



**DENEYSEL DİYABET VE PERİODONTİTİS  
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA İLERİ GLİKASYON  
SON ÜRÜNLERİNİN PERİODONTAL DOKU YIKIMI  
ÜZERİNE ETKİLERİ VE VİTAMİN C UYGULAMASININ  
TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Ayşe TORAMAN  
Periodontoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Taner ARABACI**

**Uzmanlık Tezi - 2017**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL DİYABET VE PERİODONTİTİS  
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA İLERİ GLİKASYON SON  
ÜRÜNLERİNİN PERİODONTAL DOKU YIKIMI  
ÜZERİNE ETKİLERİ VE VİTAMİN C UYGULAMASININ  
TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Ayşe TORAMAN**

**Periodontoloji Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Taner ARABACI**

**ERZURUM  
2017**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL DİYABET VE PERİODONTİTİS OLUŞTURULMUŞ  
RATLARDA İLERİ GLİKASYON SON ÜRÜNLERİNİN  
PERİODONTAL DOKU YIKIMI ÜZERİNE ETKİLERİ VE VİTAMİN C  
UYGULAMASININ TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Ayşe TORAMAN

Tez Savunma Tarihi: 23.05.2017

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Taner ARABACI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof.Dr. Recep ORBAK (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof.Dr. Varol ÇANAKÇI (Ordu Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof.Dr. Turgut DEMİR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof.Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI (Atatürk Üniversitesi)

  
Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdulvahit ERDEM  
Fakülte Dekanı

Uzmanlık Tezi  
ERZURUM-2017

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	IV
ÖZET .....	V
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLOLAR DİZİNİ .....	XIV
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Periodontal Hastalıklar .....	3
2.1.1. Kronik periodontitis.....	3
2.1.1.1. Kronik Periodontitisin Patogenezi .....	4
2.2. Sitokinler.....	4
2.2.1. IL-6 ve Bağlantılı Sitokinler .....	5
2.3. Matriks Metalloproteinazlar .....	6
2.3.1. Nötrofil kollajenaz, kollejenaz-2, matriks metalloproteinaz 8 (MMP-8) .....	10
2.4. CTX .....	11
2.4.1. Periodontal Hastalıklar ve CTX.....	13
2.5. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres .....	14
2.5.1. 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) .....	17
2.6. Sistemik Hastalıklar ve Periodontitis.....	19
2.7. Diyabet.....	20
2.7.1. Diyabetin Tanısı .....	23
2.7.2. Diabetes Mellitusun Patogenezi.....	24
2.7.3. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs) .....	25

2.7.3.1. İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Reseptörleri (RAGE) .....	28
2.7.3.2. AGE, ROT ve Enflamasyon İlişkisi.....	29
2.7.3.3. AGE ROT İlişkisi .....	31
2.7.4. Diyabet ve ROT İlişkisi .....	38
2.7.5. AGE ve Enflamasyon İlişkisi.....	38
2.7.6. Diyabet AGE İlişkisi.....	39
2.7.7. Periodontitis ve DM Arasındaki İlişki .....	40
2.7.8. Diyabetin Bir Komplikasyonu Olarak Periodontitisin Patogenezi .....	41
2.7.9. Antioksidanlar ve Antioksidan Terapi.....	45
2.8. Vitamin C .....	46
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>48</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	48
3.2. Grupların Oluşturulması .....	48
3.3. Deneysel Diyabet Oluşturulması .....	48
3.4. Deneysel Periodontitis Oluşturulması .....	49
3.5. Vitamin C uygulanması .....	49
3.6. Kan Örneklerinin Alınması .....	49
3.7. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz .....	50
3.7.1. Dokuların Hazırlanması.....	50
3.7.2. Atışman Seviyesinin Histolojik Olarak İncelenmesi.....	50
3.7.3. Alveoler Kemiğin Histolojik Olarak İncelenmesi .....	51
3.7.4. İmmünohistokimyasal İnceleme .....	52
3.8. Biyokimyasal Analiz.....	53
3.8.1. Serum CTX ölçümü .....	53
3.9. İstatistiksel Analizler.....	56

<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>57</b>
4.1. IL-6 .....	57
4.2. CTX .....	60
4.3. MMP-8.....	61
4.4. 8-OHdG .....	65
4.5. AGE .....	68
4.6. Klinik Ataşman Kaybı .....	72
4.7. Alveoler Kemik Kaybı .....	73
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>74</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>86</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>88</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>100</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>100</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU</b> .....	<b>101</b>

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Taner ARABACI'ya saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, mesleki eğitimime katkılarını esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Recep ORBAK'a, Prof. Dr. Turgut DEMİR'e, Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI'ya, Doç. Dr. Alparslan DİLSİZ'e ve Yrd. Doç. Dr. Tuğba AYDIN'a, birlikte çalışmaktan ve aynı eğitim ortamını paylaşmaktan mutluluk duyduğum ve tez sürecimde ihtiyacım olan desteği bana sağlayıp yanımda olan sevgili bölüm arkadaşlarım Zeliha AYTEKİN, Gülşah UYANIK, Kübra KARAÇAM'a ve diğer asistan arkadaşlarıma, bu çalışmayı 2015/316 BAP proje numarasıyla destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, hayatım boyunca destekleriyle her daim yanımda bulduğum sevgili annem, babam ve kardeşlerime tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Ayşe TORAMAN

## ÖZET

### **Deneyisel Diyabet ve Periodontitis Oluşturulmuş Ratlarda İleri Glikasyon Son**

### **Ürünlerinin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Etkileri ve Vitamin C**

### **Uygulamasının Tedavi Edici Etkilerinin Değerlendirilmesi**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı; deneysel periodontitis ve / veya diyabet oluşturulmuş ratlarda lokal vitamin C tedavisinin; doku AGE, IL-6, 8-OHdG, MMP-8; serum CTX seviyelerine; ve alveolar kemik kaybına etkilerini değerlendirmektir.

**Materyal ve Metot:** Hayvanlar eşit sayıda 5 deney grubuna ayrılmıştır: 1) Kontrol (K), 2) DeneySEL Periodontitis (P), 3) DeneySEL Diyabet (D), 4) DeneySEL Diyabet - DeneySEL Periodontitis (D+P), 5) DeneySEL Diyabet - DeneySEL Periodontitis - Lokal Vitamin C (D+P+LvitC). Periodontitis sağ mandibular 1. molar dişlere ligatür yerleştirilmesiyle, diyabet ise alloxan monohydrate enjeksiyonu ile oluşturuldu. Deney sonunda serum örnekleri elde edilerek CTX seviyesi incelendi. Gingival dokularda AGE, IL-6, 8-OHdG, MMP-8 immunohistokimyasal ve stereolojik olarak değerlendirildi. Alveolar kemik kaybı seviyeleri histolojik dilimler üzerinde yapılan ölçümler kullanılarak belirlendi.

**Bulgular:** D+P+LvitC grubunda serum CTX seviyesinin D+P grubuna göre anlamlı derecede azaldığı belirlendi. D+P grubuna göre D+P+LvitC grubunda IL-6 ve MMP-8 pozitif hücre yoğunluğunun azaldığı ancak anlamlı olmadığı, 8-OHdG ve AGE pozitif hücre yoğunluğunun anlamlı derecede düştüğü tespit edildi. D+P grubunda da serum CTX miktarı ve gingival dokularda IL-6, MMP-8, 8-OHdG, AGE pozitif hücre yoğunluğunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı gösterildi. Alveolar kemik kaybı ve ataşman kaybının tedavi grubu dışındaki gruplara göre D+P grubunda arttığı, tedavi grubunda da azaldığı görüldü.



**Sonuç:** Deneysel periodontitis ve diyabet oluşturulmuş rat modelinde periodontal dokuda gözlenen enflamasyon, oksidatif stres ve AGE birikiminin tetiklediği doku yıkımı üzerine vit C uygulamasının iyileştirici etkilerinin bulunduğu ve vitamin C'nin glisemik kontrole yardımcı olabilmek için periodontitisin tedavisinde lokal olarak uygulanabilecek immünmodulator ve antioksidan olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Diyabet, ileri glikasyon son ürünleri, oksidatif stres, periodontitis.



## ABSTRACT

### **The Effects of Advanced Glycation End Products on Periodontal Tissue Damage in Experimental Diabetes and Periodontitis-induced Rats and Evaluation of the Therapeutic Effects of Vitamin C Application**

**Aim:** The aim of this study was to evaluate the effects of local vitamin C treatment on tissue AGE, IL-6, 8-OHdG, MMP-8; serum levels of CTX; and alveolar bone loss in experimental periodontitis and / or diabetic rats.

**Material and Method:** Animals were divided equally into five groups: 1) Control (C), 2) Experimental Periodontitis (P), 3) Experimental Diabetes (D), 4) Experimental Diabetes - Experimental Periodontitis (D+P), 5) Experimental Diabetes - Experimental Periodontitis - Lokal Vitamin C (D+P+LvitC). Periodontitis was induced by ligature placement in the right mandibular first molar teeth and diabetes was induced by streptozotocin injection. At the end of the experiment, serum samples were obtained and the level of CTX was analyzed. AGE, IL-6, 8-OHdG, MMP-8 were evaluated immunohistochemically and stereologically in gingival tissues. Levels of alveolar bone loss were determined using measurements performed on histological slices.

**Results:** Serum CTX levels decreased significantly in D+P+LvitC compared to D+P group. IL-6 and MMP-8 positive cells density decreased in the D + P + LvitC group compared to the D + P group but not significant, 8-OHDG and AGE positive cell density decreased significantly were found. Serum CTX levels and IL-6, MMP-8, 8-OHdG, AGE positive cell density in the gingival tissues were significantly increased in the D + P group compared to the control group. Alveolar bone loss and attachment loss increased in the D + P group compared to groups outside the treatment group and decreased in the treatment group.

**Conclusion:** In experimental periodontitis and diabetes rat model, beneficial effects of vit C treatment on the destruction of tissue triggered by inflammation, oxidative stress and AGE accumulation observed in periodontal tissue and vitamin C may be an immunomodulator and antioxidant that can be applied locally in the treatment of periodontitis to help control glycemic showed.

**Key Words:** Advanced glycation end product, diabetes, oxidative stress, periodontitis.



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	: 8-Hidroksideoksiguanozin
ADB	: Amerikan Diyabet Birliği
AGE	: Advanced Glication End Product
CTX	: Carboxy-Terminal crosslinked telopeptides of type 1 collagen
DM	: Diabetes Mellitus
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ESM	: Ekstrasellüler matriks
Ig	: İmmunglobulin
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
KH	: Karbonhidrat
KP	: Kronik Periodontitis
LPS	: Lipopolisaccaride
LPS	: Lipopolisaccaride
M-CSF	: Monosit- makrofaj koloni stimülan faktör
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NF-κB	: Nükleer faktör-kappa B
OPG	: Osteoprotegrin
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
PgE2	: Prostoglandin E2
RAGE	: Receptor for Advanced Glycation End Products
RANK	: Receptor activator of nuclear factor k-β
RANKL	: Receptor activator of nuclear factor k-β ligand

ROT : Reaktif oksijen türleri  
T1DM : Tip 1 Diabetes Mellitus  
T2DM : Tip 2 Diabetes Mellitus  
TIMP : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase  
TNF : Tümör Nekroz Faktör  
Zn<sup>+2</sup> : Çinko



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin düzenlenmesi ve TIMP ile ilişkisi ....	10
Şekil 2.2. Kemik remodelling döngüsü .....	13
Şekil 2.3. 8-OHdG molekülü.....	18
Şekil 2.4. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu .....	26
Şekil 2.5. Karbonil bileşikler ve AGE'nin oluşum mekanizmaları .....	27
Şekil 2.6. AGE-RAGE etkileşimi ve NF-κB aktivasyonu sonucu oluşan değişiklikler.	31
Şekil 2.7. AGE/RAGE Sisteminin Etkileri.....	32
Şekil 2.8. Glikoz metabolizmasının ROS oluşturabileceği altı biyokimyasal yol.....	33
Şekil 2.9. Polioll yolağının rolü.....	35
Şekil 2.10. Diyabet ve periodontitis arasındaki iki yönlü ilişki.....	45
Şekil 3.1. Periodontal ataşman kaybının histolojik olarak tespiti.....	51
Şekil 3.2. Mezial ve distal kemik yüzdelerinin histolojik olarak tespiti.....	51
Şekil 3.3. Stereo investigator programında optik parçalama işleminin uygulanması ....	53
Şekil 3.4. Ligatürün yerleştirilmesi .....	54
Şekil 3.5. Ligatür alındıktan sonraki periodontal yıkımı gösteren ağız içi görüntü .....	54
Şekil 3.6. 1. molar dişlerin gingival sulkusuna insülin iğnesi ile lokal vitamin C uygulanması .....	55
Şekil 3.7. İntrakardiyak kan alınması .....	55
Şekil 4.1. Grupların IL-6 değerleri .....	57
Şekil 4.2. K grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	58
Şekil 4.3. D grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	58
Şekil 4.4. P grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	59

<b>Şekil 4.5.</b> D+P grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	59
<b>Şekil 4.6.</b> D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	60
<b>Şekil 4.7.</b> Grupların CTX değerleri .....	61
<b>Şekil 4.8.</b> Grupların MMP-8 değerleri.....	62
<b>Şekil 4.9.</b> K grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	62
<b>Şekil 4.10.</b> D grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	63
<b>Şekil 4.11.</b> P grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	63
<b>Şekil 4.12.</b> D+P grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	64
<b>Şekil 4.13.</b> D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	64
<b>Şekil 4.14.</b> Grupların 8-OHdG değerleri .....	65
<b>Şekil 4.15.</b> K grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü ....	66
<b>Şekil 4.16.</b> D grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü ....	66
<b>Şekil 4.17.</b> P grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	67
<b>Şekil 4.18.</b> D+P grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	67
<b>Şekil 4.19.</b> D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	68
<b>Şekil 4.20.</b> Grupların AGE değerleri .....	69
<b>Şekil 4.21.</b> K grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	69
<b>Şekil 4.22.</b> D grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	70
<b>Şekil 4.23.</b> P grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	70
<b>Şekil 4.24.</b> D+P grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü .....	71

<b>Şekil 4.25.</b> D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü.....	71
<b>Şekil 4.26.</b> Grupların mezial ve distal ataşman kaybı değerleri .....	72
<b>Şekil 4.27.</b> Grupların mezial ve distal periodontal kemik desteği değerleri.....	73





## TABLÖLAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri .....	7
<b>Tablo 2.2.</b> Açlık plazma glukozu ölçümleri değerlendirilmesi.....	23



# 1.GİRİŞ

Periodontal hastalık, primer etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plaktaki patojen mikroorganizmalar olan ve bunlara karşı gelişen konak cevabı ile dişlerin destek dokularını etkileyerek diş kayıplarıyla sonuçlanabilen kronik seyirli bir hastalıktır.<sup>1</sup> Konak-bakteri etkileşimiyle tetiklenen immün mekanizmaların önemli bir parçası olan pro-enflamatuar sitokin seviyelerindeki artış<sup>2</sup> ve oksidatif stres periodontal doku yıkımına katkı sağlamaktadır.<sup>3</sup>

Sitokinler enflamasyonda temel role sahiptirler ve periodontal hastalıktaki anahtar enflamatuar mediatörlerdir. Periodontal hastalık patogenezinde önemli role sahip proenflamatuar sitokin olan interlökin (IL)-6 kemik rezorpsiyonunu, osteoklast gelişimini stimüle eder. IL-6 periodontal hastalıkta hücrelerde, dokularda ve diş eti oluşu sıvısı (DOS)'ında artar.<sup>4</sup> Bu proenflamatuar sitokinlerdeki artış matriks metalloproteinazlar (MMP)'ın üretimini indükler.<sup>5</sup>

MMP'ler patolojik olaylar esnasında bağdoku yıkımı ve remodelasyonunda rol oynayan, önemli bir enzim grubudur. MMP-8 (nötrofil kollajenaz veya kollajenaz-2) periodontal hastalıkta doku yıkımında rol alan polimorfonükleer lökosit (PMNL)-tip kollajenazdır. MMP-8'in kronik periodontal hastalıklarda görülen destek doku yıkımında anahtar bir rolü olduğu bulunmuştur.<sup>6,7</sup>

Periodontal hastalıkta oluşan kemik yıkımı sonucu olgun tip I kollajen parçalanır. Parçalanma ürünü olarak C-terminal telopeptit fragmanları (CTX) oluşur ve bunlarda seruma salınır. Kemik rezorpsiyonu sırasında açığa çıkan bu fragman, diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmadığı için kemik dokusuna spesifiktir. Serum CTX son derece özgül ve hassas bir kemik yıkımı belirteçidir.<sup>8</sup>

Diabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonunda eksiklik ya da insülin rezistansı ve yüksek kan glukozunu karşılayacak kadar insülinin sekrete edilememesine bağlı olarak gelişen istenmeyen hiperglisemi sonrasında karbonhidrat (KH), protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açabilen kronik bir klinik sendromdur.<sup>9</sup> Periodontal hastalıkla ilişkisi enfeksiyona hiperenflamatuvar cevap sonucu kemik yıkım ve onarımı arasındaki ilişkinin bozulmasıyla ve/ya da ileri glikasyon son ürünlerinin (AGEs) etkisiyle açıklanabilen periodontal hastalık üzerine diyabetin potansiyel etkisini ortaya koyan çalışmalar vardır ve biyolojik olarak bu etkisinin kabul edilebilirliği ortaya konmuştur.<sup>10</sup>

İnsülin direnci ve endotel fonksiyon bozukluğuna ek olarak, hiperglisemi kaynaklı oksidatif stresin periodontitisin patogenezinde rol oynadığı rapor edilmiştir.<sup>11</sup> Periodontal dokularda oksidatif hasarla birlikte meydana gelebilecek olumsuzlukların önüne geçmek için çeşitli antioksidanların kullanımı gündeme gelmiştir.<sup>12</sup> Diyabette görülen bazı değişiklikler, askorbik asit eksikliği bulunan durumlarda görülen bazı değişiklikler ile benzerdir, mesela; lökosit fonksiyon bozukluğu, oksidatif stresin artması ve kollajenin parçalanması...<sup>13</sup>

Vitamin C (askorbik asit)'nin, serum / plazma vitamin C konsantrasyonları ile periodontitis arasında ters ilişki vardır ve periodontal sağlık üzerinde rol oynadığı bilinmektedir.<sup>14</sup> Son yıllarda, periodontal olarak hastalıklı kişiler kadar sağlıklılarda da reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı antioksidan olarak C vitamininin önemini bildiren çalışmalar artmaktadır.<sup>15,16</sup>

Bu çalışmanın amacı ratlarda ligatürle oluşturulmuş periodontitis ve / veya alloxan monohidrat ile oluşturulmuş diyabetin ve lokal vitamin C tedavisinin: 1) dokuda IL-6, MMP-8, AGE, 8-OHdG; 2) serumda CTX seviyelerine; 3) periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybına etkilerini incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık, periodontopatojen bakteriler tarafından indüklenen, gingival enflamasyon, periodontal doku yıkımı ve alveoler kemik kaybının meydana geldiği kronik enflamatuvar bir hastalıktır.<sup>17</sup>

Periodontal hastalıkların ana etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plaktır. Periodontal flora ile konağın karşılıklı ilişkisi belli bir uyum ve denge içerisindedir. Dengenin bozulması periodontal hastalıkların başlamasına sebep olmaktadır.<sup>18</sup> Dental plağın yanında hastalığın başlaması ve ilerlemesinde çeşitli sistemik hastalıklar, genetik faktörler, stres ve sigara kullanımı gibi faktörlerin de etkisi vardır.<sup>19</sup> Bu etiyolojik faktörlerin etkisinde gingivitis olarak başlayan hastalık uzun yıllar periodontitise dönüşmeden kalabileceği gibi periodontal ataşman ve kemik kaybı ile seyreden periodontitise de dönüşebilir.<sup>20</sup>

#### 2.1.1. Kronik periodontitis

Kronik periodontitis, ilerleme hızı oldukça değişkenlik gösteren ama genellikle yavaş seyirli olan bir hastalıktır. Ancak konak-bakteri etkileşimi sonucu açığa çıkan iltihabi mediatörlerin lokal, sistemik ve çevresel faktörlerin varlığında artması sonucu, hızlı yıkım periyodları da gözlenebilmektedir.<sup>21, 22</sup> Supragingival ve subgingival plak birikimi, gingival enflamasyon, dişetinde renk değişikliği, stiplinglerin kaybolması, keskin olmayan yuvarlak hatlı dişeti kenarı, kendiliğinden başlayabilen veya kolayca başlatılabilen dişeti kanaması en sık görülen klinik bulgulardır. Çeşitli derinliklerde dişeti ceplerine rastlanılırken hem yatay hem de dikey yönde kemik kaybı gözlenebilmektedir. Kemik kaybının aşırı olduğu ilerlemiş durumlarda sıklıkla mobilite vardır. Kronik periodontitis vakalarında ağrı nadir görülen bir semptomdur ve periodontal apse oluşumu ile ortaya çıkar.<sup>23, 24</sup>

### **2.1.1.1. Kronik Periodontitisin Patogenezi**

Periodontitis patogenezi pek çok faktörün etkisi altındadır ve oldukça karmaşıktır. Hastalığın gelişiminde bakteriler birincil etken olmasına karşın hastalığın varlığı ve şiddetini açıklamakta tek başına yetersiz kalmaktadır. Periodontopatojenler etkilerini direkt doku yıkımına neden olarak veya indirekt olarak konak yanıtını stimüle ve modüle ederek gösterirler.<sup>25</sup>

Periodontitis, mikroorganizmaların kompleks etkileşimi ve immün sistem nedeniyle oluşur.<sup>26</sup> Artan plak miktarı ve virulan ve keystone patojen bakterilerin artışı nedeniyle enflamatuar mediatörlerin konsantrasyonu artar.<sup>27</sup> Bu mediyatörler - sitokinler, prostanoidler ve MMP'ler- gingival dokularda enflamatuar cevap oluşumunu tetiklemektedir. Periodontal dokularda pro-enflamatuar sitokinlerin konsantrasyonlarındaki artış doğrudan kemik yıkımına etki eder.<sup>28</sup>

### **2.2. Sitokinler**

Sitokinler enflamasyonda temel role sahiptirler ve periodontal hastalıktaki anahtar enflamatuar mediatörlerdir. Çözünür proteinlerdir ve bir hücreden diğerine sinyal iletirler. Hedef hücredeki spesifik reseptörlere bağlanırlar ve intrasellüler sinyalleri başlatarak değişen gen regülasyonları vasıtasıyla hücrede fenotipik değişikliklere sebep olurlar. Sitokinler çok düşük konsantrasyonlarda etkilidirler, dokularda kısa süreli üretilirler ve öncelikle üretildikleri bölgede etkilerini gösterirler. Otokrin veya parakrin etkiye sahip olabilirler ve çok sayıda hücre üzerinde pleiotropik etkilere sahiptirler. Basitçe, sitokinler hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar, hedef hücre tarafından en sonunda protein yapımına neden olacak bir seri hücre içi olayları tetiklerler, bu da hücrenin davranışını değiştirir ve örneğin pozitif feedback ile daha fazla sitokin salınımına ve enflamasyona neden olabilir.<sup>4</sup>

Sitokinler etkileri itibarı ile genel olarak iki gruba ayrılmaktadır; proenflamatuar etkili olanlar ve antienflamatuar etkili olanlar. Proenflamatuar sitokinlere örnek olarak IL-1, -6, -11, -17, tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), lökemi inhibitör faktör (LIF) ve onkostatın M verilebilir. Antienflamatuar sitokinlere örnek olarak ise IL-4, -10, -12, -13, -18 ve interferon beta (IFN- $\beta$ ) verilebilir.<sup>29</sup>

IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  periodontal hastalık patogeneğinde önemli role sahip proenflamatuar sitokinlerdir.<sup>30, 31</sup> Bu sitokinler bakteriyel endotoksinlere cevaben başta aktive olmuş makrofajlar ve lenfositler olmak üzere mast hücreleri, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücrelerinden de salınmaktadırlar.<sup>31</sup>

### **2.2.1. IL-6 ve Bağlantılı Sitokinler**

IL-6, IL-11, LIF ve onkostatın M'nin içinde bulunduğu bu sitokin grubu glikoprotein(gp) 130 sinyal düzenleyici aracılığıyla ortak sinyal yollarına sahiptirler. IL-6 bu grupta en fazla çalışılan sitokindir ve pleyiotropik proenflamatuar özelliklere sahiptir.<sup>4</sup> IL-6 ayrıca 26-kDa protein olarak da isimlendirilmektedir.<sup>32</sup>

IL-6 reseptörü 80-kDa bağlı protein ve sinyal dönüştürücü 130-kDa protein olmak üzere iki molekülden oluşur.<sup>33</sup> IL-6 sekresyonu IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler tarafından stimüle edilir ve T hücre, B hücre, makrofaj, dendritik hücreler, keratinosit, endotel hücreler ve fibroblastlar gibi birçok immün hücre tarafından üretilir. Akut faz protein sentezinin stimülasyonunda, kompleman sisteminin aktivasyonunda, T lenfositlerin proliferasyonunda, B lenfositlerin farklılaşması ve bu hücrelerden antikor üretiminde rol oynamaktadır.<sup>34</sup> Bu sitokin "lenfoid" olan ve olmayan hücreler tarafından üretilir, fare ve insanda "pre-aktif" B lenfositlerinde Ig üretimini artırır. Sonunda B lenfositlerin olgunlaşmalarını sağlar ve bu hücreler yüksek düzeyde Ig sentezleyen hücreler haline dönüşür.<sup>35</sup> IL-6 ayrıca osteoblastlar tarafından salgılanır, kemik rezorpsiyonunu ve osteoklast gelişimini stimüle eder. Periodontal hastalıkta hücrelerde,

dokularda ve DOS'ta artar. IL-6 periodontal hastalıkta monositlerin osteoklastlara farklılaşmasında ve kemik rezorpsiyonunda etkisi vardır. Ayrıca B ve T hücrelerin (özellikle de Th17'nin) çoğalmasında ve farklılaşmasında anahtar rolü vardır. Hepatositlerden akut faz proteinlerinin üretimini stimüle ederek akut faz cevaba katkı sağlar. Kemik iliğindeki progenitör hücrelerin nötrofillere diferansiye olmasını, B hücrelerin plasma hücrelere dönüşüp antijen salgılayabilmesini uyarır. IL17'nin üretimini stimüle ederek hücre aracılı immün cevaba katkı sağlar. Regülatör T hücre üretimi ve aktivasyonunu inhibe eder.<sup>4</sup> Franch-Chillida ve ark. çalışmalarında periodontitis ile IL-6 polimorfizmi arasında ilişki olduğunu rapor etmişlerdir.<sup>36</sup>

### **2.3. Matriks Metalloproteinazlar**

MMP'ler ekstrasellüler matriks (ESM) makromoleküllerinin büyük kısmını yıkabilen nötr, metale bağımlı endopeptidaz grubudur. Tüm MMP'ler katalitik bölgelerinde  $Zn^{+2}$  içerirler ve aktivitelerinin stabilizasyonu için  $Ca^{+2}$  gerekir.  $Zn^{+2}$  iyonu içermesi nedeniyle şelatlayıcı ajanlar ile inhibe olabilirler ve latent formda salgılanırlar. Proteolitik işlevlerini gerçekleştirebilmeleri için aktive olmalıdırlar. Bazı bileşenlerle in vitro olarak aktive olabilirler ve ESM bileşenlerini yıkıma uğratırlar.<sup>37</sup>

ESM, hücrelerarası boşlukları dolduran dinamik bir yapıdır ve hücreler arasında özel bir ortam oluşturur.<sup>38</sup> ESM'yi oluşturan yapılar; tip 4 kollajen, laminin, elastin gibi fibröz proteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardır ki bunlar aynı zamanda bazal membranın yapısını oluşturur. Bazal membran ise dokular arasında bariyer görevi üstlenir ve tüm dokularda bulunur.<sup>39</sup> MMP'ler fetal gelişim, postnatal doku tamiri gibi durumlarda, ESM'nin yeniden yapılanmasında görev almaktadırlar. Fizyolojik koşullarda proteinlerin remodelinginden, patolojik koşullarda ise yıkımından sorumludurlar. Periodontitis, derinin otoimmün olayları, kronik ülserasyonlar, romatoid artrit ve osteoartrit gibi bazı kronik patolojik durumlarda da ESM'nin MMP'ler

tarafından yıkımı meydana gelmektedir.<sup>40</sup> Fibroblastlar, epitel hücreleri, kemik hücreleri gibi konağa ait çeşitli doku hücreleri ve nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri gibi periodonsiyuma infiltre olan savunma hücreleri tarafından sentezlenip salgılanırlar. Periodontal dokularda dişeti ve periodontal ligament fibroblastları tarafından salgılananlar, normal doku turnoverında rol oynarlar. Nötrofil, makrofaj ve plazma hücreleri gibi enflamatuar hücreler tarafından ve epitel hücrelerinden salgılanan MMP'ler bağlantı epitelinin apikale migrasyonuna ve laterale doğru genişlemesine neden olurlar.<sup>41</sup>

MMP'lerin terminolojisi her enzimin kendine özgü substratına göre belirlenmiştir. Fakat MMP'lerin birçok substratı parçaladığı ortaya çıkmıştır ve farklı MMP'lerin benzer substratları parçalayabildiği bulunmuştur. Substrat-bazlı sınıflama hala kullanılmaktadır fakat MMP'ler kolajenaz, jelatinaz/tip4 kolajenazlar, stromelisinler, matrilisinler, membran tipi metalloproteinazlar ve diğerleri olmak üzere sınıflara ayrılır. Latent formda salgılanan enzimler, bir kısmının proteolitik bölünmesiyle aktive olurlar. Bu, nötrofillerin ürettiği katepsin G gibi proteazlar tarafından gerçekleştirilir.

