

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE (6)-SHOGAOL
UYGULAMASININ ANTIENFLAMATUVAR VE ANTIOKSİDAN
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Didem BEZİRCİ

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
ORTAK DOKTORA TEZİ**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Meltem HENDEK**

**Ortak Danışman
Prof. Dr. Gönen ÖZCAN**

**Temmuz-2019
KIRIKKALE**

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE (6)-SHOGAOL
UYGULAMASININ ANTIENFLAMATUVAR VE ANTIOKSİDAN
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Didem BEZİRCİ

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
ORTAK DOKTORA TEZİ**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Meltem HENDEK

Ortak Danışman

Prof. Dr. Gönen ÖZCAN

Bu tez TÜBİTAK 3001 Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı ile desteklenmiştir.

Temmuz-2019

KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12 / 07 / 2019

İmza

Prof. Dr. Gönen ÖZCAN

Gazi Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Meral GÜNHAN

Ankara Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Prof. Dr. Mehmet YALIM

Gazi Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Prof. Dr. Ebru OLGUN

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Meltem HENDEK

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
İçindekiler.....	III
Önsöz.....	VI
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VIII
Şekiller.....	XI
Tablolar.....	XIII
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	4
1.GİRİŞ.....	7
1.1.Periodontal Hastalık.....	7
1.1.1.Periodontal Hastalık Patogenezi.....	9
1.1.1.1.RANKL-OPG-NF-κB.....	14
1.2.Serbest Radikaller.....	21
1.2.1.Reaktif oksijen türleri.....	21
1.3.Antioksidanlar.....	27
1.4.Periodontal hastalık ve oksidatif stres.....	34
1.5.Zencefil.....	39
1.5.1.(6)-Shogaol.....	43

1.6.Deneysel periodontitis modeli.....	48
2.GEREÇ VE YÖNTEM.....	51
2.1.Deney Hayvanı, Temini ve Adaptasyonu.....	51
2.2.Deney grupları.....	52
2.3.Ligatür ile periodontitisin oluşturulması.....	53
2.4.(6)-Shogaol Uygulanması.....	54
2.5.Dokuların toplanması, tespiti ve doku takip işlemleri.....	55
2.6.Histopatolojik incelemeler için uygulanacak prosedür.....	56
2.7.İmmünoperoksidaz test ile dokuda MDA, SOD, GP, NF-κB, RANKL ve OPG ekspresyonlarının değerlendirilmesi.....	56
2.8.Histopatolojik semikantitatif skorlama ve histomorfometrik incelemeler.....	57
2.9.İstatistiksel Analizler.....	58
3.BULGULAR.....	60
3.1.Histopatolojik Bulgular.....	61
3.2. Histomorfometrik Bulgular.....	66
3.3.İmmünohistokimyasal Analizler.....	68
3.3.1.SOD, GP, MDA Seviyeleri.....	74
3.3.2. RANKL, OPG, RANKL/OPG oranı, NF-κB Seviyeleri.....	77
4.TARTIŞMA.....	83
5.SONUÇ.....	100
6.KAYNAKLAR.....	101

7.EKLER.....140

8.ÖZGEÇMİŞ.....145



ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bana yol gösteren, benden yardımlarını esirgemeyen, beni destekleyen ve deneyimlerini paylaşan, her zaman sevgiyle hatırlayacağım ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum çok değerli hocam Sayın Dr. Öğr.Üyesi Meltem HENDEK'e;

Doktora eğitimim süresince tecrübesini, desteklerini, yardımlarını ve sevgisini her zaman hissettiren çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gönen ÖZCAN'a;

Doktora eğitimim süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet YALIM'a;

Doktora eğitimim süresince sevgisini, bilgi, tecrübe, yardım ve desteklerini her zaman hissettiren çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ebru OLGUN'a;

Laboratuvar analizlerinde yardımcı olan Prof. Dr. Oğuz KUL, Arş. Gör. Tuğçe SÜMER ve Arş. Gör. Merve BİŞKİN TÜRKMEN'e;

Çalışmamın istatistiksel değerlendirmeleri sırasında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Mesut AKYOL ve Arş. Gör. Yağmur POLAT'a;

Yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Kamil Can AKÇALI'ya;

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım, yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen Dr. Dt. Nuray ERCAN, Uzm. Dt. Rana ARSLAN, Uzm. Dt. Gizem YÜCESOY, Uzm. Dt. Şükran ACIPINAR, Dr. Dt. Selva SÜME KEŞİR ve tüm asistan arkadaşlarıma ve bölümümüzde çalışan tüm iş arkadaşlarıma;

Desteklerini, yardımlarını ve dostluklarını her zaman hissettiğim Gonca BAYRAM DOĞAR, Merve YILMAZ, Pelin ÖZTELLİ ÇAKIR, Tuğçe DİNÇ, Emir DOĞAR, Belkıs BULUT KAYGUSUZ, Emine ÖZKAN, Elif TEKE, Makbule SARCAN AKTAŞ, Gizem

ÇİVİ, Hülya KAROĞLU, Kübra YILDIRIM, Merve ERDOĞ ÖZGÜR, Zeynep ÇAKAR,
Aliye KOÇER, Yağmur KILIÇASLAN ve Esra ÖZDEMİR'e

Emeklerini tarif edemeyeceğim, varlıkları ile bana güç veren, bugünlere gelmemi sağlayan, destekleriyle hep yanımda olan annem Zeynep BEZİRCİ, babam Ergin BEZİRCİ, ablam Gizem BEZİRCİ ve anneannem Muazzez SÜER'e sabrı, anlayışı ve fedakarlıkları için çok teşekkür ederim.



SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE	: 4-Hidroksinoneal
8-OHdG	: 8-Hidroksideoksiguanosin
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi
c-FMS	: Koloni Uyarıcı Faktör 1 Reseptörü
COX	: Siklooksijenaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
Cu/Zn-SOD	: Sitozolik Süperoksit Dismutaz
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
EC-SOD	: Hücre Dışı Süperoksit Dismutaz
GP	: Glutasyon Peroksidaz
IFN	: İnterferon
IFN- β	: İnterferon Beta
IFN- α	: İnterferon Alfa
IL	: İnterlökin
IL-1	: İnterlökin-1
IL-11	: İnterlökin-11
IL-13	: İnterlökin-13
IL-1 β	: İnterlökin-1Beta
IL-2	: İnterlökin-2
IL-3	: İnterlökin-10
IL-3	: İnterlökin-3
IL-4	: İnterlökin-4
IL-5	: İnterlökin-5
IL-6	: İnterlökin-6

IL-8	: İnterlökin-8
IL-1 α	: İnterlökin-1 Alfa
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KAT	: Katalaz
LPO	: Lipit Peroksidasyonu
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojenile Aktive Protein Kinaz
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MMP-8	: Matriks Metalloproteinaz-8
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
Mn-SOD	: Mitokondriyel Süperoksit Dismutaz
MPO	: Myeloperoksidaz
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
Nrf-2	: Nükleer Faktör (Eritroid Türevi) Benzeri-2
<i>P. gingivalis</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	: <i>Prevotella intermedia</i>
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PG	: Prostaglandin
PGE ₂	: Prostaglandin E2
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asiti
RANK	: Nükleer Faktör Kappa B'nin Reseptör
Aktivatörü	
RANKL	: Nükleer Faktör Kappa B'nin Reseptör
Aktivatörün Ligandı	
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
Se	: Selenyum

SOD	: Süperoksit Dismutaz
<i>T. forsythia</i>	: <i>Tannerella forsythia</i>
<i>T. denticola</i>	: <i>Treponema denticola</i>
TBS	: Fosfatla Tamponlanmış Salin
Th1	: T Yardımcı 1 Hücre
Th2	: T Yardımcı 2 Hücre
Th17	: TYardımcı 17 Hücre
TLR	: Toll-Benzeri Reseptör
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TNF- β	: Tümör Nekroz Faktör-Beta
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör-Alfa
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Periodontal hastalığı etkileyen faktörler (Kornman 2008)	9
Şekil 1.2 Öncül osteoklastın, olgun osteoklasta farklılaşmasında OPG, RANK ve RANKL'ın rolü (Lerner 2006)	16
Şekil 1.3 Periodontal kemik rezorpsiyonunda enflamatuvar sitokinlerin rolü (Bartold ve ark. 2010)	18
Şekil 1.4 RANK-RANKL-OPG etkileşimin şematik gösterimi (Taubman ve ark. 2005)	19
Şekil 1.5 ROT'un periodontal patojenlere yanıt olarak kronik enflamasyon ve doku hasarı oluşturmadaki rolü (Dahiya ve ark. 2013)	35
Şekil 1.6 (6)-Shogaol ile antioksidatif stres ve antinöroinflamasyon (Choi ve ark. 2018)	46
Şekil 1.7 Wistar albino sıçan.....	49
Şekil 2.1 Mandibular sol birinci molar dişe ligatür bağlanması.....	54
Şekil 2.2 Oral gavaj başlangıcı.....	55
Şekil 2.3 Oral gavaj bitişi.....	55
Şekil 3.1 Sağlıklı grubun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.....	62
Şekil 3.2 Periodontitis grubunun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü...	63
Şekil 3.3 Profilaksi grubunun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.....	64
Şekil 3.4 Terapötik grubun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.....	65

Şekil 3.5 Gruplardaki MSS-AKT arası mesafe ölçümleri.....	67
Şekil 3.6 Gruplardaki SOD boyanma görüntüleri, Anti-SOD antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	68
Şekil 3.7 Gruplardaki GP boyanma görüntüleri, Anti-GP antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	69
Şekil 3.8 Gruplardaki MDA boyanma görüntüleri, Anti-MDA antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	70
Şekil 3.9 Gruplardaki RANKL boyanma görüntüleri, Anti-RANKL antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	71
Şekil 3.10 Gruplardaki OPG boyanma görüntüleri, Anti-OPG antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	72
Şekil 3.11 Gruplardaki NF- κ B boyanma görüntüleri, Anti- NF- κ B antikor AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama.....	73
Şekil 3.12 Gruplardaki SOD seviyeleri.....	75
Şekil 3.13 Gruplardaki GP seviyeleri.....	76
Şekil 3.14 Gruplardaki MDA seviyeleri.....	76
Şekil 3.15 Gruplardaki RANKL seviyeleri.....	80
Şekil 3.16 Gruplardaki OPG seviyeleri.....	80
Şekil 3.17 Gruplardaki RANKL/OPG oranları.....	81
Şekil 3.18 Gruplardaki NF- κ B seviyeleri.....	81

TABLULAR

Tablo 1.1 Gerçek radikal ve reaktif oksijen türleri ve sembolleri (Chapple ve Matthews 2007)	22
Tablo 1.2 Fonksiyonlarına ya da etkilerine göre antioksidanlar.....	28
Tablo 1.3 Lokalizasyonlarına göre antioksidanlar.....	28
Tablo 1.4 Çözünübilirliğine göre antioksidanlar.....	28
Tablo 1.5 Korudukları yapılara göre antioksidanlar.....	29
Tablo 1.6 Kaynaklarına göre antioksidanlar.....	29
Tablo 1.7 Zencefil içerisinde etkin alkaloidler ve başlıca etkileri (Rahmani ve ark. 2014)	44
Tablo 2.1 Deney Düzeni.....	53
Tablo 3.1 Başlangıçtaki gruptaki ağırlık ortalamaları (g)	60
Tablo 3.2 Enflamatuvar hücre şiddeti ve gruptaki karşılaştırma sonuçları.....	66
Tablo 3.3 MSS-AKT arasındaki mesafe için gruptaki karşılaştırma sonuçları.....	67
Tablo 3.4 SOD, GP, MDA için 4 gruptaki karşılaştırma sonuçları.....	75
Tablo 3.5 SOD, GP, MDA için post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları.....	77
Tablo 3.6 RANKL, OPG, RANKL/OPG, NF- κ B için 4 gruptaki karşılaştırma sonuçları.....	79
Tablo 3.7 RANKL, OPG, RANKL/OPG, NF- κ B için post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları.....	82

ÖZET

Periodontitis, diş çevresinde biriken mikrobiyal dental plak ve buna karşı konak immün yanıt arasındaki kompleks etkileşim sonucu gelişen bir hastalıktır. Konak-bakteri etkileşimiyle tetiklenen immün yanıt belirteçlerinin çok miktarda salınımına yol açarak, doku yıkımını başlatmaktadır. Özellikle immün sistem ve kemik metabolizması arasındaki yakın ilişkinin anahtar düzenleyicileri olarak görev yapan nükleer faktör-kappa B (NF- κ B)'nin reseptör aktivatörü (RANK) ve onun ligandı (RANKL) ve RANKL'ı inhibe eden osteoprotegerin (OPG) sıkça değerlendirilen belirteçlerdendir.

Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliği ifade eden oksidatif stresin, oksidatif hasara duyarlı hücrel makromoleküllere zarar vererek doku hasarına yol açtığı ve periodontal hastalık gibi birçok kronik dejeneratif hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Oksidatif stres, genelde lipit peroksidasyon (LPO) son ürünü olan malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GP) gibi antioksidan enzimlerin ölçümü ile belirlenmektedir.

Geleneksel periodontal tedavi yaklaşımlarına ek olarak kullanılan ajanların uzun dönem kullanımları ve istenmeyen birtakım yan etkileri farklı alternatif tedavi seçeneklerine yol açmıştır. Zencefil bitkisi, güçlü antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel özellikleriyle bilinmektedir. Literatürde zencefil ve/veya etkili metabolitlerinin kontrollü deneysel bir çalışma ile sistemik uygulanmasının, periodontitisin hem önlenmesi hem de tedavisi üzerine olan etkilerini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmanın amacı, deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlarda zencefilin etkili metabolitlerinden biri olan (6)-shogaol'ün uygulanmasının hem profilaktik hem de

terapötik olarak periodontal dokular üzerine olan antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliğini incelemektir.

Deney grupları 35 adet erkek Wistar Albino sıçan rastgele 4 gruba ayrılarak şu şekilde oluşturuldu. **Sağlıklı grup (n=5)**: 1-14 gün süresince herhangi bir işlem uygulanmadı. **Periodontitis grubu (n=10)**: 1-14 gün boyunca sadece ligatür ile periodontitis oluşturuldu. **Profilaksi grubu (n=10)**: 1-14 gün süresince ligatür ile periodontitis oluşturuldu ve bu süre boyunca 20 mg/kg/gün (6)-shogaol oral gavaj yoluyla verildi. **Terapötik grup (n=10)**: 1-14 gün ligatür ile periodontitis oluşturuldu ve ligatür çıkarılmasını takiben 14 gün boyunca 20 mg/kg/gün (6)-shogaol oral gavaj yoluyla verildi. Grup periyodu sonuna göre kurban edilen sıçanlardan elde edilen örneklerde histopatolojik ve histomorfometrik olarak bağ dokusu ve interdental septum ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler kemik kaybı; immünohistokimyasal olarak ise MDA, SOD, GP, NF-κB, RANKL ve OPG incelendi.

Ölçümü alınan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırması normallik ve varyans homojenliğinin sağlandığı yerlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), sadece normallik varsayımının sağlandığı yerlerde Welch-ANOVA testi, aksi durumda Kruskal Wallis testi ile test edildi. Farklılığın belirlendiği ölçümlerde farkı belirlemek için Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, Games-howell veya Bonferroni düzeltmeli bağımsız örneklem t testinden uygun olan post hoc testi ile karşılaştırmalar yapıldı.

Çalışmamızda histopatolojik analizlerde; inflamatuvar hücre infiltrasyonu semikantitatif olarak skorlandı ve gruplar karşılaştırıldığında sıfır değerini alan sıçanların %60'ı sağlıklı grupta bulundu. Periodontitis grubunda bu değeri alan sıçan yoktu. Histomorfometrik analizlerde; mine sement sınırı – alveoler kret tepesi (MSS-AKT) arası mesafe, sağlıklı grupta periodontitis, profilaksi ve terapötik gruba göre anlamlı derecede düşük (tüm karşılaştırmalar için $p<0.001$); periodontitis grubunda terapötik gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$). İmmünohistokimyasal analizlerde; RANKL seviyesi periodontitis grubunda sağlıklı ve terapötik gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$; $p<0.001$, sırasıyla). OPG seviyesi, periodontitis grubunda profilaksi ve terapötik gruba göre; sağlıklı grupta ise terapötik gruba göre anlamlı derecede düşük

bulundu ($p=0.002$; $p<0.001$; $p=0.049$, sırasıyla). RANKL/OPG oranı, periodontitis grubunda sağlıklı, profilaksi ve terapötik gruba göre, profilaksi grubunda ise terapötik gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.005$; $p=0.006$; $p=0.005$; $p=0.011$, sırasıyla). NF- κ B seviyesi, periodontitis grubunda sağlıklı, profilaksi ve terapötik gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$; $p=0.017$; $p=0.023$, sırasıyla). MDA seviyesi, sağlıklı grupta periodontitis, profilaksi ve terapötik gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.004$; $p=0.012$; $p=0.017$, sırasıyla). SOD seviyesi, periodontitis grubunda profilaksi ve terapötik gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.039$; $p=0.042$, sırasıyla). GP seviyesi, sağlık grupta profilaksi ve terapötik gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.031$; $p=0.002$, sırasıyla).

Sonuç olarak, (6)-shogaol, sıçanlarda deneysel periodontitis modelinde antienflamatuvar ve antioksidan etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: (6)-Shogaol, antienflamatuvar, antioksidan, deneysel periodontitis, zencefil.

SUMMARY

Periodontitis is a disease formed as a result of the complex interaction between the microbial dental plaque accumulating around the tooth and the host immune response developing against it. The immune response triggered by host-bacteria interaction causes secretion of mediators in large quantities, and consequently starts tissue destruction. As the key regulators of especially the close relationship between the immune system and bone metabolism, receptor activator (RANK) of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and its ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) inhibiting RANKL are frequently utilized mediators.

It is known that oxidative stress, which means the imbalance between the free radical formation and antioxidant defense mechanism, damages the cellular macromolecules sensitive to oxidative damage and causes tissue damage, and plays a role in the pathogenesis of many chronic degenerative diseases such as periodontal disease. Oxidative stress is generally determined by the measurement of malondialdehyde (MDA) which is the final product of lipid peroxidation and antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GP).

Long term use and unwanted side effects of the agents which are used as supplementary tools to the conventional periodontal treatment have caused the requirement of different alternatives. Ginger plant is well known for its strong anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial properties. There are no studies in the literature evaluating the effects of systemic application of ginger and/or its effective metabolites on both prevention and treatment of periodontitis with a controlled experimental study.

The purpose of the study is to examine the anti-inflammatory and antioxidant efficiency of (6)-shogaol application which is one of the most effective metabolites of

ginger both prophylactically and therapeutically, on periodontal tissues of rats with experimentally formed periodontitis.

Experimental groups was formed with randomised separation of 35 male Wistar Albino rats into 4 groups, as follows: **Healthy group (n=5)**, not had any operation conducted for 1-14 days. **Periodontitis group (n=10)**, periodontitis was formed only with ligature for 1-14 days. **Prophylaxy group (n=10)**, periodontitis was formed with ligature for 1-14 days and during this time 20 mg/kg/day (6)-shogaol was given via oral gavage. **Therapeutic group (n=10)**, periodontitis was formed with ligature for 1-14 days and 20 mg/kg/day (6)-shogaol was given via oral gavage for 20 days following the removal of the ligature. Connective tissue and interdental septum, inflammatory cell infiltration, alveolar bone loss via histopathology and histomorphometry, and MDA, SOD, GP, CAT, NF- κ B, RANKL and OPG was examined via immunohistochemistry in the samples taken from the rats sacrificed according to the end of the group period

One way analysis of variance (ANOVA) was used for group comparisons where the normal distribution and homogeneity of the values are reached while the normality of the variables were tested with Welch-ANOVA test. In the analysis of non-normal distribution of the data, all group comparisons were made with Kruskal-Wallis test, and the statistical significance was compared with Bonferroni corrected Mann-Whitney U test, Games-howell test or Bonferroni corrected t-test.

During the histopathology analysis of the study, inflammatory cell infiltration was scored semiquantitatively and the comparison of the rat groups showed that if a rat is assigned with the score zero, this rat is in the healthy group. In the periodontitis group, none of the rats were assigned in score zero. Histomorphometry analysis of the test groups were showed that MSS-AKT levels were significantly lower in the healthy group compared to periodontitis, prophylaxy and therapeutic groups ($p < 0.001$) while the distance between the cemento-enamel junction and the alveolar bone crest (CEJ-AC) were significantly higher in the periodontitis group compared to therapeutic group ($p = 0.001$). Immunohistochemistry analysis showed that, RANKL levels were significantly higher in the periodontitis group compared to prophylaxy and therapeutic groups ($p = 0.002$;

p<0.001; p=0.049). OPG levels were significantly lower in the periodontitis group compared to prophylaxy and therapeutic groups (p=0.002; p<0.001). The same pattern was detected between the comparison of healthy and therapeutic groups (p=0.049). RANKL/OPG levels were significantly higher in the periodontitis group compared to healthy, prophylaxy and therapeutic groups (p=0.005; p=0.006; p=0.005). Moreover the comparison between prophylaxy and therapeutic groups revealed that RANKL/OPG levels were significantly higher in prophylaxy group (p=0.011). NF-κB levels were significantly higher in the periodontitis group compared to healthy, prophylaxy and therapeutic groups (p<0.001; p=0.017; p=0.023). The MDA levels were significantly lower in the periodontitis group compared to healthy, prophylaxy and therapeutic groups (p=0.004; p=0.012; p=0.017). Additionally, the SOD levels were significantly lower in the periodontitis group compared to prophylaxy and therapeutic groups (p=0.039; p=0.042) and the GP levels were significantly higher in the healthy group compared to prophylaxy and therapeutic groups (p=0.031; p=0.002).

As a result, our study confirmed the anti-inflammatory and antioxidant effects of (6)-shogaol in experimental periodontitis on rats.

Keywords: (6)-Shogaol, anti-inflammatory, antioxidant, experimental periodontitis, ginger.

1. GİRİŞ

1.1.Periodontal Hastalık

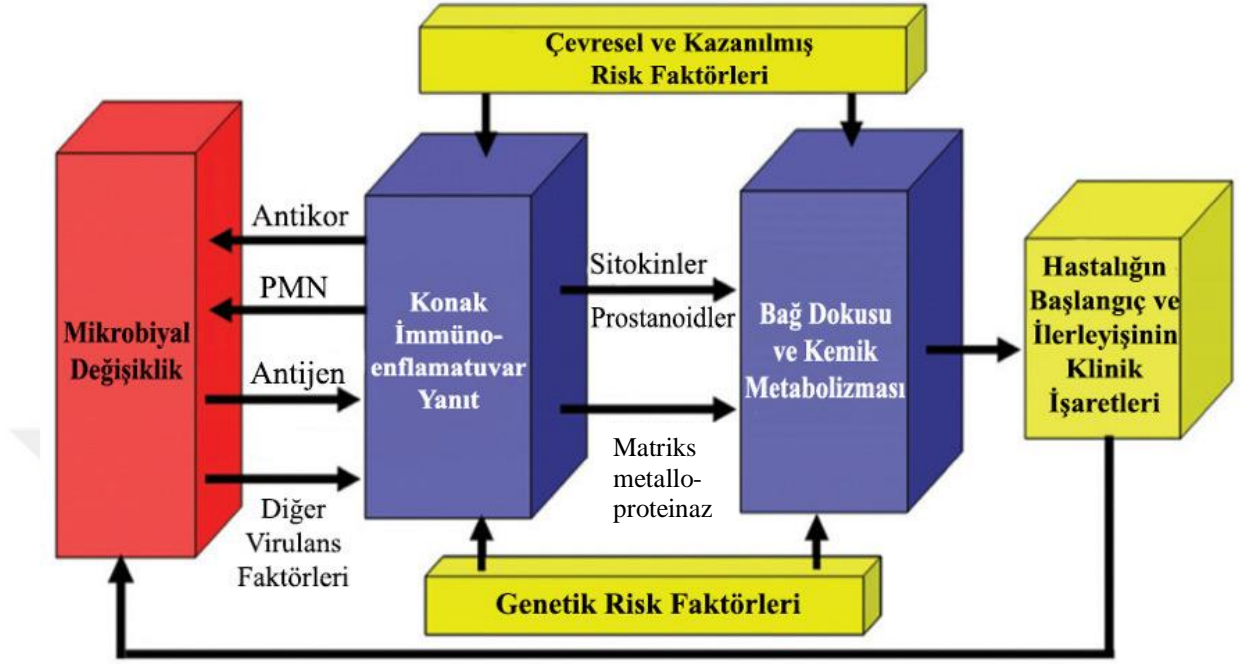
"Periodontal hastalık" terimi, dişleri destekleyen dişeti, periodontal ligament ve kemik dokularının kronik enflamatuvar durumlarını kapsamaktadır. Periodontal hastalık, dişeti iltihabı ile başlamaktadır ve dişeti iltihabına diş ve dişeti üzerinde meydana gelen mikrobiyal biyofilm olan diş plağındaki *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) gibi bakteriler sebep olmaktadır (Kinane ve ark. 2017). Dişeti iltihabı, periodontitis başlangıcı için anahtar risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, dişeti iltihabının kontrolü periodontitisin önlenmesinde primer olarak önemlidir (Murakami ve ark. 2018). Mikrobiyal plak tarafından başlatılan periodontitis, bireyin immün ve enflamatuvar yanıtından etkilenmekte ve gram negatif bakteriler tarafından organize olan biyofilme karşı konak cevabı olarak meydana gelmektedir (Listgarten 1986, Kinane 2001).

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmiyle ilişkili ve diş destekleyen dokuların ilerleyici yıkımı ile karakterize kronik multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalıktır ve dişeti kanaması ve periodontal cep varlığında, klinik ataçman kaybı ve radyografik olarak alveoler kemik kaybı ile kendini gösteren periodontal destek dokuların kaybıyla sonuçlanmaktadır (Berglundh ve Donati 2005, Papapanou ve ark. 2018).

Deneysel kısa süreli klinik çalışmalar, mikroorganizmaların, tüm ağız hijyeni prosedürlerinin ardından temiz diş yüzeylerine hızla kolonize olduğunu göstermiştir. Birkaç gün içinde, dişeti iltihabının mikroskopik ve klinik bulguları belirginleşmektedir. Bu enflamatuvar değişiklikler, yeterli diş temizleme yöntemlerine devam edildiğinde tersine çevrilebilmektedir (Van der Weijden ve ark. 1994, Kinane 2001). Diş plağını oluşturan mikroorganizmalar, çeşitli bakteri ürünleri salgılayarak dişeti iltihabına neden

olmaktadır. Klinik çalışmalar, supragingival ve subgingival mikrobiyal plağın, gingivitis ve periodontitis tedavisindeki önemini göstermektedir (Kinane 2001).

Periodontal hastalık, çoklu risk faktörlerinden etkilenmektedir. "Risk faktörü" terimi, "epidemiyolojik kanıtlara dayalı, sağlıkla ilişkili olduğu bilinen kişisel davranış veya yaşam tarzı, çevresel faktörler veya doğuştan veya kalıtsal özellikler" olarak tanımlanmıştır (Last 1988). Risk faktörleri, belirli bir hastalık için nedensel zincirin bir parçasıdır veya konağın hastalığa maruz kalmasına yol açabilmektedir (Beck 1994). Bir risk faktörünün varlığı, meydana gelen hastalık olasılığındaki doğrudan artışı ifade etmektedir. Her ne kadar spesifik mikroorganizmalar potansiyel periodontal patojenler olarak görülse de, patojenlerin gerekli olduğu ancak hastalık aktivitesinin gerçekleşmesi için yeterli olmadığı anlaşılmıştır (Socransky ve Haffajee 1992). Yıkıcı periodontal hastalık, genetik, çevresel, konak ve mikrobiyal faktörlerin etkileşiminin bir sonucudur (Wolff ve ark. 1994) (Şekil 1.1). Mikroorganizmaların varlığı enflamatuvar periodontal hastalıkta önemli bir faktördür, ancak hastalığın ilerlemesi konak bazlı risk faktörleriyle ilişkilidir. Diğer risk faktörleri ise, genetik, yaş, cinsiyet, sigara, sosyoekonomik faktörler ile nötrojeni, diyabet, AIDS gibi bazı sistemik hastalıkları içermektedir (Kinane 2001).



Şekil 1.1 Periodontal hastalığı etkileyen faktörler (Kornman 2008)

1.1.1. Periodontal Hastalık Patogenezi

Gingivitten periodontitise geçişteki mekanizmalar günümüzde hala tam olarak tespit edilememiştir. Periodontal patogenezi basamakları, periodontitis gelişiminin değerlendirilmesinde ve periodontitisin histopatolojik bulgularının karşılaştırılmasında önemlidir. Gingivitisin ve devamında periodontitisin gelişimi histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 başlıkta incelenmiştir:

Başlangıç lezyonu: Klinik olarak sağlıklı dişeti dokularında belirgin olan histolojik tablodur. Mikrobiyal dental plak birikimini takiben 2-4 gün içinde gelişmektedir. Plağa karşı düşük dereceli enflamasyon ve bunun sonucunda gelişen damarsal ağın dilatasyonu

ve damarsal geçirgenliğin artışıyla karakterizedir. Nötrofiller ve monositler, dişeti oluğundaki bakteri ve ürünlerin meydana getirdiği kemotaktik uyarılar sonucu birleşim epiteli ve bağ dokusuna göç etmektedir.

Erken lezyon: Dişeti iltihabının erken klinik belirtilerinin görüldüğü histolojik tablodur. Plak birikimini takiben 4-7 günde ortaya çıkmaktadır. Histolojik olarak vasküler geçirgenlik, vazodilatasyon, dişeti oluğu sıvısı (DOS) akışında artış ile birlikte fibroblastlarda apoptoz, kollajen yıkımı izlenmektedir. Kollajen yıkım miktarı ortalama %70 oranına ulaşmaktadır. Baskın hücreler nötrofil ve lenfositlerdir. Klinik olarak eritem ve sondlamada kanama görülebilmektedir. Sonuç olarak klinik gingivitis tablosu ortaya çıkmaktadır.

Yerleşmiş lezyon: Plak oluşumunu takiben 14. günden sonra görülmekte ve kronik gingivitis olarak adlandırılmaktadır. Erken lezyon, plak kompozisyonu ve miktarı, konak duyarlılığı ve risk faktörlerine (lokal/sistemik) bağlı olarak yerleşmiş lezyona doğru ilerlemektedir. Enflamatuvar hücreler, enflame bağ dokusunu işgal etmiştir. Bu hücrelerin büyük çoğunluğu, birleşim ve sulkus epiteline komşu alanda, kan damarlarının çevresinde ve kollajen lif demetleri arasında gösterilmiştir. Nötrofiller dokular içinde birikerek lizozomal içeriklerini hücre dışı ortama salmakta ve bu durum ileride doku yıkımına neden olmaktadır. Diğer yandan nötrofiller, matriks metalloproteinaz (MMP) -8 ve MMP-9'un majör kaynağıdır. Bu enzimler, nötrofillerin sıkı kollajen lifler arasından sulkusa göç ettiği sırada enflame dişeti dokularında büyük miktarlarda üretilmektedir. Birleşim epiteli ve sulkuler epitel, büyük oranda nötrofil içermekte ve diş yüzeyine tutunmayan cep epitelinin oluşturmaktadır. Cep epiteli ülserasyonu ve cep epitelinin sondlamaya karşı dirençsiz olmasına bağlı olarak sondlamada kanama bulgusu, kronik gingivitiste sık görülür. Tüm histopatolojik değişimlere rağmen plak kontrolü sağlandığında enflamatuvar değişimler geri dönüşümlü olabilmektedir ve bu aşamada alveoler kemik yıkımı gözlenmemektedir.

İlerlemiş lezyon: Bu evrede gingivitisten periodontitise geçiş söz konusudur. İlerlemiş lezyon, yerleşmiş lezyonun tüm karakteristik özelliklerini taşımakla birlikte, alveoler kemik yıkımının da gözlemlendiği evredir. Bu durum, biyofilmin kompozisyonu ve

miktarı, konak enflamatuvar yanıt, çevresel ve genetik risk faktörleri gibi pek çok faktörle ilişkilidir. Bu lezyonda plazma hücreleri baskındır. Plazma hücreleriyle birlikte lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu da devam etmektedir. Histolojik olarak, periodontal ligament ve alveoler kemik içine uzanan kollajen yıkımı gösterilmiştir. Cep epiteli ve periodontal cepte nötrofiller; bağ dokusunda ise plazma hücreleri baskındır. Birleşim epiteli kök yüzeyinde apikale doğru yer değiştirmiştir. Bakterilerin kemik içine yayılmasını önlemek için savunma mekanizması olarak, osteoklastik kemik rezorpsiyonu görülmektedir. Periodontal cebin derinleşmesiyle, periodontal patojenler için oldukça elverişli bir ortam oluşmakta ve bu boşluğa plak bakterileri prolifer olmaktadır. Periodontal cep, patojenler için besin desteği sağlayarak bakterileri konağın enflamatuvar yanıtından korumaktadır. Böylece, bir döngü halinde kronik enflamasyon gelişmekte ve doku hasarı devam etmektedir. Biyofilm başlatıcı bir faktör olsa da, doku hasarına temel olarak enflamatuvar yanıt sebep olmaktadır (Page ve Schroeder 1976).

Doku yıkımının büyük bir kısmı konağın immün-enflamatuvar yanıtının bir sonucu olarak meydana gelmektedir ve periodontitiste meydana gelen doku hasarı, artmış ve bozulmuş enflamatuvar belirteçlerin ve yıkıcı enzimlerin üretimi ile ilişkilidir (Preshaw 2015).

Periodonsiyumun kronik enflamasyonu, pek çok periodontal patojeni içeren kompleks subgingival biyofilm ile başlamaktadır. Bu biyofilm genelde periodontal hastalığın oluşumundan sorumlu büyük ölçüde gram negatif anaerobik basiller, anaerobik spiroketler ve az miktarda anaerobik koklar gibi mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Derin yıkıcı periodontal lezyonlarda *P.gingivalis*, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) ve *Treponema denticola* (*T. denticola*) gibi oral kavitenin fırsatçı patojenleri olan gram (–) anaerobik kommensal mikrobiyatayı içermektedir (Van Dyke 2008, Abiko ve ark. 2010, Pinto ve ark. 2016, Larsen ve Fiehn 2017). Periodontal patojenlere yanıt olarak, polimorfonükleer lökosit (PMNL)’lerden süperoksit gibi reaktif oksijen türleri (ROT), proteinazlar ve interlökin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)- α gibi sitokinler, prostagladin (PG) E₂ gibi moleküller açığa çıkmaktadır

(Listgarten 1986, Chapple 1997, Page ve Kornman 1997, Waddington ve ark. 2000, Kinane 2001, Kornman 2008, Silva ve ark. 2008). Bu moleküller, dişeti dokusu ve periodontal ligamentte oksidatif hasarı indükleyerek kemikte rezorpsiyon meydana getirmektedirler (Chapple 1997, Canakci ve ark. 2005, Chapple ve Matthews 2007, Cochran 2008, Trivedi ve Lal 2017). Periodontal enfeksiyonların şiddeti aynı zamanda konağın duyarlılığı ile de ilişkili olduğundan, konak yanıtındaki değişkenlik, periodontal hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilmekte veya hastalığa karşı belli seviyelerde koruyabilmektedir (Salvi ve Lang 2005, Schenkein 2006, Preshaw 2008). Konak yanıtı, spesifik bakteriyel antijenlere karşı hümmoral (antikor) ya da hüccresel reaksiyonlar şeklinde gelişmektedir. Konağa bağılı doku yıkımında bakteriler ve ürünleri, dokuda enflamatuvar cevabı indükleyerek PMNL'lerin migrasyonuna, fibroblastlarda farklılaşmaya, makrofajların aktivasyonu ile IL-1 β , IL-6, TNF- α , PG'ler ve hidrolitik enzimler gibi ürünlerin salınımına neden olarak sert ve yumuşak doku yıkımına sebep olmaktadır (Assuma ve ark. 1998, Graves ve ark. 1998, Kinane 2001, Silva ve ark. 2008, Buduneli ve Kinane 2011, Stadler ve ark. 2016).

Hümmoral immün yanıtta, bilinen tüm periodontal patojenlere karşı oluşan antikorlar, hem serum hem de DOS'ta bulunmaktadır. Antikor aviditesi (antikor-antijen bağlanma gücü), immün yanıtın etkin fonksiyonunun bir ölçüsüdür. Birçok çalışma periodontal dokularda immünoglobulin taşıyan lenfosit ve plazma hücrelerinin sayısını araştırmış olsada, bu hücrelerin işlevini ve hedefini göz önünde bulundurmak önemlidir. Dokulardaki B ve plazma hücrelerinin ürünleri, periodontal patojenlerin bileşenlerine ve metabolitlerine bağlanabilen antikorları içermektedir (Brandtzaeg 1966). Enfeksiyona özgü plazma hücrelerinin ve hedeflerinin afinite (eğilim) olgunlaşması ve bölgeye göçünün hastalıklı dokularda araştırılması, periodontal hastalıklar için önemli patojenleri ve immün yanıtla ilişkili antijenleri aydınlatılabilir (Kinane ve Bartold 2007). Hümmoral immün yanıtta rol oynayan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 ise T yardımcı (Th) 2 hücrelerinden ve hüccresel immün yanıtta etkili olan IL-2, TNF- β ve interferon-alfa (IFN- α) gibi sitokinler Th1 hücrelerinden üretilmektedir (Gaffen ve Hajishengallis 2008). Endotel hücreleri ve fibroblastlardan köken alan sitokinlerin bir kısmı enflamasyonun

ilerlemesine yol açtıkları için proenflamatuvar sitokinler, bazıları da enflamasyonu baskılayıcı özellikleri nedeniyle antienflamatuvar sitokinler olarak adlandırılmaktadır. IL-1 β , IL-6, TNF- α , proenflamatuvar etki göstermektedir. B lenfositlerin asıl uyarıcıları olan IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler, antienflamatuvar özellikleri ile IL-1, TNF ve kemokinler gibi proenflamatuvar sitokinleri kodlayan genleri baskılama yeteneğine sahiptir. Proenflamatuvar sitokinler periodonsiyumda enflamatuvar yanıtı başlatır ve aşırı üretildiklerinde dokularda zararlı etkilere yol açmaktadır (Meikle ve ark. 1986, Page 1991, Dinarello 1996, Dinarello 2000). Proenflamatuvar IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler, osteoklast öncüllerinin farklılaşmasını ve osteoklastları aktive ederek dolaylı olarak kemik rezorpsiyonunu indükleyebilmektedir (Ishikawa 2007, Jung ve ark. 2014).

IL-1, metabolik, fizyolojik, hemopoietik ve immünolojik özelliklere sahip ve enflamasyon alanına hücrelerin toplanmasını sağlayan proenflamatuvar bir sitokindir. Monositler ve fibroblastlardan PG salınmasını arttırarak kemik yıkımına yol açmaktadır. Ayrıca ekstrasellüler matriks proteinlerini yıkan MMP'lerin salınmasına neden olmaktadır (Dewhirst ve ark. 1985, Cochran 2008). IL-1'in periodontal dokularda bulunan temel formu IL-1 β 'dir. IL-1 β , başlıca monosit ve makrofajlar olmak üzere fibroblast ve kemik dokusu tarafından üretilmektedir. Konak immün yanıtında görev alan IL-1 β , anahtar belirteçtir ve enflamatuvar hastalık sonucu oluşan periodontal doku yıkımında etkili olmaktadır (Dinarello 1996). IL-1 β , osteoklastik kemik rezorpsiyonunu stimüle ederken, kemik formasyonunu inhibe eden bir sitokindir. IL-1, doğrudan veya dolaylı olarak osteoklast öncüllerinin proliferasyonunu ve olgun osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu indükleyebilmektedir (Mundy 1993, B Kimble ve ark. 1995, Suda ve ark. 1997, Assuma ve ark. 1998). PG sentezi ve proteaz üretimini arttırarak enflamatuvar yanıt oluşumunda rol oynamaktadır (Faizuddin ve ark. 2003).

TNF, IL-1 gibi osteoklast progenitörlerinin proliferasyonunu indükleyerek ve dolaylı olarak da olgun osteoklastların rezorbe edici aktivitesini uyararak kemik rezorpsiyonuna neden olmaktadır (Thomson ve ark. 1987, Manolagas 1995). IL-1 ve TNF'nin kemik rezorpsiyon aktivitesini uyararak için sinerjistik olarak etki edebileceği dikkat çekicidir.

