holmes AL, Gilbert S S, Dawson D. Melatonin and zopiclone: the relationship between sleep propensity and body temperature. *Sleep.* 2002; 25(3): 301-6.
- Ianas O, Olinescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie.* 1991; 29(3-4): 147-153.
- Imlay JA, Chin SM, Linn S. Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro. *Science.* 1988; 240(4852): 640-642.
- İsbir T. Antioksidan Sistemler. Endotel. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu.1994; 92-98.
- Jan JE, Espezel H, Appleton RE. The treatment of sleep disorders with melatonin. *Developmental Medicine and Child Neurology.* 1994; 36(2): 97-107.
- Juranek I, Bezek S. Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species--cause or consequence of tissue injury? *Gen Physiol Biophys.* 2005; 24(3): 263-278.
- Kalsbeek A, Buijs RM. Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting. *Cell Tissue Res.* 2002; 309(1): 109-118.
- Kaynak D, Meffert R, Gunhan M, Gunhan O, Ozkaya O. A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase

following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol.* 2000; 71(5): 790-796.

Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Diseases* 2008 November; 14(8): 754–760.

Khan AU, Kasha M. Singlet molecular oxygen in the Haber-Weiss reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(26): 12365-12367.

Kimura S, Yonemura T, Kaya H. Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 1993; 28(3): 197-203.

Kinane DF. Aetiology and pathogenesis of periodontal disease. *Ann R Australas Coll Dent Surg.* 2000; 15:42-50.

Klein DC, Roseboom PH, Coon SL. New light is shining on the melatonin rhythm enzyme: the first postcloning view. *Trends Endocrinol Metab.* 1996; 7(3): 106-112.

Klouché K, Morena M, Canaud B, Descomps B, Beraud JJ, Cristol JP. Mechanism of in vitro heme-induced LDL oxidation: effects of antioxidants. *Eur J Clin Invest.* 2004 Sep; 34(9): 619-25.

Knight JA. Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Ann Clin Lab Sci.* 2000; 30(2): 145-158.

Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res.* 1998; 24(2): 83-89.

Koyama H, Nakade O, Takada Y, Kaku T, Lau KH. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(7): 1219-1229.

Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1992 Jun; 200(2): 248-54. Review.

Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004 Apr; 39(2): 101-6.

Kurtis B, Tüter G, Serdar M, Pinar S, Demirel I, Toyman U. Gingival crevicular fluid prostaglandin E(2) and thiobarbituric acid reactive substance levels in smokers and non-smokers with chronic periodontitis following phase I periodontal therapy and adjunctive use of flurbiprofen. *J Periodontol.* 2007 Jan; 78(1): 104-11.

Kuş İ, Zararsız İ, Ögetürk M, Yılmaz HR. Formaldehit nörotoksitesine bağlı hipokampusta gelişen oksidatif hasar ve melatonin hormonunun koruyucu etkisi: deneysel bir çalışma. *Fırat Tıp Dergisi* 2007; 12(4): 256-260.

