



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN DENEYSEL  
PERİODONTİTİSTE ENFLAMASYONA OLAN  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Esra DEMİR**

**Samsun  
EYLÜL-2016**





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN DENEYSEL  
PERİODONTİTİSTE ENFLAMASYONA OLAN  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Esra DEMİR**

**Danışman  
Yrd.Doç.Dr. Feyza OTAN ÖZDEN**

**Samsun  
EYLÜL-2016**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Esra DEMİR tarafından Yrd.Doç.Dr. Feyza OTAN ÖZDEN danışmanlığında hazırlanan “KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN DENEYSEL PERİODONTİTİSTE ENFLAMASYONA OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 23/09/2016 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Hatice Ebru OLGUN ERDEMİR Kırıkkale Üniversitesi

Üye : Yrd.Doç.Dr. Feyza OTAN ÖZDEN Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. Müge LÜTFİOĞLU Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Bahattin AVCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. F.Deniz ÇETİNER Gazi Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / ..... / .....

**Prof.Dr. Ahmet UZUN**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösterip beni destekleyen, tezimin her aşamasında emeğini ve yardımını esirgmeden yanımda olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Yrd.Doç.Dr. Feyza OTAN ÖZDEN'e,

Doktora hayatım boyunca bana emeği geçen başta Anabilim Dalı Başkanım Sayın hocam Prof. Dr. H. Gökhan AÇIKGÖZ olmak üzere kürsümüzdeki tüm öğretim üyelerine,

Çalışmam süresince gereken her türlü imkanı sağlayan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana zaman ayıran, sorularımı sabırla yanıtlayan, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Doç.Dr. Bahattin AVCI'ya,

Çalışmamın laboratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde bilgi, beceri ve deneyimlerini benimle paylaşan ve bana sabırla yardımcı olan Kadriye BARDAK'a,

Çalışmamın ölçüm aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof.Dr. Murat KABAK'a,

Çalışmamın istatistiksel değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd.Doç.Dr. Naci MURAT'a,

Hepsinin adını yazmak istediğim ancak sığdıramadığım çalışmış ve çalışmakta olduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemi sağlayan ve desteklerini hep hissettiğim aileme,

**Gönülden teşekkürler...**

Çalışmamız 115S805 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN DENEYSEL PERİODONTİTİSTE ENFLAMASYONA OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, kafeik asit fenetil ester (KAFE)'in konak yanıtını düzenleyip periodontal doku yıkımını ve kemik kaybını önleyebileceği veya azaltabileceği hipotezini test etmek ve deneysel periodontitis modelinde dişeti ve serum interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) seviyeleri üzerine etkisini biyokimyasal olarak incelemektir.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamızda 40 adet Sprague-Dawley sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı. Çalışma grupları; Grup A: Kontrol (n=10), Grup B: Deneysel periodontitis, Grup C: Deneysel periodontitis+KAFE (5 $\mu$ mol/kg/gün; 28 gün) , Grup D: Deneysel periodontitis+KAFE (10 $\mu$ mol/kg/gün; 28 gün) olarak belirlendi. Deneysel periodontitis, üst sol 1.ve 2. molar dişlerin interproksimal alanında dişeti altına lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu ile oluşturuldu. Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra intraperitoneal (i.p.) olarak KAFE uygulandı. Dişeti ve serum IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  değerleri enzime bağlı immünosorban yöntem (ELISA) kitleri ile biyokimyasal olarak incelendi. Alveolar kemik kayıpları morfometrik olarak ölçüldü.

**Bulgular:** Morfometrik sonuçlar LPS enjeksiyonu yapılan bölgelerde kemik kaybını doğruladı. Serum IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri istatistiksel olarak farklılık göstermedi (p>0,05). Dişeti dokusu IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri kontrol grubunda (Grup A), periodontitis gruplarına (Grup B,C ve D) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede az bulundu (p<0,001). KAFE uygulanan gruplarda (Grup C ve D) IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri periodontitis grubuna (Grup B) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0,001).

**Sonuç:** Çalışmanın sınırları dahilinde bulgularımız KAFE'nin konak modülasyonunu düzenleyerek antienflamatuvar etki gösterebileceğine işaret etmektedir. KAFE'nin periodontal dokular üzerine antienflamatuvar bir ajan olarak gösterildiği uzun dönem klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Deneysel periodontitis; Kafeik asit fenetil ester; IL-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$

**Esra DEMİR, Doktora Tezi**  
**Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Eylül-2016**

## ABSTRACT

### EVALUATION OF INFLAMMATORY EFFECTS OF CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

**Aim:** The aim of this study was to test the hypothesis that caffeic acid phenethyl ester (CAPE) may avoid or downregulate the periodontal tissue destruction via host modulation and investigate the impact of this substance biochemically on the levels of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in gingiva and serum in an experimental periodontitis model.

**Material and Method:** 40 Sprague-Dawley rat were randomly divided into four groups. Group A: control, Group B: experimental periodontitis (EP), Group C: EP+CAPE (5 $\mu$ mol/kg/day for 28 day), Group D: EP+CAPE (10 $\mu$ mol/kg/day for 28 day) were designated as study groups. EP was created by injection of lipopolysaccharide (LPS) to the interproximal area of left maxillary first and second molars. Followed by the EP, CAPE was administered intraperitoneally (i.p.) to the Groups C and D in respect to the related dosages. Gingival and serum samples were investigated biochemically using enzyme linked immuno assay (ELISA) kit peculiar to IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . Alveolar bone loss was measured morphometrically.

**Results:** The findings confirmed the bone loss around LPS injection sites. Serum levels were not statistically different between the groups ( $p > 0,05$ ). The levels of gingival tissue IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in Group A were found significantly lesser than the periodontitis groups (Group B, C and D) ( $P < 0.001$ ). The levels of gingival tissue levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in CAPE groups (Group C and D) were found statistically lesser than periodontitis group (Group B) ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Within the limitations of this study, our results suggest that CAPE reveals antiinflammatory effect via host modulation. Long term clinical studies are needed to indicate CAPE as an antiinflammatory agent on periodontal tissues.

**Keywords:** Caffeic acid phenethyl ester; Experimental periodontitis; IL-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$ .

Esra DEMİR, Ph. D. Thesis  
Ondokuz Mayıs University - Samsun, September-2016

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>µmol</b>	: Mikromol
<b>AA</b>	: Araşidonik Asit
<b>CMT<sub>s</sub></b>	: Kimyasal Modifiye Tetrasiklin
<b>COX-1</b>	: Siklooksijenaz-1
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz-2
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein
<b>DEXA</b>	: Dual-energy x-ray absorptiometry
<b>Dk</b>	: Dakika
<b>DOS</b>	: Dişeti Oluğu Sıvısı
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>FDA</b>	: U.S. Food and Drug Administration
<b>g</b>	: gram
<b>HCl</b>	: Hidroklorik Asit
<b>i.p.</b>	: intraperitoneal
<b>IgE</b>	: İmmünoglobulin E
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	: İnterlökin-1 $\alpha$
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin-1 $\beta$
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>iNOS</b>	: Inducible nitrik oksit sentetaz
<b>KAFE</b>	: Kafeik Asit Fenetil Ester



<b>Kg</b>	: Kilogram
<b>KP</b>	: Kronik Periodontitis
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>MMP</b>	: Matriks metalloproteinaz
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroklorit
<b>NF- <math>\kappa</math><math>\beta</math></b>	: Nükleer Transkripsiyon Faktörü Kappa Beta
<b>NK</b>	: Natural Killer
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NSAID</b>	: Steroid olmayan anti-enflamatuvar ilaç
<b>P. gingivalis</b>	: Porphyromonas gingivalis
<b>PBS</b>	: Fosfat Tampon Solüsyon
<b>pg</b>	: Pikogram
<b>PGE<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer Lökosit
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SDD</b>	: Subantimikrobiyal Doz Doksisisiklin
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör - $\alpha$
<b>TNF-<math>\beta</math></b>	: Tümör nekroz faktör - $\beta$

**TÜBİTAK** : Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu

**WHO** : Dünya Sağlık Örgütü

**XO** : Ksantin oksidaz



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Kronik Periodontitis .....	3
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Histopatolojisi.....	3
2.1.2. Periodontal Hastalıklarda Doku Yıkımı ve IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ .....	6
2.2. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıtı Modülasyonu .....	9
2.3. Kafeik Asit Fenetil Ester .....	12
2.4. Lipopolisakkarit ve Deneysel Periodontitis Modeli.....	14
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	16
3.1. Çalışma Protokolü.....	16
3.2. Deney Grupları.....	16
3.2.1. Deneysel Periodontitis Oluşturulması .....	16
3.2.2. Kafeik Asit Fenetil Ester Uygulaması .....	18
3.3. Örneklerin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması .....	19
3.4. Dişeti Dokusu Homojenatları Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	19
3.5. IL-1 $\beta$ Seviyelerinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi.....	19
3.6. TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi.....	20
3.7. Alveolar Kemik Kaybı Ölçümü .....	21
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	22
<b>4. BULGULAR</b> .....	23
4.1. Alveolar Kemik Kaybı Ölçümlerinin Değerlendirilmesi.....	23
4.2. Dişeti IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Değerlendirilmesi .....	24
4.3. Serum IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Değerlendirilmesi .....	26
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	28

<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>35</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>37</b>
<b>EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi .....</b>	<b>57</b>
<b>EK-2 Tübitak Proje Kabul Belgesi.....</b>	<b>58</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>59</b>



## 1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar “Bakteri ve ürünlerinin direkt veya indirekt etki mekanizmalarına karşı konak doku savunmasının yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkan, akut ve/veya kronik bir seyir göstererek, yumuşak ve sert dokuların kaybına neden olabilen, duraklama dönemlerinin yanı sıra yıkımın ve yeniden oluşumun izlenebildiği enfeksiyöz bir hastalık” şeklinde tanımlanmıştır (Petersen ve ark., 2005; Petersen ve Ogawa, 2012). Dünya sağlık örgütü (WHO), ağız sağlığının, genel sağlık ve yaşam kalitesinin önemli bir parçası olduğunu ve bu konudaki farkındalığın dünya çapında artması gerektiğini belirtmiştir (Petersen, 2009). Periodontitis; i) yaygın olduğundan ii) hayat kalitesini düşürdüğünden iii) çiğneme fonksiyonunu azalttığından iv) estetik bozulmalara yol açtığından ve v) genel sağlığı etkilediğinden dolayı ciddi bir sağlık sorunudur (Baehni ve Tonetti, 2010; Tonetti ve Van Dyke, 2013). WHO’nun raporuna göre periodontitis dünyada yetişkin popülasyonda diş kayıplarının %5-20’sine neden olmaktadır (Petersen ve ark., 2005). Tedavisinde uzun süreli takip ve hekim iş gücü gerektiren, rejeneratif tedavi seçenekleri ile birlikte ülke ekonomisi için yük oluşturan bu hastalığın oluşumunu önlemek veya ilerleyiş hızını kontrol altına almak, hasta, hekim ve ülke ekonomisi açısından büyük önem taşımaktadır (Flemmig ve ark., 1996).

Periodontal hastalıkların patojenik süreci esas olarak konak cevabına bağlıdır. Bakteriler ve virulans faktörleri, patojenik mikroorganizmaların yok edilmesini amaçlayan immünoenflamatuvar cevaba neden olmaktadır. Konak cevabı, spesifik bakteriyel antijenlere karşı antikor ya da hücrel reaksiyonlar şeklinde gelişmektedir. Konağa bağlı doku yıkımında bakteriler ve ürünleri dokuda enflamatuvar cevabı indükleyerek, polimorfonükleer lökosit (PMNL) migrasyonuna, fibroblastlarda farklılaşmaya, makrofajların aktivasyonu ile interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), prostaglandinler ve hidrolitik enzimler gibi ürünlerin salınımına neden olarak sert ve yumuşak doku yıkımını gerçekleştirmektedir (Assuma ve ark., 1998; Silva ve ark., 2008). Kronik periodontitise sahip bireylerin dişeti dokusu ve dişeti sıvısının sağlıklı bireylere göre artmış miktarda proenflamatuvar faktör, sitokin, kemokin ve diğer enflamatuvar medyatörleri içerdiği gösterilmiştir (Liu ve ark., 2010). Bu ürünlerin salınımının dokudaki artışı alveolar kemik rezorpsiyonu ve bağ doku kaybı için anahtar faktör olarak değerlendirilmektedir (Taylor, 2010; Pathirana ve ark., 2010).

Konak modülasyon konsepti diş hekimliğinde ilk olarak Williams ve ark.ları (1985) ve Golub ve ark.ları (1992) tarafından belirtilmiştir. Günümüzde alveolar kemik yıkımına kadar uzanan mekanizmaların başlamasına sebep olan proenflamatuvar sitokin üretiminin inhibe edilmesinin, konak yanıtını baskılayacağı görüşü geçerlilik kazanmaya başlamıştır (Gemmel ve ark., 1997; Kantarcı ve ark., 2006; Kirkwood ve ark., 2007; Souza ve ark., 2012). Konvansiyonel periodontal tedavi yaklaşımlarına ek olarak kullanılan ve konak yanıtını modüle etmeyi amaçlayan farmakolojik preparatların mevcut sistemik yan etkileri ve uzun dönem kullanımları ile ilgili ortaya çıkabilecek sorunlar (Salvi ve Lang, 2005; Shannon ve ark., 2011; Soares ve ark., 2012) araştırmacıları alternatif tedavi seçeneklerine yönlendirmiştir (Cao ve Sun, 1998; Chan, 2003; Sastravaha ve ark., 2005; Botelho ve ark., 2007; Liao ve ark., 2013). Özellikle yaygın antibiyotik kullanımına karşı bakterilerin geliştirdiği tolerans, bu konuda yapılan çalışmaları daha da önemli hale getirmiştir (Soares ve ark., 2012).

Kafeik asit fenetil ester (KAFE) arıbalı propolis ekstratının önemli aktif komponentlerinden biridir. Propolisin antiinflamatuvar etkinliğinin KAFE'den kaynaklandığı rapor edilmiştir (Borrelli ve ark., 2002; Rossi ve ark., 2002). Propolisin bu aktif komponentinin antiinflamatuvar (Natarajan ve ark., 1996; Orban ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2014) , immünomodülatör (Park ve Kahng, 1999), antineoplastik (Akyol ve ark., 2013), antioksidan (Sud'ina ve ark., 1993; Coban ve ark., 2010), antibakteriyel (Popova ve ark., 2005; Velazquez ve ark., 2007) ve yara iyileştirici (Koltuksuz ve ark., 2001; dos Santos ve Monte-Alto-Costa, 2013) özellikleri gösterilmiştir.