**Tablo 2.1.** İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri

Grup	Enzim	Adı	Etki ettiği substrat
Kolajenazlar	MMP-1	Kolajenaz 1, fibroblast kolajenaz	Kollajen tip I, II, III, VII, X
	MMP-8	Kolajenaz 2, Nötrofil kolajenaz	Kollajen tip I, II, III
	MMP-13	Kolajenaz 3	Kollajen tip I, II, III, IV, gelatin
	MMP-18	Kolajenaz 4	
Jelatinazlar	MMP-2	Jelatinaz A	Jelatin, kollajen IV, V, VII, X, elastin, fibronektin
	MMP-9	Jelatinaz B	Jelatin, kollajen tip IV, V, I, III



			fibronektin, elastin
Stromelisinler	MMP-3	Stromelisin 1	Kollajen tip III, IV, V, IX, proteoglikanlar, fibronektin
	MMP-10	Stromelisin 2	Jelatin, tip III, IV, V kollajen
	MMP-11	Stromelisin 3	$\alpha$ 1 proteinaz inhibitörleridir
Matrilisinler	MMP-7	Matrilisin 1	Jelatin, fibronektin, elastin, kollajen tip IV
	MMP-26	Matrilisin 2/Endometaz	
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP)	MMP-14	MT1-MMP	Pro MMP-2, pro MMP-13,
	MMP-15	MT2-MMP	MT1-MMP ile benzerdir.
	MMP-16	MT3-MMP	Pro MMP-2
	MMP-17	MT4-MMP	Pro MMP-2
	MMP-24	MT5-MMP	Pro MMP-2
	MMP-25	MT6-MMP	
Diğerleri	MMP-12	Makrofaj elastaz/metalloelastaz	Elastin, fibronektin, kazein
	MMP-19	RASI, Stromelizin	
	MMP-20	Enamelizin	

MMP'ler antiinflamatuvar özellikleri olan proteinaz inhibitörleri tarafından inhibe olurlar. Serumdaki MMP'lerin anahtar inhibitörleri olan ve karaciğer tarafından üretilen glikoprotein- $\alpha$ <sub>1</sub>, antitripsin ve  $\alpha$ <sub>2</sub>-makroglobulin, birçok proteinaz çeşidini inhibe edebilme yeteneğinde olan büyük plazma proteinlerdir. Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMP) birçok hücre tipi tarafından üretilir, periodontal hastalıkta en önemlisi ise TIMP-1'dir.<sup>4</sup> TIMP'lar, moleküler ağırlıkları 21–30 kDa arasında değişen çözülebilir proteinlerdir. 4 tipi tanımlanmış olan bu proteinler aktive olmuş MMP'ler ile güçlü, reversible, nonkovalent

kompleksler oluşturup, MMP katalitik bölgesini etkileyerek enzim aktivitesini inhibe ederler.<sup>42</sup>

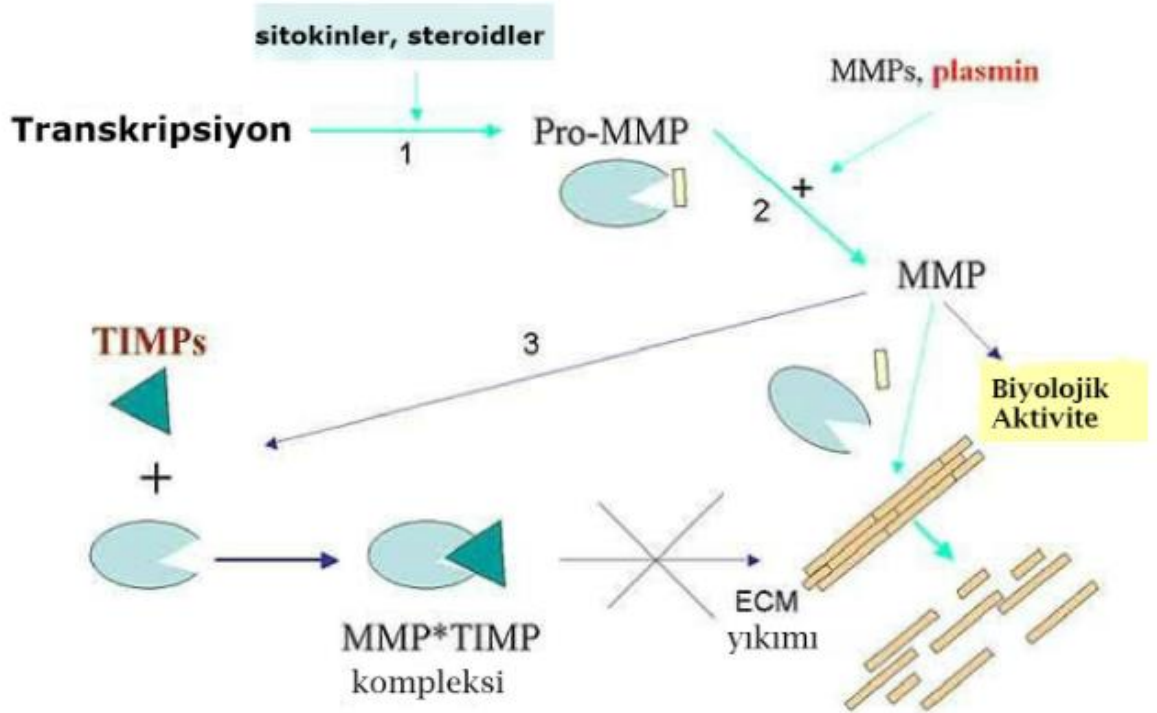
MMP'ler gibi TIMP'lar de makrofajlar, kan hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve endotel hücreleri tarafından üretilirler.<sup>43</sup> MMP'lerin salgılanması, fizyolojik ve patolojik durumlarda meydana gelen doku yapılanması sırasında artmaktadır. Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'ların üretimini aşarsa MMP'ler ve TIMP'lar arasındaki denge bozulmaktadır.<sup>44</sup> MMP üretimi ve faaliyetlerinin artması matriksin yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna sebep olmaktadır.<sup>45</sup>

MMP aktivitesi en az 3 seviyede sıkı bir şekilde kontrol edilir:

- 1) Transkripsiyon,
- 2) Zimojen enzim formunun proteolitik aktivasyonu
- 3) Aktif enzimin doğal inhibitörler aracılığıyla inhibisyonu

Birçok büyüme faktörü, sitokinler ve hormonlar MMP ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenlerler. Proenflamatuar sitokinler MMP üretimini indükleyebilirken, IL-10, retinoik asit, glukokortikoidler ve steroidler bazı MMP'lerin ekspresyonunu negatif yönde etkiler.<sup>5</sup>

# Metalloproteinaz Sistem



Şekil 2.1. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin düzenlenmesi ve TIMP ile ilişkisi<sup>46</sup>  
(www.bioscience.org)

## 2.3.1. Nötrofil kollajenaz, kollejenaz-2, matriks metalloproteinaz 8 (MMP-

8):

75 kDa büyüklüğünde bir proenzim olan MMP-8'in aktif formunun büyüklüğü 58 kDa'dur. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar ve diğer interstisyel kollajenazdan farklı bir genden derive edilir. MMP-8'de MMP-1'de bulunmayan altı glikozilasyon bölgesi vardır. Bundan dolayı nötrofil kollajenaz artmış glikozilasyondan sorumludur. MMP-8 başlıca PMNL tarafından sentezlenir.<sup>7</sup>

MMP-8, kemik iliğindeki PMN'lerin olgunlaşması sırasında sentezlenir, daha sonra glikozile olur ve subsellüler spesifik granüller içinde depolanır. Uygun tetikleyici uyarılar olunca da bunlara yanıt olarak selektif degranülasyon sonucunda buradan salınabilir.<sup>47</sup> PMNL-tipi MMP-8, fibroblast-tipi MMP-8 de dahil olmak üzere diğer

MMP'lerden daha glikoziledir. PMNL-tipi MMP-8'in bu karbonhidrat parçasının PMNL'in intrasellüler spesifik granüller içine kendi subsellüler bölgesini yönlendiren hedefleme sinyalleri gibi hareket ettiği düşünülür<sup>48, 49</sup> ve bu reaktif oksijen türleri tarafından aktivasyon ve inaktivasyona karşı PMNL-tipi MMP-8'in duyarlılığını açıklayabilir.<sup>49, 50</sup> MMP-8 ayrıca artiküler kondrositler tarafından ve bronşit, astım, periodontitis ve artrit gibi çeşitli enflamatuvar süreçlerde yerleşik sinoviyal ve gingival fibroblastlar, epitel hücreleri / keratinositler, odontoblastlar, oral kanser hücreleri, monosit / makrofajlar ve plazma hücreleri tarafından üretilebilir (de novo olarak salınır).<sup>51, 52</sup>

Hem MMP-1 hem de MMP-8'in periodontal hastalıkta ESM'i yıkan major interstisyel kollajenaz olduğu rapor edilmiştir, MMP-8 kronik periodontitiste kollajenazın predominant formudur. Periodontal dokulardaki en yaygın tip kollajen olan tip 1 kollajenin yıkımından sorumludur.<sup>6</sup> Aynı zamanda MMP-8 periodontitiste agresif kemik yıkımından sorumludur ve bu enzimin seviyelerindeki artış, şiddetli periodontal enflamasyonla ilişkilendirilmiştir.<sup>6, 7</sup> Kanıtlar dişeti oluğu sıvısı ve tükürükte MMP-1 ve -8 miktarının periodontal hastalık sırasında yükseldiğini ve periodontal tedavi sonrası azaldığını gösterir.<sup>53, 54</sup>

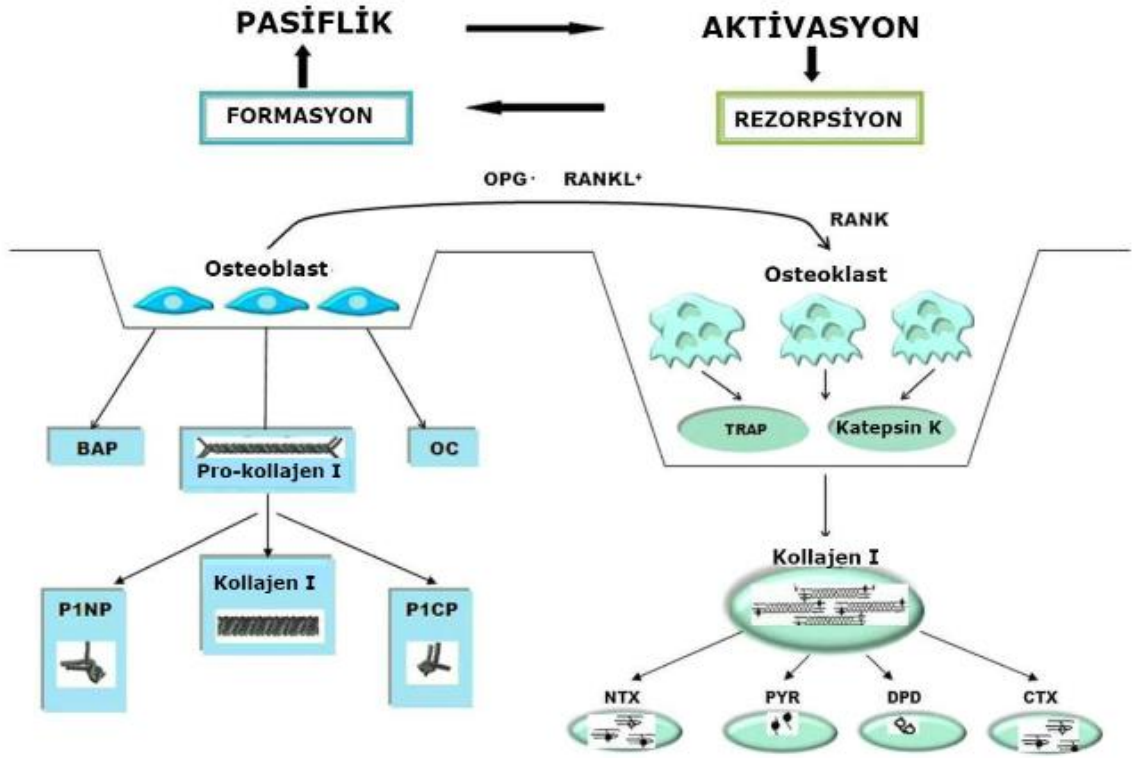
#### **2.4. CTX**

Kemik, osteoklastlar tarafından yıkılıp yerine osteoblastlar tarafından oluşturularak yeniden yapılanan dinamik bir sert dokudur. Fizyolojik şartlarda kemik yıkımı ve yapımı arasında denge vardır. Ancak patolojik olaylarda bu denge bozulmaktadır.<sup>55</sup>

Normal kemik metabolizması sırasında, olgun tip I kollajen parçalanır ve küçük fragmanları seruma geçip idrar ile atılır. Fizyolojik veya patolojik olarak artmış kemik rezorpsiyonunda fazla derecede tip I kollajen parçalanır ve kanda kollajen

fragmanlarının seviyesinde orantılı bir yükselme olur. Osteoklastlar tarafından tip I kollajenin yıkımı sırasında, N- ve C-terminal telopeptit fragmanları (sırasıyla NTX ve CTX) dolaşıma salınır.<sup>56</sup>

CTX, en çok çalışılan ve kullanılan kemik yıkımı belirteçlerinden biridir. CTX, rasemizasyon ve izomerizasyon olarak bilinen post-translasyonel modifikasyonlara uğrar. Bu işlemler CTX'in dört izomerini meydana getirir: ( $\alpha$ -L) doğal form ve izomerize form ( $\hat{\alpha}$ -L), rasemize olmuş form ( $\alpha$ -D) , izomerize / rasemize olmuş ( $\hat{\alpha}$ -D) form olan yaşla ilgili diğer üç formdur.  $\alpha$  CTX /  $\hat{\alpha}$  CTX oranının artışı, hızlanmış kemik turnover ile ilişkili olduğu için bu izomerlerin oranı bilgi vericidir.<sup>57</sup> Tip 1 kollajenin CTX fragmanı, kollajenin C-terminal telopeptid bölgesindeki  $\alpha$ 1 zinciri ile diğer kollajen molekülünün  $\alpha$ 1 veya  $\alpha$ 2 zinciri arasındadır. Kemik matriksin  $\beta$  izomerizasyonu ile C terminal telopeptidlerde bulunan  $\alpha$ -aspartik asit kemiğin yaşlanması ile  $\beta$ -aspartik aside dönüşür. Kemik rezorpsiyonu sırasında açığa çıkan bu fragman, diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmadığı için kemik dokusuna spesifiktir. Serum CTX son derece özgül ve hassas bir kemik yıkımı belirteçidir.<sup>8, 58</sup>



**Şekil 2.2.** Kemik remodelling döngüsü<sup>59</sup>

Kemik yenileme döngüsü 150-200 gün sürer ve öncelikle osteoblast öncüllerinin farklılaşmasını ve olgunlaşmasını sağlayan osteoblastik sinyaller aracılık eder. Aktive edilmiş osteoklastlar, inorganik matrisi çözmek için düşük pH'a sahip rezervuar çukurları oluştururlar ve TRAP ve katepsin K gibi lizozomal enzimler, spesifik bozunma ürünlerini salarak korumasız tip-1 kollajeni etkili bir şekilde sindirirler. Tip-1 kollajenin parçalanması sonucu NTX, PYR, CTX, DPD gibi küçük fragmanlar açığa çıkar. Osteoblastlar bu aşınmış yüzeye çekilir ve yeni osteoid oluşturmaya başlar. Osteoblastlarda bol miktarda bulunan tip 1 kollajen, propeptitlerin kana salınması için amino ve karboksi uçlarından ikiye bölünerek hücre dışı boşluğa bir prokollajen öncü molekülü olarak salgılanır. Başlangıçta hidroksiapatit kristalleri osteoidde birikir, birkaç ay boyunca daha yavaş bir mineralizasyon süreci devam eder ve bunu bir duraklama dönemi takip eder. Temel bir osteoklastojenik sitokin olan RANKL, osteoblastların yüzeyinde eksprese edilir, pre-osteoklastlar üzerindeki hücresele reseptör RANK'a bağlanır ve bunların farklılaşmasını ve aktivasyonunu teşvik eder. RANKL için bir tuzak reseptörü olan OPG, osteoblastlar ve diğer stromal türevli hücreler tarafından salgılanır ve RANK'a bağlanarak osteoklastik aktiviteyi önleyerek kemik rezorpsiyonunu azaltır.

#### 2.4.1. Periodontal Hastalıklar ve CTX

Kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste, patojene karşı konağın verdiği karmaşık bir immün yanıt sonucu kollojen ve alveol kemiği yıkımı görülmektedir. Periodontitiste oluşan enflamatuvar yanıtla birlikte kemik yıkımının bulunması patogenezi ile alakalı araştırmaların 'osteoinmünoloji' disiplini içinde yerini almasına sebep olmuştur. Periodontitiste, gingival dokularda lenfosit (T ve B

lenfositler), makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu görülür. Bu enflamatuvar hücrelerin stromal hücrelerle (osteoblastlar, periodontal ligament ve gingival fibroblastlar) ilişkisini anlayabilmek hastalığın patogenezini anlayabilmek açısından önemlidir. RANKL üretiminin uyarılmasını sağlayan makrofajlar ve T lenfositler, IL-1,-6, TNF- $\alpha$ , PGE2 gibi sitokinler osteoblastlardan salgılandığı gibi, T lenfositlerde direkt RANKL salgılanarak da osteoklast farklılaşması uyarılabilir.<sup>60</sup> Osteoklastlar, ana kemik degradasyon hücreleridir ve kollajeni rezorbe etme kabiliyeti, katepsin-K'ya oldukça bağımlıdır. Bu sistein proteazı, tercihen asidik pH'da hareket eder, tip I kollajenin yıkımı sırasında CTX ve NTX üretir.<sup>61</sup> Yapılan bazı çalışmalarda deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda alveoler kemik kaybına bağlı olarak serum CTX düzeylerinin anlamlı derecede arttığı bulunmuştur.<sup>62, 63</sup>

## **2.5. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres**

Canlı organizmalar için hayati öneme sahip biyokimyasal tepkimeler sırasında oksijen indirgenerek birçok dokuda oksidatif hasara sebep olabilecek ara ürünler meydana gelir. Bu ara ürünlerden oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen, bazen enzimlerin aktif yerinden sızarak moleküler oksijenle etkileşime girer ve serbest oksijen radikallerini oluştururlar.<sup>64</sup>

Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen yazarların üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir.<sup>65</sup> Eşleşmemiş elektronundan dolayı serbest radikaller kararsız moleküllerdir. Kararlı yapı oluşturabilmeleri için eşleşmemiş elektronlarını başka bir elektronla eşleştirmeleri gerekir. Bir moleküle saldırdığında onun elektronunu çalar ve okside ederek yeni bir serbest radikal oluşumuna neden olur.<sup>66</sup> ROT teriminin daha çok

kullanılmasının sebebi, gerçek radikal olmayıp ancak hücre içi ve dışında radikal oluşturma kabiliyetine sahip diğer reaktif türleri kapsamından dolayıdır.<sup>14</sup>

Canlı ROT'lara maruz kaldığında, vücut sıvılarında ve hücre membranlarındaki antioksidan adı verilen maddeler, serbest radikalleri nötralize ederek organizmanın zarar görmesini engellemektedirler. Eğer serbest radikallerdeki artış nötralize olma kapasitesinden daha fazla ise radikaller hücrel içeriklere saldırmaktadır.<sup>67</sup> Normal hücrel metabolizmanın ürünleri olan ROT ve RNT hem zarar hem de fayda yönünden ikili bir role sahiptir. Düşük ve orta düzeydeki konsantrasyonlarında ROT'un faydalı etkileri ortaya çıkar. Çeşitli enfeksiyon ajanlarına karşı savunmada etkilidirler. Ayrıca birçok hücrel sinyal sistemlerinin fonksiyonunda fizyolojik rolleri vardır ve bu konsantrasyonlarda mitojenik cevabı indükler.<sup>68</sup> Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gereklidir.<sup>69</sup> Serbest radikallerin neden olduğu potansiyel biyolojik hasar "oksidatif stres" olarak adlandırılır ve serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümüne neden olmaktadır.<sup>68</sup>

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge halindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Bu dengenin serbest radikaller lehine bozulmasına 'oksidatif stres' denir. Serbest radikaller hücrelerin önemli bileşikleri olan lipid, protein, DNA, karbohidratları etkilerler ve yapılarında bozulmaya neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki ROT, süperoksit anyonu ( $2O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $HO\cdot$ ), nitrik oksit ( $NO\cdot$ ), peroksil radikali ( $ROO\cdot$ ) ve serbest radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi ürünler oksidatif stresin en önemli nedenlerindedir.<sup>70</sup>

ROT'u oluşturan eksojen kaynaklar arasında; 1) Isı, 2) travma, 3) ultrason, 4) ultraviyole ışık, 5) ozon, 6) sigara içme, 7) egsoz dumanı, 8) radyasyon, 9) enfeksiyon,



10) aşırı egzersiz ve 11) terapötik ilaçlar bulunmaktadır. Endojen kaynaklar ise: 1) süperoksit oluşturan mitokondrial elektron transport sistemlerinden elektron kaçması, “bi-product of metabolic pathways”, 2) konak savunma hücreleri (fagositler) ve bağdokusu hücrelerinin (osteoklast, fibroblast) fonksiyon görmesi olarak sıralanabilir.<sup>14</sup>

Fagositik lökositler olan nötrofiller, eosinofiller, monosit ve makrofajların asıl işlevi mikroorganizmaları yok etmektir. Bu görevi gerçekleştirebilmeleri için bu hücreler bol miktarda toksik ROT üretebilme yeteneğine sahiptirler. Normal hücreSEL metabolizmada zaten bol miktarda üretilen bu türlerin enflamasyon sırasında miktarında anlamlı ölçüde artış görülür.<sup>71</sup> Kültürde incelendiğinde sağlıklı dişeti ve periodontal ligamentte bulunan fibroblastların kendiliğinden ROT üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir.<sup>14</sup> ROT ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. Eğer bu denge ROT lehine hafif bir eğilim gösterirse oksidatif stres düşük düzeyde olur. NF-κB ve aktive edici protein-1 gibi gen yazılım faktörlerini bu az miktardaki değişim uyarır. Sonuçta bunlar pro-enflamatuar sitokinlerin sentezini artırarak enflamatuar olayın şiddetlenmesine yol açıp dolaylı olarak doku hasarına neden olur. Redoks durumu antioksidanlar lehine değiştiği durumda antioksidanlar bu gen yazılım faktörlerini baskılar ve enflamasyonu azaltır. ROT'un yüksek konsantrasyonları doğrudan doku hasarına yol açabilir.<sup>72</sup>

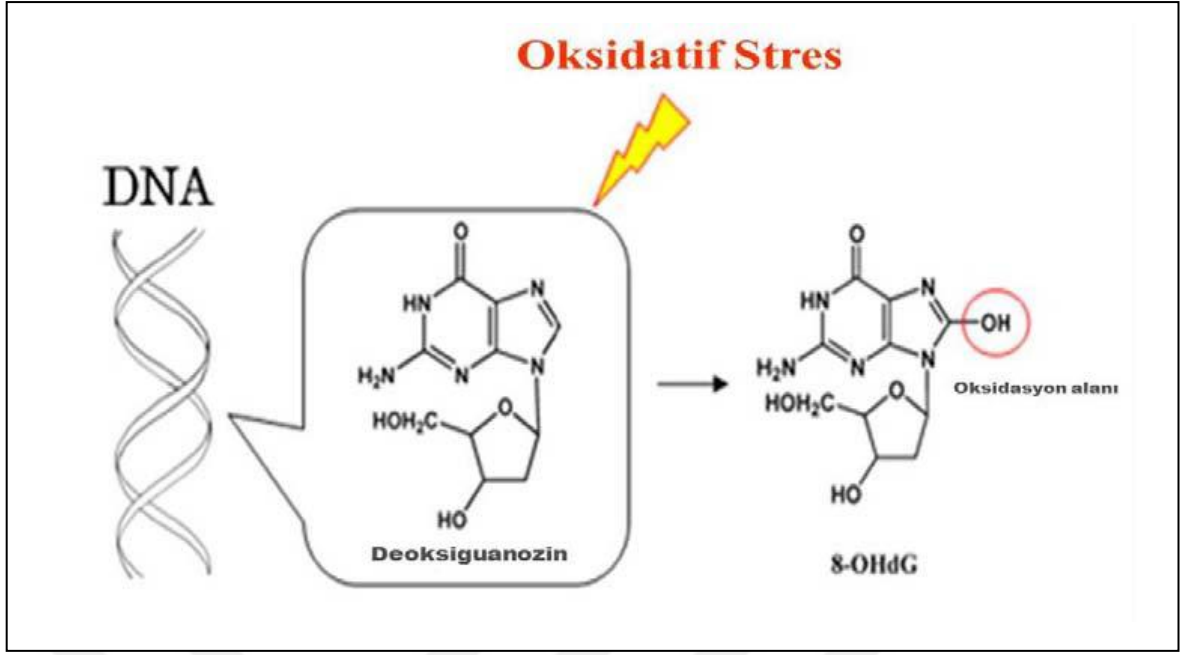
Nötrofiller tarafından ROT üretimi için minimum oksijen basıncı yaklaşık %1 ve pH 7,0-7,5 olmalıdır. Periodontal cep içinde bu şartlar mevcuttur. Bu bilgiye dayanılarak kronik veya aşırı ROT üretiminin periodontal doku hasarında önemli olabileceği ileri sürülmektedir. İn vitro olarak ROT tip-1 kollajen üzerinde proteoliz eğilimini değişik derecelerde artırmak yönünde etki eder. Kollajen yüksek pirolin/hidroksi pirolin içeriğinden dolayı ROT'lardan kolayca etkilenir.

Konak ve bakteri kollajenazları tarafından gerçekleştirilen proteolizis sonucu DOS içinde kollajen metabolitlerinin varlığı gözlenebilir. Oksidatif hasar doğrudan ya da dolaylı olarak bu üretime katkıda bulunabilir. Reaktif oksijenin osteoklastları aktive ettiği ve bu hücrelerin oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Osteoklastların ürettiği ROT'ların doku yıkımında doğrudan rol oynadığı öne sürülmektedir.<sup>14</sup>

Çeşitli pro-enflamatuar sitokinler (TNF- $\alpha$ , granulosit-makrofaj kolonisini stimüle eden faktör, IL-8, IL-1,IL-6), büyüme faktörleri ve lipopolisakkaritlerin nötrofilin oksidatif mekanizmasını tetikleyici etkileri vardır.<sup>73</sup> Sitokinlerin, nötrofillerin solunum patlama aktivitesini ayarladığı ve dokular içinde oksidatif stresin belirlenmesinde lokal bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür.<sup>14</sup>

### **2.5.1. 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)**

8-OHdG, ROT'un DNA'da yaptığı yaklaşık 23 tane oksidatif baz hasar ürününden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinenidir. Oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak ilk defa Kasai ve Nishimura(1984) tarafından tespit edilmiştir. ROT'un DNA bileşenleri içerisinde başlıca hedefi guanindir, çünkü en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bileşiktir.<sup>74</sup> 8-OHdG formasyonundan tekli oksijen, fotodinamik hareketler veya hidroksil radikalleri sorumludur.<sup>75</sup> Biyolojik sistemlerde en güçlü ROT olan OH'in, guanin molekülünün 8. pozisyonuna eklenmesiyle oluşmaktadır. ROT, periodontal doku hücrelerinde aşırı DNA hasarına neden olmaktadır.<sup>76</sup>



**Şekil 2.3.** 8-OHdG molekülü (<http://en.ori-japan.com>)

Bu yaralanmanın sonrasında DNA tamiriyle vücut sıvılarında bulunan DNA hasarını gösteren en belirleyici biyolojik marker, bir oksidize nükleosit olan 8-OHdG'dir. Bu nedenle kronik iltihabi hastalıklar gibi problemlerde oksidatif DNA hasarını değerlendirmek için biyomarker olarak genellikle 8-OHdG kullanılmaktadır.<sup>14, 77, 78</sup> Kanser, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve kronik enflamatuvar durumlar gibi birçok hastalıkta 8-OHdG seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir.<sup>75</sup>

Periodontitis varlığında tükürük 8-OHdG seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.<sup>79</sup> Ayrıca tükürükte yüksek 8-OHdG seviyeleri ve düşük antioksidan aktivitesinin periodontal enflamasyonda artmış oksijen radikal aktivitesini yansıttığını ileri sürmüşlerdir.<sup>77</sup> DNA ile ROT reaksiyonu sonucu oluşan belirteçler ile ilişkili periodontitis çalışmaları son dönemde önem kazanmıştır.

DNA'nın oksidatif yaralanmasını değerlendiren çalışmaların çoğu, ELISA yöntemiyle tükürük ve kanda 8-OHdG'nin belirlenmesi ile yapılmıştır. Kronik periodontitisli bireylerde tükürük 8-OHdG seviyelerinin yüksek olduğu ve başarılı periodontal tedaviden sonra seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir.<sup>75, 77</sup> Yapılan başka bir

çalışmada ise kronik periodontitisli bireylerde 8-OHdG'nin dişeti oluğu sıvısı seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğu ve başlangıç tedavisinden sonra azaldığı gösterilmiştir.<sup>80</sup>

Ayrıca 8-OHdG seviyelerinin, *P.gingivalis* varlığı ve oranı ile ilişkili olduğu<sup>81</sup>, kronik periodontitisli bireylerde *Porphyromonas gingivalis* (PG), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Treponema denticola* (TD), ve *Tannerella forsythia* (TF) varlığında 8-OHdG seviyelerinde ciddi artış olduğu<sup>3</sup> ileri sürülmüştür.

## 2.6. Sistemik Hastalıklar ve Periodontitis

Günümüzde iyi bilinmektedir ki, periodontal hastalık baskın olarak dental biyofilm ya da dental plakla ilgili bir bakteriyel enfeksiyondur.<sup>82</sup> Konağa bağlı savunma sistemindeki farklılıklar, sistemik ve genetik etkenler, bölgesel olarak plağın mikrobiyal içeriği gibi kazanılmış ve çevresel risklerin etkisi altında hastalığın yıkım şiddetinde değişiklikler olur.<sup>83</sup> Periodontal hastalığın meydana gelmesinde çevresel, davranışsal veya biyolojik olarak hastalığın seyrini değiştirebilen durumlar “*risk faktörleri*” olarak tanımlanır. Periodontal hastalık için risk faktörleri, anlaşılması ve sunum kolaylığı için aşağıdaki gibi gruplandırılmıştır<sup>82</sup>:

1- Cinsiyet, sigara ve alkol gibi bireyin yaşam tarzı

2- DM

3- Obezite ve metabolik sendrom

4- Osteoporosis, kalsiyum diyeti ve vitamin D

5- Stres

6- Genetik faktörler

Özellikle diyabet ve periodontitis arasında çift yönlü bir ilişki olduğu ve tedavilerinin birlikte yapılmasının gerekliliği belirtilmektedir.<sup>84, 85</sup>

## 2.7. Diyabet

DM, insülin sekresyonunda eksiklik ya da insülin rezistansı ve yüksek kan glukozunu karşılayacak kadar insülinin sekrete edilememesine bağlı olarak gelişen istenmeyen hiperglisemi sonrasında KH, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açabilen kronik bir klinik sendromdur.<sup>9</sup> DM dünya genelinde prevalansı son yıllarda oldukça hızlı artış gösteren hatta bazı bölgelerde epidemik olan bir halk sağlığı problemidir. Son yıllardaki bu dramatik artışa neden olarak, genetik faktörlerin yanında yaşam süresinin uzaması, obezite, fiziksel inaktivite ve sağlıksız beslenme gösterilebilir.<sup>86</sup> Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) en son ki raporunda, dünya genelinde DM tanısı konmuş kişi sayısının ortalama 171 milyon olduğunu bildirmiş ve 2030 yıllarında bu rakamın 366 milyon civarında olacağını tahmin etmektedir.<sup>87</sup> Türk toplumunda prevalans; yakın zamanda yayımlanan TURDEP-II çalışmasında 20 yaş üzerinde 26.499 kişi incelenmiş ve tip 2 diyabet sıklığının geçen yıllarda önemli derecede arttığı ve %13.7' ye vardığı görülmüştür.<sup>88</sup>

Klasik semptomları çok su içme “*polydypsia*”, çok sık idrara çıkma “*polyuria*” ve kilo kaybıdır. DM vakalarında uzun süren hiperglisemi sonucu kan damarları, kalp, göz, sinirler ve böbrek gibi çeşitli organlarda hasar meydana gelebilir. Genel olarak güç kaybı ve yorgunluk hissi de görülebilir.<sup>89</sup>

Amerikan Diyabet Birliği (ADB) diyabeti aşağıdaki genel kategoride sınıflandırmıştır<sup>90</sup>:

1. Tip 1 diyabet ( $\beta$  hücre yıkımına bağlı, genellikle tam insülin eksikliğine yol açar)
2. Tip 2 diyabet (arka planda insülin drenajının olduğu insülin sekresyonun kademeli azalmasına bağlı)
3. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) (gebeliğin 2. ve 3. trimesterında teşhis edilen diyabet, tam belirgin olmayan diyabet)

#### 4. Diğer nedenlere bağlı diyabetin spesifik tipleri,

a. Monogeni diyabet sendromu, pankreatik  $\beta$  -hücre fonksiyonundaki genetik defektler (neonatal diyabet ve maturity-onset diabetes of the young [MODY]);

- MODY 1 (HNF-4alpha) ; nadir
- MODY 2 (glucokinase) ; daha az nadir
- MODY 3 (HNF-1alpha) ; Tüm MODY'lerin üçte ikisi kadar
- MODY 4 (PDX1) ; çok nadir
- MODY 5 (HNF-1beta) ; çok nadir
- MODY 6 (neuroD1); çok nadir
- Mitokondrial DNA

b. İnsülin aktivitesindeki genetik defektler;

- Tip A insülin direnci,
- Leprechaunizm,
- Rabson-Mendenhall sendromu,
- Lipoatrofik diyabet,

c. Ekzokrin pankreas hastalıkları (sistik fibrozis gibi),

d. İlaç ve kimyasal maddelere bağlı gelişen diyabet (glukokortikoid kullanımı, organ transplantasyonundan sonra yada HIV/AIDS'in tedavisinde)

Diyabetin en sık görülen tipleri Tip 1, Tip 2 ve hamilelikte görülen diyabettir.

**Tip 1 DM:** Pankreatik  $\beta$  hücre adacıklarının yıkımının neden olduğu Tip 1 DM'de ağırlıklı olarak vakaların % 95'inden fazlası otoimmün süreç (tip 1A) ve <% 5'i idiopattir. Pankreatik  $\beta$  hücre yıkım hızı oldukça değişkendir, bazı kişilerde hızlı olurken bazılarında yavaştır. Tip 1 DM tedavi edilmemiş vakalarda genellikle ketozis ile ilişkilidir. Herhangi bir yaşta görülür ama okul çağı öncesi en yüksek insidans ile çocuklar ve genç yetişkinlerde çok yaygın olarak ortaya çıkar ve ergenlik döneminde

tekrarlar.<sup>9</sup> Önceleri; juvenil onset diabetes, insüline bağlı diyabet “*insulin dependent diabetes mellitus*” (IDDM) olarak adlandırılan immün aracılı Tip 1 DM tüm DM tiplerinin % 5-10’unu oluşturur ve pankreatik  $\beta$  hücrelerinin hücre-aracılı-otoimmün yıkımından dolayı olmaktadır. Otoimmün markerlar adacık hücresi otoantikorları, insülin antikorları, glutamik asit dekarboksilaz antikorları ve tirozin fosfataz antikorlarını kapsamaktadır. Tip 1 DM bu markerların biri veya birkaçıyla tanımlanır. Yeni doğanlarda ve çocuklarda  $\beta$  hücrelerindeki yıkım hızlı olmasına karşın, yetişkinlerde daha yavaş gelişir. Çocuklarda ve adölesanlarda ketoasidoz hastalığın ilk belirtisi olarak ortaya çıkabilir. Diğerlerinde enfeksiyon yada stresle hızlı bir şekilde şiddetli hiperglisemi ve/yada ketoasidoza dönüşebilen daha ılımlı açlık hiperglisemi vardır. İdiopatik Tip 1 DM’li hastalarda  $\beta$  hücre otoimmünitesine dair hiçbir kanıt yokken sürekli insülinopeni vardır ve ketoasidoza eğilimlidirler. Diyabetin bu formunun var olduğu bireyler episodik ketoasidoz atakları geçirirler ve episodlar arasında değişik derecede insülin eksikliği sergilerler.<sup>90</sup>

**Tip 2 DM:** Önceki sınıflamalarda Tip 2 DM için erişkin tip DM, Tip II DM, insülininden bağımsız diyabet “*non-insulin dependent diabetes mellitus*” (NIDDM) olarak ta adlandırılan Tip 2 DM, tüm DM tiplerinin %90-95’ini oluşturur. Bu form genellikle insülin direnci ve göreceli insülin eksikliği olan bireyleri kapsar. Hastalıktan etkilenen bireylerin hepsi olmasa da çoğu obezdir ve pankreasın  $\beta$  hücrelerinde otoimmün yıkım görülmez. Tip 2 diyabetin etkenlerinden biri obezitedir ve obezitenin yaygınlaşmasından dolayı günümüzde çocuklarda görülme sıklığı artmıştır. Tip 2 DM insülin direnciyle birlikte, pankreasın yeterli miktarda insülin salgılayamaması sonucunda gelişir. Pankreasta insülin üretimi devam eder, fakat insüline duyarlı dokuların insüline direnç kazanması nedeniyle aktivitesi azalır. Tip 2 DM’nin gelişmesi yavaştır, başlangıç aşamasında klasik semptomlar çok belirgin değildir. Bu yüzden uzun

yıllar fark edilmeden hastalık ilerleyebilir. Genetik yatkınlığın yanında ilerlemiş yaş, fazla kilo alımı ve hareketsizlik diyabete yakalanma riskini arttırmaktadır.<sup>90, 91</sup>

### 2.7.1. Diyabetin Tanısı

DM tanı kriterleri ADB ve DSÖ tarafından belirlenmiştir. DM tanısı için venöz kan glikoz seviyesi ve oral glikoz tolerans testi (OGTT) en yaygın kullanılan tanı testleridir. Tanı konulurken aşağıda belirtilen testlerden herhangi biri veya birkaçının sonucunun pozitif çıkması durumunda hastaya DM teşhisi konur. Ancak test veya testler takip eden günlerde tekrarlanmalıdır.