- Laakso ML, Porkka-Heiskanen T, Alila A, Stenberg D, Johansson G. Correlation between salivary and serum melatonin: dependence on serum melatonin levels. *J Pineal Res.* 1990; 9(1): 39-50.
- Lagneux C, Joyeux M, Demende P, Ribant C, Godin-Ribuot D. Protective effect of melatonin against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Life Sci* 2000; 66: 503-9.
- Lam MA, Pattison DI, Bottle SE, Keddie DJ, Davies MJ. Nitric oxide and nitroxides can act as efficient scavengers of protein-derived free radicals. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21(11): 2111-2119.
- Lardone PJ, Alvarez-García O, Carrillo-Vico A, Vega-Naredo I, Caballero B, Guerrero JM et al. Inverse correlation between endogenous melatonin levels and oxidative damage in some tissues of SAM P8 mice. *J Pineal Res.* 2006 Mar; 40(2): 153-7.
- Lardone PJ, Carrillo-Vico A, Naranjo MC, De Felipe B, Vallejo A, Karasek M, et al. Melatonin synthesized by Jurkat human leukemic T cell line is implicated in IL-2 production. *J Cell Physiol.* 2006; 206(1): 273-279.
- Lerner AB, Case JD, Mori W, Wright MR. Melatonin in peripheral nerve. *Nature.* 1959; 183:1821.
- Leutner S, Eckert A, Muller WE. ROS generation, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the aging brain. *J Neural Transm.* 2001;108(8-9):955-967.
- Lewis DF, Arendt J, English J. Quantitative structure-activity relationships within a series of melatonin analogs and related indolealkylamines. *J Pharmacol Exp Ther.* 1990 Jan; 252(1): 370-3.
- Lins RD, Figueiredo CR, Queiroz LM, da Silveira EJ, Freitas Rde A. Immunohistochemical evaluation of the inflammatory response in periodontal disease. *Braz Dent J.* 2008; 19(1): 9-14.
- Liochev SI, Fridovich I. The Haber-Weiss cycle -- 70 years later: an alternative view. *Redox Rep.* 2002; 7(1): 55-57; author reply 59-60.
- Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O, Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. *Nat Immun.* 1998; 16(1): 1-5.
- Lissoni P, Barni S, Cazzaniga M, Ardizzoia A, Rovelli F, Brivio F et al. Efficacy of the concomitant administration of the pineal hormone melatonin in cancer immunotherapy with low dose IL-2 in patients with advanced solid tumours who had progressed on IL-2 alone. *Oncology.* 1994; 51(4): 344-7.
- Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14(4): 727-752, table of contents.

- Maestroni GJ. The immunotherapeutic potential of melatonin. *Expert Opin Investig Drugs*. 2001; 10(3): 467-476.
- Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 7-19.
- Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res* 1999; 424(12): 83-95
- Martin M, Macias M, Escames G, Leon J, Acuna-Castroviejo D. Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J*. 2000; 14(12): 1677-1679.
- Martin V, Herrera F, Carrera-Gonzalez P, Garcia-Santos G, Antolin I, Rodriguez-Blanco J, Rodriguez C. Intracellular signaling pathways involved in the cell growth inhibition of glioma cells by melatonin. *Cancer Res*. 2006; 66(2): 1081-1088.
- 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(2): 255-64.
- Mayo JC, Sainz RM, Tan DX, Hardeland R, Leon J, Rodriguez C et al. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol*. 2005; 165(1-2): 139-149.
- Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008; 15(2): 135-141.
- Mickels N, McManus C, Massaro J, Friden P, Braman V, D'Agostino R, Oppenheim F, Warbington M, Dibart S, Van Dyke T. Clinical and microbial evaluation of a histatin-containing mouthrinse in humans with experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2001; 28(5): 404-410.
- Miller SC, Pandi-Perumal SR, Esquifino AI, Cardinali DP, Maestroni GJ. The role of melatonin in immuno-enhancement: potential application in cancer. *Int J Exp Pathol*. 2006; 87(2): 81-87.
- Milward MR, Chapple IL, Wright HJ, Millard JL, Matthews JB, Cooper PR. Differential activation of NF-kappaB and gene expression in oral epithelial cells by periodontal pathogens. *Clin Exp Immunol*. 2007 May; 148(2): 307-24.
- Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Immunity and inflammation in *Carranza's Clinical Periodontology* in Miyasaki KT, Nisengard RJ, Haake SK. Eds. 9th Ed., USA: W.B. Saunders Company, 2002: p. 113-130.
- Moller M, Baeres FM. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res*. 2002; 309(1): 139-150.

- Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron*. 1997; 76(3): 345-350.
- Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF, Munoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J Pineal Res*. 1998; 25(2): 94-100.
- Moore K, Roberts LJ, 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28(6): 659-71.
- Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res*. 1994; 21(6): 417-425.
- Morrow JD, Chen Y, Brame CJ, Yang J, Sanchez SC, Xu J et al Roberts LJ. The isoprostanes: unique prostaglandin-like products of free-radical-initiated lipid peroxidation. *Drug Metab Rev*. 1999; 31(1): 117-139.
- Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY. Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*. 2002; 65(4): 305-311.
- Na HJ , Kim OS, Chung HJ, Differential Expression of Superoxide Dismutase Isoforms in Inflammatory Periodontal Disease *Periodontal Research - Pathogenesis*. Abstract. The Preliminary Program for 24th Annual Academic Session and the 22nd General Meeting. November 30, 2005. Chonnm Natinal University, Gwangju, South Korea.
- Na HJ, Kim OS, Park BJ. Expression of superoxide dismutase isoforms in inflamed gingiva. *J Korean Acad Periodontol*. 2006; 36: 97-112.
- Nakade O, Koyama H, Ariji H, Yajima A, Kaku T. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J Pineal Res*. 1999; 27(2): 106-110.
- Neri B, Fiorelli C, Moroni F, Nicita G, Paoletti MC, Ponchieatti R et al. Modulation of human lymphoblastoid interferon activity by melatonin in metastatic renal cell carcinoma a phase 2 study. *Cancer*. 1994; 73(12); (3015-3019).
- Newman M. Genotype and clinical management of periodontitis. *Compend Contin Educ Dent*. 2001; 22(2 Spec No): 12-16.
- Offenbacher S, Beck JD, Moss K, Mendoza L, Paquette DW, Barrow DA, et al. Results from the Periodontitis and Vascular Events (PAVE) Study: a pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *J Periodontol*. 2009; 80(2): 190-201.

Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H, Koyu A, Uz E. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res*. 2005 Jul-Aug; 36(4): 350-5.

Oktem F, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Dünder B. Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006; Jan-Feb; 33(1-2): 95-101.

Onat T, Emerk K, Sönmez EY, İnsan biyokimyası. Palma yayıncılık Ankara 2002
487-488.

Ozturk G, Coskun Ş, Erbaş D, Altunkaynak B. Effect of Melatonin Treatment on Serum and Tissue Zinc Levels in Rats. *The Journal of Trace Elemental in Experimental Medicine*. 2002; 15: 1-8.

Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG, Guerrero JM, Agapito MT, Chuang JI, Sewerynek E. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochem Int*. 1998; 32(1): 69-75.

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 216-248.

Paglia, DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158-169.

Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. *J Pineal Res*. 1998; 24(2): 96-101.

Palaoğlu ÖS ve Beşkonaklı E. Pineal Gland and Aging. *Geriatrici* 1 (1): 13-18, 1998.

Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2005; 10(2): 255-64.

Papavasiliou PS Cotzias GC Duby SE Steck AJ Bell M et al. Melatonin and Parkinsonism. *Journal of American Medical Association* 1972; 3: 221(88).

Peskin AV. Interaction of reactive oxygen species with DNA. A review. *Biochemistry (Mosc)*. 1997; 62(12): 1341-1347.

Petrie K, Dawson AG, Thompson L, Brook R. A double-blind trial of melatonin as a treatment in international cabin crew. *Biological Psychiatry*. 1993 April 1; 33 (7): 526-30. *J Biol Chem*. 1999. 30; 274(31): 22041-22047.

Pierrefiche G, Topall G, Courboin G, Henriët I, Laborit H. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1993; 80(2): 211-223.

Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis. *J Pineal Res.* 1993; 14(4): 151-168.

Quinlan GJ, Gutteridge JM. Hydroxyl radical generation by the tetracycline antibiotics with free radical damage to DNA, lipids and carbohydrate in the presence of iron and copper salts. *Free Radic Biol Med.* 1988; 5(5-6): 341-348.

Raghavendra V, Agrewala JN, Kulkarni SK. Melatonin reversal of lipopolysaccharides-induced thermal and behavioral hyperalgesia in mice. *Eur J Pharmacol.* 2000. 21; 395(1): 15-21.

Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Braz J Med Biol Res.* 1993; 26(11): 1141-1155.

Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol.* 1996;134(4):412-420.

Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003; 17(2): 273-285.

Reiter RJ. Mechanisms of cancer inhibition by melatonin. *J Pineal Res.* 2004; 37(3): 213-214.

Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J et al. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res.* 1995; 18(1): 1-11.

Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci.* 2000; 7(6): 444-458.

Reiter RJ, Tan DX, Pappolla MA. Melatonin relieves the neural oxidative burden that contributes to dementias. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1035: 179-196.

Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defence mechanisms in the aging brain. *FASEB Journal.* 1995; 9(7): 526-33.

Reiter, R.J. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Progress in Neurobiology.* 1998; 56; 359-384.

Ridgeway EE. Periodontal disease: diagnosis and management. *J Am Acad Nurse Pract.* 2000;12(3):79-84.

Roseboom PH, Coon SL, Baler R, McCune SK, Weller JL, Klein DC. Melatonin synthesis: analysis of the more than 150-fold nocturnal increase in serotonin N-acetyltransferase messenger ribonucleic acid in the rat pineal gland. *Endocrinology.* 1996; 137(7): 3033-3045.

Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem.* 1999; 274(31): 22041-22047.

Russel R. Melatonin: Clinical relevance. Best Practice and research *Clinical Endocrinology and Metabolim* 17; 273-285, 2003.

Sahna E, Acet A, Ozer MK, Olmez E. Myocardial ischemia-reperfusion in rats: Reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res* 2002; 33: 234-8.

Sahna E, Olmez E, Acet A. Effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on ischemia-reperfusion arrhythmias in rats: Can the incidence of sudden cardiac death be reduced. *J Pineal Res* 2002; 32: 194-8.

Sahna E, Parlakpınar H, Türköz Y, Acet A. Effects of melatonin on myocardial ischemia-reperfusion-induced infarct size and oxidative stress. *Physiol Res* 2005; 54: 491-5.

Salie R, Harper I, Cillie C, Genade S, Huisamen B, Moolman J, et al. Melatonin protects against ischemic-reperfusion myocardial damage. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 343-57.

Sallay K, Sanavi F, Ring I, Pham P, Behling UH, Nowotny A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontal Res.*1982; 17(3): 263-74.

Satomura K, Tobiume S, Tokuyama R, Yamasaki Y, Kudoh K, Maeda E et al. Melatonin at pharmacological doses enhances human osteoblastic differentiation in vitro and promotes mouse cortical bone formation in vivo. *J Pineal Res.* 2007; 42(3): 231-9.

Schonfeld SE. The art and science of periodontal prognosis. *J Calif Dent Assoc.* 2008; 36(3): 175-179.

Schroeder HE, Graf-de Beer M, Attstrom R. Initial gingivitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1975; 10(3): 128-142.

Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem.* 2007; 18(9): 567-579.

Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, Costello RB. Free radicals: the pros and cons of antioxidants. Executive summary report. *J Nutr.* 2004; 134(11): 3143S-3163S.

Semenoff TA, Semenoff-Segundo A, Bosco AF, Nagata MJ, Garcia VG, Biasoli ER. Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: a comparison of histological section planes. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(4): 251-6.

Sharpe MA, Robb SJ, Clark JB. Nitric oxide and Fenton/Haber-Weiss chemistry: nitric oxide is a potent antioxidant at physiological concentrations. *J Neurochem.* 2003; 87(2): 386-394.

Shizukuishi S, Inoshita E, Tsunemitsu A, Takahashi K, Kishi T, Folkers K. Therapy by Coenzyme Q10 of experimental periodontitis in a dog-model supports results of

human periodontitis therapy. In: Folkers K., Yamamura Y Biomedical and clinical aspects of Coenzyme Q. Amsterdam: Elsevier; 1984. p. 153-62.

Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997;82(2):291-295.

Silenko Iu I, Mishchenko VP, Tokar DL, Khavinson V, Zhukova M. The mechanism of the therapeutic effect of periodontal cytomedin on the course of experimental periodontitis. *Stomatologiya (Mosk).* 1991(4): 13-15.

Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC et al. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(3): 206-214.

Simonneaux V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev.* 2003; 55(2): 325-395.

Sobaniec H, Sobaniec W, Sendrowski K, Sobaniec S, Pietruska M. Antioxidant activity of blood serum and saliva in patients with periodontal disease treated due to epilepsy. *Adv Med Sci.* 2007; 52 Suppl 1: 204-6.

SPSS 15.0 for Windows, www.spss.com/spss.

Srinath R, Acharya AB, Thakur SL. Salivary and Gingival Crevicular Fluid Melatonin in Periodontal Health and Disease. *Journal of Periodontology* February 2010, Vol. 81, No. 2, 277-283.

Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Esquifino AI, Perumal SR, Miller SC. Melatonin, immune function and aging. *Immun Ageing.* 2005; 2: 17.

Sugden D. Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia.* 1989; 45(10): 922-932.

Sun, Y, LW Oberley ,Y Li. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34(3): 497-500.

Susan M Webb and Manuel Puig-Domingo Role of melatonin in health and disease. *Clinical Endocrinology.* 1995; 42: 221-234.

Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer BF, Limson J, Weintraub ST et al. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation. *Free Radic Biol Med.* 2000a; 29(11): 1177-1185.

Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Karbownik M, Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biol Signals Recept.* 2000b; 9(3-4): 137-159.

- Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, Chen LD, Chen S, Manchester LC, Barlow-Walden LR. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen saffrole in vivo. *Cancer Lett.* 1993; 70(1-2): 65-71.
- Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem.* 2002; 2(2): 181-197.
- Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005; 49(3): 491-516, v.
- Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(4): 229-238.
- Thomas L, Drew JE, Abramovich DR, Williams LM. The role of melatonin in the human fetus (review). *Int J Mol Med.* 1998; 1(3): 539-543.
- Toker H, Ozan F, Ozer H, Ozdemir H, Eren K, Yeler H. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2008; 79(6): 1089-94.
- Toker H, Ozdemir H, Eren K, Ozer H, Sahin G. N-Acetylcysteine, a Thiol Antioxidant, Decreases Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis in Rats. *Journal of Periodontology.* 2009; 80(4): 672-678.
- Toklu E, Akalın FA, Renda N. Kronik periodontitisli hastalarda sistemik ibuprofen tedavisinin dişeti ve dişeti oluşu sıvısı superoksit dismutaz enzim aktivitesine etkisi. *Hacettepe dişhek. fak. derg* 2006; 30(3): 91-101.
- Tomofuji T, Ekuni D, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T et al. Effects of vitamin C intake on gingival oxidative stress in rat periodontitis. *Free Radic Biol Med.* 2009 Jan 15; 46(2): 163-168.
- Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Endo Y, Tamaki N et al. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol.* 2009 Nov; 80(11): 1799-808.
- Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 39-53.
- Tonguç MO, Oztürk O, Sütçü R, Ceyhan BM, Kılınc G, Sönmez Y et al. The Impact of Smoking Status on Antioxidant Enzyme Activity and Malondialdehyde Levels in Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2011;10.
- Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine.* 2005; 31(1): 34-40.

- Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2001; 72(7): 883-888.
- Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Iida T, Cho S et al. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med*. 1999; 27(7-8): 838-847.
- Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Review. *Toxicology*. 2003 15; 189(1-2):41-54.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007; 39(1): 44-84.
- Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005; 12(10): 1161-1208.
- Vardar-Sengul S, Buduneli E, Turkoglu O, Buduneli N, Atilla G, Wahlgren J, Sorsa T, Baylas H. The effects of selective COX-2 inhibitor/celecoxib and omega-3 fatty acid on matrix metalloproteinases, TIMP-1, and laminin-5gamma2-chain immunolocalization in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2008; 79(10): 1934-41.
- Voordouw GC, Euser R, Verdonk RE, Alberda BD, de Jong FH, Drogendijk AC et al. Melatonin and melatonin-progestin combinations alter Pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 ;74(1): 108-17.
- Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J*. 2010; 55(1): 70-8.
- Wei PF, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 β in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research*. 2004; 39(5): 287-293.
- Warwas M, Kaczmarek U, Golab K. The role of cysteine protease and cystatin in pathogenesis and laboratory diagnosis of periodontal disease. *Postepy Hig Med Dosw*. 2000; 54(6): 879-894.
- Winterbourn CC. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicol Lett*. 1995; 82-83: 969-974.
- Yamamoto H, Tang H. Melatonin attenuates L-cysteine-induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *J Pineal Res*. 1996; 21(2): 108-113.

Yasuda H. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites. Receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL). *Clin Calcium*. 2006; 16(6): 964-970.

Yazıcı C, Köse K. Melatonin: The Antioxidant Power of Darkness. *Health Sciences* 2004; 13(2): 56-65.

Yönel EE, Yaprak M, Yıldız Y. Yüksek ve düşük doz eksojen melatoninin erkek ratlarda vücut ısısına etkileri. *Trakya Univ Tıp Fak Derg.*1996; 13: 1-4,.

Zambon JJ, Reynolds H, Fisher JG, Shlossman M, Dunford R, Genco RJ. Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1988; 59(1): 23-31.

Zavodnik IB, Domanski AV, Lapshina EA, Bryszewska M, Reiter RJ. Melatonin directly scavenges free radicals generated in red blood cells and a cell-free system: chemiluminescence measurements and theoretical calculations. *Life Sci*. 2006; 79(4): 391-400.

Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HJ, Ives JR, Dollins AB, Morabito C, Matheson JK, Schomer DL Sleep-inducing effects of low doses of melatonin ingested in the evening. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1995; 57(5): 552-8.

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
13.10.2009	23	04

SDÜ. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 13 EKİM 2009 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

04-SDÜ Diş Hekimliği Fak. Periodontoloji A.D Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yeşim KIRZIOĞLU'nun yürütücüsü olduğu , Prof. Dr. Hüseyin VURAL , Doç. Dr. H. Ramazan YILMAZ, Arş. Gör. Dr. Muhsin ÖZDEM'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı "Deneysel Periodontitiste , Dokularda Melatonin Düzeyleri ve Melatonin Tedavisinin Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisinin Değerlendirilmesi." konulu çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı (hafta)

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 12 Mayıs 2009 tarih 03 sayılı karar ile uygun bulunan projeye dahil edilmek üzere pilot çalışma için 3 adet sıçan kullanılması uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN	Yrd.Doç.Dr.Efkan UZ BAŞKAN YARDIMCISI	Prof.Dr.Fatih GÜLTEKİN ÜYE
		
Doç. Dr.Sema BİRCAN ÜYE	Doç.Dr.Münire ÇAKIR ÜYE	Yrd.Doç. Dr.Bilge ÇADIR ÜYE
		KATILMADI
Vet.Hekim İsmail UZ ÜYE	Eczacı Mustafa Serhan DERYAL ÜYE	Vet.Hekim İshak Suat ÖVEY ÜYE
KATILMADI		KATILMADI

ÖZGEÇMİŞ

17 Kasım 1981 yılında Ankara'da doğdu. İlköğrenimini İhsansungu ilkokulunda, orta öğrenimini Atıfbey İlköğretim okulunda ve lise öğrenimini Aydınlıkevler Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde tamamladı.

2000 Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nde lisans eğitimine başladı. 2005 yılında Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nden mezun oldu.

2006 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Doktora çalışmalarına halen devam etmektedir.