Literatürde KAFE'nin periodontal hastalık üzerine etkisiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. KAFE'nin interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve TNF- $\alpha$ 'nın üretimini azaltıp, konak yanıtını düzenleyerek periodontal doku yıkımını azaltabileceği hipotezinden yola çıkarak planladığımız çalışmamızda, KAFE'nin periodontitis oluştuktan sonraki dönemde alveolar kemik kaybı üzerine etkisinin morfometrik ve IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üzerine etkisinin biyokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kronik Periodontitis**

Periodonsiyum, kök sementini, periodontal ligamenti, alveolar kemiği ve dişetini içeren, dişi destekleyen yapıları tanımlayan genel bir terimdir. Periodontal dokular tek bir birim gibi gelişir ve fonksiyon görür. Bu dokuların bir kısmı ve/veya tamamında görülen patolojik değişikliklere periodontal hastalık adı verilir (Hoffman, 1966; Cho ve Garant, 2000).

Kronik periodontitis (KP), mikrobiyal dental plağa karşı oluşan dişeti enfeksiyonunun tedavi edilmediği durumlarda meydana gelen, ataşman ve kemik kaybıyla karakterize kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitisin en sık görülen formudur. Her yaşta görülebilmekle birlikte en çok 35 yaş üstü erişkinleri etkilemekte ve hastalığın görülme şiddeti yaşla birlikte artış göstermektedir (Armitage, 2000). KP'de kemik kaybı yavaş, genellikle horizontal seyirli, bölgeye spesifik ilerlemektedir. Miktarı lokal faktörlerle orantılıdır (Williams, 1990; Flemmig, 1999).

#### **2.1.1. Periodontal Hastalıkların Histopatolojisi**

“Periodontal hastalık” terimi hem gingivitis hem de periodontitisi içine alan bir terimdir. Gingivitis, dişi saran yumuşak dokuların enflamatuvar durumudur (Kinane, 2001). Diş üzerinde biriken mikrobiyal plağa karşı oluşan akut enflamatuvar cevap koruyucudur. Akut enflamatuvar cevap ile patojen eliminasyonu ve doku homeostazisi sağlanmaktadır. Enflamatuvar cevabın başarısız olduğu durumlarda ise abse formasyonu, skar veya kronik enflamasyonla iyileşme gibi sonuçlar oluşmakta ve dişi destekleyen dokularda yıkım meydana gelmektedir (Van Dyke ve Serhan, 2003; Kinane ve Bartold, 2007).

Periodontal hastalığın klinik ve histopatolojik aşamalarını kategorize etmek için periodontal enflamatuvar değişiklikler 4 histopatolojik aşama şeklinde tanımlanmıştır; başlangıç, erken, yerleşik lezyonlar ve ilerlemiş periodontal lezyon (The American Academy of Periodontology, 1999).

Başlangıç ve erken lezyonlar, gingivitisin erken aşamalarını, yerleşik lezyon ise kronik gingivitisini ifade etmektedir. Bu enflamatuvar değişiklikler yeterli diş

temizliği yapıldığı takdirde geri döndürülebilmektedir (Loe ve ark., 1965; Socransky ve ark., 1984; Axelsson ve ark., 1991). İlerlemiş lezyon ise gingivitten periodontite ilerlemeyi ve periodontitisin histopatolojik özelliklerini tanımlamaktadır (Page ve Schroeder, 1976).

Başlangıç lezyonu plak birikiminin 4. gününde görülür. Klinik görüntüde herhangi bir değişikliğe neden olmaz. Plak birikimine karşı oluşan akut enflamatuvar cevapla karakterizedir (Loe ve ark., 1965; Zachrisson, 1968; Payne ve ark., 1975). Gingival enflamasyonun ilk görünümü dilate kapiller, artmış kan akışından oluşan vasküler değişikliklerdir. Bu enflamatuvar değişiklikler bölgedeki lökositlerin mikrobiyal aktivasyona cevabı ve sonrasında endotelial hücrelerin uyarılmasıyla meydana gelir (Lindhe ve ark., 1973; Page, 1986). Başlangıç lezyonu gingival sulkus bölgesinde lokalizedir. Birleşim epitelinin bir kısmı ve bağ dokusunun koronal kısmını içerir. Dentogingival pleksustaki arterler, kapillerler ve venlerdeki dilatasyon histolojik olarak belirgindir. Mikrovasküler yatak permeabilitesinde artış meydana gelir. En belirgin özellikler dişeti oluğu sıvısındaki (DOS) artış ve birleşim ve sulkuler epitelin altındaki vasküler pleksustan birleşim epiteli ve dişeti oluğuna nötrofil migrasyonudur. Enflamatuvar infiltrat, epitelin altındaki gingival bağ dokunun %5-10'unu kaplar. Enflamatuvar infiltratın lokalize olduğu bölgede kollajen kaybı meydana gelir. Bu boşluk DOS, serum proteinleri ve enflamatuvar hücreler tarafından doldurulur (Payne ve ark., 1975; Schroeder ve ark., 1975). Klinik olarak normal gingival doku ve gingivitis başlangıç evresini birbirinden kesin olarak ayırmak mümkün değildir (Page, 1986).

Plak birikiminin yaklaşık 7. gününden sonra başlangıç lezyonunun bulunduğu alanda mononükleer lökositlerden oluşan enflamatuvar infiltrat gelişir ve erken lezyon başlar (Payne ve ark., 1975; Seymour ve ark., 1983). Birleşim epitelinin altındaki damarlar dilate şekilde kalmaya devam eder fakat inaktif kapiller yataklarının önceden açılmasına bağlı olarak sayısı artar. Lezyonun periferinde lenfositler ve makrofajlar baskındır. Aralarında az sayıda plazma hücresi de bulunmaktadır. Bu aşamada infiltrat, gingival bağ dokunun yaklaşık %15'ini kaplar. Enflamatuvar infiltratın lokalize olduğu bölgede kollajen kaybı %60-70'e ulaşır. İnfiltrat hücreler kollajen yıkımıyla boşluk oluşturmaya devam ederler. Enflamatuvar değişiklikler ödem ve eritem olarak görülür hale gelir (Loe ve ark., 1965).



Plak birikiminden 2-3 hafta sonra erken lezyon yerleşik lezyona dönüşür. Bu lezyon klinik olarak daha ödemlidir ve “kronik” gingivitis olarak adlandırılabilir. Bu evre, etkilenmiş alan boyutunun artışı, lezyon periferinde plazma hücreleri ve lenfositlerin baskın oluşuyla karakterizedir. Dişeti cebinin lamina propriasında makrofaj ve lenfositler tespit edilebilir. Birleşim ve sulkuler epitelde nötrofil infiltrasyonu baskındır (Lindhe ve ark., 1980; Okada ve ark., 1983; Brex ve ark., 1988). Birleşim ve sulkuler epitelde proliferasyon ve bağ dokunun derinine doğru migrasyon olabilir. Gingival sulkus derinleşir ve birleşim epitelinin koronal kısmı cep epiteline dönüşür. Cep epiteli, diş yüzeyine tutunmaz ve sonunda epitel boyunca gingival sulkus veya cebe göç eden lökosit özellikle nötrofil infiltrasyonuna sahiptir. Uzun dönem insan çalışmalarında gingivitiste genellikle plazma hücre baskınlığı görülmez (Brex ve ark., 1988). Yerleşmiş lezyonun bu özelliğinin insanlarda görülmediği ancak deneysel hayvanlarda görüldüğü ileri sürülmektedir (Page ve Schroeder, 1976).

İlerlemiş lezyon periodontal cep formasyonunu, ülserasyon yüzeyini ve süpürasyonu, alveolar kemik ve periodontal ligament yıkımını, diş mobilitesini ve sonunda diş kaybını içerir. İlerlemiş lezyon yerleşmiş gingival lezyonla aynı özelliklere sahiptir. Bu özelliklere, kök yüzeyinde bağ doku ataşmanının yıkımı ve epitelyal ataşmanın apikale migrasyonu da eşlik eder (Seymour ve Greenspan, 1979; Lindhe ve ark., 1980). Gingivitisten periodontitise ilerleyiş, baskın olan T-hücrelerinin B-hücrelerine değişmesiyle karakterizedir. Kemik yıkımı kan damarları çevresindeki interdental septum kreti boyunca başlar. Epitelin kök yüzeyi boyunca apikale doğru göç etmesi cep epitelinin parmak benzeri çıkıntılarının derin bağ dokular içine genişlemesine neden olur. Bu çıkıntılar kesintili bazal tabaka üzerinde düzensiz sırtlar gibidir ve dişe bağlı değildir (Muller-Glauser ve Schroeder, 1982).

Enflamatuvar reaksiyona bağlı kemik kaybının oluşması için i) dişeti dokusunda bulunan enflamatuvar medyatör konsantrasyonu, kemik rezorpsiyonuna neden olan yolların aktivasyonu için yeterli olmalıdır; ii) enflamatuvar medyatörler alveolar kemikten kritik uzaklığa erişebilmek için dişeti dokusuna penetre olmalıdır (Graves ve Cochran, 2003). Kemik rezorpsiyonunun amacı kemiğin enflamatuvar lezyondan uzaklaşarak bakterilerin kemiğe invaze olmasını engellemektir (Bartold ve Van Dyke, 2013). Kemik rezorpsiyonunun devam etmesi birleşim epitelinin intakt bir

bariyer oluşturmak için apikale göçüne neden olmaktadır (Cochran, 2008; Myneni ve ark., 2013).

### **2.1.2. Periodontal Hastalıklarda Doku Yıkımı ve IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$**

Periodontitisin temel etiyolojik faktörü diş yüzeyindeki mikrobiyal dental plaktır (Offenbacher, 1996). Mikrobiyal dental plağın diş yüzeyindeki varlığı, konağı koruyan ve plağın etkisini sınırlandıran enflamasyona neden olmaktadır (Kinane ve Attstrom, 2005; Nanci ve Bosshardt, 2006). Plak tarafından başlatılan periodontal hastalığın şiddeti, şekli ve ilerlemesi ise konak cevabına bağlıdır (Kirkwood ve ark., 2007).

Periodontal doku yıkımı iki farklı yolla oluşabilmektedir.

Direkt yolda bakterinin kendisi veya ürünleri periodonsiyumda yıkıma neden olmaktadır. Hastalığın erken evrelerinde belirgindir. Bakteriler hyalüronidaz, kollajenaz, proteaz gibi ürünler ve enzimler yardımıyla ekstrasellüler matriksin yıkımına neden olmaktadır. Endotoksin, lipoteikoik asit gibi bakteriyel ürünler kemik rezorpsiyonunun potansiyel stimülatörleridir (Kirkwood ve ark., 2007).

İndirekt yolda ise konağın bakteriyel antijenlere karşı oluşturduğu bozulmuş ve aşırı immüenflamatuvar cevap doku yıkımına neden olmaktadır (Giannobile, 2008; Preshaw, 2008). Konak cevabı, spesifik bakteriyel antijenlere karşı antikör veya hücrel reaksiyonlar şeklinde gelişmektedir. Bakteriler veya ürünlerine karşı PMNL migrasyonu, fibroblastlarda farklılaşma, makrofajların aktivasyonu gerçekleşmektedir (Assuma ve ark., 1998; Silva ve ark., 2008). Gingival dokularda lokal konak cevabının başlaması sitokinler, prostanoidler ve enzimlerin üretimine neden olmaktadır (Taubman ve ark., 2005; Ohlrich ve ark., 2009; Bartold ve Van Dyke, 2013).

Sitokinler güçlü biyolojik aktivitelere sahip küçük protein molekülleridir. Esas fonksiyonları immün cevabın düzenlenmesidir (Dinarello, 2007). Bazı sitokinler hastalığın etkilerini artırırken (proenflamatuvar), bazıları ise enflamasyonu azaltmakta ve iyileşmeyi arttırmaktadır (antienflamatuvar) (Graves ve Cochran, 2003; Armutçu ve ark., 2015). Normal koşullar altında dengede olan proenflamatuvar ve antienflamatuvar medyatör seviyesi mikrobiyal patojenleri elimine etmekte ve konağı korumaktadır (Kirkwood ve ark., 2007; Preshaw, 2008). Bu dengenin proenflamatuvar medyatörler lehine bozulması dokuda yıkıma neden olmaktadır (Tsai ve ark., 2005; Borges ve ark., 2007).

IL-1 periodontal hastalıkta en çok çalışılan sitokindir. Geniş biyolojik aktivitelere ve enflamasyon süresince birçok gen salınımı üzerinde direkt etkiye sahip proenflamatuvar bir sitokindir. DOS'taki varlığı ilk olarak Charon ve Mergenhagen tarafından gösterilmiştir (Charon ve ark., 1982; Mergenhagen, 1984; Graves ve Cochran, 2003). IL-1 genetik polimorfizminin periodontal hastalığa karşı duyarlılığı arttırdığı düşünülmektedir (Ayazi ve ark., 2013; Cantore ve ark., 2014). Bununla birlikte astım (Okada ve ark., 1995) ve romatoid artrit patogenezinde (Ruscitti ve ark., 2015), kanser ilerleyişinde (Idris ve ark., 2015), septik şok ve yara iyileşmesinde (Brecht ve ark., 2008) etkili olduğu bilinmektedir. İnterlökin-1alfa (IL-1 $\alpha$ ) ve IL-1 $\beta$  olmak üzere agonistik ve benzer aktivitelere sahip iki ana IL-1 formu bulunmaktadır (Dinarello, 1996). IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  birbirinden ayrı şekilde ilk olarak Masada ve ark. (1990) tarafından değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda IL-1 $\beta$  seviyesinin IL-1 $\alpha$  seviyesinden daha yüksek olduğu ve periodontal tedavi sonrasında iki medyatör seviyesinin de azaldığı rapor edilmiştir.