Ancak IL-1 β kemik rezorpsiyonunu stimüle etmede, TNF- α 'dan 500 kat daha etkili bulunmuştur (Beyaert ve Fiers 1998).

Enflamasyona yanıt olarak sentezlenen bir diğer sitokin olan IL-6'nın, antikor üretimi, T hücre aktivasyonu, B hücre farklılaşması ve osteoklast aktivasyonu gibi etkileri bulunmaktadır (Hirano ve ark. 1988, Akira ve ark. 1990). IL-6, RANKL oluşumunu artırarak veya doğrudan osteoklast oluşumunu indükleyerek kemik rezorpsiyonunu uyarmaktadır (Balaji ve ark. 2017). IL-6'nın ekspresyonu transkripsiyonel, post transkripsiyonel ve translasyonel seviyelerde bakteri lipopolisakariti (LPS) ve TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerle düzenlenmektedir (Kobayashi ve ark. 2016).

PGE₂, periodontitiste doku yıkımında önemli bir belirteçtir. RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezisi ve proenflamatuvar yanıtı uyarmaktadır. Bununla birlikte, PGE₂, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe etme gibi antienflamatuvar etkilere de sahiptir ve kemik üzerinde anabolik etkilere neden olabilmektedir (Noguchi ve Ishikawa 2007). Ayrıca, PGE₂'nin periodontal lezyonlarda meydana gelen hiperenflamasyonu azaltma ve yara iyileşmesini stimüle etme yeteneğine sahip olduğu öne sürülmektedir (Ishikawa 2007).

1.1.1.1.RANKL-OPG-NF- κ B

Kemik metabolizması ile immün sistem yakın ilişkidir ve bu ilişki 'osteoinmünoloji' olarak adlandırılmıştır (Bartold ve ark. 2010, Hienz ve ark. 2015). Osteoinmünoloji, immün hücrelerin ve sitokinlerin iskelet hücreleri ile etkileşimlerini tanımlamayı ve anlamayı amaçlamaktadır. Hem immün sistem hem de kemik, çok sayıda düzenleyici sitokinler gibi ortak molekülleri paylaşmaktadır. İmmün-enflamatuvar sistemlerin

periodontitis gelişiminde ana rol oynadığı bilinmektedir Osteoimmünolojiyi anlamak, periodontitis gibi hastalıklarda patolojik kemik kaybını önlemek ve kontrol altına almak için yeni araçların geliştirilmesinde önemlidir (Takayanagi ve ark. 2005).

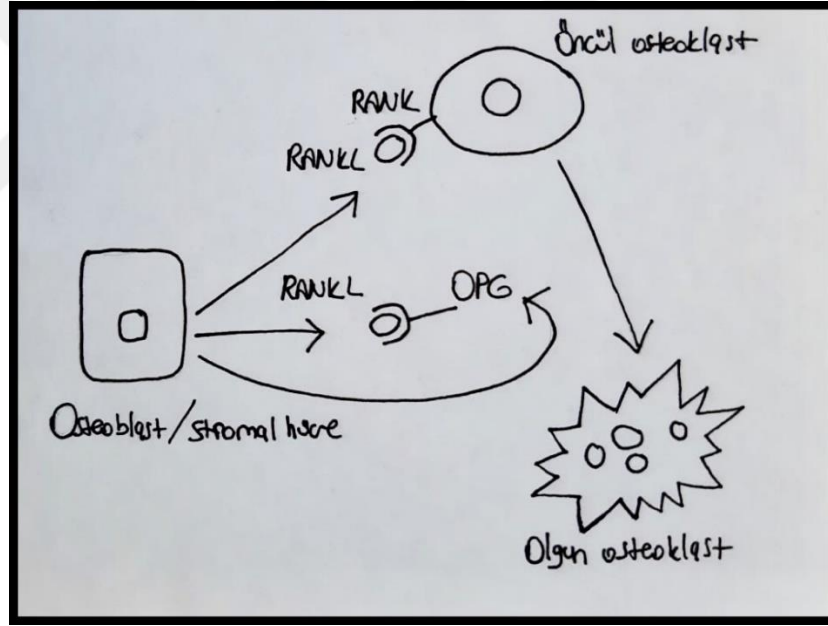
Kemik, osteoblastlar ile ilişkili kemik formasyonu ile osteoklastlar ile ilişkili kemik rezorpsiyonu arasında dengede bulunan, sürekli yenilenen bir organdır (Boyle ve ark. 2003). Formasyon ve rezorpsiyon arasındaki denge kemik remodelingi olarak adlandırılmaktadır. Kemik remodelingi, hormonlar, sitokinler/kemokinler ve eksternal biyomekanik uyarılar gibi çeşitli elementler tarafından düzenlenen bir süreçtir. (Zhang ve ark. 2015). Kemik remodeling dengesi bozulursa, osteoporoz, Paget hastalığı, periodontal hastalık gibi çeşitli hastalıklar ortaya çıkabilir. (Teitelbaum ve Ross 2003, Takayanagi 2007).

Kemikte bulunan yerleşik hücrelerin %4-6'sını oluşturan osteoblastlar, kemik oluşturma işlevleriyle bilinmektedir. Bu nedenle doğru kemik kütlelerinin elde edilmesinde ve korunmasında önemli bir role sahip olan osteoblastlar, osteoklast ve osteosit gibi diğer kemik hücreleri ile ilişki içindedir. Literatürde kanıtlar, osteoblastların osteoklast oluşumunu parakrin bir şekilde etkileme kabiliyetini açıkça göstermektedir. Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), osteoblastlar veya kemik iliği stromal hücreleri tarafından salgılanan transmembran bir sitokindir ve tirozinkinaz reseptör üst ailesinin bir üyesi olan koloni uyarıcı faktör 1 reseptörü (c-FMS) olarak bilinen preosteoklastlar üzerindeki bir reseptöre bağlanmaktadır. M-CSF'nin c-FMS'ye bağlanması, osteoklastogenezin başlamasına yol açan birçok transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Amano ve ark. 1995, Chambers 2000). Kemik oluşumu ve yıkımı arasındaki doğru denge sadece sistemik faktörlerle değil, aynı zamanda osteoblast ve osteoklastlar arasındaki denge ile sağlanmaktadır (Capulli ve ark. 2014).

Osteoklastlar, monosit / makrofaj kökenli ve kemik rezorpsiyonundan sorumlu ana hücre olarak kabul edilen çok çekirdekli hücrelerdir (Boyle ve ark. 2003, Kim ve Kim 2016, Chen ve ark. 2018). Osteoklast bulunmayan farelerde yapılan çalışmalar, bu hücrelerin kemik rezorpsiyonundaki kritik rolünü göstermiştir (Pettit ve ark. 2001,

Redlich ve ark. 2002). Osteoklastların oluşumu, enflame periodontal dokularda mevcut olan sitokinler tarafından desteklenmektedir (Bartold ve ark. 2010).

M-CSF'nin asıl rolü, olgun osteoklastların proliferasyonunu ve sağ kalımını arttırmaktır (Chambers 2000). Osteoklast eksikliği ve dolayısıyla kemik rezorpsiyonunun olmaması nedeniyle M-CSF bulunmayan farelerin, osteopetrotik fenotipe sahip olduğu bulunmuştur. M-CSF'nin bu hayvanlara uygulanması ile osteopetrotik durum tersine çevrilmiş, osteoklastların gelişimi sağlanmış ve kemik rezorpsiyonu meydana gelmiştir (Kodama ve ark. 1991, Bartold ve ark. 2010).



Şekil 1.2 Öncül osteoklastın, olgun osteoklasta farklılaşmasında OPG, RANK ve RANKL'in rolü (Lerner 2006)

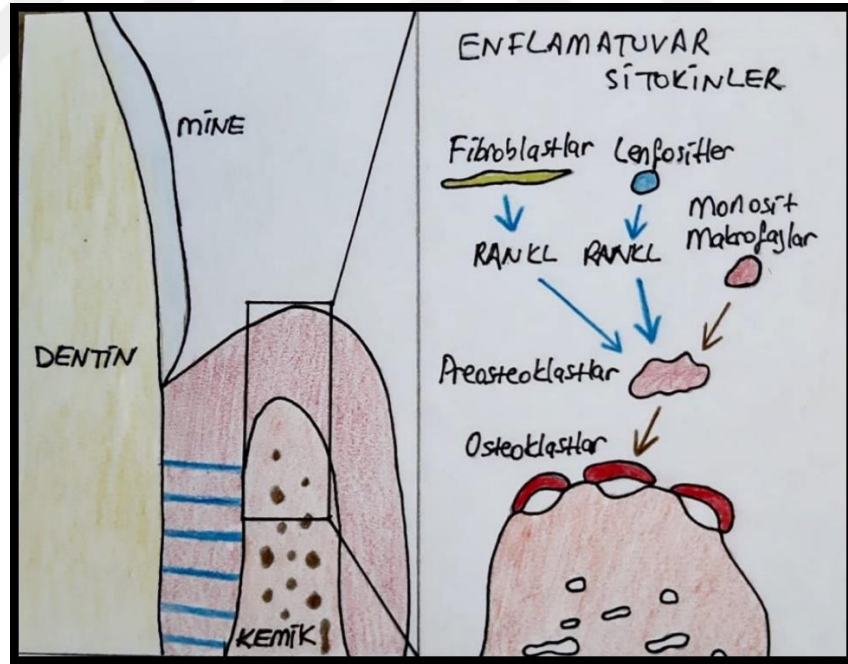
Kemik yıkımını başlatan osteoklastların aktivasyonu için, RANK, RANKL ve OPG gibi düzenleyici kilit moleküller tarafından sinyal verilmektedir (Bartold ve ark. 2010) (Şekil 1.2).

Osteoklast progenitör hücrelerinden eksprese edilen RANK, osteoklast fenotipini oluşturmak için hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyararak osteoklastların ve

osteoklast öncüllerinin hücre yüzeyleri üzerindeki bir reseptörüdür (Teitelbaum ve Ross 2003, Cochran 2008, Belibasakis ve Bostanci 2012, Hienz ve ark. 2015). RANKL, osteoklast oluşumu sürecinde önemli bir araçtır. Membrana bağlı olan bu protein, TNF üst ailesinin bir üyesidir ve osteoblastlar, fibroblastlar, B ve T hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından; normal kemik metabolizması sırasında, osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından eksprese edilmektedir. RANKL ekspresyonu, paratiroid hormonu, D3 vitamini ve IL-11 gibi kemik metabolizması modülatörleri tarafından da düzenlenmektedir (Lacey ve ark. 1998, Matsuzaki ve ark. 1998, Kawai ve ark. 2006). RANK/RANKL etkileşimi osteoklast aktivasyonu açısından önemlidir. RANKL'in, preosteoblastların yüzeyi üzerindeki reseptörü olan RANK'a bağlanması ile c-jun terminal kinazın aktivasyonu meydana gelmekte ve ardından NF- κ B'nin aktivasyonu gerçekleşerek osteoklast oluşumu gözlenmektedir. RANKL'in kemik rezorpsiyonu için gerekli olduğu düşünülse, TNF'nin, RANKL'in yokluğunda osteoklastik kemik rezorpsiyonunu indükleyebildiği bildirilmiştir (Kobayashi ve ark. 2000). Bununla birlikte, RANKL genellikle osteoklast oluşumu için temel bileşen olarak kabul edilmektedir (Lam ve ark. 2000). Osteoimmünolojide önemli bir rol oynayan RANKL, osteoklastik hücre farklılaşma ve aktivasyonunu sağlarken, osteoklast apoptozunu inhibe etmektedir. RANKL'in üretimi, TNF- α ve IL-1 gibi enflamatuvar sitokinlerle de düzenlenmektedir (Hofbauer ve Heufelder 2001, Caetano-Lopes ve ark. 2009). Enflame periodontal dokularda RANKL seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (Cochran 2008). Ayrıca enflame periodontal dokularda fibroblastlarda ve mononükleer hücrelerde yüksek RANKL ekspresyonu gösterilmiştir (Crotti ve ark. 2003, Bartold ve ark. 2010). RANK/RANKL oranı ise osteoblastlarda bulunan kemik kütlelerini belirleyen yollardan biridir (Hofbauer ve Heufelder 2001, Boyce ve ark. 2005). RANKL olmayan farelerde osteoklastların tamamen yok olduğu ve osteopetrosis geliştiği gözlenmiştir (Kong ve ark. 1999).

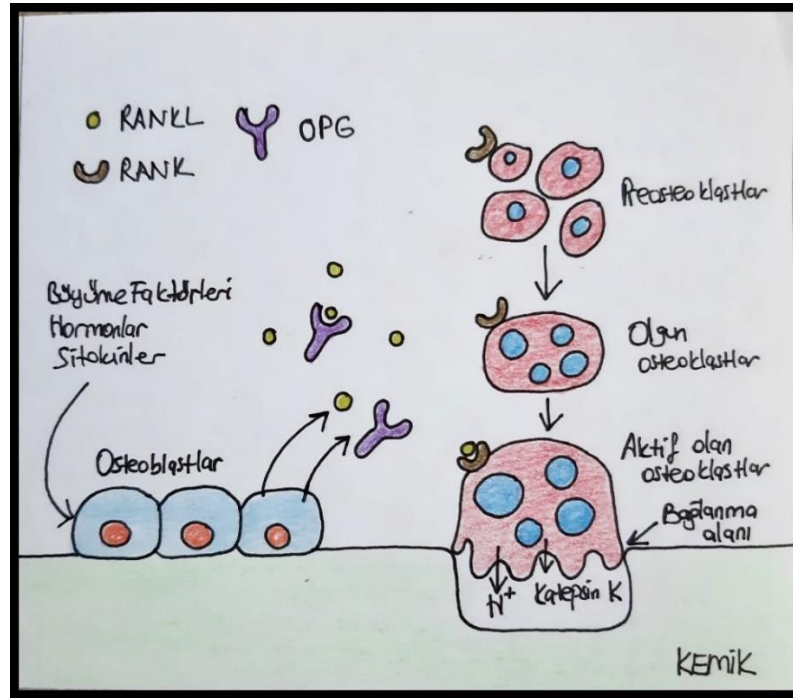
TNF reseptör süper ailesinin bir üyesi olan OPG, osteoblastlar, insan periodontal ligament hücreleri, dişeti fibroblastları ve epitel hücreleri ile kardiyovasküler sistem, böbrek, karaciğer, dalak, beyin, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok dokuda, hematopoetik

ve immün hücreler tarafından sentezlenmektedir (Boyce ve Xing 2007). OPG'nin ekspresyonu, enflamatuvar sitokinler tarafından modüle edilmekte ve RANKL/RANK etkileşimini inhibe ederek RANKL'ın etkilerini modifiye etmektedir. (Şekil 1.3 ve 1.4) RANKL'ın doğal bir inhibitörü olan OPG, RANKL'a bağlanarak tuzak reseptör gibi görev görmekte ve RANK'a bağlanmasını önlemektedir. Sonuç olarak osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe olmakta ve kemik rezorpsiyonu oluşmamaktadır (Kostenuik ve Shalhoub 2001, Boyce ve Xing 2007). OPG bulunmayan fareler üzerinde yapılan araştırmalar, hayvanların osteoporotik bir fenotipe sahip olduğunu göstermiştir (Bucay ve ark. 1998). Bununla birlikte, aşırı OPG eksprese eden farelerde osteopetrozis gelişmiştir; bunun nedeni osteoklast oluşumunun ve dolayısıyla kemik rezorpsiyonunun olmamasıdır (Mizuno ve ark. 2002).



Şekil 1.3 Periodontal kemik rezorpsiyonunda enflamatuvar sitokinlerin rolü (Bartold ve ark. 2010)

Kemik kaybının derecesi ise RANKL/OPG oranının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Cochran 2008, Belibasakis ve Bostanci 2012, Walsh ve Choi 2014). Bu oran, aktif periodontal hastalığın bulunduğu bölgede dramatik derecede artmakta ve hastalık şiddeti ile pozitif korelasyon göstermektedir (Vernal ve ark. 2004, Jin ve ark. 2007, Silva ve ark. 2008). Enflame periodontal dokulardaki RANKL/OPG oranının, RANKL'da bir artış veya OPG'de bir azalma veya her ikisinde bir azalma olması sebebiyle arttığı bulunmuştur. Periodontitisli hastaların DOS ve gingival doku örneklerinde artan RANKL konsantrasyonu ve azalan OPG konsantrasyonu tespit edilmiştir (Crotti ve ark. 2003, Bostanci ve ark. 2007, Belibasakis ve ark. 2011, Costa ve ark. 2018). RANKL ve OPG ekspresyonları; dişeti, DOS, tükürük ve kan serumunda tespit edilebilmekte ve periodontal hastalık aktivitesi hakkında güvenilir bilgiler vermektedir (Mogi ve ark. 2004, Lu ve ark. 2006, Bostanci ve ark. 2007, Belibasakis ve Bostanci 2012). Bu bulgular ümit verici bir tedavi hedefini belirlemektedir ve RANKL/RANK/OPG eksenini modüle eden ilaçların geliştirilmesini ve kullanımını teşvik etmektedir (Bartold ve ark. 2010).



Şekil 1.4 RANK-RANKL-OPG etkileşiminin şematik gösterimi (Taubman ve ark. 2005)

Toll-benzeri reseptör (TLR)'ler, çeşitli mikrobiyal ürünleri tanıyarak konağı uyarmaktadır. Adaptif immünitenin geliştirilmesi, doğal immün hücrelerde bulunan TLR'lerin aktivasyonu ile kontrol edilmektedir. Bu aktivasyon, T hücre farklılaşması için kritik olan sitokinlerin ve kemokinlerin üretilmesine yol açmaktadır. TLR'ler, patojen kaynaklı faktörlere ve enflame doku ürünlerine bağlanırlar; böylece NF-κB ve IFN gibi düzenleyici transkripsiyon faktörlerini aktive ederek, immün ve enflamatuvar genlerin indüklenmesine yol açmaktadır ve bu da enflamatuvar sitokinlerin ve tip I IFN'lerin ekspresyonunu sağlamaktadır (Van Dyke ve ark. 2015). NF-κB, B hücrelerindeki kappa immünoglobulin hafif zincirindeki DNA elementine bağlanan ve osteoklast oluşumu ve aktivasyonu için gerekli olan ve RANK sinyallemede yer alan önemli bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır (Serhan ve ark. 2011). NF-κB ailesinin beş üyesi bulunmaktadır: REL-a (p65), NF-κB1 (p50; p105), NF-κB2 (p52; p100), c-Rel ve REL-b24. Bu üyeler, REL-b24 hariç, NF-κB transkripsiyon faktörünü üretmek için homodimer ve heterodimerler oluşturmaktadır. Enflamatuvar reaksiyonlarda en yaygın aktive edici form, p50 ve p65'in bir heterodimeridir ve NF-κB'nin 5'-3' bölgesine bağlanarak hedef genin transkripsiyonunu aktive etmekte veya baskılamaktadırlar (Ciesielski ve ark. 2002). NF-κB'nin ana düzenleyicileri, NF-κB inhibitörleridir; bunlardan en yaygınları ise; NF-κBa'nın inhibitörü, NF-κBb'nin inhibitörü ve NF-κBe24'ün inhibitörüdür. NF-κB transkripsiyon faktörleri ailesinin, birçok farklı yolda yer aldığı ve hem doğal hem de adaptif immün yanıtları kontrol eden çok çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenlemede merkezi bir rolü olduğu gösterilmiştir. NF-κB yolunun aktivasyonu, periodontal hastalığı olan dokularda bakteriyel LPS, TNF-α, IL-1, MMP'ler, siklooksijenaz (COX)-2 ve indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz (iNOS) gibi pek çok proenflamatuvar belirtecin mevcudiyetinde meydana gelmektedir. *In vitro* çalışmalar *P. gingivalis*'in ve diğer patojenik periodontal bakterilerin, periodontal dokularda NF-κB'yi aktive edebileceğini göstermiştir (Lindhe ve ark. 1973). NF-κB aktivasyonu ile ilişkili birçok ürün (özellikle IL-1, TNF-α ve RANKL) hastalıklı periodonsiyumda bol miktarda bulunmaktadır. RANKL aracılı osteoklastogenez, enflamatuvar kemik rezorpsiyonunda önemli bir rol oynamaktadır ve bu süreç, hastalıklı periodontal dokulardaki RANKL ve IL-1β konsantrasyonunun artması sonucu meydana gelmektedir (Trackman ve Kantarci

2015). Biyolojik olarak aktif moleküllerin varlığında, NF-κB'nin aktivasyonu, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve TLR yolları dahil olmak üzere diğer sinyal yollarının da aktivasyonunun bir sonucudur (Kurgan ve Kantarci 2018).

1.2.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, stabil olmayan, dış atomik yörüngesinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren yüksek enerjili bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron, serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırmaktadır (Halliwell 1991). Serbest radikaller, dış yörüngesinde radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ya da radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı ile ya da kovalent bağların homolitik kırılması sonucu her iki atom üzerinde paylaşılmamış elektron kalmasıyla oluşabilmektedir (Chapple ve Matthews 2007).

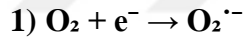
1.2.1.Reaktif oksijen türleri

ROT, oksijenin normal metabolizmasının bir yan ürünü olarak oluşmakta ve hücre sinyalizasyonunda önemli rol oynamaktadır. Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli serbest oksijen radikalleri: **süperoksit radikali**, **hidrojen peroksit**, **hidroksil radikali** ve **tekli oksijendir** (Chapple 1997, Chapple ve Matthews 2007) (Tablo 1.1).

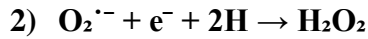
Tablo 1.1 Gerçek radikal ve ROT ve sembolleri (Chapple ve Matthews 2007)

Gerçek radikaller	Radikal sembolleri	ROT	ROT sembolleri
Süperoksit	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$\cdot OH$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Perhidroksil	$HO_2^{\cdot -}$	Tekli oksijen	1O_2
Hidroperoksil	$HOO\cdot$	Ozon	O_3
Alkoksil	$RO\cdot$		
Peroksil	$ROO^{\cdot -}$		
Akiloksil	$RCOO\cdot$		

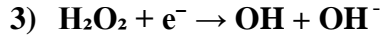
Oksijen ve ondan türeyen ROT arasındaki ilişki aşağıda belirtilmiştir:



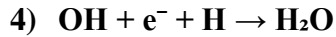
(Oksijene bir elektron eklenmesi süperoksit anyon formasyonu)



(İkinci bir elektronun eklenmesi hidrojen peroksit formasyonu)



(Üçüncü bir elektronun eklenmesi hidroksil radikali formasyonu)



(Dördüncü elektronun eklenmesiyle de suyun formasyonu) (Waddington ve ark. 2000, Canakci ve ark. 2005)

ROT, endojen ve ekzojen kaynaklı olabilir.

Ekzojen kaynaklar; ısı, travma, ultrason, ultraviyole ışını, ozon, sigara, egzoz dumanı, alkol, radyasyon, enfeksiyon, aşırı egzersiz ve terapötik ilaçlardır (Canakci ve ark. 2005, Chapple ve Matthews 2007).

Endojen kaynakları ise;

- Mitokondriyal elektron transfer sisteminde NADH-dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçığının olmasıyla süperoksit yapımının gerçekleşmesi
- Bağ dokusu ve konak savunma hücreleri tarafından fonksiyonel üretimi şeklinde oluşabilir (Chapple ve Matthews 2007).

Yüksek reaktiviteye sahip olan ROT, fazla miktarda üretildiğinde dokuda yıkıcı etkilere neden olmaktadır (D'Aiuto ve ark. 2010). ROT'un doku hasarı; protein hasarı, DNA hasarı, LPO, önemli enzimlerin oksidasyonu ve monosit ve makrofajlar tarafından proenflamatuvar sitokinlerin salınımının stimülasyonu gibi mekanizmaları içermektedir (Bartold ve ark. 1984, Chapple 1997, Chapple ve Matthews 2007).

Protein hasarı: ROT aracılı protein hasarının biyolojisi oldukça karmaşıktır ve tam olarak bilinmemektedir. Bazı okside olmuş proteinlerin hücreler tarafından zayıf bir şekilde işlendiği, bu nedenle yaşlanma sırasında ve diyabet gibi kronik durumlarda birikmiş oldukları düşünülmektedir (Dean ve ark. 1997). Bu tür birikimin etkileri, tersinir ya da geri döndürülemez fonksiyonel inaktivasyona ve proteazlar tarafından bozunmaya karşı artan bir duyarlılığa yol açmaktadır (Halliwell 1991).

Radikal saldırı, proteinlerin C=C bağlarını etkileyerek karbon merkezli radikal ara ürünler oluşturmakta ve bu ürünler proteinlerle etkileşime girerek yapılarında katlanmalar oluşturup protein yapı ve fonksiyonunu bozmaktadırlar (Chapple ve Matthews 2007).

ROT'un proteinlere olan etkisi ise:

- Proteinlerde geri dönüşümlü/geri dönüşümsüz katlanma veya açılmalar,
- Protein parçalanması ve polimerizasyon reaksiyonu,
- Modifiye proteinlerin proteinazlar tarafından yıkılması,
- Protein bağlı radikal oluşumu,
- Protein bağlı ROT oluşumu,
- Karbonil bileşikler gibi stabil son ürünlerin oluşması şeklindedir (Chapple ve Matthews 2007).

DNA hasarı: Peroksinitrit ve hidroksil radikalleri DNA yapısında uç kırıklarına, baz çiftleri mutasyonlarına (pürin ve pirimidin mutasyonları), guaninin 8-hidroksiguanin dönüşümüne (bu nükleosit 8-hidroksideoksiguanosin (8-OHdG) olarak bir DNA hasarı belirteci olarak ölçülmektedir), DNA içeriğinde kayıpların olmasına, yer değiştirmelere, yırtılmalara ve sekans amplifikasyonlarına sebep olarak DNA'ya zarar verebilmektedir (Chapple ve Matthews 2007). Hücre içi ROT, COX ve lipoksijenazların aktivasyonu ile LPO'yu indüklemekte ve zincir kırılma ve hidroksilasyonlarına neden olarak DNA hasarı meydana getirmektedir (Akalin ve ark. 2007, Borges ve ark. 2007, Bosca ve ark. 2016).

Proenflamatuvar sitokinlerin uyarılması: Periodontal hastalık varlığında enflamatuvar hücreler tarafından çeşitli sitokin ve kemokinlerin ekspresyonunda artış olmaktadır. IL-1, IL-6, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve LPS nötrofillerin oksidatif aktivitelerini düzenlemekte ve dokularda oksidatif stresin belirlenmesinde rol oynamaktadır (Elbim ve ark. 1994, Chapple ve Matthews 2007). PMNL'ler tarafından aşırı ROT üretiminin, periodontitis patogenezinde önemli bir rol oynadığı da bilinmektedir. Özellikle TNF- α , periodontitisli bireylerde PMNL'lerden ROT üretiminde önemli rol oynayan ana sitokinlerden biridir (Chapple 1996, Gustafsson ve ark. 1997). Ayrıca ROT, NF- κ B'yi aktive ederek makrofajlardan proenflamatuvar sitokinlerin salınımının uyarılmasını sağlamakta ve alveoler kemik rezorpsiyonunda rol oynamaktadır (Chapple 1996, Wang ve ark. 2002).

LPO: LPO'nun, yaşlanma, ateroskleroz, mikro ve makrovasküler değişiklikler gibi diyabetin geç dönem komplikasyonları, RA, kronik obstruktif pulmoner hastalıklar ve periodontitiste önemli rolleri bulunmaktadır (Velazquez ve ark. 1991, Chapple 1997, Macnee ve Rahman 1999, Halliwell 2000, Tsai ve ark. 2005, Akalin ve ark. 2007, Wei ve ark. 2010, Bastos ve ark. 2012). LPO, serbest radikallerin en önemli reaksiyonlarından biridir. Bu işlemin aktifleştirilmesinde hidroksil ve peroksinitrit radikalleri etkilidir. Peroksidasyon reaksiyonu başlangıç, yayılma ve yok etme olarak üç ana başlık altında toplanmıştır (Halliwell 1991).

Hidroksil veya peroksinit radikali, lipid zarındaki bir çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) yan zincirine (örneğin; araşidonik asit) saldırmakta ve bir hidrojeni uzaklaştırıp karbon merkezli bir radikal oluşturmaktadır. Bu radikal, konjuge bir dien oluşturmak için yeniden düzenlenmekte veya kovalent bir bağ oluşturmak üzere başka bir PUFA yan zincir radikaliyle birleşmektedir. Böylece çapraz bağlar oluşturarak membran yapısını ve fonksiyonunu bozmaktadır (Chapple ve Matthews 2007).

Bununla birlikte, yan zincir radikali, oksijen varlığında başka bir PUFA yan zincirine saldıran farklı bir lipid peroksil radikal oluşturmakta ve böylece zincir reaksiyonu devam etmektedir. Böylece sitotoksik aldehytler ve daha az toksik aldehytlere (MDA) ayrılan yüzlerce lipid hidroperoksit oluşmaktadır. Lipid hidroperoksitlerin birikmesi hücre zarının işlevini bozar, bu da hücre yıkımına neden olmaktadır (Chapple ve Matthews 2007).

LPO ürünleri, lipid peroksitler, aldehytler (malondialdehyt), konjusedienler, akrolein, izoprostanlar (araşidonik asitten F2-izoprostanlar), nöroprostanlar (F4-izoprostanlar) ve uçucu hidrokarbonlar (pentan, etan) gibi çeşitli biyoaktif molekülleri içermektedir. (Roberts ve Morrow 2002, Halliwell ve Whiteman 2004).

MDA: Düşük molekül ağırlıklı kısa zincirli, uçucu formda ve kaynağı doymamış yağ asitleri olan bir aldehyttir. Oksidatif stres esnasında bazı makromoleküllerin yıkılması ile veya PG biyosentezinin ürünü olarak meydana gelmektedir (Durak ve ark. 2002). LPO, PUFA radikalleri ile oksidasyonu sonucu başlayan ve sonrasında MDA, 4-hidroksinoneal

(4-HNE), etan, pentan ve alkoller gibi ürünlerin oluştuğu bir reaksiyonlar zinciridir. Bu bileşikler hücrelerde metabolize edilmekte veya diffüze olarak diğer hücrelerde hasar yaratmaktadır (Droge 2002, Roberts ve Morrow 2002). LPO sonucunda membran bütünlüğünün bozulması ile membran proteinleri, reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olmaktadır (Babbs ve Steiner 1990). Ayrıca MDA, DNA bazlarıyla reaksiyona girerek mutajenik lezyonlara da neden olmaktadır (Droge 2002, Roberts ve Morrow 2002).

Lipit hidroperoksitleri ile sonuç yıkım ürünü olan MDA, LPO'nun bir göstergesi olarak kabul edilmekte ve ROT'a bağlı doku yıkımı MDA ile ölçülebilmektedir (Roberts ve Morrow 2002, Tsai ve ark. 2005, Halliwell 2007).

ROT baskın olarak hücre hasarına neden olmakla birlikte, hücre içi sinyallerinin düzenlenmesinde de önemli fizyolojik rol oynamaktadır (Thannickal ve Fanburg 2000, Droge 2002). Hücrelerin endojen olarak ROT üretme yetenekleri, hücre büyümesi ve farklılaşmasında yer alan sinyal iletim yollarının indüksiyonunda ve korunmasında iyi bilinen bir özelliktir. Çoğu hücre tipinin IL-1 β , IL-6, IL-3, TNF- α gibi sitokinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), sinir büyüme faktörü (NGF) gibi büyüme faktörleri ve hormonlar tarafından uyarıldığında düşük konsantrasyonda ROT üreterek küçük bir oksidatif patlama meydana getirdiği bildirilmiştir (Thannickal ve Fanburg 2000). Bu, birkaç sinyal iletim yolunun başlatılması ve/veya uygun şekilde işlev görmesinin, sinyal iletim kademesinde farklı seviyelerde etki edebilen sinyal molekülleri olarak ROT'un etkisine dayandığı varsayımına yol açmıştır (Bredt ve Snyder 1994, Saikolappan ve ark. 2019). Muhtemelen ROT'un sinyal yollarındaki en önemli etkisi MAPK yollarında gözlenmiştir Bu, NF- κ B gibi nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu içermektedir. Bu faktörler, hasarlı DNA'yı onarabilen, immün sisteme katkı sağlayan, hasarlı hücrelerin çoğalmasını önleyen ve apoptozu indükleyen koruyucu genlerin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Sun ve Oberley 1996).

ROT'un üretimi, aktif büyüme faktörü [epidermal büyüme faktörü reseptörü, PDGF, vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü (VEGF) ve sitokin (TNF- α ve IFN-gama

(γ)] veya interlökin reseptörlerinin (IL-1 β) sinyalleşmesinin bir sonucu olarak gerçekleşmektedir (Sundaresan ve ark. 1996, Neufeld ve ark. 1999). TNF- α , IL-1 ve IFN- γ gibi sitokinlerin, fagositik olmayan hücrelerde ROT oluşturdukları bildirilmiştir (Chapple 1997). Bu ligand/reseptör ile başlatılan yollar tarafından üretilen ROT'un gerçek ikinci haberciler olarak işlev görebileceği ve çoğalma ve apoptoz gibi önemli hücrel fonksiyonlara aracılık edebileceği genel olarak kabul edilmektedir (Valko ve ark. 2007).

1.3.Antioksidanlar

ROT'un oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta pek çok savunma mekanizması mevcuttur. Bu mekanizmalara antioksidan adı verilen moleküller aracılık etmektedir. Antioksidanlar, hücrelerde bulunan DNA, protein, karbonhidrat ve lipit gibi oksitlenebilecek maddelerin oksidasyonunun önlenmesi ya da geciktirilmesinde görev alarak ROT'a karşı savunma mekanizmasını oluşturmaktadır (Valko ve ark. 2007).

İnsan vücudunda antioksidan savunma sistemi oldukça karmaşıktır. Antioksidanlar çeşitli metotlara göre sınıflandırılmaktadır (Chapple ve Matthews 2007).

- Fonksiyonlarına ya da etkilerine göre antioksidanlar (Tablo 1.2)
- Lokalizasyonlarına göre antioksidanlar (Tablo 1.3)
- Çözünürlüğüne göre antioksidanlar (Tablo 1.4)
- Korudukları yapılara göre antioksidanlar (Tablo 1.5)
- Kaynaklarına göre antioksidanlar (Tablo 1. 6)

Tablo 1.2 Fonksiyonlarına ya da etkilerine göre antioksidanlar

Fonksiyonuna Göre	
Önleyici (Süpürücü) Antioksidanlar	Enzimler: Süperoksit dismutaz (1, 2 ve 3), katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri. Metal iyonlarını ayıranlar: Albumin, laktoferrin, transferrin, seruloplazmin, hemopeksin, karotenoidler, glutatyon peroksidaz, ürik asit, polifenolik flavenoidler
Zincir Kırıcı (Koruyucu) Antioksidanlar	Askorbat (vitamin C), karotenoidler (retinol-vitamin A), urikasit, α -tokoferol (vitamin E), polifenoller (flavenoid), bilirubin, albümin, ubiquinon, indirgenmiş glutatyon peroksidaz

Tablo 1.3 Lokalizasyonlarına göre antioksidanlar

Hücre Lokalizasyonuna Göre	
a) Hücre İçi	Süperoksit dismutaz (1-2), katalaz, glutatyon peroksidaz, indirgenmiş glutatyon, ubiquinon (indirgenmiş form)
b) Hücre Dışı	Süperoksit dismutaz (3), selenyum-glutatyon peroksidaz, indirgenmiş glutatyon, laktoferrin, transferrin, seruloplazmin, albümin, askorbat, karotenoidler, ürik asit,
c) Membranla ilişkili	α -tokoferol

Tablo 1.4 Çözünürlüğüne göre antioksidanlar

Korundukları Yapıya Göre	
a) DNA Koruyucu	Süperoksit dismutaz enzimleri 1 ve 2, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri (poli (ADP-riboz) polimeraz)), indirgenmiş glutatyon, sistein
b) Protein Koruyucu	Koruyucu antioksidanlar ile metal geçişinin sökestrasyonu, antioksidan enzimler
c) Lipid Koruyucu	α -tokoferol (vitamin E), askorbat (vitamin C), karotenoidler (retinol - vitamin A), indirgenmiş ubiquinone, indirgenmiş glutatyon, glutatyonperoksidaz, bilirubin

Tablo 1.5 Korudukları yapılara göre antioksidanlar

Çözünürlüğüne Göre	
a) Suda Çözünbilen	Haptoglobin, serüloplazmin, albümin, askorbat, ürik asit, indirgenmiş glutatyon, polifenolikflavonoidler
b) Yağda Çözünbilen	α -tokoferol, karotenoidler, bilirubin, quinonlar (indirgenmiş ubiquinon)

Tablo 1.6 Kaynaklarına göre antioksidanlar

Kaynağına Göre	
a) Diyetle Alınabilen Ekzojenler	Karotenoidler, askorbik asit, tokoferoller, folik asit, sistein
b) Vücut Tarafından Sentezlenen Endojenler	Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-s transferaz, indirgenmiş glutatyon, seruloplasmin, transferrin, ferritin

(Chapple ve Matthews 2007)

Önleyici antioksidanlar, hidrojen peroksit ve süperoksitin enzimatik olarak uzaklaştırılmasını veya iki değerlikli metal iyonlarının sekestrasyonu sağlayarak, Fenton reaksiyonlarını ve sonucunda hidroksil radikal oluşumunu önleyerek görev yapmaktadır (Golub ve ark. 1998). Hücre dışı sıvılarda, zincir kırıcı antioksidanlar önemli role sahiptir. Yağda çözünen antioksidanlar (a-tokoferol ve karotenoidler) hücre zarı seviyesinde hareket ederek hücreyi LPO'ya karşı korurken; suda çözünen antioksidanlar hücre dışı doku sıvıları için önemlidir (Chapple ve Matthews 2007).

Bir antioksidanın etkinliği; lokalizasyonuna (hücre içi/hücre dışı/membrana bağlı), ROT'un yapısına, diğer antioksidan türleri ile etkileşimine ve pH, oksijen basıncı gibi diğer çevresel koşullara bağlıdır (Chapple ve Matthews 2007).

Antioksidanların serbest radikal hasarına karşı koruma sağlayabileceği farklı mekanizmalar arasında;

- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi,
- Reaktif metabolitleri temizleyerek ve daha az reaktif moleküle dönüştürerek serbest radikallerin önlenmesi,
- Serbest radikallerin neden olduğu hasarların onarımını kolaylaştırması,
- Diğer antioksidanların etkili çalışması için uygun ortamın sağlanması yer almaktadır.

Redoks potansiyeli, bir maddenin hidrojene göre elektron afinitesinin volt cinsinden ölçüsüdür. Hidrojenden daha güçlü elektronegatif olan maddeler (yani hidrojeni oksitleyebilen) pozitif redoks potansiyeline sahiptir ve oksidanlardır. Hidrojenden daha az elektronegatif olan maddeler (yani azaltabilen) ise hidrojen redoks potansiyeline sahiptir ve indirgeyici ajanlardır. Yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları her zaman bir arada devam etmektedir ve redoks reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır (Chapple ve Matthews 2007).

‘Kararlı hal’ konsantrasyonları, ROT’un üretim hızı ile çeşitli antioksidanlar tarafından uzaklaştırılma oranları arasındaki denge ile belirlenmektedir. Bu nedenle her hücre, birçok hücrenel bileşende depolanan belirli bir elektron konsantrasyonu, hücrenin redoks durumu ve salınımı ile karakterize edilmekte ve bu, hücrenel işleyişi belirlemektedir (Schafer ve Buettner 2001, Valko ve ark. 2007).

Antioksidan savunma sistemi, vücudun redoks dengesinde meydana gelen herhangi bir bozunmaya karşı çok hassastır ve oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilecek serbest radikal oluşumunu nötralize etmektedir (Dahiya ve ark. 2013).

ROT ve antioksidanlar normal fizyolojide dinamik bir dengededir. Bu hassas dengede, artan ROT salınımı/aktivitesine veya azalan bir antioksidan savunma mekanizmasına doğru bir kayma olduğunda, oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres, prooksidan-antioksidan dengede prooksidan lehine bir kayma olarak tanımlanmıştır (Chapple ve Matthews 2007, Dahiya ve ark. 2013). Her bir hücre tarafından günde

yaklaşık 1-3 milyar reaktif türün salındığına inanılmaktadır (Ames ve ark. 1993). Bunlar antioksidanlar tarafından nötralize edilmekte ve bu da normal sağlığın korunmasında antioksidanların kritik rolünü netleştirmektedir (Trivedi ve Lal 2017).