1. Açlık plazma glukoz seviyesi  $\geq 126$  mg/dL(7.0 mmol/L) olması. Açlık en az 8 saat hiçbir kalori almamak olarak tanımlanır.
2. Glukoz yüklemesi (75g) ile yapılan oral glukoz tolerans testi sonrasında ikinci saat plazma glukoz seviyesi değerinin  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/L) olması
3. A1C  $\geq$  % 6.5 (48 mmol/mol). Bu test NGSP (www.ngsp.org) tarafından onaylı bir yöntem kullanılarak yapılmalıdır ve standardize edilmelidir ya da Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Testi (DCCT) referans tahlili için izlenebilir olmalıdır.
4. Hipergliseminin ya da hiperglisemik krizin klasik semptomları olan hastada gün içinde herhangi bir zamanda, kişiye aç olup olmadığı sorulmaksızın, ölçülen plazma glukoz seviyesinin  $\geq 200$  mg/dL (11.1 mmol/L) olması.<sup>90</sup>

**Tablo 2.2.** Açlık plazma glukozu ölçümleri değerlendirilmesi<sup>9</sup>

	Normal Glikoz Toleransı	Bozulmuş glikoz Tolerans	Diyabetes Mellitus <sup>2</sup>
Açlık plazma glikozu mg/dL(mmol/L)	< 100 (5.6)	100–125 (5.6-6.9)	$\geq 126$ (7.0)
Glikoz yüklemesinden <sup>1</sup> Sonra 2. saat mg/dL(mmol/L)	< 140 (7.8)	$\geq 140$ –199 (7.8-11.0)	$\geq 200$ (11.1)
HbA <sub>1c</sub> (%) <sup>3</sup>	< 5.7	5.7–6.4	$\geq 6.5$

<sup>1</sup>Testten önceki 3 gün boyunca her gün en az 150-200 g alan bir kişide bir gece aç kaldıktan sonra 300 mL suda çözülmüş 75 g glikozun verilmesi

<sup>2</sup>Eğer tekrar testiyle onaylandıysa açlık kan glikozu  $\geq 126$  mg/dL (7.0 mmol) ya da HbA<sub>1c</sub> of  $\geq$  % 6.5 olması diyabetin teşhisidir.



<sup>3</sup>HbA1 testi ile kanda hemoglobin molekülüne geri dönüşümsüz olarak bağlanan glikoz düzeyi ölçülmektedir.<sup>61</sup> HbA, KH' a bağlanır ve glikolize olur, sonrasında ise glikozillenmiş hemoglobin ismini alır. HbA1' nin pek çok formundan % 60-80 oranıyla en fazla olanı HbA1c' dir. HbA1c seviyesinin tayini zaman içindeki ortalama kan glikoz düzeyini belirlemektedir.

### **2.7.2. Diabetes Mellitusun Patogenezi**

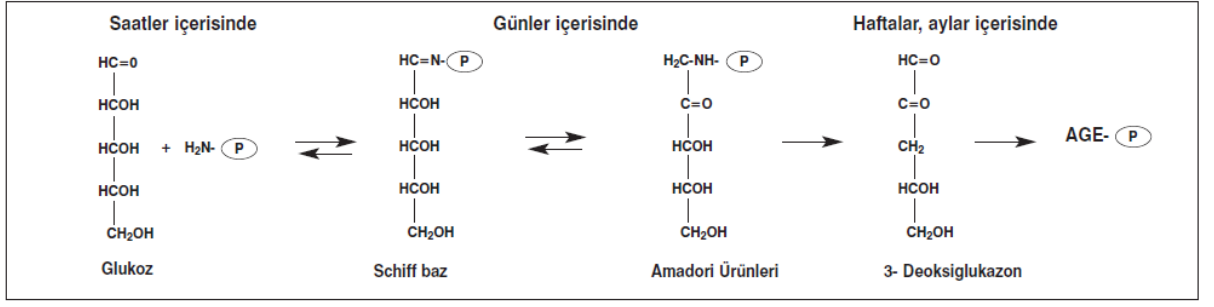
DM patogenezinde birden fazla faktörün bulunduğu “multifaktöriyel” bir hastalıktır. Diyabette mevcut olan hiperglisemi sonucu hastalarda insülin duyarlılığı azalır ve hepatik glukoz çıkışı artar. Glukoz glikojen olarak karaciğerde depolanamaz. İnsülin seviyesi normal değerlerin altında olduğu zaman dolaşımdaki glukoz olması gerektiği gibi hücrelere transfer edilemez.<sup>92</sup> Retinopati, nefropati ve nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonların yanı sıra periferel damar hastalıkları, kardiovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar gibi makrovasküler problemler ve yara iyileşmesinde gecikme DM'nin klasik komplikasyonlarıdır.<sup>93, 94</sup>

Diyabet ve kalp-damar hastalıkları da ilişkilendirilmiştir. Diyabet damarlarda ateroskleroza hızlandırır. Kan akımının beslenmeyi sağlayamayacak kadar yetersiz kalması ekstremitelere kaybına bile yol açabilir.<sup>94</sup> DM'si olan bireylerde yara iyileşmesinde rol oynayan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Değişmiş hücrel aktivitelerin “kümülatif” etkileri enfeksiyona yatkınlığa sebep olmakla birlikte yara iyileşmesini de etkileyebilir. Ayrıca, azalmış kollajen sentezi ve diyabetik hastalarda kollajenaz üretiminin fazla olması yara iyileşmesinde olumsuz etkiye neden olur. Artmış kollajenaz yeni sentezlenmiş az çapraz bağlı kollajeni bozar ve defektif yara iyileşmesini tetikler. Diyabetlilerde yara iyileşmesinde geç enflamatuvar cevabın değiştiği, trombositlerinin mitojenik aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Diyabetik olmayan bireylere göre diyabetik hastaların trombositlerinin, fibroblast proliferasyonunu daha az oranda indüklediği belirtilmiştir. Düşük mitojenik aktivite ile azalmış yara toleransı arasındaki ilişki belirlenememiştir, ancak birbirleriyle bağlı olabileceği rapor edilmiştir.<sup>89, 95</sup>

Kronik enflamasyonun insülin direncinin patogeneğinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Vücudun enerji ihtiyacı arttığında veya kan glukoz seviyesi yükseldiğinde, hücre yüzeyindeki insülin reseptörleri devreye girer ve dolaşımdaki fazla glukoz uzaklaştırılır. Büyük bir kısmı yağ dokusunda olmak üzere hücre içinde depolanır ve bunun sonucu hücreler insüline direnç kazanırlar. Glukoz seviyesinin yüksek olması pankreastan insülin salgılanmasını bozar ve insülin direnci artırır. Glukozun hücre içine girmesini sağlamak için pankreas insülin üretimini artırır. Hiperglisemik durumun devam etmesi ve insülin üretimindeki artışa bağlı olarak “hiperinsülinemi” oluşur.<sup>92,96</sup>

### **2.7.3. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)**

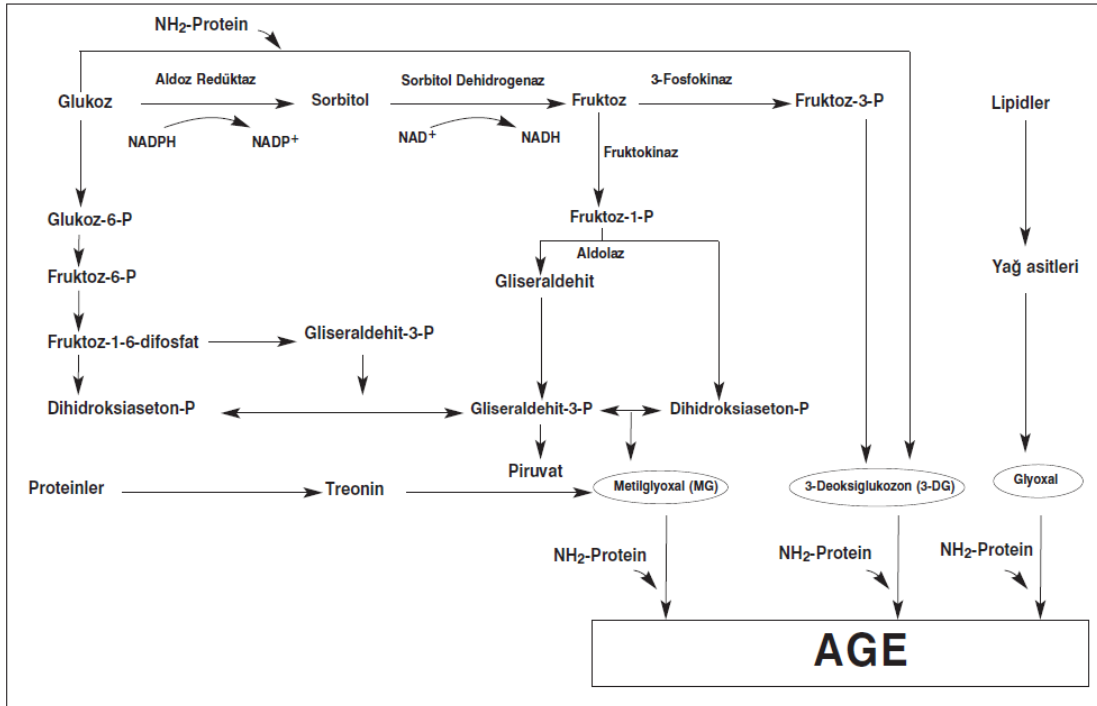
Sürekli hiperglisemi sonucu proteinler, lipidler ve nükleik asitler glikozile olurlar. Artmış konsantrasyonlardaki glukoz, “Amadori” ürünleri adı verilen glikozillenmiş artıkları oluşturmak için proteinlerin primer amino grupları ile nonenzimatik reaksiyonlara girer.<sup>92</sup> Enzimatik olmayan glikasyon, indirgeyici şekerlerin proteinlerinin serbest amino grupları, lipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girmesiyle gerçekleşir.<sup>97</sup> İlk olarak Schiff baz ürünleri oluşur ki bunlar çok kararsızdır, sonrasında Amadori ürünleri veya fruktozamine indirgenir ve daha sonra da ileri glikozilasyon son ürünleri “*advanced glycation end-products*” (AGE) oluşur.<sup>97-99</sup> Amadori ürünlerinin oluşumuna kadar olan bölüm geri dönüşümlü iken, daha sonraki evreler ise geri dönüşümsüzdür. Bu kalsik yoldur.<sup>100</sup> AGE oluşumu normal şartlarda yavaş işleyen bir süreçtir. Ancak, diyabette olduğu gibi hiperglisemik ortamda, aterosklerozda, hiperlipidemi durumlarında, enflamasyonda, böbrek yetmezliğinde ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda oluşumları ve birikimleri hızlanmıştır. AGE’ler primer etkilerinin çoğunu uzun ömürlü proteinler üzerinde gösterirler (örn. kollajen, lens kristalleri).<sup>97,98</sup>



**Şekil 2.4.** Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu<sup>101</sup>

AGE oluşumunda diğer bir mekanizma ise diyabette oksidatif stres artışına bağlı olarak şeker veya lipidlerin oksidasyonu sonucunda ara ürün olarak reaktivitesi yüksek 3-deoksiglukozon, glioksal ve metilglioksal (MG) gibi düşük molekül ağırlıklı dikarbonil bileşiklerinin oluşumudur. Genel olarak dikarbonil bileşikler glikoliz ara ürünlerinden, glikasyona uğramış proteinlerin degradasyonundan ve lipidlerin peroksidasyonundan oluşabilmektedir. Dikarbonil bileşikler bu yollara ek olarak metilglioksal, keton cisimlerinin metabolizması ve treonin katabolizması sonucunda da az miktarda oluşabilmektedir. Bu bileşikler yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir ve çok küçük konsantrasyonlarda bile direkt olarak proteinlerin terminal aminoasit rezidüsüyle reaksiyona girerek AGE oluşumuna yol açabilmektedir.

AGE oluşumunda diğer bir yol poliol yolağıdır. Diyabetik durumda ortaya çıkan yüksek miktarda glukozun bir kısmı önce sorbitole, sonrasında ise bir AGE ara ürünü olan 3-deoksi-glukozon'a dönüşüp AGE oluşumuna katılmaktadır.<sup>102</sup>



Şekil 2.5. Karbonil bileşikler ve AGE'nin oluşum mekanizmaları<sup>102</sup>

AGE'ler oluşum yollarındaki farklılıklardan dolayı kompleks ve heterojen moleküllerdir. Hepsini henüz tam olarak belirlenmemiştir, bazılarının oluşum yollarını da tam anlayamamıştır.<sup>97, 98</sup>

AGE'ler kimyasal yapılarına göre 3'e ayrılır<sup>103</sup>;

1. Floresans çapraz bağlı AGE'ler; 'pentosidine' ve 'crossline'
2. Non-floresans çapraz bağlı AGE'ler; 'glucosepane' ve 'MOLD'
3. Çapraz bağ yapmayan AGE'ler; 'N<sup>ε</sup>- Karboksimetil lizin (CML)' ve 'Pyrraline'

CML organizmada oluşan major AGE'lerden biridir ve üzerinde en fazla çalışılanıdır.<sup>100</sup> Hem glikoksidasyon hem de lipid peroksidasyonu yolu ile CML oluşabilmektedir. Ayrıca MG, proteinlerin lizin kalıntıları ile reaksiyona girerek bir CML-AGE homologu üretilebilmektedir. CML-AGE ayrıca enflamasyon mekanizmasındaki miyeloperoksidaz yolu ile de üretilebilmektedir. İn vivo AGE oluşumuna ekzojen AGE kaynakları da neden olabilmektedir. Fazla yağ içeren ya da

yüksek ısıda pişmiş yiyecekler başta CML-AGE ya da AGE öncülü MG gibi AGE'ler içermektedir.<sup>104</sup>

AGE'ler ECM proteinlerini ve dolaşımdaki proteinleri çapraz bağ ürünleri oluşturarak direkt olarak etkilerler.<sup>105</sup> Bunun sonucunda normal enzimatik yıkımlara ve doku turnoverına dayanıklı oldukça stabil kollajen makro moleküller oluşur.<sup>106</sup> Kollajen ve elastin yapılarında oluşan çapraz bağ ürünlerinin kalp ve damarlarda esnekliğin ve elastikiyetin azalmasına, kırılabilirliğin artmasına yol açması kardiyovasküler sistem üzerine etkileridir. Damar duvarında bulunan AGE tarafından modifiye edilmiş kollajen molekülleri dolaşımdaki düşük yoğunluktaki lipoproteinlerle kovalent bağlar oluşturarak aterosklerotik plak oluşumuna sebep olur. Bu kümülatif birikim sonucunda damar lümeni daralır ve etkilenen organlarda kan dolaşımı bozulur.<sup>105</sup>

Çoğunlukla AGE'leri özgül olarak tanıyan reseptörler veya özgül olmayan çöpçü reseptörlere sahip doku makrofajları dokusal moleküller ile AGE'ler arasındaki çapraz bağların kaldırılmasını sağlar. AGE'ler ile değişikliğe uğratılmış moleküller hücre yüzey reseptör aracılı endositoz yoluyla tanınıp içeri alınır. Daha sonra hücre içinde degrade edilerek 'ikinci kuşak AGE'ler' diye bilinen düşük molekül ağırlıklı AGE'ler olarak salınırlar. Yüksek çapraz bağ yapma veya oksidatif reaktiviteye sahip reaktif ara ürünler içeren bu ikinci kuşak AGE'lerin etkilerinin renal atılım yoluyla sınırlandırıldığı düşünülmektedir. Bu nedenle AGE'leri ortadan kaldıran sistemin etkinliği renal klirensle bağlıdır.<sup>107</sup>

### **2.7.3.1. İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Reseptörleri (RAGE)**

AGE'ler başlıca; ileri glikasyon son ürünleri için reseptörler (receptor of advanced glycation endproducts, RAGE), çöpçü reseptörler (Class A, CD36, class B tip1, LOX-1, FEEL-1, FEEL-2), AGE-R1 (oligosakkaril transferaz-48), AGE-R2, AGE-R3 (Galektin-3) isimli reseptörlere bağlanmaktadır. IgG süperairesinin bir üyesi olan

RAGE bu reseptörler içerisinde en çok incelenmiş olanıdır. Başlıca mononükleer fagositler, endotel hücresi, düz kas hücresi ve astrositlerde bulunur. Fakat normal damar ve dokularda çok az eksprese edilirler. AGE'ler dışında enflamatuvar sitokinler, amfoterin, amiloid- $\beta$  ve diğer fibriler proteinler ile RAGE uyarılabilir. Diyabet ve enflamasyonda RAGE ekspresyonu artar. AGE'nin reseptörü olan RAGE'ye bağlanması ile NAD(P)H oksidaz, p21ras, mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPKs), hücre dışı sinyal ile regule edilen kinaz 1/2, p38, Cdc42 ve Rac gibi GTPaz'ların hücre içi sinyal yollarını uyarması NF- $\kappa$ B'yi aktive eder. NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu ise enflamatuvar sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve çeşitli mediyatörlerin ekspresyonunu sağlar.<sup>103</sup>

RAGE'nin hücre dışı kısmı V tipi bölge ve C tipi bölge olmak üzere 2 bölgeden oluşur. Ligand bağlanmasından V tipi bölge sorumludur. C tipi bölge, V tipi bölgenin stabilitesini sağlar. Bu kısmı takip eden transmembran bölge ise reseptörün membrana bağlanmasını sağlar. Transmembran bölgenin ucunda hücre içi sinyalizasyonu sağlayan küçük bir intrasitoplazmik kuyruk bulunur. 3 farklı RAGE izoformu mevcuttur. Bunlar; full-length RAGE, solubl RAGE (sRAGE) ve dominant negatif RAGE (DNRAGE)'dir. Full-length RAGE dışındakilerde intrasitoplazmik kuyruğun olmaması bu 3 tip reseptörün temel farkıdır. Bu nedenle sadece full-length RAGE hücre içi sinyalizasyonu yapabilir. Bu özellik nedeniyle DNRAGE ve sRAGE AGE'nin etkilerini baskılayıcı şekilde işlev görür.<sup>108, 109</sup>

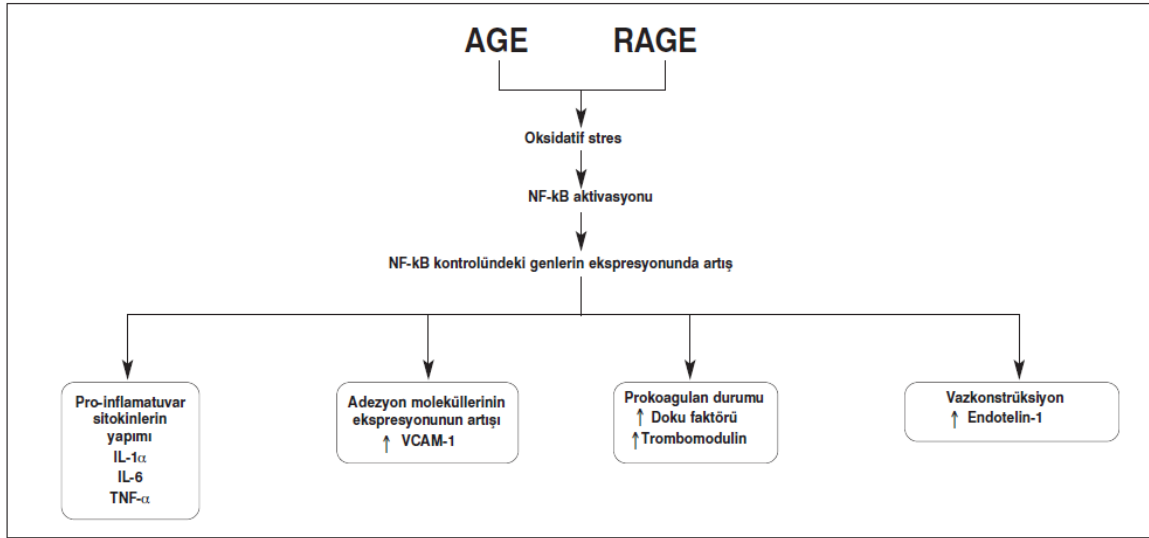
### **2.7.3.2. AGE, ROT ve Enflamasyon İlişkisi**

Endotel hücrelerinde RAGE'nin uyarılması permeabilite artışına neden olur. Membranın yapısı bozulur, trombomodulin aktivitesi azalırken doku faktörü ekspresyonu artarak endotel antikoagulan özellikten prokoagulan özelliğe kayar. Öte yandan, AGE'ler endotelden salgılanan nitrik oksit (NO)'in aktivitesini ve

biyoyararlanımını azaltırlar. O nedenle AGE'ler aterosklerozun oluşumu ve gelişiminde çok önemli rol oynarlar. Diyabetiklerde yapılan çalışmalarda damarlardaki NO-bağımlı ve NO-bağımsız gevşemelerdeki azalmaların serum AGE düzeyleri ile yakın korelasyon gösterdiği saptanmıştır. AGE'lerin damarlarda NO'nun etkisini hangi moleküler mekanizma/lar ile bozduklarına ilişkin öne sürülen mekanizmalardan biri endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) mRNA'sının yıkım hızının AGE'ler tarafından artırılarak eNOS'un yarılanma süresinin ve aktivitesinin azaltılması şeklinde açıklanmaktadır. Diğer bir mekanizma ise endoteldeki RAGE'in uyarımı ile eNOS'un yapısındaki serin fosforilasyonunun azalarak eNOS'un deaktivasyonu ve böylece NO yapımının engellenmesidir. Bunun dışında, AGE'ler NO'ya bağlanarak da onu inaktive edebilmektedirler. Endotelde prostasiklin üretimini de azaltarak iki önemli vazodilatörü olumsuz yönde etkilerken, aynı zamanda NF-κB aracılığı ile endotelde endotelin-1 ekspresyonunu arttırlar.<sup>110</sup>

AGE'ler etkilerinin bir kısmını hücre yüzey reseptörü olan RAGE'ler aracılığıyla göstermektedir. AGE'lerin aktive ettikleri reseptörler vasküler sistemde endotel hücreler, düz kas hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücrelerin membranında bulunur. Reseptörün uyarılması hücrede NADH/NADPH bağımlı oksidaz sisteminin aktivasyonu ile serbest radikal üretimini artırır, makrofajlarda doku faktörü, mezotelial hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır, endotel hücrelerin aktivasyonu gerçekleşir. Buna göre AGE'ler reseptörleri aracılığı ile enflamatuar reaksiyonları başlatırlar. Diyabet bireyi hiperenflamatuar sürece sürükler. Öte yandan, AGE-RAGE etkileşimi reseptör ekspresyonunda artışa neden olur ve hücrel aktivasyon pozitif feed back ile daha da artar. Böylece endotel, düz kas hücreleri, mononükleer fagositler ve nöronlar gibi hücrelerde sürekli RAGE ekspresyonu kronik bir şekilde hücre aktivasyonuna ve sonuçta hasarlanmaya neden

olur. O nedenle, kesintisiz RAGE uyarısının birçok kronik hastalığın ortaya çıkmasında önemli rolünün olduğu düşünülmektedir.<sup>97, 100</sup>

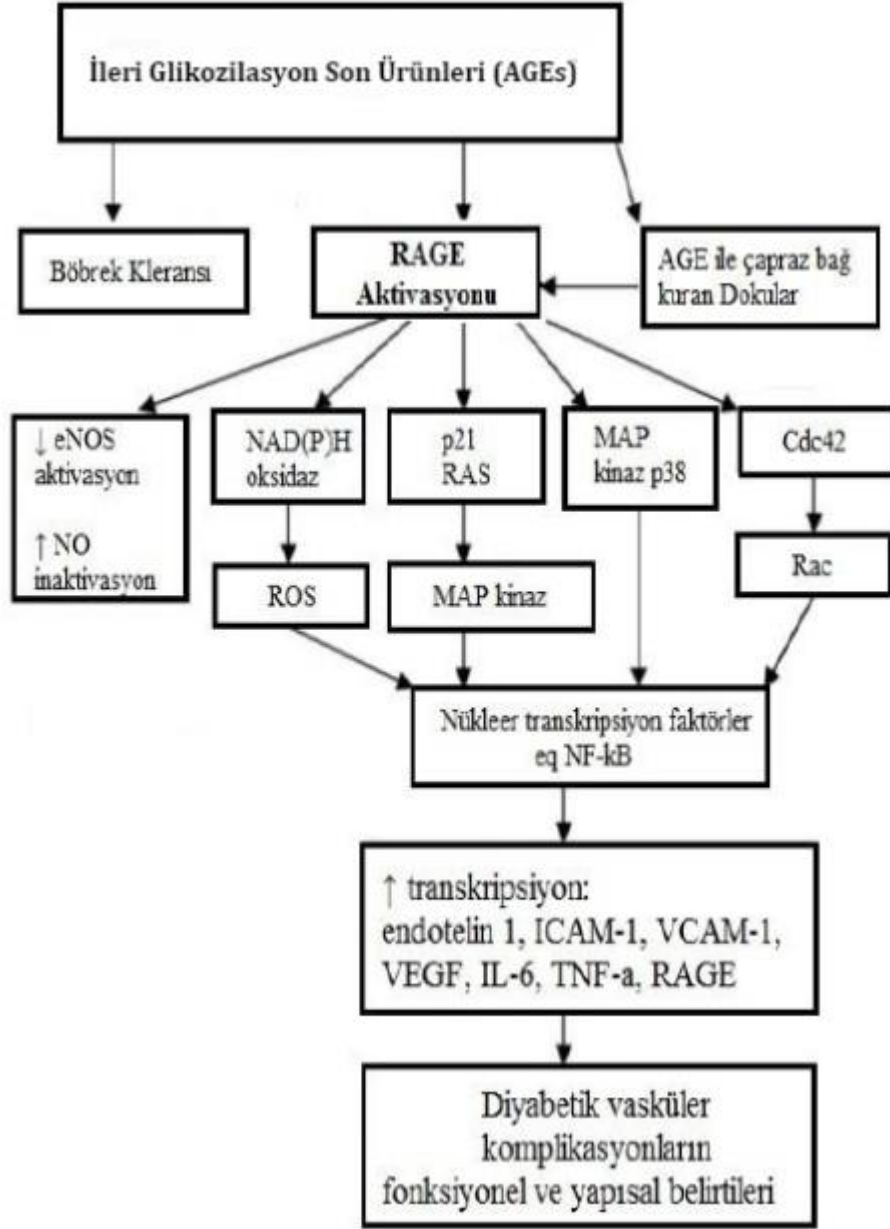


Şekil 2.6. AGE-RAGE etkileşimi ve NF-κB aktivasyonu sonucu oluşan değişiklikler<sup>108</sup>

### 2.7.3.3. AGE ROT İlişkisi

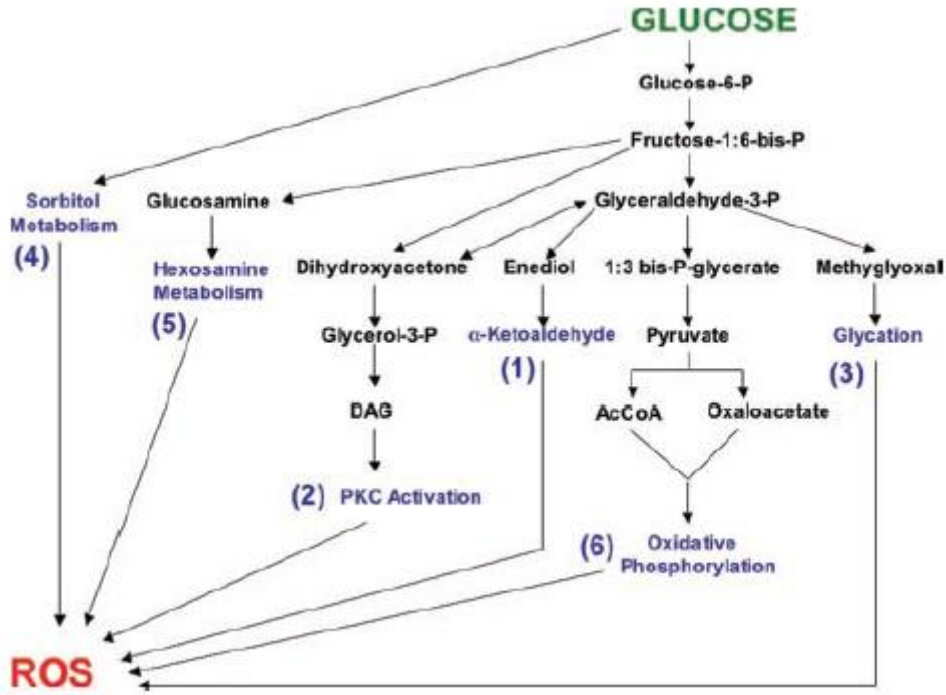
Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Ancak bu reaksiyonlar da NADPH ve glutatyonun tüketimine yol açtığından dolaylı olarak oksidatif stresin artmasına da yol açmaktadır.<sup>103</sup> RAGE ile AGE'nin etkileşimi, aktive olmuş NADPH oksidaz için anahtar rolü olan ve hücre yüzeyinde prooksidan molekülleri için yer bulunduran bir mekanizma aracılığıyla ROT üretimini uyarır. AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir.<sup>111</sup>





**Şekil 2.7.** AGE/RAGE Sisteminin Etkileri (Cdc42, Cell division cycle 42 protein; eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz; ICAM-1, intersellular adhezyon molekül-1; MAP, mitogen-activated protein; NAD(P)H nikotinamid dinukleotid fosfat; NO, nitrik oksit; ROS, reaktif oksijen türleri) <sup>112</sup>

Vasküler, retinal ve renal dokuların fonksiyonu üzerine kronik hiperglisemi ve oksidatif stresin zararlı etkilerine neden olan birçok biyokimyasal yolak ve mekanizma vardır. ROT'a önemli katkısı olan en az altı yolak literatürlerde bulunmaktadır.<sup>113</sup>



**Şekil 2.8.** Glikoz metabolizmasının ROS oluşturabileceği altı biyokimyasal yol<sup>113</sup>  
 Fizyolojik koşullar altında, glikoz esas olarak glikoliz ve oksidatif fosforilasyona uğrar. Hipergliseminin patolojik koşulları altında, aşırı glikoz seviyeleri glikolitik süreci engelleyip glikoz, fruktoz-1,6-bisfosfat ve gliseraldehit-3-P'nin diğer yollara kaymasına neden olan gliseraldehit katabolizmasını inhibe edebilir: 1, Enolizasyon ve  $\alpha$ -ketoaldehit oluşumu; 2, PKC aktivasyonu; 3, Dikarbonil oluşumu ve glikasyon; 4, sorbitol metabolizması; 5, Hexosamine metabolizması; ve 6, oksidatif fosforilasyon. DAG, Diaçilgliserol.

**Gliseraldehit otooksidasyonu:** Gliseraldehit 3 fosfat anaerobik glikoliz süresince glukozdan oluşan fosforilasyon ürünüdür. Ortak ürün olan dihidroksiaseton fosfat trioz-fosfat izomerazın enzimatik dönüşümü yoluyla intrasellüler gliseraldehid konsantrasyonlarına katkıda bulunur. Bundan sonra, gliseraldehid 3-fosfat gliseraldehid-fosfat dehidrojenaz tarafından oksitlenmektedir (GAPDH). Glikolizin devamında oluşan piruvat mitokondriye girer ve burada asetil-CoA'ya oksitlenir ve trikarboksilik asit döngüsü ve oksidatif fosforilasyon süreçleri başlar.