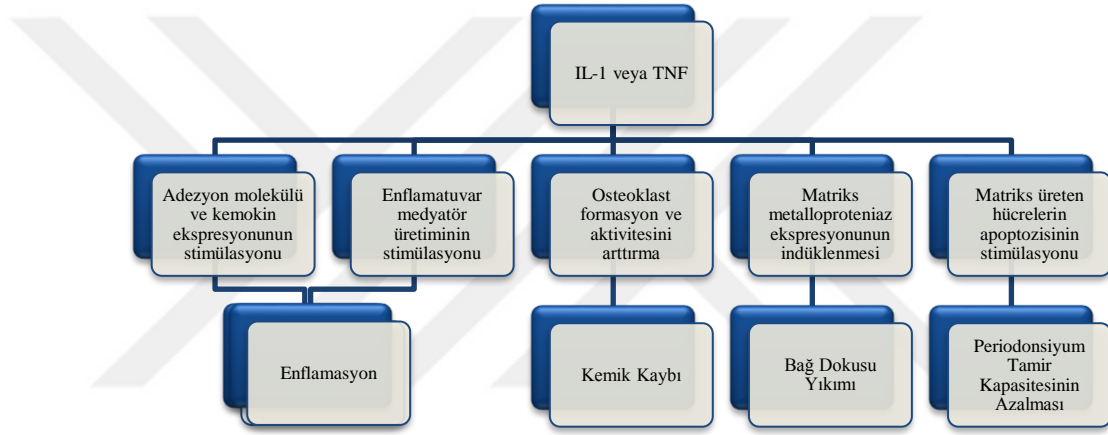
IL-1 $\beta$ , periodontal hastalığa sahip bireylerin dişeti dokusunda ilk çalışılan sitokindir (Honig ve ark., 1989; Jaedicke ve ark., 2016). Bağ doku yıkımı ve alveolar kemik rezorpsiyonunun önemli medyatörlerindedir. Hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptozisi gibi hücresele aktivitelere rol almaktadır. IL-1 $\beta$  salınımı mikroorganizmalar, bakteriyel toksinler, kompleman komponentleri veya doku hasarı tarafından tetiklenmektedir. IL-1 $\beta$  periodontal enflamasyonda esas olarak makrofajlar ve dendritik hücrelerden salınmaktadır. Bununla birlikte gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar tarafından da salınabilmektedir (Liu ve ark., 2010). Fibroblast proliferasyonunun, proteoglikan, kollajen, kollajenaz ve prostaglandin sentezinin indüklenmesi (Alexander ve ark., 1996), osteoklast aktivasyonu (Preiss ve Meyle, 1994), matriks metalloproteinaz (MMP) üretiminin upregüle, MMP doku inhibitörlerinin ise downregüle edilmesi (Orozco ve ark., 2006) gibi biyolojik aktivitelere sahiptir. Bu özellikleri sebebiyle periodontitis başlangıcı ve ilerleyişi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Tüter ve ark., 2001). IL-1 $\beta$  seviyesinin; enflame periodontal alanlarda sağlıklı alanlara oranla hem dokuda hem de DOS'ta daha yüksek olduğu (Jandinski ve ark., 1991; Wilton ve ark., 1992; Preiss ve Meyle, 1994; Hou ve ark., 1995; Yavuziyılmaz ve ark., 1995) ve şiddetli periodontitise sahip bireylerde cep derinliği ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (Engbretson ve ark., 2002;

Rescala ve ark., 2010). Periodontitisli bireylerde Faz 1 periodontal tedavi sonrası DOS IL-1 $\beta$  seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Reinhardt ve ark., 1993). Tedavi sonrası azalan IL-1 $\beta$  seviyesi ile iyileşen klinik parametrelerin pozitif korelasyonunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Hou ve ark., 1995; Tsai ve ark., 1995). Hayvan modellerinde ve periodontitisli bireylerde yapılan çalışmalarda artmış IL-1 $\beta$  seviyesi aktif periodontal hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Stashenko ve ark., 1991a; Smith ve ark., 1993).

TNF sitokini, TNF- $\alpha$  ve tümör nekroz faktör- $\beta$  (TNF- $\beta$ ) olmak üzere iki proteini temsil etmektedir. Her iki protein de kemik ve kıkırdak rezorpsiyonunu stimüle edebilmektedir (Genco, 1992). TNF- $\alpha$  önemli bir enflamatuvar sitokin ve immün cevap düzenleyicidir. Periodontitis patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Esas olarak makrofajlardan salgılanmaktadır. Bununla birlikte nötrofil, keratinosit, fibroblast, natural killer (NK) hücrelerden ve stimülasyonlarından sonra T ve B hücrelerinden de salgılabilmektedir (Ding ve ark., 2014). Deneysel çalışmalar TNF- $\alpha$ 'nın mikrobiyal patojenlere dirençte rol oynadığını göstermektedir (Tartaglia ve Goeddel, 1992; Ferrante ve ark., 1993). İmmün cevabı genellikle kemokinler, adezyon kuvvet molekülleri ve prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) gibi ikincil medyatör molekülleriyle aktive etmektedirler. Fibroblastlardan kollajenaz sekresyonunu, osteoklast progenitör hücrelerin farklılaşmasını ve proliferasyonunu indükleyerek ve indirekt olarak osteoklastları aktive ederek periodontal dokuların yıkımına katkıda bulunmaktadır (Gemmell ve ark., 1997; Yun ve ark., 2007; Liu ve ark., 2010; Taylor, 2010). TNF- $\alpha$  gen polimorfizminin kronik periodontitise yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (Ding ve ark., 2014; Özer ve ark., 2015). Dişeti, DOS ve tükürük TNF- $\alpha$  seviyesinin periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere oranla anlamlı derecede daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Preiss ve Meyle, 1994; Gorska ve ark., 2003; Frodge ve ark., 2008). DOS TNF- $\alpha$  seviyesinin plağa bağlı gingival enflamasyonda arttığı ve periodontitisle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rossomando ve ark., 1990; Heasman ve ark., 1993; Graves ve Cochran, 2003). TNF- $\alpha$  enjeksiyonunun periodontitisi şiddetlendirdiği deneysel olarak gösterilmiştir (Gasparsic ve ark., 2003).

IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  kemik rezorpsiyonunda sinerjistik etki göstermektedir (Okada ve Murakami, 1998). Periodontitisli bireylerin dişeti IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin klinik parametrelerle korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Gorska ve ark., 2003). TNF- $\alpha$  veya IL-1 $\beta$ 'nin sistemik veya lokal nötralizasyonunun alveolar kemik kaybını inhibe

ettiği (Assuma ve ark., 1998; Graves ve ark., 1998; Delima ve ark., 2001), periodontal yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği (Zhang ve ark., 2004) yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın periodontal dokularda doku yıkımı ve kemik rezorpsiyonunu başlatan en önemli anahtar medyatörler olduğu kabul edilmektedir (Gemmell ve ark., 1997; Kinane ve ark., 2011) (Şekil 1). Antagonistlerinin periodontitis tedavisinde etkili olduğu deneysel çalışmalarla gösterilen bu sitokinlerin sentez, salınım ve biyolojik aktiviteleri periodontitis tedavisinde hedef olarak gösterilmektedir (Assuma ve ark., 1998; Engebretson ve ark., 2002; Vardar-Sengul ve ark.,2009).



**Şekil 1.** IL veya TNF'nin periodontal doku yıkımına neden olan mekanizmaları (Graves ve Cochran, 2003'ten uyarlanmıştır)

## 2.2. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıt Modülasyonu

Periodontal hastalığın ana etkeni mikrobiyal dental plak olarak kabul edilmektedir (Haffajee ve Socransky, 1994). Mikrobiyal dental plak içeriğindeki periodontopatojenlerin ve ürünlerinin mekanik yöntemlerle uzaklaştırılması periodontal tedavinin temelini oluşturmaktadır (Heitz-Mayfield, 2009). Bakterilere karşı gelişen konak immünoenflamatuvar cevabın doku yıkımına neden olduğu bilinmektedir (Kirkwood ve ark., 2007). Bu açıdan bakıldığında periodontal hastalığın tedavisine yardımcı olmak amacı ile kullanılan tedavi edici ajan stratejilerinden biri antimikrobiyal tedavileri içerirken bir diğeri ise konak yanıtını modüle etmeyi amaçlayan yöntemleri kapsamaktadır (Kirkwood ve ark., 2007). Mekanik periodontal tedavi ile bakterilerin

tamamen uzaklaştırılması mümkün olmadığında ek olarak lokal ve sistemik antimikrobiyal kullanımı ile bakteriyel yüklemenin azaltılması ve klinik sağlığın kazanılması hedeflenmektedir (Herrera ve ark., 2002; Greenstein, 2006).

Periodontal hastalıkta oluşan kemik yıkımı bakteriyel ürünlerin direkt etkisinden çok konak cevabından kaynaklanmaktadır (Graves, 2008). Periodontal hastalıktaki bu paradoks konak modülasyon tedavisinin temelini oluşturmaktadır (The American Academy of Periodontology, 1999). Konak modülasyon ajanları ile yapılan araştırmalarda bu ajanların proteolitik enzimlerin, proenflamatuvar medyatörlerin ve osteoklast aktivitesinin inhibisyonu şeklinde etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Reddy ve ark., 2003).

Araşidonik asit (AA) metabolitleri romatoid artrit ve periodontitis gibi çeşitli enflamatuvar hastalıklarda doku yıkım medyatörleri oldukları kabul edilmektedir (Offenbacher ve ark., 1993; O'Dell, 2004). Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) zayıf organik asitlerdir ve AA metabolit sentezini inhibe ederek prostaglandin, tromboksan ve prostasiklin üretimini engellemektedir (FitzGerald ve Patrono, 2001). NSAID'lerin bu etkilerinden dolayı alveolar kemik rezorpsiyonunu azalttığı gösterilmiştir (Williams ve ark., 1988). Uzun dönem NSAID kullanımı renal prostaglandin sentezinin baskılanmasına neden olabilmekte ve bu etki artmış sodyum tutulumu, azalmış kan akışı ve son olarak renal yetmezlikle sonuçlanabilmektedir (Lindsley ve Warady, 1990). Siklooksijenaz-1 (COX-1) inhibitörleri prostaglandin üretimini baskılanmasından dolayı gastrik ülserasyona neden olabilmektedir (Hawkey, 1993). Son çalışmalar, siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörlerinin kardiyovasküler riskleri arttırabileceğini göstermiştir (Couzin, 2004; Wardle, 2004). COX-2 kullanımı, periodontitis tedavisinde yararlı etkileri gösterilmiş olmasına rağmen (Howell ve ark., 1991; Jones ve ark., 1999; Sekino ve ark., 2005) ciddi yan etkilere sahip olması nedeni ile sakıncalı bulunmuştur (Salvi ve Lang, 2005).

Bisfosfonatlar osteoklastik kemik rezorpsiyonunu baskılayan pirofosfat analoglarıdır. Osteoblast farklılaşmasını arttırma, osteoklast aktivasyonunu inhibe etme özelliklerine ek olarak hidroksiapatit kristallerine bağlanmakta ve çözümlerini engellemektedir (Shinoda ve ark., 2008). Bu etkilerinden dolayı periodontitis tedavisinde kullanılabilirliği gösterilmiştir (Preshaw, 2008). Yapılan deneysel periodontitis çalışmalarında mineral densiteyi arttırdığı, alveolar kemik kaybını azalttığı

bildirilmiştir (Brunsvold ve ark., 1992; Reddy ve ark., 1995). Bisfosfonat kullanımının sondalama derinliğinde azalma, klinik ataşman kazancı, sondalamada kanamada azalma (Rocha ve ark., 2001; Rocha ve ark., 2004; Lane ve ark., 2005), alveolar kemik kazancı (Jeffcoat ve Reddy, 1996) ve kemik mineral densitesinde artmaya (Marx, 2003; Ruggiero ve ark., 2004) neden olduğu rapor edilmiştir. Uzun dönem kullanımı ise çene kemiğinin osteonekrozuya ilişkilendirilmiştir (Marx, 2003; Ruggiero ve ark., 2004). Sahip olduğu bu yan etkiden dolayı NSAID'ler gibi bisfosfonatlar da periodontitis tedavisinde kullanıma girememiştir.

Tetrasiklinler, MMP aktivitelerini inhibe ederek doku yıkımı ve kemik rezorpsiyonunu engelleyebilmektedir (Salvi ve Lang, 2005). Anaerobik gram-negatif periodontopatojenlere karşı etkin olduğu, 250 mg tek dozunun DOS'ta seruma nazaran 2-10 kat daha fazla konsantrasyonda bulunduğu, biyolojik dokularda tutunabildiği ve bu süreçte salınımının devam ettiği rapor edilmiştir. Lokal veya sistemik olarak kullanılabilir (Walker ve Golub, 2012; Swamy ve ark., 2015). Tetrasiklinlerin gastrointestinal bozukluklara ve antibiyotik rezistansına yol açması gibi dezavantajları kimyasal modifiye tetrasiklinlerin (CMTs) geliştirilmesine öncülük etmiştir (Golub ve ark., 1992). Günümüzde tetrasiklin doğal ürünler, tetrasiklin semi sentetik bileşikler ve CMTs olmak üzere 3 grup tetrasikline ulaşmak mümkündür. En umut vadeden grup CMT'lerdir. CMT'ler tetrasiklinin antimikrobiyal özelliği elimine edilmiş, konak modülatör ve antikollajenolitik özelliği devam eden, modifiye şeklidir (Sapadin ve Fleischmajer, 2006). CMT'lerin MMP, proenflamatuvar sitokin, indüklenebilir nitrik oksit sentezi (iNOS) ve kemik rezorpsiyonu inhibisyonu, fibroblast ve bağ dokunun dış dokusuna ataşmanını arttırma gibi özelliklere sahip olduğu ve periodontitis tedavisinde konak modülasyon ajanı olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (Ramamurthy ve ark., 2002a). CMT'ler çok yeni ajanlardır ve ilgili uzun dönem insan çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenle günümüzde kullanıma girmemiştir (Swamy ve ark., 2015).

Subantimikrobiyal doz doksisisiklin (SDD) sitokin seviyelerinin azalması, osteoblastik aktivitenin stimülasyonu gibi çeşitli sinerjistik mekanizmalarla MMP'lerin azalmasına neden olan, tetrasiklin grubu konak modülasyon ajanıdır. Periodontitis tedavisinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı sistemik uygulanan tek konak modülatördür. 20 mg doksisisiklin (Periostat) günde iki doz olmak üzere en az

3 ay en fazla 9 ay olacak şekilde kullanılmaktadır. Diş yüzeyi temizliğine ek olarak kullanılan SDD'nin uzun dönemde cep derinliğinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu ve herhangi bir ciddi yan etki göstermediği bildirilmiştir (Golub ve ark., 1992; Golub ve ark., 2001; Emingil ve ark., 2004; Preshaw ve ark., 2004).

Periodontitis tedavisinde konak modülasyonu amacıyla kullanılan ilaçlar yan etkilerinden dolayı rutin kullanıma girememiştir (Herrera ve ark., 2002). Bu nedenle daha az yan etkiye sahip olduğu düşünülen antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkinliğe sahip doğal ajanlara olan ilgi son yıllarda oldukça artmıştır (Eisenberg ve ark., 1998; Palaska ve ark., 2013).

### **2.3. Kafeik Asit Fenetil Ester**

Propolis, içinde 300'den fazla bileşik barındıran arı balıdır. Antienflamatuvar, antikanser ve immünomodülatör özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Aral ve ark., 2015). Lokal kullanımının protez stomatitine sahip hastalarda palatal ödem ve eritemi azalttığı, bu bulguların antienflamatuvar özelliğinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Santos ve ark., 2008). Deneysel periodontitiste sistemik uygulanan propolisin alveolar kemik yıkımını azalttığı rapor edilmiştir (Toker ve ark., 2008).