GP, SOD ve katalaz (KAT), hücreleri serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan koruyan en önemli antioksidanlardır. Bu antioksidanlar, süperoksit ve hidrojen peroksit iyonlarının enzimatik olarak uzaklaştırılmasıyla işlev görmektedir (Chapple ve Matthews 2007).

SOD: Aerobik organizmaların tüm hücre ve dokularında bulunmaktadır. Süperoksit ve hidrojen peroksit gibi radikallere karşı hücreyi koruyan savunma mekanizmaları arasında ilk görevi üstlenen enzimdir. Memeli hücrelerinde üç tür SOD bulunmaktadır: Sitozolik (Cu/Zn-SOD), mitokondriyal (Mn-SOD) ve hücre dışı (EC-SOD). Hem sitozol, hem de mitokondriyalde bulunan SOD, spesifik olarak süperoksit radikallerini etkisiz hale getirerek hücreleri süperoksit radikalinin zararlı etkilerinden korumaktadır. SOD, süperoksit anyonunu, hidrojen peroksit ve oksijene indirgemeyi katalize ederek etkili olmaktadır (Kuramitsu ve ark. 2007). SOD'un antioksidan aktivitesi sonucu açığa çıkan hidrojen peroksitin detoksifiye edilmesi KAT veya GP tarafından sağlanmaktadır (Powers ve Lennon 1999, Yılmaz ve ark. 2004, Chapple ve Matthews 2007).

SOD, aktif bölgelerde geçiş metal iyonunun art arda oksidasyonu ve indirgenmesiyle O_2^- 'yi yok etmektedir (Meier ve ark. 1998). Tüm SOD tipleri, azid ve florür gibi tek yüklü anyonları bağlamaktadır, ancak Fe-, Mn⁺ veya Cu/Zn-SOD'lara duyarlılıklarında belirgin farklılıklar görülmüştür. Cu/Zn-SOD, N₃²⁻, CN⁻ ve F⁻ tarafından yarışmalı bir şekilde inhibe edilmektedir (Leone ve ark. 1998, Vance ve Miller 1998).

Mn-SOD, alt birim başına bir manganez atomu içeren bir homotetramerdir (96 kDa). Mn-SOD, süperoksitin iki aşamalı dismutasyonu sırasında Mn (III)' den Mn (II) 'ye ve yeniden Mn (III)' e dönüştüğü döngüde yer almaktadır (MacMillan-Crow ve ark. 1998). Mitokondride solunum zinciri, önemli bir oksijen radikal kaynağıdır. Mn-SOD'un sitokinler tarafından büyük ölçüde indüklendiği ve baskılandığı gösterilmiştir (Strålin ve Marklund 1994).

Cu/Zn-SOD, evrim boyunca korunmuş başka bir enzim türüdür. Bu enzimler, birbirinin aynı 32 kDa'lık iki alt birime sahiptir. Her alt birim, bir histamin kalıntısı ile köprülenmiş bir bakır ve bir çinko atomundan oluşan bir metal küme içermekte ve bu aktif alanı oluşturmaktadır (Battistoni ve ark. 1996). Cu/Zn-SOD'un, ilk antioksidan savunma hattında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. SOD ile ilgili raporlarda, Mn-SOD'un yaşam için vazgeçilmez olduğunu buna karşın Cu/Zn-SOD'un gerekli olmadığı belirtilmiştir (Mates ve ark. 1999).

EC-SOD, bakır ve çinko içeren, tetramerik bir glikoprotein olarak salınmaktadır. Heparin ve heparan sülfat gibi bazı glikozaminoglikanlar için yüksek afiniteye sahiptir. EC-SOD dokuların interstisyel boşluklarında ve hücre dışı sıvılarda bulunmakla birlikte, plazma, lenf ve sinovyal sıvıdaki SOD aktivitesinin çoğunu oluşturmaktadır (Marklund 1980, Sandstrom ve ark. 1994). EC-SOD, substrat veya diğer oksidanlar tarafından indüklenmez ve memeli dokularında düzenlenmesi, tek tek hücrelerin oksidanlara olan yanıtı yerine, sitokinler tarafından koordine edilmiş bir şekilde meydana gelmektedir (Buschfort ve ark. 1997).

KAT: Alt birim başına tek bir ferriprotoporfirin grubu içeren ve yaklaşık 240 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahip ve dört adet aynı 60 kDa'lık alt biriminden oluşan bir tetramerik enzimdir. KAT, hidrojen peroksitle ile reaksiyona girererek su ve moleküler oksijen oluşturmakta ve H donörleri (metanol, etanol, formik asit veya fenoller) ile reaksiyona girererek peroksidaz aktivitesi göstermektedir. KAT ve GP, hidrojen peroksitide toksifiye ederek hücreleri korumaktadır. Normal koşullar altında her hücre tipi için zorunlu olmasa da hücrelerin adaptif yanıtındaki oksidatif strese karşı önemli bir rol oynamaktadır (Mates ve ark. 1999, Powers ve Lennon 1999).

GP: Yapısında dört özdeş selenyum (Se) alt birimi ve her alt birimde enzim aktivitesi için gerekli olan tek bir seleno-sistein kalıntısı içermektedir. GP (80 kDa), glutatyon kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize etmektedir, böylece memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Glutatyon metabolizması en temel antioksidan savunma mekanizmalarından biridir (Esterbauer ve ark. 1992, Rikans ve

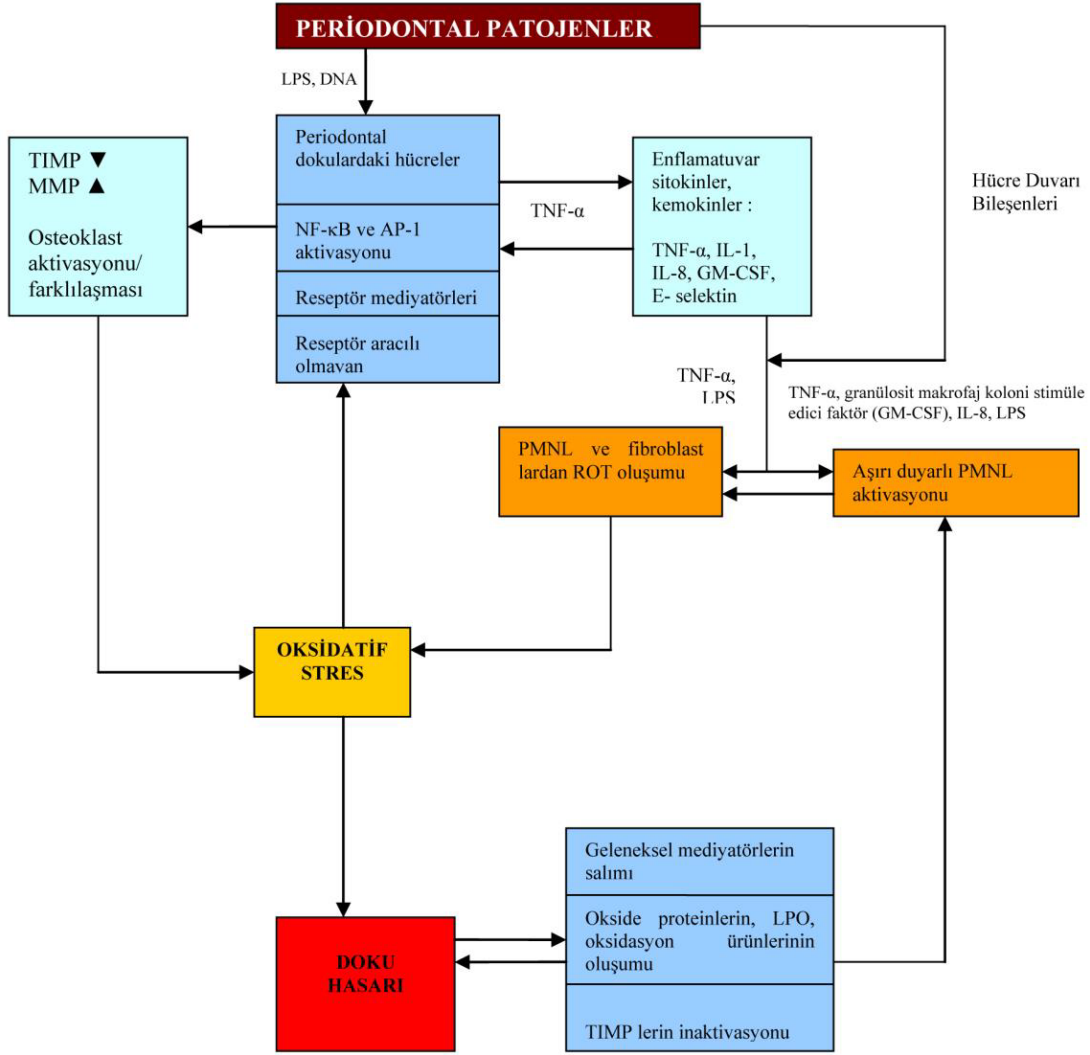
Hornbrook 1997, Grazioli ve ark. 1998, Sigalov ve Stern 1998). GP, hidrojen peroksit, steroid ve lipid hidroperoksitleri üzerine etkili bir antioksidan enzim olup, eritrosit ve lökosit gibi hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu olarak görev almaktadır (Patel ve ark. 2012).

Memelilerde beş GP izoenzimi bulunmaktadır. Her yerde ekspresyonları olmasına rağmen, her bir izoformun seviyesi doku tipine bağlı olarak değişmektedir. Sitozolik ve mitokondriyal GP (cGP veya GP1), glutatini yapısını oluşturan yağ asidi hidroperoksitlerini ve hidrojen peroksiti indirgemektedir. Çoğu dokuda GP1 ve fosfolipid hidroperoksit GP (PHGP veya GP4) bulunurken; GP4 hem sitozol hem de membran fraksiyonunda bulunmaktadır. PHGP, peroksitlenmiş membranlarda ve okside lipoproteinlerde üretilen fosfolipid hidroperoksitleri, yağ asidi hidroperoksitleri ve kolesterol hidroperoksitleri direk olarak indirgemektedir (Imai ve ark. 1998). GP1, yoğun olarak eritrositler, böbrek ve karaciğerde bulunmaktadır. GP4, renal epitel hücrelerinde ve testislerde yüksek oranda eksprese edilmektedir. cGP2 veya GP-G1 ve hücre dışı GP3 veya GP-P, sırasıyla gastrointestinal sistem ve böbrek dışındaki çoğu dokuda zayıf bir şekilde saptanmaktadır. Ayrıca, özellikle fare epididiminde eksprese edilen Se'den bağımsız GP5 tanımlanmıştır (de Haan ve ark. 1998).

Fagositik hücrelerde, majör peroksit uzaklaştırıcısı olan GP'nin önemli fonksiyonları mevcuttur. GP, oksidatif yıkım sırasında meydana gelen serbest radikalini, diğer antioksidanlarla birlikte etkisiz hale getirerek fagositik hücrelerin zarar görmesini engellemektedir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan GP'dir. Ayrıca, araşidonik asit metabolizmasının aktivasyonunu arttırarak, tümör oluşumunda rol oynamaktadır (Bhamre ve ark. 2000, Zachara ve ark. 2006). GP, LPO'nun başlamasını önlemekte ve LPO sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını düzenlemektedir (Halliwell 2007).

1.4.Periodontal hastalık ve oksidatif stres

Oksidatif stres, serbest radikal formasyonu ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki eşitsizlik olarak tanımlanmaktadır ve oksidatif hasara duyarlı hücrel makromoleküllere zarar vererek, doku hasarına neden olmaktadır. Oksidatif stres, ateroskleroz, obezite, kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve periodontitis gibi hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Chapple 1997, Young ve Woodside 2001, Chapple ve Matthews 2007, Valko ve ark. 2007, Boesing ve ark. 2009, Sardi 2013, Bullon ve ark. 2014).



Şekil 1.5 ROT'un periodontal patojenlere yanıt olarak kronik enflamasyon ve doku hasarı oluşturmadaki rolü (Dahiya ve ark. 2013)

Periodontal hastalıkta subgingival plakta bulunan periodontopatojenler enflamatuvar değişikliklerin başlamasına neden olmaktadır (Şekil 1.5). Bakteriyel antijenlerin stimülasyonu ile PMNL'ler, büyük miktarlarda ROT üreterek, dişeti, periodontal ligament ve alveoler kemiğin artmış oksidatif hasarına neden olmaktadır (Sculley ve Langley-Evans 2002). PMNL'lere ek olarak makrofaj, nötrofil ve fibroblastlardan da ROT'un üretimi gerçekleşmektedir (Dahiya ve ark. 2013). Oksidatif stresin, yüksek ROT

konsantrasyonları ve baskılanmış antioksidan aktivite ile birlikte, periodontal dokularda lezyon oluşumunu hızlandırabileceği gösterilmiştir (Krol 2004, Boesing ve ark. 2009). Günümüzde, periodontitise duyarlı bireylerde, nötrofillerin dişetinde toplanması ve proteolitik enzimlerin ve ROT'un salınması bakteriyel antijen stimülasyonu üzerine konak yanıtının iki ana yönü olarak kabul edilmektedir. Bu süreç aynı zamanda sistemik bir enflamatuvar yanıtla da sonuçlanabilmektedir (Matthews ve ark. 2007).

Peridontal hastalık varlığında DOS ve dokulardaki MMP'ler ve doku inhibitörleri arasında oluşan dengesizlik, dokularda direkt tahribata sebep olmaktadır (Poza ve ark. 2005, Tuter ve ark. 2005). Bu tahribatın periodonsiyum hücrelerinde ROT'un yarattığı etkiyle, MMP'ler ve doku inhibitörlerinin ekspresyonunda gözlenen değişikliklerden dolayı meydana geleceği belirtilmiştir (Kawaguchi ve ark. 1996, Hemmerlein ve ark. 2004, Savaraj ve ark. 2005).

Çeşitli enflamatuvar hastalıklarda, ROT'un bağ dokusuna olan etkisi incelenmiştir (Halliwell 1991, Waddington ve ark. 2000, Canakci ve ark. 2005). ROT'un, tip I kollajen üzerinde birtakım etkilere sahip olduğu *in vitro* çalışmalarda belirtilmiştir (Mukhopadhyay ve Chatterjee 1994, Waddington ve ark. 2000, Ekuni ve ark. 2008). Hidroksil ve süperoksit radikallerinin, kollajendeki prolinlerini serbestleştirerek kollajeni parçaladığı gösterilmiştir (Monboisse ve Borel 1992).

In vitro olarak hidroksil radikallerinin ve hidrojen peroksidin alveoler kemik proteoglikanlarını yıkması, ROT'un periodontitiste kemik rezorpsiyonundaki direkt etkilerini desteklemektedir (Moseley ve ark. 1998). Yapılan bir çalışmada, hidrojen peroksidin osteoklastik kemik rezorpsiyonu ve hücre hareketliliğinin (motilite) güçlü bir uyarıcısı olduğu bildirilmiştir (Bax ve ark. 1992). ROT'un, osteoklast aktivasyonu sırasında, NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivasyonunda rol oynadığı ve osteoklast farklılaşması için hücre içi sinyal aracı olarak hareket ettiği görülmüştür (Hall ve ark. 1995, Lee ve ark. 2005, Callaway ve Jiang 2015). Ayrıca özellikle süperoksit anyonunun osteoklastların oluşumunda ve aktivasyonunda aracı olduğu raporlanmıştır (Garrett ve ark. 1990). Buna ek olarak, osteoklast-kemik ara yüzünde üretilen süperoksitin kemik

matriks degradasyonunda rol oynadığı belirtilmiştir (Key ve ark. 1994). Osteoklastların, NADPH-oksidadaz içerdiği ve kemik rezorpsiyonu sürecinde, aktif olarak süperoksit ürettikleri de bildirilmiştir (Steinbeck ve ark. 1994, Schroder 2019). Hidrojen peroksit, NF- κ B'yi aktive eden ve periodontal hastalığın patogenezinde önemli olan IL-2, IL-6, IL-8, IFN- β ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin nükleer translokasyonunu kolaylaştıran NF- κ B-I κ B kompleksinin fosforilasyonunu uyarabilmektedir (Chapple 1996, Fratelli ve ark. 2005, Honda ve ark. 2006). Yapılan çalışmalarda, MDA ile IL-1, IL-6, TNF- α , NF- κ B, PGE ve MMP gibi enflamatuvar belirteçlerin artması arasında pozitif yönde bir ilişki bulunmuştur (Yan ve ark. 1994, Vernal ve ark. 2004, Samanna ve ark. 2007).

Hayvan ve insan modellerinden elde edilen diğer bulgular, deneysel periodontitis modellerinde daha yüksek seviyelerde LPO, hidrojen peroksit ve oksidatif DNA hasarını doğrulamaktadır (D'Aiuto ve ark. 2010, Yamamoto ve ark. 2010). Ayrıca, deneysel modellerde, LPO, serum ve dişeti örneklerinde daha fazla oranda saptanmıştır (Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska 2000, Di Paola ve ark. 2005). Deneysel periodontitis modeli oluşturulan bir çalışmada, MDA düzeyindeki artışın SOD uygulanmasıyla ciddi derecede azaldığı ve SOD'un miyeloperoksidadaz (MPO) aktivitesini ve kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir (Di Paola ve ark. 2005). Serum MDA seviyelerinin, GP, SOD ve glutatyon redüktaz enzimlerinin az olduğu durumlarda yükseldiği raporlanmıştır. Ayrıca serum GP, SOD seviyelerinin düşük olması durumunda da MDA seviyelerinin yükseldiği belirtilmiştir (Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska 2000). Periodontitis varlığında, dişeti, DOS, tükürük ve serum örneklerinde GP ve glutatyon gibi antioksidan enzim seviyelerinin arttığı/azaldığı ya da değişmediği de gösterilmiştir (Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska 2000, Wei ve ark. 2010, Oktay ve ark. 2015).

Periodontitisli bireylerin DOS ve plazmasında GP ve glutatyon gibi antioksidanların anlamlı derecede düşük bulunmasının, periodontal patojenlere karşı meydana gelen sistemik enflamasyona bağlı olabileceği rapor edilmiştir (Brock ve ark. 2004). Ayrıca bazı periodontopatojenik bakteriler glutatyonu tüketmektedir ve bu durum, bu antioksidanın miktarının, dişeti dokusunda neden artmadığını açıklayabilmektedir (Carlsson ve ark.

1993, Borges ve ark. 2007). Peridontitiste MDA seviyesinin arttığını rapor eden çalışmaların yanında değişmediğini belirten çalışmalar da mevcuttur (Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska 2000, Tsai ve ark. 2005, Akalin ve ark. 2007, Tonguc ve ark. 2011, Miricescu ve ark. 2014, Yagan ve ark. 2014). Dişeti dokusundaki MPO aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, MDA aktivitesinin, periodontal hastalığı olan bireylerde, sistemik düzeyde kronik enflamatuvar sürecin göstergesi olarak anlamlı bir artış gösterdiği belirtilmiştir. Hidroksil radikali, vazodilatasyona ve kemik rezorpsiyonuna neden olan LPO reaksiyonunu başlatabilmektedir (Borges ve ark. 2007). Ayrıca enflamasyonda LPO artışı apoptotik belirteçleri stimule etmekte, vasküler hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırmakta ve böylece enflamasyona katkıda bulunmaktadır (Yan ve ark. 1994, Tsai ve ark. 2005, Graves ve ark. 2008). Periodontal enflamasyon sırasında oluşan oksidatif strese karşı, artmış oksijen radikal üretimi ve antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Bununla beraber, oksidatif stresin artmasının, periodontal yıkımın ciddiyeti ile ilişkili olmadığı da belirtilmiştir (Canakci ve ark. 2009). Serum total antioksidan kapasite düzeyleri ile periodontal hastalığın şiddetindeki artış arasında ters bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Chapple ve ark. 2002, Brock ve ark. 2004, Pavlica ve ark. 2004). Periodontitiste, patolojik cep ve ataçman kaybı varlığında, DOS'taki GP düzeylerinin azalmış olduğu ancak; tedaviden sonra ki GP düzeylerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir (Huang ve ark. 2000). Başlangıç periodontal tedavi ile serum ve DOS'ta 8-OHdG'nin anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. DOS ve tükürük 8-OHdG seviyesinin, DNA hasarı; DOS 4-HNE seviyesinin ise, LPO'yu saptamak için bir biyobelirteç olarak da kullanılabileceği belirtilmiştir. DOS ve tükürükteki GP enzim aktiviteleri, oksidatif strese karşı koruyucu mekanizmaları belirlemek için kullanılabilmekte ve oksidatif stres kaynaklı doku hasarının önlenmesinde başlangıç periodontal tedavi etkili kabul edilmiştir (Hendek ve ark. 2015). Periodontal cep derinliğinin artış gösterdiği alanlarda KAT ve SOD seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (Ellis ve ark. 1998). Ancak periodontitisli ve sağlıklı hastaların dişeti ve bağ dokusundaki SOD seviyeleri incelendiğinde, hastalıkta SOD seviyelerinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (Akalin ve ark. 2005). Periodontitis hastalarının, plazma, eritrosit, eritrosit membranı ve gingival dokularında enzimatik antioksidan aktivitelerinin anlamlı derecede

yüksek olduğu bulunmuştur (Panjamurthy ve ark. 2005). Çok sayıda çalışma, ROT'un fazlalığı nedeniyle DOS'taki antioksidan seviyelerinin tükenmesinin, periodontal enflamasyonun ve doku yıkımının kronik lokal aktivasyonundan sorumlu olduğunu göstermiştir (Tsai ve ark. 2005, Chapple ve Matthews 2007, Konopka ve ark. 2007). Sağlıkta, GP ve total antioksidan kapasitenin arttığı, kronik periodontal hastalıkta azaldığı belirtilmiştir (Chapple ve ark. 2002). Periodontal hastalıkta oksidatif stresle ilişkili LPO'nun değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır (Del Rio ve ark. 2005, Akalin ve ark. 2007, Borges ve ark. 2007). Periodontitisli bireylerin, serum, tükürük ve DOS'larında, sağlıklı bireylere oranla artmış total oksidan durum ve LPO aktivasyonu ile artmış MDA tespit edilmiştir (Akalin ve ark. 2007, Baltacıoğlu ve ark. 2014, Trivedi ve ark. 2014, Chen ve ark. 2019).

1.5.Zencefil

Destekleyici uygulamalar ile periodontitis oluşumunun önlenmesi ya da tedavisi, günümüzde modern toplumun en önemli araştırma konularından birini oluşturmaktadır. Multifaktöriyel etiyojisi ve kompleks hastalık süreci nedeniyle, periodontitis tedavisi hala zorlayıcı bir süreçtir. Periodontitisin tedavisinde mekanik ve cerrahi tedavi yaklaşımları, antibakteriyel tedavi ile kombine edilerek uzun yıllar uygulanmıştır. Başarı oranları, hem uygulama güçlükleri hem de istenmeyen yan etkiler nedeniyle istenilen seviyede değildir. Tedavi maliyetlerinin de yüksek olması hastaların tedavi olabileme potansiyelini etkilemektedir. Bununla birlikte, enflamatuvar yolakları ve belirteçleri kontrol altına almak için güncel tedavi yöntemleri, geleneksel yöntemlerle benzer şekilde ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu nedenle, dişi destekleyen dokuların kaybını önlemek amacıyla, antienflamatuvar ve antioksidan ajanlar dahil olmak üzere pek çok immün

modülator ajan araştırılmıştır. Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerin bir sonucu olarak bitkisel terapiler, periodontal hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için merak uyandıran araştırma alanı olmuştur (Dong ve ark. 2015, Hatipoglu ve ark. 2015, Bhattarai ve ark. 2016, Mahyari ve ark. 2016, Ramesh ve ark. 2016, Bhattarai ve ark. 2017, Elburki ve ark. 2017, de Almeida ve ark. 2019, Hitomi ve ark. 2019).

Dünyada her geçen gün artan nüfus, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde birçok bitkisel ürün kullanmaktadır. Bitkisel ürünler, geniş biyolojik etkinlik, yüksek güvenilirlik ve düşük maliyet nedeniyle konvansiyonel ilaçlara göre daha çok tercih edilmektedir. Dahası, konvansiyonel ilaçların çeşitli yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, bitkisel ürünler, yaygın hastalıklarla mücadele etmek veya önlemek için beslenme takviyeleri olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır (Toker ve ark. 2008, Botelho ve ark. 2009, Toker ve ark. 2009, Tomofuji ve ark. 2009, Cheng ve ark. 2010, Ku ve ark. 2011, Aral ve ark. 2015, Dong ve ark. 2015, Hatipoglu ve ark. 2015, Calisir ve ark. 2016, Ramesh ve ark. 2016, Bhattarai ve ark. 2017, Elburki ve ark. 2017, de Almeida ve ark. 2019). Bu tedavilerin arasında uzun yıllardır geleneksel olarak çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan *Zingiber officinale* (Zencefil) de yer almaktadır (Shukla ve Singh 2007, El-Sharaky ve ark. 2009, Nicoll ve Henein 2009, Mahluji ve ark. 2013, Mozaffari-Khosravi ve ark. 2014, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, Mahyari ve ark. 2016, de Almeida ve ark. 2019).

Zencefil bitkisi, dünyada yüksek oranda kullanılan bir baharattır ve özellikle Çin'de 2500 yıldan daha uzun bir süredir rinit, romatizma, sinir sistemi, gingivitis, diş ağrısı, kabızlık, diyabet, diyare, bulantı, kusma, kardiyopati, hipertansiyon ve çarpıntı gibi problemleri tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Ansari ve ark. 2006, Shukla ve Singh 2007, Park ve ark. 2008, Nicoll ve Henein 2009, Butt ve Sultan 2011, Shanmugam ve ark. 2011, Mozaffari-Khosravi ve ark. 2014, Ebrahimzadeh Attari ve ark. 2015, Imani ve ark. 2015, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, de Almeida ve ark. 2019). Zencefil içeren bitkisel ilaçlar, oral tüketimde kolayca emilir, vücutta çeşitli biyolojik aktiviteler gösterir ve 48-60 saatte vücuttan atılır.

Zencefilin kök gövdesi (rhizome), karbonhidrat, mineral (kalsiyum, magnezyum, potasyum, fosfat), protein, yağ, vitamin (B, C) ve zingibain denilen proteolitik enzim gibi bir takım enzimler, yağ reçinesi (oleoresins) ve mum içermektedir (Butt ve Sultan 2011, Kubra ve Rao 2012). Zencefil ihmal edilebilir yan etkileri yanında, yüksek dozlarda güvenilir bir bitkidir (FDA) (Butt ve Sultan 2011, Kubra ve Rao 2012, Imani ve ark. 2015).

Zencefilin genel olarak; antienflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiartritik, kardiyovasküler koruma, antianjiyogenik, antitrombotik, antikanser, hipolipidemik, antidiyabetik, antimigren, antiparazit, hepatoprotektif, diüretik ve hipokolesterolemik özellikleri bilinmektedir (Shukla ve Singh 2007, Park ve ark. 2008, Nicoll ve Henein 2009, Butt ve Sultan 2011, Shanmugam ve ark. 2011, Mahluji ve ark. 2013, Mashhadi ve ark. 2013, Mozaffari-Khosravi ve ark. 2014, Rahmani ve ark. 2014, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, Arul ve ark. 2016, Choi ve ark. 2018, Ezzat ve ark. 2018, Kruger ve ark. 2018, Li ve ark. 2018, Si ve ark. 2018, de Almeida ve ark. 2019). Ayrıca bitkisel özellikleri nonsteroid antienflamatuvar ilaçlara benzerdir ve bu nedenle kronik enflamasyon ile aktive olan yolları düzenleyebilmektedir. Yapılan hayvan ve insan çalışmalarıyla zencefilin diyabet, kardiyovasküler hastalık, kanser, obezite, alzheimer gibi pek çok hastalık üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Ansari ve ark. 2006, Shukla ve Singh 2007, Nicoll ve Henein 2009, Butt ve Sultan 2011, Li ve ark. 2012, Ebrahimzadeh Attari ve ark. 2015, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, Hitomi ve ark. 2019). Sıçan modeline uygulanan zencefilin, uyarılmış LPO'yu önemli ölçüde düşürdüğü ve serum glutasyon ile birlikte antioksidan enzimlerin seviyelerini yükselttiği gösterilmiştir (El-Sharaky ve ark. 2009). Zencefilin, karaciğer ve böbrek dokularında MDA'da belirgin bir azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (Kota ve ark. 2008). Bu durum, konak tarafından antioksidan durumunun arttırılması veya oksidatif ürünlerin inhibisyonu şeklinde açıklanmaktadır. Zencefil özü uygulanan sıçan modellerinde, SOD, GP ve glutasyon gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri artmıştır (El-Sharaky ve ark. 2009). Zencefil özünün detoksifiye edici, antioksidan ve antienflamatuvar etkilere sahip olduğu ve bunların alkol kaynaklı karaciğer toksisitesinin önlenmesine yardımcı olduğu ileri sürülmektedir.

Zencefil ayrıca, IL-1, TNF- α ve IL-8 sentezini inhibe etme kabiliyetine sahiptir. Bu inhibisyonun, sitokinleri kodlayan genlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Tjendraputra ve ark. 2001, Verma ve ark. 2004, Shati ve Elsaid 2009). Gut ve nörojeneatif bozukluk gibi pek çok hastalık, enflamasyon sonucu başlar. Bu rahatsızlıklar, birçok enflamatuvar sitokin ve PG üretiminin artmasına neden olmaktadır. Zencefil ve aktif bileşenleri sayesinde bu tür metabolitlerin fazla üretimini kontrol etmek mümkündür (Jung ve ark. 2009). *Zingiber officinale* kök gövdesi özünün, LPS ile uyarılan BV2 hücrelerinde NO, PGE₂, TNF- α ve IL-1 β üretimini önemli ölçüde inhibe ettiği belirtilmiştir. NF- κ B'nin aktivasyonu; kanser, ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, diyabet, alerji, astım, artrit, Crohn hastalığı, Multiple skleroz, Alzheimer hastalığı, osteoporoz, sedef hastalığı, septik şok ve AIDS gibi çeşitli enflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir (Aggarwal ve Shishodia 2006, Jung ve ark. 2009). NF- κ B'ninin aktivasyonu veya dengeli bir şekilde ekspresyonu, immün sisteminin doğru çalışması için gereklidir. Zencefil ve bileşenlerinin, protein kinazların modülasyonu yoluyla NF- κ B'nin azaltılmış ekspresyon kabiliyetine sahip olduğu rapor edilmiştir (Zhou ve ark. 2006). İzoproterenol ile muamele edilmiş sıçanların zencefil özü ile tedavisinin, endojenmiyokard antioksidan (doku KAT, SOD ve glutatyon) seviyelerini arttırdığı, serum enzimlerinin (laktak dehidrogenaz, kreatinin kinaz, aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz) seviyelerini düşürdüğü ve miyokardiyal lipid peroksitlerini arttırdığı bildirilmiştir (Ansari ve ark. 2006). Yapılan çalışmalarda, zencefilin *Escherichia choli*, *Staphylococcus aureus*, *Lysteria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* gibi çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı antibakteriyal etkisi belirtilmiştir (Gull ve ark. 2012, Murthy ve ark. 2015). Ayrıca zencefilin, makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonunu ve nötrofil migrasyonunu inhibe ederek de antienflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Nötrofillerin aktive edilmesinin, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hipoklorik asit gibi ROT ve MPO ve proteaz gibi enzimleri içeren bir dizi dokuya zarar veren molekül eksprese ettiği bilinmektedir (Ezzat ve ark. 2018). Ayrıca nötrofillerin migrasyonu nedeniyle çevre dokularda daha fazla hasar meydana gelmektedir (Wallace ve ark. 1990). Karanfil, çay ağacı, tarçın ve okaliptüs yağı, zencefil, sarımsak, yeşil çay, ve zerdeçal gibi bitkisel ürünlerin dental çürük agarlarına uygulandığı *in vitro* çalışmada, bu ürünlerin çürük mikroorganizmalarına karşı koruyucu

etki gösterdikleri ve bu tarz ürünlerin diş macunu ve gargaralara ilavesinin önerilebileceği belirtilmiştir (Kanth ve ark. 2016). Gingivitisli hastalarda, zencefil, rosemary, aynısefa bitki özleri ve klorheksidin içeren gargara kullanımının karşılaştırıldığı bir çalışmada, dört grup arasında kanama, plak gingival indeksi skorlarında anlamlı fark bulunmamış ve bitkiler ile klorheksidin benzer etkiler göstermiştir (Mahyari ve ark. 2016).

1.5.1.(6)-Shogaol

Zencefil, çeşitli biyolojik aktivitelerde bulunan shogaol, gingerol ve gingerol ilişkili bileşik, paradol, zingerone, zerumbone, 1-dehidro-(10) gingerdion, terpenoid ve zencefil flavonoidleri gibi aktif bileşikleri içermektedir (Kubra ve Rao 2012, Rahmani ve ark. 2014) (Tablo 1.7). Zencefilin ana bileşikleri ise gingerol ve shogaollerdir. Gingeroller termal olarak kararsızdır ve yüksek sıcaklıkta (6)-, (8)- ve (10)- shogaol'a dönüşmektedir (He ve ark. 1998). Gingerollerden daha keskin olan shogaoller, kurutulmuş zencefil kök gövdesindeki başlıca bileşiklerdir (Rahmani ve ark. 2014).

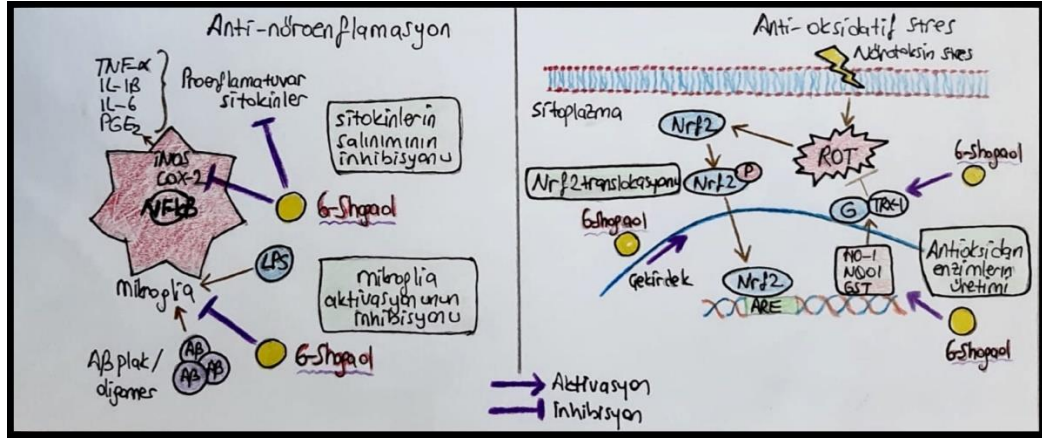
Tablo 1.7 Zencefil içerisinde etkin alkaloidler ve başlıca etkileri (Rahmani ve ark. 2014)

Shogaol	Antioksidan aktivite Antiinflamatuvar aktivite Hücre invazyonunun inhibisyonu aracılığıyla antikanser aktivite MMP-9'un ekspresyonunun redüksiyonu Antiproliferasyon aktivite Antiinvazyon aktivite
Gingerol ve gingerol ilişkili bileşik	Antioksidan aktivite Antitümör aktivite Apoptozun uyarılması Genetik ya da diğer biyolojik aktivitelerin modülasyonu Antiinflamatuvar aktivite Antianaljezik aktivite Antimikrobiyal aktivite Hepatoprotektif aktivite
Paradol	Antioksidan aktivite Antikanser aktivite Antimikrobiyal aktivite
Zingerone	Antioksidan aktivite Antiinflamatuvar aktivite Antibakteriyel aktivite
Zerumbone	Antitümör aktivite Antimikrobiyal aktivite
1-dehidro-(10) gingerdion	Enflamatuvar genlerin düzenlenmesi
Terpenoidler	p53 aktivasyonu ile apoptozun uyarılması
Zencefil flavonoidleri	Antioksidan aktivite

Çalışmalar genellikle zencefilin ana bileşenlerinden olan gingerol ve shogaol'ün antioksidan ve antienflamatuvar etkileri üzerine odaklanmıştır (Pan ve ark. 2008, Dugasani ve ark. 2010, Butt ve Sultan 2011, Chakraborty ve ark. 2012, Ha ve ark. 2012, Ho ve ark. 2013, Sohn ve ark. 2013, Abolaji ve ark. 2017, Li ve ark. 2019, Morimoto ve ark. 2019). Gingerol'ün (10)-gingerol ve (12)-gingerol formlarının, *P. gingivalis* ATCC 53978, *Porphyromonas endodontalis* ATCC 35406 ve *P. intermedia* ATCC 25611'e karşı antibakteriyel etkiler sergilediği bildirilmiştir (Park ve ark. 2008). Gingerol ve shogaol'ün farklı formlarının *Candida albicans* (*C. albicans*) biyofilmi üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, (6)-gingerol, (8)-gingerol ve (6)-shogaol'ün biyofilm oluşumunu etkili bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur. Özellikle, (6)-shogaol'ün *C. albicans* biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azalttığı ancak planktonik hücre büyümesi üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, (6)-gingerol ve (6)-shogaol hücre agregasyonunu önlemiş ve toksisiteye neden olmadan *C. albicans* virülansını azaltmıştır (Lee ve ark. 2018).

Son yapılan çalışmalar, (6)-shogaol'ün, (6)-gingerol'den daha stabil olduğunu ve (6)-gingerol'den antioksidan, antienflamatuvar, antikanser özellikler dahil olmak üzere daha güçlü farmakolojik etkilere sahip olduğunu olduğu göstermiştir (Bhattacharai ve ark. 2001, Dugasani ve ark. 2010, Chen ve ark. 2012, Ghasemzadeh ve ark. 2015, Sueishi ve ark. 2019). Ayrıca shogaol'ün, kanser, alzheimer, parkinson, kardiyovasküler hastalık, diyabet, alerji gibi hastalıklar üzerindeki antienflamatuvar veya antioksidan etkileri gösterilmiştir (Pan ve ark. 2008, Asami ve ark. 2010, Ling ve ark. 2010, Chen ve ark. 2012, Ha ve ark. 2012, Park ve ark. 2013, Sohn ve ark. 2013, Fu ve ark. 2014, Moon ve ark. 2014, Na ve ark. 2016b, Na ve ark. 2016a, Park ve ark. 2016, Han ve ark. 2017, Wei ve ark. 2017, Annamalai ve Suresh 2018, Kotowski ve ark. 2018, Kou ve ark. 2018, Nedungadi ve ark. 2018, Almatroudi ve ark. 2019, Nazim ve Park 2019, Yi ve ark. 2019, Zhang ve ark. 2019) (Şekil 1.6). Farelerde (6)-shogaol'ün farmakokinetik parametrelerini belirlemek için yapılan çalışmada, (6)-shogaol'ün vücutta çoğunlukla metabolize olduğu ve aynı zamanda metabolit olarak da salgılandığını ortaya koyulmuştur (Kim ve ark. 2008). (6)-Shogaol'ün deneysel omurilik hasarında apoptozu azalttığı bildirilmiştir (Kyung ve ark. 2006, Butt ve Sultan 2011, Levita ve ark. 2018). (6)-Shogaol'ün, NF-κB

gibi sinyal moleküllerini modüle ederek enflamasyonu ve hücre proliferasyonuna bağlı tümörögenезisi önleyebilen yeni bir fonksiyonel ajan olduğu raporlanmıştır (Annamalai ve Suresh 2018). Çalışmalarda, (6)-shogaol'ün apoptotik belirteçlerin ekspresyonlarını modüle ettiği gösterilmiştir (Annamalai ve Suresh 2018, Kotowski ve ark. 2018). Bunlara ek olarak, (6)-shogaol'ün, NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe ederek fare makrofajlarında LPS kaynaklı iNOS ve COX-2 gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Pan ve ark. 2008). Deneysel endometriyazis sıçan modeline (6)-shogaol uygulanması ile histolojik olarak lezyonların gerilediği; NF- κ B sinyallerinde, VEGF ve VEGFR-2 (Flk-1) ekspresyonunu etkili bir şekilde azalttığı, IL-1 ve IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinler, PGE₂ ve NO üretiminin azaldığı bildirilmiştir. Genel olarak, çalışmanın sonuçları, lezyonların proliferasyonunu etkili bir şekilde baskılayarak ve anjiyogenez ve COX-2/NF- κ B aracılı enflamatuvar kaskadları modüle ederek (6)-shogaol'ün etkinliğini ortaya koymuştur (Wang ve ark. 2018).