Glukoz metabolizmasının bu klasik yola bir alternatif daha az bilinen gliseraldehit oto-oksidasyon yoludur. DM'nin bu yolla potansiyel ilişkisine hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve  $\alpha$ -ketoaldehidaz'ın oluşturduğu  $\alpha$ -hidroksialdehidaz'ın otooksidasyonu üzerinde duran Wolff ve Dean tarafından işaret edilmiştir.<sup>114</sup> Redoks

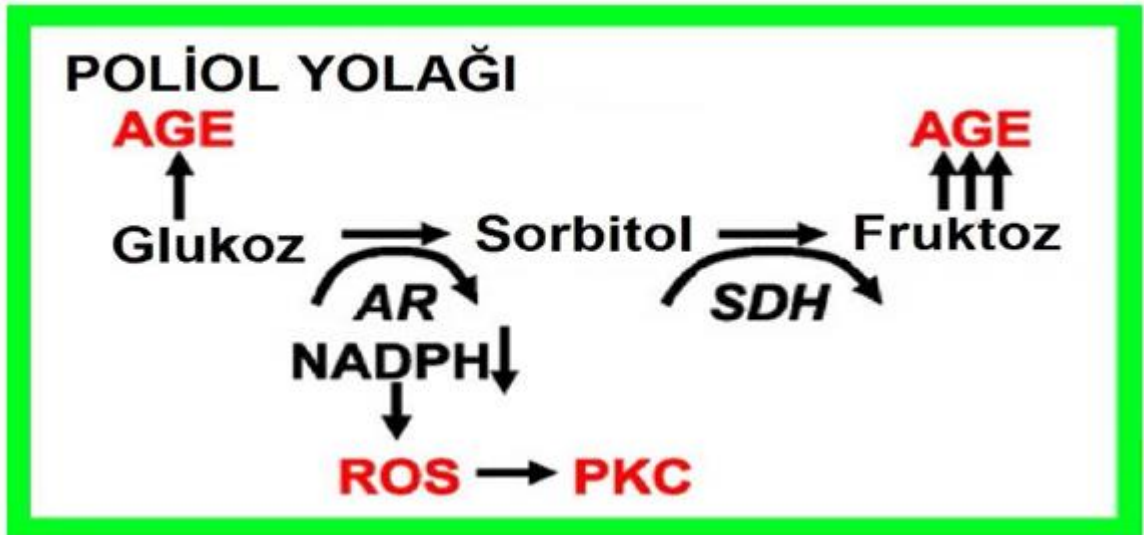
aktif metallerin mevcudiyetinde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çok toksik olan hidroksil radikali oluşturabilir. Bu nedenle bu yol iki potansiyel toksik maddeyi, glikozilasyon-ilişkili protein kromofor gelişimine katkıda bulunan  $\alpha$ -ketoaldehidaz ve DNA'da mutajenik değişikliklere neden olabilen bir ROT olan hidroksil radikallerini oluşturur. Gliseraldehit karakteristik olarak insülin salgılatırıcı olmasına rağmen aşırı miktarı insülin sekresyonunu inhibe edebilir. Yüksek glukoz konsantrasyonuna uzun süre maruz kalınması adacıklarda aşırı miktarda gliseraldehit birikimine neden olup GAPDH aktivitesini azaltır. Endotel hücrelerinin 30 mM glukozla maruz kalması GAPDH poli- (ADP-riboz) polimeraz tarafından ROT aktive poli (ADP-ribozil) asyon mekanizması yoluyla GAPDH inhibisyonuna neden olur. Bu da sırasıyla, hücre içi AGE oluşumu ve PKC'nin aktivasyonu, heksozamin yolu ve NF- $\kappa$ B ile ilişkilidir.<sup>113</sup>

**Protein Kinaz C aktivasyonu:** Hiperglisemi PKC'nin özellikle  $\beta$ -izoformunun gen ekspresyonunu uyarmaktadır.<sup>115</sup> Protein kinaz C aktivasyonu redoks durumuna göre kendi kendini düzenleyebilecek bazı yapısal özelliklere sahiptir. Prooksidanlar, PKC aktivitesini uyarmak için düzenleyici alanlarla etkileşime girerler.<sup>116</sup> Bu işlem güçlü bir PKC aktivatörü olan DAG ile yapılmaktadır. PKC aktivasyonunun diyabette mikrovasküler hastalıklarla ilgili pek çok biyokimyasal sonuçları vardır. PKC aktivasyonu TGF-1 $\beta$ , vasküler endotelyal büyüme faktörü, endotelin-1, NAD(P)H oksidaz, NF- $\kappa$ B, ve ROS artışıyla ilişkilendirilir.<sup>113</sup>

Hiperglisemide eNOS aktivitesinin azaldığı yerde NF- $\kappa$ B indüklenebilen NOS'u uyarak vazoaktif NO'i üretmektedir. PKC, NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturan süperoksit anyonunu üreten NAD(P)H oksidazı aktive etmektedir. Yüksek konsantrasyonda endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin glukoz ile inkübasyonu intrasellüler DAG düzeylerini artırır. Ardından PKC aktivasyonuna neden olduğu STZ –diyabetik ratlardan alınan damarlarda da gösterilmiştir.<sup>129</sup>

**Poliol yolunun aktivasyonu:** Yüksek kan glukozu poliol yolağının aktivitesini artırmaktadır. Glukoz poliol yolağında, aldoz redüktaz tarafından hücrel NAD(P)H stokları azaltılarak sorbitole indirgenmektedir. NOS ve sitokrom-P450'yi kapsayan birçok endotelial enzimlerin fonksiyonlarında olduğu kadar glutasyon redüktazın antioksidan aktivitesinde de NAD(P)H gereklidir. Daha sonra sorbitol dehidrogenaz tarafından sorbitol, fruktoza oksitlenmektedir. NAD<sup>+</sup>'ın bu reaksiyonda kullanılması hücrelerin redoks durumlarını değiştirir ve süperoksit anyonu üretimiyle sonuçlanarak NADH/NAD<sup>+</sup> oranını artırır.<sup>117</sup>

Aldoz redüktaz enzimi glutasyon redüktaz gibi, bir kofaktör olarak NADPH'e bağlıdır. Bu yüzden aşırı poliol yolu aktivasyonu sitozolik NADPH'i azaltır ve böylece glutasyonun azalmasına neden olur. Bununla birlikte sorbitol birikimi, oksidatif stres oluşturan hücrel osmotik stres üretir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'in yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir. Ayrıca sorbitolun kendisi de bir doku toksini gibi davranır.<sup>116</sup>



**Şekil 2.9.** Poliil yolağının rolü

AR: Aldo redüktaz, SDH: sorbitol dehidrogenaz PKC:Protein kinaz C, ROS: Reaktif oksijen türleri<sup>118</sup>

**Metilgliksal, Glycation:** Üç reaktif hücre içi dikarbonil'in (gliksal, metilgliksal ve 3-deoksiglukoson) hücre içi ve hücre dışı proteinleri üzerindeki amino grupları ile reaksiyona girmesiyle AGE'ler oluşur. AGE özellikle retinada mikrovasküler hastalık ile ilgili olarak, sinirler, böbrek ve muhtemel adacıklar ile sekonder diyabet komplikasyonlarının patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Yüksek glukoz konsantrasyonları, gliseraldehid-3-P ve dihidroksiaseton birikimi mevcudiyetinde olduğu gibi gliseraldehid-3-P'in GAPDH aracılı katabolizması, metilgliksal oluşumunu desteklemektedir. Buna ek olarak hiperglisemi sonucu poliol yolu akışı artmasıyla aldoz redüktaz-aracılı NADPH-bağımlı glikozun reduksiyonu sorbitol oluşturur. NAD<sup>+</sup> tarafından sorbitolun oksidasyonu GAPDH aktivitesini inhibe eğilimi olan sitozolik NADH:NAD<sup>+</sup> oranını artırır. Bu trioz fosfat, metilgliksal ve diaçilgliserolün düzeylerinde artışa yol açabilir. Bu olaylar zinciri ayrıca artmış ROS üretimi ve DNA zincir kırıkları yoluyla hiperglisemi tarafından aktive edilebilen aktif poli (ADP riboz) polimeraz tarafından NAD<sup>+</sup> tüketimi ile ilişkilidir. Glikasyon artışı ve AGE oluşumuna neden olabilen reaktif dikarbonillerin bu hasarının ötesinde, karbonhidrat ve proteinler arasında Maillard reaksiyonu da ROS üretir. Böylece, hiperglisemi diyabetik komplikasyonların gelişimine birlikte sinerjik olarak katkıda bulunan hem glikasyonu hem de oksidatif stresi aynı anda artırır.<sup>113</sup>

**Heksozamin Yolu:** Fruktoz-6-fosfat glikolizin ara basamağında yer almaktadır. Ancak glukoz metabolizması sırasında bir miktar fruktoz-6-fosfat glikolitik yolak yerine heksozamin yolağında kullanılmaktadır. Bu durumda fruktoz-6-fosfat, glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) tarafından glukozamin-6-fosfata dönüşmektedir. Glukozamin-6-fosfat daha sonra transkripsiyon faktörlerinin serin ve treonin rezidülerine etki eden bir molekül olan üridin difosfat-N-asetil glukozamine (UDPGlcNAc) dönüşmektedir.

Hiperglisemi durumu heksozamin yolağının aktivasyonuna yol açarak aşırı GlcNAc üretimine ve gen ekspresyonunun modifikasyonuna neden olmaktadır. GlcNAc, oksidatif strese yol açarak  $\beta$  hücrelerinin fonksiyonunda bozulmaya, GFAT veya glukozaminin artması  $H_2O_2$  miktarında artışa neden olmaktadır.<sup>119</sup> Bu yolun TGF- $\alpha$ , TGF-1 $\beta$  ve PAI-1 (Plazminojen aktivatör inhibitör-1) transkripsiyonunda artış ile ilişkili olduğu ve insülin direncine dahil olduğu gösterilmiştir.<sup>113</sup>

**Oksidatif Fosforilasyon:** Yüksek glukoz konsantrasyonları trikarboksilik asit döngüsü ile elektron vericilerinin aşırı üretimi sonucu olarak mitokondriyal proton derecesini artırır ki buna karşılık mitokondriyal süperoksit üretimi artar. Deneylerde, mitokondriyal süperoksitin hiperglisemiye bağlı aşırı üretiminin Mn-SOD ya da UCP-1 tarafından inhibisyonu poliol yolunun akışının, hücre içi AGE oluşumunun, PKC aktivasyonunun ve endotel hücrelerinde heksozamin yolu aktivitesinin artışı önlediği görülmüş. Yüksek glukoz konsantrasyonları mitokondriyal süperoksit üretimini, proton sızıntısını, düşük ATP seviyelerini ve yabancı tip adacıklarda bozulmuş glukoz bağlı insülin salgısını artırdığı gösterilmiştir ancak UCP-2-knock-out hayvanlarda durum böyle değil, UCP-2'nin süperoksit aracılı aktivasyonu tip 2 diyabette rol oynayabilir. Ayrıca, 24 saatlik adacık inkubasyonunda 2 mM gliseraldehid konsantrasyonunun ROT seviyelerini artırdığı ve insülin salgılanmasını inhibe ettiği, n-asetilsistein yoluyla engel olarak bu sonucu ortaya koyduğu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmalarda ne mitokondriyal oksidatif fosforilasyon inhibitörleri ne de Mn-SOD'un adenovirüs aşırı üretimi adacık ROT düzeylerini artırmak için gliseraldehitin yeteneğini engelleyebilir. 2 mM gliseraldehitin 20 mM glukoz ile elde edilen ile benzer seviyede adacık içi gliseraldehid konsantrasyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Bu nedenle, glikolitik yol glukoz tarafından engellendiği zaman, hem mitokondriyal hem de mitokondriyal olmayan yollar beta

hücre fonksiyonunu bozan glukotoksik süreçte ROT'a katkıda bulunduğu görünmektedir.<sup>113</sup>

#### **2.7.4. Diyabet ve ROT İlişkisi**

DM'nin etiolojisinde yer alan insülin gibi hormonların sentezlenmesinde rol oynayan pankreas  $\beta$ -hücreleri oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olarak bilinir. Diyabetik komplikasyonlar kötü glisemik kontrol ve oksidatif stresle ilişkilendirilmektedir. Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olmakla birlikte aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur.

Tip 1 ve tip 2 diyabet için ortak sonuç ROT ve reaktif karbonil türlerinin (RCT) aşırı üretimi ve / veya defektif antioksidan savunma mekanizmalarının tipik olarak eşlik ettiği hiperglisemi çıkışıdır. Bu diyabetin gelişmesinde, ilerlemesinde ve patolojik sonuçlarında serbest radikallerin anahtar rolünü göstermektedir. ROT'un ve diğer serbest radikallerin aşırı üretimi diyabete bağlı komplikasyonları güçlendiren oksidatif strese yol açan antioksidan savunma sisteminin yetersizliğiyle ilişkilidir. Bu nedenle, membran lipid peroksidasyonu gibi oksidatif stres markerları DM hastalarında yükselir.

120

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının ROT ile olan ilişkisini inceleyen araştırmalarda, nonenzimatik glikasyonun ve enerji metabolizmasındaki değişimlerden dolayı oluşan metabolik stresin, dokularda hasar meydana getiren hipoksi ve iskemi-reperfüzyonunun serbest radikal üretiminde artışa antioksidanlarda ise azalmaya neden olduğu bildirilmektedir.<sup>121</sup>

#### **2.7.5. AGE ve Enflamasyon İlişkisi**

DAMP (damage ilişkili moleküler paternler ) moleküllerinin, patern tanıma reseptör (PRR)'leri dışında, kendilerine özgül başka reseptörler tarafından da tanındığı bildirilmiştir. Steril uyaranları tanıyan bu PRR-dışı reseptörlerin en iyi bilineni RAGE

reseptörleridir. Bu reseptörler oksidatif stres varlığında ve tip 1 diyabet gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda, protein ve lipidlerin enzimatik-olmayan glikasyon ve oksidasyonu sonucu biriken AGE'lerden farklı olarak, hücrel stres ve nekrotik ölüm sırasında salgılanan HMGB1, S100 proteinleri ve  $\beta$ -amiloid'e de bağlanırlar. Ligandı ile bağlanan RAGE NF- $\kappa$ B, MAPK, fosfoinositid 3-kinaz (PI-3K) ve JAK-STAT yollarını uyararak TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimini başlatır. Böylece steril enflamasyona neden olur.<sup>122</sup>

RAGE; akciğer, kalp, böbrek, beyin ve iskelet kası gibi değişik dokularda ve endotel hücresi, monosit/makrofaj, nötrofil ve lenfosit gibi çeşitli hücrelerde eksprese olmaktadır. Diyabette vasküler hasar ve ona bağlı komplikasyonlar AGE'nin RAGE ile etkileşiminin oksidatif stres ve enflamatuvar reaksiyonları tetiklemesi nedeniyle oluşmaktadır.<sup>123</sup>

İnsan RAGE geni, MHC'de (major histocompatibility complex) sınıf II ve sınıf III genler arasında, kromozom 6 üzerinde bulunur ve RAGE promotör bölgesinde NF- $\kappa$ B alanları bulunmaktadır.

Kendi ligandları ile RAGE'nin etkileşmesi NADPH oksidaz, MAP kinaz ve NF- $\kappa$ B'yi de içeren sinyal yollarını aktifleştirerek ROT'un artmasına neden olmaktadır. Hücrel cevap sonucunda enflamatuvar cevapta majör rol oynayan VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule -1), ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1) gibi adezyon molekülleri ile IL-6 gibi sitokinlerin salınımında artış olmaktadır.<sup>124</sup>

#### **2.7.6. Diyabet AGE İlişkisi**

Diyabette AGE'lerin birikimi kronik hiperglisemiden kaynaklanabilir. Bunu yanında böbrek fonksiyonunun bozulması buna yardımcı olur, çünkü AGE'lerin önemli kısmı böbreklerden temizlenir. AGE'lerin etkisi reseptör bağımlı veya reseptörden bağımsız olarak sınıflanabilir. AGE'ler hücre yüzeyindeki RAGE üzerinde etki



gösterebilir. Gelişmiş glikasyon uzun sürede oluşur, uzun yaşamış proteinleri etkiler. Bağdokusu matriksin yapısı, özellikle bazal membran bileşenleri, tip IV kollajen gibi yapılar gelişmiş glikasyonun en önemli hedeflerindedir. Ancak başka uzun ömürlü proteinlerde gelişmiş glikasyona uğrayabilir, bunlar myelin, tubulin, plasminojen aktivatör 1 ve fibrinojendir. ECM proteinlerinin yavaş devir derecesi (slow turnover rate) olduğu için, AGE modifikasyonuna duyarlı olurlar. Glikasyon işlemine bağlı kollajenle intermoleküler ve intramoleküler çapraz bağ oluşturarak yapısal değişikliklere yol açar bu da kollajende sertliğe neden olur ve kollajeni proteolitik sindirime dirençli duruma getirir.<sup>125, 126</sup>

### **2.7.7. Periodontitis ve DM Arasındaki İlişki**

DM ve periodontal hastalık her ikisi de popülasyonda, özellikle 65 yaş üstündeki bireylerde görünen kronik ve yaygın hastalıklardır ve birbirleriyle ilişkilidir.<sup>82</sup> 1993 yılında, periodontal hastalığın DM'nin 6. komplikasyonu olduğu Loe tarafından ileri sürülmüştür.<sup>127</sup> 2008 yılında ise periodontal hastalık, DM hastalarında kötü metabolik kontrol için muhtemel bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir.<sup>128</sup> Ancak iyi kontrollü diyabeti olan hastalar periodontitis için artmış risk faktörü altında olmadığı görülmüştür.<sup>129</sup> Periodontal hastalık ile diyabet arasında bu çift yönlü ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar vardır.<sup>10, 130</sup> Metabolik bozukluklar, insülin direnci ve periodontitis arasında güçlü bir ilişki olduğu rapor edilmiştir.<sup>85</sup> ADB sunmuş olduğu raporunda DM'li bireylerde periodontal hastalıkların DM'nin uzun dönem komplikasyonları arasında yer aldığını belirtmiştir.<sup>131</sup>

Genel olarak diyabetli bireylerin, sistemik sağlıklı bireylere kıyasla enfeksiyon gelişimine daha yatkın oldukları kabul edilmektedir. Ayrıca, aynı enfeksiyonun diyabetik bireylerde diyabetik olmayan bireylere oranla daha şiddetli seyrettiği de

bilinmektedir. Diyabet, lokal mikrobiyal faktörlere (örn: endotoksin) karşı beklenmedik periodontal yıkımla sonuçlanan konak yanıtını arttırarak bu süreci etkilemektedir.<sup>132</sup>

Glisemik kontrolü iyi- orta olan (glike hemoglobin  $\leq 9.5\%$ ) (sadece küçük bir sayı,  $\sim 10\%$ , zayıf glisemik kontrolde) diyabetli yetişkin ve çocuklarda deneysel plak birikimi çalışmaları diyabetli bireylerde diyabeti olmayanlara göre daha erken ve daha güçlü gingival enflamatuvar yanıt geliştiğini göstermiştir. Ayrıca büyük ölçekli toplum tabanlı epidemiyolojik bir çalışmada (Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taraması III [aynı zamanda NHANES III olarak bilinen]) zayıf glisemik kontrolün yetişkinler arasındaki periodontal hastalığın prevalans ve şiddetinde büyük katkısı olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar, DM'li bireylerde DM olmayan bireylere göre alveol kemik kaybı ve ataşman kaybı riskinin yaklaşık olarak 3 kat fazla olduğunu ortaya koymuştur.<sup>133</sup> NHANES III'ün elde ettiği verilere göre metabolik kontrolü kötü DM (MKKDM)'si olan yetişkinlerde DM'si olmayanlara göre periodontitis gelişme riskinin 2.9 kat olduğu, tersine, metabolik kontrolü iyi DM (MKİDM)'nin periodontitis için risk oluşturmada önem arz edecek bir artışa neden olmadığı rapor edilmiştir.<sup>129</sup> Bunun yanında çeşitli meta-analizler tip 2 diyabetli kişilerde cerrahi olmayan periodontal tedavinin glisemik kontrol üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymuştur. Periodontal tedavinin glikozillenmiş hemoglobin, ayrıca glikosile hemoglobin referans olarak alındığında, HbA1c ya da sadece A1c seviyesinde önemli bir azalmaya neden olarak tip 2 diyabetli hastalarda glisemik kontrolü iyileştirdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır.<sup>82</sup>

### **2.7.8. Diyabetin Bir Komplikasyonu Olarak Periodontitisin Patogenezi**

DM'li bireylerde periodontal hastalığın patogeneziyle ilişkili ilk çalışmalar, bazal membran kalınlaşması ve vaskülaritedeki değişiklikler üzerine yoğunlaşmıştır.<sup>134</sup> Diyabet ile ilgili vasküler değişiklikler oksidatif stres sonucu olarak indirgenmiş nitrik oksit üretimi ve artan nitrik oksit inaktivasyonu gibi endotel disfonksiyonunu

içermektedir.<sup>129</sup> Vasküler değişiklikler, gingival dokuda besinlerin dağıtımını ve lökositlerin migrasyonunu etkilemektedir, buna bağlı olarak oksijen difüzyonu ve metabolik artıkların eliminasyonunda azalma meydana gelerek periodontitisin şiddeti artar ve yara iyileşme kapasitesi azalır. Bu vasküler değişiklikler, zayıf metabolik kontrol ve hastalık süresinin uzamasıyla giderek daha kötü bir hal alır.<sup>135</sup> Nitekim oksidatif stres ve beraberindeki endotel disfonksiyon periodontal hastalık ve diyabet arasında iki yönlü bağlantıya katkıda bulunmaktadır.<sup>129</sup>

Enflamasyon hem DM'nin hem de kronik periodontitisin patojenik mekanizmasında yer almaktadır. TNF- $\alpha$ , IL-6 gibi çeşitli pro-enflamatuar sitokinler her iki durumun patogenezinde de bulunmaktadır.<sup>130</sup> Enflamatuar süreç diyabetli hastaların periodontal dokularında up-regule olur.<sup>82</sup> Periodontal sağlık ve diyabetik durum arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuş ve periodontal tedavinin, tedavi sonrası 6-12 ayda serum biyomarkerlarının profillerini değiştirebildiği gösterilmiştir.<sup>130</sup> Hem tip 1 hem de tip 2 diyabette sistemik enflamatuar marker düzeylerinin arttığı bildirilmiştir.<sup>136</sup> Ek olarak, bireyin sahip olduğu enflamatuar hastalığının diğer enflamatuar hastalıkların da insidans ve şiddetini etkilediği düşünülmektedir. Diğer taraftan bakteriyel saldırıya karşı hiperaktif enflamatuar yanıt DM'li hastalarda periodontal hastalığın şiddetinde artışa neden olduğunu gösteren bulgular vardır. DM'li farelerin gingival dokularında vasküler permeabilite artar ve nötrofil kemotaksisi bozulur, bunların her ikisi de benzer bakteriyel saldırıya karşı daha şiddetli periodontitise yol açabilir.<sup>82</sup>

DM bireylerde, periodontal enflamasyona karşı konak cevabında değişikliğe neden olacak şekilde, nötrofil, monosit ve makrofajlar gibi savunma hücrelerinde fonksiyon değişikliğine neden olur.<sup>137</sup> Defektli nötrofil fonksiyonu diyabetli hastalarda kemotaksiste azalma, fagositozda düşüş ve süperoksit ürünlerinde artışı, sonuçta oksidatif strese artışı içermektedir ki bunlarda periodontal yıkımda önemli artışa neden

olur ve periodontal cepte bakterilerin kalıcılığını kolaylaştırabilir.<sup>129</sup> Nötrofillerin bu hipofonksiyonel özelliğinin aksine, monosit ve makrofajlar önemli derecede yükselmiş TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  gibi pro-enflamatuar sitokin ve mediatörlerin salınımı ile sonuçlanan aşırı bir yanıt gösterirler.<sup>138</sup> DM hastalarındaki bu konak savunma değişikliklerinin net etkisi, periodontal enflamasyon, ataşman kaybı ve kemik kaybında gözlenen artıştır. Periodontal çevrede fazla bulunan pro-enflamatuar sitokinlerin pek çok DM'li hastada gözlenen artmış periodontal yıkımda rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Diyabetik durum nedeniyle dişeti fibroblastlarındaki kollajen ve glukozaminoglikan sentezindeki azalma, dişeti oluğu sıvısındaki (DOS) kollajenolitik aktiviteyi artırır. Bu durum periodontal ligament fibrillerinin ve alveoler kemiğin kaybına böylece dişlerde mobilite ve sonuç olarak diş kaybına neden olur.<sup>139</sup> Kontrol altında olmayan diyabet hastalarında kollajenaz aktivitesinin sistemik sağlıklı bireylere göre dişeti oluğu sıvısında arttığı gösterilmiştir.<sup>140</sup> Bakteri saldırılarına karşı konak yanıtının bir parçası olarak yerleşik ve kemoatraktan immün hücreler MMP'leri sekrete eder. Bu enzimler hem sağlıklı hem de hastalıklı dokularda ECM'nin degradasyonundan sorumludur.

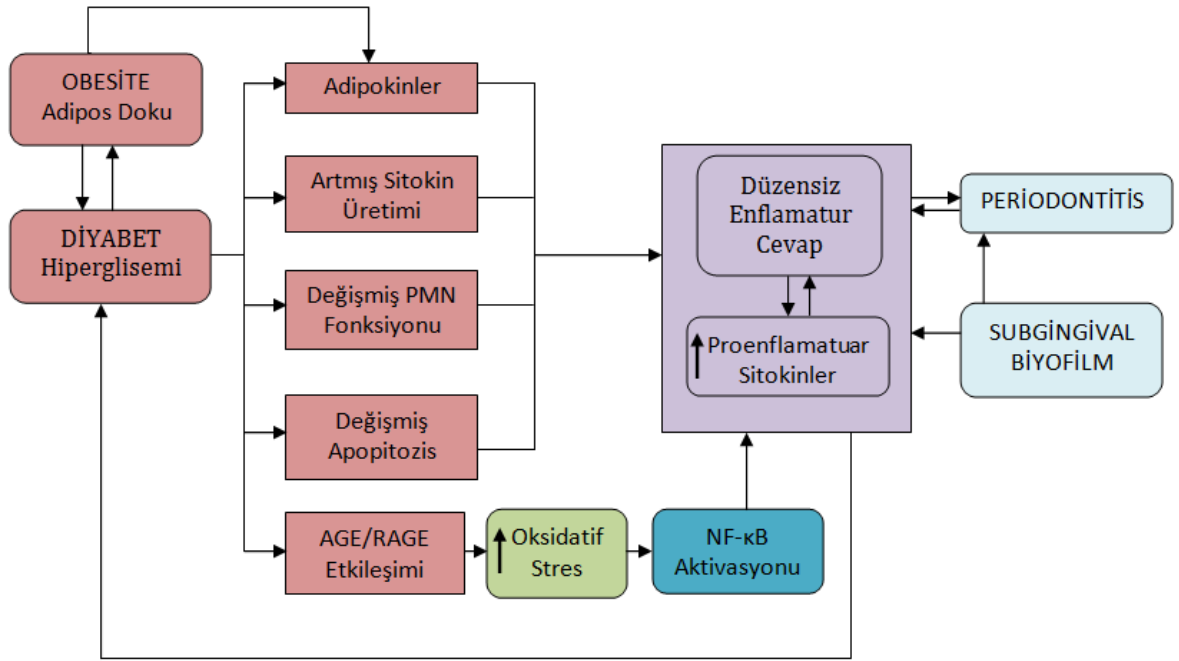
Diyabetik hastalarda periodontal yıkımın artmış olması, bağ dokusunun yapım ve yıkım dengesinin bozulmasına da bağlı olabilir. Kollajen sentezi, olgunlaşması ve yapım/yıkım dengesindeki değişimler diyabetik bireylerde ortaktır. Yüksek glukoz ortamında insan fibroblastlarının kollajen ve glukozaminoglikan üretiminde azalmalar olduğu bildirilmiştir.<sup>141</sup> Kollajen sentezinin azalmasının yanında, yeni oluşmuş kollajenin diyabetik dokularda arttığı gösterilen kollejenaz gibi MMP'ler tarafından parçalanmaya yatkınlığı bulunmaktadır. Periodontal dokuların temel yapıtaşı kollajen olduğu için, diyabetik dokulardaki kollajen yapımında azalma ve bu dokuların yıkıma

olan yatkınlığı, periodontitis patogenezi ve yara iyileşmesinin bozulması ile ilişkili olabilir.<sup>142</sup> Diyabetik anjiopati damarlarda anormal gelişim ve rejenerasyonun bozulması anlamını taşır. Diyabetik bireylerin retina ve glomerulus gibi organlarında izlenen bu mikrovasküler değişimler, periodontal damarlarda da etkili olarak doku iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilir.<sup>143</sup> DM'li hastaların yara iyileşmesindeki gecikme için kollajen sentezindeki azalma, MMP/TIMP sistemindeki dengesizlik ve glikozaminoglikanların yavaşlamış sentezi gibi çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bu değişikliklerin bazıları hem insan hem de deneysel hayvanların periodontal dokularında tanımlanmıştır. Diyabetle periodontal sağlığın bozulması arasındaki bağlantıyı açıklayan diğer mekanizma kemik rezorpsiyon ve kemik formasyonunun bozulmasıdır. Normal kemik remodeling sürecinin bir parçası olarak kemik rezorbe olur ve birleştirme olarak adlandırılan bir süreç tarafından yeni kemik oluşumu ile tamir edilir. Diyabetik ratlarda yapılan bir çalışmada anlamlı derecede daha az birleştirme (rezorpsiyon bölümünden sonra daha az reparatif kemik oluşumu), sonuçta net kemik kaybı gösterilmiştir.<sup>129</sup>

Hiperglisemi varlığında hücreler arası matriks yapımından sorumlu olan fibroblast ve osteoblast gibi hücrelerin apoptozisi artar. Böylece, bir taraftan çoğalma ve farklılaşma işlevleri azalan hücrelerin bir taraftan da ölümlerinin artması diyabetik bireylerde daha fazla periodontal yıkım görülmesini açıklayabilir.<sup>92</sup>

RAGE'lerin miktarı diyabetli bireylerde artar. İnsanda serumdaki AGE seviyesi Tip 2 DM'li yetişkinlerde periodontitisin derecesiyle ilişkilendirilmiştir.<sup>82</sup> Periodontal dokulardaki AGE'lerin birikimi, diyabetli bireylerde periodontal enflamasyonun artmasında rol oynayabilir.<sup>144</sup> AGE, makrofaj ve monosit RAGE'lerine bağlanarak IL-1 $\beta$ , IL-6, insülin benzeri büyüme faktörü ve TNF- $\alpha$  sekresyonunda artışa yol açan hücrel durumu indüklerken, endotelial hücrelere bağlanarak da fokal trombozis ve

vazokonstrüksiyona neden olan prokoagülatör değişikliklere neden olur. Diyabetik bireylerde monositler, diyabetik olmayan bireylere oranla daha fazla miktarda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve PGE2 üretirler. Klinik olarak, periodontitisli diyabetik bireylerin dişeti oluğu sıvılarındaki IL-1 $\beta$ , IL-6 ve PGE2 seviyeleri, periodontitisli non-diyabetik bireylere oranla daha yüksektir. Bu ürünlerin aşırı üretimi, ligand-reseptör ilişkisine yanıtta kollajen metabolizmasında değişikliklere katkıda bulunabilir veya aracılık edebilir. AGE tarafından modifiye edilen proteinler, insan monositleri için kemotaktiktir. Bu durum, enflamatuvar yanıtı arttırarak yara iyileşmesinin gecikmesine ve ayrıca bağ dokusu yıkımı ve kemik rezorbsiyonunun da indüklenmesine neden olur.<sup>138</sup>



**Şekil 2.10.** Diyabet ve periodontitis arasındaki iki yönlü ilişki

### 2.7.9. Antioksidanlar ve Antioksidan Terapi

Son zamanlarda; artan ROT ile periodontitisin patogenezi, antioksidan destek ve periodontitisin tedavisi arasında güçlü bir ilişki olduğu bulunmuştur.<sup>145</sup> Periodontal dokularda oksidatif hasarla birlikte meydana gelebilecek olumsuzlukların önüne geçmek için çeşitli antioksidanların kullanımı gündeme gelmiştir.<sup>12</sup> Antioksidanların

yararlı olabileceği düşüncesiyle bazı çalışmalarda periodontal tedavide antioksidanların tedavi edici etkileri çalışılmıştır.<sup>146-148</sup> Non-enzimatik antioksidanlar ROT'u nötralize etmek için bir mekanizmadır.<sup>149</sup>

## **2.8. Vitamin C**

Askorbik asit, güçlü bir indirgeyici madde ve antioksidandır.<sup>150</sup>

Periodontal sağlığın ve genel sağlığın korunmasında vitamin C'nin önemli bir rolü olduğu kabul edilmektedir. Artan yaşla birlikte vitamin C düzeylerinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Vitamin absorpsiyonundaki değişiklik periodontal ve peri-implant sağlığını da içeren vitamin C'ye bağlı birçok metabolik ve diğer fonksiyonlar üzerinde etkiye sahip olabilir. Özellikle yetişkin hastalarda tamamen vitamin C metabolizmasına bağlı kronik sistemik hastalıklar ve periodontal hastalıklar arasında bir bağ olduğu gösterilmiştir. Sulu çözeltilerdeki vitamin C kolaylıkla, tekli oksijen ve hipoklorit kadar reaktif oksijen ve nitrojen türlerini temizler ve vücudun anti-oksidan ağının bir parçasıdır. Gingiva, periodontal ligament, sement ve alveolar kemiğin bağ dokusunun önemli bir parçası olan kollajen biyosentezinde etkili bir rolü vardır. Prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz enzimleri prokollajen sentezi için esansiyeldir. Vitamin C, muhtemelen antioksidan etkileri ve kolajen üzerindeki etkisi nedeniyle endotel fonksiyonunun devam ettirilmesine dahil olduğu düşünülmektedir. Dolaşımdaki hücrelerde (nötrofiller, monositler, trombositler, lenfosit) vitamin C alımı ve askorbat konsantrasyonu arasındaki ilişki C vitamini alımı ile paraleldir.<sup>151</sup> C vitamininin monosit adezyon moleküllerinin C-reaktif protein aracılı ekspresyonunu azaltma yeteneği vardır,<sup>14</sup> ayrıca PMN'lerin ve monositlerin / makrofajların bakterisidal aktivitesine yardımcı olur ve nitrik oksitin sentezini artırır.<sup>15</sup>

Eksiklik durumunda osteoid oluşturulması için osteoblastların başarısızlığı sonucu, vitamin C eksikliği alveolar kemik ve diğer kemiklerde değişikliğe neden olur.

Vitamin C'nin kemik sağlığı üzerine koruyucu etkisi rezorpsiyonla kemiğin gcszleşmesinde rol oynayan oksidatif stresin etkilerine karşı koyarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.<sup>151</sup>

Vitamin C'nin azalması plak/biyofilmin ekolojik dengesine müdahale etmesi nedeniyle biyofilmin patojenitesini arttırır. Marsh'ın ekolojik plak hipotezine göre, çevredeki değişim periodonsiyumun duyarlılığını arttıran ve değiştiren çeşitli periodontopatik mikroorganizmayı çekebilir.<sup>152</sup> Bu bağlamda peiodontitis için risk faktörü olan plasmada düşük vitamin C konsantrasyonunun rolü daha fazla dikkat gerektirmektedir. Dental biyofilmdeki kalitatif ve kantitatif değişiklikler periodontopatojen türlerin büyümesini destekleyerek enfeksiyona duyarlılıkta artışa neden olur. Bu, oral-periodontal ekosistemde bir değişime yol açar ve periodontitis gelişmesi için risk artar.<sup>151</sup>

Oksidatif stres varlığıyla güçlü bağlantısı olan periodontitis ve kronik sistemik enflamatuar durum arasında iki yönlü ilişki ve ortak bağ vardır. Glukoz ve askorbik asit arasında yapısal benzerlik bulunmaktadır. Aynı membran bariyeri kullanılarak yarışmalı ligandlar diyabetik hastalarda, askorbik asit ve glukozun değişmiş seviyesinden sorumludur. Vitamin C takviyesi yapılan rejimle diyabetik ratlarda gingival değişimin tersine çevrildiği gözlenmiştir.<sup>151</sup>

Tip I ve tip II diyabetli hastalarda vitamin C gibi antioksidanların kullanımının n kol arteriollerinde endotel bağımlı gevşemeyi belirgin olarak arttırdığı bulunmuştur.<sup>153</sup> Diyabetik hayvanlarda vitamin C ve E, tek başına veya kombine halde uygulanması, oksidatif stresin lipit peroksidasyonu, izoprostan retimi, MDA ve NF-κB aktivasyonu gibi birçok parametresini normalleştirdiği gösterilmiştir.<sup>154</sup>



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Deney Hayvanları**

Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulu'ndan 24.05.2017 ve 4/51 nolu karar ile onay almıştır. (Ek 2).

Çalışmaya aynı merkezden elde edilen 30 erkek Sprague Dawley rat (ortalama 300 g) dahil edildi. Ratlar aynı merkezde altışarlı gruplar halinde ayrı ayrı kafeslere konularak sadece standart rat yemi ve su ile beslendi.

#### **3.2. Grupların Oluşturulması**

Hayvanlar rastgele aşağıda gösterildiği gibi 5 deney grubuna ayrılmıştır:

- 1) Kontrol (K): Hiçbir tedavi uygulanmadı
- 2) Deneysel Periodontitis (P): Deneysel periodontitis indüklendi. Ligatür söküldükten sonra 50 µl fizyolojik salin alt sağ 1. molar dişin bukkal sulkusuna insülin iğnesiyle iki gün aralıklarla 3 kez verildi.
- 3) Deneysel Diyabet (D): Deneysel diyabet indüklendi. Diyabet oluşturulan hayvanlara 50 µl fizyolojik salin alt sağ 1. molar dişin bukkal sulkusuna insülin iğnesiyle iki gün aralıklarla 3 kez verildi.
- 4) Diyabet - Periodontitis (DP): Deneysel diyabet indüklendi. Diyabet oluşturulduktan sonra deneysel periodontitis indüklendi. Ligatür söküldükten sonra 50 µl fizyolojik salin alt sağ 1. molar dişin bukkal sulkusuna insülin iğnesiyle iki gün aralıklarla 3 kez verildi.
- 5) Diyabet - Periodontitis - Lokal Vitamin C 5 mg/ml (DP - L Vit C): Deneysel diyabet indüklendi. Diyabet oluşturulduktan sonra deneysel periodontitis indüklendi. Ligatür söküldükten sonra 50 µl vitamin C alt sağ 1. molar dişin bukkal sulkusuna insülin iğnesiyle iki gün aralıklarla 3 kez verildi.