KAFE; antitümoral, antiproliferatif, antienflamatuvar, antineoplastik ve antioksidan gibi önemli biyolojik aktivitelere sahip olan propolisin fenolik aktif bileşenlerinden biridir. Özüt alma metotlarıyla propolisten veya yüzey cevap metodolojileriyle kafeik asit ve fenetil alkollerden elde edilebilmektedir (Akyol ve ark., 2013). Kateşol zincirli hidroksil grupları ihtiva eden polifenoldür. Moleküler formülü  $C_{17}H_{16}O_4$ 'tür (Sud'ina ve ark., 1993; Natarajan ve ark., 1996). Ticari olarak beyaz toz şeklinde satılmaktadır. Etil asetat, etanol, dimetil sülfoksitte çözülebilmekte, su ve/veya salinde çözülememektedir.  $284.31 \text{ g mol}^{-1}$  moleküler ağırlığa sahiptir (Akyol ve ark., 2012). Farmakokinetik özellikleri sıçanlarda çalışılmıştır. Kullanılan doza göre klerensi  $42.1-172 \text{ ml dk}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  arasında, dağılım hacmi  $1555-5209 \text{ ml kg}^{-1}$  arasında değişmektedir. Yarı ömrü dozdan bağımsız olarak  $21.2-26.7 \text{ dk}$  arasında değişmektedir. Bu bulgular KAFE'nin dokulara yaygın şekilde dağıldığını ve hızlı şekilde elimine edildiğini göstermektedir (Wang ve ark., 2009). Toksisitesini gösteren çalışma bulunmamaktadır (Burdock, 1998; Toyoda ve ark., 2009; Akyol ve ark., 2013). Antibakteriyel (Velazquez ve ark., 2007), antioksidan (Chen ve ark., 2001), immünomodülatör (Park ve ark., 2008), yara iyileştirici (dos Santos ve Monte-Alto-



Costa, 2013) ve antiinflamatuvar (da Cunha ve ark., 2004) özelliklere sahiptir. Antimikrobiyal etkisi gösterilen KAFE'nin (Serkedjieva ve ark., 1992; Kujumgiev ve ark., 1993) bu etkisinin bakterilerin dış membranını yıkan reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezine bağlı olabileceği rapor edilmiştir (Lee ve ark., 2013). Bu özelliğinden dolayı diyetle alımının boğaz ağrısı, soğuk algınlığı tedavisinde yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Murtaza ve ark., 2014). KAFE tedavisinin direkt veya indirekt olarak immün hücre sayısında özellikle T-hücrelerinde ve immünoglobulin E (IgE) seviyesinde azalmaya sebep olduğu gösterilmiş ve allerjik hastalıklarda tedavi ajanı olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (Park ve ark., 2008). Ayrıca nükleer transkripsiyon faktör kappa beta (NF- $\kappa$ B) aktivitesini baskılayabildiği gösterilen KAFE'nin (Natarajan ve ark., 1996) bronşiyal astımda (Jung ve ark., 2008), obeziteden kaynaklı metabolik değişikliklerin düzeltilmesinde (Bezerra ve ark., 2012), aterosklerozun önlenmesinde (Yamamoto ve Gaynor, 2001) ilave tedavi ajanı olarak kullanılabilirliği ileri sürülmüştür. Baş boyun karsinomları gibi sürekli artan seviyede aktif NF- $\kappa$ B ekspresyon eden tümörlere sahip hastalarda KAFE'nin diyetle alımının tedaviye katkı sağlayabileceği rapor edilmiştir (Akyol ve ark., 2013). Kanseri hücrelerine sitotoksik etki gösterirken sağlıklı hücrelerde zararlı etki göstermemesi (Chen ve ark., 2005) nedeni ile antimetastatik ajan olarak kullanımı önerilmiştir (Murtaza ve ark., 2014).

KAFE'nin, sitokin ve kemokin üretimini, T hücre proliferasyonunu ve lenfokin üretimini inhibe edebildiği ve inflamatuvar süreci baskılayabileceği bildirilmiştir (Armutçu ve ark., 2015). TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin indüklediği NF- $\kappa$ B aktivasyonunun spesifik inhibitörü olduğu ve bu etkisinin antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkinliğinin moleküler temelini oluşturduğu bildirilmiştir (Natarajan ve ark., 1996; Wang ve ark., 2009). Deneysel bağırsak tıkanması oluşturulan KAFE uygulanan ratlarda proinflamatuvar sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) ve c-reaktif proteinin (CRP) azaldığı, antioksidan parametrelerin arttığı ve tedavi grubunda bakteriyel translokasyonun anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir (Fırat ve ark., 2015). KAFE'nin lokal uygulanmasının lökosit apoptozisini indükleyerek sitokin ve diğer moleküllerin salınımını önlediği ve buna bağlı olarak akut inflamasyonu etkili şekilde baskılayabileceği rapor edilmiştir (Orban ve ark., 2000). Enflamatuvar medyatörlerin üretimi üzerine biyolojik ve farmakolojik özelliklerinin değerlendirildiği çalışmada in vitro lipopolisakkarit (LPS) indüklü TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , nitrik oksit (NO) ve PGE<sub>2</sub> üretimini,

hayvan modelinde doza bağılı olarak plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonunu ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Jung ve ark., 2008).

Günümüzde dental alanda KAFE uygulaması ile yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Propolisin fraktür iyileşmesindeki pozitif etkisinin x-ray, dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA) ve histopatolojik bulgularla desteklendiği bir çalışmada bu etkinin, içeriğindeki KAFE'nin antioksidan özelliğinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Güney ve ark., 2011). Propolisteki KAFE etkinliğini araştıran bir çalışmada içeriğinde KAFE bulunan propolis grubunun belirgin derecede daha etkin antioksidan olduğu gösterilmiştir (Russo ve ark., 2002). KAFE içeren ve içermeyen propolis ve yalnızca KAFE uygulamanın antienflamatuvar etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada KAFE içeren propolis ve yalnızca KAFE uygulamanın antienflamatuvar etkinlik gösterdiği, KAFE içermeyen propolisin ise antienflamatuvar özellik göstermediği bildirilmiştir. Yalnızca KAFE uygulanan grup ve KAFE içeren propolis uygulanan grup karşılaştırıldığında ise yalnızca KAFE uygulamasının daha etkili antienflamatuvar olduğu rapor edilmiştir (Borrelli ve ark., 2002). Diş çekim soketine ve palatinal mukoza defektine uygulanan KAFE'nin iyileşmeyi belirgin derecede arttırdığı gösterilmiştir (Gunay ve ark., 2014). Ağız gargaralarının cerrahi yaraların iyileşmesine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada KAFE (propolis) içeren ağız gargarasının intrabukkal cerrahi yara iyileşmesine yardım ettiği, ağrı kesici ve antienflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmiştir (Magro-Filho ve de Carvalho 1994).

#### **2.4. Lipopolisakkarit ve Deneysel Periodontitis Modeli**

Bir bakterinin hastalığa sebep olan özelliklerine 'virülans faktörleri' denilmektedir. Bu özellikler bakterinin konağa girişini, yayılmasını ve bakterinin konak dokularında direkt ve indirekt olarak hasar oluşturabilmesini sağlamaktadır (Yoshimura ve ark., 1997). *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) proteaz, lipopeptit, fimbria, hemaglutinin ve LPS gibi hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan, oral mikrobiyal topluluğu değiştirebilen birçok virülans faktörüne sahiptir (Bostancı ve Belibasakis, 2012). Bu faktörler, bakterinin kolonizasyonunda, invazyonunda, yerleşmesinde, konağa persistansında, immün sistemin yıkıcı mekanizmalarından kaçışında, koruyucu periodontal dokuların yıkımında etkilidir (Amano ve ark., 1999; Holt ve ark., 1999). LPS, gram-negatif bakterilerin dış yüzeyini oluşturan en önemli makromoleküldür; proenflamatuvar sitokinler, antienflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin indükleyicisi

olarak değerlendirilmektedir (Sun ve ark., 2010; Tanabe ve ark., 2014). *P. gingivalis* LPS'sinin IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  salınımını (Takeshita ve ark., 1999; Wang ve Ohura, 2002), NF- $\kappa$ B'nın hücrel ve nükleer yoğunluğunu belirgin derecede arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Fu ve ark., 2015). İmmün miyeloit hücreler tarafından üretilen sitokinler aracılığı ile T-hücre aktivasyonunu değiştirerek kazanılmış bağışıklık üzerinde de etki gösterebildiği bildirilmiştir (Pulendran ve ark., 2001). Periodonsiyumda enflamatuvar ve immün cevabı uyardığı bilinmektedir (Madianos ve ark., 2005). Dişeti bağ dokusuna penetre olma yeteneğine sahiptir ve kemik yıkımına sebep olan lokal immün cevap oluşturmaktadır. Periodonsiyumda proenflamatuvar sitokin salınımını arttırdığı in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (Schwartz ve ark., 1972; Dumitrescu ve ark., 2004; Herath ve ark., 2011). Proenflamatuvar sitokinlerin ve MMP gibi konak enzimlerinin salınımının artması sonucunda periodontal doku yıkımı gerçekleşmektedir. Bu nedenle, son dönemde çeşitli bakteri türlerine ait LPS'ler deneysel periodontitis çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Tsai ve ark., 2005; Borges ve ark., 2007; Amer ve ark., 2011).

Fareler, sıçanlar, rice sıçanları, hamsterlar, vizonlar, kediler, köpekler ve insan olmayan primatlar gibi hastalığa yatkın pek çok hayvan türü tanımlanmıştır. Primatlar insan ile yakın ilişki ve benzerliklerinden dolayı en iyi modeldir, ancak çok masraflı olmaları nedeniyle yaygın kullanımları söz konusu değildir. Sıçanlar ise deneysel periodontal hastalık çalışmalarında; molar diş bölgelerinin periodontal yapısının insanlara benzerlik göstermesi, maliyetlerinin ucuz olması, temin edilebilmelerinin, beslenmelerinin ve üretilmelerinin kolay olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Sıçanlarda oluşturulan deneysel periodontal hastalığın klinik ve histopatolojik bulgularının insanlarınkine oldukça benzer olduğu rapor edilmiştir (Bjornsson ve ark., 2003; Ekuni ve ark., 2003; Kuhr ve ark., 2004). Deneysel periodontitis çalışmalarında en sık kullanılan sıçan türü sprague-dawley'lerdir (Klausen, 1991). Periodontal hastalık sıçanlarda, kendiliğinden yerleşmiş olan mikrobiyal dental plağa (Jordan, 1971) veya ortama sunulan bakteri toksinlerine (Buduneli ve ark., 2004) bağlı olarak, plak birikimini arttıracak diyet kullanımı (Robinson ve ark., 1991) veya molarlarının servikaline ligatür yerleştirilmesi (Kuhr ve ark., 2004) ile oluşturulabilmektedir.

### 3. MATERYAL METOT

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 23.07.2014 tarihli ve 2014/29 numaralı kararı ile hayvan hakları ve deney etiği açısından uygun bulundu. Çalışma TÜBİTAK tarafından 115S805 proje numarası ile desteklendi.Çalışmanın deneysel aşamaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Hayvan bakımı ve kullanımında uluslararası etik kurallar göz önünde bulunduruldu. Çalışmanın biyokimyasal analiz aşaması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

#### 3.1. Çalışma Protokolü

Çalışmada 40 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 6-7 haftalık, ağırlıkları 125-150 g arasında değişen, sistemik olarak sağlıklı ve daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış sıçanlar arasından rastgele seçildi. Sıçanlar; 22±1°C sıcaklık ve %50 nem oranında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık bir ortamda, her bir plastik kafese tek sıçan yerleştirilerek muhafaza edildi ve sıçan yemi verilerek beslenme şartları standardize edildi.

#### 3.2. Deney Grupları

Deneyisel çalışmanın ilk aşamasında 40 adet erkek sıçandan 10 adeti rastgele seçilerek kontrol grubu (*Grup A*) olarak belirlendi. Bu gruba deney sonuna kadar herhangi bir işlem uygulanmadı. LPS ile deneysel periodontitis oluşturulan grup *Grup B*; LPS ile deneysel periodontitis oluşturulan ve 28 gün 5µmol/kg/gün KAFE (CAPE, caffeic acid phenethyl ester, C8221, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) uygulanan grup *Grup C*; LPS ile deneysel periodontitis oluşturulan ve 28 gün 10µmol/kg/gün KAFE uygulanan grup *Grup D* olarak belirlendi.

##### 3.2.1. Deneyisel Periodontitis Oluşturulması

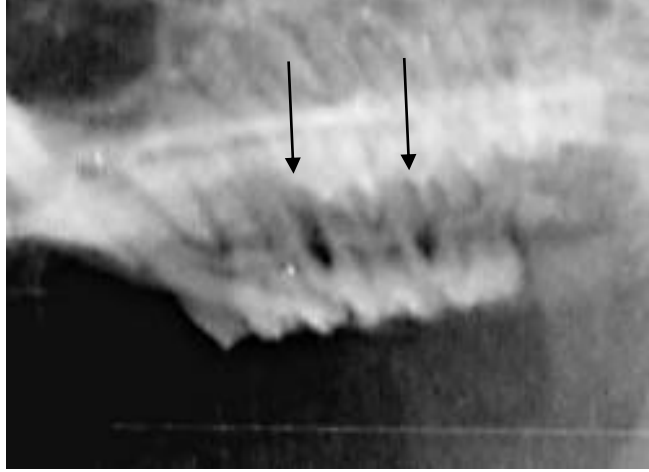
Deneyisel periodontitis oluşturulması planlanan 30 adet sıçan, her grupta 10 adet olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı. Deneyisel periodontitis, ticari olarak satın alınan ve *P. gingivalis* bakterisinden elde edilen LPS (Invivogen, San Diego, CA, ABD)

enjeksiyonu ile oluşturuldu. LPS üretici firma direktifleri doğrultusunda endotoksinden arındırılmış 1 ml distile suyun, LPS içeren peletin bulunduğu flakona aktarılmasını takiben vortekslenmesiyle kullanıma hazır hale getirildi. Deneysel periodontitis oluşturulacak sıçanlarda, öncelikle 75-100 mg/kg ketamin-HCl'nin intraperitoneal (i.p.) yolla verilmesiyle sistemik anestezi sağlandı. Üst sol 1.molar diş ve üst 2. molar dişlerin interproksimal birleşim yeri hizasında dişeti altına 30 kalibre iğne uçlu insülin şırıngasıyla (BD Company, New Jersey, ABD) her seferde bukkal ve palatinal bölgeye 10µl'lik enjeksiyonlar yapıldı (Şekil 2). Enjeksiyon işlemi 48 saat aralıklarla toplam 3 kez tekrarlandı (Lütfioğlu ve ark., 2010; Kador ve ark., 2011).



**Şekil 2.** Dişetine LPS enjeksiyonu

Deneysel periodontitis oluşumu, son enjeksiyonu takip eden 24. günde 30 adet sıçanın klinik (dişetinde enflamasyon, dişeti çekilmesi) ve radyolojik bulguları değerlendirilerek doğrulandı (Şekil 3).