Şekil 1.6 (6)-Shogaol ile antioksidatif stres ve antinöroenflamasyon (Choi ve ark. 2018)

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, zencefil fitokimyasallarından en güçlü (6)-shogaol'ün olduğu ve bu etkili bileşiğin, pro-IL-1 ve pirin-3 bölgesi içeren nükleotid oligomerizasyon bölgesi benzeri reseptör ailesinin ekspresyonunu inhibe ettiği ve ATP ile aktive olan kaspaz-1'i azalttığı raporlanmıştır (Chen ve ark. 2018, Ho ve Chang 2018).

Diabetik sıçan modelinde, (6)-shogaol'ün sistemik uygulaması ile karaciğerde antienflamatuvar ve antioksidan etkileri bildirilmiştir (Al Malki ve ark. 2018). Diyabetik kardiyomiyopati (DK), diyabetin ciddi bir komplikasyonudur. Apoptozis, enflamasyon ve ROT'un üretimi, diyabetik kardiyomiyopatinin ilerlemesinde rol oynayan faktörler arasındadır. (6)-Shogaol'ün apoptozu inhibe ettiği ve antienflamatuvar etki gösterdiği ve ROT'un üretimini azalttığı gösterilmiştir. DK üzerinde (6)-shogaol'ün NF- κ B yolağının modülasyonu yoluyla oksidatif stres ve enflamatuvar parametreler üzerinde inhibisyon etki gösterdiği raporlanmıştır (Al-Malki ve Abdel-Raheem 2019). Diyabetik farelerde yapılan başka bir çalışmada, ise, (6)-shogaol'ün, kan dolaşımı ve böbreklerde TNF- α , IL-6 ve monosit kemotaktik protein-1 seviyelerini ve NF- κ B ekspresyonunu azaltarak antienflamatuvar etkinlik; nükleer faktör (eritroid türevi) benzeri (Nrf)-2 ekspresyonunu modüle ederek antioksidan etkinlik; hiperlipidemik; antidiyabetik ve böbrek koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Zhu ve ark. 2016, Xu ve ark. 2018). Kronik enflamatuvar bir rahatsızlık olan ülseratif kolit tedavisinde, oral yoldan shogaol takviyesinin, geleneksel immünoşüpresif kemoterapötik ilaç olarak kullanılan (6)-thioguanine'den daha iyi olabileceği gösterilmiştir (Hassan ve Hassan 2018, Zhang ve ark. 2018, Hassan ve Hassan 2019). (6)-Shogaol'ün antienflamatuvar etkilerinin LPS ile aktive edilmiş BV2 mikrogliasında değerlendirildiği çalışmada, (6)-shogaol'ün LPS kaynaklı TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve PGE₂ üretimini; ayrıca, NF- κ B p65'in fosforilasyonunu ve nükleer translokasyonunu inhibe ederek LPS kaynaklı NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Han ve ark. 2017). (6)-Shogaol'ün NF- κ B yolunu ve IL-6, TNF- α , PGE₂, NO, iNOS ve COX-2 üretimini baskılayarak nöroenflamasyonda etkili olduğu bildirilmiştir (Sapkota ve ark. 2019, Zhao ve ark. 2019).

1.6.Deneysel periodontitis modeli

Deneysel bilginin klinik ortama aktarılması, biyomedikal araştırmanın nihai amacıdır. Klinik çalışmaların bir ön şartı olarak, gözlemlerin nedenselliğini ve tedavi sonuçlarını açıklamak için mekanik modeller gerekmektedir. Bazı çalışmalar *in vitro* sistemler kullanılarak gerçekleştirilebilse de, nihayetinde hayvanlara ya da insanlara transfer edilmeden önce elde edilen verilerin güvenliğinin ve etkinliğinin test edilmesi için hayvan modelleri gereklidir. Bununla birlikte, fare, sıçan gibi küçük hayvan modelleri, özellikle enflamasyon sırasında yumuşak ve sert doku arasındaki etkileşimler hakkında önemli veriler sağlamakla birlikte enflamatuvar modeller oluşturulabilmekte ve test edilebilmektedir. Ayrıca, sistemik enflamasyonun potansiyel mekanizmaları ve bunun periodontal iyileşme süreçleri üzerindeki etkisi, genetik olarak üreten transgenik ve knockout hayvanlar kullanılarak *in vivo* olarak incelenebilmektedir (Graves ve ark. 2008). Bu şekilde, verilerin daha doğru yorumlanması ve bilginin klinik ortamlara çevrilmesi sağlanmaktadır. Bu nedenle, hayvan çalışmaları, sebep-sonuç ilişkilerinin kurulmasında ve en önemlisi, yeni rejeneratif yöntemlerin ve ileri terapötik ajanların geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir (Kantarci ve ark. 2015).

Literatürde biyomedikal alanda denek olarak erkek hayvanların dişilerden daha çok kullanıldığı raporlanmıştır (Zucker ve Beery 2010, Beery ve Zucker 2011, Klein ve ark. 2015). Dişi farelerin östrojen döngüsü sırasında östradiol, progesteron, gonadotrofinler ve gonadotrofin salgılayan hormon seviyelerinde değişiklikler gözlenmektedir (Caligioni 2009). Bu hormonların gen ekspresyonu ve genomdaki epigenetik değişiklikler de dahil olmak üzere diğer fenotipler üzerinde güçlü etkileri olabilmektedir (Kubarek ve ark. 2009, Schwarz ve ark. 2010, Nugent ve ark. 2011).

Sıçanlar, periodontal hastalıkların patogenezi için en kapsamlı çalışılan kemirgenlerdir ve deneysel periodontal hastalık çalışmalarında, molar diş bölgelerinin periodontal yapısının insana benzerlik göstermesi, maliyetlerinin uygun olması, temin

edilebilirliğinin, beslenmelerinin ve üretilmelerinin kolay olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca oluşturulan deneysel periodontal hastalığın klinik ve histopatolojik bulgularının insanlara oldukça benzer olduğu rapor edilmiştir. En sık kullanılan suşlar Wistar veya Spraque-Dawley'dir (Bjornsson ve ark. 2003, Ekuni ve ark. 2003, Kuhr ve ark. 2004) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 Wistar albino sıçan

Sıçanlarda periodontal enflamasyonu indüklemek için iki teknik yaygın olarak kullanılmaktadır. Birincisi, akut ve ciddi bir periodontal patoloji yaratarak bakteriyel LPS'lerin bölgeye enjeksiyonunu gerektirmektedir (Chang ve ark. 1996, Kantarci ve ark. 2015). *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Actinomyces viscosus* ve *Streptococcus sobronus* primerleri gibi çeşitli periodontal patojenlerin aşılması veya enjeksiyonları yapılmaktadır (Klausen 1991). Bu model hızlı bir hastalık süreci üretme avantajına sahiptir. Bu nedenle, özellikle enflamasyonu çözmek ve çeşitli ajanların etkinliğini test etmek için kullanılmaktadır (Breivik ve ark. 2005, Taubman ve ark. 2005, Breivik ve ark.

2006, Rogers ve ark. 2007, Oka ve ark. 2012). Tekniğin dezavantajları ise, modelin, bakterilerin endotoksinine karşı akut bir enflamatuvar yanıt göstermesi, enfeksiyonun bakteriler tarafından üretilmemesi ve konak yanıtının muhtemelen bazı hücre tiplerinde spesifik yolları temsil etmesidir (Kantarci ve ark. 2015). Bunun tersine, ikinci olarak; mikroorganizmaların akümülyasyonuna ve kolonizasyonuna izin veren ligatürlerin dişlerin etrafına yerleştirilmesi, doku bütünlüğünün azalmasına, yoğun konak-plak ilişkisine ve dentogingival bölgede mekanik travmaya neden olmaktadır (Di Paola ve ark. 2005). Plak birikimi ardından sulkular epitelin ülserasyonuna yol açarak, bağ dokunun invazyonunu kolaylaştırması insanlardaki gibi periodontal doku kaybını başlatmaktadır. Bu model doğal plak oluşumuna en yakın model olarak kabul edilmektedir (Kantarci ve ark. 2015).

Tüm bu bilgiler ışığı altında; bu çalışmada; deneysel periodontitis oluşturulan sıçan modellerinde (6)-shogaol takviyesinin, hem proflaktik hem de terapötik açıdan periodontal dokular üzerindeki antienflamatuvar ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Buna göre çalışmanın hipotezi, 'Sistemik uygulanan (6)-shogaol, ligatürle oluşturulan periodontitis modelinde, periodontal dokuların yıkımını azaltan antienflamatuvar ve antioksidan bir ajandır.' şeklinde kurulmuştur.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınarak, TÜBİTAK 3001 Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı (Proje no: 217332) ile desteklendi.

2.1. Deney Hayvanı, Temini ve Adaptasyonu

Çalışmada, 35 adet, 6-8 haftalık 250 ± 25 g erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılmış Deney Hayvanı Üretim laboratuvarından (Kobay Deney Hayvanları A.Ş.) satın alınarak temin edildi. Laboratuvar hayvanı deneyleri, Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deney Hayvanları Ünitesi'nde gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar, deneye alınmadan önce genel sağlık kriterleri yönünden 15 gün süreyle izlendikten sonra, deneye başlamadan 24 saat öncesinde deney yapılacak bireysel çalışma odasına alındı ve ortama adaptasyonları sağlandı. Deneyler süresince, 22 ± 2 °C oda ısısı, %60-75 nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık aydınlatma uygulandı. Sıçanlar, ticari rodent pellet (Optima pellet sıçan yemi) yemi ile ad libitum beslendi.

2.2.Deney grupları

Çalışmada yer alan hayvanlar aşağıdaki şekilde 4 farklı gruba ayrıldı:

Sağlıklı grup: (n=5) Sağlıklı Grup

Periodontitis grubu: (n=10) Periodontitis Grubu

Profilaksi grubu: (n=10) Periodontitis + (6)-Shogaol (20 mg/kg/gün)

Terapötik grup: (n=10) Periodontitis + (6)-Shogaol (20 mg/kg/gün)

Deney süresince gruplardaki sıçanlarda aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

Sağlıklı grup: Deney sonuna kadar herhangi bir işlem uygulanmadı.

Periodontitis grubu: 1-14 gün boyunca sadece ligatür ile periodontitis oluşturuldu.

Profilaksi grubu: 1-14 gün boyunca ligatür ile periodontitis oluşturuldu ve bu süre boyunca 20 mg/kg/gün (6)-shogaol oral gavaj yoluyla verildi.

Terapötik grup: 1-14 gün ligatür ile periodontitis oluşturuldu ve ligatür çıkarılmasını takiben 14 gün boyunca 20 mg/kg/gün (6)-shogaol oral gavaj yoluyla verildi.

Deney düzeni Tablo 2.1’de özetlenmiştir.

Tablo 2.1 Deney Düzeni

	1-14.gün	15. gün	15-28. gün	29. gün
Sağlıklı Grup	-	Ötenazi	-	-
Periodontitis Grubu	Ligatür uyg.	Ötenazi	-	-
Profilaksi Grubu	Ligatür uyg. + (6)-Shogaol uyg.	Ötenazi	-	-
Terapötik Grup	Ligatür uyg.	-	(6)-Shogaol uyg.	Ötenazi

2.3.Ligatür ile periodontitisin oluşturulması

Sıçanlara, ketamin-HCL (75 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) intraperitoneal şekilde uygulanarak sistemik anestezi sağlandı ve mandibular sol birinci molar dişlere subgingival olarak 3.0 ipek suture yerleştirildi ve her gün suture stabilizasyonu kontrol edildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Mandibular sol birinci molar dişe ligatür yerleştirilmesi

2.4.(6)-Shogaol Uygulanması

(6)-Shogaol, dimetil sülfoksit (DMSO) solüsyonunda çözüldükten sonra oral yoldan uygulandı. 20 mg/kg/gün dozda (6)-shogaol, %10'luk DMSO solüsyonu içerisinde vorteks cihazı kullanılarak karıştırılarak homojenize edildi. Oral gavaj yoluyla C ve D gruplarında 14 gün boyunca uygulandı (Şekil 2.2 ve 2.3).



Şekil 2.2 Oral gavaj başlangıcı



Şekil 2.3 Oral gavaj bitişi

Deneye başlamadan önce ve deney periyodu süresince her hafta sıçanların ağırlıkları ölçüldü ve kaydedildi. Her ölçümden sonra hayvanların değişen ağırlıklarına göre (20 mg/kg/gün) hassas tartı kullanılarak (6)-shogaol'ün doz ayarlaması yapıldı. (6)-Shogaol her gün aynı saatte uygulandı.

2.5.Dokuların toplanması, tespiti ve doku takip işlemleri

Proje kapsamında tüm gruplardaki hayvanlara karbon dioksit solutma yöntemi uygulanarak ötenazi gerçekleştirildi. Histopatolojik değerlendirme için; ötenazi sonrasında mandibula çevreleyen dişeti ile birlikte dikkatlice diseke edildi. Mandibula, histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için %4'lük PBS tamponlu paraformaldehit içinde fikse edildi. Ardından dokular, %8'lik formik asit içinde 14 gün boyunca dekalsifiye edildi ve dekalsifikasyon sonrasında 2-3 mm kalınlığında trimlenip kasetlenerek çeşme suyu altında yıkandıktan sonra tam otomatik doku takip cihazına

(Thermo Scientific Excelsior ES) alındı, 24 saat alkol ksilol serilerinden geçirilen doku örnekleri parafine gömülmeye hazır hale getirildi.

2.6.Histopatolojik incelemeler için uygulanacak prosedür

Parafine bloklanan dokular, mikrotom ile 4-5 mikron kalınlığında kesildi ve adezivli lamalar üzerine alındı. 60° C’de etüvde 2 saat bekleyen lamalar etüvden çıkarılıp sırası ile ksilol (4 dk), ksilol (4 dk), absol alkol (3 dk), %96’lık alkol (3 dk), %80’lik alkol (3 dk), %70’lik alkol (3 dk), %50’lik alkol (3 dk)’den geçirilerek distile suya alındı, ardından hematoksilende 2 dakika bekleyen lamalar, çeşme suyunda yıkanacak, 1 dakika da eozini alması beklendi. Eozinden sonra tekrar sırası ile %50-70-80-96 ve absol alkolde 3’er dakika bekleyen lamalar en son ksilenlerde 4’er dakika bekletilerek çıkarıldıktan sonra etellan damlatılıp lamel vasıtası ile kapatılıp kurutmaya bırakıldı ve ışık mikroskopunda bakılmaya hazır hale getirildi.

2.7.İmmünoperoksidaz test ile dokuda MDA, SOD, GP, RANKL, OPG ve NF-κB ekspresyonlarının değerlendirilmesi

Dokularda MDA, SOD, GP, RANKL, OPG ve NF-κB ekspresyonlarının gösterilmesi amacıyla ticari indirekt immunperoksidaz streptavidin/biotin (Thermo, CA, ABD) kit kullanıldı. Parafin kesitler 60°C’lik etüvde 30 dakika inkübe edildikten sonra, ksilolde

deparafinize edildi ve dereceli alkol ve distile suda rehidrasyonu sağlandı. Endojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi amacıyla kesitlerin üzerine %0.1'lik hidrojen peroksit solüsyonu damlatılarak oda ısısında 10 dakika inkübe edildi. TBS ile yıkanan kesitler, antijen geri alımı amacıyla Sitrat Buffer (pH 6.0)'la 20 dk kaynatıldı ve Ultra V Block solüsyonu ile 10 dakika protein bloking aşaması tamamlandı. Protein bloke edici serum yıkanmadan ve üzerine test edilecek antijene uygun olan primer antikor (MDA, SOD, GP, NF-κB, RANKL ve OPG) uygulanarak 60 dk süreyle, oda ısısında, nemli ortamda inkübe edildi. Biotinle işaretli anti-mouse, rat, rabbit polivalent sekonder antiserumla (Novacastra, Katolog no: RE7103, USA) 15 dk streptavidin-peroksidaz enzimi ile 15 dk tutulduktan sonra renk reaksiyonu için AEC kromojeni ile 15 dakika süreyle boyandı. Karşıt boyama için, kesitler Mayer's hematoksilen ile 1 dk muamele edildi ve su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı ve ışık mikroskobunda reaksiyonlar değerlendirildi.

2.8.Histopatolojik semikantitatif skorlama ve histomorfometrik incelemeler

Hazırlanan kesitler, ışık mikroskobunda (Leica DFC450C) incelendi ve semikantitatif histopatolojik skorlamalar yapıldı. Leica Qwin analiz yazılımıyla mikrofotografı çekildi ve histomorfometrik analizleri yapıldı. Hematoksilen-eozin boyamalarda gözlenen histopatolojik bulgular; enflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden değerlendirildi ve aşağıdaki şekilde semikantitatif olarak skorlandı. 20x objektif alanında; enflamatuvar hücre infiltrasyonu; 0= yok, 1= 1-5 arası, 2=6-10 arası, 3=10 ve daha fazla.

İmmünoperoksidaz test sonrası her bir dokuda oluşan reaksiyon, Leica DFC450C ataçmanlı Olympus BX51 ışık mikroskop altında görüntülendi ve Leica Qwin analiz yazılımıyla mikrofotografı çekilerek % alan boyanma analizleri ile değerlendirildi ve her bir belirteç ekspresyonu kantitatif rakamsal değerlere dönüştürüldü.

Olympus DP70 dijital kamera ve Olympus DS2-DPW histomorfometrik analiz programı kullanılarak; mine sement sınırı ve alveoler kemik kreti arası mesafe ölçülerek alveoler kemik kaybı kantitatif olarak kaydedildi.

2.9.İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda ölçümü alınan SOD, GP, MDA, RANKL, OPG, RANKL/OPG, NF-κB, MSS-AKT sürekli değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu Sahapiro Wilks testi ve grafikler incelenerek değerlendirildi. Normal dağılıma uyan MDA ve RANKL/OPG değişkenleri için ortalama±standart sapma (ort±ss), normal dağılıma uymayan SOD, GP, RANKL, OPG, NF-κB değişkenleri için ise medyan (minimum-maksimum) [medyan (min;maks)] değerleri tanımlayıcı olarak verildi. Araştırmada yer alan grup ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi kategorik değişkenler için ise tanımlayıcı olarak sayı (yüzde) [n(%)] verildi.

Ölçümü alınan değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları normallik ve varyans homojenliğinin sağlandığı MSS-AKT değişkeni için ANOVA testi ile değerlendirildi ve farkın belirlendiği durumda farklı grubu belirlemek için Bonferroni düzeltilmeli bağımsız örneklem t testi ile uygulandı. Normal dağılıma uymayan SOD, GP, RANKL, OPG, NF-κB değişkenlerinin gruplardaki farklılığını belirlemek için Kruskal Wallis testi ve farklılığın belirlendiği yerde farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım şartını sağlayan fakat varyans homojenliğini sağlamayan SOD ve MDA değerleri için gruplar arası karşılaştırma ANOVA testinin düzeltilmiş hali olan Welch-ANOVA testi kullanılarak değerlendirildi ve farkın anlamlı olduğu yerlerde gruplar arası farklılığı

belirlemek için Games-howell ikili karşılaştırma sonuçları raporlandı (Liu 2015, Shingala ve Rajyaguru 2015).

İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

İstatistiksel analizler, hesaplamalar ve şekiller için IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanıldı.

Çalışmaya katılacak denek sayısı için, G*Power paket programı kullanılarak, 0.05 tip 1 hata ve %90 üstü güce ulaşabilmek amacıyla en az 30 deneğin araştırmaya alınması; olası kayıplarda gücü düşürmemek için ise 35 denekle çalışılması uygun bulundu.

3. BULGULAR

Bu çalışmaya 35 adet 250 ± 25 g ağırlığında erkek Albino Wistar sıçan ile başlandı ve 35 adet sıçan ile çalışma sonlandı. Sıçanların 30 tanesine deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla alt çene sol 1. azı dişlerin servikaline subgingival olarak ligatür bağlandı. Deneysel periodontitis başlamasından sakrifikasyon zamanına kadar, 14 gün boyunca ligatürlerin dişler etrafında kaldığı gözlemlendi. Sıçanlar dahil oldukları gruba uygun ve ağırlıklarına göre her gün aynı saatte oraj gavaj yoluyla beslendi. Başlangıçtaki sıçan ağırlık ortalamaları Tablo 3.1’de verildi. Genel anestezi uygulaması, deneysel periodontitisin oluşturulması ve oral gavaj uygulamaları sırasında ve sonrasında herhangi bir komplikasyon gelişmedi.

Tablo 3.1 Gruplardaki başlangıç ağırlık ortalamaları (g)

	Sağlıklı Grup	Periodontitis Grubu	Profilaksi Grup	Terapötik Grup	p
Ağırlık ortalamaları	247.4	246.8	245.6	247.3	0.952

3.1.Histopatolojik Bulgular

İncelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüleri Şekil 3.1-3.4'te verildi. Buna göre;

Sağlıklı grupta, sement, periodontal ligament ve alveoler kemik normal görünümde olup, herhangi bir enflamatuvar reaksiyona ve kemik resorpsiyonuna rastlanmadı (Şekil 3.1).

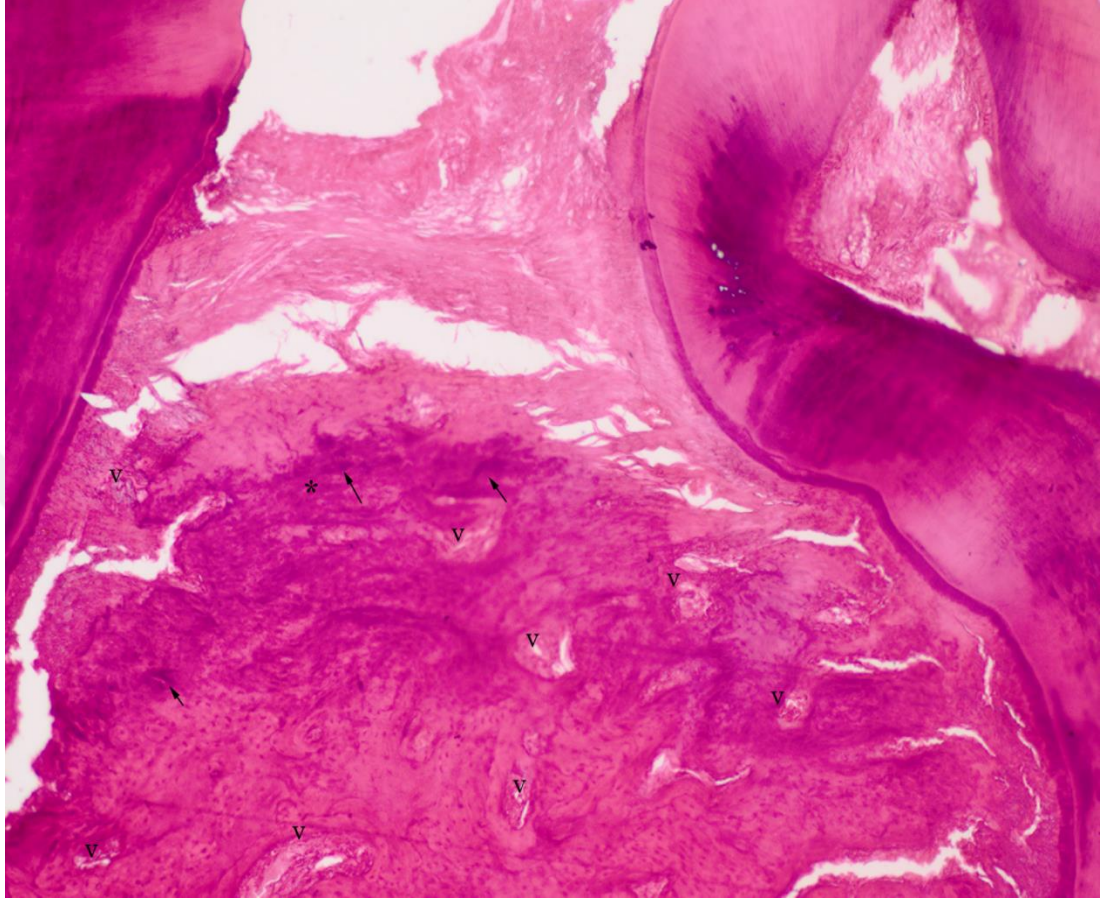
Periodontitis grubunda incelenen tüm örneklerde sement rezorpsiyonu olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, alveoler kemik sınırlarındaki osteoklastik aktiviteyle karakterize olan osteolizis dikkati çekti. Özellikle osteoklastik aktivitenin ve sement rezorpsiyonunun fazla olduğu bölgelerde lenfosit ve nötrofilce zengin yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonlarına rastlandı. Bunların yanı sıra, periodontal ligamentte genişlemiş, hiperemik kan damarlarına ve yeni oluşan genç kapillarlara rastlandı (Şekil 3.2).

Profilaksi grubunda, sement resorpsiyonuna rastlanmakla birlikte periodontitis grubuna göre daha düşük seviyede olduğu görüldü. Periodontal ligamentte periodontitis grubuna benzer biçimde genişlemiş kan damarlarına rastlansa da vaskülarizasyonun daha az olduğu gözlemlendi. Yine bu grupta az sayıda osteoklastik aktiviteye rastlanırken, osteoklast çevrelerinde ve genişlemiş kapillarların etrafında hafif enflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkati çekti. Yalnızca bir olguda, periodontal lökosit infiltrasyonu orta şiddetten şiddetliye doğru şekillenmekteydi. Bununla birlikte tüm örneklerde yine alveoler kemik çevresinde osteoblastik aktiviteye rastlandı (Şekil 3.3).

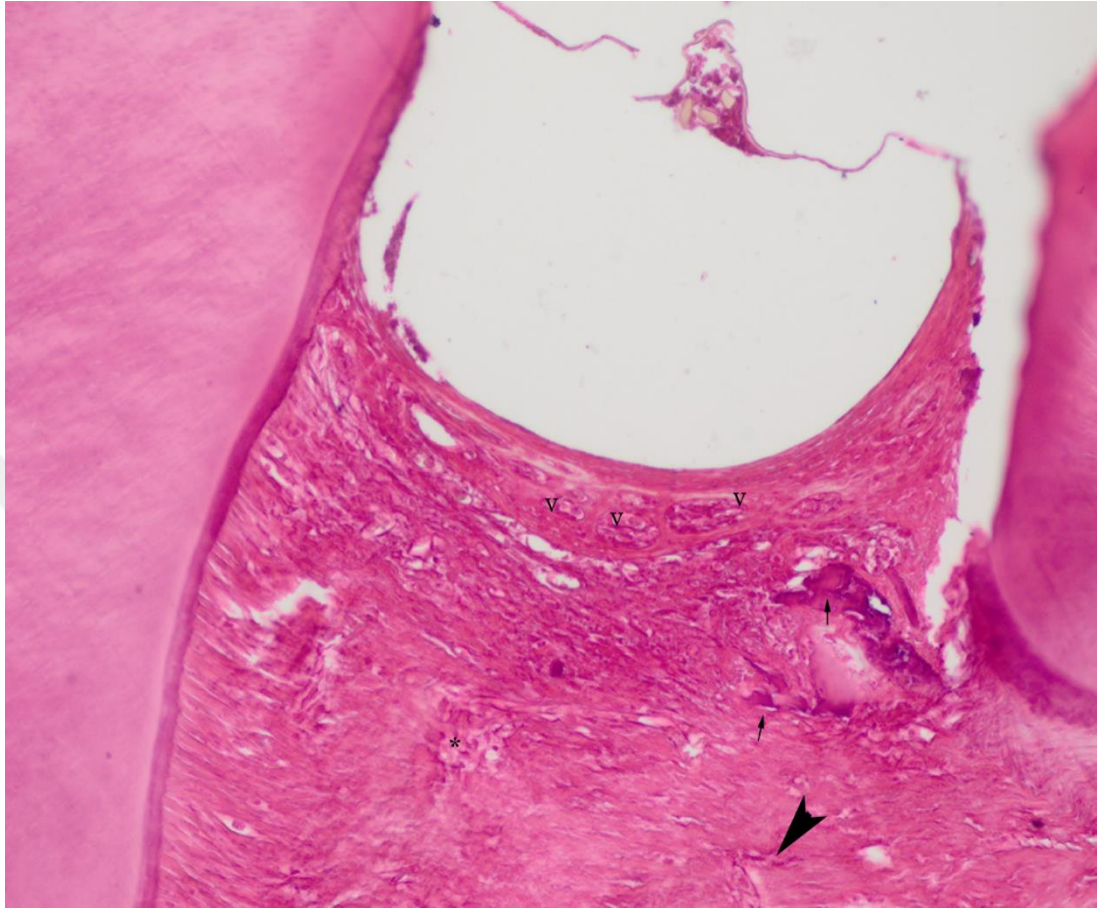
Terapötik grupta ise periodontitis grubuna kıyasla çok daha düşük vaskülarizasyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Benzer şekilde alveoler kemik sınırında osteoklastik aktiviteye sadece iki olguda rastlanırken, osteoblastik aktiviteye profilaksi grubuna göre daha fazla rastlandı (Şekil 3.4).



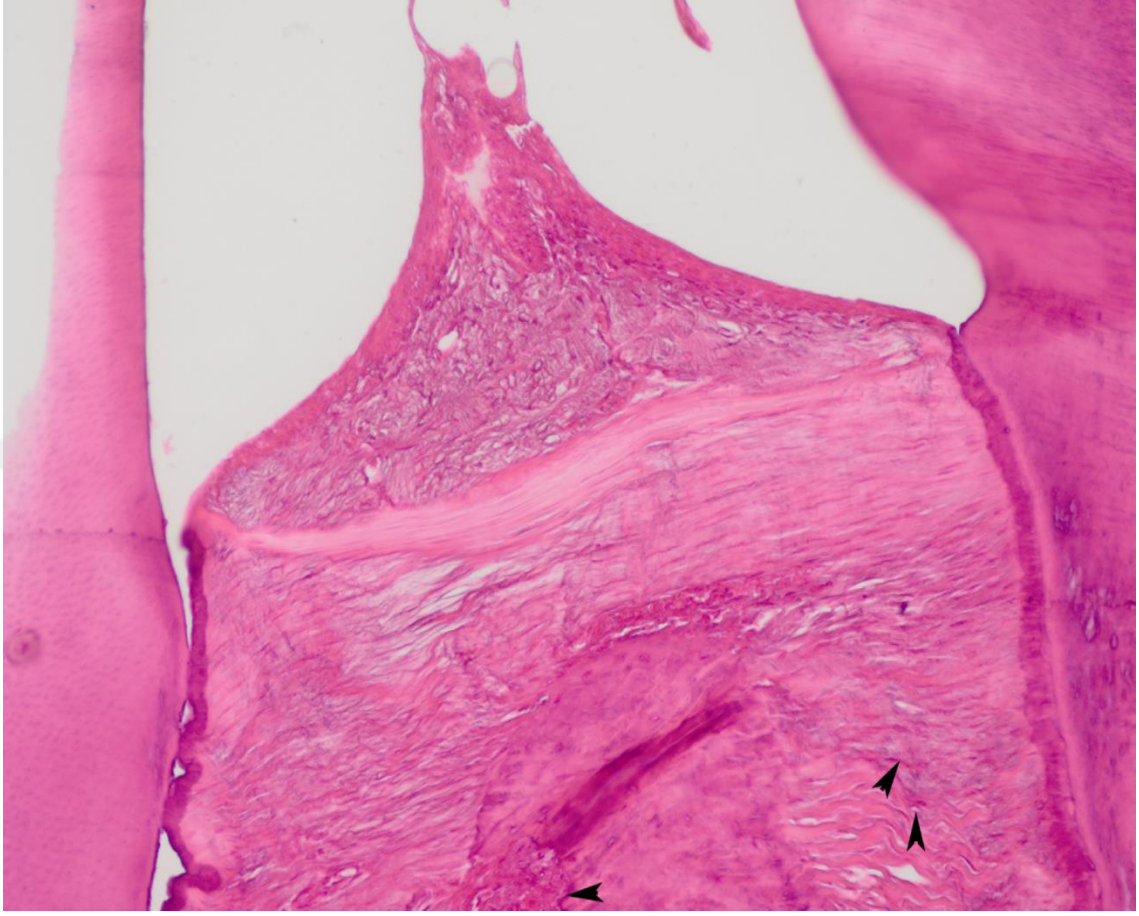
Şekil 3.1 Sağlıklı grubun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü, hematoksilen ve eozin boyama, 100x büyütme ile. Normal periodontal membran, alveoler kemik ve sement yapısı.



Şekil 3.2 Periodontitis grubunun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü, hematoxilen ve eozin boyama, 100x büyütme ile. Periodonsiyumda yoğun vaskülarizasyon (v) ve hiperemiyle birlikte alveoler kemik sınırında osteoklastlar (ok) ve orta şiddette enflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız).



Şekil 3.3 Profilaksi grubunun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü, hematoxilen ve eozin boyama, 100x büyütme ile. Periodontal ligamette hafif vaskülarizasyon (v) ve hafif enflamatuvar hücre infiltrasyonu (asteriks), alveoler kemikte osteoklast (ok) ve osteoblastlar (ok başı).



Şekil 3.4 Terapötik grubun incelenen doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü, hematoksilen ve eozin boyama, 100x büyütme ile. Alveoler kemik sınırda şekillenen osteoblastlar (ok başı).

Enflamatuvar hücre infiltrasyonu gruplar arasında karşılaştırıldığında sıfır değerini alan sıçanların %60.0'ı (n=3) sağlıklı grupta, %11.1'i (n=1) profilaksi grubunda, %11.1'i (n=1) terapötik grupta yer alırken periodontitis grubunda bu değeri alan sıçan yoktu (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 Enflamatuvar hücre şiddeti ve gruplardaki karşılaştırma sonuçları

Enflamatuvar hücre infiltrasyonu	Gruplar			
	Sağlıklı Grup	Periodontitis Grubu	Profilaksi Grubu	Terapötik Grup
0	3 (60.0)	0 (0.0)	1 (11.1)	1 (11.1)
1	2 (40.0)	2 (22.2)	7 (77.8)	7 (77.8)
2	0 (0.0)	5 (55.6)	1 (11.1)	1 (11.1)
3	0 (0.0)	2 (22.2)	0 (0.0)	0 (0.0)

3.2. Histomorfometrik Bulgular

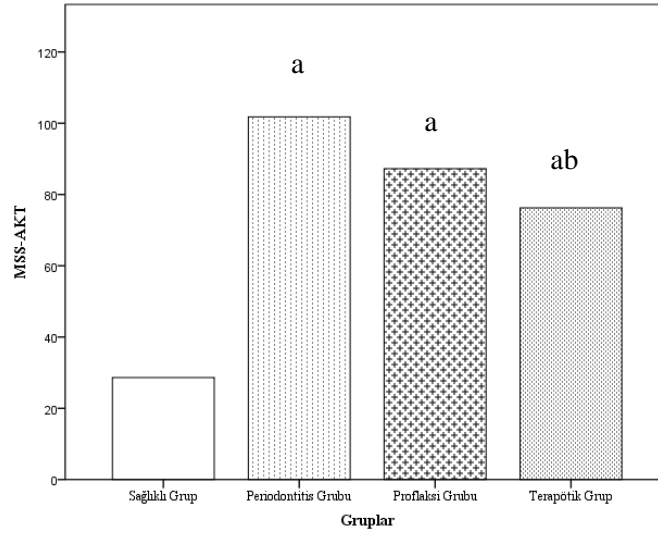
Tüm gruplara ait MSS-AKT arasındaki mesafe değerleri (μm) Tablo 3.3'te gösterildi. Buna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($F=36.586$; $p<0.001$) (Tablo 3.3) (Şekil 3.5).

Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için yapılan post-hoc testi sonucuna göre MSS-AKT arasındaki mesafe, sağlıklı grupta periodontitis, profilaksi ve terapötik gruplarından istatistiksel olarak anlamlı az (tüm karşılaştırmalar için $p<0.001$); periodontitis grubunda ise terapötik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fazla bulundu ($p=0.001$). Diğer ikili karşılaştırma sonuçları arasında ise anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Tablo 3.3 Gruplardaki MSS-AKT arasındaki mesafeleri için karşılaştırma sonuçları

	Sağlıklı Grup	Periodontitis Grubu	Profilaksi Grubu	Terapötik Grup	F	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	Ort±Ss	Ort±Ss		
MSS-AKT	28.61±12.21	101.78 ±11.46 ^a	87.23±17.4 ^a	76.26±9.34 ^{ab}	36.586	<0.001

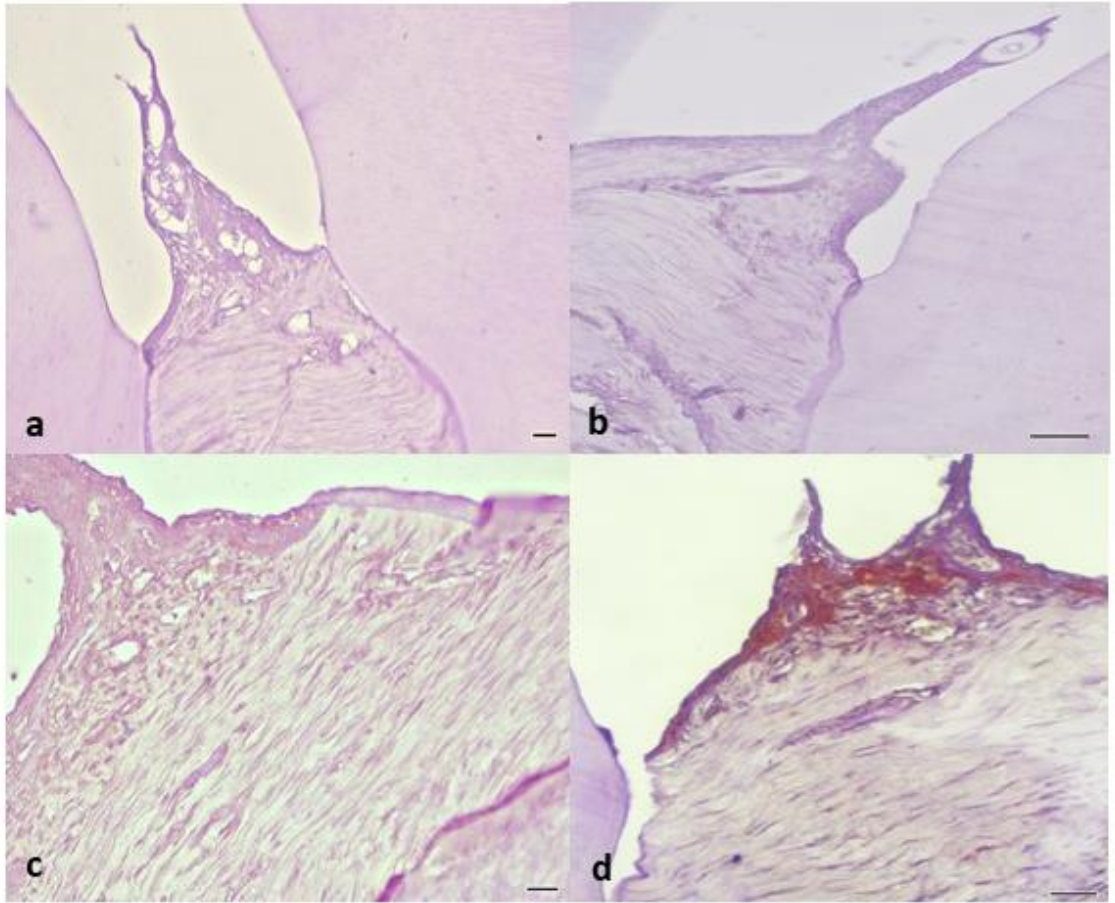
F, ANOVA test istatistiği sonucudur. a, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; b, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.