#### **3.3. Deneysel Diyabet Oluşturulması**

Geri dönüşümsüz deneysel diyabet oluşturmak için 150 mg/kg tek doz intraperitoneyal (IP) olarak alloxan monohydrate (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO,

USA) enjekte edildi. Enjeksiyondan üç gün sonra ratların kuyruklarından insülin şırıngası (1 ml) ile alınan kan örnekleri (5 µl), glukometre cihazı (Acon, Biotech, USA) kullanılarak analiz edildi. Açlık kan şekeri seviyesi 300 mg / dl'den yüksek olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi ve hayvanların diyabet olduğundan emin olmak için bir hafta sonra tekrar açlık kan şekeri ölçüldü. Diyabet olan ratlar çalışmaya dahil edildi.

### **3.4. Deneysel Periodontitis Oluşturulması**

Hayvanlar Ketamine (Ketalar, Pfizer) (1 ml/kg i.p.) ve Xylazine Chloride (Rompun, Bayer) (0.1 ml/kg i.p.) enjeksiyonu ile genel anestezi altına alındı. Oral bakterilere retansiyon sağlaması için, alt sağ 1. molar dişlerinin etrafına 3.0 ipek suturlar subgingival konumda yerleştirildi ve düğüm mezialde kalacak şekilde bağlandı (Şekil 3.4). Böylece enflamasyon ve periodontitis oluşması sağlandı.

### **3.5. Vitamin C uygulanması**

Diyabet ve periodontitis oluşturulduktan sonra tüm ligatürler 10. gün söküldü (Şekil 3.5). Lokal vitamin C (Redoxon amp 500 mg/5 mL; Bayer Chemical Industry, Istanbul, Turkey) (5 mg/ml) mandibular sağ 1. molar dişlerin gingival sulkusuna insülin iğnesi (0.5 ml, 30 gauge; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ.) kullanılarak 2 gün aralıklarla toplam 3 kez uygulandı. Hung ve ark.<sup>155</sup> tavuklar üzerinde yaptıkları çalışmada lokal vitamin C uygulamasının yara iyileşmesi ve tendon yapışması üzerine etkisini değerlendirmişler. Çalışmalarında 50 mg/ml ve 5 mg/ml olarak iki farklı doz uygulamışlar. 5 mg/ml uygulanan grupta daha başarılı sonuçlar elde etmişler. Çalışmamızda bu çalışma referans alınarak doz ayarlaması 5 mg/ml olarak belirlendi ve hayvanlara lokal olarak 50 µl vitamin C uygulandı (Şekil 3.6).

### **3.6. Kan Örneklerinin Alınması**

Araştırmanın sonunda anestezi altında ratlardan kardiyak ponksiyon ile 10 cc kan alındı (Şekil 3.7). Alınan kan örnekleri tüplere konuldu (Vacutest, İtalya) ve 3000

rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Serum ve plazma kısmı ayrılarak serum örnekleri eppendorf tüplere konuldu ve biyokimyasal analiz yapılncaya kadar -80 °C' de saklandı.

İmmuno-histokimyasal inceleme için yüksek doz anestezi madde enjekte edilerek sakrifiye edilen ratların alt çeneleri çıkarılarak %10'luk formaldehit içerisinde konuldu.

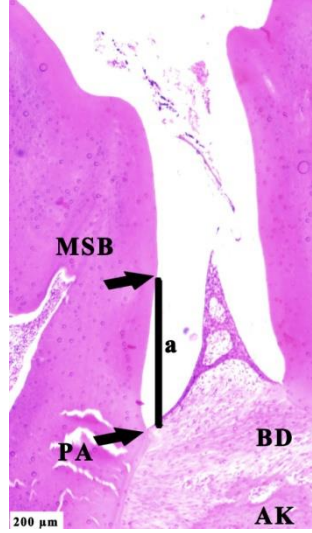
### **3.7. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz**

#### **3.7.1. Dokuların Hazırlanması**

Ratlardan elde edilen örneklerin immünohistokimyasal analizi Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarında değerlendirildi. Alınan tüm örnekler önce %10'luk nitrik asit solüsyonunda dekalsifiye edildi. Yaklaşık 10 saat süren dekalsifikasyon işleminden sonra ratlardan elde edilen mandibulalarda birinci ve ikinci molar dişler arasında sütür atılan bölgeyi içerecek şekilde 5 mm kalınlığında örnekler alındı ve tekrar %10'luk formaldehit içerisinde konuldu. Doku takip işlemi tamamlanan örnekler parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklar içerisindeki örnekler mandibular 1. molar dişler boyunca mesiodistal yönden mikrotom (Sliding microtome, Leica RM 2125 Almanya) kullanılarak toplam dörder adet 5µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra lamalar hematoxylin-eosin ile boyandı.

#### **3.7.2. Ataşman Seviyesinin Histolojik Olarak İncelenmesi**

Histolojik kesitler üzerinde, 1. ve 2. molar dişler arasındaki belirlenen mine sement sınırı - periodontal ataşman arasındaki mesafe, ışık mikroskobu ve mikroskoba bağlı kamera ile alınan görüntü üzerinde mesafe ölçümü yapılabilen AnalySIS programı kullanarak (4x, 10x veya 20x) yapılmıştır (Şekil 3.1).

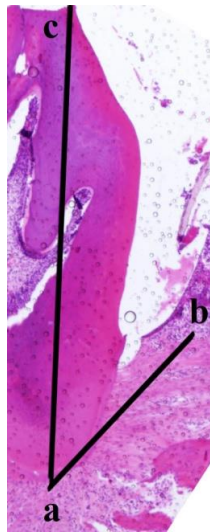


**Şekil 3.1.** Periodontal ataşman kaybının histolojik olarak tespiti

AK: Alveoler kemik, BD: Bağ dokusu, PA: Periodontal ataşman, MSB: Mine-Sement bileşimi, a: Periodontal ataşman kaybı miktarı ( $\mu\text{m}$ ).

### 3.7.3 Alveoler Kemiğin Histolojik Olarak İncelenmesi

Histolojik görüntülerde 3 bölgenin ölçümü alındı. Bunlar; distal/mezial kökün apeksi (a) , distal/mesial alveolar kret tepesi (b) ve distal ve mesial cusp tepesi (c). ab ve ac noktaları arasındaki lineer uzunluk ölçülerek kökün etrafındaki periodontal kemik desteği ışık mikroskobu ve mikroskoba bağlı kamera ile alınan görüntü üzerinde mesafe ölçümü yapılabilen AnalySIS programı yardımıyla (4x, 10x veya 20x),  $ab/ac \times 100$  kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.2.).



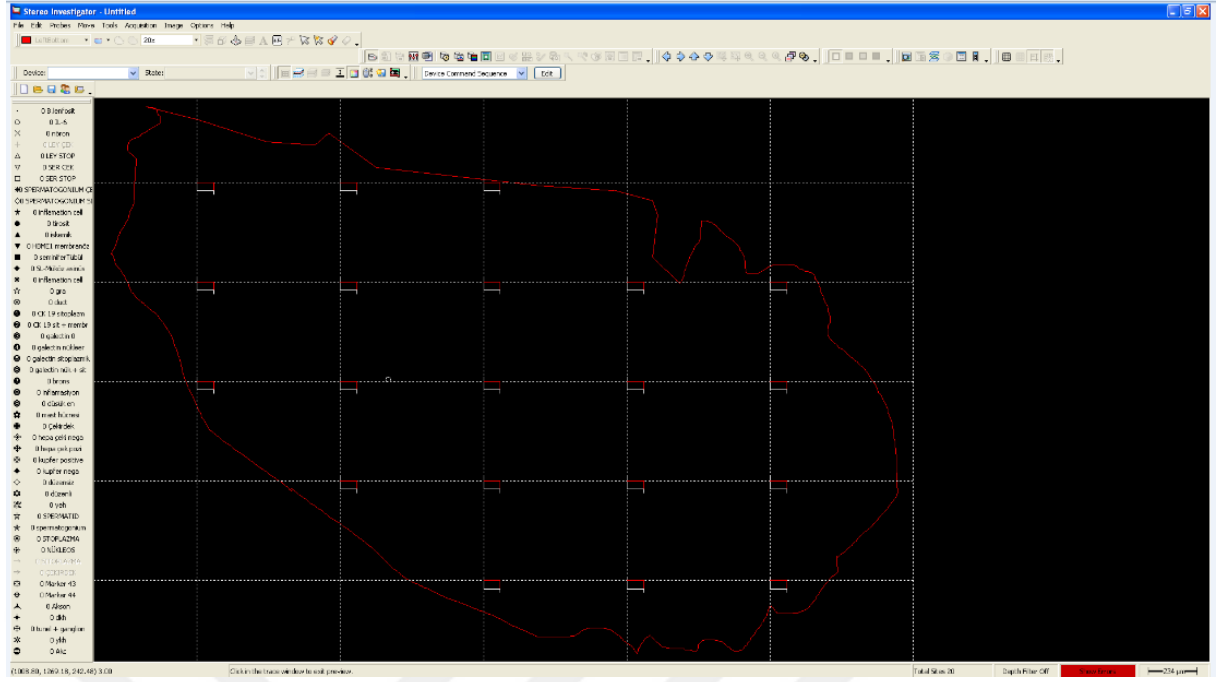
**Şekil 3.2.** Mezial ve distal kemik yüzdelерinin histolojik olarak tespiti

### 3.7.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

Kesitler, immunohistokimyasal Avidin Biotin Kompleksi (ABC) yöntemine göre anti-AGE (1/50 seyreltme; Santa Cruz), anti-MMP8 (1/50 seyreltme; Santa Cruz) , anti-IL-6 (1/50 seyreltme; Santa Cruz) ve anti-8-OHdG (1/50 seyreltme; Santa Cruz) ile boyandı. Mikroskopik kesitler üzerinde hücresel sayısal yoğunluk değeri stereolojik metotlardan birisi olan *optik parçalama* ile *optik disektör* kombinasyonu kullanılarak hesaplandı.

#### **Stereolojik Yöntemle Kesitler Üzerinde Sayısal Yoğunluğun Hesaplaması**

Optik parçalama metodu ile sayım hesaplaması için optik disektörler içeren özel bir yazılım bulunan Stereo-Investigator (sürüm 6.0, Microbrightfield, Colchester,VT) kullanıldı.Çalışmada immunohistokimyasal işaretlemelerle boyanan kesitler mikroskop tablasına yerleştirdikten sonra kesit üzerinde ölçüm yapılacak dış eti alanının dış hatları program yardımıyla çizildi. Ölçüm yapılacak alanlar belirlendikten sonra optik parçalama kurallarına göre x ve y ekseninde adım aralıkları belirlendi. Birbirinden belli adım aralıkları ile ayrılmış tarafsız sayım çerçeveleri (Şekil 3.3) rastgele bir açıyla bilgisayarda kesit üzerine yerleştirildi. Sonra tarafsız sayım çerçevesinin içine düşen hücreler boyanma tiplerine göre işaretlendi ve kesitlerin sayısal yoğunluk parametreleri yazılım tarafından otomatik olarak hesaplandı.<sup>156</sup>



**Şekil 3.3.** Stereo investigator programında optik parçalama işleminin uygulanması ve tarafsız sayım çerçevesi

### 3.8. Biyokimyasal Analiz

#### 3.8.1. Serum CTX ölçümü

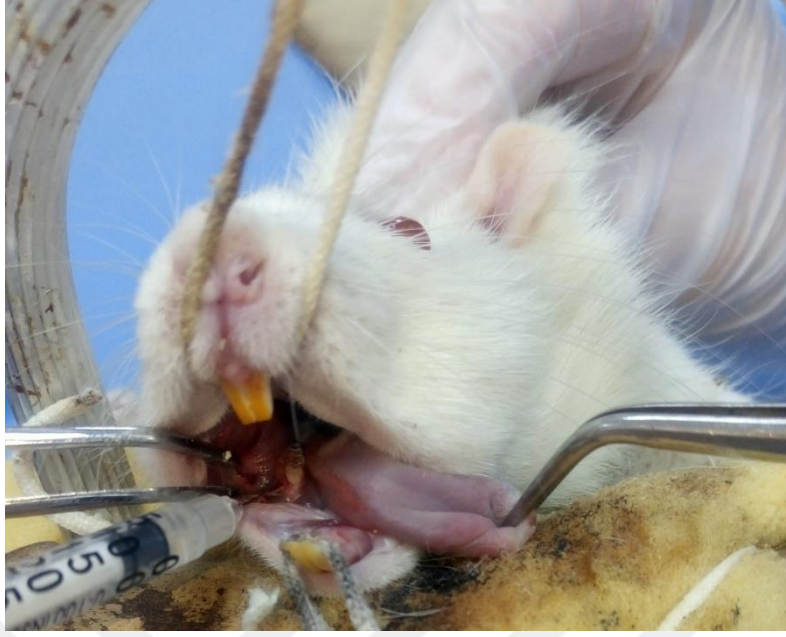
Serum CTX ölçümü ELISA cihazı ( $\mu$ -Quant, BioTek Instruments, Winooski, VT) kullanılarak, rat spesifik ELISA CTX Immunoassay kitiyle (Cusabio, Biotech) yapıldı. Sonuçlar tüm gruplarda (ng/ml) cinsinden değerlendirildi.



**Şekil 3.4.** Ligatürün yerleştirilmesi



**Şekil 3.5.** Ligatür alındıktan sonraki periodontal yıkımı gösteren ağız içi görüntü



**Şekil 3.6.** 1. molar dişlerin gingival sulkusuna insülin iğnesi ile lokal vitamin C uygulanması



**Şekil 3.7.** İntrakardiyak kan alınması



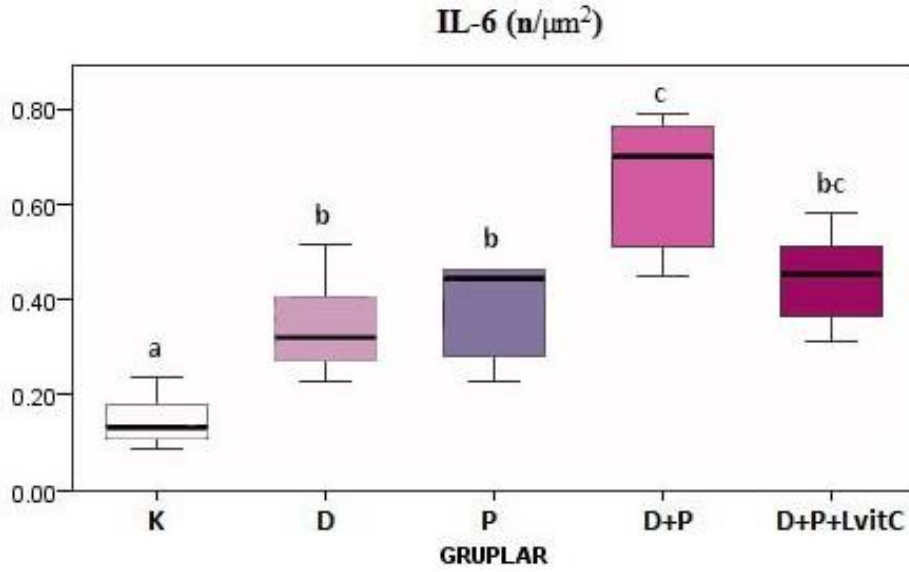
### 3.9. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics version 20 ile yapıldı. Her bir grup için sonuçlar Ortalama±Standart sapma olarak verildi.  $P<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz tekniğinin seçimi için tüm gruplarda her bir parametreye ait verilerin normal dağılım sergileyip sergilemediği Kolmogorov–Smirnov testi ile gerçekleştirildi. Verilerin homojenitesi Levene’s homogeneity testi ile belirlendi. İmmunohistokimyasal boyamada IL-6 ve MMP-8 ile pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerleri normal dağılım sergilemediği için istatistiksel analiz Kruskal Wallis ile gerçekleştirildi. AGE ve 8-OHdG'ye ait pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerleri ve serum CTX değerleri normal dağılım sergilediği için istatistiksel farklılık Tek Yönlü varyans analizi ve post-hoc Tukey testi ile gerçekleştirildi. Gruplar arasında ataşman kaybı miktarı ve mesial ve distal kemik desteği oranlarının kıyaslanmasında da yine veriler normal dağılım sergilediği için Tek yönlü varyans analizi ve post-hoc Tukey testi uygulandı.

## 4. BULGULAR

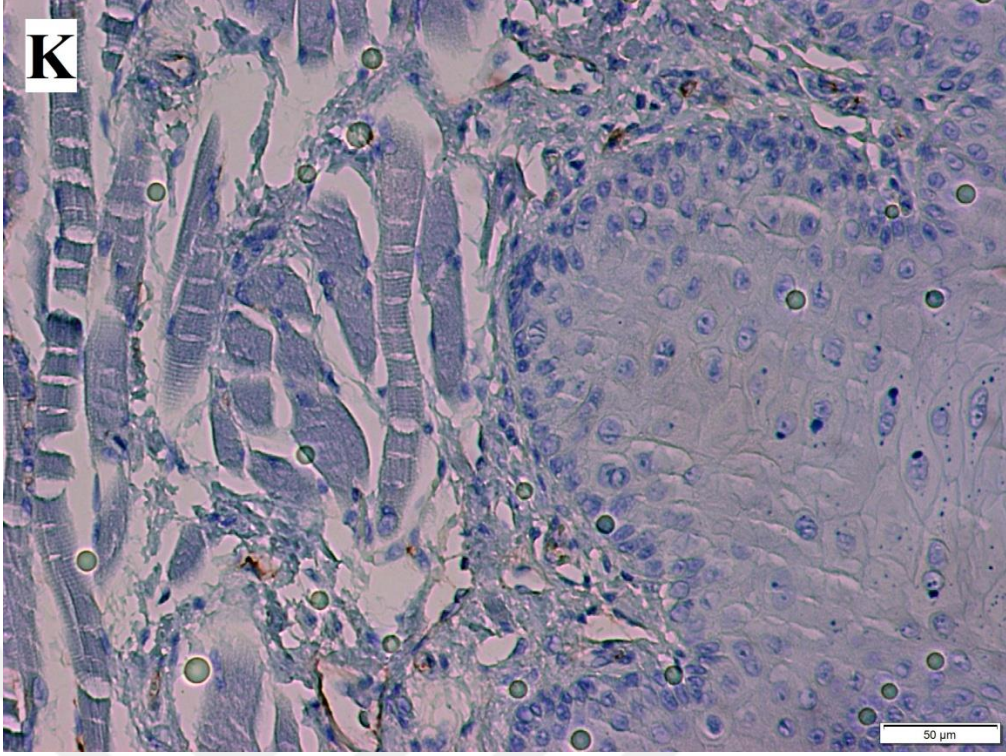
### 4.1. IL-6

K grubuna göre hem D grubunda hem de P grubunda IL-6 pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). P grubunda D grubuna göre boyanan hücre yoğunluğu yüksek bulundu, ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre IL-6 pozitif hücre sayısında düşüş olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.1).

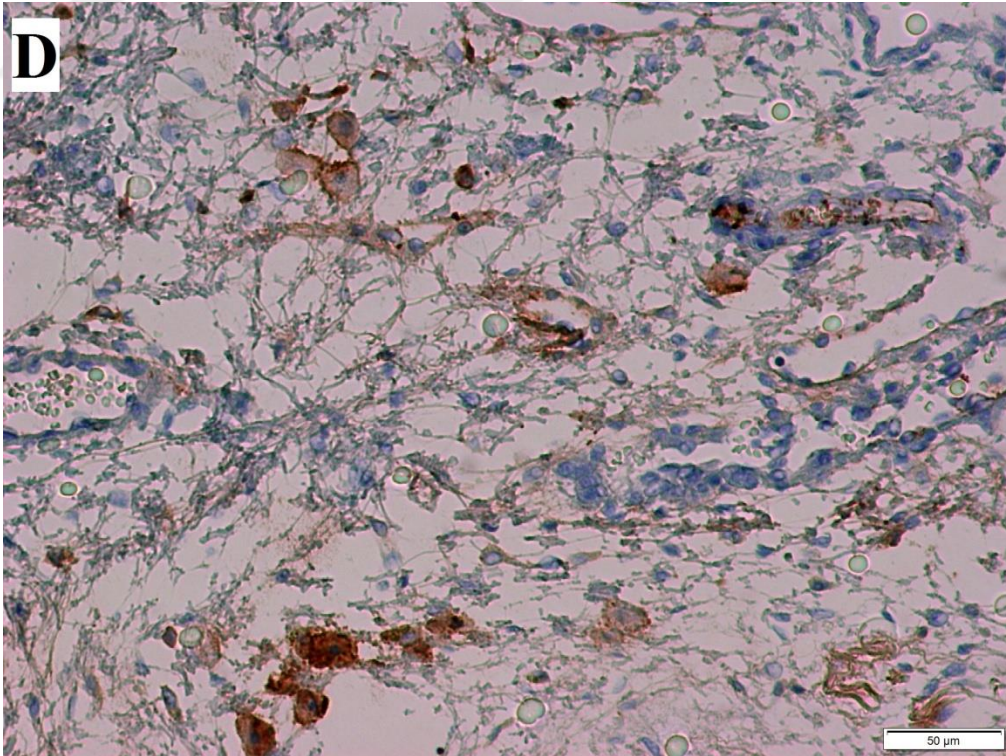


**Şekil 4.1.** Grupların IL-6 değerleri

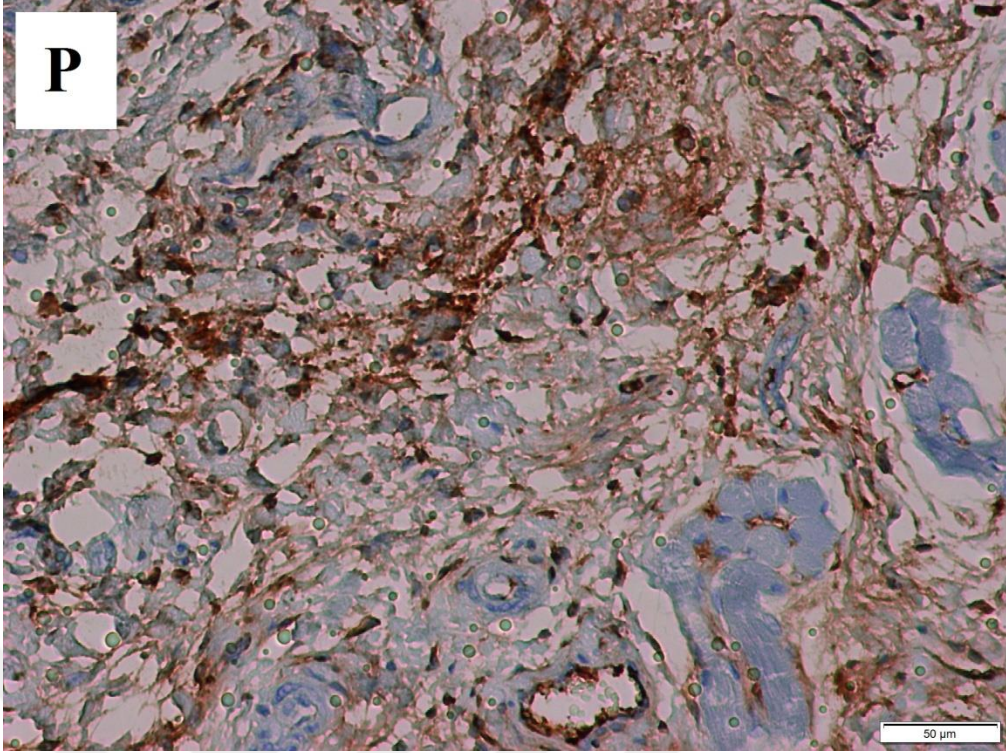
Grafik çubukları "ortalama  $\pm$  standart sapma" olarak ifade edilmiştir.



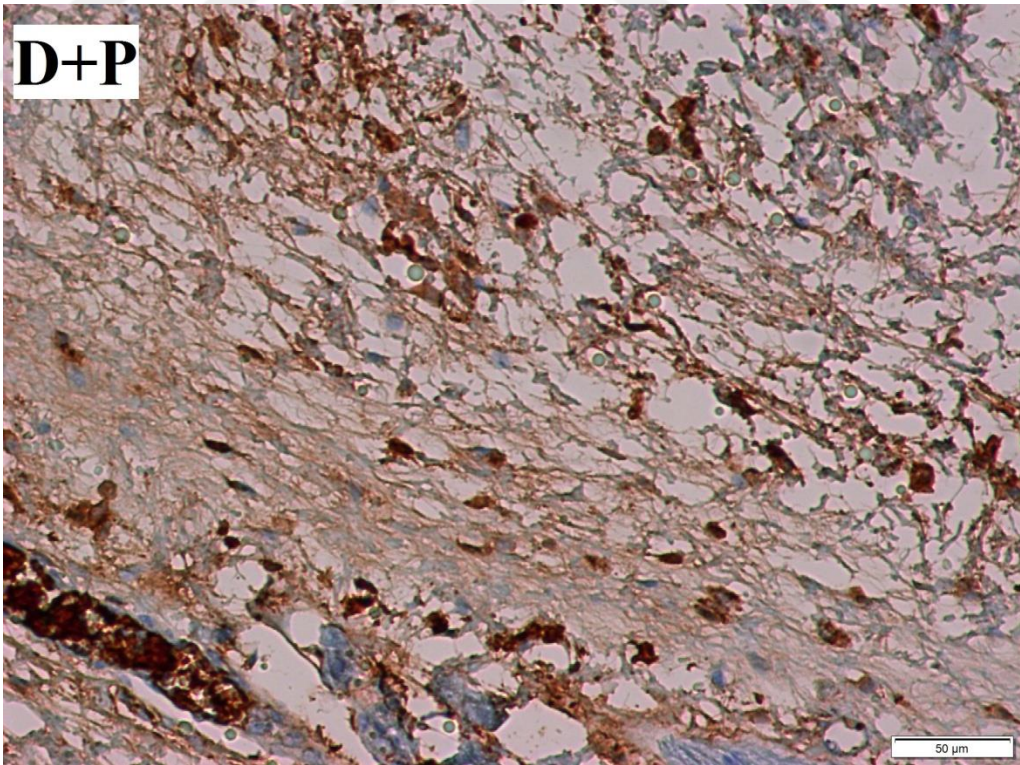
Şekil 4.2. K grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



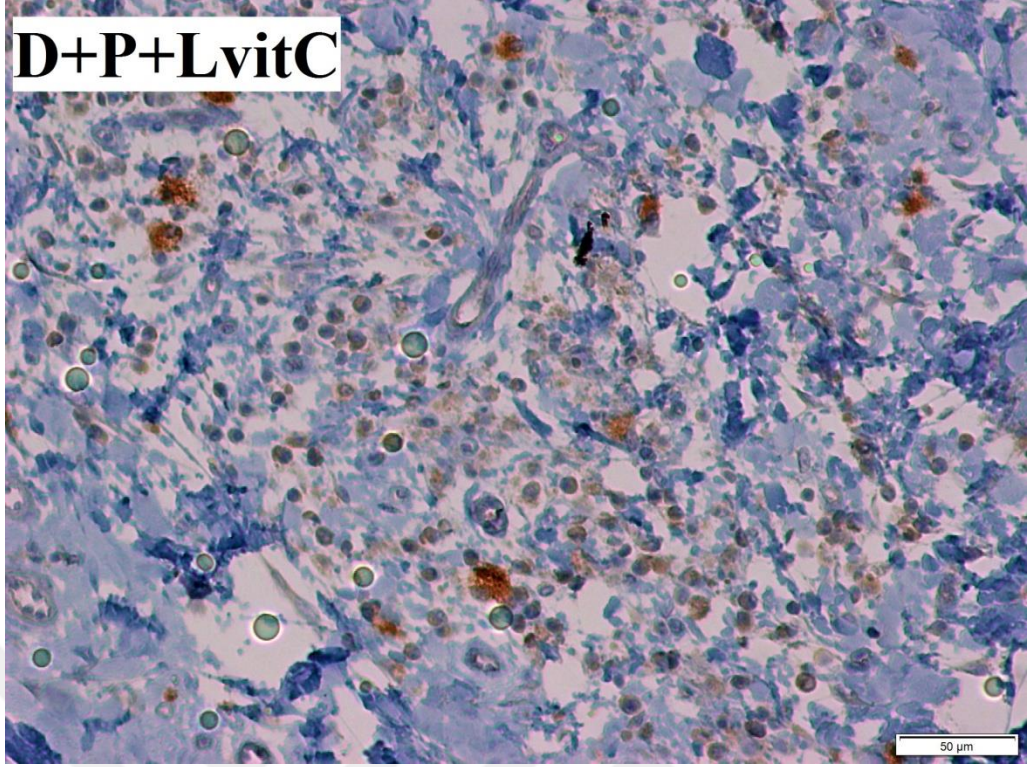
Şekil 4.3. D grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



Şekil 4.4. P grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



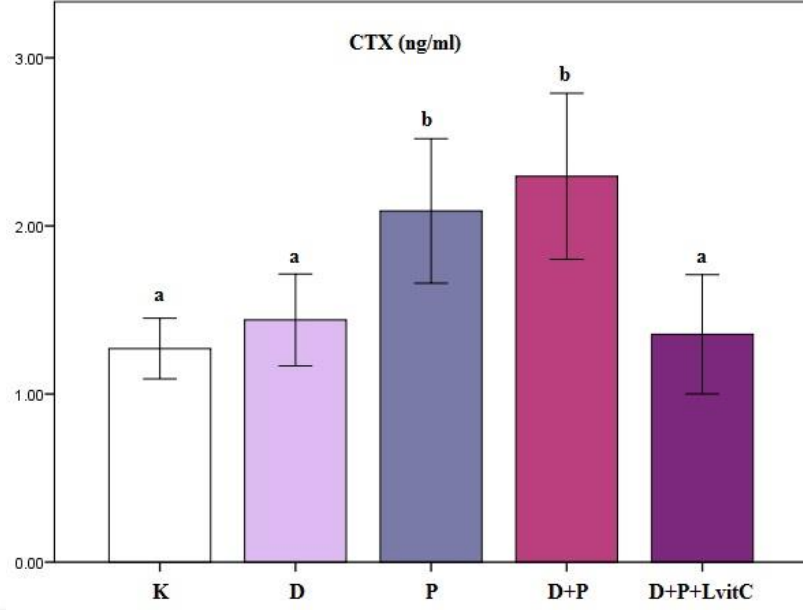
Şekil 4.5. D+P grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



**Şekil 4.6.** D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde IL-6 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü

#### 4.2. CTX

K grubuna göre D grubunda CTX seviyesinde artış görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre CTX seviyesindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Serum CTX seviyesinin D+P grubunda D grubuna kıyasla artışı istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), P grubuna göre artışı istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre serum CTX değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş belirlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.7).

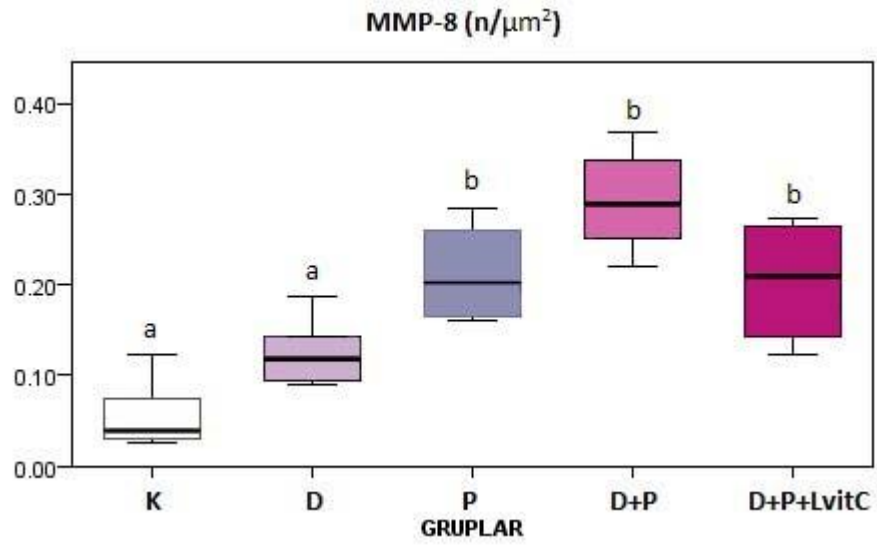


**Şekil 4.7.** Grupların CTX değerleri

Grafik çubukları "ortalama  $\pm$  standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

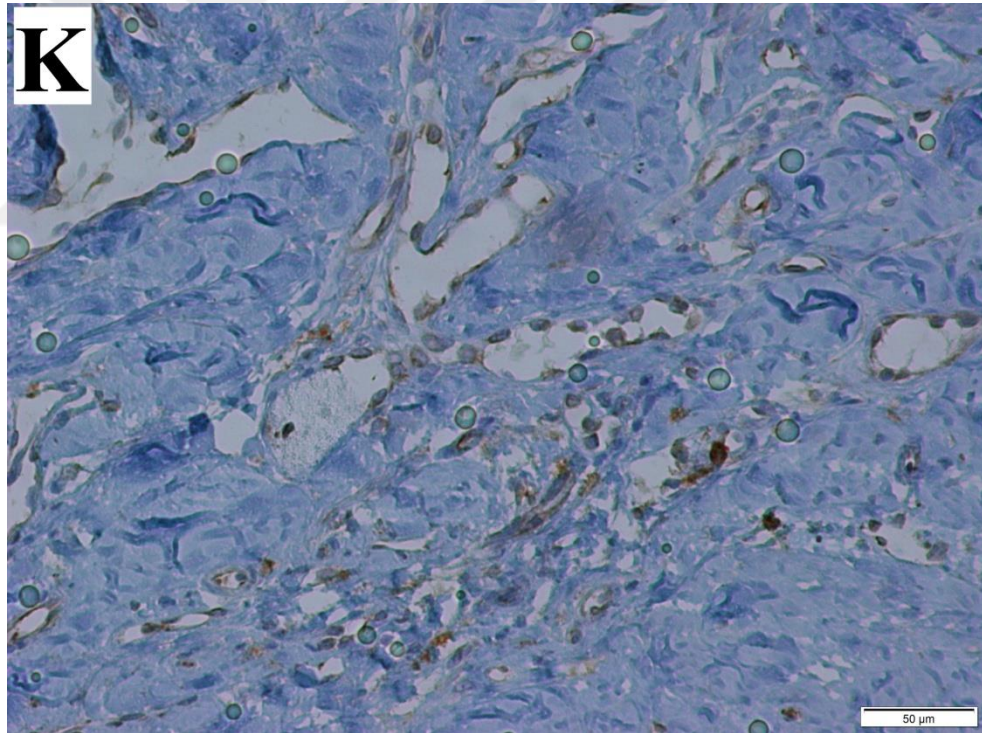
#### 4.3. MMP-8

K grubuna göre D grubunda MMP-8 pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerlerinde artış görüldü ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre boyanan hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre değerlerin yüksek olduğu görüldü. Ancak değerlerdeki farklılık D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p < 0.05$ ), P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre MMP-8 pozitif hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüş olduğu belirlendi ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.8).