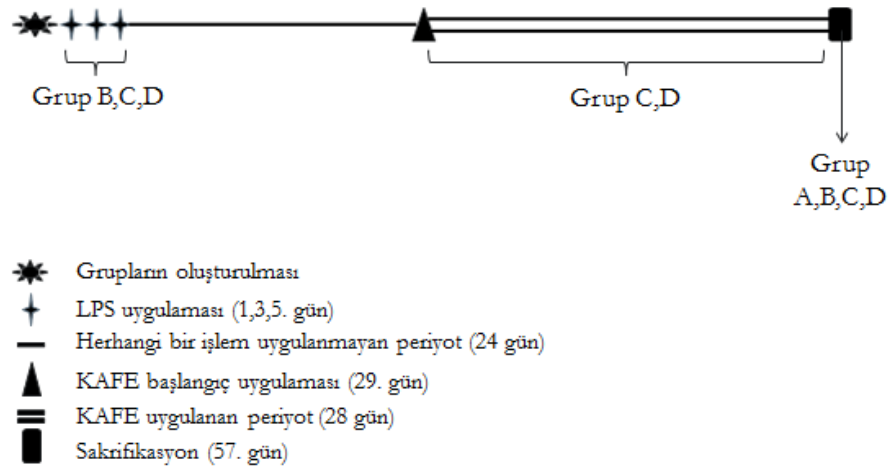


Şekil 3. Son enjeksiyonu takip eden 24. günde alınan radyograf

### 3.2.2. KAFE Uygulaması

KAFE, etanol içerisinde çözüldü ve sonraki seyreltmeler serum fizyolojik (% 0.9 NaCl, w/v) kullanılarak yapıldı. Sıçanların ağırlıkları hassas tartı (Precisa XB 220 A, Dietikon, İsviçre) ile tartılarak belirlendi. Doz miktarı sıçanların ağırlıklarına göre ayarlandı.

Deneyel periodontitis oluşturulan Grup B'ye deney sonuna kadar herhangi bir işlem uygulanmadı. Grup C'ye i.p. olarak 5µmol/kg/gün KAFE; Grup D'ye i.p. olarak 10µmol/kg/gün KAFE 28 gün boyunca uygulandı (Sud'ina ve ark., 1993; Fitzpatrick ve ark., 2001; Larki-Harchegani ve ark., 2013) (Şekil 4). Tüm gruplar deney sonunda (57. gün) sakrifiye edildi.



Şekil 4. Deney zaman çizelgesi

### **3.3. Örneklerin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması**

Deneyin 57. gününde tüm sıçanlardan derin anestezi altında kardiyak ponksiyon yöntemi ile kan örnekleri alındı. Ardından sıçanlar sakrifiye edildi. Test tüpleri oda ısısında 3000 xg.de 10 dk. santrifüj (Shimadzu UV160A, SNo: 28006648, JAPAN) edildi ve serum örnekleri ayrılarak -80 °C de buzdolabında saklandı. Daha sonra dişeti dokuları alındı ve uygun fosfat tampon solüsyonu (PBS, 10mM, pH 7.2) içinde homojenizatörde homojenize edildi. Doku örnekleri +4°C'de 220V da 1 dk boyunca sonikasyona (Fisher, Sonic Dismembrator; Mosel 300) tabi tutulduktan sonra -80 °C' de buzdolabında saklandı. Çalışma gününde oda ısısına getirilen homojenatlar +4°C'de 14000 rpm.de 5 dk. santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler için kullanıldı.

### **3.4. Dişeti Dokusu Homojenatları Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

Doku homojenatlarında her bir numunenin protein miktarı Lowry metodu ile tespit edildi, biyokimyasal değerler mg.protein başına verildi. Lowry metodu, alkali şartlar altında peptid nitrojenlerin bakır(II) iyonları ile reaksiyonu ve aromatik aminoasitlerin bakır katalizli oksidasyonu ile ortama eklenen Folin-Ciocalteu fosfomolibdik fosfotungstikasit reaktifinin heteropolimolibden mavisine indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Lowry ve ark., 1951).

### **3.5. IL-1 $\beta$ Seviyelerinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi**

IL-1 $\beta$  konsantrasyonları ticari olarak piyasada bulunan eBioscience Rat IL-1 $\beta$  Platinum ELISA kit (eBioscience An Affymetrix Company, Cat No. BMS630/ BMS630 TEN, Vienna, Austria) (Şekil 5) ile sandviç metot enzim immunoassay yöntemi ile çalışıldı.

Tüm çalışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında bekletildi. Liyofilize Rat IL-1 $\beta$  standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 7 adet standart (S1-2000 pg/mL, S2-1000 pg/mL, S3-500 pg/mL, S4-250 pg/mL, S5-125 pg/mL, ve S6-62.5 pg/mL, S7-31.3 pg/mL) hazırlandı. Çalışma sonunda absorbanslar TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm.dalga boyunda okundu.

Numune IL-1 $\beta$  konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve konsantrasyonlar pg/mL olarak ifade edildi. Doku homojenatlarında konsantrasyonlar protein değerlerine oranlandı ve sonuçlar pg/mg.protein olarak verildi. Ortalama interassay CV <% 10, intraassay CV ise <%10 idi. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.

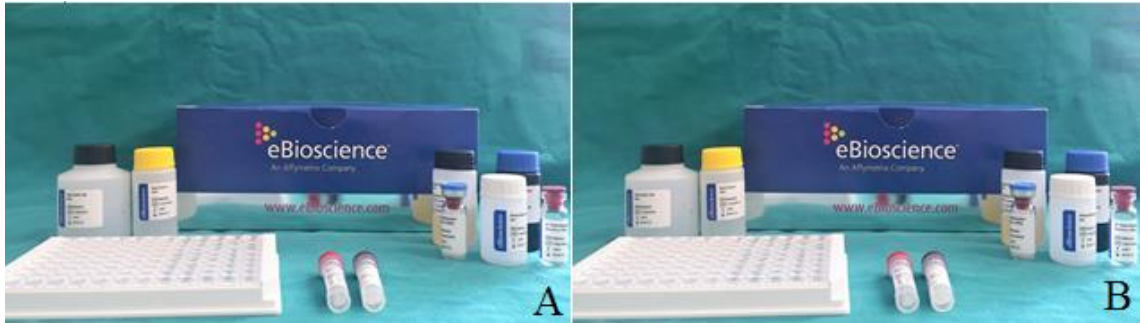
### 3.6. TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi

TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ticari olarak piyasada bulunan eBioscience Rat TNF- $\alpha$  Platinum ELISA kit (eBioscience An Affymetrix Company, Cat No. BMS622/BMS622 TWO/ BMS622 TEN, Vienna, Austria) (şekil 5) ile sandviç metot enzim immunoassay yöntemi ile çalışıldı.

Tüm alışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında bekletildi.

Liyofilize Rat TNF- $\alpha$  standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 7 adet standart (S<sub>1</sub>-2500 pg/mL, S<sub>2</sub>-1250 pg/mL, S<sub>3</sub>-625 pg/mL, S<sub>4</sub>-312.5 pg/mL, S<sub>5</sub>-156.3 pg/mL, ve S<sub>6</sub>-78.1 pg/mL, S<sub>7</sub>-39.1 pg/mL) hazırlandı. Çalışma sonunda TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm.dalga boyunda absorbanslar okundu.

Numune TNF- $\alpha$  konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve konsantrasyonlar ile çarpılarak pg/mL olarak ifade edildi. Doku homojenatlarında konsantrasyonlar protein değerlerine oranlandı ve sonuçlar pg/mg.protein olarak verildi. Ortalama interassay CV <% 10, intraassay CV ise <%5 idi. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.

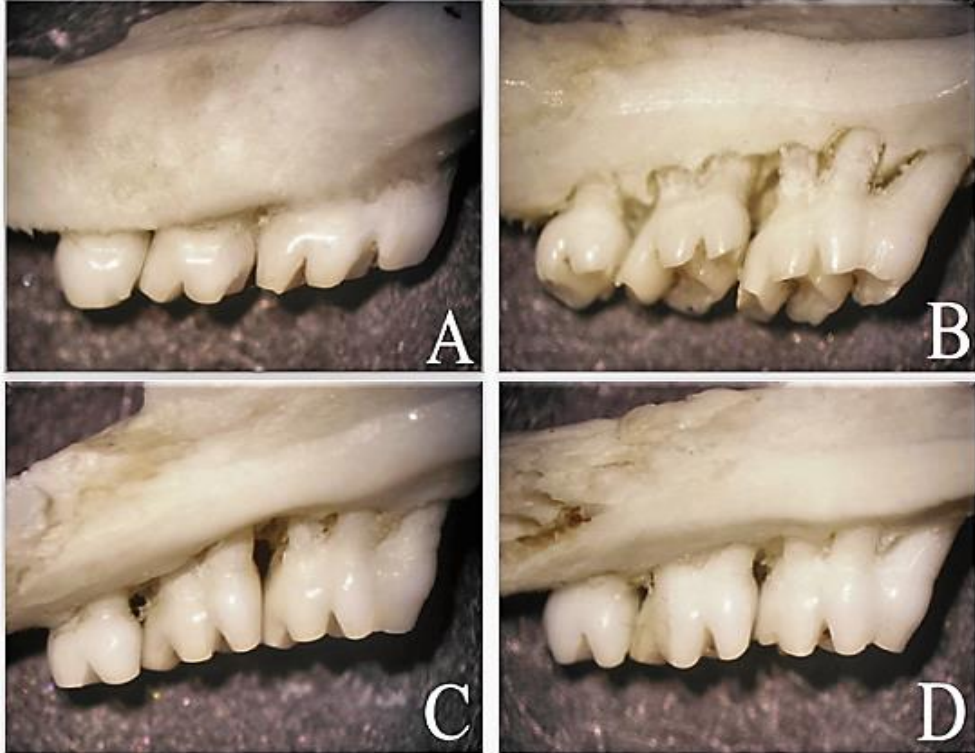


şekil 5. Elisa kitleri **A**:eBioscience Rat IL-1 $\beta$  Platinum ELISA kit **B**: eBioscience Rat TNF- $\alpha$  Platinum ELISA kit



### 3.7. Alveolar Kemik Kaybı Ölçümü

Alveolar kemik kaybı ölçümü için dişeti doku örnekleri alındıktan sonra çeneler 10 dakika kaynatıldı ve yumuşak dokular manuel olarak temizlendi. Kalan yumuşak dokuların uzaklaştırılması amacıyla çeneler 5 dakika oda sıcaklığında 0,2 N NaOH'da yıkandı. Yumuşak dokuları uzaklaştırılmış olan maksilla'da mine-sement birleşimi ve alveolar kret arası vertikal mesafe 18 alandan x40 magnifikasyonda stereo mikroskop (Olympus SZ61 marka, Olympus Opticalco, Japon) kullanılarak ölçüldü. Görüntüler Olympus C-5060 dijital kamera ile alındı (Şekil 6). Ölçümler tek araştırmacı (E.D.) tarafından gerçekleştirildi (Toker ve ark., 2008; Lütfoğlu ve ark., 2010).



Şekil 6. Deney gruplarının morfometrik görüntüleri **A:** Kontrol grubu, **B:** LPS grubu, **C:** 5 µmol/kg KAFE grubu, **D:** 10 µmol/kg KAFE grubu.

### 3.8. İstatiksel Değerlendirme

%95 güç, %5 tip 1 hata, maksimum fark=26.41 ve d=10.04 ile her bir gruba alınması gereken rat sayısı en az 7 olarak belirlendi. Hayvan kayıpları sebebiyle oluşabilecek veri kaybının önüne geçmek amacıyla her bir gruba 10 hayvan dahil edildi.

Veriler IBM SPSS V.23 (Chicago, USA) ile analiz edildi. Verilerin normallik testi Shapiro Wilk ile incelendi. Normal dağılıma uyan değerlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma testlerinden de Tukey HSD kullanıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde sunuldu. p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.



## 4. BULGULAR

Deney süresi boyunca rat kaybı veya herhangi bir komplikasyon yaşanmadı.

### 4.1. Alveolar Kemik Kaybı Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

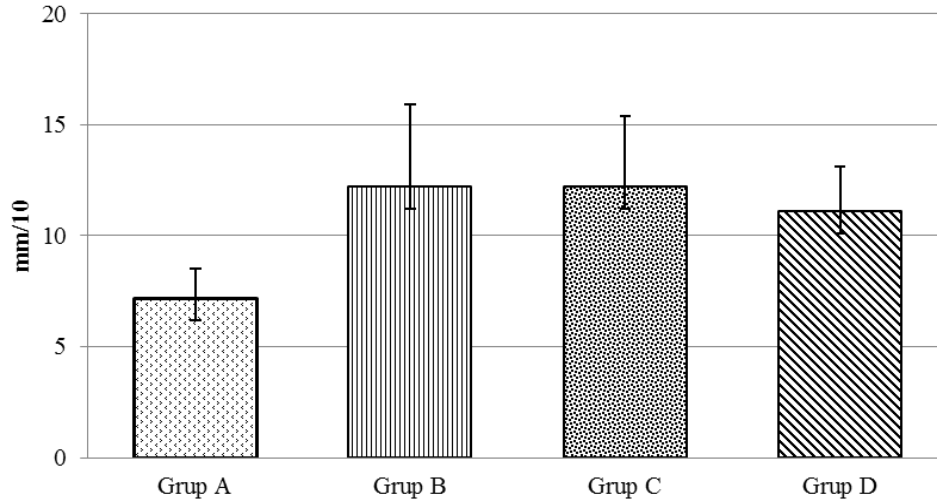
Alveolar kemik kaybı değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu (F=7,5, p=0,001). İkili grup karşılaştırmaları incelendiğinde kontrol grubu (Grup A) alveolar kemik kaybı Grup B, C ve D'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0,05). Grup B,C ve D arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Alveolar kemik kaybı değerleri Tablo 1 ve Şekil 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Alveolar kemik kaybı değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	ortalama ± standart sapma (10 <sup>-1</sup> mm)	Test İstatistiği	p değeri
Kontrol (Grup A)	7,2 ± 1,3 <sup>a</sup>		
LPS (Grup B)	12,2 ± 3,7 <sup>b</sup>	F=7,5	<0,001
KAFE, 5µmol/kg (Grup C)	12,2 ± 3,2 <sup>b</sup>		
KAFE, 10µmol/kg (Grup D)	11,1 ± 2,0 <sup>b</sup>		

F: Tek Yönlü Varyans Analizi test istatistiği

a,b: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur(Tukey HSD testi sonucunda)(p<0,05)



**Şekil 7.** Alveolar kemik kaybı değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

#### 4.2. Dişeti IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Değerlendirilmesi

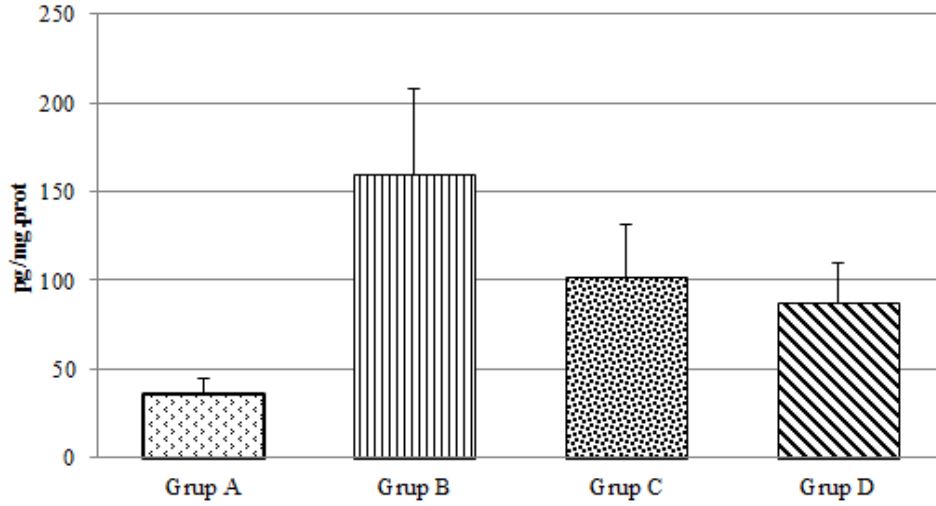
Dişeti IL-1 $\beta$  seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu (F=28,4, p<0,001). Grup B'ye ait dişeti IL-1 $\beta$  seviyesi diğer gruplara göre daha yüksek bulundu (p<0,05). Bunu sırasıyla Grup C, D ve A takip etti. Dişeti IL-1 $\beta$  seviyesinin Grup A'da en düşük olduğu belirlendi (p<0,05). Grup C ve D arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (p>0,05) (Tablo 2, Şekil 8).