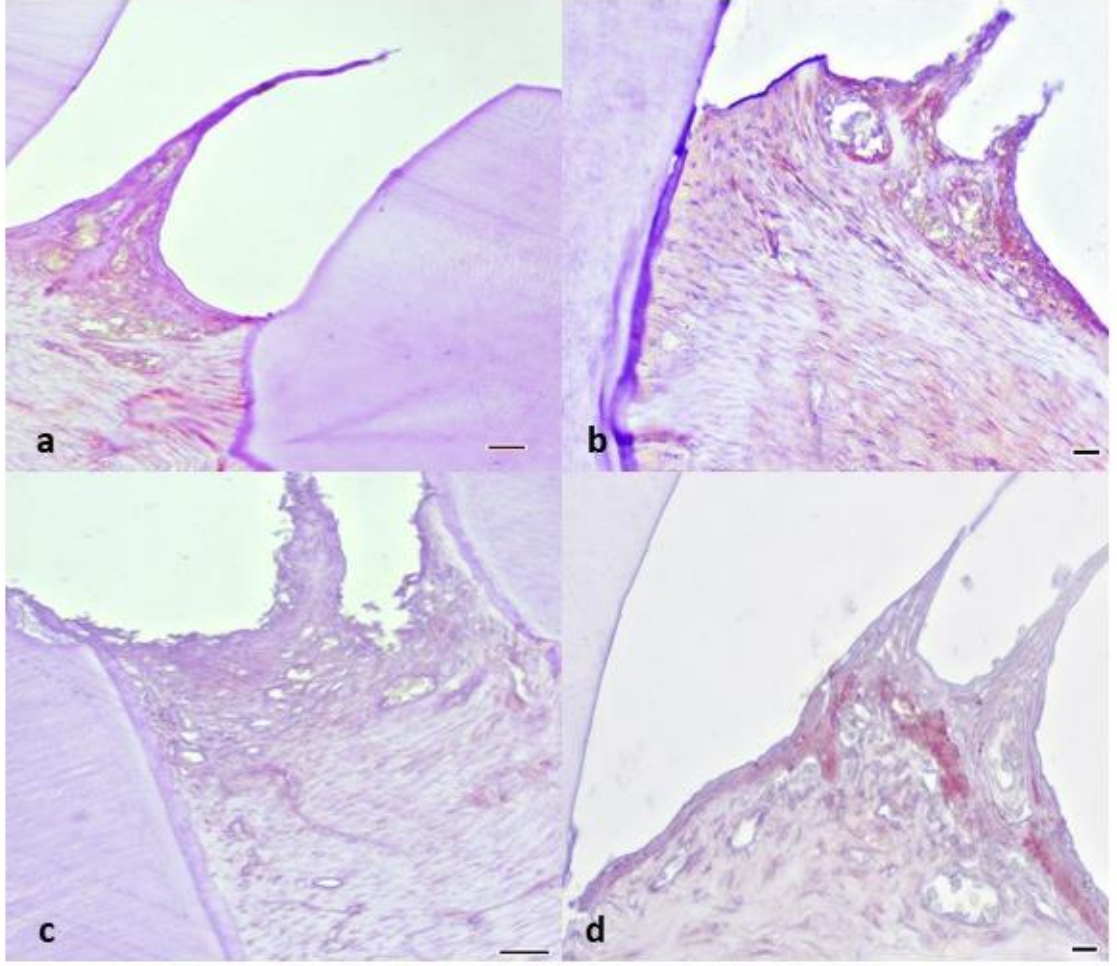
Şekil 3.5 Gruplardaki MSS-AKT arası mesafe ölçümleri, a, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; b, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.

3.3.İmmünohistokimyasal Analizler

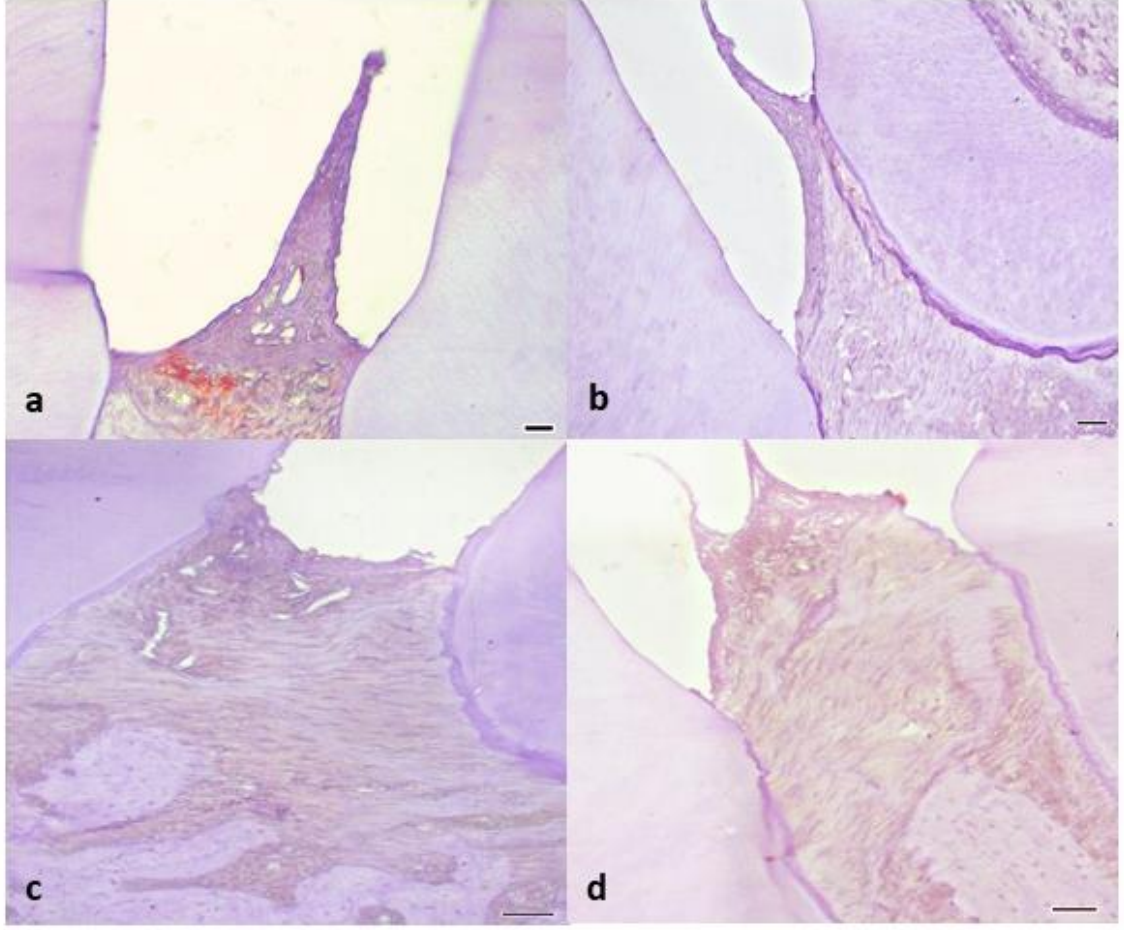
SOD, GP, MDA, RANKL, OPG ve NF- κ B spesifik antikorlar kullanılarak gerçekleştirilen immunoperoksidaz testlere ait sonuçların fotoğrafları Şekil 3.6-3.11' de sunuldu.



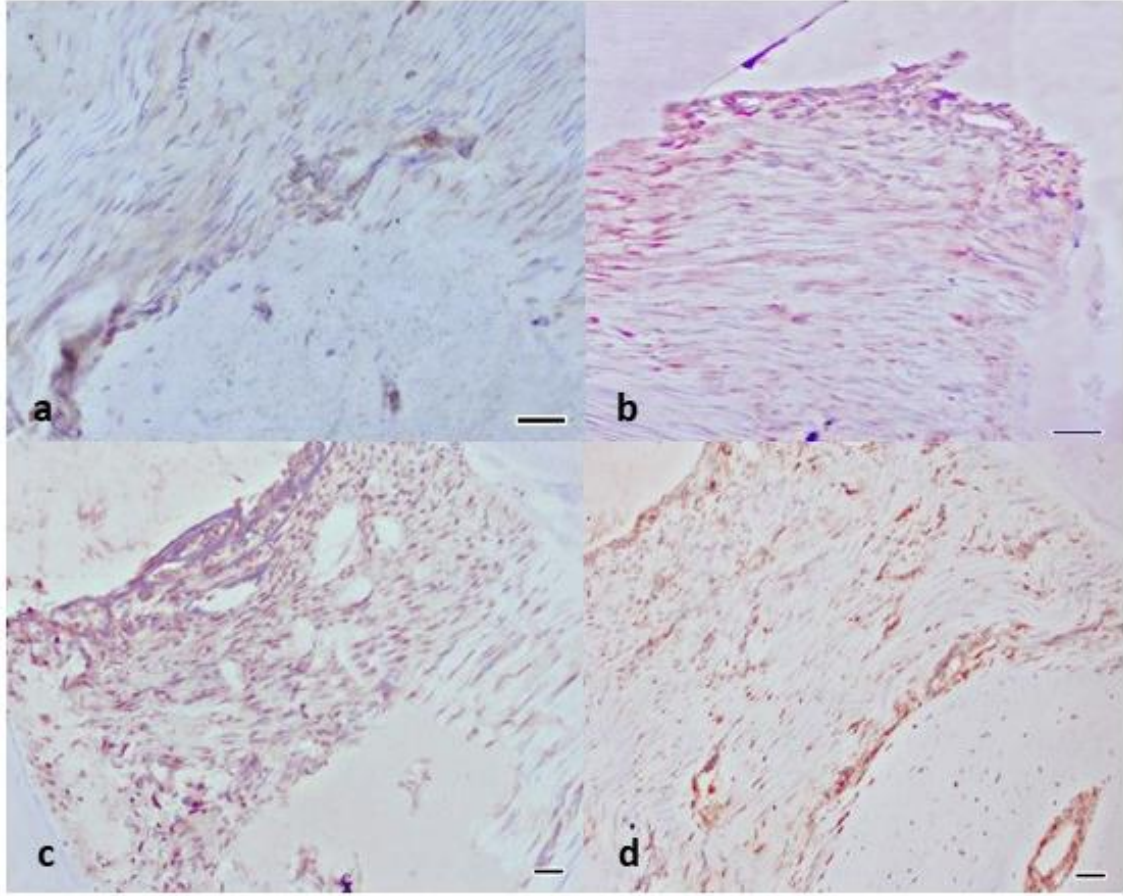
Şekil 3.6 Gruplardaki SOD boyanma görüntüleri, Anti-SOD antikoruna AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafif immünpozitif boyanma. Bar: 100 μ m. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafif immünpozitif boyanma. Bar: 140 μ m. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafiften - orta dereceye immünpozitif boyanma. Bar: 80 μ m. d) Terapötik grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta dereceden - yoğun immünpozitif boyanma. Bar: 60 μ m.



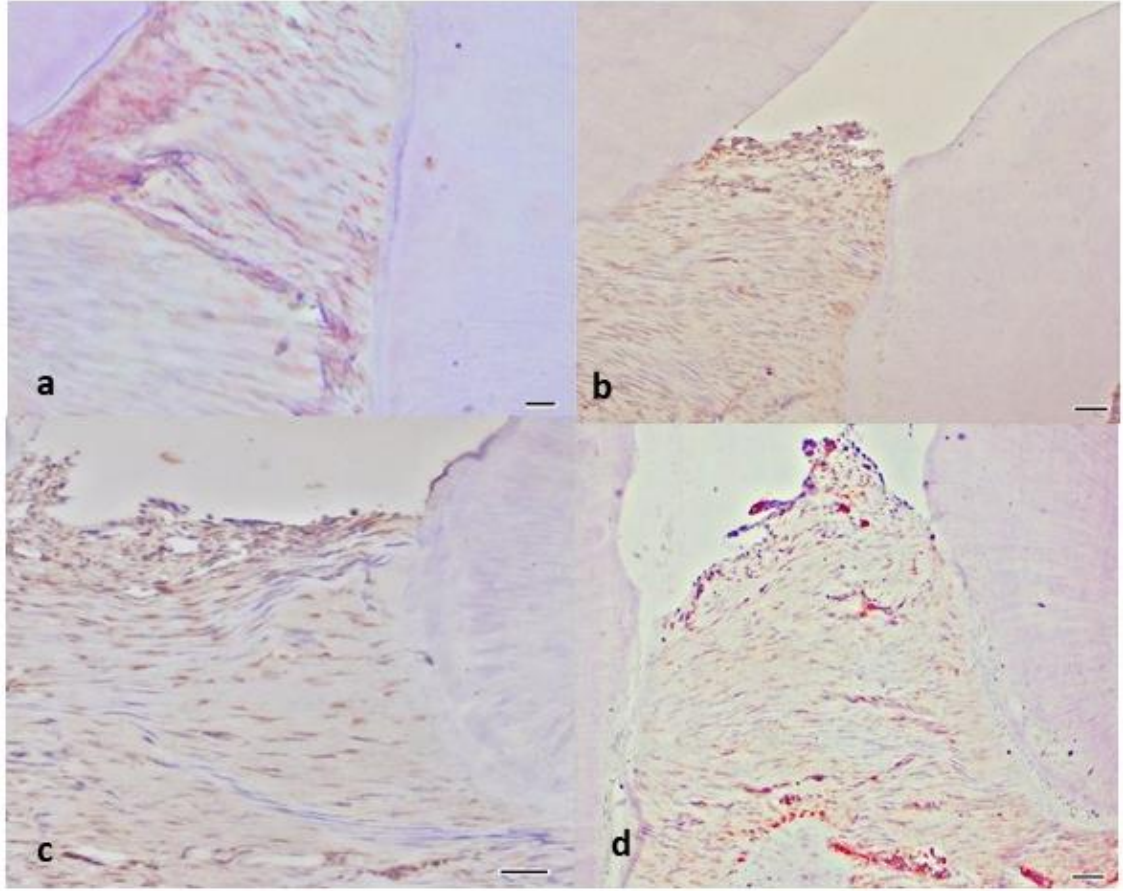
Şekil 3.7 Gruplardaki GP boyanma görüntüleri, Anti-GP antikoru AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafiften - orta dereceye immünpozitif boyanma. Bar: $80\mu\text{m}$. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $60\mu\text{m}$. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $60\mu\text{m}$. d) Terapötik grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta dereceden - şiddetliye immünpozitif boyanma. Bar: $35\mu\text{m}$.



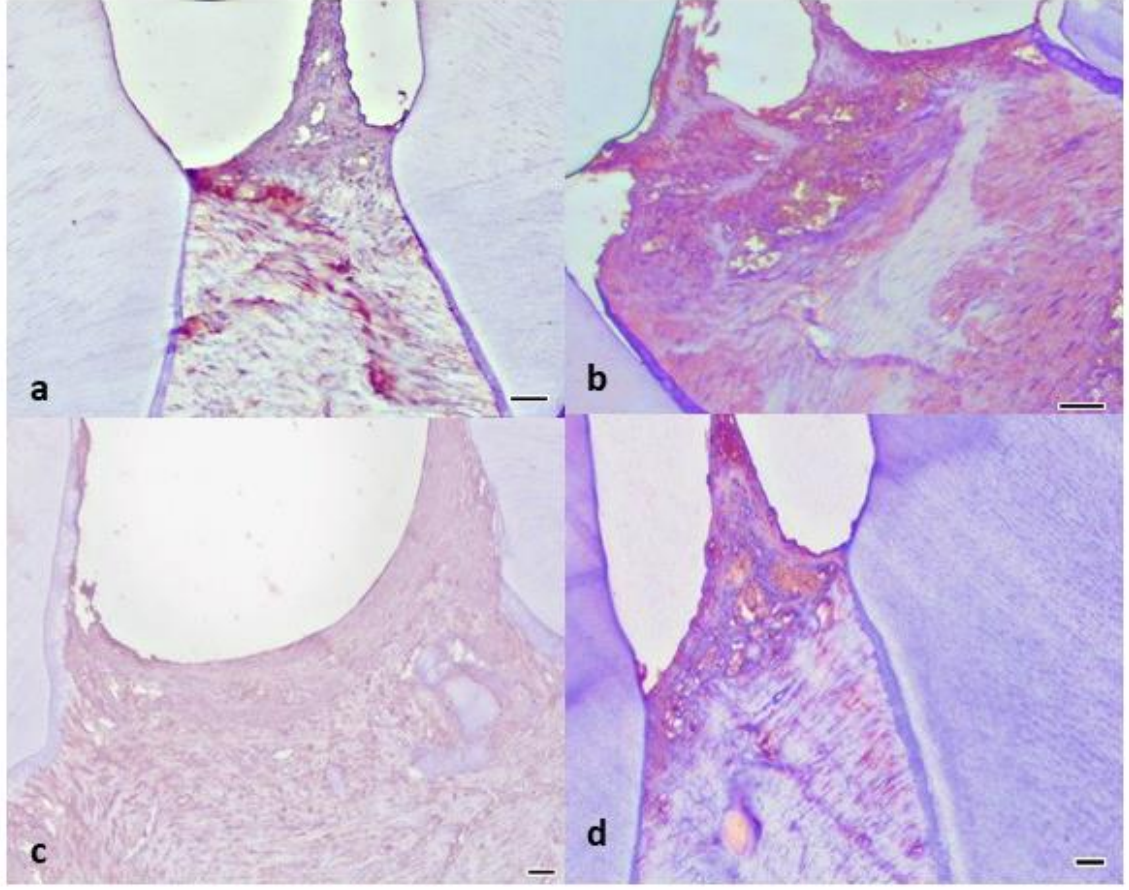
Şekil 3.8 Gruplardaki MDA boyanma görüntüleri, Anti-MDA antikoruna AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafif immünpozitif boyanma. Bar: $100\mu\text{m}$. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $100\mu\text{m}$. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $60\mu\text{m}$. d) Terapötik grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $60\mu\text{m}$.



Şekil 3.9 Gruplardaki RANKL boyanma görüntüleri, Anti- RANKL antikoru AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte hafif immünpozitif boyanma. Bar: $50\mu m$. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte yoğun immünpozitif boyanma. Bar: $80\mu m$. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $40\mu m$. d) Terapötik grupta alveolar kemikte orta derecede immünpozitif boyanma. Bar: $50\mu m$.



Şekil 3.10 Gruplardaki OPG boyanma görüntüleri, Anti- OPG antikoru AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte hafif immünpozitif boyanma. Bar: $40\mu m$. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte hafif immünpozitif boyanma. Bar: $100\mu m$. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte orta dereceden -yoğuna immünpozitif boyanma. Bar: $45\mu m$. d) Terapötik grupta alveolar kemikte yoğun immünpozitif boyanma. Bar: $80\mu m$.



Şekil 3.11 Gruplardaki NF- κ B boyanma görüntüleri, Anti- NF- κ B antikoruna AEC kromojen, Hematoksilen karşıt boyama. a) Sağlıklı grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafif immünpozitif boyanma. Bar: $70\mu m$. b) Periodontitis grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte yoğun immünpozitif boyanma. Bar: $80\mu m$. c) Profilaksi grubunda alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafiften orta dereceye immünpozitif boyanma. Bar: $60\mu m$. d) Terapötik grupta alveolar kemikte ve periodontal ligamentte hafiften orta dereceye immünpozitif boyanma. Bar: $55\mu m$.

3.3.1.SOD, GP, MDA Seviyeleri

Çalışmadaki SOD, GP, MDA değerleri 4 grup için karşılaştırıldığında gruplardan elde edilen tüm değerlerin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka sahip olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 3.4).

Gruplarda ölçümü alınan parametrelerdeki farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için yapılan post-hoc testi sonucuna göre SOD seviyesi, periodontitis grubunda profilaksi ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.039$; $p=0.042$, sırasıyla) (Tablo 3.5) (Şekil 3.12). Fakat periodontitis ve sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p=0.931$) (Tablo 3.5) (Şekil 3.12).

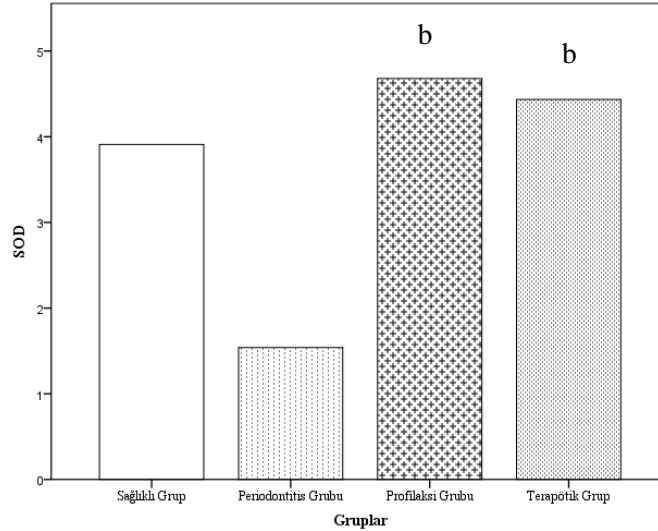
GP seviyesinin, sağlıklı grupta profilaksi ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü ($p=0.031$; $p=0.002$, sırasıyla) (Tablo 3.5) (Şekil 3.13). Periodontitis grubu ile sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Tablo 3.5) (Şekil 3.13).

MDA seviyesinin, periodontitis grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p=0.004$); sağlıklı grupta ise profilaksi ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.012$; $p=0.017$, sırasıyla) (Tablo 3.5) (Şekil 3.14). Periodontitis grubu ile profilaksi ve terapötik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (Tablo 3.5) (Şekil 3.14).

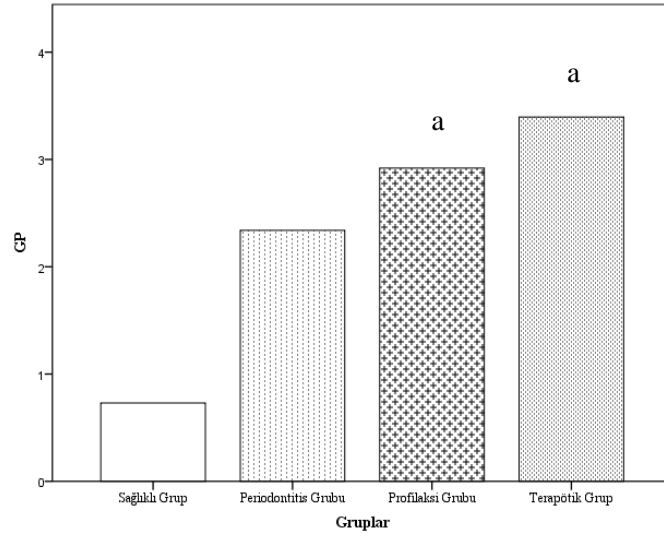
Tablo 3.4 Gruplardaki SOD, GP, MDA seviyeleri için karşılaştırma sonuçları

	Sağlıklı Grup	Periodontitis Grubu	Profilaksi Grubu	Terapötik Grup	F, χ^2	p
SOD	3.91	1.54	4.68 ^b	4.44 ^b	9.695 ^{&}	0.021
Medyan (min;maks)	(2.40;4.86)	(0.88;4.69)	(2.68;6.94)	(2.83;7.92)		
GP	0.73	2.34	2.92 ^a	3.4 ^a	15.611 ^{&}	0.001
Medyan (min;maks)	(0.42;2.64)	(0.99;3.54)	(2.40;5.77)	(2.61;5.62)		
MDA	1.14±0.54 ^b	2.09±0.56	4.35±1.70 ^a	5.71±2.46 ^a	15.817 [*]	<0.001
Ort±Ss						

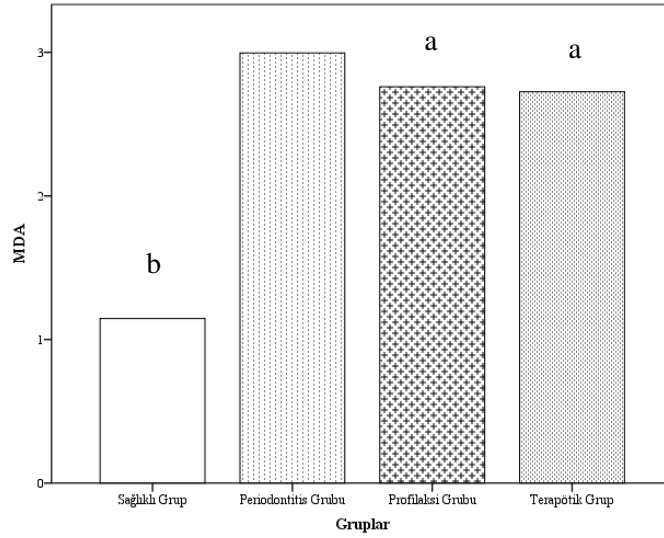
F, *: Welch-ANOVA test istatistiği sonucudur. χ^2 , &: Kruskal Wallis test istatistiği sonucudur. a, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; b, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.



Şekil 3.12 Gruplardaki SOD seviyeleri, b, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.



Şekil 3.13 Gruplardaki GP seviyeleri, *a*, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık.



Şekil 3.14 Gruplardaki MDA seviyeleri, *a*, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; *b*, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.

Tablo 3.5 Gruplardaki SOD, GP, MDA seviyeleri için post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları

	SOD	GP	MDA
Periodontitis-Sağlıklı	p=0.931	p=1.000	p=0.004
Periodontitis-Profilaksi	p=0.039	p=0.522	p=1.000
Periodontitis-Terapötik	p=0.042	p=0.063	p=1.000
Sağlıklı-Profilaksi	p=1.000	p=0.031	p=0.012
Sağlıklı-Terapötik	p=1.000	p=0.002	p=0.017
Profilaksi-Terapötik	p=1.000	p=1.000	p=1.000

3.3.2. RANKL, OPG, RANKL/OPG oranı, NF-κB Seviyeleri

Çalışmadaki RANKL, OPG, RANKL/OPG oranı, NF-κB değerleri 4 grup için karşılaştırıldığında gruplardan elde edilen tüm değerlerin istatistiksel olarak anlamlı bir farka sahip olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 3.6).

RANKL seviyesinin, periodontitis grubunda sağlıklı ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$; $p<0.001$, sırasıyla) (Tablo 3.7) (Şekil 3.15). Periodontitis grubu ile profilaksi grubu arasında istatistiksel olarak fark belirlenmedi (Tablo 3.7) (Şekil 3.15).

OPG seviyesinin, periodontitis grubunda profilaksi ve terapötik gruplarına göre ($p=0.002$; $p<0.001$, sırasıyla); sağlıklı grupta ise terapötik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü ($p=0.049$) (Tablo 3.7) (Şekil 3.16). Periodontitis grubun sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir farka sahip olmadığı gözlemlendi (Tablo 3.7) (Şekil 3.16).

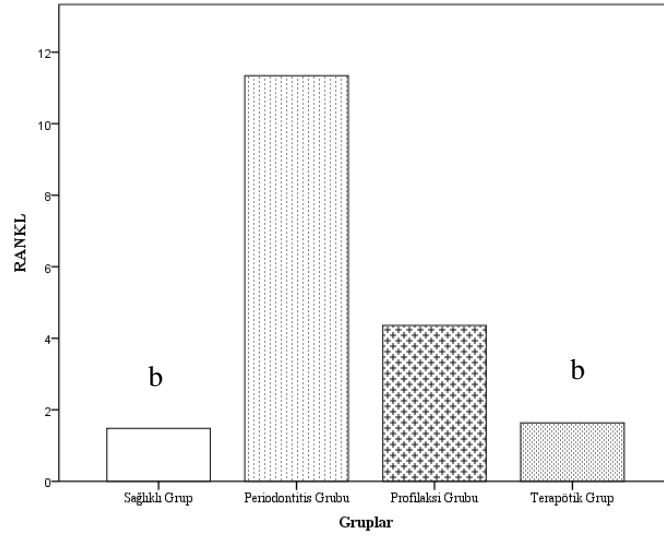
RANKL/OPG oranının, periodontitis grubunda sağlıklı, profilaktik ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p=0.005$; $p=0.006$; $p=0.005$, sırasıyla); profilaksi grubunda ise terapötik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü ($p=0.011$) (Tablo 3.7) (Şekil 3.17).

NF- κ B seviyesinin, periodontitis grubunda sağlıklı, profilaksi ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$ $p=0.017$ $p=0.023$, sırasıyla) (Tablo 3.7) (Şekil 3.18).

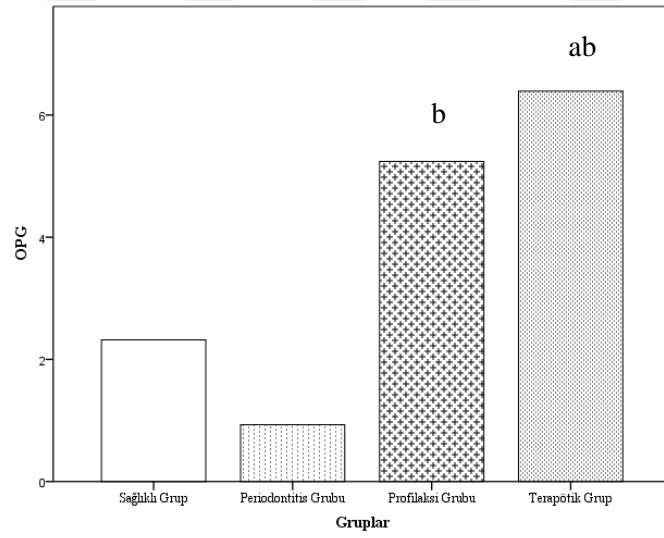
Tablo 3.6 Gruplardaki RANKL, OPG, RANKL/OPG, NF-κB için 4 gruptaki karşılaştırma sonuçları

	Sağlıklı Grup	Periodontitis Grubu	Profilaksi Grubu	Terapötik Grup	F, χ^2	p
RANKL	1.48 ^b	11.34	4.36	1.64 ^b	24.657 ^{&}	<0.001
Medyan (min;maks)	(0.82;2.55)	(7.36; 14.59)	(1.96;7.11)	(1.39; 3.40)		
OPG	2.32	0.93	5.24 ^b	6.39 ^{ab}	23.270 ^{&}	<0.001
Medyan (min;maks)	(1.64; 3.40)	(0.56; 3.92)	(3.44;8.24)	(3.11; 13.86)		
RANKL/OPG	0.66 ± 0.31 ^b	12.43 ± 6.44	0.86±0.31 ^b	0.38 ± 0.24 ^{bc}	12.353 [*]	<0.001
Ort±Ss						
NF-Kb	1.59 ^b	6.08	3.30 ^b	3.32 ^b	23.806 ^{&}	<0.001
Medyan (min;maks)	(1.16; 2.11)	(3.87; 8.72)	(2.46;4.02)	(2.89; 4.91)		

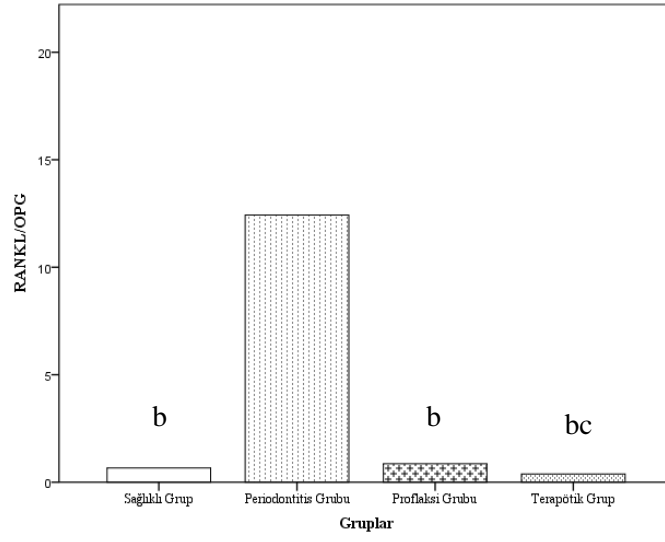
F, *: Welch-ANOVA test istatistiği sonucudur. χ^2 , &: Kruskal Wallis test istatistiği sonucudur. a, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; b, periodontitis grubundan anlamlı farklılık; c, profilaksi grubundan anlamlı farklılık.



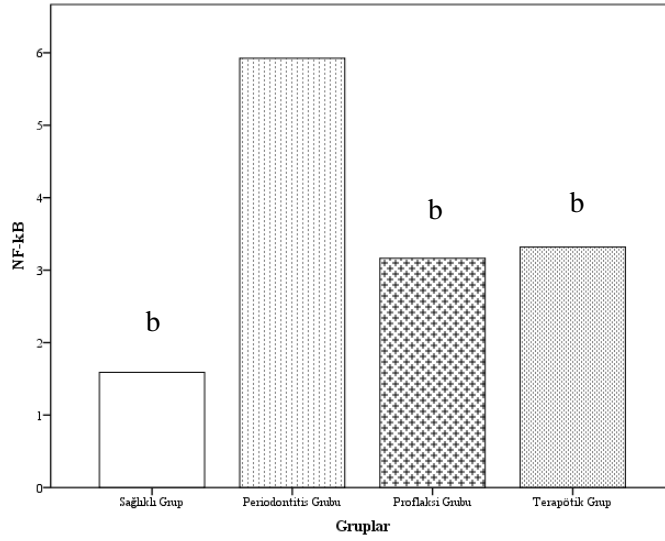
Şekil 3.15 Gruplardaki RANKL seviyeleri. *b*, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.



Şekil 3.16 Gruplardaki OPG seviyeleri. *a*, sağlıklı gruptan anlamlı farklılık; *b*, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.



Şekil 3.17 Gruplardaki RANKL/OPG oranları. *b*, periodontitis grubundan anlamlı farklılık; *c*, profilaksi grubundan anlamlı farklılık.



Şekil 3.18 Gruplardaki NF-κB seviyeleri. *b*, periodontitis grubundan anlamlı farklılık.

Tablo 3.7 Gruplardaki RANKL, OPG, RANKL/OPG, NF-κB seviyeleri için post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları

	RANKL	OPG	RANKL/OPG	NF-κB
Periodontitis-Sağlıklı	p<0.001	p=1.000	p=0.005	p<0.001
Periodontitis-Profilaksi	p=0.210	p=0.002	p=0.006	p=0.017
Periodontitis-Teröpatik	p<0.001	p<0.001	p=0.005	p=0.023
Sağlıklı-Profilaksi	p=0.092	p=0.203	p=0.675	p=0.172
Sağlıklı-Teröpatik	p=1.000	p=0.049	p=0.360	p=0.138
Profilaksi-Teröpatik	p=0.222	p=1.000	p=0.011	p=1.000

4. TARTIŞMA

Periodontitis, subgingival biyofilmdeki patojenik mikrobiyotadan kaynaklanan kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Bakteriyel atak, sitokin, PG ve ROT'ta artışa neden olan enflamatuvar bir reaksiyona neden olmaktadır. Dokudaki kronik enflamasyon derin dokulara ilerlemekte ve bağ dokusu ve alveoler kemiğin yıkımına neden olmaktadır. Bu kronik enflamasyon ayrıca periodontal cep oluşumuna ve sonuçta diş kaybına neden olmaktadır. Bununla birlikte, bu hastalıkta gözlenen altta yatan doku hasarının, konağın subgingival patojenlere aşırı immün yanıt sonucu olduğu bilinmektedir (Socransky ve Haffajee 2002, Marsh 2003, Bascones-Martinez ve Figuero-Ruiz 2004, Shingala ve Rajyaguru 2015).

Bakteriyel patojenler tarafından uyarıldığında konak hücreler, immün yanıtın bir parçası olarak IL-1 α ve IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler, MMP gibi enzimler ve PGE₂ gibi PG'leri salgılamaktadır (Lamont ve Jenkinson 1998, Van Dyke ve Serhan 2003). Bu sitokinler, PMNL'yi enfeksiyon bölgesine toplamaktadır (Lamont ve Jenkinson 1998). PMNL, periodontal hastalığın etiolojisinde büyük rol oynamakta ve oral bakteriyel enfeksiyona karşı baskın konak immün yanıtı oluşturmaktadır. Bakteriyel antijenlerin uyarılması ile, IL-8 gibi sitokinler, PMNL'yi adezyon moleküllerini eksprese etmeye ve dolaşımdan enfeksiyon bölgesine doğru hareket ettirmeye teşvik etmektedir (Gainet ve ark. 1998). Burada, PMNL, NADPH oksidaz tarafından katalize edilen, elastaz gibi proteolitik enzimlerin yanı sıra oksidatif patlama yoluyla O₂ üretmektedirler. Periodontitisli bireyler, PMNL'de artmış sayı, adezyon ve oksidatif aktivite göstermektedir (Åsman 1988). PMNL'den salınan süperoksit gibi ROT, fagozomal aktivite ile hücre dışı çevreye salınmakta ve salınan ROT hedefe özgü olmadığı için, konak dokuya da zarar vermektedir (Guarnieri ve ark. 1991, Sculley ve Langley-Evans 2002).

Kemik, osteoblastik ve osteoklastik aktivite arasında dengede bulunan, sürekli yenilenen bir organdır (Boyle ve ark. 2003). Bu denge, remodeling, hormonlar, sitokinler/kemokinler ve dış biyomekanik uyaranlar gibi moleküllerle düzenlenen süreçler bütünüdür (Zhang ve ark. 2015, Liu ve ark. 2019). Kemik yıkımından sorumlu osteoklastların aktivasyonu, RANK, RANKL ve OPG tarafından düzenlenmektedir (Teitelbaum ve Ross 2003).

RANK, osteoklast fenotipini oluşturmak için osteoklast progenitör hücrelerinden eksprese edilen, osteoklastların ve osteoklast öncüllerinin hücre yüzeyleri üzerindeki reseptördür (Teitelbaum ve Ross 2003, Cochran 2008, Hienz ve ark. 2015).

NF- κ B, osteoklast oluşumu ve aktivasyonu için gerekli olan ve RANK sinyallemede yer alan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Periodontal hastalık durumunda, bakteriyel LPS, TNF- α , IL-1, MMP'ler gibi pek çok proenflamatuvar molekül varlığında NF- κ B yolunun aktivasyonu meydana gelmektedir (Trackman ve Kantarci 2015).

RANKL, TNF ligand üst familyasına ait membran bağlı bir proteindir. Osteoklast farklılaşmasının ve kemik rezorpsiyonunun uyarılmasından sorumludur (Belibasakis ve Bostanci 2012). RANKL, RANK ve OPG etkileşimleri osteoklastogenez ve alveoler kemik rezorpsiyonunun koordine edilmesinde önemlidir (Suda ve ark. 1999). RANKL osteoblastlar/stromal hücreler, fibroblastlar, B ve T hücreleri tarafından eksprese edilmektedir (Lacey ve ark. 1998, Yasuda ve ark. 1998, Horwood ve ark. 1999, Quinn ve ark. 2000). Preosteoklast ve osteoklastların yüzeyinde bulunan RANK'a doğrudan bağlanan RANKL, hem osteoklast progenitörlerinin farklılaşmasını hem de olgun osteoklastların aktivasyonunu uyarmaktadır (Lacey ve ark. 1998).

OPG, RANKL'ın RANK'a bağlanmasını bloke ederek tuzak reseptörü görevi gören ve böylece osteoklastogenezini önleyen çözünebilir TNF reseptörü benzeri bir moleküldür. OPG, osteoblast, fibroblast, epitel hücreleri ve insan periodontal ligament hücreleri tarafından eksprese edilmektedir (Boyce ve Xing 2007). RANKL ve OPG'nin çeşitli hücre tipleri tarafından üretilmesi, hormonlar, enflamatuvar belirteçler ve bakteriyel ürünler

dahil olmak üzere sistemik ve lokal uyarılarla kontrol edilmektedir (Lerner 2006, Liu ve ark. 2010). Enflamatuvar yanıtın bir parçası olarak, IL-1 β , IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezi indükleyebilmekte ve osteoblast/stromal hücrelerde OPG üretimini azaltmaktadır. Aksine, IL-13 ve IFN- γ gibi antienflamatuvar belirteçler, RANKL ekspresyonunu azaltmakta ve osteoklastogenezi inhibe etmek için OPG ekspresyonunu artırmaktadır (Nakashima ve ark. 2000). RANKL ekspresyonunu ve kemik rezorpsiyonunu stimüle eden sitokinlerin birçoğu, COX-2 ve PG gibi moleküllerin ekspresyonunu da arttırmaktadır (Lerner 2006). PGE₂ ayrıca osteoblast ve osteoklast progenitör hücreleri için etkili bir RANKL ekspresyon uyarıcısıdır (Li ve ark. 2002, Ono ve ark. 2005). Yüksek konsantrasyonlarda, PGE₂ stromal hücre/osteoblastlarda RANKL ekspresyonu ve sonunda kemik rezorpsiyonunda artışa neden olmaktadır (Buduneli ve Kinane 2011).

RANKL/OPG oranı, kemik remodelingi sırasında meydana gelen normal kemik rezorpsiyonunun ve depozisyonunun regülasyonunun göstergesidir (Cochran 2008, Leibbrandt ve Penninger 2008). Periodontitiste meydana gelen kemik doku yıkımı, RANKL/OPG seviyeleri arasındaki denge ile düzenlenmekte ve yıkım durumunda bu oran artmaktadır (Vernal ve ark. 2004, Jin ve ark. 2007, Silva ve ark. 2008, Bartold ve ark. 2010).