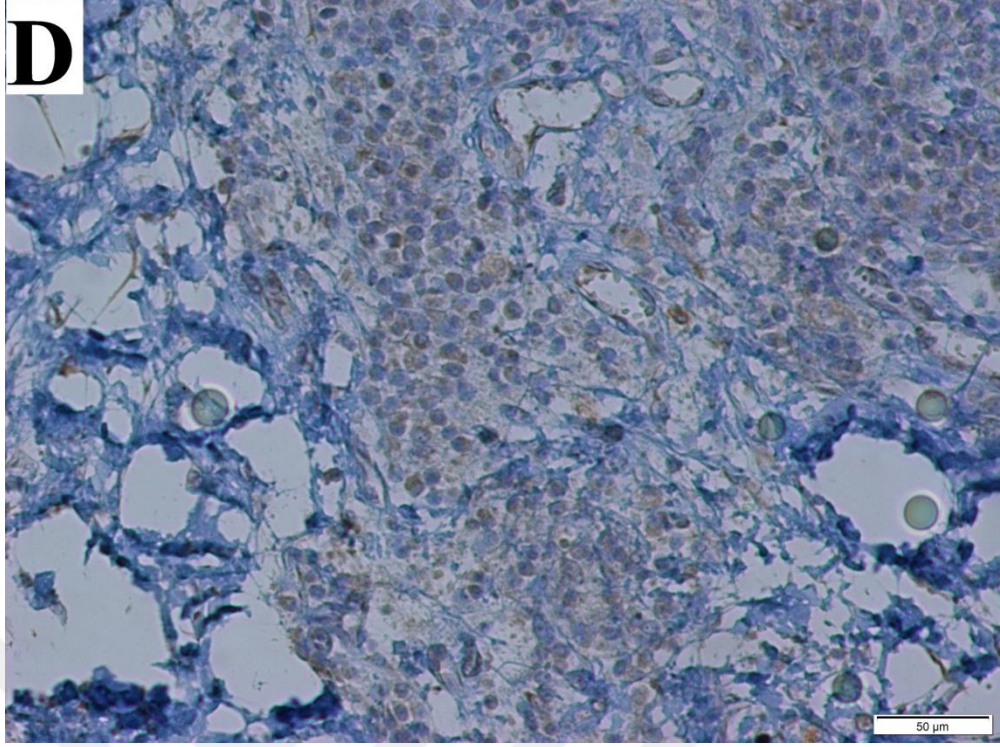


**Şekil 4.8.** Grupların MMP-8 değerleri

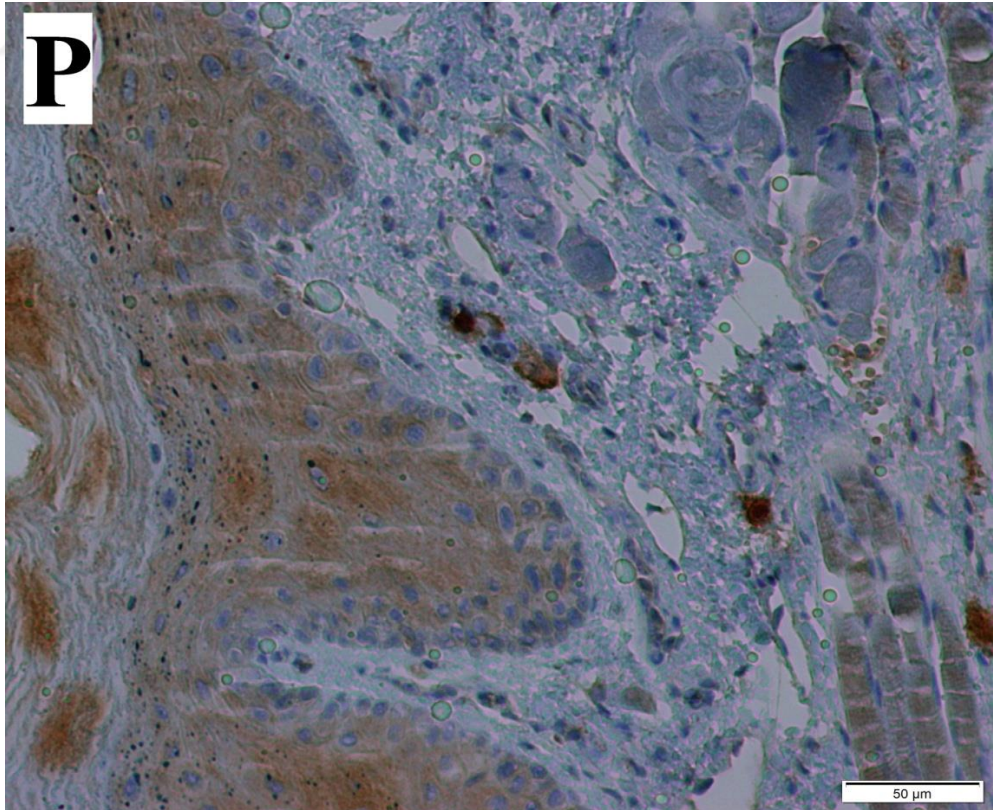
Grafik çubukları "ortalama  $\pm$  standart sapma" olarak ifade edilmiştir.



**Şekil 4.9.** K grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü

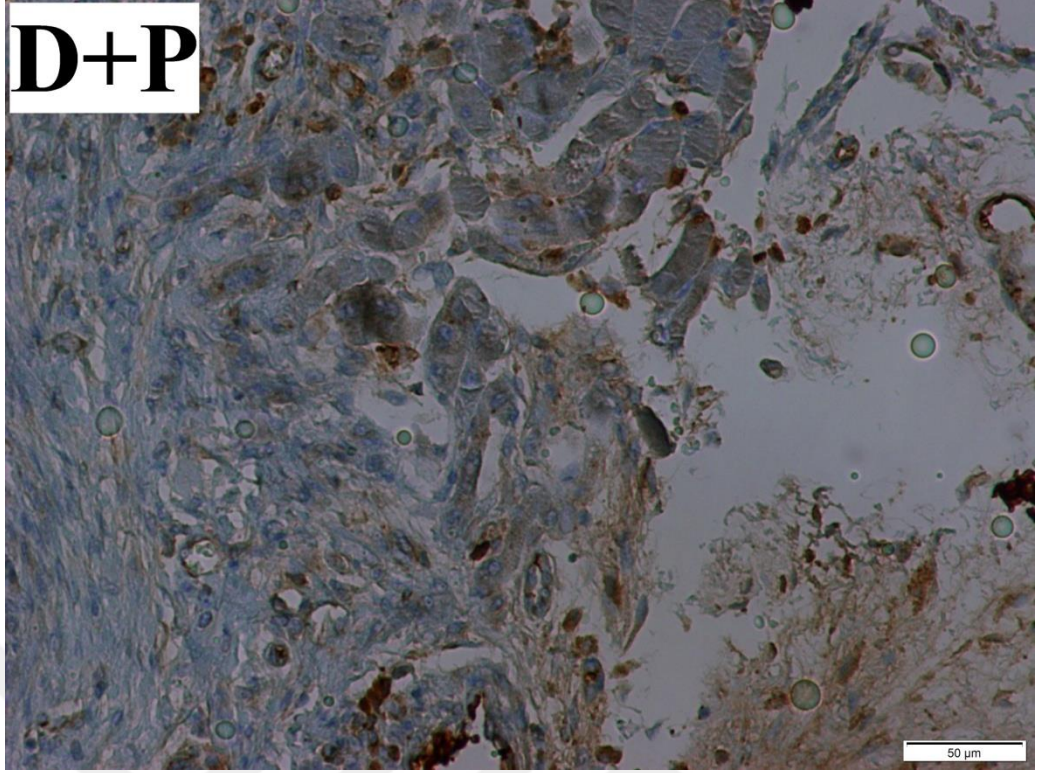


**Şekil 4.10.** D grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü

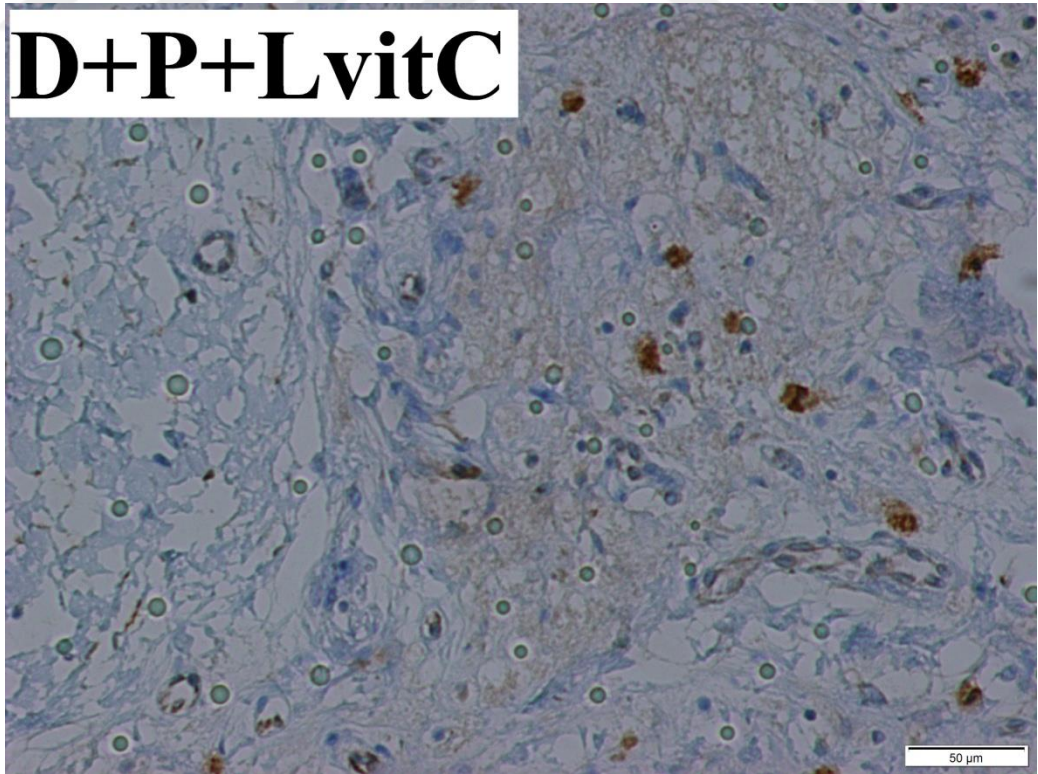


**Şekil 4.11.** P grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü





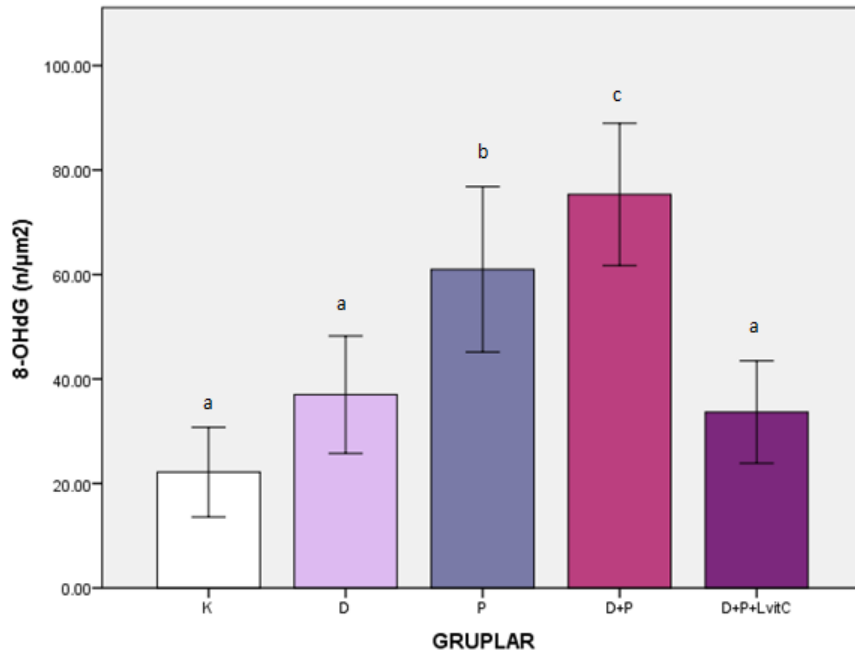
**Şekil 4.12.** D+P grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



**Şekil 4.13.** D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde MMP-8 pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü

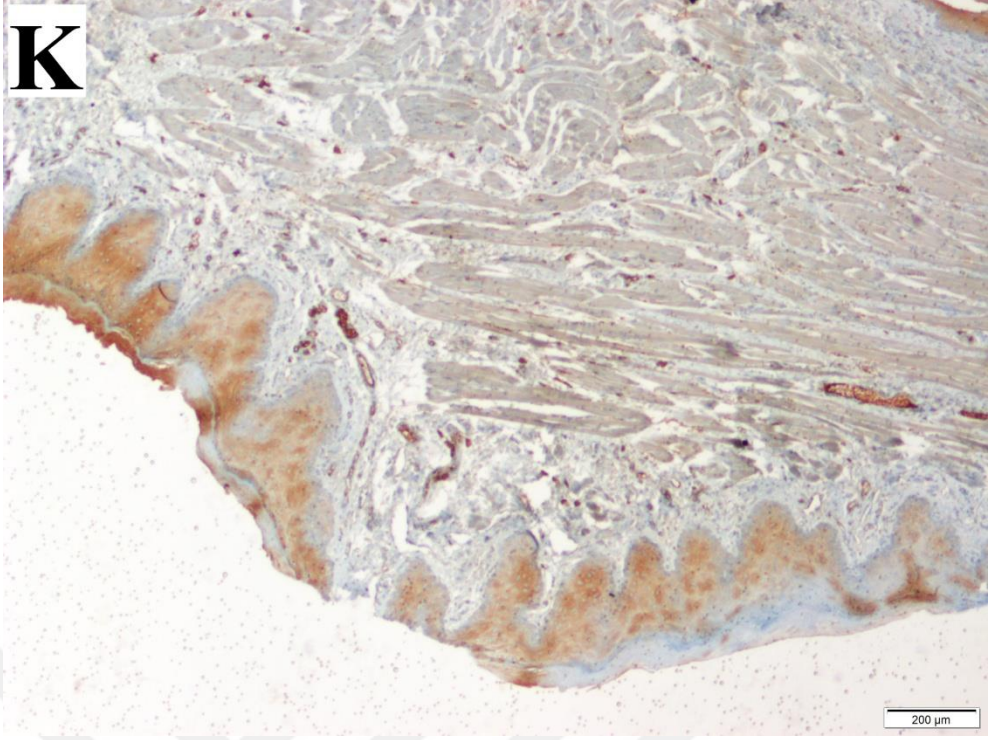
#### 4.4. 8-OHdG

K grubuna göre D grubunda 8-OHdG pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerinde artış görüldü ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre 8-OHdG pozitif hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). D+P grubunda D ve P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $p<0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre 8-OHdG pozitif hücre sayısı yoğunluğundaki değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş belirlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.14).

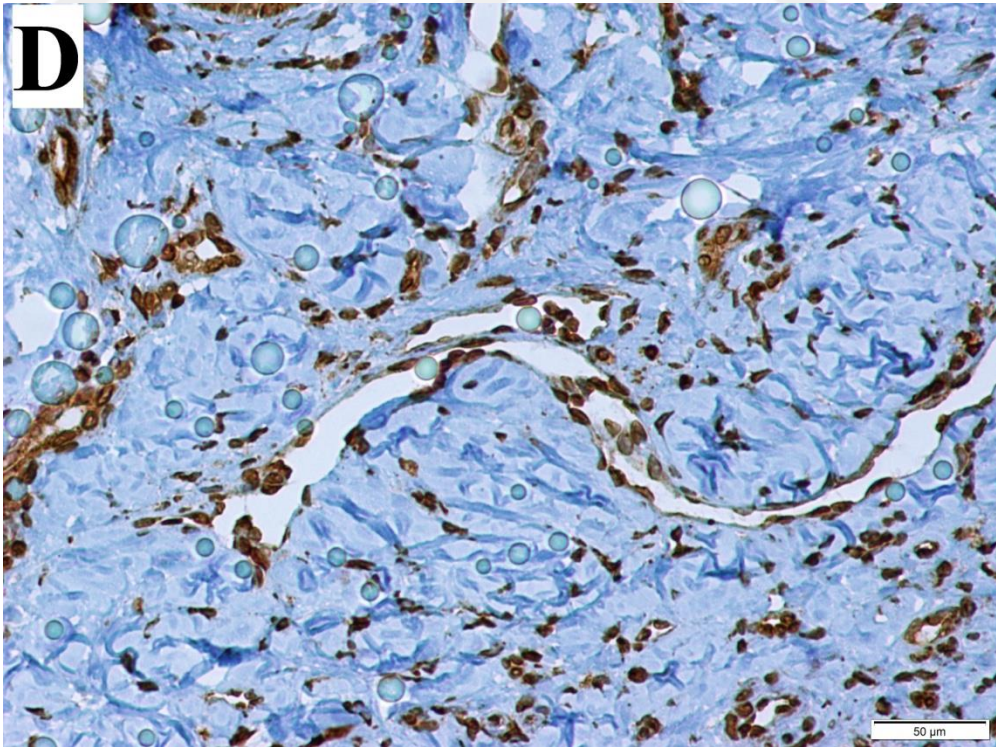


Şekil 4.14. Grupların 8-OHdG değerleri

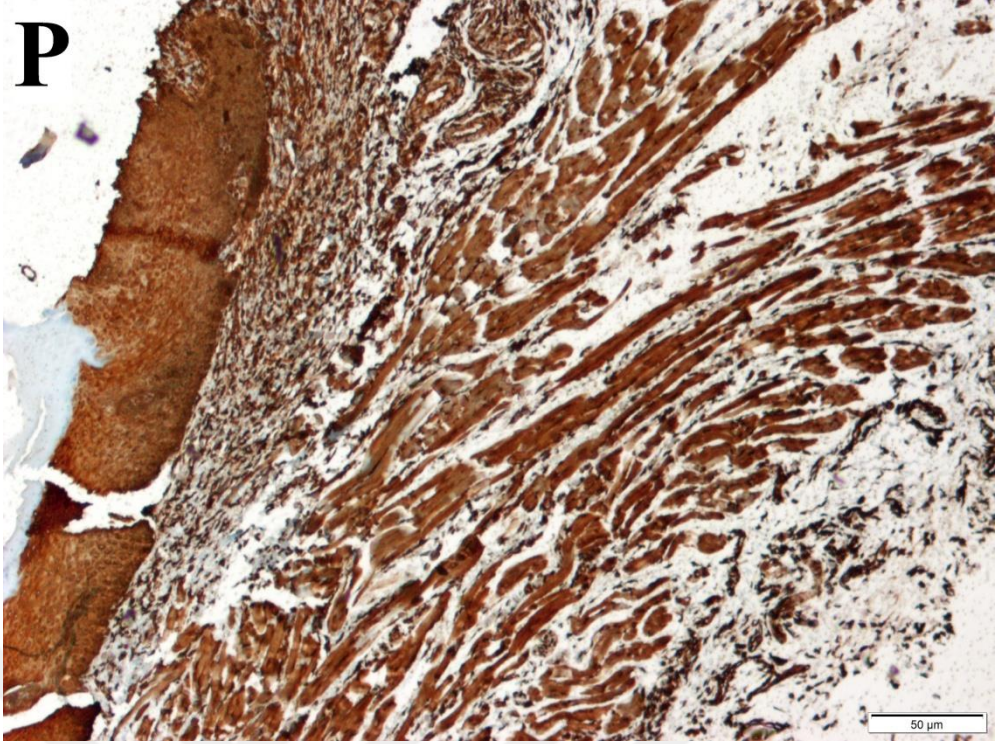
Grafik çubukları "ortalama  $\pm$  standart sapma" olarak ifade edilmiştir.



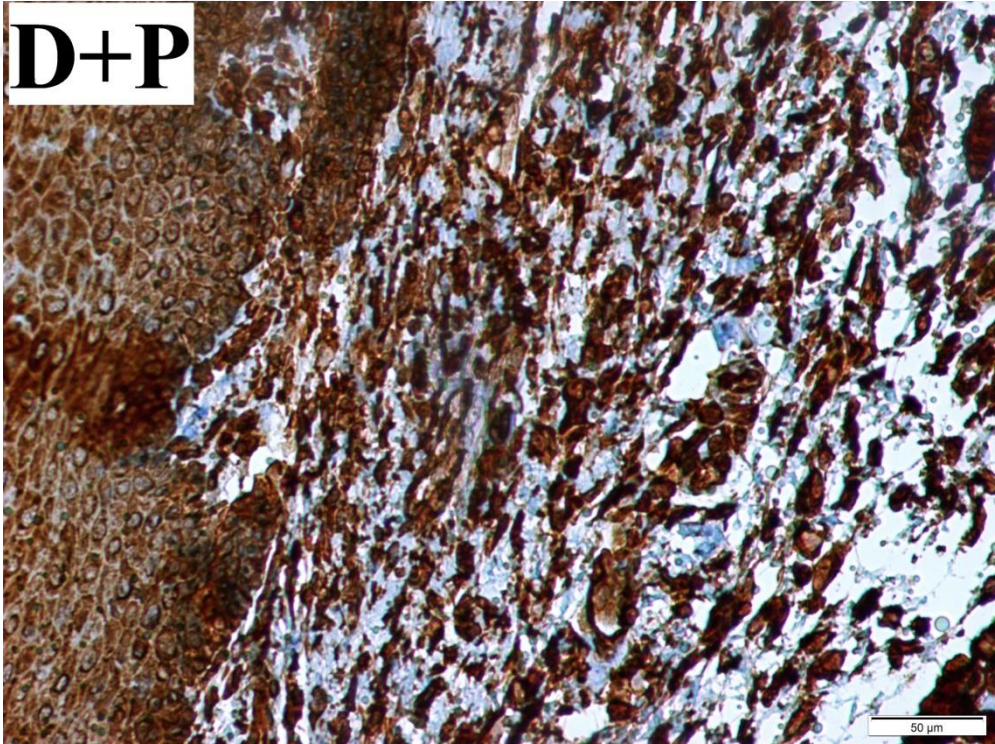
Şekil 4.15. K grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



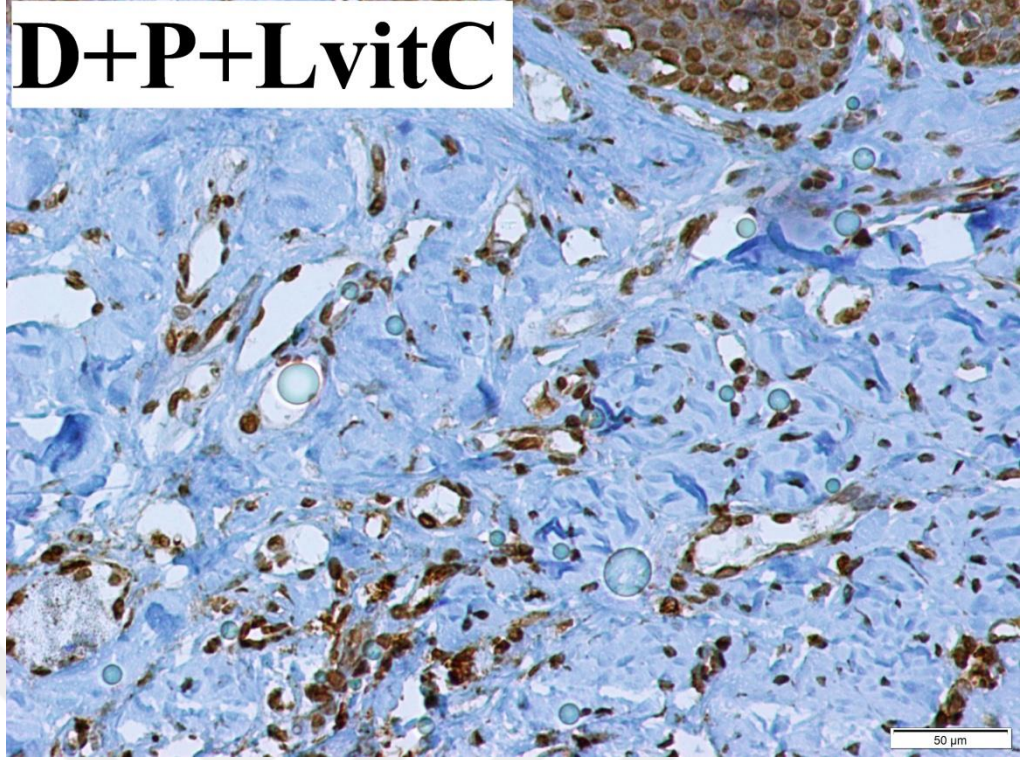
Şekil 4.16. D grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



**Şekil 4.17.** P grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



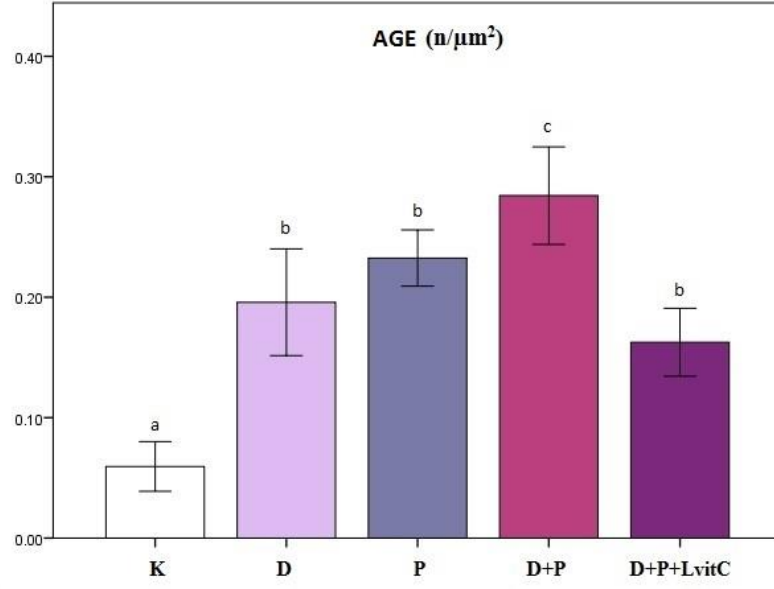
**Şekil 4.18.** D+P grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



**Şekil 4.19.** D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde 8-OHdG pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü

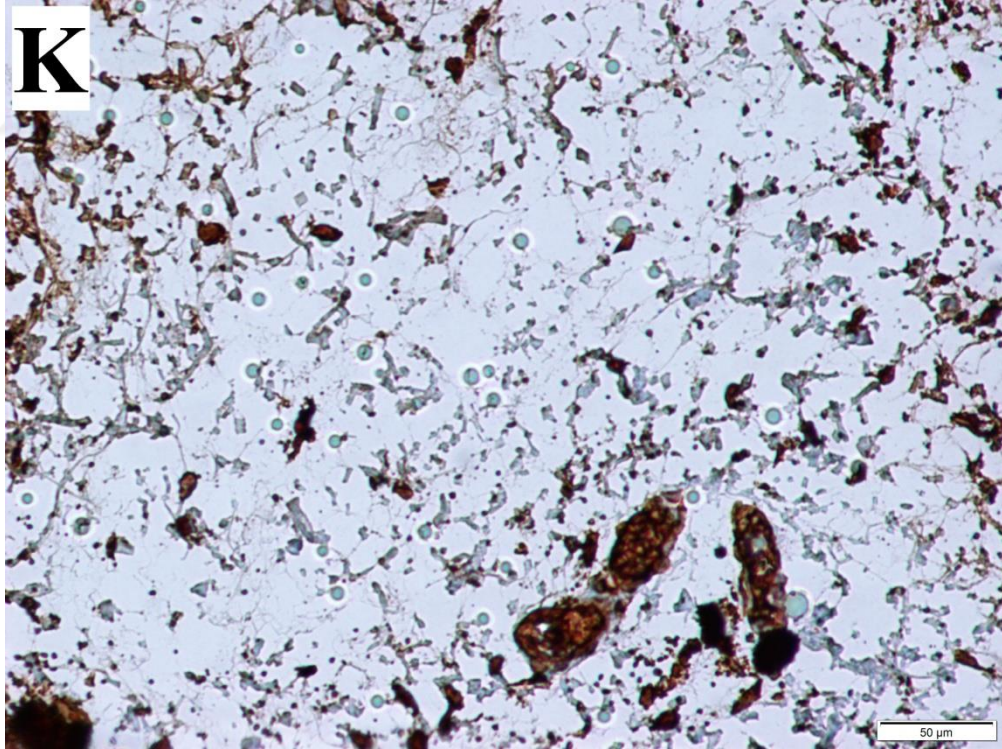
#### 4.5. AGE

K grubuna göre hem D hem de P grubunda AGE pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluk değerinde artış tespit edildi. P grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlendi ( $p < 0.05$ ). D grubunda gözlenen farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). D+P grubunda D ve P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ( $p < 0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre AGE pozitif hücre yoğunluğu miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş belirlendi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.20).

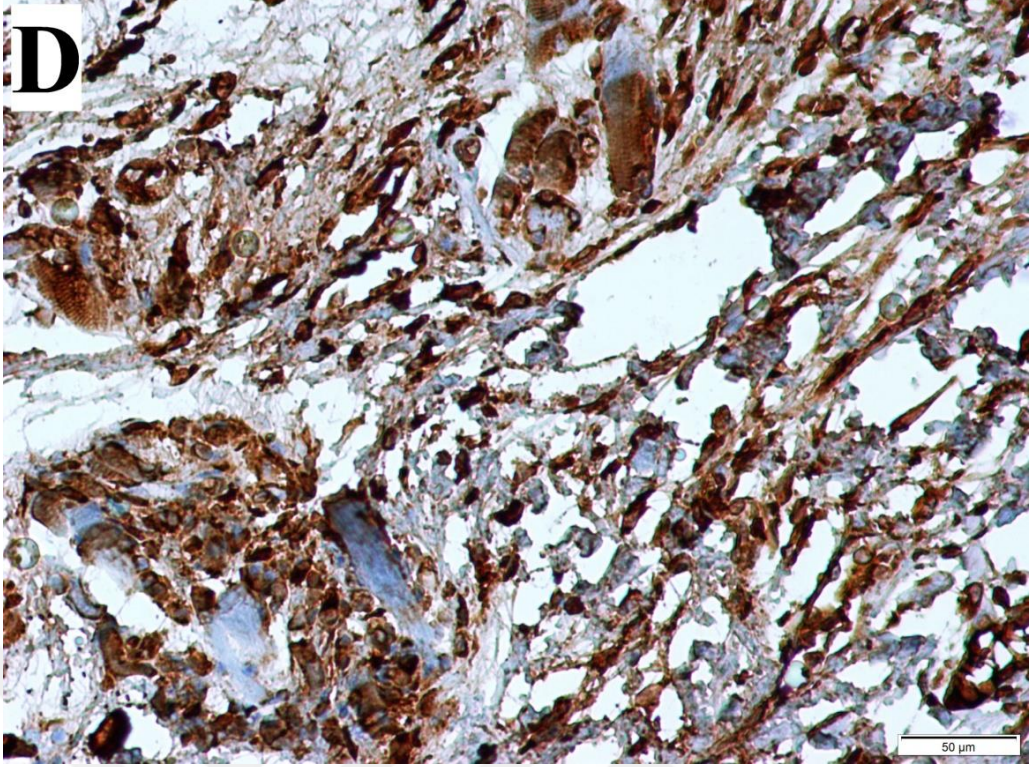


Şekil 4.20. Grupların AGE değerleri

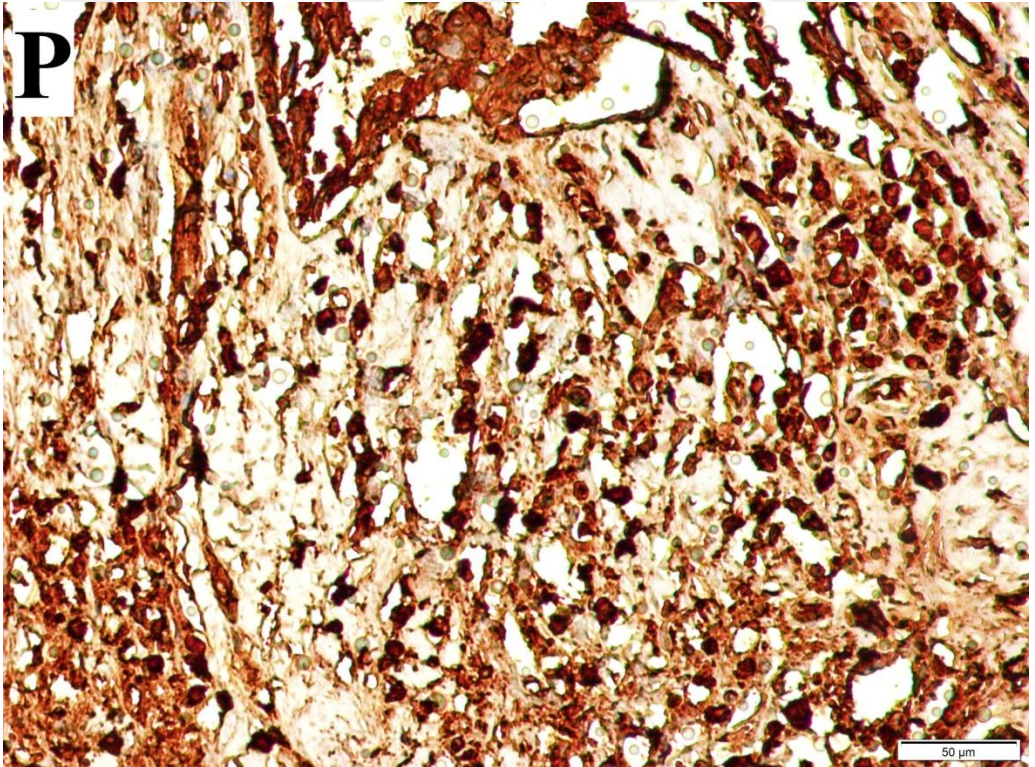
Grafik çubukları "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edilmiştir.