**Tablo 2.** Dişeti IL-1 $\beta$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	ortalama $\pm$ standart sapma (pg/mg.prot)	Test İstatistiği	p değeri
Kontrol (Grup A)	36,7 $\pm$ 8,3 <sup>a</sup>	F=28,4	<0,001
LPS (Grup B)	160,2 $\pm$ 47,2 <sup>b</sup>		
KAFE, 5 $\mu$ mol/kg (Grup C)	102,3 $\pm$ 29,4 <sup>c</sup>		
KAFE, 10 $\mu$ mol/kg (Grup D)	88,4 $\pm$ 20,8 <sup>c</sup>		

F: Tek Yönlü Varyans Analizi test istatistiği

a,b,c: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur(Tukey HSD testi sonucunda)(p<0,05)



**Şekil 8.** Dişeti IL-1 $\beta$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

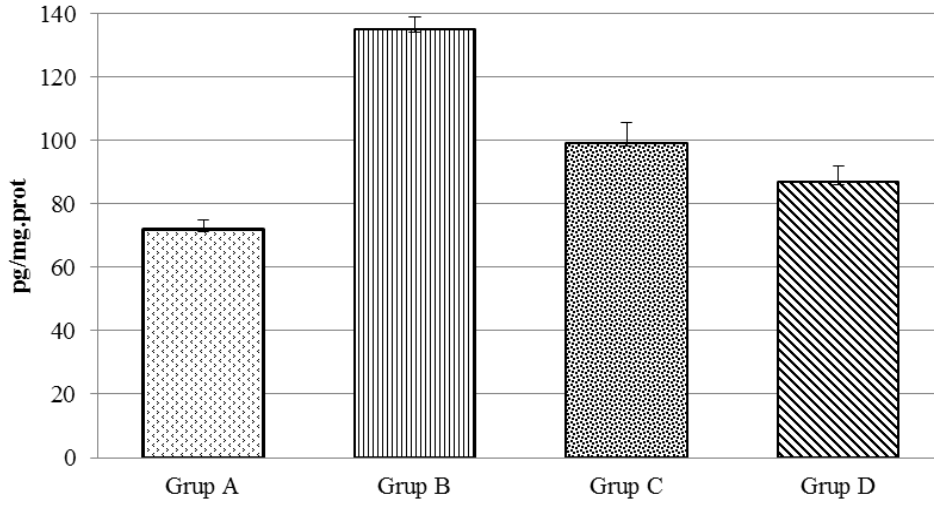
Dişeti TNF- $\alpha$  seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu ( $F=304$ ,  $p<0,001$ ). Grup B'ye ait dişeti TNF- $\alpha$  seviyesinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ). Bunu sırasıyla Grup C, D ve A takip etti. Dişeti TNF- $\alpha$  seviyesinin Grup A'da en düşük olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ). KAFE uygulanan gruplar arasında 10 $\mu$ mol/kg uygulanan gruba (Grup D) ait dişeti TNF- $\alpha$  seviyesinin 5 $\mu$ mol/kg uygulanan gruba (Grup C) göre daha düşük olduğu bulundu ( $p<0,05$ ) (Tablo 3, Şekil 9).

**Tablo 3.** Dişeti TNF- $\alpha$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	ortalama $\pm$ standart sapma (pg/mg.prot)	Test İstatistiği	p değeri
Kontrol (Grup A)	72,1 $\pm$ 3,0 <sup>a</sup>	F=304,0	<0,001
LPS (Grup B)	135,1 $\pm$ 4,1 <sup>b</sup>		
KAFE, 5 $\mu$ mol/kg (Grup C)	99,4 $\pm$ 6,2 <sup>c</sup>		
KAFE, 10 $\mu$ mol/kg (Grup D)	87 $\pm$ 5,0 <sup>d</sup>		

F: Tek Yönlü Varyans Analizi test istatistiği

a,b,c,d: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur (Tukey HSD testi sonucunda)( $p<0,05$ )



Şekil 9. Dişeti TNF- $\alpha$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

#### 4.3. Serum IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Gruplar arası karşılaştırmada serum IL-1 $\beta$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (F=1,1, p=0,377) (Tablo 4).

Tablo 4. Serum IL-1 $\beta$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	ortalama $\pm$ standart sapma (pg/ml)	Test İstatistiği	p değeri
Kontrol (Grup A)	27,8 $\pm$ 13,9		
LPS (Grup B)	35,1 $\pm$ 19,1		
KAFE, 5 $\mu$ mol/kg (Grup C)	25,8 $\pm$ 8,3	F=1,1	0,377
KAFE, 10 $\mu$ mol/kg (Grup D)	26,0 $\pm$ 8,1		

F: Tek Yönlü Varyans Analizi test istatistiği

Gruplar arası karşılaştırmada serum TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (F=2, p=0,127) (Tablo 5).

**Tablo 5.** Serum TNF- $\alpha$  değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	<b>ortalama <math>\pm</math> standart sapma (pg/ml)</b>	<b>Test İstatistiği</b>	<b>p değeri</b>
Kontrol (Grup A)	56,9 $\pm$ 1,1		
LPS (Grup B)	58,9 $\pm$ 3,3		
KAFE, 5 $\mu$ mol/kg (Grup C)	58,5 $\pm$ 1,5	F=2,0	0,127
KAFE, 10 $\mu$ mol/kg (Grup D)	57,5 $\pm$ 1,1		

F: Tek Yönlü Varyans Analizi test istatistiği

## 5. TARTIŞMA

Periodontal hastalık, oral patojenlere karşı oluşan konak immün enflamatuvar cevabın sonucu olarak meydana gelmektedir (Graves, 1999; Kirkwood ve ark., 2007). Hayvan modelleri, in vitro çalışmalardaki yapay ve sınırlı hücre sayısına sahip şartlara göre daha kesin sonuçlar verebilme ve insanlarda görülen karmaşık hücresel faaliyetleri taklit edebilme gibi avantajlara sahiptir (Graves ve ark., 2012). Özellikle fonksiyon kaybı veya kazancı ile ilgili çalışmalarda hedef dokunun alınarak incelenmesindeki etik engeller, bu çalışmaların insanlar üzerinde yapılmasını olanaksız hale getirmektedir (World Medical Association, 2013). Bu nedenle baskın patolojik süreçlerin anlaşılmasında bilimsel kanıtlara ulaşılabilmesi açısından hayvan modelleri büyük önem taşımaktadır (Graves ve ark., 2012). Deneysel periodontitis karbonhidrattan zengin diyet, diş etrafının ligatürlenmesi veya bakteri inokülasyonu ile indüklenmektedir (Klausen, 1991; Struillou ve ark., 2010). Deneysel periodontitis modelinin oluşturulmasında, tekrarlanabilir ve bölgede travma oluşturmayan bir teknik kullanılması gerektiği bildirilmiştir. LPS indüklü deneysel periodontitis modeli direkt ve kolay uygulanabilmektedir, bununla beraber kontrollü ve lokalize bir kemik yıkımına neden olmaktadır (Genco ve ark., 1998; Dumitrescu ve ark., 2004; Liu ve ark., 2008). Ayrıca uyaran miktarı sabit tutulabildiğinden dolayı periodontal hastalık gelişimi için gerekli tetikleyicilerin standardizasyonu da sağlanmış olmaktadır (Nishida ve ark., 2001; Dumitrescu ve ark., 2004; Nakamura ve ark., 2008). LPS, bakterilerin dış membranının esas komponentidir. Dişetinde güçlü immün cevap oluşturduğu rapor edilmiştir (O'Brien ve ark., 2004; Jain ve Darveau, 2010). Dişeti bağ dokusuna penetre olma yeteneğine sahip olduğu ve kemik yıkımına sebep olan lokal immün cevabı oluşturduğu gösterilmiştir (Schwartz ve ark., 1972; Dumitrescu ve ark., 2004). *P. gingivalis*, tamamen eliminasyonunun çok zor olması ve düşük dozlarda dahi patojenite gösterebilmesi (Eick ve Pfister, 2004; Johnson ve ark., 2008) ve insan periodontitis'inin primer etiyolojik mikrobiyal faktörlerinden biri olması nedeniyle tercih edilmektedir (Kador ve ark., 2011). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda *P.gingivalis* LPS indüklü deneysel periodontitis oluşturma metodu tercih edilmiştir. Kullandığımız deneysel periodontitis, Kador ve ark. (2011) yaptığı çalışmadan örnek alınarak haftada 3 kez LPS uygulanması ile oluşturulmuştur ve periodontal yıkım yaptığı morfometrik inceleme ile ispatlanmıştır.



Proenflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin periodontal hastalık patogeneğinde önemli rol oynadıkları rapor edilmiştir (Graves ve ark., 2006; Sorsa ve ark., 2006; Ishikawa, 2007; Mahanonda ve Pichyangkul, 2007). Birçok in vivo ve in vitro çalışmada LPS'nin periodonsiyumda proenflamatuvar sitokin salınımını arttırdığı gösterilmiştir (Choi ve ark., 2011; Herath ve ark., 2011). IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  periodonsiyumdaki hastalık aktivitesindeki etkisi kanıtlanmış sitokinlerdir ve sinerjistik hareket etmektedirler (Graves ve Cochran, 2003). Enflame dişetinde ve periodontitisli bireylerin dişeti oluşu sırasında sağlıklı bireylere göre artmış seviyede bulunmalarından dolayı IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üretiminin periodontal hastalık ilerleyişinde önemli olduğu bildirilmiştir (Honig ve ark., 1989; Rossomando ve ark., 1990; Stashenko ve ark., 1991b; Smith ve ark., 1993). Dişeti dokusundaki enflamatuvar infiltrat, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi birçok proenflamatuvar sitokinin aktivasyonu ile doku ve alveolar kemik yıkımını başlatmaktadır (Assuma ve ark., 1998; Crotti ve ark., 2003). Deneysel periodontitis modellerinde ve periodontitisli bireylerde yapılan çalışmalarda artmış IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyesi aktif periodontal hastalıkla ilişkilendirilmiş ve seviyelerinin periodontal tedavi sonrasında anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir (Stashenko ve ark., 1991a; Smith ve ark., 1993; Rossomando ve ark., 1990; Engebretson ve ark., 2002; Iwamoto ve ark., 2003). Deneysel periodontitiste IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  inhibisyonunun doku yıkımı ve enflamasyonu, bağ doku atışman kaybını, alveolar kemik yüksekliğini belirgin derecede azalttığı ve antagonistlerinin hastalık sürecinin engellenmesinde potansiyel tedavi şekli olabileceği bildirilmiştir (Assuma ve ark., 1998; Graves ve ark., 1998; Delima ve ark., 2001; Oates ve ark., 2002). Bu sebeplerden dolayı çalışmamızda KAFE'nin antienflamatuvar etkinliğinin incelenmesinde IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmamızda LPS uygulanan tüm gruplarda (Grup B,C,D) doku proenflamatuvar sitokin seviyeleri alveolar kemik kayıpları ile paralellik göstererek kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bulgularımız bu sitokinlerin biyolojik aktivitelerinin periodontal atışman kaybı, kollajen yıkımı ve alveolar kemik rezorpsiyonu gibi periodontal yıkımlarla direkt ilişkide olduğunu rapor eden önceki çalışmalarla uyumludur (Stashenko ve ark., 1991a; Ishihara ve ark., 1997; McGee ve ark., 1998). Deneysel periodontitisin serum sitokin seviyelerinde değişikliğe neden olmadığı gösterilmiş ve düzeylerinin periodontitis varlığı veya şiddetini yansıtmadığı rapor edilmiştir (Chen ve ark., 1997; Gorska ve ark., 2003; Aral ve ark. 2015).

Sonuçlarımız önceki çalışmalarla uyumlu olarak deneysel periodontitis oluşturulan gruplar (Grup B,C,D) ve kontrol grubu serum sitokin seviyeleri arasında farklılık göstermemiştir. Bu sonuçlar periodontal hastalık varlığı veya şiddetinin incelendiği çalışmalarda serum sitokin seviyelerinin kullanılmayacağını düşündürmektedir.

Periodontitiste yumuşak ve sert doku yıkımı esas olarak patojenik bakteriyel plağın oluşturduğu aşırı konak immün enflamatuvar cevabın sonucu olarak meydana gelmektedir (Preshaw ve Taylor, 2011). Geleneksel tedavi yaklaşımları esas olarak periodontal ceplerdeki patojenik bakteri seviyesini azaltmayı amaçlayan diş temizliği, subgingival diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme ve titiz oral hijyeni içermektedir (Heitz-Mayfield, 2009). Bununla birlikte bakterilerin tamamını uzaklaştırmak mümkün olmadığından geleneksel tedaviye ek olarak lokal ve sistemik antibiyotikler de kullanılabilir (Herrera ve ark., 2002; Greenstein, 2006; Bartold ve Van Dyke, 2013). Periodontitiste doku yıkımıyla sonuçlanan enflamatuvar sürecin tedavisindeki bir başka önemli strateji ise çeşitli konak modülatör ajanların kullanımınıdır (Salvi ve Lang, 2005; Kantarcı ve ark., 2006). Konak modülasyonu tedavisi, bakterilere karşı oluşan konağın korunma mekanizmalarının desteklenmesi veya oluşan enflamasyonun kontrol altına alınmasını amaçlayan yaklaşımı ifade etmektedir (Kantarcı ve ark., 2006). Konak modülasyonunun enflamatuvar hastalıklarda tedavi sonuçlarını geliştirebileceği, hastalık sürecini yavaşlatabileceği, periodontal dokuların kaybını azaltabileceği ve hatta periodontitis gelişimine karşı koruyucu olabileceği kabul edilmektedir (The American Academy of Periodontology, 1999; Gulati ve ark., 2014). Konak modülasyonu amacıyla NSAID'ler, bisfosfonatlar, tetrasiklinler ile çalışmalar yapılmış olup sahip oldukları yan etkilerinden dolayı periodontitis tedavisinde kullanımları mümkün olmamıştır (Herrera ve ark., 2002) ve daha az yan etkiye sahip olduğu düşünülen antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkinliğe sahip doğal ajanlara olan ilgi artmıştır (Plaeger, 2003; Kim ve ark., 2004).