Periodontal hastalığın gelişiminde rol oynayan bir diğer önemli faktör oksidatif streştir. Oksidatif stres, oksijenin normal metabolizmasının bir yan ürünü olarak oluşan ROT ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki eşitsizlik olarak tanımlanmaktadır (Chapple 1997, Battino ve ark. 1999, Chapple ve Matthews 2007, Valko ve ark. 2007, Boesing ve ark. 2009, Sardi 2013, Wang ve ark. 2017). ROT, fazla miktarda üretildiğinde dokuda yıkıcı etkilere neden olmaktadır (D'Aiuto ve ark. 2010). ROT'un doku hasarı; protein hasarı, DNA hasarı, LPO, önemli enzimlerin oksidasyonu ve monosit ve makrofajlar tarafından proenflamatuvar sitokinlerin salınımının stimülasyonu gibi mekanizmaları içermektedir (Chapple 1997, Chapple ve Matthews 2007, Bartold ve ark. 2010).

LPO, serbest radikallerin en önemli reaksiyonlarından biri olmakla birlikte; LPO'nun ateroskleroz, diyabetin geç dönem komplikasyonları, Romatoid artrit ve periodontitis gibi durumlarda önemli rolleri bulunmaktadır (Velazquez ve ark. 1991, Chapple 1997, Macnee ve Rahman 1999, Halliwell 2000, Tsai ve ark. 2005, Akalin ve ark. 2007, Wei ve ark. 2010, Bastos ve ark. 2012). Hidroksil ve peroksinitrit radikalleri, LPO'nun aktifleştirilmesinde etkilidir (Halliwell 1991). Hidroksil veya peroksinit radikali, lipid zarındaki PUFA yan zincirine saldırıp çapraz bağlar oluşturarak hücre membran yapısını ve fonksiyonunu bozmakta ve hücre yıkımına neden olmaktadır (Chapple ve Matthews 2007). MDA, uçucu formda düşük molekül ağırlıklı ve LPO'nun sonuç yıkım ürünü olan bir aldehittir. Oksidatif stres esnasında PG biyosentezinin ürünü olarak veya bazı moleküllerin yıkılması ile oluşmaktadır (Durak ve ark. 2002). ROT'a bağlı doku yıkımı, LPO'nun göstergesi olan MDA ile ölçülmektedir (Roberts ve Morrow 2002, Tsai ve ark. 2005, Halliwell 2007).

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda buldukları zaman oksitlenebilir bir substrat ile karşılaştırıldığında, bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır ve oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilecek serbest radikal oluşumunu nötralize etmektedir (Halliwell 2006, Dahiya ve ark. 2013). Hücreleri serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan koruyan en önemli antioksidanlar, GP, SOD ve KAT'tır (Chapple 1996).

SOD, yüksek reaktif olan süperoksit anyonunun, oksijene ve daha az reaktif olan hidrojen peroksite ayrışmasını katalize eden antioksidan enzimdir. Bu oluşan hidrojen peroksit ise, GP veya KAT reaksiyonları ile detoksifiye edilmektedir (Fridovich 1995, Sandalio ve ark. 1997, Teixeira ve ark. 1998).

GP, hidrojen peroksit, steroid ve lipid hidroperoksitler için etkili bir antioksidan enzim olup, eritrosit ve lökosit gibi hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu olarak görev almaktadır (Patel ve ark. 2012). GP, glutatyon kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize etmekte, böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Glutatyon metabolizması en temel antioksidan savunma mekanizmalarından birini

oluşturmaktadır (Esterbauer ve ark. 1992, Rikans ve Hornbrook 1997, Grazioli ve ark. 1998, Sigalov ve Stern 1998).

KAT, hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek su ve moleküler oksijen oluşturmakta ve hücreleri hidrojen peroksitten korumaktadır (Speranza ve ark. 1993).

Periodontal hastalıkta bakteriyel hücre bileşenleri ve enflamatuvar sitokinler PMNL'leri aktive etmekte ve PMNL'ler ROT üretimiyle birlikte oksidatif aktivite göstermektedir (Asman, 1987). Aynı zamanda dişeti bağ dokusundaki fibroblast, osteoklast, epitel hücreleri ve nötrofiller de ROT salınımını arttırmakta ve konak dokuda hasara neden olmaktadır (Sculley ve Langley-Evans 2002, Chapple ve Matthews 2007, Mathes ve ark. 2011, Dahiya ve ark. 2013). ROT aktivitesine bağlı, proenflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu, LPO yoluyla PGE₂ üretimi, NF-κB salımı gibi mekanizmalarla da doku yıkımının geliştiği belirtilmiştir (Chapple 2006). ROT'un osteoklast farklılaşması için hücre içi bir sinyal aracı olarak görev yaptığı ve periodontal doku yıkımını indükleyebildiği ve osteoklastik kemik rezorpsiyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark. 2005, Toker ve ark. 2009).

Periodontal hastalıkların tedavisinde antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleriyle pek çok bitki kullanılmaktadır (Suhag ve ark. 2007, Bajaj ve Tandon 2011, Behal ve ark. 2011, Bhat ve ark. 2011, Ajmera ve ark. 2013, Khairnar ve ark. 2013, Cheng ve ark. 2014, Kaur ve ark. 2014, Naiktari ve ark. 2014, Tamanai-Shacoori ve ark. 2014, Anitha ve ark. 2015, Dong ve ark. 2015, Hatipoglu ve ark. 2015, Bhattarai ve ark. 2016, Chopra ve ark. 2016, Elavarasu ve ark. 2016, Hrishi ve ark. 2016, Mahyari ve ark. 2016, Ramesh ve ark. 2016, Ashouri Moghaddam ve ark. 2017, Bhattarai ve ark. 2017, Elburki ve ark. 2017, de Almeida ve ark. 2019, Hitomi ve ark. 2019). Bu bitkilerin arasında çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan zencefil bitkisi bulunmaktadır (Shukla ve Singh 2007, El-Sharaky ve ark. 2009, Nicoll ve Henein 2009, Mahluji ve ark. 2013, Mozaffari-Khosravi ve ark. 2014, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, Mahyari ve ark. 2016). Zencefil yüksek oranda kullanılan bir baharat olmakla birlikte; antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiartritik, kardiyovasküler

koruma, antianjiyogenik, antitrombotik, antikanser, hipolipidemik, antidiabetik, antimigren, antiparazit, hepatoprotektif, diüretik ve hipokolesterolemik özellikleri nedeniyle diyabet, diyare, bulantı, rinit, romatizma, sinir sistemi rahatsızlıkları, gingivitis, diş ağrısı, kardiyopati ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Ansari ve ark. 2006, Shukla ve Singh 2007, Park ve ark. 2008, Nicoll ve Henein 2009, Butt ve Sultan 2011, Shanmugam ve ark. 2011, Mahluji ve ark. 2013, Mashhadi ve ark. 2013, Mozaffari-Khosravi ve ark. 2014, Rahmani ve ark. 2014, Ebrahimzadeh Attari ve ark. 2015, Imani ve ark. 2015, Marx ve ark. 2015, Rupasinghe ve Gunathilake 2015, Shidfar ve ark. 2015, Arul ve ark. 2016, Choi ve ark. 2018, Ezzat ve ark. 2018, Kruger ve ark. 2018, Li ve ark. 2018, Si ve ark. 2018, de Almeida ve ark. 2019).

Zencefil, shogaol, gingerol, paradol ve zingerone gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip aktif bileşenleri içermektedir. Shogaol en aktif bileşenlerinden birini oluşturmaktadır (He ve ark. 1998, Rahmani ve ark. 2014). (6)-Shogaol'ün kardiyovasküler hastalık, diyabet, kanser, sinir sistemi ve böbrek hastalıkları gibi çeşitli durumlarda antienflamatuvar, antioksidan, hücre invazyonunun inhibisyonu aracılığıyla antikanser, MMP-9'un ekspresyonunun redüksiyonu, antiproliferasyon ve antiinvazyon gibi etkileri gösterilmiştir (Rahmani ve ark. 2014, Zhu ve ark. 2016, Wei ve ark. 2017, Al Malki ve ark. 2018, Annamalai ve Suresh 2018, Choi ve ark. 2018, Xu ve ark. 2018, Al-Malki ve Abdel-Raheem 2019). Çalışmalarda, antienflamatuvar etkinliğini NF- κ B yolağını ve TNF- α , IL-1, IL-6, COX-2 ve PGE₂ gibi molekülleri inhibe ederek; antioksidan etkinliği ise NF- κ B ve Nrf-2 ekspresyonlarını modüle ederek ve NO ve iNOS gibi moleküllerinin üretimini inhibe ederek gösterdiği bildirilmiştir (Pan ve ark. 2008, Zhu ve ark. 2016, Han ve ark. 2017, Annamalai ve Suresh 2018, Wang ve ark. 2018, Xu ve ark. 2018, Sapkota ve ark. 2019, Zhao ve ark. 2019).

Na ve ark. (2016a) tarafından yapılan bir çalışmada, (6)-shogaol'ün orta serebral arter tıkanıklığı kaynaklı beyin hasarı modelinde oksidatif stres ve enflamasyon üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. (6)-shogaol, 5 ve 20 mg/kg dozlarda sistemik olarak verilmiş, 20 mg/kg doz uygulamasının ROT ve enflamatuvar sitokinleri azaltmada daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, (6)-shogaol'ün sisteinil lökotrien 1 reseptörünü ve MAPK

sinyal proteinlerini inhibe ettiği, dolayısıyla potansiyel bir farmakolojik mekanizma sağladığı ortaya konulmuştur. Santral sinir sistemindeki enflamatuvar süreçler, mikrogial aktivasyonun aracılık ettiği bazı nörodejeneratif hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. Ha ve ark. (2012) 5 ve 20 mg/kg dozda (6)-shogaol'ün BV-2'deki mikroglia aktivasyonu ve primer mikrogial hücre kültürleri üzerindeki etkilerini araştırmış ve 20 mg/kg dozda uygulamanın LPS tarafından indüklenen NO salınımını ve iNOS ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ederek antioksidatif etki; PGE₂, IL-1 β ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin ve COX-2, MAPK ve NF- κ B gibi moleküllerin ekspresyonlarını inhibe ederek ise antienflamatuvar etkisini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, (6)-shogaol'ün, nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için etkili bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu veriler göz önünde bulundurularak, literatürde antienflamatuvar ve antioksidan etkinliğinin saptandığı ideal doz bulunmadığından mevcut çalışmalar arasında çalışmamız için en uygun olacağı düşünülen 20 mg/kg/gün dozdaki (6)-shogaol, DMSO solüsyonunda çözüldükten sonra, profilaksi ve terapötik gruplarına 14 gün boyunca her sıçanın ağırlığına uygun olacak şekilde ayarlanıp oral gavaj yoluyla verildi.

Balci Yuce ve ark. (2014) 14 gün boyunca ligatürle periodontitis oluşturdukları diabetik sıçanlara sistemik olarak borik asit uygulamışlardır. Alveoler kemik kaybı ve total antioksidan seviyeleri araştırılmıştır. 15. günde sakrifiye edilen sıçanlardan elde edilen histopatolojik analizler sonucunda borik asitin alveoler kemik kaybını azaltabileceğini belirtmişlerdir. Hamzah ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada ise, sıçanlarda 14 gün süreyle ligatürle periodontitis modeli oluşturup 14 gün boyunca da sistemik olarak gelam balı ile desteklemişler ve sonuç olarak, osteoklast aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir. Buna göre, bu çalışmada (6)-shogaol, profilaksi grubunda deneysel periodontitisin indüklendiği 14 gün boyunca eş zamanlı; terapötik grupta ise ligatür çıkartıldıktan sonra 14 gün boyunca sistemik olarak verildi.

Deneysel periodontitis oluşturulurken ligatürlerin yerleştirilmesi, plak akümüasyonu ve mikroorganizmaların kolonizasyonuna izin vermesi, mekanik travmaya neden olması ve doğal plak oluşumuna benzemesi gibi nedenlerle en sık kullanılan yöntemdir (Di Paola ve ark. 2005, Kantarci ve ark. 2015). Dişi hayvanların hormon döngüsü nedeniyle gen

ekspresyonu ve genomdaki değişiklikler gibi fenotipler üzerinde güçlü etkileri olabileceği nedeniyle deneysel çalışmalarda erkek hayvanlar daha sık kullanılmaktadır (Kubarek ve ark. 2009, Schwarz ve ark. 2010, Nugent ve ark. 2011). Kuhr ve ark. (2004) sıçanların üst 2. azı dişlerinin etrafına ligatür bağlayıp; 1, 15, 30 ve 60. günlerde sakrifiye etmişlerdir. Alınan kemik doku örnekleri incelendiğinde ilk günden 15. güne kadar kemik rezorpsiyon miktarının en fazla olduğu; 30. ve 60. günlerde ise kemikte hafif bir rezopsiyon artışı varlığını raporlamışlardır. Deneysel model oluşturulurken, çalışmamızda erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Deneysel periodontitisin indüklenmesi, literatüre uyumlu şekilde alt sol 1. molar dişler etrafına ligatür bağlayarak 14 gün süreyle gerçekleştirildi (Kuhr ve ark. 2004, Endo ve ark. 2013, Balci Yuce ve ark. 2014, Hamzah ve ark. 2014, Tunali ve ark. 2014).

Çalışmamızda, deneysel periodontitis modeli oluşturulan sıçanlarda sistemik olarak (6)-shogaol uygulamasının antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Bu alışma, diş hekimliği alanında, (6)-shogaol uygulamasının periodontitis oluşturulan sıçanlarda periodontal kayıp üzerine profilaktik ve terapötik etkisini değerlendiren ilk araştırmadır.

Sıçanlarda periodontitis modeli oluşturulan Hamzah ve ark. (2014)'ın yaptıkları çalışmada, periodontitis indüksiyonu süresince sıçanlara sistemik olarak gelam balı uygulanmış ve gelam balının osteoklast aktivitesini azalttığı ancak histomorfometrik ölçümlerde görülen alveoler kemik seviyesini azaltmada etkili olmadığı ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda, MSS-AKT arası mesafe ölçüm analizlerinde, periodontitis, profilaksi ve terapötik gruplarının sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı daha fazla MSS-AKT arası mesafe görüldü (tüm karşılaştırmalar için $p < 0.001$). MSS-AKT arası mesafe, periodontitis grubunda terapötik gruptan istatistiksel olarak anlamlı az bulundu ($p > 0.005$). Bu anlamlı farkın tedavi grubunda olmasının, (6)-shogaol'n OPG zerindeki olumlu etkilerinden kaynaklandığı sonucuna varılabilir. 14 gün periodontitis indüklenmesi ardından, ligatürün çıkarılması ile mekanik travma ve plak tutulumu ortadan kaldırılmış

olup, (6)-shogaol'ün sistemik takviyesi ile RANKL ekspresyonu inhibe edilmiş ve OPG ekspresyonu artmıştır. Bu durum kemik formasyonundaki bu olumlu değişimi açıklamaktadır. Aksine, periodontitis grubu ile profilaksi grubu karşılaştırıldığında MSS-AKT arası mesafe daha fazla bulundu ancak bulgularımız istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun sebebi olarak ise, ligatürün ağız içerisinde bulunması ve (6)-shogaol'ün sistemik takviyesine rağmen enflamatuvar durumun halen devam etmesi şeklinde açıklanabilir.

Sezer ve ark. (2012)'nin deneysel periodontitis modelindeki sistemik ginkgo biloba'nın etkisini değerlendirdikleri çalışmada, antiinflamatuvar, antioksidan özellikleri bilinen ginkgo biloba tedavisi ile periodontitis varlığında alveoler kemik seviyesindeki azalmanın anlamlı olarak daha az olduğu ve semikantitatif skorlama ile belirlenen enflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığı bildirilmiştir. Takamori ve ark. (2018) ise, topikal olarak glisirintinik asit (meyan kökü bileşeni) uyguladıkları LPS ile indükledikleri sıçan modellerinde ataçman kaybının, enflamatuvar hücre infiltrasyonunu daha az olduğunu ve dolayısıyla alveoler kemik yıkımının azaldığını raporlamışlardır.

Enflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirildiğinde, sadece periodontitis grubunda '0' skorunu alan örnek bulunmadı. Yapılan semikantitatif skor ortalamalarında en yüksek ortalama periodontitis grubunda görüldü. En düşük ortalama değer ise sağlıklı grupta gözlemlendi. Bulgularımız literatürle uyumludur (Toker ve ark. 2008, Sezer ve ark. 2013, Sağlam ve ar. 2014, Takamori ve ark. 2018).

İmmünohistokimya, tıp biliminin hem klinik hem de deneysel bölümlerinde iyi bilinen, yaygın olarak kabul edilen bir yöntemdir. Histolojik kesitlerde belirteçler için boyanma alanına veya yoğunluğuna bakılmaktadır. Boyanma alanı, kesitlerdeki belirli bir alan içindeki ekspresyon yapan hücre sayısını göstermektedir. Boyanma yoğunluğu ise kesitlerdeki hücrelerin ekspresyon derecesini bildirmektedir. Boyanma alanı ölçümü, bilgisayar yazılımı kullanılarak; boyanan hücreleri tek tek seçerek sayısal değerleri kaydetmesi ile gerçekleştirilmektedir. Boyanma alanı daha kolay bir teknik olması dolayısıyla daha yaygın şekilde kullanılmaktadır (Fedchenko ve Reifenrath 2014). Çalışmamızda

antienflamatuvar ve antioksidan durumların göstergesi olarak değerlendirdiğimiz belirteçlerin analizi boyanma alanları ile değerlendirildi.

Mahyari ve ark. (2016)'nın çalışmasında gingivitisli hastalarda biberiye, aynısefa ve zencefil bitkilerinin özlerini ve klorheksidin içeren gargaranın karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın bulguları, biberiye, aynısefa ve zencefil bitkilerinin özlerini içeren gargara kullanımı ile enflamasyon, kanama ve plak skorlarının azaldığını ve gingivitisin belirgin şekilde iyileştirebileceğini göstermektedir. Enflamasyondaki azalmanın, biberiye, aynısefa ve zencefil bitkilerin özlerinin antienflamatuvar etkilerine bağlı olabileceği belirtilmiştir. Bitki özlerini içeren gargaranın, standart bir ilaç olarak klorheksidin gargaraya yanıt vermeyen veya klorheksidin gargaraya duyarlı olan bireyler için doğal ve güvenli bir alternatif olarak kullanılabilmesi ancak uzun vadeli araştırmalarla klinik kanıtlar gerekli olduğu raporlanmıştır. Park ve ark. (2008)'nin çalışmasında zencefilin aktif bileşenlerinden olan gingerolün etanol ve n-heksan bileşenlerinin periodontitiste *P. gingivalis* ATCC 53978, *Porphyromonas endodontalis* ATCC 35406 ve *P. intermedia* ATCC 25611 üzerindeki antibakteriyel etkileri değerlendirilmiştir. (10)-gingerol ve (12)-gingerol bileşenlerinin minimal inhibitör konsantrasyon olan 6–30 µg/mL aralığında bu bakterilerin büyümesini inhibe ettiği ve minimal bakterisidal konsantrasyon olan 4–20 µg/mL aralığında ise bakterileri öldürdüğü bildirilmiştir. Kanth ve ark. (2016) çekilmiş dişlerden elde ettikleri çürük örneklerinde mikroorganizmaları tespit etmiş ve çeşitli bitki özlerinin (zencefil, sarımsak, zencefil-sarımsak karışımı, zerdaçal, nim bitkisi, çay ağacı yağı, tarçın yağı, tarçın yağı, okaliptüs yağı ve yeşil çay) antibakteriyel etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bulgular, en büyük inhibisyon bölgesinin karanfil yağı (30mm) ve daha sonra zencefil-sarımsak karışımında (25mm) görüldüğünü, en küçük inhibisyon bölgesinin ise okaliptüs yağında görüldüğünü göstermiştir. Arabacı ve ark. (2015) deneysel periodontitis modeli oluşturdukları çalışmalarında antienflamatuvar olduğu bilinen melatonin ile tedavi edilen grupta RANKL ve MPO seviyesinin ve osteoklast aktivitesinin anlamlı derecede azaldığını raporlamışlardır. Deneysel model oluşturulan sıçanlara melatoninin sistemik olarak verildiği bir başka çalışmada ise, melatoninin proenflamatuvar sitokin üretimini

baskılayarak RANKL/OPG sinyalini etkili bir şekilde normalize ettiği gösterilmiştir (Renn ve ark. 2018). Endo ve ark. (2013)'nin çalışmasında, ligatürle oluşturulan periodontitis sıçan modellerine profilaktik tedavi amacıyla topikal trehaloz uygulaması yapılmış ve trehaloz uygulamasının RANKL indükleyici yolağın inaktive edilmesi ile osteoklast farklılaşmasını baskılayabileceği belirtilmiştir. Antioksidan ve antienflamatuvar özelliği bilinen sumak ekstraktının sistemik profilaktik olarak uygulanmasıyla, sıçanlarda periodontal hastalıkta sumağın, RANKL/OPG oranını ve oksidatif stresi azaltarak alveoler kemik kaybını azaltabileceği gösterilmiştir (Saglam ve ark. 2015). Li ve ark. (2016), antienflamatuvar, antioksidan, antitümör gibi etkilere sahip olan herbacetinin (arı sütü) LPS ile indüklenen kemik yıkımında *in vivo* ve *in vitro* etkilerini incelemişlerdir. Herbacetinin, NF- κ B'nin RANKL aracılı aktivasyonunu bloke ederek osteoklast oluşumunu anlamlı şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Xiao ve ark. (2018)'nin sıçanlara kurkumin (zerdeçal) uyguladıkları çalışmada, kurkuminin *in vitro* olarak sıçan fibroblastları üzerindeki LPS kaynaklı enflamatuvar durumu ve *in vivo* olarak ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modeli üzerindeki koruyucu etkisini incelemişlerdir. Kurkuminin, LPS tarafından uyarılan sıçan dişeti fibroblastlarında IL-1 β ve TNF- α üretimini ve OPG/sRANKL oranını azalttığı ve NF- κ B aktivasyonu inhibe ettiği; *in vivo* modelde ise dişeti iltihabını, kollajen lif ve alveoler kemik kaybını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Kurkuminin, sıçan periodontitis modelinde NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederek ve LPS tarafından indüklenen OPG/sRANKL oranını azaltarak enflamatuvar aktiviteyi modüle ettiği belirtilmiştir. De Araújo Júnior ve ark. (2013)'nin çalışmasında ise, antienflamatuvar ve antioksidan özelliğe sahip atorvastatinin koruyucu amaçla sistemik olarak verilmesi ile etkileri değerlendirilmiş ve periodontitis grubuna kıyasla tedavi grubunda MPO aktivitesinde ve MDA, IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde anlamlı azalma gözlenmiştir. Ayrıca, MMP-2, MMP-9, COX-2 ekspresyonları ve RANKL/RANK oranında azalma ve OPG ekspresyonunda artma tespit edilmiştir. Araújo ve ark. (2013)'nin deneysel periodontitis modelindeki çalışmasında koruyucu amaçla verilen telmisartanın etkileri araştırılmıştır. Telmisartanın, MPO, MDA, IL-1 β ve TNF- α konsantrasyonlarını; MMP-2, MMP-9, RANK, RANKL ve COX-2 ekspresyonlarını azalttığı ve OPG ekspresyonunu arttırdığı raporlanmıştır. Sigara

dumanına maruz kalan sıçanlarda deneysel periodontitisin oluşturulduğu Ribeiro ve ark. (2017)'nin çalışmasında ise, resveratrol uygulanmasının periodontitis bölgelerinde IL-4, Th17/Th2 ve RANKL'in modülasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Yoshinaga ve ark. (2014)'ın yeşil çay ile yaptıkları çalışmalarında, LPS ile oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde, yeşil çayın ataçman kaybı, alveoler kemik seviyesi, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve RANKL ekspresyonunu anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir. Paterniti ve ark. (2010) yaptıkları çalışmalarında, *Hypericum perforatum*'un sitokinlerin üretimini, NF-κB ve iNOS'un ekspresyonu gibi enflamasyonla ilişkili belirteçlerin azalmasına yol açtığını göstermişlerdir. Plumbagin (döven otu) ile yapılan deneysel periodontitis üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada ise, TNF-α, IL-1β ve IL-6'nın ekspresyonlarını azaltarak ve MAPK, NF-κB ve JAK/STAT sinyal yollarını inhibe ederek periodontal enflamasyonun ilerlemesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Zheng ve ark. 2017).

Çalışmamızda, RANKL seviyeleri, periodontitis grubunda sağlıklı ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.001$; $p<0.001$, sırasıyla). Sağlıklı gruba göre olan bu artış literatürle uyumludur (Jin ve ark. 2007, Belibasakis ve Bostanci 2012, Chen ve ark. 2014, Li ve ark. 2016). Terapötik grupta ligatürün çıkarılmasını takiben (6)-shogaol uygulanması ile RANKL seviyesi anlamlı derece azalmış, antienflamatuvar etki gözlenmiştir. Diğer yandan periodontitis grubu ile profilaksi grubu kıyaslandığında, profilaksi grubundaki RANKL seviyesi daha düşüktü ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bunun sebebi olarak profilaksi grubunda periodontitis indüklenmesinin aktif olarak devam etmesi ve enflamasyonun tam çözülmemesi şeklinde açıklanabilir.

Gruplar arasında OPG seviyeleri değerlendirildiğinde, sağlıklı grupta periodontitis grubuna kıyasla daha yüksek seviyede OPG tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1.000$). Yapılan çalışmalarda enflame dokularda OPG ve RANKL ekspresyonlarının ikisinin de arttığı gösterilmiştir (Garlet ve ark. 2004, Jin ve ark. 2007). Bu sebeple OPG seviyesi sağlıklı grup ve periodontitis grubu arasında anlamlı bulunmamış olabilir. OPG seviyesi, profilaksi grubunda periodontitis grubuna göre; terapötik grupta periodontitis grubuna göre ve terapötik grupta sağlıklı gruba göre

istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.002$; $p<0.001$; $p=0.049$, sırasıyla). Bulgularımız (6)-shogaol'ün antienflamatuvar etkilerini desteklemektedir.

RANKL/OPG oranı, periodontitis grubunda sağlıklı, profilaksi ve terapötik gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.005$; $p=0.006$; $p=0.005$, sırasıyla) Ayrıca profilaksi ve terapötik grupları kıyaslandığında, profilaksi grubunda RANKL/OPG oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.011$). (6)-Shogaol'ün antienflamatuvar etkisi düşünüldüğünde, terapötik grupta ligatür çıkartıldıktan sonra RANKL/OPG oranının düşmesi beklenen bir sonuçtur. Ligatürün çıkarılması ile mekanik travma ve plak tutulumu ortadan kaldırılmış olup enflamasyonun, RANKL ekspresyonunu inhibisyonu ve OPG ekspresyonunun artması şeklinde açıklanabilir. Bulgularımız diğer yapılan bitki çalışmalarıyla uyumludur (Sağlam ve ark. 2014, Xiao ve ark. 2018)

NF- κ B seviyesi, periodontitis grubunda, sağlıklı, profilaksi ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.001$; $p=0.017$; $p=0.023$, sırasıyla). Bu bulgular (6)-shogaol'ün antienflamatuvar etkisini desteklemektedir. Çalışmamızda, NF- κ B seviyesinin, RANKL/OPG oranıyla paralel olduğu görülmüştür ve literatürle uyumludur (Paterniti ve ark. 2010, Xiao ve ark. 2018).

Özdem ve ark. (2017) deneysel periodontitis modelinde yaptıkları çalışmada, melatoninin intraperitoneal uygulanması ile kalp dokusunda MDA seviyesinde azalma ve GP seviyesinde artma tespit edilmiştir. Lima ve ark. (2017) ligatürle periodontitis indüklenen sıçanlarda *Calendula officinalis*'in antioksidan ve antienflamatuvar etkilerini incelemiş ve periodontitisin, SOD, KAT ve glutasyonu düşürdüğünü ve MDA'yı arttırdığını ancak *Calendula officinalis* takviyesinin bu bulguları tersine çevirdiğini belirtmişlerdir. Teixeira ve ark. (2017)'nin deneysel model üzerinde yaptıkları çalışmada, *Stemodia maritima L.*'nin profilaktik olarak sistemik uygulanması ile tedavi grubunda periodontitis gruba kıyasla SOD, KAT seviyelerinin arttığı; TNF- α , IL-1 β , RANK ve iNOS mRNA ekspresyonlarının azaldığı bildirilmiştir. Yağan ve ark. (2014)'nin çalışmasında, deneysel periodontitis oluşturulmuş sıçanlara oral doksisisiklin verilmiş ve

serum oksidatif durum, gingival antioksidan enzim seviyeleri ve kemik kaybı değerlendirilmiştir. Doksisisiklinin, gingival dokudaki MDA ve antioksidan enzimlerin seviyelerini belirgin şekilde; total oksidan durumu ve oksidatif stres indeks seviyelerini anlamlı derecede düşürdüğü ve total antioksidan durumu arttırdığı bildirilmiştir. Deneysel periodontitis oluşturulan Kocaman ve ark. (2019)'ın çalışmasında, antioksidan etkinliği bilinen safranın tedavi edici özelliği araştırılmış ve deneysel periodontitis oluşturulan grupta, sağlıklı kontrol grubuna göre MDA ve total oksidan durum seviyeleri ve SOD ve KAT aktiviteleri anlamlı olarak artış göstermiştir. Safran tedavisi ile SOD, KAT enzim seviyelerinin ve total antioksidan durumun arttığı ve MDA ve total oksidan durum seviyelerinin de azaldığı gösterilmiştir. Araujo ve ark. (2019)'ın ligatürle periodontitis modeli oluşturdukları çalışmasında, gliklazidin uygulamasının oksidatif stres, enflamasyon ve kemik kaybı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sıçanlarda 1 mg/kg dozda gliklazidin kullanımının, LPO ürünlerinin oluşumunu, IL-1, TNF- α ve RANKL seviyelerini azalttığı belirtilmiştir. Deneysel periodontitis modelinde yapılan bir başka çalışmada, metformin ile tedavinin RANK, RANKL, katepsin, COX-2, MMP-9 ve SOD-1 seviyelerinde azalmaya sebep olduğu ve OPG ve GP seviyelerinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca AMPK ekspresyonunda artma ve NF- κ B (p65) ve HMGB1 ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir (Araujo ve ark. 2017). Deneysel periodontitis modelinde, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bilinen resveratrolün etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, resveratrolün, enflamasyonla ilgili proteinlerin üretimini, osteoklastların oluşumunu ve dolaşımdaki ROT üretimini azaltarak, inflamatuvar yanıtı inhibe ederek ve antioksidan savunma sistemlerini uyararak periodontitise bağlı doku hasarından koruduğu belirtilmiştir (Bhattarai ve ark. 2016). Aynı araştırmacıların 2017 yılında sıçanlarda periodontitis modelinde yaptıkları çalışmasında ise, genisteinin otofaji indüksiyonunu düzenleyerek ve osteoklast aktivasyonunu, enflamasyon belirteçlerinin üretimini ve mitokondriyal oksidatif hasarı inhibe ederek inflamatuvar periodontal hasara karşı koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca genistein tedavisinin, hücrelerde RANKL ile uyarılan tartrata dirençli asit fosfataz aktivasyonunda konsantrasyona bağlı bir inhibisyon bildirmişlerdir (Bhattarai ve ark. 2017). Maruyama ve ark. (2011)'nın yeşil çayın etkilerini değerlendirdikleri çalışmasında, heksanoil lizin

(LPO belirteci), nitrotirosin (ROT'un protein hasarı belirteci) ve TNF- α ekspresyon seviyeleri ve NF- κ B pozitif gingival hücre sayısını azalttığını raporlanmıştır. Hatipoğlu ve ark. (2015), deneysel periodontitis oluşturdukları sıçanlarda hawthorn (alıç) (*Crataegus orientalis M Bieber.*) özünün antioksidan ve antenflamatuvar etkilerini incelemişlerdir. Alıç özü, sistemik olarak kullanıldığında sıçanlarda periodontal hastalıkta total antioksidan durum, total oksidan durum ve oksidatif stres indeksi seviyelerini düzenleyerek periodontal enflamasyon ve alveoler kemik kaybı üzerinde inhibe edici etki gösterdiği bildirilmiştir. Ku ve ark. (2011), ligatürle oluşturulmuş deneysel periodontitis modelinde kalsiyum glukonatın alveoler kemik kaybı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Ligatürlerin yerleştirilmesi, vücut ağırlığının azalmasına, alveoler kemik kaybının, MPO, IL-1 β , TNF- α ve MDA konsantrasyonlarının yanı sıra iNOS aktivitesinin artmasına, gingival dokuda artmış enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kollajen lif içeriğinin azalmasına neden olmuştur. Histopatolojik olarak, alveoler kemik hacminde azalma, osteoklast hücre sayı ve aktivitesinde artış ve alveoler kemik yüzeyinde yüksek oranda osteoklast olduğu ortaya koyulmuştur. Bu bulgular, 250 ve 125 mg/kg kalsiyum glukonat ile 10 günlük oral tedavi ile önemli ölçüde ve doza bağlı olarak inhibe edilmiştir. Sonuçlar, kalsiyum glukonat ile 10 günlük oral tedavinin, ligatür ile indüklenen periodontitisi ve buna bağlı alveoler kemik kaybını antioksidan etkinliği ile inhibe ettiğini göstermektedir. Deneysel model oluşturulmuş başka bir çalışmada ise, kakao ile zenginleştirilmiş diyet uygulanan sıçanlarda, 4 hafta uygulama ile ROT'un DNA hasar ürünü olan 8-OHdG seviyesinin düştüğü ve periodontal lezyonlarda glutasyon/okside glutasyon oranının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca alveoler kemik kaybı ve PMNL infiltrasyonu inhibe edilmiştir. Kakao ile zenginleştirilmiş diyetin, periodontitise bağlı oksidatif stresi azaltabileceği ve periodontitisin ilerlemesini önleyebileceği belirtilmiştir (Tomofuji ve ark. 2009).

Çalışmamızın sonuçlarına göre, MDA seviyesi periodontitis grubunda sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p=0.004$). SOD seviyesi, sağlıklı grupta periodontitis grubu kıyaslandığında yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. GP seviyesi, sağlıklı grupta periodontitis grubuna göre düşük bulundu ancak bu

fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmalarda, oksidatif stres esnasında, artan ROT üretimine bağlı olarak azalan, değişmeyen veya artan antioksidan enzim seviyeleri bildirilmiştir (Chapple 1997, Ellis ve ark. 1998, Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska 2000, Brock ve ark. 2004, Akalin ve ark. 2005, Celec ve ark. 2005, Panjamurthy ve ark. 2005, Tsai ve ark. 2005, Borges ve ark. 2007, Chapple ve Matthews 2007, Khalili ve Biloklytska 2008, Wei ve ark. 2010, Trivedi ve ark. 2014, Oktay ve ark. 2015). Sonuçlarımız literatürle uyumludur.

MDA seviyeleri, sağlıklı grupta, profilaksi grubu ve terapötik gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.012$; $p=0.017$, sırasıyla). Profilaksi ve terapötik gruplarda sağlıklı gruba göre yüksek seviyede MDA içermesi sıçanlarda oluşan psikolojik stres nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Sıçanlara her gün aynı saatte oral gavaj yapılması ve bu süre boyunca sabit hareketsiz bırakılması ve muhtemelen gavaj esnasında boğazlarının tahriş olması gibi sebeplerle stres altında bulunmaları ve dolayısıyla oksidatif stresin artması şeklinde açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda stresin, oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir (Herron ve ark. 2018, Hwang ve ark. 2019, Magnoni ve ark. 2019, Salehpour ve ark. 2019, Siddiqui ve ark. 2019, Zekas ve ark. 2019). Periodontitis grubunda ise, profilaksi grubu ve terapötik gruba göre daha yüksek MDA seviyesi saptandı ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=1.000$; $p=1.000$, sırasıyla). Bu farkın anlamlı olmaması aynı şekilde psikolojik stresle ilgili olabilir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre SOD seviyesi, profilaksi ve terapötik gruplarında periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.039$; $p=0.042$, sırasıyla). Bu sonuçlar antioksidan olarak verdiğimiz (6)-shogaol'un etkinliği ile açıklanabilir (Ellis ve ark. 1998, Baltacioglu ve ark. 2006). GP seviyesi, profilaksi ve terapötik gruplarında sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.031$; $p=0.002$, sırasıyla). Periodontitis grubu, profilaksi ve terapötik gruplarıyla karşılaştırıldığında GP seviyeleri düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Periodontitis grubunda yükselen ROT'a bağlı olarak oluşan antioksidan mekanizma nedeniyle artan GP seviyesinin, profilaksi ve terapötik gruplarıyla olan farklılığın anlamlı

olmamasını açıklayabilir (Panjamurthy ve ark. 2005, Tsai ve ark. 2005, Borges ve ark. 2007, Wei ve ark. 2010, Patel ve ark. 2012).

Çalışmamızın limitasyonları:

- Mevcut literatür değerlendirildiğinde, çalışmamız deneysel periodontitis modelinde (6)-shogaol'ün antienflamatuvar ve antioksidan etkilerinin değerlendirildiği ilk çalışma olduğu için çalışmamızın sonuçlarını karşılaştırmamız mümkün olmadı.
- Alveoler kemik kaybı, histomorfometrik olarak sadece iki boyutlu olarak değerlendirildi.
- Hayvan modellerinden elde edilen sonuçların insanlar için yorumlanmasında farklılıklar olabilir.

5. SONUÇ

Deneyisel periodontitis modelinde sistemik olarak profilaktik ve terapötik şekilde uygulanan (6)-shogaol'ün etkilerinin histopatolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal incelendiği bu çalışmada;

- Ligatür uygulanarak deneyisel periodontitis oluşturulan gruplarda histomorfometrik analizlerde alveoler kemik kaybının sağlıklı gruba göre artmış olduğu gözlemlendi.

- Periodontitis grubunda RANKL/OPG oranının, RANKL, NF- κ B ve MDA seviyelerinin sağlıklı gruba göre artmış olduğu görüldü. Bu bulgu kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin olağan seyri olarak değerlendirildi.

- Profilaksi ve terapötik gruplarında SOD ve GP seviyelerinin anlamlı artışı (6)-shogaol'ün antioksidan etkinliğini desteklemektedir.

- Profilaksi ve terapötik gruplarında MDA seviyelerinin yüksek olması psikolojik strese bağlanabilir.

- Profilaksi ve terapötik gruplarında OPG seviyelerinin artışı, RANKL/OPG oranları ve NF- κ B seviyelerinin azalması ise (6)-shogaol'ün antiinflamatuvar etkinliğini desteklemektedir.

(6)-Shogaol'ün farklı dozlarda kullanımı, minimal etkili dozun saptanması ve *in vivo* modellerde araştırılması için gelecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- ABIKO Y, SATO T, MAYANAGI G, TAKAHASHI N. (2010) Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using quantitative real-time PCR. *J Periodontal Res*, 45,389-395.
- ABOLAJI AO, OJO M, AFOLABI TT ve ark. (2017) Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chem Biol Interact*, 270,15-23.
- AGGARWAL BB, SHISHODIA S. (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol*, 71,1397-1421.
- AJMERA N, CHATTERJEE A, GOYAL V. (2013) *Aloe vera*: It's effect on gingivitis. *J Indian Soc Periodontol*, 17,435-438.
- AKALIN FA, TOKLU E, RENDA N. (2005) Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol*, 32,238-243.
- AKALIN FA, BALTACIOGLU E, ALVER A, KARABULUT E. (2007) Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 34,558-565.
- AKIRA S, HIRANO T, TAGA T, KISHIMOTO T. (1990) Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). *Faseb J*, 4,2860-2867.
- AL-MALKI WH, ABDEL-RAHEEM IT. (2019) Cardioprotective effect of 6-shogaol against hyperglycemia-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes via suppressing of NF-kappaB pathway. *Pak J Pharm Sci*, 32,327-331.
- AL MALKI WH, ABDEL-RAHEEM IT, DAWOUD MZ, ABDOU RF. (2018) 6-shogaol protects against diabetic nephropathy and cardiomyopathy via modulation of oxidative stress/NF-kappaB pathway. *Pak J Pharm Sci*, 31,2109-2117.