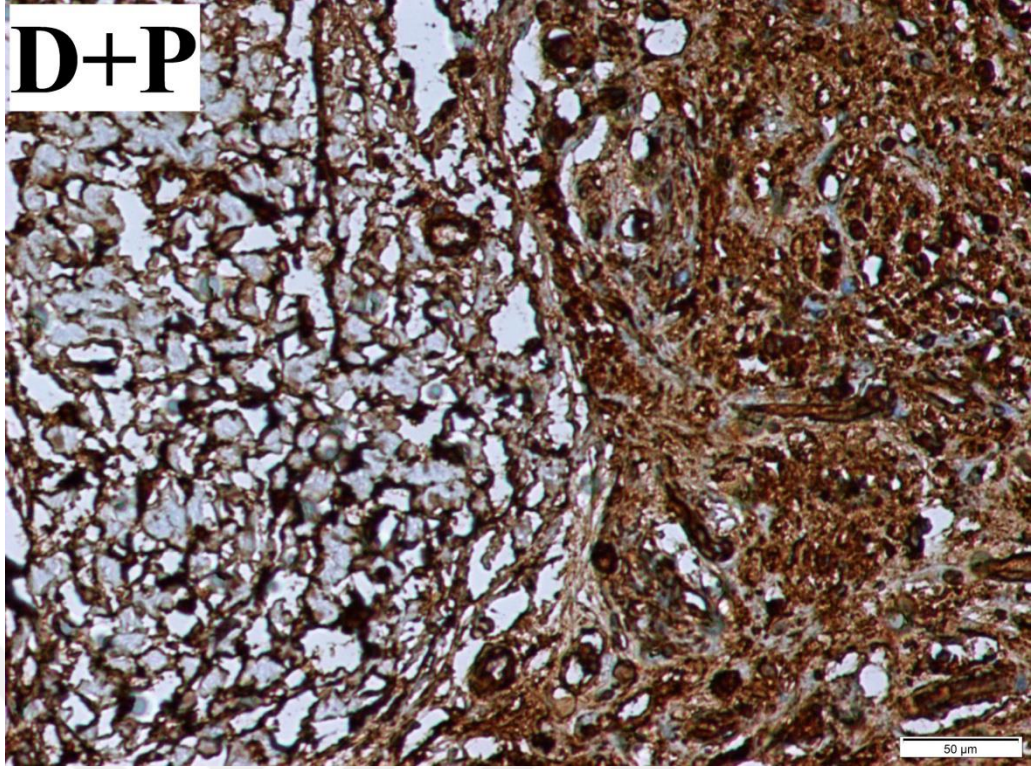
Şekil 4.21. K grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



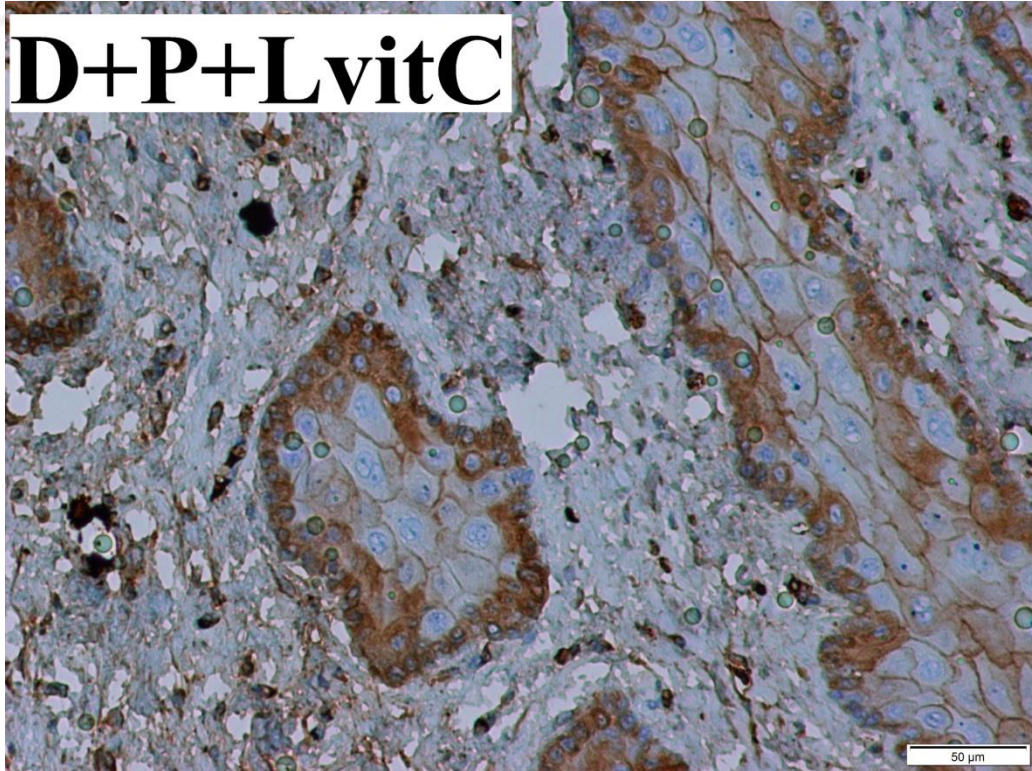
Şekil 4.22. D grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



Şekil 4.23. P grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



Şekil 4.24. D+P grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



Şekil 4.25. D+P+LvitC grubuna ait kesitlerde AGE pozitif boyanan hücrelerin görüntüsü



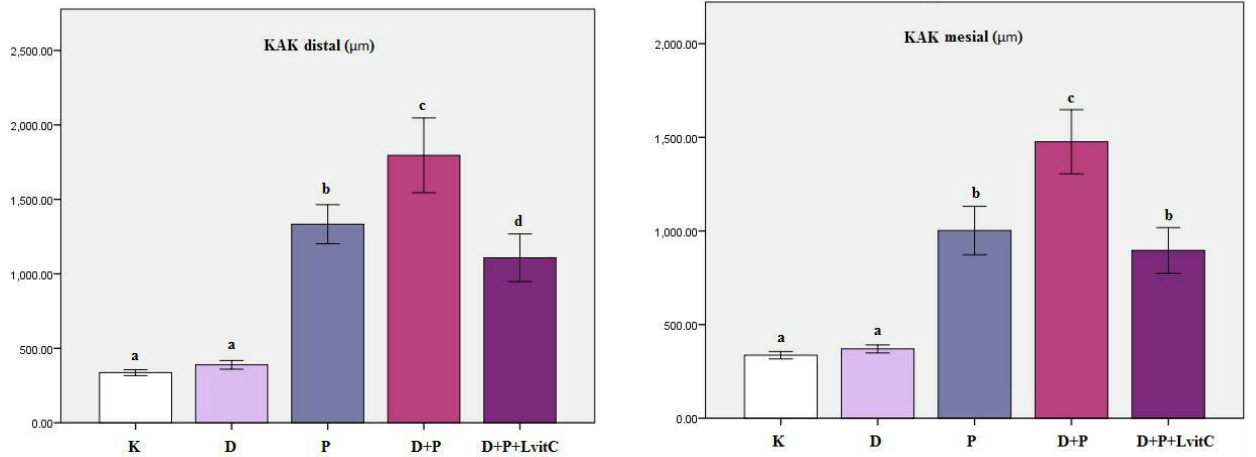
#### .....4.6. Klinik Ataşman Kaybı

Distal klinik ataşman kaybı (KAK);

D grubunda K grubuna göre fazlaydı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem D hem K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P+LvitC grubunda klinik ataşman kaybının D+P grubuna göre istatistiksel olarak daha az olduğu görüldü ( $p<0.05$ ).

Mezial klinik ataşman kaybı;

D grubunda K grubuna göre fazlaydı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem D hem K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P+LvitC grubunda klinik ataşman kaybının D+P grubuna göre istatistiksel olarak daha az olduğu görüldü ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.26.** Grupların mezial ve distal ataşman kaybı değerleri

Grafik çubukları "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

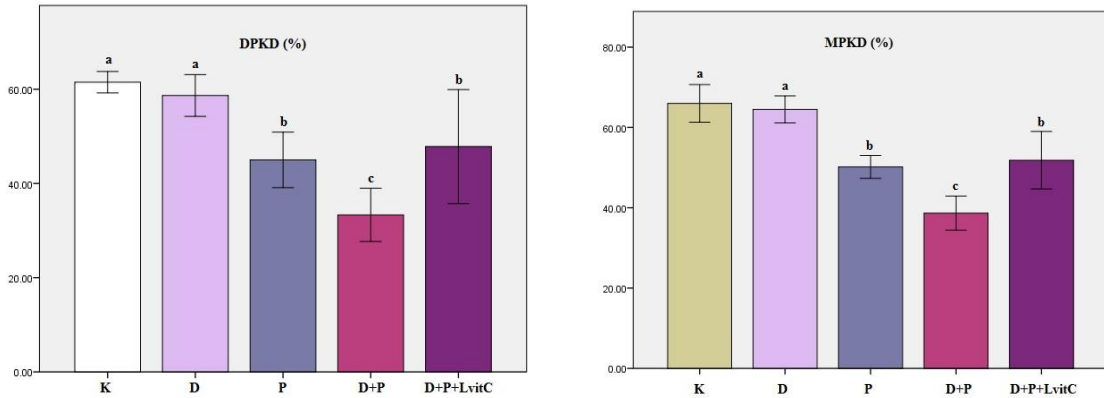
#### 4.7. Alveoler Kemik Kaybı

Distal periodontal kemik desteği (DPKD);

D grubunda K grubuna göre DPKD'de istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma görüldü ( $p>0.05$ ). DPKD değerlerindeki düşüş P grubunda K ve D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna kıyasla DPKD'de istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi ( $p<0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ( $p<0.05$ ).

Mezial periodontal kemik desteği (MPKD);

D grubunda K grubuna göre MPKD'de istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma görüldü ( $p>0.05$ ). MPKD değerlerindeki düşüş P grubunda K ve D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna kıyasla MPKD'de istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi ( $p<0.05$ ). D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ( $p<0.05$ ).



Şekil 4.27. Grupların mezial ve distal periodontal kemik desteği değerleri

Grafik çubukları "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklarda konak-bakteri etkileşimiyle tetiklenen immün mekanizmaların önemli bir parçası olan pro-enflamatuar sitokin seviyelerindeki artış<sup>2</sup> ve oksidatif stres periodontal doku yıkımına katkı sağlamaktadır.<sup>3</sup>

IL-6 en fazla çalışılan pro-enflamatuar özelliğe sahip sitokinlerden biridir.<sup>4</sup> T hücre, B hücre, makrofaj, dendritik hücreler, keratinosit, endotel hücreler ve fibroblastlar gibi birçok immün hücre tarafından sentezlenir.<sup>34</sup> IL-6 periodontal hastalıkta monositlerin osteoklastlara farklılaşmasını sağlayarak osteoklast aktivasyonunu uyarır. Bu yolla kemik rezorpsiyonunda etkisi vardır.<sup>4</sup>

Periodontal hastalıkta meydana gelen kemik rezorpsiyonu sonucu artan derecede tip I kollajen parçalanır ve osteoklastlar tarafından tip I kollajenin yıkımı sırasında CTX dolaşıma salınır.<sup>56</sup> Serum CTX son derece özgül ve hassas bir kemik yıkımı belirteçidir.<sup>8</sup> Yapılan hayvan çalışmalarında serum CTX düzeylerinin, deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda yükseldiği bildirilmiştir.<sup>62, 63</sup>

MMP-8 periodontal hastalıkta doku yıkımında rol alan PMNL-tip kollajenazdır ve başlıca PMNL tarafından sentezlenir. Periodontal dokulardaki en yaygın tip kollajen olan tip 1 kollajenin yıkımından sorumludur.<sup>6, 7</sup> Reaktif oksijen türleri tarafından aktivasyon ve inaktivasyona karşı PMN-tipi MMP-8 duyarlıdır.<sup>49, 50</sup>

Periodontal hastalıkta PMNL bakterilere karşı hücrel konak defansının ilk hattını oluşturmaktadır.<sup>157</sup> Bunun için bu hücreler bol miktarda toksik ROT üretme yeteneğine sahiptir. Normal hücrel metabolizmada zaten bol miktarda üretilen bu türler; enflamasyonda önemli derecede artış gösterir.<sup>71</sup> Bu artış ROT üretimi ve antioksidan konsantrasyonları arasındaki dengesizlikle sonuçlanır<sup>158</sup> ki bu da doku hasarı ve hücre ölümüne neden olan oksidatif strese neden olmaktadır.<sup>68</sup> 8-OHdG, ROT'un DNA'da yaptığı yaklaşık 23 tane oksidatif baz hasar ürününden en sık

karşılaşılanıdır.<sup>74</sup> Diyabet ve periodontal hastalık gibi kronik enflamatuvar durumlarda 8-OHdG seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir.<sup>75, 159</sup>

DM, insülin direnci ve periodontitis arasında güçlü bir ilişki olduğu rapor edilmiştir.<sup>85</sup> Devamlı hiperglisemi sonucu AGE oluşumları ve birikimleri hızlanmaktadır.<sup>97, 98</sup> Diyabette AGE'nin RAGE ile etkileşimi oksidatif stresi ve enflamatuvar reaksiyonları tetikleyerek vasküler hasar ve ona bağlı komplikasyonlara neden olmaktadır.<sup>123</sup> İnsanda serumdaki AGE seviyesi tip 2 DM'li yetişkinlerde periodontitisin derecesiyle ilişkilendirilmiştir.<sup>82</sup>

Periodontal tedavinin diyabetli ve diyabetli olmayan hastalarda IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP ve MMP'leri içeren enflamatuvar mediatörlerin serum seviyelerini azalttığı gösterilmiştir.<sup>144</sup> Yapılan çalışmalar, yeni periodontal tedavi protokolünde konak yanıtına ve konak modülasyonunu sağlayan ajanların kullanımına yoğunlaşmıştır. Uygulanan tedavi protokolüne immünmodülatörlerin eklenmesi, konak yanıtını değiştirerek hastalığın ilerlemesini azaltabilir ve hastalığa yatkın bireylerde iyileşme potansiyelini arttırabildiği bildirilmiştir.<sup>160, 161</sup>

Vitamin C'nin konağın duyarlılığını değiştirerek immünmodülatör fonksiyon gösterdiği rapor edilmiştir.<sup>162</sup> Vitamin C'nin in vivo olarak anti-glikasyon aktivitesinin olduğu bildirilmiştir.<sup>163, 164</sup> Ayrıca güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidandır. Gingiva, periodontal ligament, sement ve alveoler kemiğin bağ dokusunun önemli bir parçası olan kollajen biyosentezinde etkili bir rolü vardır.<sup>151</sup>

Bu bilgileri göz önüne alarak çalışmamızda diyabet ve periodontitisli ratlarda vitamin C'nin periodontal dokular üzerine etkisini immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak değerlendirdik.

Çalışmamız lokal vitamin C uygulamasının periodontal dokulara etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Literatürde enflamasyon hem DM'nin hem de kronik periodontitisin patojenik mekanizmasıyla ilişkilendirilmiştir.<sup>130</sup> Serum IL-6 seviyelerinin ikisi de kronik hastalık olan diyabette ve periodontitiste arttığı bildirilmiştir.<sup>144</sup> Mesia ve ark.<sup>165</sup> periodontitisi ve tip 2 diyabeti olan hastaların plazma ve serum IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının periodontitisi olan ama tip 2 diyabeti olmayan hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada periodontal hastalıkta, tip 2 DM yokluğunda bile periodontal sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında IL-6 seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Diyabet ve periodontitisli hastalarda yapılan randomize klinik bir çalışmada başlangıçta periodontal girişim yapılan ve yapılmayan hastalar kıyaslandığında IL-6 seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunamamışken 3 ay sonra periodontal girişim yapılan bireylerin serum IL-6 seviyelerinde anlamlı bir düşüş olduğu gösterilmiştir.<sup>166</sup> Elburki ve ark.<sup>167</sup> ratlarda yapmış olduğu bir çalışmada diyabet ve periodontitis grubunun gingival dokularında ve serumlarında IL-6 seviyelerini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Ross ve ark.<sup>168</sup> çalışmalarında diyabet ve periodontitisi olan kişilerden alınan gingival dokuların immunohistokimyasal boyamasında kontrol grubu ve sadece periodontitisi olan kişilere kıyasla IL-6 seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak D ve P grubunun gingival dokularında K grubuna göre IL-6 miktarı anlamlı derecede fazla bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Ayrıca D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre IL-6'nın artmış seviyesi istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Literatürlerde C vitamininin NF- $\kappa$ B 'nin DNA bağlanma aktivitesini modüle edebilme yeteneğiyle anti-enflamatuar özellik gösterdiği bildirilmiştir.<sup>169, 170</sup> Ellulu ve ark.<sup>171</sup> hepsi DM olan hastalarda yaptıkları çalışmalarında, 8 hafta günde iki kez 500 mg vitamin C ile tedavi edilen deney grubunda kontrol grubuna kıyasla serum IL-6

seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığını gözlemlemişler. Jang ve ark.<sup>172</sup> C vitamininin hepatik mRNA ekspresyonunun down-regülasyonuna neden olarak TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın plazma seviyelerini azalttığını rapor etmişler.

Yukarıdaki çalışmaları değerlendirdiğimizde vitamin C'nin enflamatuar sitokin seviyelerini azaltarak anti-enflamatuar özellik gösterdiği çıkarımı yapılabilmektedir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde D+P+LvitC grubunda IL-6 pozitif boyanan hücre sayısal yoğunluğunda D+P grubuna göre bir azalma vardı. Ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ).

CTX kemik döngüsünün biyokimyasal markerları arasında kemik rezorpsiyon markerıdır ve kemik döngüsündeki erken değişiklikleri yansıttığı düşünülen kollajen markerıdır.<sup>173</sup> Achemlal ve ark.<sup>174</sup> yaptığı bir çalışmada diyabetik hastalar ile sağlıklı kontrol grubunun CTX düzeyleri arasında anlamlı farklılık göstermediği ve bulgunun diyabetik kemik döngüsü sırasında rezorpsiyon fazının değişmeden kaldığını gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Yine insanlarda yapılan başka bir çalışmada tip 2 DM olan hastalar ile sağlıklı kontrollerin CTX düzeyleri incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiş.<sup>175</sup> Bunun aksine bildirilen bir metaanalizde diyabet hastalarının CTX seviyeleri sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında daha düşük bulunmuş.<sup>176</sup>

Daha önce yapılan bir çalışmada serum CTX seviyesi kronik periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu ve sondalama derinliği ile pozitif ve MMP-8 ile anlamlı negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.<sup>177</sup> Başka bir çalışmada CTX seviyelerinin kronik periodontitisli hastaların tükürük örneklerinde sağlıklı kontrollere göre arttığı gösterilmiş.<sup>178</sup> Arabacı ve ark.<sup>147</sup> yaptıkları çalışmada periodontitis oluşturulmuş ratlarda serum CTX seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişler. Yapılan başka rat çalışmalarında da serum CTX

seviyeleri periodontitis oluşturulmuş grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş.<sup>62, 179</sup>

Bizim çalışmamızda serum CTX seviyesinde D grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda P grubuna kıyasla bir artış vardı ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Sonuçlarımız bu parametreler açısından literatürle uyumludur.

Kollajen çapraz bağlanmanın vitamin C eksikliğinde azaldığı ve vitamin C'nin serum CTX konsantrasyonlarını etkileyebileceği bildirilmiştir.<sup>180</sup> Postmenapozal kadınlarda yapılan bir çalışmada vitamin C ve E desteği alan kadınların almayanlara göre serum CTX seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir.<sup>181</sup>

Literatürde vitamin C'nin diyabet ve kronik periodontitiste lokal uygulamasının CTX üzerine olan etkilerini bildiren herhangi bir çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda D+P+LvitC uygulanan grupta D+P grubuna göre serum CTX miktarlarında gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P grubuna kıyasla tedavi grubunda azalmış CTX seviyeleri vitamin C'nin anti-enflamatuar etkisine bağlı olarak pro-enflamatuar sitokin seviyelerini azaltması sonucu osteoklastik aktiviteyi düşürdüğü düşünülmektedir.

MMP-8, periodontitiste esas biyolojik markerlardan biridir ve periodontal kollajen yıkımından büyük ölçüde sorumlu olduğu bildirilmiştir.<sup>7, 182</sup> Önceki çalışmalar, periodontitisli diyabetik hastaların DOS örneklerinde MMP-8 düzeylerinin yükseldiğini göstermiştir.<sup>183, 184</sup> Yapılan bir insan çalışması diyabetik hastalarda ikisi de periodontitisin klinik bulgularından olan periodontal kanama, periodontal cep derinliği ve zayıf metabolik kontrolün MMP-8 konsantrasyonu ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.<sup>185</sup> Son yapılan bir çalışmada deneysel diyabet ve periodontitis oluşturulmuş

ratların gingival dokularında MMP-8'in seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş. Aynı çalışmada diyabet ve periodontitis grubunda kontrol grubuna göre serum MMP-8 seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş.<sup>167</sup>

Collin ve ark.<sup>185</sup> diyabetik hastalarda dişleri mevcut olan hastaların olmayanlara göre tükürük MMP-8 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada diyabeti olan ve olmayan bireyler arasında MMP-8 düzeyleri arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiş. Mohamed ve ark. grupları diyabet (DM), kronik periodontitis (KP) ve diyabet+periodontitis (DM+KP) olan insan çalışmasında; tükürük MMP-8, MMP-9 ve OPG miktarlarının çalışma gruplarının karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişler. Bununla birlikte, DM grubuna kıyasla, kronik periodontitis gruplarında (DM + KP ve KP) MMP-8 konsantrasyonunda artışın mevcut olduğu vurgulanmış.<sup>186</sup> Bir başka çalışmada DOS MMP-8 seviyeleri karşılaştırıldığında tip 2 DM olan ve olmayan bireyler arasında anlamlı bir farklılık rapor edilmemiştir.<sup>187</sup>

İmmünohistokimyasal bulgularımızda; D grubunda K grubuna göre gingival dokularda MMP-8 miktarlarında artış gözlemlendi ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre istatistiksel olarak bir artış tespit edildi ( $p<0.05$ ). D+P Grubunda P grubuna göre bir artış görüldü ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla paraleldir ve doku yıkımının fazla olduğu gruplarımızda yüksek bulunmuştur.

Literatürde ne diyabet ne periodontitis ne de diyabetin de eşlik ettiği periodontitis durumunda MMP-8 seviyeleri ve vitamin C arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. D+P+LvitC grubunda D+P grubuna göre MMP-8 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüş mevcuttu ( $p>0.05$ ). Sonuçlarımız tedavi grubunda doku yıkımının azaldığını ancak kısa dönem sonuçları



bildirdiği için istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenememiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

8-OHdG'nin diyabet<sup>188</sup> ve periodontitis<sup>189</sup> gibi kronik hastalıklarda düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Diyabet oluşturulan rat modellerinde 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu tespit edilmiş.<sup>190</sup> Yaptıkları çalışmaya dayanarak Chou ve ark.<sup>191</sup> tip2 DM'de 8-OHdG'nin arttığını belirlemiş ve diğer biyomarkerlardan daha spesifik oksidatif stres markerı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yapılan bir insan çalışmasında KP olan hastalarda kontrol grubuna göre tükürük 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu rapor edilmiş.<sup>177</sup> Ekuni ve ark.<sup>192</sup> hayvan çalışmasında periodontitis grubunun aortik 8-OHdG seviyesinin kontrol grubuna kıyasla %173 arttığını göstermişler. Köse ve ark.<sup>179</sup> deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda yaptıkları çalışmada periodontitis grubunun gingival dokularında 8-OHdG seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derece daha yüksek olduğunu bildirmişler. Aynı araştırmacıların rapor ettikleri diğer çalışmada kalbin sol ventrikül dokusunda 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu bildirmişler.<sup>193</sup> Sezer ve ark.<sup>78</sup> periodontitisli, gingivitisli ve sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada, artmış 8-OHdG düzeylerini sadece periodontitisli grupta tespit etmişler. Kurgan ve ark.<sup>194</sup> periodontitisli bireylerde periodontal tedavi sonrasında artmış 8-OHdG düzeylerinin normal seviyeye döndüğünü ve bu değişimin klinik periodontal parametrelerle pozitif korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde çalışmamızda D grubun da K grubuna göre gingival dokulardaki 8-OHdG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış vardı ( $p>0.05$ ). P grubunda K ve D grubuna göre anlamlı artış gözlemlendi ( $p<0.05$ ). D+P grubundaki artmış seviyeler hem D hem de P grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Bulgularımız; hem diyabetin hem de periodontitisin oksidatif stresi

arttırdığını, artmış 8-OHdG düzeylerinin hastalık aktivitesiyle ilişkili olduğunu ve dolaylı olarak hastalığın şiddetini etkileyebileceğini düşündürmektedir. D+P grubunda diğer gruplara kıyasla değerlerin daha yüksek olması DM'nin ve periodontitisin karşılıklı olarak hastalık şiddetini arttırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Tip2 diyabetli insanlarda yapılan çalışmada vitamin C ve 8-OHdG arasında zayıf negatif korelasyon bulunmuş.<sup>191</sup> Ekuni ve ark. çalışmalarında sistemik vitamin C verdikleri grupta aortik 8-OHdG seviyesinin periodontitis grubuna kıyasla %38 azaldığını bildirmişler.<sup>192</sup>

Lokal vitamin C uyguladığımız grubumuzda D+P grubumuza kıyasla 8-OHdG pozitif hücre yoğunluğunun anlamlı derecede düştüğü belirlendi ( $p<0.05$ ). Bu verilerin hem diyabette hem de periodontitiste artmış oksidatif strese uyguladığımız antioksidan tedavinin faydalı olduğunu gösterdiği söylenebilir.

Tip 2 DM'de hipergliseminin sonucu olarak AGE'lerin oluşumu artmaktadır.<sup>110</sup> AGE düzeylerinin hastaların dişeti dokularında arttığı gösterilmiştir.<sup>195</sup> Diyabette AGE'lerin artışı periodontitis şiddetini de arttırdığı bildirilmiştir.<sup>196, 197</sup> Zizzi ve ark.<sup>198</sup> yaptıkları çalışmada KP-DM1 hastalarından alınan dişeti dokusunda diğer çalışma gruplarına kıyasla epiteldeki ve damardaki AGE pozitif hücrelerin sayısında anlamlı bir artış tespit etmişler. Ayrıca, PD-DM2 hastalarının gingival dokularında hiçbir hastalığı olmayan kontrollere kıyasla AGE pozitif damarlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlemişler. Aynı çalışmada diyabetik hastalarda AGE immünboyamanın yoğunluğu, sağlıklı kontrollere göre daha yoğun boyanan sistemik sağlıklı KP olan kişilere göre daha fazla olduğu izlenmiş.

Bizim çalışmamızda hem D hem de P grubunda artmış AGE pozitif boyanan hücre yoğunluğu seviyeleri K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). P grubunda D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir yükseliş vardı

( $p>0.05$ ). D+P grubunda hem D hem de P grubuna göre değerler istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ( $p<0.05$ ). Çalışmamız diğer çalışmalarla uyumludur. P grubunda D grubuna göre anlamlı olmasa da değerlerin daha yüksek olması diğer parametrelerimiz göz önüne alınarak P grubunda oksidatif stresin daha yüksek olmasına bağlanabilir. D+P grubunda en yüksek bulunması diyabetin periodontitis tablosunu ağırlaştırdığı şeklinde yorumlanabilir. Elde edilen sonuçlar, AGE'lerin diyabetik hastalarda periodontitis ile ilişkili faktörler olduğunu ve diyabet ile ilişkili periodontal yıkımı yansıtacak biyolojik belirteç olarak yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Vitamin C takviyesi insülin glikasyonunu azaltabildiği ve farelerde obezite-diyabet sendromunun etkilerini hafifletebildiği bildirilmiştir.<sup>164</sup>

Çalışmamızın immünohistokimyasal bulgularında, lokal vitamin C uygulanan tedavi grubunda D+P grubuna kıyasla AGE seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş izlendi ( $p<0.05$ ). Bu verilere bakılarak vitamin C'nin anti-enflamatuar etkisiyle sitokin seviyelerini azaltarak hem sitokinlerin indüklediği oksidatif stresi azaltmak yoluyla hem de direkt artmış sitokin seviyelerinin neden olduğu AGE seviyesini azalttığı sonucuna gidilebilir. Bu sayede artmış AGE miktarının neden olduğu diyabet ve periodontitis şiddetindeki artış azaltılabilir. AGE seviyelerinin azaltılmasıyla periodontisteki doku yıkımı ve bu mekanizmaların kısır döngüsüyle artan oksidatif stres azaltılarak DM'de hiperglisemi kontrolüne katkıda bulunulabilir. Böylece DM ve periodontitis arasındaki çift yönlü ilişkide ki siklusta bir kırılma noktası oluşturulup her iki hastalıkta da iyileşme periyoduna geçişte hızlanma sağlanabilir. Karşılaştırabileceğimiz literatür bulunamadığından bu gruba ait değerler kıyaslanamamıştır.

Ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis sonucu dokuda oluşan enflamasyon ve bununla birlikte meydana gelen kemik kaybını ve ataşman kaybını gösteren birçok

hayvan çalışması vardır.<sup>62, 147, 192, 193</sup> Yapılan bir hayvan çalışmasında diyabet ve periodontitis oluşturulmuş ratlarda alveoler kemik kaybının kontrollere göre %58 oranında anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir.<sup>167</sup> Plazma vitamin C değerleri ile ataşman kaybı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu<sup>199</sup> ve plazma vitamin C düzeyleri ile periodontal hastalığın şiddeti arasında negatif bir ilişki belirlendiğini gösteren çalışmalar vardır.<sup>200, 201</sup> Mohamed ve ark. yaptıkları insan çalışmasında hem KP'si olan hem de tip 2 DM'si olan hastalarda alveol kemik kaybının sadece KP'si olan ya da sadece tip 2 DM'si olan hastalara göre daha fazla olduğunu rapor etmişler.<sup>186</sup> Başka bir çalışmada da kötü kontrollü diyabette iyi kontrollü diyabet ve sağlıklı kontrollere göre ataşman kaybının daha fazla olduğu gösterilmiştir.<sup>202</sup> Ross ve ark. çalışmalarında hem diyabet hem de periodontiti olan hastalarda sadece periodontiti olan hastalara göre klinik ataşman kaybının arttığını ancak bunun anlamlı olmadığını tespit etmişler.<sup>168</sup>

Mevcut çalışmada mezial ve distal ataşman kaybının D grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış belirlendi ( $p>0.05$ ). P grubunda hem K hem de D grubuna göre değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). D+P grubunda tedavi grubu dışındaki gruplarla kıyaslandığında değerlerde anlamlı artış tespit edildi ( $p<0.05$ ).

Aynı şekilde periodontal kemik kaybı D grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan derecede fazlaydı ( $p>0.05$ ). P grubundaki kemik kaybı K ve D grubuna göre anlamlı şekilde fazla bulundu ( $p<0.05$ ). D+P grubundaki anlamlı şekilde artmış kemik kaybı tespit edildi ( $p<0.05$ ). Bulgularımız bildirilen çalışmalarla paraleldir. Sonuçlar diyabetin periodontitiste sitokin, oksidatif stres, AGE artışıyla kemik kaybı ve doku yıkımını arttırdığını düşündürmektedir.

Yapılan bir çalışmada *P. gingivalis* ile enfeksiyon oluşturulan fare modelinde, diyabetik hayvanlar artmış RAGE ekspresyonu sergilediği, çözünür RAGE (sRAGE) ile

muamele edildikten sonra bu hayvanların gingival dokularında IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokin seviyelerinin azaldığı, doza bağımlı şekilde alveoler kemik kaybınının baskılandığı bildirilmiştir.<sup>203</sup> Lalla ve ark. çalışmalarında *P. gingivalis* ile enfeksiyon oluşturulmuş diyabetik ratlarda sRAGE ile tedavi edilen ratların gingivalarında biriken AGE miktarının anlamlı derecede azaldığı ve buna paralel olarak alveoler kemik kaybınının baskılandığını rapor etmişlerdir.<sup>203</sup> Akman ve ark. yaptıkları hayvan çalışmasında periodontitis oluşturulmuş ratlarda Alfa lipoik asit+Vit C verilen grupta ataşman kaybı ve kemik kaybının verilmeyen gruba göre daha az olduğunu bildirmişler.<sup>16</sup>

Bulgularımıza göre tedavi grubunda D+P grubu ile karşılaştırıldığında hem mezial hem de distal ataşman kaybı anlamlı derecede daha azdır ( $p<0.05$ ). Buna paralel olarak mezial ve distal periodontal kemik desteğinde D+P grubuna göre anlamlı şekilde daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ). Vitamin C'nin lokal uygulamasının deneysel periodontitis ve diyabet oluşturulmuş ratlarda alveoler kemik kaybı ve ataşman kaybı üzerine etkilerini histopatolojik olarak değerlendiren herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Sonuçlarımız vitamin C'nin alveoler kemik kaybı ve ataşman kaybını azalttığı yönündedir.

Bu çalışmada vitamin C'nin lokal uygulamasının diyabet ve periodontitis arasında var olduğu kabul edilen çift yönlü ilişkide henüz net olmayan çeşitli mekanizmalarla tetiklenen doku ve kemik yıkımında rol oynayan enflamatuar sitokinler, oksidatif stres, AGE üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bulgularımız vitamin C uygulamasının enflamatuar sitokin, oksidatif stres seviyelerinin ve AGE miktarlarının azalması yönünde pozitif etki yaptığı yönündedir.

Sonuç olarak çalışmamız vitamin C'nin anti-glikolitik, anti-enflamatuar ve antioksidan etkileriyle kemik ve periodontal doku yıkımını azaltabildiği ve konak

modulasyonunda lokal kullanılabilir immünmodulator ajan olabileceğini göstermektedir. Bu sonucu destekleyecek ileriki çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu kanaatindeyiz.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde edilen bulguları değerlendirdiğimizde;

1. IL-6 pozitif hücre yoğunluğunun D+P grubunda kontrol, D ve P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseldiği, D+P+LvitC grubun da ise D+P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığı saptandı.

2. Serum örneklerinde CTX seviyelerinin D+P grubunda kontrol, D ve P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseldiği tespit edilmiştir.

3. Lokal vitamin C tedavisi sonucu serum CTX seviyeleri D+P+LvitC grubun da D+P grubuna göre azaldığı ama bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur.

4. MMP-8 pozitif hücre sayısal yoğunluğu D+P grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu, D+P+LvitC grubunda ise D+P'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalışın meydana geldiği belirlenmiştir.