Çeşitli doğal ajanların proenflamatuvar medyatör üretimini kontrol altına alabileceği böylelikle enflamatuvar süreci yönetebileceği rapor edilmiştir (Spelman ve ark., 2006; Deore ve ark., 2014). Doğal antienflamatuvar ilaçların; kimyasal ajanlara oranla daha güvenli ve kolay ulaşılabilir olması, sistemik toksisiteye neden olmaması, düşük maliyeti nedeniyle dünyada kullanımı hızla artmaktadır (Soeken ve ark., 2003; Agarwal ve Raju, 2006; Kumar ve ark., 2013). Antienflamatuvar özelliğe sahip çeşitli

doğal ajanların periodontitis gibi enflamatuvar hastalıklar üzerine etkilerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (Eisenberg ve ark., 1998; Agarwal ve ark., 2012). Periodontal hastalık tedavisine ek olarak septil bitki preparasyonu kullanımının değerlendirildiği bir çalışmada gingival indeks skorlarının geliştirilmesine, cep kanamasında ve cep derinliğinde ve klinik ataşman seviyesinde azalmaya yardımcı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışma grubunun DOS CRP seviyesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Güvenli olması, periodontal tedavi sonuçları üzerine olumlu etkisi sebebiyle mekanik periodontal tedaviye yardımcı olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Deore ve ark., 2014). Periodontitis tedavisindeki etkinliği değerlendirilen bir başka yeni doğal kombine formül 5 farklı bitkiden oluşan PerioH-035'tir. Deneysel periodontitis üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada lokal uygulamasının alveolar kemik rezorpsiyonunu azalttığı, periodontal doku bütünlüğünü koruduğu, dişeti dokusundaki MMP-9 seviyesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlara dayalı olarak periodontal hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde kullanılabilceği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2015).

Propolis, arılar tarafından tomurcuk ve bitkilerin eksudalarından toplanan, arı enzimleri, polen ve yapıştırıcı karışımı rezinöz bir materyaldir (Sforcin, 2016). Antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, antitümör ve antienflamatuvar özelliklerinden ve yan etki göstermeden iyileşmeyi hızlandırdığından dolayı geniş bir kullanım alanına sahiptir (Moreno ve ark., 2000; Al-Shaher ve ark., 2004; Song ve ark., 2008; Sforcin, 2016). Propolisin antienflamatuvar etkinliğinin periodontitis oluşturulan ratlarda lokal ve sistemik parametrelerle incelendiği bir çalışmada, 21 gün süreyle 100 mg/kg uygulandığında alveolar kemik kaybında belirgin derecede azalmaya neden olduğu; plazma IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve MMP-8 seviyelerinin çalışma ve kontrol grupları arasında fark göstermediği rapor edilmiştir (Aral ve ark., 2015). Alveolar kemik kaybı üzerindeki etkisinin histolojik ve morfometrik olarak değerlendirildiği çalışmada periodontitis oluşturma protokolü ile eşzamanlı uygulanan 100 ve 200 mg/kg propolis doza bağlı olarak alveolar kemik kaybında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Toker ve ark., 2008). Periodontal tedavi sonucuna etkisinin klinik ve mikrobiyolojik parametrelerle değerlendirildiği çalışmada; mekanik tedaviye ek olarak kullanılan propolisin tedavi sonuçlarını olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Gebaraa ve ark., 2003; Coutinho, 2012; Nehal ve ark., 2014; Sanghani ve ark., 2014). Kronik periodontitisli hastalarda

propolis içeren diş macununun oral hijyene ek olarak kullanıldığında plak miktarında belirgin azalmaya, klinik parametrelerde anlamlı derecede iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2015).

Propolisin farmakolojik özelliklerinin içeriğindeki KAFE'den kaynaklandığını rapor eden birçok çalışma bulunmaktadır (Burdock, 1998; Banskota ve ark., 2001; Russo ve ark., 2002; Kumar ve ark., 2015). Propolisin antienflamatuvar etkinliğinin J774 makrofajlarda incelendiği bir çalışmada KAFE içeren ve içermeyen propolis ve KAFE gruplarının AA veya LPS indüklü PGE<sub>2</sub> üretimine olan etkisi değerlendirilmiştir. KAFE içeren propolis ve KAFE'nin PGE<sub>2</sub> üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir. KAFE içeren ve içermeyen propolis karşılaştırıldığında KAFE içeren propolisin içermeyene oranla 10 kat daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Rossi ve ark., 2002). KAFE içeren ve içermeyen propolis ve KAFE gruplarının antienflamatuvar etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada akut enflamatuvar model gruplarına 10-60 mg/kg dozajında KAFE, 100-600 mg/kg dozajında KAFE içeren ve içermeyen propolis i.p. uygulanmıştır. Kronik enflamatuvar modelde ise KAFE 30 mg/kg, KAFE içeren ve içermeyen propolis ise 300 mg/kg dozajında oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. KAFE içermeyen propolisin çalışılan akut enflamatuvar modellerde antienflamatuvar etkinlik göstermediği, KAFE ve KAFE içeren propolisin doza bağlı olarak enflamasyonda belirgin azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Yalnızca KAFE'nin KAFE içeren propolise oranla anlamlı derecede daha etkili olduğu bildirilmiştir. Kronik enflamasyon modelinde KAFE içeren propolis ve KAFE'nin artiriti azaltırken KAFE içermeyen propolisin enflamasyon seyrinde artrit kontrol grubuna oranla herhangi bir değişikliğe neden olmadığı rapor edilmiştir (Borrelli ve ark., 2002).

KAFE, arı balı propolisinin fenolik aktif bileşenlerinden biridir. Antienflamatuvar (Michaluart ve ark., 1999), antioksidan (Chen ve Ho, 1997), immünomodülatör (Park ve ark., 2008) özelliklerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. KAFE'nin i.p. uygulanmasının gerekli kan konsantrasyona ulaşmasını sağladığı düşünülmektedir (Koksel ve ark., 2006). KAFE'nin toksik etki gösterdiğini bildiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (Noelker ve ark., 2005; Uzar ve ark., 2006). Ayrıca enflamatuvar cevabı azaltırken normal hücrelere zarar vermediği ve sistemik olarak güvenli olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2005; Larki-Harchegani ve ark., 2013; Vilela ve ark., 2015). Antienflamatuvar etkisinin insan oral epitelyal hücrelerde

ve deneysel akut enflamasyon modelinde değerlendirildiği çalışmada in vitro hücre membranından AA salınımını, COX-2 ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Hayvan modelinde 10-100 mg/kg uygulanan KAFE'nin PGE<sub>2</sub> sentezinde ve COX-2 ekspresyonunda doza bağlı olarak azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. 100 mg/kg KAFE'nin COX-2 üretimini belirgin derecede PGE<sub>2</sub> retimini ise tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir (Michaluart ve ark., 1999). KAFE'nin antienflamatuvar etkinliğinin in vitro ve invivo modellerde incelendiği çalışmada; makrofaj hücre hattında (NR8383), klasik epitelyal hücre hattında (SW620) NF-κβ, TNF-α ve IL-8'i inhibe ettiği; deneysel kolit modelinde 14 gün 30 mg/kg/gün uygulanan KAFE'nin doku IL-1β ve TNF-α seviyesinde belirgin derecede azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Fitzpatrick ve ark., 2001). Karajenan indüklü subkütanöz enflamasyon oluşturulan ratlarda enflamasyon bölgesine lokal olarak uygulanan 40 mg/kg KAFE'nin NF-κβ inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Orban ve ark., 2000). 5 μmol KAFE'nin periodontal hastalık etkeni *Prevotella intermedia* ile indüklenen RAW 264.7 makrofaj hücre hattında IL-1β ve IL-6 salınımını anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (Choi ve ark., 2015). RAW 264.7 makrofaj hücre hattına uygulanan 5 ve 10 μmol KAFE'nin iki konsantrasyonda da IL-1β seviyesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. TNF-α seviyesinde ise 10 μmol konsantrasyonun azalmaya neden olduğu 5 μmol konsantrasyonun değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir (Juman ve ark., 2012). Bağırsak tıkanması oluşturulan ratlara i.p. uygulanan 10 μmol/kg KAFE'nin; biyokimyasal olarak doku IL-1β, IL-6, CRP, TNF-α seviyelerinde, histopatolojik olarak enflamasyon skorlarında belirgin derecede azalmaya, serum antioksidan parametreleri seviyelerinde anlamlı derecede artmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Fırat ve ark., 2015). 14 gün 10 μmol/kg/gün i.p. KAFE uygulandıktan sonra 15.gün tek doz 20 mg/kg LPS ile endotoksik şok oluşturulan ratlarda, KAFE grubu plazma TNF-α, IL-1β, IL-1α, IL-6 seviyesinde belirgin azalma olduğu rapor edilmiştir (Korish ve Arafa, 2011). Diyabet oluşturulan ratlara 60 gün 10μmol/kg/gün i.p. uygulanan KAFE'nin; beyin dokusu TNF-α seviyesinde belirgin derecede azalmaya neden olduğu, NOS'u ise tamamen baskıladığı gösterilmiştir (elik ve Erdoğan, 2008). Farklı bir çalışmada 10 μmol/kg konsantrasyonda insan nötrofillerde ROS üretimini ve xanthine/xanthine oxidase (XO) sistemi tamamen baskıladığı rapor edilmiştir (Sud'ina ve ark., 1993).

KAFE'nin periodontal hastalık tedavi ajanı olarak kullanımının değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle tedavi için belirlenmiş uygun bir doz bulunmamaktadır. Çalışmamızda kullanılan iki doz antienflamatuvar ve antioksidan özelliğinin gösterildiği mevcut çalışmalar (Sud'ina ve ark., 1993; Larki-Harchegani ve ark., 2013) baz alınarak seçilmiştir. Çalışmamızda mevcut çalışmalarla uyumlu olarak, uygulanan dozlarda KAFE'nin dişeti dokusunda TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin seviyelerinde anlamlı derecede azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda doku IL-1 $\beta$  değerlerinde 5 $\mu$ mol/kg ve 10 $\mu$ mol/kg KAFE grupları arasında herhangi bir farklılık olmadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile uyumlu olarak; pulmoner fibrozis oluşturulan ratlarda 5  $\mu$ mol/kg ve 10  $\mu$ mol/kg olmak üzere iki farklı dozda uygulanan KAFE'nin antioksidan ve antienflamatuvar etkisinin değerlendirildiği çalışmada düşük dozda güçlü antioksidan ve antienflamatuvar etkinlik gösterdiği, doz arttığında ilave bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Zaeemzadeha ve ark., 2011). Çalışmamızda KAFE'nin doku TNF- $\alpha$  seviyesinde belirgin derecede azalmaya neden olduğu, 10  $\mu$ mol/kg dozda 5 $\mu$ mol/kg doza oranla daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgularımız ile uyumlu olarak pulmoner fibrozis oluşturulan ratlarda KAFE'nin antienflamatuvar etkinliğinin 5 $\mu$ mol/kg/gün ve 10 $\mu$ mol/kg/gün olmak üzere iki farklı dozda 28 gün i.p. uygulanarak değerlendirildiği çalışmada iki dozun da doku TNF- $\alpha$  seviyesinde düşüşe neden olduğu fakat yüksek doz grubunda anlamlı derecede daha fazla azalma olduğu rapor edilmiştir (Larki-Harchegani ve ark., 2013).

KAFE'nin; LPS indüklü periodontitis rat modelinde değerlendirildiği çalışmamızda dişeti dokusu proenflamatuvar sitokinlerin seviyelerindeki azalma gösterilerek, kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste antienflamatuvar etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Yapılacak ilave ve klinik çalışmalarla immünomodülatör ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sistemik olarak uygulanan KAFE'nin periodontitis oluştuktan sonraki süreçte dişeti dokusundaki enflamasyona etkilerinin morfometrik ve biyokimyasal incelendiği bu çalışmada;

1. LPS uygulanarak deneysel periodontitis oluşturulan gruplarda morfometrik ölçümlerde alveolar kemik kaybının kontrol grubuna göre artmış olduğu gözlemlendi.
2. LPS uygulanarak deneysel periodontitis oluşturulan gruplarda proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyesinin dişetinde biyokimyasal olarak kontrol grubuna göre artmış olduğu görüldü. Bu bulgu kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin olağan seyri olarak değerlendirildi.
3. Gruplar arasında serum IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde herhangi bir fark gözlenmedi. Bu sonuç LPS ile oluşturulan deneysel periodontitisin sistemik bir enflamasyon oluşturmadığı ve lokal olarak uygulandığı bölgede yıkıma neden olduğunu göstermiştir.
4. KAFE uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında alveolar kemik kayıpları açısından fark gözlenmemesi periodontitis oluştuktan sonra uygulanan KAFE'nin kemik yıkımını azaltan bir etki yaratmadığını gösterdi.
5. Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra KAFE uygulanan gruplarda dişeti IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin yalnızca deneysel periodontitis oluşturulan gruba göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu sonuç ile periodontitiste KAFE'nin anti-enflamatuvar etki gösterdiği ve bu etkiye bağlı olarak potansiyel konak modülasyon ajanı olarak kullanılabileceği ortaya kondu.
6. Literatürde anti-enflamatuvar etkinliğinin saptandığı ideal doz bulunmadığından mevcut çalışmalar arasında çalışmamız için en uygun olacağı düşünülen doz temel alındı ve farklı doz grupları çalışmaya eklenemedi.
7. Çalışmamız KAFE'nin periodontal hastalık üzerine anti-enflamatuvar etkisinin incelendiği ilk çalışma olması nedeniyle; tüm periodontal dokular üzerinde etkilerinin incelendiği, LPS ile eşzamanlı uygulanan grupların olduğu, konak modülasyon ajanı olarak FDA onaylı tek ilaç olan SDD ve diğer ajanlarla karşılaştırıldığı, doza bağlı/bağı olmayan, sistemik etkilerinin de incelenebileceği ek çalışmalara ihtiyaç olduğu görüldü.

8. Çalışmamızın diş macunları ve gargaralar gibi oral hijyen ürünlerinin içerisinde antiinflamatuvar ajan olarak kullanılmak üzere yeni ve doğal bir ürün için referans olması beklenmektedir.
9. Türkiye’de bol miktarda bulunan propolisten elde edilerek ülke ekonomisine de katkıda bulunulması hedeflenmektedir.