- ALMATROUDI A, ALSAHLI MA, ALRUMAIHI F, ALLEMAILEM KS, RAHMANI AH. (2019) Ginger: A Novel Strategy to Battle Cancer through Modulating Cell Signalling Pathways: A Review. *Curr Pharm Biotechnol*, 20,5-16.
- AMANO H, HOFSTETTER W, CECCHINI MG, FLEISCH H, FELIX R. (1995) Downregulation of colony-stimulating factor-1 (CSF-1) binding by CSF-1 in isolated osteoclasts. *Calcif Tissue Int*, 57,367-370.
- AMES BN, SHIGENAGA MK, HAGEN TM. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci of USA*, 90,7915-7922.
- ANITHA V, RAJESH P, SHANMUGAM M ve ark. (2015) Comparative evaluation of natural curcumin and synthetic chlorhexidine in the management of chronic periodontitis as a local drug delivery: a clinical and microbiological study. *Indian J Dent Res*, 26,53-56.
- ANNAMALAI G, SURESH K. (2018) (6)-Shogaol attenuates inflammation, cell proliferation via modulate NF-kappaB and AP-1 oncogenic signaling in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced oral carcinogenesis. *Biomed Pharmacother*, 98,484-490.
- ANSARI MN, BHANDARI U, PILLAI KK. (2006) Ethanolic *Zingiber officinale R.* extract pretreatment alleviates isoproterenol-induced oxidative myocardial necrosis in rats. *Indian J Exp Biol*, 44,892-897.
- ARABACI T, KERMEN E, OZKANLAR S ve ark. (2015) Therapeutic effects of melatonin on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*, 86,874-881.
- ARAL CA, KESIM S, GREENWELL H ve ark. (2015) Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food*, 18,195-201.
- ARAÚJO A, BATISTA DE MORAIS H, ADISSON CARVALHO XAVIER DE MEDEIROS C ve ark. (2019) Gliclazide reduced oxidative stress, inflammation, and bone loss in an experimental periodontal disease model. *J Appl Oral Sci*, 27:e20180211.

- ARAUJO AA, SOUZA TO, MOURA LM ve ark. (2013) Effect of telmisartan on levels of IL-1, TNF-alpha, down-regulated COX-2, MMP-2, MMP-9 and RANKL/RANK in an experimental periodontitis model. *J Clin Periodontol*, 40,1104-1111.
- ARAUJO AA, PEREIRA A, MEDEIROS C ve ark. (2017) Effects of metformin on inflammation, oxidative stress, and bone loss in a rat model of periodontitis. *PLoS One*, 12,e0183506.
- ARUL J, PARAMESWARI C, VINCENT SD. (2016) Antidiabetic, hypolipidemic, and histopathological analysis of zingerone in streptozotocin-induced diabetic rats. *IJPSR*, 9.
- ASAMI A, SHIMADA T, MIZUHARA Y ve ark. (2010) Pharmacokinetics of (6)-shogaol, a pungent ingredient of *Zingiber officinale Roscoe* (Part I). *J Nat Med*, 64,281-287.
- ASHOURI MOGHADDAM A, RADAFSHAR G, JAHANDIDEH Y, KAKAEI N. (2017) Clinical evaluation of effects of local application of *Aloe vera* gel as an adjunct to scaling and root planning in patients with chronic periodontitis. *J Dent (Shiraz)*, 18,165-172.
- ÅSMAN B. (1988) Peripheral PMN cells in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol*, 15,360-364.
- ASSUMA R, OATES T, COCHRAN D, AMAR S, GRAVES DT. (1998) IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol*, 160,403-409.
- B KIMBLE R, MATAYOSHI AB, L VANNICE J ve ark. (1995) Simultaneous block of interleukin-1 and tumor necrosis factor is required to completely prevent bone loss in the early postovariectomy period. *Endocrinology*, s:3054-3061.
- BABBS CF, STEINER MG. (1990) Simulation of free radical reactions in biology and medicine: a new two-compartment kinetic model of intracellular lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*, 8,471-485.

- BAJAJ N, TANDON S. (2011) The effect of Triphala and Chlorhexidine mouthwash on dental plaque, gingival inflammation, and microbial growth. *Int J Ayurveda Res*, 2,29-36.
- BALAJI A, CHANDRASEKARAN SC, SUBRAMANIAM D, FERNZ AB. (2017) Salivary interleukin-6 - A pioneering marker for correlating diabetes and chronic periodontitis: A comparative study. *Indian J Dent Res*, 28,133-137.
- BALCI YUCE H, TOKER H, GOZE F. (2014) The histopathological and morphometric investigation of the effects of systemically administered boric acid on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in diabetic rats. *Acta Odontol Scand*, 72,729-736.
- BALTACIOGLU E, AKALIN FA, ALVER A ve ark. (2006) Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in post-menopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 33,385-392.
- BALTACIOGLU E, YUVA P, AYDIN G ve ark. (2014) Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol*, 85,1432-1441.
- BARTOLD PM, WIEBKIN OW, THONARD JC. (1984) The effect of oxygen-derived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid. *J Periodontal Res*, 19,390-400.
- BARTOLD PM, CANTLEY MD, HAYNES DR. (2010) Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000*, 53,55-69.
- BASCONES-MARTINEZ A, FIGUERO-RUIZ E. (2004) Periodontal diseases as bacterial infection. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 9 Suppl,101-107; 192-100.
- BASTOS AS, LOUREIRO AP, DE OLIVEIRA TF ve ark. (2012) Quantitation of malondialdehyde in gingival crevicular fluid by a high-performance liquid chromatography-based method. *Anal Biochem*, 423,141-146.

- BATTINO M, BULLON P, WILSON M, NEWMAN H. (1999) Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med*, 10,458-476.
- BATTISTONI A, FOLCARELLI S, GABBIANELLI R, CAPO C, ROTILIO G. (1996) The Cu,Zn superoxide dismutase from *Escherichia coli* retains monomeric structure at high protein concentration. Evidence for altered subunit interaction in all the bacteriocupreins. *Biochem J*, 320 (Pt 3),713-716.
- BAX BE, ALAM AS, BANERJI B ve ark. (1992) Stimulation of osteoclastic bone resorption by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun*, 183,1153-1158.
- BECK JD. (1994) Methods of assessing risk for periodontitis and developing multifactorial models. *J Periodontol*, 65,468-478.
- BEERY AK, ZUCKER I. (2011) Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev*, 35,565-572.
- BEHAL R, MALI AM, GILDA SS, PARADKAR AR. (2011) Evaluation of local drug-delivery system containing 2% whole turmeric gel used as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis: A clinical and microbiological study. *J Indian Soc Periodontol*, 15,35-38.
- BELIBASAKIS GN, BOSTANCI N. (2012) The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*, 39,239-248.
- BELIBASAKIS GN, MEIER A, GUGGENHEIM B, BOSTANCI N. (2011) The RANKL-OPG system is differentially regulated by supragingival and subgingival biofilm supernatants. *Cytokine*, 55,98-103.
- BERGLUNDH T, DONATI M. (2005) Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6,87-107.
- BEYAERT R, FIERS W. (1998) Tumor Necrosis Factor and Lymphotoxin. p: 335-360.
- BHAMRE S, NUZZO RL, WHITIN JC, OLSHEN RA, COHEN HJ. (2000) Intracellular reduction of selenite into glutathione peroxidase. Evidence for involvement of NADPH and not glutathione as the reductant. *Mol Cell Biochem*, 211,9-17.
- BHAT G, KUDVA P, DODWAD V. (2011) *Aloe vera*: Nature's soothing healer to periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*, 15,205-209.

- BHATTARAI G, POUDEL SB, KOOK SH, LEE JC. (2016) Resveratrol prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis. *Acta Biomater*, 29,398-408.
- BHATTARAI G, POUDEL SB, KOOK SH, LEE JC. (2017) Anti-inflammatory, anti-osteoclastic, and antioxidant activities of genistein protect against alveolar bone loss and periodontal tissue degradation in a mouse model of periodontitis. *J Biomed Mater Res A*, 105,2510-2521.
- BHATTARAI S, TRAN VH, DUKE CC. (2001) The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. *J Pharm Sci*, 90,1658-1664.
- BJORNSSON TD, CALLAGHAN JT, EINOLF HJ ve ark. (2003) The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: A PhRMA Perspective. *Drug Metab Dispos*, 43,443-469.
- BOESING F, PATINO JS, DA SILVA VR, MOREIRA EA. (2009) The interface between obesity and periodontitis with emphasis on oxidative stress and inflammatory response. *Obes Rev*, 10,290-297.
- BORGES I, JR., MOREIRA EA, FILHO DW ve ark. (2007) Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm*, 45794.
- BOSCA AB, MICLAUS V, ILEA A ve ark. (2016) Role of nitro-oxidative stress in the pathogenesis of experimental rat periodontitis. *Clujul Med*, 89,150-159.
- BOSTANCI N, ILGENLI T, EMINGIL G ve ark. (2007) Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*, 34,370-376.
- BOTELHO MA, MARTINS JG, RUELA RS ve ark. (2009) Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: a tapping mode AFM study. *Phytother Res*, 23,1439-1448.
- BOYCE BF, XING L. (2007) Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*, 9 Suppl 1,S1.
- BOYCE BF, XING L, CHEN D. (2005) Osteoprotegerin, the bone protector, is a surprising target for beta-catenin signaling. *Cell Metab*, 2,344-345.

- BOYLE WJ, SIMONET WS, LACEY DL. (2003) Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423,337-342.
- BRANDTZAEG P. (1966) Local factors of resistance in the gingival area. *J Periodontal Res*, 1,19-42.
- BREDT DS, SNYDER SH. (1994) Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem*, 63,175-195.
- BREIVIK T, GUNDERSEN Y, OSMUNDTSEN H, FONNUM F, OPSTAD PK. (2006) Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult rats. *J Periodontal Res*, 41,23-32.
- BREIVIK T, OPSTAD PK, ENGSTAD R ve ark. (2005) Soluble beta-1,3/1,6-glucan from yeast inhibits experimental periodontal disease in Wistar rats. *J Clin Periodontol*, 32,347-352.
- BROCK GR, BUTTERWORTH CJ, MATTHEWS JB, CHAPPLE IL. (2004) Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol*, 31,515-521.
- BUÇAY N, SAROSI I, DUNSTAN CR ve ark. (1998) osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*, 12,1260-1268.
- BUDUNELI N, KINANE DF. (2011) Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 38 Suppl 11,85-105.
- BULLON P, NEWMAN HN, BATTINO M. (2014) Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? *Periodontol 2000*, 64,139-153.
- BUSCHFORT C, MULLER MR, SEEGER S, RAJEWSKY MF, THOMALE J. (1997) DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes: functional analysis at the single-cell level. *Cancer Res*, 57,651-658.
- BUTT MS, SULTAN MT. (2011) Ginger and its health claims: molecular aspects. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51,383-393.

- CAETANO-LOPES J, CANHAO H, FONSECA JE. (2009) Osteoimmunology-the hidden immune regulation of bone. *Autoimmun Rev*, 8,250-255.
- CALIGIONI CS. (2009) Assessing reproductive status/stages in mice. *Curr Protoc Neurosci*, Appendix 4,Appendix 4I.
- CALISIR M, AKPINAR A, POYRAZ O, GOZE F, CINAR Z. (2016) The histopathological and morphometric investigation of the effects of systemically administered humic acid on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 51,499-507.
- CALLAWAY DA, JIANG JX. (2015) Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases. *J Bone Miner Metab*, 33,359-370.
- CANAKCI CF, CICEK Y, CANAKCI V. (2005) Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc)*, 70,619-628.
- CANAKCI CF, CICEK Y, YILDIRIM A, SEZER U, CANAKCI V. (2009) Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent*, 3,100-106.
- CAPULLI M, PAONE R, RUCCI N. (2014) Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Arch Biochem Biophys*, 561,3-12.
- CARLSSON J, LARSEN JT, EDLUND MB. (1993) Peptostreptococcus micros has a uniquely high capacity to form hydrogen sulfide from glutathione. *Oral Microbiol Immunol*, 8,42-45.
- CELEC P, HODOSY J, CELECOVA V ve ark. (2005) Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde, their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis Markers*, 21,133-137.
- CHAKRABORTY D, MUKHERJEE A, SIKDAR S ve ark. (2012) (6)-Gingerol isolated from ginger attenuates sodium arsenite induced oxidative stress and plays a corrective role in improving insulin signaling in mice. *Toxicol Lett*, 210,34-43.
- CHAMBERS TJ. (2000) Regulation of the differentiation and function of osteoclasts. *J Pathol*, 192,4-13.

- CHANG KM, RYAN ME, GOLUB LM, RAMAMURTHY NS, MCNAMARA TF. (1996) Local and systemic factors in periodontal disease increase matrix-degrading enzyme activities in rat gingiva: effect of micocycline therapy. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 91,303-318.
- CHAPPLE IL. (1996) Role of free radicals and antioxidants in the pathogenesis of the inflammatory periodontal diseases. *Clin Mol Pathol*, 49,247-255.
- CHAPPLE IL. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol*, 24,287-296.
- CHAPPLE IL. (2006) Oxidative stress, nutrition and neutrogenomics in periodontal health and disease. *Int J Dent Hyg*, 4 Suppl 1,15-21.
- CHAPPLE IL, MATTHEWS JB. (2007) The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, 43,160-232.
- CHAPPLE ILC, BROCK G, EFTIMIADI C, MATTHEWS JB. (2002) Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol*, 55,367-373.
- CHEN B, WU W, SUN W ve ark. (2014) RANKL expression in periodontal disease: where does RANKL come from? *Biomed Res Int*, 731039.
- CHEN H, LV L, SOROKA D ve ark. (2012) Metabolism of (6)-shogaol in mice and in cancer cells. *Drug Metab Dispos*, 40,742-753.
- CHEN M, CAI W, ZHAO S ve ark. (2019) Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 46,608-622.
- CHEN X, WANG Z, DUAN N ve ark. (2018) Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res*, 59,99-107.
- CHENG Q, GAO WM, CAO B ve ark. (2014) Effects of *Ginkgo biloba* extract on periodontal pathogens and its clinical efficacy as adjuvant treatment. *Chin J Integr Med*, 20,729-736.
- CHENG WC, HUANG RY, CHIANG CY ve ark. (2010) Ameliorative effect of quercetin on the destruction caused by experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 45,788-795.

- CHOI JG, KIM SY, JEONG M, OH MS. (2018) Pharmacotherapeutic potential of ginger and its compounds in age-related neurological disorders. *Pharmacol Ther*, 182,56-69.
- CHOPRA A, THOMAS BS, SIVARAMAN K, PRASAD HK, KAMATH SU. (2016) Green tea intake as an adjunct to mechanical periodontal therapy for the management of mild to moderate chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Oral Health Prev Dent*, 14,293-303.
- CIESIELSKI CJ, ANDREAKOS E, FOXWELL BM, FELDMANN M. (2002) TNF α -induced macrophage chemokine secretion is more dependent on NF- κ B expression than lipopolysaccharides-induced macrophage chemokine secretion. *Eur J Immunol*, 32,2037-2045.
- COCHRAN DL. (2008) Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*, 79,1569-1576.
- COSTA LC, FONSECA MAD, PINHEIRO ADR ve ark. (2018) Chronic Periodontitis and RANKL/OPG Ratio in Peri-Implant Mucosae Inflammation. *Braz Dent J*, 29,14-22.
- CROTTI T, SMITH MD, HIRSCH R ve ark. (2003) Receptor activator NF κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res*, 38,380-387.
- D'AIUTO F, NIBALI L, PARKAR M ve ark. (2010) Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*, 89,1241-1246.
- DAHIYA P, KAMAL R, GUPTA R ve ark. (2013) Reactive oxygen species in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, 17,411-416.
- DE ALMEIDA JM, MARQUES BM, NOVAES VCN ve ark. (2019) Influence of adjuvant therapy with green tea extract in the treatment of experimental periodontitis. *Arch Oral Biol*, 102,65-73.
- DE ARAUJO JUNIOR RF, SOUZA TO, DE MOURA LM ve ark. (2013) Atorvastatin decreases bone loss, inflammation and oxidative stress in experimental periodontitis. *PLoS One*, 8,e75322.

- DE HAAN JB, BLADIER C, GRIFFITHS P ve ark. (1998) Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, GPx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J Biol Chem*, 273,22528-22536.
- DEAN RT, FU S, STOCKER R, DAVIES MJ. (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*, 324 (Pt 1),1-18.
- DEL RIO D, STEWART AJ, PELLEGRINI N. (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 15,316-328.
- DEWHIRST FE, STASHENKO P, E MOLE J, TSURUMACHI T. (1985) Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta. *J Immunol*, 2562-2568.
- DI PAOLA R, MAZZON E, ROTONDO F ve ark. (2005) Reduced development of experimental periodontitis by treatment with M40403, a superoxide dismutase mimetic. *Eur J Pharmacol*, 516,151-157.
- DINARELLO CA. (1996) Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*, 87,2095-2147.
- DINARELLO CA. (2000) Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118,503-508.
- DONG Y, HUIHUI Z, LI C. (2015) Piperine inhibit inflammation, alveolar bone loss and collagen fibers breakdown in a rat periodontitis model. *J Periodontal Res*, 50,758-765.
- DROGE W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82,47-95.
- DUGASANI S, PICHKA MR, NADARAJAH VD ve ark. (2010) Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of (6)-gingerol, (8)-gingerol, (10)-gingerol and (6)-shogaol. *J Ethnopharmacol*, 127,515-520.
- DURAK I, KACMAZ M, CIMEN MY ve ark. (2002) The effects of cyclosporine on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in rabbit hepatic tissues. *Transpl Immunol*, 10,255-258.

- EBRAHIMZADEH ATTARI V, MAHLUJI S, ASGHARI JAFARABADI M, OSTADRAHIMI A. (2015) Effects of Supplementation with Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) on Serum Glucose, Lipid Profile and Oxidative Stress in Obese Women: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Pharm Sci*, 21,184-191.
- EKUNI D, YAMAMOTO T, YAMANAKA R, TACHIBANA K, WATANABE T. (2003) Proteases augment the effects of lipopolysaccharide in rat gingiva. *J Periodontal Res*, 38,591-596.
- EKUNI D, TOMOFUJI T, TAMAKI N ve ark. (2008) Mechanical stimulation of gingiva reduces plasma 8-OHdG level in rat periodontitis. *Arch Oral Biol*, 53,324-329.
- EL-SHARAKY AS, NEWAIRY AA, KAMEL MA, EWEDA SM. (2009) Protective effect of ginger extract against bromobenzene-induced hepatotoxicity in male rats. *Food Chem Toxicol*, 47,1584-1590.
- ELAVARASU S, SUTHANTHIRAN T, THANGAVELU A ve ark. (2016) Evaluation of superoxide dismutase levels in local drug delivery system containing 0.2% curcumin strip as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis: A clinical and biochemical study. *J Pharm Bioallied Sci*, 8,48-52.
- ELBIM C, BAILLY S, CHOLLET-MARTIN S, HAKIM J, GOUGEROT-POCIDALO MA. (1994) Differential priming effects of proinflammatory cytokines on human neutrophil oxidative burst in response to bacterial N-formyl peptides. *Infect Immun*, 62,2195-2201.
- ELBURKI MS, MOORE DD, TEREZAKIS NG ve ark. (2017) A novel chemically modified curcumin reduces inflammation-mediated connective tissue breakdown in a rat model of diabetes: periodontal and systemic effects. *J Periodontal Res*, 52,186-200.
- ELLIS SD, TUCCI MA, SERIO FG, JOHNSON RB. (1998) Factors for progression of periodontal diseases. *J Oral Pathol Med*, 27,101-105.
- ENDO Y, TOMOFUJI T, EKUNI D ve ark. (2013) Preventive effects of trehalose on osteoclast differentiation in rat periodontitis model. *J Clin Periodontol*, 40,33-40.

- ESTERBAUER H, GEBICKI J, PUHL H, JURGENS G. (1992) The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med*, 13,341-390.
- EZZAT SM, EZZAT MI, OKBA MM, MENZE ET, ABDEL-NAIM AB. (2018) The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity. *J Ethnopharmacol*, 214,113-123.
- FAIZUDDIN M, BHARATHI SH, ROHINI NV. (2003) Estimation of interleukin-1beta levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res*, 38,111-114.
- FEDCHENKO N, REIFENRATH J. (2014) Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagn Pathol*, 9,221-221.
- FRATELLI M, GOODWIN LO, ØROM UA ve ark. (2005) Gene expression profiling reveals a signaling role of glutathione in redox regulation. *Proc Natl Acad Sci of USA*, 102,13998-14003.
- FRIDOVICH I. (1995) Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 64,97-112.
- FU J, CHEN H, SOROKA DN, WARIN RF, SANG S. (2014) Cysteine-conjugated metabolites of ginger components, shogaols, induce apoptosis through oxidative stress-mediated p53 pathway in human colon cancer cells. *J Agric Food Chem*, 62,4632-4642.
- GAFFEN SL, HAJISHENGALLIS G. (2008) A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res*, 87,817-828.
- GAINET J, CHOLLET-MARTIN S, BRION M ve ark. (1998) Interleukin-8 production by polymorphonuclear neutrophils in patients with rapidly progressive periodontitis: an amplifying loop of polymorphonuclear neutrophil activation. *Lab Invest*, 78,755-762.
- GARLET GP, MARTINS W JR, FONSECA BA, FERREIRA BR, SÍLVA JS. (2004) Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are

- differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 31(8):671-679.
- GARRETT IR, BOYCE BF, OREFFO RO ve ark. (1990) Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 85,632-639.
- GHASEMZADEH A, JAAFAR HZ, RAHMAT A. (2015) Optimization protocol for the extraction of (6)-gingerol and (6)-shogaol from *Zingiber officinale* var. rubrum Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface methodology. *BMC Complement Altern Med*, 15,258.
- GOLUB LM, LEE HM, RYAN ME ve ark. (1998) Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res*, 12,12-26.
- GRAVES DT, FINE D, TENG YT, VAN DYKE TE, HAJISHENGALLIS G. (2008) The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 35,89-105.
- GRAVES DT, DELIMA AJ, ASSUMA R ve ark. (1998) Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 69,1419-1425.
- GRAZIOLI V, SCHIAVO R, CASARI E ve ark. (1998) Antioxidant enzymatic activities and lipid peroxidation in cultured human chondrocytes from vertebral plate cartilage. *FEBS Letters*, 431,149-153.
- GUARNIERI C, ZUCHELLI G, BERNARDI F ve ark. (1991) Enhanced superoxide production with no change of the antioxidant activity in gingival fluid of patients with chronic adult periodontitis. *Free Radic Res Commun*, 15,11-16.
- GULL I, SAEED M, SHAUKAT H ve ark. (2012) Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Ann Clin Microbiol and Antimicrob*, 11,8.
- GUSTAFSSON A, ASMAN B, BERGSTROM K. (1997) Priming response to inflammatory mediators in hyperreactive peripheral neutrophils from adult periodontitis. *Oral Dis*, 3,167-171.

- HA SK, MOON E, JU MS ve ark. (2012) (6)-Shogaol, a ginger product, modulates neuroinflammation: a new approach to neuroprotection. *Neuropharmacology*, 63,211-223.
- HALL TJ, SCHAEUBLIN M, JEKER H, FULLER K, CHAMBERS TJ. (1995) The role of reactive oxygen intermediates in osteoclastic bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun*, 207,280-287.
- HALLIWELL B. (1991) Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*, 91,14-22.
- HALLIWELL B. (2000) Oral inflammation and reactive species: a missed opportunity? *Oral Dis*, 6,136-137.
- HALLIWELL B. (2006) Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, 141,312-322.
- HALLIWELL B. (2007) Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, 35,1147-1150.
- HALLIWELL B, WHITEMAN M. (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*,142,231-255.
- HAMZAH N, AZIZ SA, FAUZI AR ve ark. (2014) Effects of Gelam Honey (*Melaleuca cajuputi*) on Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis. *J Dent Surgery*, 2014,1-8.
- HAN Q, YUAN Q, MENG X ve ark. (2017) (6)-Shogaol attenuates LPS-induced inflammation in BV2 microglia cells by activating PPAR-gamma. *Oncotarget*, 8,42001-42006.
- HASSAN SM, HASSAN AH. (2018) The possibility of using shogaol for treatment of ulcerative colitis. *Iran J Basic Med Sci*, 21,943-949.
- HASSAN SMA, HASSAN AH. (2019) Effect of shogaol on the expression of intestinal stem cell markers in experimentally induced colitis in BALB/c Mice. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 5134156.
- HATIPOGLU M, SAGLAM M, KOSEOGLU S ve ark. (2015) The Effectiveness of *Crataegus orientalis M Bieber*. (Hawthorn) Extract Administration in Preventing

- Alveolar Bone Loss in Rats with Experimental Periodontitis. *PLoS One*, 10,e0128134.
- HE X-G, BERNART MW, LIAN L-Z, LIN L-Z. (1998) High-performance liquid chromatography–electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *J. Chromatogr A*, 796,327-334.
- HEMMERLEIN B, JOHANNIS U, HALBFASS J ve ark. (2004) The balance between MMP-2/-9 and TIMP-1/-2 is shifted towards MMP in renal cell carcinomas and can be further disturbed by hydrogen peroxide. *Int J Oncol*, 1069-1076.
- HENDEK MK, ERDEMIR EO, KISA U, OZCAN G. (2015) Effect of initial periodontal therapy on oxidative stress markers in gingival crevicular fluid, saliva, and serum in smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 86,273-282.
- HERRON CL, COGLIATI KM, DOLAN BP, MUNAKATA A, SCHRECK CB. (2018) Stress up-regulates oxidative burst in juvenile Chinook salmon leukocytes. *Fish Shellfish Immunol*, 80,655-659.
- HIENZ SA, PALIWAL S, IVANOVSKI S. (2015) Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J Immunol Res*, 2015,615486.
- HIRANO T, MATSUDA T, TURNER M ve ark. (1988) Excessive production of interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*, 18,1797-1801.
- HITOMI S, UJIHARA I, ONO K. (2019) Pain mechanism of oral ulcerative mucositis and the therapeutic traditional herbal medicine hangeshashinto. *J Oral Biosci*, 61,12-15.
- HO SC, CHANG YH. (2018) Comparison of inhibitory capacities of (6)-, (8)- and (10)-gingerols/shogaols on the canonical NLRP3 inflammasome-mediated IL-1beta secretion. *Molecules*, 23.
- HO SC, CHANG KS, LIN CC. (2013) Anti-neuroinflammatory capacity of fresh ginger is attributed mainly to (10)-gingerol. *Food Chem*, 141,3183-3191.
- HOFBAUER LC, HEUFELDER AE. (2001) Role of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med (Berl)*, 79,243-253.

- HONDA T, DOMON H, OKUI T ve ark. (2006) Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol*, 144,35-40.
- HORWOOD NJ, KARTSOGIANNIS V, QUINN JM ve ark. (1999) Activated T lymphocytes support osteoclast formation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 265,144-150.
- HRISHI TS, KUNDAPUR PP, NAHA A ve ark. (2016) Effect of adjunctive use of green tea dentifrice in periodontitis patients - A Randomized Controlled Pilot Study. *Int J Dent Hyg*, 14,178-183.
- HUANG P, SU T, WANG H. (2000) The relationship between GPx activity in gingival fluid and clinical parameters of adult periodontitis. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 106-108.
- HWANG KA, HWANG YJ, HWANG IG, SONG J, JUN KIM Y. (2019) Low temperature-aged garlic extract suppresses psychological stress by modulation of stress hormones and oxidative stress response in brain. *J Chin Med Assoc*, 82,191-195.
- IMAI H, NARASHIMA K, ARAI M ve ark. (1998) Suppression of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J Biol Chem*, 273,1990-1997.
- IMANI H, TABIBI H, NAJAFI I ve ark. (2015) Effects of ginger on serum glucose, advanced glycation end products, and inflammation in peritoneal dialysis patients. *Nutrition*, 31,703-707.
- ISHIKAWA I. (2007) Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol 2000*, 43,9-13.
- JIN Q, CIRELLI JA, PARK CH ve ark. (2007) RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 78,1300-1308.
- JUNG HW, YOON CH, PARK KM, HAN HS, PARK YK. (2009) Hexane fraction of *Zingiberis Rhizoma Crudus* extract inhibits the production of nitric oxide and

- proinflammatory cytokines in LPS-stimulated BV2 microglial cells via the NF-kappaB pathway. *Food Chem Toxicol*, 47,1190-1197.
- JUNG SM, KIM KW, YANG CW, PARK SH, JU JH. (2014) Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis. *J Immunol Res*, 2014,263625.
- KANTARCI A, HASTURK H, VAN DYKE TE. (2015) Animal models for periodontal regeneration and peri-implant responses. *Periodontol 2000*, 68,66-82.
- KANTH MR, PRAKASH AR, SREENATH G, REDDY VS, HULDAH S. (2016) Efficacy of Specific Plant Products on Microorganisms Causing Dental Caries. *J Clin Diagn Res*, 10,ZM01-ZM03.
- KAUR H, JAIN S, KAUR A. (2014) Comparative evaluation of the antiplaque effectiveness of green tea catechin mouthwash with chlorhexidine gluconate. *J Indian Soc Periodontol*, 18,178-182.
- KAWAGUCHI Y, TANAKA H, OKADA T ve ark. (1996) The effects of ultraviolet A and reactive oxygen species on the mRNA expression of 72-kDa type IV collagenase and its tissue inhibitor in cultured human dermal fibroblasts. *Arch Dermatol Res*, 288,39-44.
- KAWAI T, MATSUYAMA T, HOSOKAWA Y ve ark. (2006) B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol*, 169,987-998.
- KEY LL, JR., WOLF WC, GUNDBERG CM, RIES WL. (1994) Superoxide and bone resorption. *Bone*, 15,431-436.
- KHAIRNAR MS, PAWAR B, MARAWAR PP, MANI A. (2013) Evaluation of *Calendula officinalis* as an anti-plaque and anti-gingivitis agent. *J Indian Soc Periodontol*, 17,741-747.
- KHALILI J, BILOKLYTSKA HF. (2008) Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis*, 14,754-760.
- KIM JH, KIM N. (2016) Signaling Pathways in Osteoclast Differentiation. *Chonnam Med J*, 52,12-17.
- KIM JS, LEE SI, PARK HW ve ark. (2008) Cytotoxic components from the dried rhizomes of *Zingiber officinale Roscoe*. *Arch Pharm Res*, 31,415-418.

- KINANE DF. (2001) Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 25,8-20.
- KINANE DF, BARTOLD PM. (2007) Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000*, 43,278-293.
- KINANE DF, STATHOPOULOU PG, PAPAPANOU PN. (2017) Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*, 3,17038.
- KLAUSEN B. (1991) Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*, 62,59-73.
- KLEIN SL, SCHIEBINGER L, STEFANICK ML ve ark. (2015) Opinion: Sex inclusion in basic research drives discovery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112,5257-5258.
- KOBAYASHI K, TAKAHASHI N, JIMI E ve ark. (2000) Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *J Exp Med*, 191,275-286.
- KOBAYASHI T, ISHIDA K, YOSHIE H. (2016) Increased expression of interleukin-6 (IL-6) gene transcript in relation to IL-6 promoter hypomethylation in gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*, 69,89-94.
- KODAMA H, NOSE M, NIIDA S, YAMASAKI A. (1991) Essential role of macrophage colony-stimulating factor in the osteoclast differentiation supported by stromal cells. *J Exp Med*, 173,1291-1294.
- KONG Y-Y, FEIGE U, SAROSI I ve ark. (1999) Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*, 402,304-309.
- KONOPKA T, KROL K, KOPEC W, GERBER H. (2007) Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 55,417-422.
- KORNMAN KS. (2008) Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*, 79,1560-1568.
- KOSTENUIK PJ, SHALHOUB V. (2001) Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des*, 7,613-635.

- KOTA N, KRISHNA P, POLASA K. (2008) Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet. *Food Chem*, 106,991-996.
- KOTOWSKI U, KADLETZ L, SCHNEIDER S ve ark. (2018) (6)-shogaol induces apoptosis and enhances radiosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Phytother Res*, 32,340-347.
- KOU X, WANG X, JI R ve ark. (2018) Occurrence, biological activity and metabolism of (6)-shogaol. *Food Funct*, 9,1310-1327.
- KROL K. (2004) Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in the pathogenesis of periodontitis. *Ann Acad Med Stetin*, 50,135-148.
- KRUGER S, BERGIN A, MORLOCK GE. (2018) Effect-directed analysis of ginger (*Zingiber officinale*) and its food products, and quantification of bioactive compounds via high-performance thin-layer chromatography and mass spectrometry. *Food Chem*, 243,258-268.
- KU SK, CHO HR, SUNG YS, KANG SJ, LEE YJ. (2011) Effects of calcium gluconate on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 108,241-250.
- KUBAREK L, KOZLOWSKA A, PRZYBYLSKI M, LIANERI M, JAGODZINSKI PP. (2009) Down-regulation of CXCR4 expression by tamoxifen is associated with DNA methyltransferase 3B up-regulation in MCF-7 breast cancer cells. *Biomed Pharmacother*, 63,586-591.
- KUBRA IR, RAO LJ. (2012) An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52,651-688.
- KUHR A, POPA-WAGNER A, SCHMOLL H, SCHWAHN C, KOCHER T. (2004) Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 39,101-106.
- KURAMITSU HK, HE X, LUX R, ANDERSON MH, SHI W. (2007) Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71,653-670.

- KURGAN S, KANTARCI A. (2018) Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol 2000*, 76,51-67.
- KYUNG KS, GON JH, GEUN KY ve ark. (2006) (6)-Shogaol, a natural product, reduces cell death and restores motor function in rat spinal cord injury. *Eur J Neurosci*, 24,1042-1052.
- LACEY DL, TIMMS E, TAN HL ve ark. (1998) Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, 93,165-176.
- LAM J, TAKESHITA S, BARKER JE ve ark. (2000) TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest*, 106,1481-1488.
- LAMONT RJ, JENKINSON HF. (1998) Life below the gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62,1244-1263.
- LARSEN T, FIEHN NE. (2017) Dental biofilm infections - an update. *APMIS*, 125,376-384.
- LAST JA. (1988) Dictionary of epidemiology. 2nd edn. New York: Oxford University Press, 115–116.
- LEE EB, KIM JH, KIM YJ ve ark. (2018) Lifespan-extending property of 6-shogaol from *Zingiber officinale Roscoe* in Caenorhabditis elegans. *Arch Pharm Res*, 41,743-752.
- LEE NK, CHOI YG, BAIK JY ve ark. (2005) A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood*, 106,852-859.
- LEIBBRANDT A, PENNINGER JM. (2008) RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Ann N Y Acad Sci*, 1143,123-150.
- LEONE M, CUPANE A, MILITELLO V, STROPPOLO ME, DESIDERI A. (1998) Fourier transform infrared analysis of the interaction of azide with the active site of oxidized and reduced bovine Cu,Zn superoxide dismutase. *Biochemistry*, 37,4459-4464.
- LERNER UH. (2006) Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*, 85,596-607.

- LEVITA J, SYAFITRI DM, SUPU RD ve ark. (2018) Pharmacokinetics of 10-gingerol and 6-shogaol in the plasma of healthy subjects treated with red ginger (*Zingiber officinale*) suspension. *Biomed Rep*, 9,474-482.
- LI L, SAPKOTA M, KIM SW, SOH Y. (2016) Herbacetin inhibits RANKL-mediated osteoclastogenesis in vitro and prevents inflammatory bone loss in vivo. *Eur J Pharmacol*, 777,17-25.
- LI LL, CUI Y, GUO XH ve ark. (2019) Pharmacokinetics and tissue distribution of gingerols and shogaols from ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in rats by UPLC(-)Q-Exactive(-)HRMS. *Molecules*, 24.
- LI X, PILBEAM CC, PAN L, BREYER RM, RAISZ LG. (2002) Effects of prostaglandin E2 on gene expression in primary osteoblastic cells from prostaglandin receptor knockout mice. *Bone*, 30,567-573.
- LI Y, TRAN VH, DUKE CC, ROUFOGALIS BD. (2012) Preventive and protective properties of *Zingiber officinale* (Ginger) in Diabetes Mellitus, Diabetic Complications, and Associated Lipid and other metabolic disorders: A brief review. *Evid Based Complement Alternat Med*, 516870.
- LI Z, WANG Y, GAO M ve ark. (2018) Nine New Gingerols from the Rhizoma of *Zingiber officinale* and Their Cytotoxic Activities. *Molecules*, 23.
- LIMA MDR, LOPES AP, MARTINS C ve ark. (2017) The effect of *Calendula officinalis* on oxidative stress and bone loss in experimental periodontitis. *Frontiers in physiology*, 8,440-440.
- LINDHE J, HAMP S, LOE H. (1973) Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res*, 8,1-10.
- LING H, YANG H, TAN SH, CHUI WK, CHEW EH. (2010) (6)-Shogaol, an active constituent of ginger, inhibits breast cancer cell invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 expression via blockade of nuclear factor-kappaB activation. *Br J Pharmacol*, 161,1763-1777.
- LISTGARTEN MA. (1986) Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*, 13,418-430.

- LIU H. (2015) Comparing Welch's ANOVA, a Kruskal-Wallis test and traditional ANOVA in case of Heterogeneity of Variance. Master of science' thesis. Virginia Commonwealth University Department of Biostatistics.
- LIU H, DONG Y, GAO Y ve ark. (2019) Hesperetin suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and ameliorates lipopolysaccharide-induced bone loss. *J Cell Physiol*, 234,11009-11022.
- LIU YC, LERNER UH, TENG YT. (2010) Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, 52,163-206.
- LU HK, CHEN YL, CHANG HC, LI CL, KUO MY. (2006) Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 41,354-360.
- MACMILLAN-CROW LA, CROW JP, THOMPSON JA. (1998) Peroxynitrite-mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues. *Biochem*, 37,1613-1622.
- MACNEE W, RAHMAN I. (1999) Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 160,58-65.
- MAGNONI LJ, NOVAIS SC, EDING E ve ark. (2019) Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Isogenic Line. *Front Physiol*, 10,453.
- MAHLUJI S, OSTADRAHIMI A, MOBASSERI M, EBRAHIMZADE ATTARI V, PAYAHOO L. (2013) Anti-inflammatory effects of *Zingiber officinale* in type 2 diabetic patients. *Adv Pharm Bull*, 3,273-276.
- MAHYARI S, MAHYARI B, EMAMI SA ve ark. (2016) Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Complement Ther Clin Pract*, 22,93-98.
- MANOLAGAS SC. (1995) Role of cytokines in bone resorption. *Bone*, 17,63-67.

- MARKLUND S. (1980) Distribution of CuZn superoxide and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiol Scand Suppl*, 19-23.
- MARSH PD. (2003) Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub- and supragingival environment. *Oral Dis*, 9 Suppl 1,16-22.
- MARUYAMA T, TOMOFUJI T, ENDO Y ve ark. (2011) Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation. *Arch Oral Biol*, 56,48-53.
- MARX W, MCKAVANAGH D, MCCARTHY AL ve ark. (2015) The Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Platelet Aggregation: A Systematic Literature Review. *PLoS One*, 10,e0141119.
- MASHHADI NS, GHIASVAND R, ASKARI G ve ark. (2013) Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of ginger in health and physical activity: review of current evidence. *Int J Prev Med*, 4,36-42.
- MATES JM, PEREZ-GOMEZ C, NUNEZ DE CASTRO I. (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 32,595-603.
- MATHES WF, KELLY SA, POMP D. (2011) Advances in comparative genetics: influence of genetics on obesity. *Br J Nutr*, 106 Suppl 1,1-10.
- MATSUZAKI K, UDAGAWA N, TAKAHASHI N ve ark. (1998) Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast-like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *Biochem Biophys Res Commun*, 246,199-204.
- MATTHEWS JB, WRIGHT H, ROBERTS A ve ark. (2007) Neutrophil Hyper-responsiveness in Periodontitis. *J Dent Res*, 718-722.
- MEIER B, SCHERK C, SCHMIDT M, PARAK F. (1998) pH-dependent inhibition by azide and fluoride of the iron superoxide dismutase from *Propionibacterium shermanii*. *Biochem J*, 331(Pt 2),403-407.
- MEIKLE MC, HEATH JK, REYNOLDS JJ. (1986) Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. *J Oral Pathol*, 15,239-250.