5. 8-OHdG pozitif hücre sayısal yoğunluğu değerlerindeki artış D+P grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede diğer gruplardan fazla olduğu lokal vitamin C uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir.

6. AGE pozitif hücre yoğunluğu D+P grubunda en yüksek bulundu, D+P+LvitC grubunda D+P'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düştüğü görülmüştür.

7. Yapılan histopatolojik değerlendirmede, D+P grubunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında şiddetli periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybının olduğu görülmüştür. D+P+LvitC grubunda ise D+P grubuna göre periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybının daha az olduğu belirlenmiştir.

Bulgularımız vitamin C uygulamasının diyabet ve periodontitiste artmış olan AGE'yi azalttığı, AGE artışının sonuçlarından olan oksidatif stresi azaltabildiğini, böylece hem direkt hem de dolaylı yoldan artan pro-enflamatuar sitokinlerin ve

oksidatif stresin öncülük ettiği veya şiddetlendirdiği kemik ve doku yıkımını azaltabileceğini göstermektedir. Bu yararlı etkileri göz önüne alınarak periodontitiste veya diyabetin eşlik ettiği periodontitiste periodontal tedaviye yardımcı olarak vitamin C'nin lokal uygulanabileceğini düşünmekteyiz. Ancak vitamin C'nin lokal uygulanmasının etkilerinin farklı zaman aralıklarındaki değişimlerini ortaya koyup bizim sonuçlarımızı ve düşüncelerimizi destekleyecek yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.





## KAYNAKLAR

1. Pischon N, Pischon T, Kroger J, Gulmez E, Kleber BM, Bernimoulin JP, Landau H, Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Buttgerit F, Detert J. Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol*, 2008, 79: 979-986.
2. Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, Takahashi N, Maekawa T, Tabeta K, Yamazaki K. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res*, 2010, 45: 116-122.
3. Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S, Serrano F, Puig-Silla M, Dasi F. Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Dis Markers*, 2015, 2015: 653537.
4. Newman MG TH, Klockkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 11 Baskı. Philadelphia, Saunders Elsevier,, 193-216.
5. G S. Matrix metalloproteinases and their inhibitors play key roles in tissue remodelling and pathogenesis of metastatic and inflammatory diseases. *The Scientist*, 2002, 16: 34-38.
6. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, 2004, 10: 311-318.
7. Sorsa T, Tjaderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, Golub LM, Brown DL, Mantyla P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*, 2006, 38: 306-321.
8. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, Moriguchi A, Nishizawa Y. Clinical evaluation of the Elecsys beta-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem*, 2001, 47: 1410-1414.
9. Masharani U. *Diabetes mellitus & hypoglycemia*. 54 Baskı. Current medical diagnosis and treatment, 2015: 1184-1234.
10. Demmer RT, Holtfreter B, Desvarieux M, Jacobs DR, Jr., Kerner W, Nauck M, Volzke H, Kocher T. The influence of type 1 and type 2 diabetes on periodontal disease progression: prospective results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *Diabetes Care*, 2012, 35: 2036-2042.
11. Kose O, Arabaci T, Kara A, Yemenoglu H, Kermen E, Kizildag A, Gedikli S, Ozkanlar S. Effects of Melatonin on Oxidative Stress Index and Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats With Periodontitis. *J Periodontol*, 2016, 87: e82-90.
12. Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Endo Y, Tamaki N, Sanbe T, Murakami J, Yamamoto T, Morita M. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 2009, 80: 1799-1808.
13. Gokhale NH, Acharya AB, Patil VS, Trivedi DJ, Thakur SL. A short-term evaluation of the relationship between plasma ascorbic acid levels and periodontal disease in systemically healthy and type 2 diabetes mellitus subjects. *J Diet Suppl*, 2013, 10: 93-104.
14. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, 2007, 43: 160-232.
15. Kuzmanova D, Jansen ID, Schoenmaker T, Nazmi K, Teeuw WJ, Bizzarro S, Loos BG, van der Velden U. Vitamin C in plasma and leucocytes in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2012, 39: 905-912.

16. Akman S, Canakci V, Kara A, Tozoglu U, Arabaci T, Dagsuyu IM. Therapeutic effects of alpha lipoic acid and vitamin C on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: a biochemical, histochemical, and stereologic study. *J Periodontol*, 2013, 84: 666-674.
17. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 1992, 63: 322-331.
18. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000*, 2005, 38: 135-187.
19. Jan Lindhe NPL, Thorkild Karring. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fourth Edition Baskı. Blackwell Munsgaard, a Blackwell Publishing Company, 2003: 198-208.
20. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 2004, 34: 9-21.
21. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J*, 2009, 54 Suppl 1: S11-26.
22. Goodson JM, Tanner AC, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1982, 9: 472-481.
23. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*, 2008, 79: 1560-1568.
24. Newman MG TH, Klockkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. . 11. Baskı. Philadelphia, Saunders Elsevier,, 160-164.
25. Bascones-Martinez A, Munoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2009, 14: e680-685.
26. Sanz M, van Winkelhoff AJ, Working Group 1 of Seventh European Workshop on P. Periodontal infections: understanding the complexity--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*, 2011, 38 Suppl 11: 3-6.
27. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8: 481-490.
28. Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R, Hormdee D, Lu H, Kunze M, Suda T, Koshy G, Kobayashi H, Oda S, Nitta H, Ishikawa I. Roles of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*, 2007, 43: 65-84.
29. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*, 2006, 85: 596-607.
30. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 2007, 43: 294-315.
31. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 1991, 26: 230-242.
32. Hedayat M, Mahmoudi MJ, Rose NR, Rezaei N. Proinflammatory cytokines in heart failure: double-edged swords. *Heart Fail Rev*, 2010, 15: 543-562.
33. A. T. *The cytokine handbook*. 3. Baskı. California, Academic Press, 1998: 35-227.
34. Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 54-78.

35. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res*, 2002, 4 Suppl 3: S233-242.
36. Franch-Chillida F, Nibali L, Madden I, Donos N, Brett P. Association between interleukin-6 polymorphisms and periodontitis in Indian non-smokers. *J Clin Periodontol*, 2010, 37: 137-144.
37. Vargova V, Pytliak M, Mechirova V. Matrix metalloproteinases. *EXS*, 2012, 103: 1-33.
38. Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation*, 2000, 102: 1874-1876.
39. Siefert SA, Sarkar R. Matrix metalloproteinases in vascular physiology and disease. *Vascular*, 2012, 20: 210-216.
40. Hidalgo M, Eckhardt SG. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93: 178-193.
41. Reynolds JJ, Hembry RM, Meikle MC. Connective tissue degradation in health and periodontal disease and the roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors. *Adv Dent Res*, 1994, 8: 312-319.
42. Pardo A, Selman M. MMP-1: the elder of the family. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37: 283-288.
43. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004, 49: 187-198.
44. Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med*, 2004, 42: 121-131.
45. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*, 1999, 274: 21491-21494.
46. Zhang X, Nothnick WB. The role and regulation of the uterine matrix metalloproteinase system in menstruating and non-menstruating species. *Front Biosci*, 2005, 10: 353-366.
47. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 2003, 92: 827-839.
48. Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, van Hinsbergh VW, Helaakoski T, Kainulainen T, Ronka H, Tschesche H, Salo T. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem*, 1997, 272: 31504-31509.
49. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med*, 1989, 320: 365-376.
50. Saari H, Suomalainen K, Lindy O, Konttinen YT, Sorsa T. Activation of latent human neutrophil collagenase by reactive oxygen species and serine proteases. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 171: 979-987.
51. Chubinskaya S, Huch K, Mikecz K, Cs-Szabo G, Hasty KA, Kuettner KE, Cole AA. Chondrocyte matrix metalloproteinase-8: up-regulation of neutrophil collagenase by interleukin-1 beta in human cartilage from knee and ankle joints. *Lab Invest*, 1996, 74: 232-240.
52. Kiili M, Cox SW, Chen HY, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, Salo T, Sorsa T. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol*, 2002, 29: 224-232.
53. Balli U, Cetinkaya BO, Keles GC, Keles ZP, Guler S, Sogut MU, Erisgin Z. Assessment of MMP-1, MMP-8 and TIMP-2 in experimental periodontitis treated with kaempferol. *J Periodontal Implant Sci*, 2016, 46: 84-95.

54. Leppilahti JM, Ahonen MM, Hernandez M, Munjal S, Netuschil L, Uitto VJ, Sorsa T, Mantyla P. Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. *Oral Dis*, 2011, 17: 115-122.
55. Lerner UH. New Molecules in the Tumor Necrosis Factor Ligand and Receptor Superfamilies with Importance for Physiological and Pathological Bone Resorption. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004, 15: 64-81.
56. Terpos E, Politou M, Rahemtulla A. The role of markers of bone remodeling in multiple myeloma. *Blood Rev*, 2005, 19: 125-142.
57. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. *Ann Clin Biochem*, 2014, 51: 189-202.
58. Garnero P, Cloos P, Sornay-Rendu E, Qvist P, Delmas PD. Type I collagen racemization and isomerization and the risk of fracture in postmenopausal women: the OFELY prospective study. *J Bone Miner Res*, 2002, 17: 826-833.
59. Wheeler G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *J Transl Med*, 2013, 11: 201.
60. Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001, 12: 125-135.
61. Atley LM, Mort JS, Lalumiere M, Eyre DR. Proteolysis of human bone collagen by cathepsin K: characterization of the cleavage sites generating by cross-linked N-telopeptide neoepitope. *Bone*, 2000, 26: 241-247.
62. Foureaux Rde C, Messoria MR, de Oliveira LF, Napimoga MH, Pereira AN, Ferreira MS, Pereira LJ. Effects of probiotic therapy on metabolic and inflammatory parameters of rats with ligature-induced periodontitis associated with restraint stress. *J Periodontol*, 2014, 85: 975-983.
63. Rodrigues WF, Madeira MF, da Silva TA, Clemente-Napimoga JT, Miguel CB, Dias-da-Silva VJ, Barbosa-Neto O, Lopes AH, Napimoga MH. Low dose of propranolol down-modulates bone resorption by inhibiting inflammation and osteoclast differentiation. *Br J Pharmacol*, 2012, 165: 2140-2151.
64. Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev*, 2011, 111: 5944-5972.
65. Akkuş İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1. Baskı. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
66. Adewole SO, Ojewole JA. *Artocarpus communis* Forst. root-bark aqueous extract- and streptozotocin-induced ultrastructural and metabolic changes in hepatic tissues of Wistar rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2007, 4: 397-410.
67. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002, 18: 872-879.
68. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44-84.
69. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*, 1992, 119: 598-620.
70. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*, 2000, 109: 33-44.
71. Conner EM, Brand SJ, Davis JM, Kang DY, Grisham MB. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease: toxins, mediators, and modulators of gene expression. *Inflamm Bowel Dis*, 1996, 2: 133-147.

72. Chapple IL. Oxidative stress, nutrition and neutrogeomics in periodontal health and disease. *Int J Dent Hyg*, 2006, 4 Suppl 1: 15-21; discussion 50-12.
73. Elbim C, Bailly S, Chollet-Martin S, Hakim J, Gougerot-Pocidallo MA. Differential priming effects of proinflammatory cytokines on human neutrophil oxidative burst in response to bacterial N-formyl peptides. *Infect Immun*, 1994, 62: 2195-2201.
74. Kasai H, Nishimura S. Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Res*, 1984, 12: 2137-2145.
75. Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J Periodontol*, 2002, 73: 551-554.
76. Chapple IL. Role of free radicals and antioxidants in the pathogenesis of the inflammatory periodontal diseases. *Clin Mol Pathol*, 1996, 49: M247-255.
77. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent*, 2009, 3: 100-106.
78. Sezer U, Cicek Y, Canakci CF. Increased salivary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine may be a marker for disease activity for periodontitis. *Dis Markers*, 2012, 32: 165-172.
79. Takane M, Sugano N, Ezawa T, Uchiyama T, Ito K. A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of a hopeless prognosis. *J Oral Sci*, 2005, 47: 53-57.
80. Dede FO, Ozden FO, Avci B. 8-hydroxy-deoxyguanosine levels in gingival crevicular fluid and saliva in patients with chronic periodontitis after initial periodontal treatment. *J Periodontol*, 2013, 84: 821-828.
81. Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*, 2005, 20: 216-220.
82. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2013, 62: 59-94.
83. Pihlstrom BL. Periodontal risk assessment, diagnosis and treatment planning. *Periodontol 2000*, 2001, 25: 37-58.
84. Lalla E. Periodontal infections and diabetes mellitus: when will the puzzle be complete? *J Clin Periodontol*, 2007, 34: 913-916.
85. Benguigui C, Bongard V, Ruidavets JB, Chamontin B, Sixou M, Ferrieres J, Amar J. Metabolic syndrome, insulin resistance, and periodontitis: a cross-sectional study in a middle-aged French population. *J Clin Periodontol*, 2010, 37: 601-608.
86. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. *N Engl J Med*, 2007, 356: 213-215.
87. Zimmet PZ, Alberti KG. Epidemiology of Diabetes-Status of a Pandemic and Issues Around Metabolic Surgery. *Diabetes Care*, 2016, 39: 878-883.
88. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Turker F, Yilmaz T, Cakir B, Tuomilehto J, Group T-IS. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*, 2013, 28: 169-180.
89. Diabetes and periodontal diseases. Committee on Research, Science and Therapy. American Academy of Periodontology. *J Periodontol*, 2000, 71: 664-678.

90. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 2016, 39 Suppl 1: S13-22.
91. Xu Y, Toobert D, Savage C, Pan W, Whitmer K. Factors influencing diabetes self-management in Chinese people with type 2 diabetes. *Res Nurs Health*, 2008, 31: 613-625.
92. Mealey BL, Oates TW, American Academy of P. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*, 2006, 77: 1289-1303.
93. Bloomgarden ZT. Inflammation, atherosclerosis, and aspects of insulin action. *Diabetes Care*, 2005, 28: 2312-2319.
94. Ray A, Huisman MV, Tamsma JT, Research, Writing g, van Asten J, Bingen BO, Broeders EA, Hooegeveen ES, van Hout F, Kwee VA, Laman B, Malgo F, Mohammadi M, Nijenhuis M, Rijkee M, van Tellingen MM, Tromp M, Tummers Q, de Vries L. The role of inflammation on atherosclerosis, intermediate and clinical cardiovascular endpoints in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Intern Med*, 2009, 20: 253-260.
95. Schneir ML, Ramamurthy NS, Golub LM. Extensive degradation of recently synthesized collagen in gingiva of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Dent Res*, 1984, 63: 23-27.
96. Thomas HE, McKenzie MD, Angstetra E, Campbell PD, Kay TW. Beta cell apoptosis in diabetes. *Apoptosis*, 2009, 14: 1389-1404.
97. Ahmed N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005, 67: 3-21.
98. Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Ahmed N, Thornalley PJ. Accumulation of fructosyl-lysine and advanced glycation end products in the kidney, retina and peripheral nerve of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31: 1423-1425.
99. Jack M, Wright D. Role of advanced glycation endproducts and glyoxalase I in diabetic peripheral sensory neuropathy. *Transl Res*, 2012, 159: 355-365.
100. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*, 2001, 44: 129-146.
101. İ. P. Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri. *Marmara Medical Journal*, 2011, 24: 141-148.
102. Turk Z. Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. *Physiol Res*, 2010, 59: 147-156.
103. Peyroux J, Sternberg M. Advanced glycation endproducts (AGEs): Pharmacological inhibition in diabetes. *Pathol Biol (Paris)*, 2006, 54: 405-419.
104. Song F, Schmidt AM. Glycation and insulin resistance: novel mechanisms and unique targets? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32: 1760-1765.
105. Yamagishi S, Ueda S, Matsui T, Nakamura K, Okuda S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des*, 2008, 14: 962-968.
106. Titov VN, Shiriaeva Iu K. [The glucose, glycotoxins and glycation products: the involvement into pathogenesis of microangiopathies, arteriolosclerosis and atherosclerosis]. *Klin Lab Diagn*, 2011: 3-13.
107. Vlassara H, Cai W, Chen X, Serrano EJ, Shobha MS, Uribarri J, Woodward M, Striker GE. Managing chronic inflammation in the aging diabetic patient with CKD by diet or sevelamer carbonate: a modern paradigm shift. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2012, 67: 1410-1416.
108. Ding Q, Keller JN. Evaluation of rage isoforms, ligands, and signaling in the brain. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1746: 18-27.

109. Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, Mamas MA. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol*, 2012, 4: 90-102.
110. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 2006, 114: 597-605.
111. Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*, 1994, 269: 9889-9897.
112. Goh SY, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93: 1143-1152.
113. Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem*, 2004, 279: 42351-42354.
114. Wolff SP, Dean RT. Glucose autooxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J*, 1987, 245: 243-250.
115. Curtis TM, Scholfield CN. The role of lipids and protein kinase Cs in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Res Rev*, 2004, 20: 28-43.
116. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*, 2004, 25: 612-628.
117. Cameron NE, Cotter MA. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia*, 1992, 35: 1011-1019.
118. GLEISSNER C. A. GE, NADLER J.L., LEY K. Mechanisms by which diabetes increases cardiovascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 2007, 4: 131-140.
119. Thornalley PJ. The potential role of thiamine (vitamin B1) in diabetic complications. *Curr Diabetes Rev*, 2005, 1: 287-298.
120. Heidari H, Kamalinejad M, Noubarani M, Rahmati M, Jafarian I, Adiban H, Eskandari MR. Protective mechanisms of *Cucumis sativus* in diabetes-related models of oxidative stress and carbonyl stress. *Bioimpacts*, 2016, 6: 33-39.
121. Altan N DA, Koca C,. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2006, 31: 51-56.
122. Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, Herbst R, Coyle AJ. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 367-388.
123. Soman S, Raju R, Sandhya VK, Advani J, Khan AA, Harsha HC, Prasad TS, Sudhakaran PR, Pandey A, Adishesha PK. A multicellular signal transduction network of AGE/RAGE signaling. *J Cell Commun Signal*, 2013, 7: 19-23.
124. Bodiga VL, Eda SR, Bodiga S. Advanced glycation end products: role in pathology of diabetic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev*, 2014, 19: 49-63.
125. Haitoglou CS, Tsilibary EC, Brownlee M, Charonis AS. Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzymatically glucosylated laminin/type IV collagen. *J Biol Chem*, 1992, 267: 12404-12407.
126. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 932-943.
127. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1993, 16: 329-334.
128. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis*, 2008, 14: 191-203.

129. Knight ET, Liu J, Seymour GJ, Faggion CM, Jr., Cullinan MP. Risk factors that may modify the innate and adaptive immune responses in periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 2016, 71: 22-51.
130. Geisinger ML, Michalowicz BS, Hou W, Schoenfeld E, Gelato M, Engebretson SP, Reddy MS, Hyman L, Group DS. Systemic Inflammatory Biomarkers and Their Association With Periodontal and Diabetes-Related Factors in the Diabetes and Periodontal Therapy Trial (DPTT), A Randomized Controlled Trial. *J Periodontol*, 2016: 1-16.
131. Expert Committee on the D, Classification of Diabetes M. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2003, 26 Suppl 1: S5-20.
132. Manouchehr-Pour M, Spagnuolo PJ, Rodman HM, Bissada NF. Comparison of neutrophil chemotactic response in diabetic patients with mild and severe periodontal disease. *J Periodontol*, 1981, 52: 410-415.
133. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*, 1991, 62: 123-131.
134. Listgarten MA, Ricker FH, Jr., Laster L, Shapiro J, Cohen DW. Vascular basement lamina thickness in the normal and inflamed gingiva of diabetics and non-diabetics. *J Periodontol*, 1974, 45: 676-684.
135. Skyler JS. *Relation of metabolic control of diabetes mellitus to chronic complications*. 4. Baskı. New York: Elsevier, 1990: 856-879.
136. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol*, 2005, 76: 2075-2084.
137. Southerland JH, Taylor GW, Moss K, Beck JD, Offenbacher S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontol 2000*, 2006, 40: 130-143.
138. Salvi GE, Collins JG, Yalda B, Arnold RR, Lang NP, Offenbacher S. Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 1997, 24: 8-16.
139. Stewart JE, Wager KA, Friedlander AH, Zadeh HH. The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, 2001, 28: 306-310.
140. Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Halinen S, Saari H, Kontinen YT, Uitto VJ, Golub LM. Cellular source and tetracycline-inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, 1992, 19: 146-149.
141. Willershausen-Zonnchen B, Lemmen C, Hamm G. Influence of high glucose concentrations on glycosaminoglycan and collagen synthesis in cultured human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol*, 1991, 18: 190-195.
142. Sorsa T, Golub LM. Is the excessive inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) by potent synthetic MMP inhibitors (MMPIs) desirable in periodontitis and other inflammatory diseases? That is: 'Leaky' MMPIs vs excessively efficient drugs. *Oral Dis*, 2005, 11: 408-409.
143. Seppala B, Sorsa T, Ainamo J. Morphometric analysis of cellular and vascular changes in gingival connective tissue in long-term insulin-dependent diabetes. *J Periodontol*, 1997, 68: 1237-1245.
144. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, Taylor R. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 2012, 55: 21-31.



145. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*, 2010, 89: 1241-1246.
146. Kara A, Akman S, Ozkanlar S, Tozoglu U, Kalkan Y, Canakci CF, Tozoglu S. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med*, 2013, 55: 21-26.
147. Arabaci T, Kermen E, Ozkanlar S, Kose O, Kara A, Kizildag A, Duman SB, Ibisoglu E. Therapeutic Effects of Melatonin on Alveolar Bone Resorption After Experimental Periodontitis in Rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*, 2015, 86: 874-881.
148. Botelho MA, Martins JG, Ruela RS, I R, Santos JA, Soares JB, Franca MC, Montenegro D, Ruela WS, Barros LP, Queiroz DB, Araujo RS, Sampio FC. Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: a tapping mode AFM study. *Phytother Res*, 2009, 23: 1439-1448.
149. Levy Y. Oxidative stress, antioxidants and periodontal disease. *Arch Oral Biol*, 2015, 60: 1461-1462.
150. Gunes A, Mutlu M, Akin I, Koybasioglu F, Guvey A, Karasu MF, Albasan H, Cengiz H. The Impact of Systemic and Local Administration of Ascorbic Acid on Traumatic Perforation of Tympanic Membrane and Myringosclerosis. *J Int Adv Otol*, 2015, 11: 48-52.
151. Alagl AS, Bhat SG. Ascorbic acid: new role of an age-old micronutrient in the management of periodontal disease in older adults. *Geriatr Gerontol Int*, 2015, 15: 241-254.
152. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health*, 2006, 6 Suppl 1: S14.
153. Timimi FK, Ting HH, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*, 1998, 31: 552-557.
154. Cameron NE, Cotter MA. Effects of antioxidants on nerve and vascular dysfunction in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 1999, 45: 137-146.
155. Hung LK, Fu SC, Lee YW, Mok TY, Chan KM. Local vitamin-C injection reduced tendon adhesion in a chicken model of flexor digitorum profundus tendon injury. *J Bone Joint Surg Am*, 2013, 95: e41.
156. Arabaci T, Cicek Y, Canakci V, Canakci CF, Ozgoz M, Albayrak M, Keles ON. Immunohistochemical and Stereologic Analysis of NF-kappaB Activation in Chronic Periodontitis. *Eur J Dent*, 2010, 4: 454-461.
157. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 9-11.
158. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol*, 1997, 24: 287-296.
159. Sodeman WA., TM. S. *Sodeman Pathologic Physiology Mechanisms of Disease*. Çeviri: V. Cesur, Kemal. N. 1. Baskı. 1992.
160. Bhatavadekar NB, Williams RC. Modulation of the host inflammatory response in periodontal disease management: exciting new directions. *Int Dent J*, 2009, 59: 305-308.
161. Kornman KS. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. *Clin Infect Dis*, 1999, 28: 520-526.
162. Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutr Rev*, 2002, 60: S40-45.

163. Bensch KG, Fleming JE, Lohmann W. The role of ascorbic acid in senile cataract. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985, 82: 7193-7196.
164. Tupe RS, Agte VV. Role of zinc along with ascorbic acid and folic acid during long-term in vitro albumin glycation. *Br J Nutr*, 2010, 103: 370-377.
165. Mesia R, Gholami F, Huang H, Clare-Salzler M, Aukhil I, Wallet SM, Shaddox LM. Systemic inflammatory responses in patients with type 2 diabetes with chronic periodontitis. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2016, 4: e000260.
166. Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med*, 2011, 50: 1569-1574.
167. Elburki MS, Moore DD, Terezakis NG, Zhang Y, Lee HM, Johnson F, Golub LM. A novel chemically modified curcumin reduces inflammation-mediated connective tissue breakdown in a rat model of diabetes: periodontal and systemic effects. *J Periodontal Res*, 2017, 52: 186-200.
168. Ross JH, Hardy DC, Schuyler CA, Slate EH, Mize TW, Huang Y. Expression of periodontal interleukin-6 protein is increased across patients with neither periodontal disease nor diabetes, patients with periodontal disease alone and patients with both diseases. *J Periodontal Res*, 2010, 45: 688-694.
169. Carcamo JM, Borquez-Ojeda O, Golde DW. Vitamin C inhibits granulocyte macrophage-colony-stimulating factor-induced signaling pathways. *Blood*, 2002, 99: 3205-3212.
170. Choi JS, Choi YJ, Park SH, Kang JS, Kang YH. Flavones mitigate tumor necrosis factor-alpha-induced adhesion molecule upregulation in cultured human endothelial cells: role of nuclear factor-kappa B. *J Nutr*, 2004, 134: 1013-1019.
171. Ellulu MS, Rahmat A, Patimah I, Khaza'ai H, Abed Y. Effect of vitamin C on inflammation and metabolic markers in hypertensive and/or diabetic obese adults: a randomized controlled trial. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3405-3412.
172. Jang IS, Ko YH, Moon YS, Sohn SH. Effects of Vitamin C or E on the Pro-inflammatory Cytokines, Heat Shock Protein 70 and Antioxidant Status in Broiler Chicks under Summer Conditions. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2014, 27: 749-756.
173. Rosen HN, Moses AC, Garber J, Iloputaife ID, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL. Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif Tissue Int*, 2000, 66: 100-103.
174. Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F, Nouijai A, Bezza A, Derouiche el M, Ghafir D, El Maghraoui A. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol*, 2005, 24: 493-496.
175. Neyran Kertmen MY. Does Type II diabetes mellitus affect bone turn-over markers in premenopausal women? A single center experience. *Cumhuriyet Medical Journal*, 2015, 37: 259-264.
176. Starup-Linde J, Eriksen SA, Lykkeboe S, Handberg A, Vestergaard P. Biochemical markers of bone turnover in diabetes patients--a meta-analysis, and a methodological study on the effects of glucose on bone markers. *Osteoporos Int*, 2014, 25: 1697-1708.
177. Miricescu D, Totan A, Calenic B, Mocanu B, Didilescu A, Mohora M, Spinu T, Greabu M. Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand*, 2014, 72: 42-47.

178. Gursoy UK, Kononen E, Huuononen S, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen AL, Sorsa T. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2013, 40: 18-25.
179. Kose O, Arabaci T, Kizildag A, Erdemci B, Ozkal Eminoglu D, Gedikli S, Ozkanlar S, Zihni M, Albayrak M, Kara A, Kermen E. Melatonin prevents radiation-induced oxidative stress and periodontal tissue breakdown in irradiated rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res*, 2017, 52: 438-446.
180. Munday K, Fulford A, Bates CJ. Vitamin C status and collagen cross-link ratios in Gambian children. *Br J Nutr*, 2005, 93: 501-507.
181. Pasco JA, Henry MJ, Wilkinson LK, Nicholson GC, Schneider HG, Kotowicz MA. Antioxidant vitamin supplements and markers of bone turnover in a community sample of nonsmoking women. *J Womens Health (Larchmt)*, 2006, 15: 295-300.
182. Lee HJ, Kang IK, Chung CP, Choi SM. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1995, 22: 885-890.
183. Tervonen T, Oliver RC. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1993, 20: 431-435.
184. Sorsa T, Ding Y, Salo T, Lauhio A, Teronen O, Ingman T, Ohtani H, Andoh N, Takeha S, Kontinen YT. Effects of tetracyclines on neutrophil, gingival, and salivary collagenases. A functional and western-blot assessment with special reference to their cellular sources in periodontal diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 1994, 732: 112-131.
185. Collin HL, Sorsa T, Meurman JH, Niskanen L, Salo T, Ronka H, Kontinen YT, Koivisto AM, Uusitupa M. Salivary matrix metalloproteinase (MMP-8) levels and gelatinase (MMP-9) activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Res*, 2000, 35: 259-265.
186. Mohamed HG, Idris SB, Mustafa M, Ahmed MF, Astrom AN, Mustafa K, Ibrahim SO. Influence of Type 2 Diabetes on Prevalence of Key Periodontal Pathogens, Salivary Matrix Metalloproteinases, and Bone Remodeling Markers in Sudanese Adults with and without Chronic Periodontitis. *Int J Dent*, 2016, 2016: 6296854.
187. Kardesler L, Biyikoglu B, Cetinkalp S, Pitkala M, Sorsa T, Buduneli N. Crevicular fluid matrix metalloproteinase-8, -13, and TIMP-1 levels in type 2 diabetics. *Oral Dis*, 2010, 16: 476-481.
188. Arana C, Cutando A, Ferrera MJ, Gomez-Moreno G, Worf CV, Bolanos MJ, Escames G, Acuna-Castroviejo D. Parameters of oxidative stress in saliva from diabetic and parenteral drug addict patients. *J Oral Pathol Med*, 2006, 35: 554-559.
189. Ekuni D, Tomofuji T, Tamaki N, Sanbe T, Azuma T, Yamanaka R, Yamamoto T, Watanabe T. Mechanical stimulation of gingiva reduces plasma 8-OHdG level in rat periodontitis. *Arch Oral Biol*, 2008, 53: 324-329.
190. Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K, Odaka H, Tanaka T, Ikeda H, Hiai H, Seino Y, Yamada Y. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes*, 1999, 48: 927-932.
191. Chou ST, Tseng ST. Oxidative stress markers in type 2 diabetes patients with diabetic nephropathy. *Clin Exp Nephrol*, 2017, 21: 283-292.
192. Ekuni D, Tomofuji T, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, Koikeguchi S, Yamamoto T. Vitamin C intake attenuates the degree

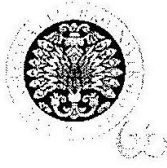
- of experimental atherosclerosis induced by periodontitis in the rat by decreasing oxidative stress. *Arch Oral Biol*, 2009, 54: 495-502.
193. Kose O, Arabaci T, Yemenoglu H, Ozkanlar S, Kurt N, Gumussoy I, Gedikli S, Kara A. Influence of experimental periodontitis on cardiac oxidative stress in rats: a biochemical and histomorphometric study. *J Periodontal Res*, 2017, 52: 603-608.
  194. Kurgan S, Onder C, Altingoz SM, Bagis N, Uyanik M, Serdar MA, Kantarci A. High sensitivity detection of salivary 8-hydroxy deoxyguanosine levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 2015, 50: 766-774.
  195. Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R, Brett JG, Lamster IB. Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontal Res*, 1996, 31: 508-515.
  196. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R, Grbic J. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*, 2007, 34: 18-24.
  197. Grauballe MB, Ostergaard JA, Schou S, Flyvbjerg A, Holmstrup P. Blockade of RAGE in Zucker obese rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res*, 2017, 52: 97-106.
  198. Zizzi A, Tirabassi G, Aspriello SD, Piemontese M, Rubini C, Lucarini G. Gingival advanced glycation end-products in diabetes mellitus-associated chronic periodontitis: an immunohistochemical study. *J Periodontal Res*, 2013, 48: 293-301.
  199. Amaliya A, Laine ML, Delanghe JR, Loos BG, Van Wijk AJ, Van der Velden U. Java project on periodontal diseases: periodontal bone loss in relation to environmental and systemic conditions. *J Clin Periodontol*, 2015, 42: 325-332.
  200. Amarasena N, Ogawa H, Yoshihara A, Hanada N, Miyazaki H. Serum vitamin C-periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol*, 2005, 32: 93-97.
  201. Chapple IL, Milward MR, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr*, 2007, 137: 657-664.
  202. Cutler CW, Machen RL, Jotwani R, Iacopino AM. Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia. *J Periodontol*, 1999, 70: 1313-1321.
  203. Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Spessot A, Qu W, Kislinger T, Lu Y, Stern DM, Schmidt AM. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest*, 2000, 105: 1117-1124.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı soyadı:</b> Ayşe TORAMAN</p> <p><b>Doğum Tarihi:</b> 01.02.1990</p> <p><b>Doğum Yeri:</b> PASINLER</p> <p><b>Uyruğu:</b> T.C.</p> <p><b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum</p> <p><b>Tel:</b> 0537 5025422/ 0442 2133563</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> Nenehatun Kız Lisesi, Erzurum (2003-2007)</p> <p><b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Erzurum (2007-2012)</p> <p><b>Uzmanlık:</b> Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Erzurum (2014-2017)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce

## EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700158924  
Konu : HADYEK Kararı.

02.06.2017

### DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 20.04.2017 tarihli ve 25330273-929-E.1700119311 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.05.2017 tarih ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 51 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının adının değiştirilerek, çalışmanın da Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

**Toplantı Tarihi:** 24.05.2017

**Toplantı Sayısı :** 4

**KARAR N0 51:** Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı, Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Taner ARABACI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, 23.10.2015 tarih ve 8/166 sayılı kararımızla yürütülen “**Periodontitis Oluşturulmuş Diyabetli Ratlarda İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Etkileri ve Melatonin Uygulamasının Terapötik Etkilerinin Değerlendirilmesi**” başlıklı araştırma çalışmasında araştırmacı değişikliği, Melatonin temin edilememesi ve bir antioksidan olan Vitamin C kullanılmasına da karar verildiğinden dolayı araştırma çalışmasının adının “**Deneysel Diyabet Periodontitis Oluşturulmuş Ratlarda İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Periodontal Doku Yıkımı Üzerine Etkileri ve Vitamin C Uygulamasının Tedavi Edici Etkilerinin Değerlendirilmesi**” şeklinde değiştirilmesi ile ilgili Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığının 20.04.2017 tarih ve 25330273-929-E.1700119311 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının adının değiştirilerek,

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vetfak@atauni.edu.tr](mailto:vetfak@atauni.edu.tr)

Kep Adresi: [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)



çalışmanın da Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (Yönetmeliğin 8.maddesinin 8/h bendi gereğince, Doç.Dr.Taner ARABACI, görüşmeye katılmadı ve oy kullanmadı). karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ  
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>  
Kep Adresi: [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)

Bilgi: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vetfak@atauni.edu.tr](mailto:vetfak@atauni.edu.tr)