- MIRICESCU D, TOTAN A, CALENIC B ve ark. (2014) Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand*, 72,42-47.
- MIZUNO A, KANNO T, HOSHI M ve ark. (2002) Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis. *J Bone Miner Metab*, 20,337-344.
- MOGI M, OTOGOTO J, OTA N, TOGARI A. (2004) Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res*, 83,166-169.
- MONBOISSE JC, BOREL JP. (1992) Oxidative damage to collagen. *Exs*,62,323-327.
- MOON M, KIM HG, CHOI JG ve ark. (2014) (6)-Shogaol, an active constituent of ginger, attenuates neuroinflammation and cognitive deficits in animal models of dementia. *Biochem Biophys Res Commun*, 449,8-13.
- MORIMOTO M, MITSUKAWA M, FUJIWARA C, KAWAMURA Y, MASUDA S. (2019) Inhibition of mRNA processing activity from ginger-, clove- and cinnamon- extract, and by two ginger constituents, (6)-gingerol and (6)-shogaol. *Biosci Biotechnol Biochem*, 83,498-501.
- MOSELEY R, WADDINGTON RJ, EMBERY G, REES SG. (1998) The modification of alveolar bone proteoglycans by reactive oxygen species in vitro. *Connect Tissue Res*, 37,13-28.
- MOZAFFARI-KHOSRAVI H, TALAEI B, JALALI BA, NAJARZADEH A, MOZAYAN MR. (2014) The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and glycemic indices in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med*, 22,9-16.
- MUKHOPADHYAY CK, CHATTERJEE IB. (1994) Free metal ion-independent oxidative damage of collagen. Protection by ascorbic acid. *J Biol Chem*, 269,30200-30205.
- MUNDY GR. (1993) Role of cytokines in bone resorption. *J Cell Biochem*, 53,296-300.
- MURAKAMI S, MEALEY BL, MARIOTTI A, CHAPPLE ILC. (2018) Dental plaque–induced gingival conditions. *J Periodontol*, 45,17-27.

- MURTHY PS, GAUTAM R, J PN. (2015) Ginger oleoresin chemical composition, bioactivity and application as bio-preservatives. *J Food Process Pres*, 39,1905-1912.
- NA JY, SONG K, LEE JW, KIM S, KWON J. (2016a) (6)-Shogaol has anti-amyloidogenic activity and ameliorates Alzheimer's disease via CysLT1R-mediated inhibition of cathepsin B. *Biochem Biophys Res Commun*, 477,96-102.
- NA JY, SONG K, LEE JW, KIM S, KWON J. (2016b) Pretreatment of (6)-shogaol attenuates oxidative stress and inflammation in middle cerebral artery occlusion-induced mice. *Eur J Pharmacol*, 788,241-247.
- NAIKTARI RS, GAONKAR P, GURAV AN, KHISTE SV. (2014) A randomized clinical trial to evaluate and compare the efficacy of triphala mouthwash with 0.2% chlorhexidine in hospitalized patients with periodontal diseases. *J Periodontal Implant Sci*, 44,134-140.
- NAKASHIMA T, KOBAYASHI Y, YAMASAKI S ve ark. (2000) Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*, 275,768-775.
- NAZIM UM, PARK SY. (2019) Attenuation of autophagy flux by (6)-shogaol sensitizes human liver cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via p53 and ROS. *Int J Mol Med*, 43,701-708.
- NEDUNGADI D, BINOY A, PANDURANGAN N ve ark. (2018) (6)-Shogaol induces caspase-independent paraptosis in cancer cells via proteasomal inhibition. *Exp Cell Res*, 364,243-251.
- NEUFELD G, COHEN T, GENGRINOVITCH S, POLTORAK Z. (1999) Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J*, 13,9-22.
- NICOLL R, HENEIN MY. (2009) Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): a hot remedy for cardiovascular disease? *Int J Cardiol*, 131,408-409.
- NOGUCHI K, ISHIKAWA I. (2007) The roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 43,85-101.

- NUGENT BM, SCHWARZ JM, MCCARTHY MM. (2011) Hormonally mediated epigenetic changes to steroid receptors in the developing brain: implications for sexual differentiation. *Horm Behav*, 59,338-344.
- OKA H, MIYAUCHI M, FURUSHO H, NISHIHARA T, TAKATA T. (2012) Oral administration of prostaglandin E (2) - specific receptor 4 antagonist inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis in rat periodontal tissue. *J Periodontol*, 83,506-513.
- OKTAY S, CHUKKAPALLI SS, RIVERA-KWEH MF ve ark. (2015) Periodontitis in rats induces systemic oxidative stress that is controlled by bone-targeted antiresorptives. *J Periodontol*, 86,137-145.
- ONO K, KANEKO H, CHOUDHARY S ve ark. (2005) Biphasic effect of prostaglandin E2 on osteoclast formation in spleen cell cultures: role of the EP2 receptor. *J Bone Miner Res*, 20,23-29.
- OZDEM M, KIRZIOGLU FY, YILMAZ HR ve ark. (2017) Antioxidant effects of melatonin in heart tissue after induction of experimental periodontitis in rats. *J Oral Sci*, 59,23-29.
- PAGE RC. (1991) The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 26,230-242.
- PAGE RC, SCHROEDER HE. (1976) Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34,235-249.
- PAGE RC, KORNMAN KS. (1997) The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 14,9-11.
- PAN MH, HSIEH MC, KUO JM ve ark. (2008) (6)-Shogaol induces apoptosis in human colorectal carcinoma cells via ROS production, caspase activation, and GADD 153 expression. *Mol Nutr Food Res*, 52,527-537.
- PANJAMURTHY K, MANOHARAN S, RAMACHANDRAN CR. (2005) Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*, 10,255-264.
- PAPAPANOU PN, SANZ M, BUDUNELI N ve ark. (2018) Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of

- Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 89 Suppl 1,173-182.
- PARK G, OH DS, LEE MG, LEE CE, KIM YU. (2016) (6)-Shogaol, an active compound of ginger, alleviates allergic dermatitis-like skin lesions via cytokine inhibition by activating the Nrf2 pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 310,51-59.
- PARK G, KIM HG, JU MS ve ark. (2013) (6)-Shogaol, an active compound of ginger, protects dopaminergic neurons in Parkinson's disease models via anti-neuroinflammation. *Acta Pharmacol Sin*, 34,1131-1139.
- PARK M, BAE J, LEE DS. (2008) Antibacterial activity of (10)-gingerol and (12)-gingerol isolated from ginger rhizome against periodontal bacteria. *Phytother Res*, 22,1446-1449.
- PATEL SP, RAO NS, PRADEEP AR. (2012) Effect of nonsurgical periodontal therapy on crevicular fluid and serum glutathione peroxidase levels. *Dis Markers*, 32,1-7.
- PATERNITI I, BRIGUGLIO E, MAZZON E ve ark. (2010) Effects of *Hypericum Perforatum*, in a rodent model of periodontitis. *BMC Complement Altern Med*, 10,73.
- PAVLICA Z, PETELIN M, NEMEC A, ERZEN D, SKALERIC U. (2004) Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res*, 65,1584-1588.
- PETTIT AR, JI H, VON STECHOW D ve ark. (2001) TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol*, 159,1689-1699.
- PINTO G, SILVA MD, PEDDEY M, SILLANKORVA S, AZEREDO J. (2016) The role of bacteriophages in periodontal health and disease. *Future Microbiol*, 11,1359-1369.
- POWERS SK, LENNON SL. (1999) Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*, 58,1025-1033.
- POZO P, VALENZUELA MA, MELEJ C ve ark. (2005) Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters

- in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontal Res*, 40,199-207.
- PRESHAW PM. (2008) Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*, 48,92-110.
- PRESHAW PM. (2015) Detection and diagnosis of periodontal conditions amenable to prevention. *BMC Oral Health*, 15 Suppl 1,5.
- QUINN JM, HORWOOD NJ, ELLIOTT J, GILLESPIE MT, MARTIN TJ. (2000) Fibroblastic stromal cells express receptor activator of NF-kappa B ligand and support osteoclast differentiation. *J Bone Miner Res*, 15,1459-1466.
- RAHMANI AH, SHABRMI FMA, ALY SM. (2014) Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 6,125-136.
- RAMESH A, VARGHESE SS, DORAISWAMY JN, MALAIAPPAN S. (2016) Herbs as an antioxidant arsenal for periodontal diseases. *J Intercult Ethnopharmacol*, 5,92-96.
- REDLICH K, HAYER S, RICCI R ve ark. (2002) Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction. *J Clin Invest*, 110,1419-1427.
- RENN TY, HUANG YK, FENG SW ve ark. (2018) Prophylactic supplement with melatonin successfully suppresses the pathogenesis of periodontitis through normalizing RANKL/OPG ratio and depressing the TLR4/MyD88 signaling pathway. *J Pineal Res*, 64.
- RIBEIRO FV, PINO DS, FRANCK FC ve ark. (2017) Resveratrol Inhibits Periodontitis-Related Bone Loss in Rats Subjected to Cigarette Smoke Inhalation. *J Periodontol*, 88,788-798.
- RIKANS LE, HORNBROOK KR. (1997) Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochim Biophys Acta*, 1362,116-127.
- ROBERTS LJ, 2ND, MORROW JD. (2002) Products of the isoprostane pathway: unique bioactive compounds and markers of lipid peroxidation. *Cell Mol Life Sci*, 59,808-820.

- ROGERS JE, LI F, COATNEY DD ve ark. (2007) A p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor arrests active alveolar bone loss in a rat periodontitis model. *J Periodontol*, 78,1992-1998.
- RUPASINGHE V, GUNATHILAKE K. (2015) Recent perspectives on the medicinal potential of ginger. *Botanics Targets and Therapy*, 5,55-63.
- SAGLAM M, KOSEOGLU S, HATIPOGLU M, ESEN HH, KOKSAL E. (2015) Effect of sumac extract on serum oxidative status, RANKL/OPG system and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Appl Oral Sci*, 23,33-41.
- SAIKOLAPPAN S, KUMAR B, SHISHODIA G, KOUL S, KOUL HK. (2019) Reactive oxygen species and cancer: A complex interaction. *Cancer Lett*, 452,132-143.
- SALEHPOUR F, FARAJDOKHT F, CASSANO P ve ark. (2019) Near-infrared photobiomodulation combined with coenzyme Q10 for depression in a mouse model of restraint stress: reduction in oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis. *Brain Res Bull*, 144,213-222.
- SALVI GE, LANG NP. (2005) Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6,108-129.
- SAMANNA V, MA T, MAK TW, ROGERS M, CHELLAIAH MA. (2007) Actin polymerization modulates CD44 surface expression, MMP-9 activation, and osteoclast function. *J Cell Physiol*, 213,710-720.
- SANDALIO L, LÓPEZ-HUERTAS E, BUENO P, DEL RÍO L. (1997) Immunocytochemical localization of Copper, Zine superoxide dismutase in peroxisomes from watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.) cotyledons. *Free Radic Res*, 187-194.
- SANDSTROM J, NILSSON P, KARLSSON K, MARKLUND SL. (1994) 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *J Biol Chem*, 269,19163-19166.
- SAPKOTA A, PARK SJ, CHOI JW. (2019) Neuroprotective Effects of (6)-shogaol and its metabolite, (6)-paradol, in a mouse model of multiple sclerosis. *Biomol Ther (Seoul)*, 27,152-159.

- SARDI JDCO. (2013) Oxidative stress in diabetes and periodontitis. *N Am J Med Sci*, 5,58-59.
- SAVARAJ N, WEI Y, UNATE H ve ark. (2005) Redox regulation of matrix metalloproteinase gene family in small cell lung cancer cells. *Free Radic Res*, 39,373-381.
- SCHAFFER FQ, BUETTNER GR. (2001) Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med*, 30,1191-1212.
- SCHENKEIN HA. (2006) Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000*, 40,77-93.
- SCHRODER K. (2019) NADPH oxidases in bone homeostasis and osteoporosis. *Free Radic Biol Med*, 132,67-72.
- SCHWARZ JM, NUGENT BM, MCCARTHY MM. (2010) Developmental and hormone-induced epigenetic changes to estrogen and progesterone receptor genes in brain are dynamic across the life span. *Endocrinology*, 151,4871-4881.
- SCULLEY DV, LANGLEY-EVANS SC. (2002) Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc*, 61,137-143.
- SERHAN CN, KRISHNAMOORTHY S, RECCHIUTI A, CHIANG N. (2011) Novel anti-inflammatory-pro-resolving mediators and their receptors. *Curr Top Med Chem*, 11,629-647.
- SEZER U, CICEK Y, CANAKCI CF. (2012) Increased salivary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine may be a marker for disease activity for periodontitis. *Dis Markers*, 32,165-172.
- SHANMUGAM KR, MALLIKARJUNA K, KESIREDDY N, SATHYAVELU REDDY K. (2011) Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 49,893-897.
- SHATI AA, ELSAID FG. (2009) Effects of water extracts of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) on alcohol abuse. *Food Chem Toxicol*, 47,1945-1949.

- SHIDFAR F, RAJAB A, RAHIDEH T ve ark. (2015) The effect of ginger (*Zingiber officinale*) on glycemic markers in patients with type 2 diabetes. *J Complement Integr Med*, 12,165-170.
- SHINGALA MC, RAJYAGURU A. (2015) Comparison of post hoc tests for unequal variance. *IJNTSE*, 2,22-33.
- SHUKLA Y, SINGH M. (2007) Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food Chem Toxicol*, 45,683-690.
- SI W, CHEN YP, ZHANG J, CHEN ZY, CHUNG HY. (2018) Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chem*, 239,1117-1125.
- SIDDIQUI A, DESAI NG, SHARMA SB ve ark. (2019) Association of oxidative stress and inflammatory markers with chronic stress and newly detected type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*, 35(5),e3147.
- SIGALOV AB, STERN LJ. (1998) Enzymatic repair of oxidative damage to human apolipoprotein A-I. *FEBS Lett*, 433,196-200.
- SILVA N, DUTZAN N, HERNANDEZ M ve ark. (2008) Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol*, 35,206-214.
- SOBANIEC H, SOBANIEC-LOTOWSKA ME. (2000) Morphological examinations of hard tissues of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit*, 6,875-881.
- SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD. (1992) The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 63,322-331.
- SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD. (2002) Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*, 28,12-55.
- SOHN Y, HAN NY, LEE MJ, CHO HJ, JUNG HS. (2013) (6)-Shogaol inhibits the production of proinflammatory cytokines via regulation of NF-kappaB and phosphorylation of JNK in HMC-1 cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 35,462-470.

- SPERANZA MJ, BAGLEY AC, LYNCH RE. (1993) Cells enriched for catalase are sensitized to the toxicities of bleomycin, adriamycin, and paraquat. *J Biol Chem*, 268,19039-19043.
- STADLER AF, ANGST PD, ARCE RM ve ark. (2016) Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 43,727-745.
- STEINBECK MJ, APPEL WH, JR., VERHOEVEN AJ, KARNOVSKY MJ. (1994) NADPH-oxidase expression and in situ production of superoxide by osteoclasts actively resorbing bone. *J Cell Biol*, 126,765-772.
- STRÅLIN P, MARKLUND SL. (1994) Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. *Biochem J*, 298 (Pt 2),347-352.
- SUDA T, NAKAMURA I, JIMI E, TAKAHASHI N. (1997) Regulation of osteoclast function. *J Bone Miner Res*, 12,869-879.
- SUDA T, TAKAHASHI N, UDAGAWA N ve ark. (1999) Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev*, 20,345-357.
- SUEISHI Y, MASAMOTO H, KOTAKE Y. (2019) Heat treatments of ginger root modify but not diminish its antioxidant activity as measured with multiple free radical scavenging (MULTIS) method. *J Clin Biochem Nutr*, 64,143-147.
- SUHAG A, DIXIT J, DHAN P. (2007) Role of curcumin as a subgingival irrigant: a pilot study. *Periodontal Practice Today*, 4.
- SUN Y, OBERLEY LW. (1996) Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radic Biol Med*, 21,335-348.
- SUNDARESAN M, YU ZX, FERRANS VJ ve ark. (1996) Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1. *Biochem J*, 318 (Pt 2),379-382.
- TAKAMORI A, YOSHINAGA Y, UKAI T ve ark. (2018) Topical application of glycyrrhetic acid in the gingival sulcus inhibits attachment loss in

- lipopolysaccharide-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 53,422-429.
- TAKAYANAGI H. (2007) Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol*, 7,292-304.
- TAKAYANAGI H, SATO K, TAKAOKA A, TANIGUCHI T. (2005) Interplay between interferon and other cytokine systems in bone metabolism. *Immunol Rev*, 208,181-193.
- TAMANAI-SHACOORI Z, CHANDAD F, RÉBILLARD A, CILLARD J, BONNAURE-MALLET M. (2014) Silver-zeolite combined to polyphenol-rich extracts of *Ascophyllum nodosum*: potential active role in prevention of periodontal diseases. *PloS one*, 9,e105475.
- TAUBMAN MA, VALVERDE P, HAN X, KAWAI T. (2005) Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol*, 76,2033-2041.
- TEITELBAUM SL, ROSS FP. (2003) Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet*, 4,638-649.
- TEIXEIRA AH, FREIRE JMO, DE SOUSA LHT ve ark. (2017) *Stemodia maritima* L. extract decreases inflammation, oxidative stress, and alveolar bone loss in an experimental periodontitis rat model. *Front Physiol*, 8,988.
- TEIXEIRA HD, SCHUMACHER RI, MENEGHINI R. (1998) Lower intracellular hydrogen peroxide levels in cells overexpressing CuZn-superoxide dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95,7872-7875.
- THANNICKAL VJ, FANBURG BL. (2000) Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 279,1005-1028.
- THOMSON BM, MUNDY GR, CHAMBERS T. (1987) Tumor necrosis factors Alpha and Beta induce osteoblastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. *J Immunol*, 775-779.
- TJENDRAPUTRA E, TRAN VH, LIU-BRENNAN D, ROUFOGALIS BD, DUKE CC. (2001) Effect of ginger constituents and synthetic analogues on cyclooxygenase-2 enzyme in intact cells. *Bioorg Chem*, 29,156-163.

- TOKER H, OZDEMIR H, EREN K, OZER H, SAHIN G. (2009) N-acetylcysteine, a thiol antioxidant, decreases alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 80,672-678.
- TOKER H, OZAN F, OZER H ve ark. (2008) A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 79,1089-1094.
- TOMOFUJI T, EKUNI D, IRIE K ve ark. (2009) Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 80,1799-1808.
- TONGUC MO, OZTURK O, SUTCU R ve ark. (2011) The impact of smoking status on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*, 82,1320-1328.
- TRACKMAN PC, KANTARCI A. (2015) Molecular and clinical aspects of drug-induced gingival overgrowth. *J Dent Res*, 94,540-546.
- TRIVEDI S, LAL N. (2017) Antioxidant enzymes in periodontitis. *J Oral Biol Craniofac Res*, 7,54-57.
- TRIVEDI S, LAL N, MAHDI AA ve ark. (2014) Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *J Periodontol*, 85,713-720.
- TSAI CC, CHEN HS, CHEN SL ve ark. (2005) Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 40,378-384.
- TUNALI M, ATAOGU T, CELIK I. (2014) Apoptosis: an underlying factor for accelerated periodontal disease associated with diabetes in rats. *Clin Oral Investig*, 18,1825-1833.
- TUTER G, KURTIS B, SERDAR M ve ark. (2005) Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *J Clin Periodontol*, 32,1011-1015.
- VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J ve ark. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39,44-84.

- VAN DER WEIJDEN GA, TIMMERMAN MF, DANSER MM ve ark. (1994) Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *J Periodontal Res*, 29,168-173.
- VAN DYKE TE. (2008) The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol*, 79,1601-1608.
- VAN DYKE TE, SERHAN CN. (2003) Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*, 82,82-90.
- VAN DYKE TE, HASTURK H, KANTARCI A ve ark. (2015) Proresolving nanomedicines activate bone regeneration in periodontitis. *J Dent Res*, 94,148-156.
- VANCE CK, MILLER A-F. (1998) Spectroscopic Comparisons of the pH dependencies of Fe-substituted (Mn) superoxide dismutase and Fe-superoxide dismutase. *Biochem*, 37,5518-5527.
- VELAZQUEZ E, WINOCOUR PH, KESTEVEN P, ALBERTI KG, LAKER MF. (1991) Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. *Diabet Med*, 8,752-758.
- VERMA SK, SINGH M, JAIN P, BORDIA A. (2004) Protective effect of ginger, *Zingiber officinale* Rosc on experimental atherosclerosis in rabbits. *Indian J Exp Biol*, 42,736-738.
- VERNAL R, CHAPARRO A, GRAUMANN R ve ark. (2004) Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol*, 75,1586-1591.
- WADDINGTON RJ, MOSELEY R, EMBERY G. (2000) Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis*, 6,138-151.
- WALLACE JL, KEENAN CM, GRANGER DN. (1990) Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *Am J Physiol*, 259,462-467.
- WALSH MC, CHOI Y. (2014) Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond. *Front Immunol*, 5,511.

- WANG ML, HAUSCHKA PV, TUAN RS, STEINBECK MJ. (2002) Exposure to particles stimulates superoxide production by human THP-1 macrophages and avian HD-11EM osteoclasts activated by tumor necrosis factor- α and PMA. *J Arthroplasty*, 17,335-346.
- WANG Q, YANG Q, CAO X ve ark. (2018) Enhanced oral bioavailability and anti-gout activity of (6)-shogaol-loaded solid lipid nanoparticles. *Int J Pharm*, 550,24-34.
- WANG Y, ANDRUKHOV O, RAUSCH-FAN X. (2017) Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front Physiol*, 8,910-910.
- WEI CK, TSAI YH, KORINEK M ve ark. (2017) (6)-Paradol and (6)-shogaol, the pungent compounds of ginger, promote glucose utilization in adipocytes and myotubes, and (6)-paradol reduces blood glucose in high-fat diet-fed mice. *Int J Mol Sci*, 18.
- WEI D, ZHANG XL, WANG YZ, YANG CX, CHEN G. (2010) 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*, 55,70-78.
- WOLFF L, DAHLEN G, AEPPLI D. (1994) Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol*, 65,498-510.
- XIAO CJ, YU XJ, XIE JL, LIU S, LI S. (2018) Protective effect and related mechanisms of curcumin in rat experimental periodontitis. *Head Face Med*, 14,12.
- XU Y, BAI L, CHEN X ve ark. (2018) (6)-Shogaol ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory, hyperlipidemic, anti-oxidative activity in db/db mice. *Biomed Pharmacother*, 97,633-641.
- YAGAN A, KESIM S, LIMAN N. (2014) Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 85,478-489.
- YAMAMOTO T, TOMOFUJI T, TAMAKI N ve ark. (2010) Effects of topical application of lipopolysaccharide and proteases on hepatic injury induced by high-cholesterol diet in rats. *J Periodontal Res*, 45,129-135.

- YAN SD, SCHMIDT AM, ANDERSON GM ve ark. (1994) Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*, 269,9889-9897.
- YASUDA H, SHIMA N, NAKAGAWA N ve ark. (1998) Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95,3597-3602.
- YI JK, RYOO ZY, HA JJ ve ark. (2019) Beneficial effects of 6-shogaol on hyperglycemia, islet morphology and apoptosis in some tissues of streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetol Metab Syndr*, 11,15.
- YILMAZ HR, UZ E, YUCEL N, ALTUNTAS I, OZCELIK N. (2004) Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol*, 18,234-238.
- YOSHINAGA Y, UKAI T, NAKATSU S ve ark. (2014) Green tea extract inhibits the onset of periodontal destruction in rat experimental periodontitis. *J Periodontal Res*, 49,652-659.
- YOUNG IS, WOODSIDE JV. (2001) Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54,176-186.
- ZACHARA BA, GROMADZINSKA J, WASOWICZ W, ZBROG Z. (2006) Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review. *Acta Biochim Pol*, 53,663-677.
- ZEKAS V, MATUZEVICIENE R, KARCIAUSKAITE D ve ark. (2019) Chronic and oxidative stress association with total count of endothelial microvesicles in healthy young male plasma. *Adv Clin Exp Med*, 28,683-692.
- ZHANG H, WANG Q, SUN C ve ark. (2019) Enhanced oral bioavailability, anti-Tumor activity and hepatoprotective effect of (6)-shogaol loaded in a type of novel micelles of polyethylene glycol and linoleic acid conjugate. *Pharmaceutics*, 11.
- ZHANG M, XU C, LIU D ve ark. (2018) Oral delivery of nanoparticles loaded with ginger active compound, (6)-shogaol, attenuates ulcerative colitis and promotes wound healing in a murine model of ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*, 12,217-229.

- ZHANG Y, GUAN H, LI J ve ark. (2015) Amlexanox suppresses osteoclastogenesis and prevents ovariectomy-induced bone loss. *Sci Rep*, 5,13575.
- ZHAO D, GU MY, XU JL ve ark. (2019) Anti-neuroinflammatory effects of 12-dehydrogingerdione in LPS-activated microglia through inhibiting Akt/IKK/NF-kappaB pathway and activating Nrf-2/HO-1 pathway. *Biomol Ther (Seoul)*, 27,92-100.
- ZHENG X-Y, MAO C-Y, QIAO H ve ark. (2017) Plumbagin suppresses chronic periodontitis in rats via down-regulation of TNF- α , IL-1 β and IL-6 expression. *Acta pharmacol Sin*, 38,1150-1160.
- ZHOU HL, DENG YM, XIE QM. (2006) The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response in vitro and in vivo in mice. *J Ethnopharmacol*, 105,301-305.
- ZHU Y, WANG P, ZHAO Y ve ark. (2016) Synthesis, evaluation, and metabolism of novel (6)-shogaol derivatives as potent Nrf2 activators. *Free Radic Biol Med*, 95,243-254.
- ZUCKER I, BEERY AK. (2010) Males still dominate animal studies. *Nature*, 465,690.

7. EKLER

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi:23.05.2017

Toplantı Sayısı:17/03

Karar No:17/ 21

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik 23.05.2017 Çarşamba günü saat 12:00'de Prof.Dr.Siyami KARAHAN'ın başkanlığında toplanarak gündemdeki konuları görüştü.

GÜNDEM:

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Meltem HENDEK'in "Deneyel periodontitis modelinde (6)-shogaol uygulamasının antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi " isimli proje başvurusu ve 35 Wistar albino kullanması

PROJEDE GÖREVLİ PERSONEL						
	Ad, Soyad, Unvan	Fakülte, Bölüm	Telefon	E-mail	Projedeki görevi	
1	Yrd.Doç.Dr. Meltem HENDEK	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği	0543 979 52 94	mltmksyk@yahoo.com	Yürütücü	
2	Doktora Öğr., Didem BEZİRCİ	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	0537 941 21 42	didembezirici@hotmail.com	Araştırmacı	
3	Prof.Dr. Oğuz Kul	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi	0535 422 38 47	oguzkul72@yahoo.com	Araştırmacı	
4	Araş. Gör., Tuğçe SÜMER	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi	0535 409 11 46	tugceanteplioğlu@gmail.com	Araştırmacı	
5	Prof.Dr. H.Ebru OLGUN ERDEMİR	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	: 0505 624 99 02	ebruerdemir@hotmail.com	Araştırmacı	

PROJE ÖZETİ:

Periodontitis, dişeti dokusu, periodontal ligament ve dişi destekleyen kemik dokunun ilerleyen kaybıyla karakterize kronik enflamatuvar, son derece yaygın bir hastalıktır (Dommsich ve Kebscull, 2012; Mailoa vd., 2015; Aral vd., 2015). Periodonsiyumun kronik enflamasyonu pek çok periodontal patojeni içeren kompleks subgingival biyofilm ile başlar (Dommsich ve Kebscull, 2012; Mailoa vd., 2015; Elburki vd.,2016; Assuma vd., 1998; Silva vd., 2008; Botelho vd., 2009; Calisir vd., 2016). Bu biyofilm genelde P.gingivalis gibi oral kavitenin fırsatçı patojenleri olan gram (-) anaerobik kommensal mikrobiyotayı içermektedir (Abiko vd., 2010; Elburki vd.,2016). Periodontal patojenlere yanıt olarak, polimorfonükleer hücreler (PMN), süperoksit gibi yıkıcı reaktif oksijen türlerini, proteinazları ve konak dokuya zarar verebilecek diğer faktörleri serbest bırakmaktadır (Nishikawa)

vd., 2012). Bu moleküller, dişeti dokusunda, periodontal ligamentte oksidatif hasarı indükleyen ve kemikte rezorpsiyon meydana getirmektedirler (Nishikawa vd., 2012; Assuma vd., 1998; Silva vd., 2008; Dong vd., 2015; Hatipoglu vd., 2015). Ayrıca salgılanan bu moleküller ile interlökin-1beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimi de artar (Stadler vd., 2016; Bitto vd., 2013; Elburki vd., 2016; Assuma vd., 1998; Silva vd., 2008; Dong vd., 2015; Nakajima vd., 2016; Aral vd., 2015; Hatipoglu vd., 2015; Calisir vd., 2016; Kang vd., 2015). Bireyler periodontal enfeksiyonların tahrip edici etkilerine eşit derecede duyarlı olmadığı için, periodontitis sadece bakteriyel enfeksiyon ile ilişkili değildir, aynı zamanda konağın duyarlılığı ile de ilişkilidir. Konak yanıtındaki değişkenlik, periodontal hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilir veya hastalığa karşı belli seviyelerde koruyabilir (Oz ve Puleo, 2011). Bakteriler ve virulans faktörleri, patojenik mikroorganizmaların yok edilmesini amaçlayan immunoenflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Konak yanıtı, spesifik bakteriyel antijenlere karşı humoral (antikor) ya da hücrel reaksiyonlar şeklinde gelişmektedir. Konağa bağlı doku yıkımında bakteriler ve ürünleri dokuda enflamatuvar cevabı indükleyerek PMN migrasyonuna, fibroblastlarda farklılaşmaya, makrofajların aktivasyonu ile IL-1, TNF- α , prostaglandinler ve hidrolitik enzimler gibi ürünlerin salınımına neden olarak sert ve yumuşak doku yıkımını gerçekleştirmektedir (Assuma vd., 1998; Silva vd., 2008).

Özellikle kemik metabolizması ile immün sistemin yakın ilişkisi pek çok osteoimmunité çalışmasında gösterilmiştir (Bartold vd., 2010; Taubman vd., 2007). Kemik yıkımını başlatan osteoklastların aktivasyonu için, nükleer faktör kappa B ligandı reseptör aktivatörü (RANKL), nükleer faktör kappa B (NF-kB) reseptör aktivatörü (RANK) ve osteoprotegrin (OPG) tarafından sinyal verilir. RANK, osteoklast fenotipini oluşturmak için hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyaran osteoklastların ve osteoklast öncüllerinin hücre yüzeyleri üzerindeki bir reseptördür. RANK, RANKL'a bağlanmaktadır (Teitelbaum ve Ross, 2007). Aksine OPG, osteoklast ve birçok hücre tarafından üretilen çözünebilir bir reseptördür ve RANKL/RANK etkileşimini inhibe ederek RANKL'ın etkilerini modifiye etmektedir. Kemik kaybı artan RANKL/OPG oranının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. RANKL/OPG oranı; sadece RANK'da bir artma veya sadece OPG'de bir azalma veya hem RANK'da artma hem de OPG'de azalma nedeniyle arttığı bulunmuştur. Bu oran, aktif periodontal hastalığın bulunduğu bölgede artmaktadır ve hastalık şiddeti ile korelasyon göstermektedir (Vernal vd., 2004; Dutzan vd., 2009; Silva vd., 2008). Bununla birlikte, RANKL ve OPG dişeti dokusunda, dişeti oluğu sıvısında, tükürükte ve serumda tespit edilebilmektedir. Periodontal hastalık aktivitesi hakkında güvenilir bilgi vermektedir (Buduneli ve Kinane, 2011; Belibasakis ve Bostanci, 2012; Bostanci vd., 2007; Lu vd., 2006; Mogi vd., 2004).

Periodontitisin tedavisinde mekanik ve cerrahi tedavi yaklaşımları, antibakteriyel terapi ile kombine edilerek uzun yıllar uygulanmıştır. Bununla birlikte, enflamatuvar yolları ve mediatörleri kontrol altına almak için güncel tedavi yöntemler, geleneksel yöntemlerle benzer şekilde ayrıntılı olarak incelenmiştir (Caton ve Ryan, 2011). Bu nedenle, dişi destekleyen dokuların kaybını önlemek amacıyla, antienflamatuvar ve antioksidan ajanlar dahil olmak üzere pek çok immün modülatör ajan araştırılmıştır. Antioksidatif ve antienflamatuvar özelliklerin bir sonucu olarak bitkisel terapiler, çeşitli

ASLI GIBİDİR

ZEKİ BİLİNT
DİŞİ HEKİMİ

hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için merak uyandıran araştırma alanı olmuştur. Bu tedavilerin arasında özellikle Çin ve Asya ülkelerinde uzun yollardır geleneksel olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan Zingiber officinale'dir (Ku vd., 2011; Cheng vd., 2010; Toker vd., 2008; Tomofuji vd., 2009; Toker vd., 2009; Abou ve Shehadeh, 2010).

Zencefil bitkisi, bilimsel adı Zingiber officinale olmak üzere, dünyada yüksek oranda kullanılan bir baharattır ve özellikle Çin de 2500 yıldan daha uzun bir süredir rinit, romatizma, sinir sistemi, gingivitis, diş ağrısı, kabızlık, diabet, diyare, bulantı, kusma, kardiyopati, hipertansiyon ve çarpıntı gibi problemleri tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Khosravi vd., 2014; Kubra ve Rao, 2012). Zencefil içeren bitkisel ilaçlar, oral tüketimde kolayca emilir, vücutta çeşitli biyolojik aktiviteler gösterir ve 48-60 saatte vücuttan atılır. Zencefilin kök gövdesi (rhizome), karbonhidrat, mineral (kalsiyum, magnezyum, potasyum, fosfat), protein, yağ, vitamin (B, C) ve zingibain denilen proteolitik enzim gibi bir takım enzimler, yağ reçinesi (oleoresins) ve mum içermektedir (Butt ve Sultan, 2011; Shidfar vd., 2015). Zencefil ihmal edilebilir yan etkileri yanında, yüksek dozlarda güvenilir bir bitkidir (FDA) (Imani vd., 2015).

Zencefilin genel olarak; antienflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiartritlik, kardiyovasküler koruma, antianjiyogenik, antitrombotik, antikanser, hipolipidemik ve antidiabetik özellikleri bilinmektedir (Mahluji vd., 2013; Khosravi vd., 2014; Nicoll ve Henein, 2009; Arul vd., 2016; Març vd., 2015; Shidfar vd., 2015; Shanmugam vd., 2011; Shukla ve Singh, 2007). Ayrıca bitkisel özellikleri non-steroid antienflamatuvar ilaçlara (NSAI) benzerdir ve bu nedenle kronik enflamasyon ile aktive olan yolları düzenleyebilmektedir (Butt ve Sultan, 2011; Mahluji vd., 2013; Arul vd., 2016). Zencefil, çeşitli biyolojik aktivitelerde bulunan aktif bileşikleri içermektedir. Bunlar; gingerol ve gingerol ilişkili bileşik, paradol, shogaol, zingerone, zerumbone, 1-dehidro-(10) gingerdion, terpenoidler ve zencefil flavonoidleridir (Attari vd., 2015; Khosravi vd., 2014; Mukherje vd., 2014; Shidfar vd., 2015).

ASLI GİBİDİR

ZEKİ BULUT
KÜLTÜR VE TURİZM BAKANLIĞI
YATIRIM VE ZARARLILIK BAKANLIĞI

Handwritten signatures and initials, including a large signature that appears to be "Zeki Bulut" and several other initials.

KARAR:

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Meltem HENDEK'in "**Deneysel periodontitis modelinde (6)-shogaol uygulamasının antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi**" isimli proje başvurusu Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof.Dr.Siyahi KARAHAN

Başkan

Prof.Dr.Murat YILDIRIM

Başkan Vekili

Prof.Dr.Zühal AKTUNA

Üye

Prof.Dr.Umut TEKİN

Üye

Doç.Dr.Mustafa TÜRK

Üye

Yrd.Doç.Dr.Uğur TİFTİKÇİ

Üye

Yrd.Doç.Dr.Nahit PAMUKOĞLU

Üye

Yrd.Doç.Dr.Serap YÖRÜBULUT

Üye

Yusuf BOSTANCI

Üye

Mustafa AKIN

Üye

Yaşar ŞAHİN

Üye

ASLI GİBİDİR





T.C.
TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU BAŞKANLIĞI
Araştırma Destek Programları Başkanlığı

Sayı : 85109024-604.01.03-E.60327
Konu : Desteklenmesine karar verilen proje
(217S332)

27/03/2018

Sayın Yrd. Doç. Dr. Meltem HENDEK
Kırıkkale Üniversitesi,
Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji ABD.,
Yenişehir Mah., Çelebi Sk., No:1
71450 Yahşihan KIRIKKALE

Kurumumuza önerilen "217S332" nolu ve "Deneysel Periodontitis Modelinde (6)-Shogael Uygulamasının Antienflamatuar ve Antioksidan Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı projenizin, Araştırma Destek Grubu ve panel değerlendirmeleri çerçevesinde desteği uygun görülen kalemler üzerinden yapılan değerlendirme sonucunda nihai bütçesi belirlenmiştir. Sonuç olarak projenin 20 ay süre ve toplam (Kurum Hissesi ve Proje Teşvik İkramesi dahil) 82.150-TL ödenekle desteklenmesine karar verilmiştir.

Belirlenen bu bütçeye göre hazırlanan proje sözleşmesi, ekleri ile birlikte ilişikte sunulmaktadır. Projenin yürürlüğe konularak harcamaların başlatılabilmesi için aşağıdaki işlemlerin yapılarak istenen tüm belgelerle birlikte işbu **yazı tarihinden itibaren 10 gün içerisinde** aşağıda verilen adrese gönderilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde, onaylanan bütçenizin ilk dönem ödeneğinin transfer sürecinin gecikeceğini bilgilerinize saygılarımla sunarım.

Doç. Dr. Cengiz ARICI
ARDEB Başkan Yrd. V.

EKTE GÖNDERİLEN BELGELER:

1. Proje Destekleme Sözleşmesi
2. Vücuda Getirilecek Fikri ve Sınai Ürünler Üzerindeki Hakların Devrine İlişkin Taahhüt Sözleşmesi
3. Öneri Formu ve Ekleri
4. Projenin Ekonomik Kodlara Göre Yıl ve Dönem Bazında Transfer Tutarları
5. Proje Teşvik İkramesi Ödeme Planı Tablosu
6. Proje Destekleme Sözleşmesi Kabul ve Beyan Taahhütnamesi
7. Kurum Hissesi Dağılım Tablosu

YAPILACAK İŞLER

1. (1) ve (2) numaralı belgelerin her sayfası yürütücü tarafından paraflanarak imza yerleri ilgili kişilerce imzalanacaktır.
2. (3) ve (4) numaralı belgelerin her sayfası yürütücü tarafından paraflanacaktır.
3. (5), (6) ve (7) numaralı belgeler ilgili kişilerce imzalanacaktır.
4. İşlemleri tamamlanan evrakın tümü aşağıdaki adrese iletilecektir.

NOTLAR

1. Daha önce TÜBİTAK'a ilettiğiniz öneri formu ve ekleri parafsız (3) numaralı evrak gönderilmeyecektir.
2. Proje yürütücüsü dışındaki kişilerin imza alanlarında kaşe/damga bulunması tercih edilir.
3. Sözleşmede TÜBİTAK imzası da tamamlandığında, sözleşme ve ekleri taranarak Proje Takip Sistemi (PTS) üzerinden tarafınıza iletilecektir.

ADRES: TÜBİTAK – ARDEB - MADES Atatürk Bulvarı No:221 06100 Kavaklıdere/ANKARA	Ayrıntılı Bilgi İçin İrtibat: Tel: 0312 2981159 Faks:0312 4277491 e-posta: zeynep.alkan@tubitak.gov.tr
--	--

BELGENİN ASLI ELEKTRONİK İMZALIDIR.

Evrak doğrulama işlemi <http://evrakdogrulama.tubitak.gov.tr/?v=BESABRPNY> adresinden yapılabilir.

Anıtkol Bulvarı No:221 06100 Kavaklıdere Ankara
Telefon No:(0 312) 298 10 00 Faks No:(0 312) 427 74 89
e-Posta:iletisim@tubitak.gov.tr İnternet Adresi:www.tubitak.gov.tr

Bilgi için: Zeynep ALKAN
Unvanı: Başuzman

8. ÖZGEÇMİŞ

01.06.1988 yılında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Özel Neşe İlköğretim Okulu'nda ve lise öğrenimimi Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2007-2013 yılları arasında Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde üniversite öğrenimimi tamamladım. 2015 yılının şubat ayında eğitimimin başladığı Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi olarak bulunmaktayım. Yabancı dilim İngilizce'dir.