## KAYNAKLAR

- Agarwal G, Vemanaradhya GG, Mehta DS. Evaluation of chemical composition and efficacy of Chinese propolis extract on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 2012;3(3):256-61. doi: 10.4103/0976-237X.103614.
- Agarwal OP, Raju PS. Global market of herbal products: opportunities for India. In: Abdin MZ, Abroi YP, editors. *Traditional system of medicine*. New Delhi, India: Narosa Publishing House. 2006:5–10.
- Akyol S, Ginis Z, Armutcu F, Ozturk G, Yigitoglu MR, Akyol O. The potential usage of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against chemotherapy-induced and radiotherapy-induced toxicity. *Cell Biochem Funct*. 2012;21:438-443. doi:10.1002/cbf.2817.
- Akyol S, Ozturk G, Ginis Z, Armutcu F, Yigitoglu MR, Akyol O. In vivo and in vitro antineoplastic actions of caffeic acid phenethyl ester (CAPE): therapeutic perspectives. *Nutr Cancer*. 2013;65:515-526. doi:10.1080/01635581.2013.776693.
- Alexander DC, Martin JC, King PJ, Powell JR, Caves J, Cohen ME. Interleukin-1 beta, prostaglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol*. 1996;67(8):755-62.
- Al-Shaher A, Wallace J, Agarwal S, Bretz W, Baugh D. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. *J Endod*. 2004;30(5):359-61.
- Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I, Hamada S. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with fimA genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol*. 1999;37:1426-1430.
- Amer M, Elverdin JC, Fernandez-Solari J, Medina VA, Chiarenza AP, Vacas MI. Reduced methacholine-induced submandibular salivary secretion in rats with experimental periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2011;56:421-427.
- Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Çetin A, Yakan B. Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food*. 2015;18(2):195-201. doi: 10.1089/jmf.2013.3137.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent*. 2000;79:31-35.
- Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). *Exp Ther Med*. 2015;9:1582-1588. doi:10.3892/etm.2015.2346.
- Assuma R, Oates T, Cochran C, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol* 1998; 160: 403–409

- Axelsson P, Lindhe J, Nystrom B. On the prevention of caries and periodontal disease. Results of a 15-year longitudinal study in adults. *J Clin Periodontol.* 1991;18:182-189.
- Ayazi G, Pirayesh M, Yari K. Analysis of interleukin-1beta gene polymorphism and its association with generalized aggressive periodontitis disease. *DNA Cell Biol.* 2013;32:409-413. doi:10.1089/dna.2012.1905.
- Baehni P, Tonetti MS. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action--consensus view 1. Consensus report of the 1st European Workshop on Periodontal Education. *Eur J Dent Educ.* 2010;14(1):2-3. doi:10.1111/j.1600-0579.2010.00619.x.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.* 2001;15:561-571.
- Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000.* 2013;62:203-217. doi:10.1111/j.1600-0757.2012.00450.x.
- Bezerra RM, Veiga LF, Caetano AC, Rosalen PL, Amaral ME, Palanch AC, de Alencar SM. Caffeic acid phenethyl ester reduces the activation of the nuclear factor  $\kappa$ B pathway by high-fat diet-induced obesity in mice. *Metabolism.* 2012;61(11):1606-14. doi: 10.1016/j.metabol.2012.04.006.
- Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res.* 2003;38:543-550.
- Borges IJr, Moreira EA, Filho DW, de Oliveira TB, da Silva MB, Frode TS. Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:45794. doi:10.1155/2007/45794.
- Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia.* 2002;73(1):53-63.
- Bostanci N, Belibasakis GN. Porphyromonas gingivalis: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett.* 2012;333:1-9. doi:10.1111/j.1574-6968.2012.02579.x.
- Botelho MA, Rao VS, Carvalho CB, Bezerra-Filho JG, Fonseca SG, Vale ML, Montenegro D, Cunha F, Ribeiro RA, Brito GA. Lippia sidoides and Myracrodruon urundeuva gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Ethnopharmacol.* 2007;113(3):471-8.
- Brechtel AB, Persson E, Lundgren I, Lerner UH. Kinin B1 and B2 receptor expression in osteoblasts and fibroblasts is enhanced by interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha. Effects dependent on activation of NF-kappaB and MAP kinases. *Bone.* 2008;43(1):72-83. doi:10.1016/j.bone.2008.02.003.
- Brex MC, Frohlicher I, Gehr P, Lang NP. Stereological observations on long-term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol.* 1988;15:621-627.

- Brunsvold MA, Chaves ES, Kornman KS, Aufdemorte TB, Wood R. Effects of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol.* 1992; 63: 825–830.
- Buduneli E, Vardar S, Buduneli N, Berdeli AH, Turkoglu O, Baskesen A, Atilla G. Effects of combined systemic administration of low-dose doxycycline and alendronate on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2004;75:1516-1523. doi:10.1902/jop.2004.75.11.1516.
- Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol.* 1998;36:347-363.
- Cantore S, Mirgaldi R, Ballini A, Coscia MF, Scacco S, Papa F, Inchingolo F, Dipalma G, De Vito D. Cytokine gene polymorphisms associate with microbiological agents in periodontal disease: our experience. *Int J Med Sci.* 2014;11:674-679. doi:10.7150/ijms.6962.
- Cao CF, Sun XP. Herbal medicine for periodontal diseases. *Int Dent J.* 1998;48(3 Suppl 1):316-22.
- Celik S, Erdogan S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects brain against oxidative stress and inflammation induced by diabetes in rats. *Mol Cell Biochem.* 2008;312(1-2):39-46.
- Chan K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere.* 2003;52(9):1361-71.
- Charon JA, Luger TA, Mergenhagen SE, Oppenheim JJ. Increased thymocyte-activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. *Infect Immun.* 1982;38:1190-1195.
- Chen CC, Chang KL, Huang JF, Huang JS, Tsai CC. Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kao Hsiung Journal of Medical Sciences.* 1997;13:609–617.
- Chen JH, Ho CT. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J Agric Food Chem.* 1997;45:2374–2378.
- Chen MF, Keng PC, Lin PY, Yang CT, Liao SK, Chen WC. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation in vitro and in vivo. *BMC Cancer.* 2005;5:158.
- Chen YJ, Shiao MS, Wang SY. The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. *Anticancer Drugs.* 2001;12:143-149.
- Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol 2000.* 2000;24:9-27.
- Choi EY, Choe SH, Hyeon JY, Choi JI, Choi IS, Kim SJ. Effect of caffeic acid phenethyl ester on *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of proinflammatory mediators in murine macrophages. *J Periodontal Res.* 2015;50(6):737-747.

- Choi YG, Seok YH, Yeo S, Jeong MY, Lim S. Protective changes of inflammation-related gene expression by the leaves of *Eriobotrya japonica* in the LPS-stimulated human gingival fibroblast: microarray analysis. *J Ethnopharmacol* 2011;135:636–645.
- Coban S, Yildiz F, Terzi A, Al B, Ozgor D, Ara C, Polat A, Esrefoglu M. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against cholestatic liver injury in rats. *J Surg Res*. 2010;159:674-679. doi:10.1016/j.jss.2008.10.023.
- Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008;79:1569-1576. doi:10.1902/jop.2008.080233.
- Coutinho A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment. A clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res*. 2012;23:294-99.
- Couzin J. Drug safety. Withdrawal of Vioxx casts a shadow over COX-2 inhibitors. *Science*. 2004;306:384-385. doi:10.1126/science.306.5695.384.
- Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, Ahern MJ, Haynes D. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2003;38:380–387.
- da Cunha FM, Duma D, Assreuy J, Buzzi FC, Niero R, Campos MM, Calixto JB. Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. *Free Radic Res*. 2004;38:1241-1253. doi:10.1080/10715760400016139.
- Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, Graves DT. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001;28:233-240.
- Deore GD, Gurav AN, Patil R, Shete AR, Naiktari RS, Inamdar SP. Herbal anti-inflammatory immunomodulators as host modulators in chronic periodontitis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *J Periodontal Implant Sci*. 2014;44(2):71-8. doi: 10.5051/jpis.2014.44.2.71.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87:2095-2147.
- Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol*. 2007;37(1):34-45. doi:10.1002/eji.200737772.
- Ding C, Ji X, Chen X, Xu Y, Zhong L. TNF- $\alpha$  gene promoter polymorphisms contribute to periodontitis susceptibility: evidence from 46 studies. *J Clin Periodontol*. 2014;41(8):748-59. doi: 10.1111/jcpe.12279.
- dos Santos JS, Monte-Alto-Costa A. Caffeic acid phenethyl ester improves burn healing in rats through anti-inflammatory and antioxidant effects. *J Burn Care Res*. 2013;34:682-688. doi:10.1097/BCR.0b013e3182839b1c.
- Dumitrescu AL, Abd-El-Aleem S, Morales-Aza B, Donaldson LF. A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. *J Clin Periodontol*. 2004;31:596-603. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00528.x.

- Eick S, Pfister W. Efficacy of antibiotics against periodontopathogenic bacteria within epithelial cells: an in vitro study. *J Periodontol.* 2004;75:1327–1334. [PubMed: 15562909]
- Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990–1997: results of a follow-up national survey. *J Am Med Assoc.* 1998;28:1569–1575.
- Ekuni D, Yamamoto T, Yamanaka R, Tachibana K, Watanabe T. Proteases augment the effects of lipopolysaccharide in rat gingiva. *J Periodontal Res.* 2003;38:591-596.
- Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylas H. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2004;75:106-115. doi:10.1902/jop.2004.75.1.106.
- Engbretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2002;29:48-53.
- Ferrante A, Martin AJ, Bates EJ, Goh DH, Harvey DP, Parsons D, Rathjen DA, Russ G, Dayer JM. Killing of *Staphylococcus aureus* by tumor necrosis factor-alpha-activated neutrophils. The role of serum opsonins, integrin receptors, respiratory burst, and degranulation. *J Immunol.* 1993;151:4821-4828.
- Firat U, Senol S, Gelincik I, Kapan M, Tokgoz O, Tekin R, Evliyaoglu O, Onder A, Alp H. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on bacterial translocation and inflammatory response in an experimental intestinal obstruction model in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2015;19:1907-1914.
- FitzGerald GA, Patrono C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J Med.* 2001;345:433-442. doi:10.1056/nejm200108093450607.
- Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;299:915-920.
- Flemmig TF, Rumetsch M, Klaiber B. Efficacy of systemically administered acetylsalicylic acid plus scaling on periodontal health and elastase-alpha 1-proteinase inhibitor in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 1996;23:153-159.
- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):32-8.
- Frodge BD, Ebersole JL, Kryscio RJ, Thomas MV, Miller CS. Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. *J Periodontol.* 2008;79(10):1913-9. doi: 10.1902/jop.2008.080070
- Fu E, Tsai MC, Chin YT, Tu HP, Fu MM, Chiang CY, Chiu HC. The effects of diallyl sulfide upon *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulated proinflammatory cytokine expressions and nuclear factor-kappa B activation in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2015;50:380-388. doi:10.1111/jre.12217.

- Gaspersic R, Stiblar-Martincic D, Osredkar J, Skaleric U. Influence of subcutaneous administration of recombinant TNF-alpha on ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2003;38(2):198-203.
- Gebaraa EC, Pustiglioni AN, de Lima LA, Mayer MP. Propolis extract as an adjuvant to periodontal treatment. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(1):29-35.
- Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:112-43.
- Genco CA, Van Dyke T, Amar S. Animal models for *Porphyromonas gingivalis*-mediated periodontal disease. *Trends Microbiol.* 1998;6(11):444-9.
- Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol.* 1992;63:338-355. doi:10.1902/jop.1992.63.4s.338.
- Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol.* 2008;79:1592-1600. doi:10.1902/jop.2008.080174.
- Golub LM, McNamara TF, Ryan ME, Kohut B, Blieden T, Payonk G, Sipos T, Baron HJ. Adjunctive treatment with subantimicrobial doses of doxycycline: effects on gingival fluid collagenase activity and attachment loss in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001;28:146-156.
- Golub LM, Suomalainen K, Sorsa T. Host modulation with tetracyclines and their chemically modified analogues. *Curr Opin Dent.* 1992;2:80-90.
- Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30:1046-1052. doi:10.1046/j.0303-6979.2003.00425.x.
- Graves D, Delima A, Asusuma R, Amar S, Oates T, Cochran D. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol.* 1998;69:1419-1425.
- Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2008;79(8):1585-1591.
- Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74:391-401.
- Graves DT, Kang J, Andriankaja O, Wada K, Rossa C Jr. Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. *Front Oral Biol.* 2012;15:117-32. doi: 10.1159/000329675.
- Graves DT, Liu R, Alikhani M, Al-Mashat H and Trackman PC. Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis impact on periodontal pathology. *J Dent Res.* 2006;85:15-21.
- Graves DT. The Potential Role of Chemokines and Inflammatory Cytokines in Periodontal Disease Progression. *Clin Infect Dis.* 1999;28(3):482-90.

- Greenstein G. Local drug delivery in the treatment of periodontal diseases: assessing the clinical significance of the results. *J Periodontol.* 2006;77:565–578.
- Gulati M, Anand V, Govila V, Jain N. Host modulation therapy: An indispensable part of perioceutics. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18(3):282-8. doi: 10.4103/0972-124X.134559.
- Gunay A, Arpag OF, Atilgan S, Yaman F, Atalay Y, Acikan I. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Des Devel Ther.* 2014;8:2069-2074. doi:10.2147/dddt.s67623.
- Guney A, Karaman I, Oner M, Yerer MB. Effects of propolis on fracture healing: an experimental study. *Phytother Res.* 2011;25:1648-1652. doi:10.1002/ptr.3470.x
- Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5:78-111.
- Hawkey CJ. Gastroduodenal problems associated with non-steroidal, anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Scand J Gastroenterol.* 1993;200:94-95.
- Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res.* 1993;28(4):241-7.
- Heitz-Mayfield LJ. Systemic antibiotics in periodontal therapy. *Aust Dent J.* 2009;54 Suppl 1:S96-101. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01147.x.
- Herath TD, Wang Y, Seneviratne CJ, Lu Q, Darveau RP, Wang CY, Jin L. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide lipid A heterogeneity differentially modulates the expression of IL-6 and IL-8 in human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol.* 2011;38:694-701. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01741.x.
- Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldan S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2002;29(3):136–159.
- Hoffman RL. Bone formation and resorption around developing teeth transplanted into the femur. *Am J Anat.* 1966;118:91-102. doi:10.1002/aja.1001180106.
- Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000.* 1999;20:168-238.
- Honig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Perio Res.* 1989;24:362– 367.
- Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 1995;22(2):162-7.
- Howell TH, Jeffcoat MK, Goldhaber P, Reddy MS, Kaplan ML, Johnson HG, Hall CM, Williams RC. Inhibition of alveolar bone loss in beagles with the NSAID naproxen. *J Periodontal Res.* 1991;26(6):498-501.

- Idris A, Ghazali NB, Koh D. Interleukin 1beta-A Potential Salivary Biomarker for Cancer Progression. *Biomark Cancer*. 2015;7:25-29. doi:10.4137/bic.s25375.
- Ishihara Y, Nishirara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Oliguchi M, Koide M, Ueda N, Amano K, Noguchi T. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *Journal of Periodontal Research*. 1997;32:524–529.
- Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol*. 2007;43:9-13.
- Iwamoto Y, Nishimura F, Soga Y, Takeuchi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2003;74(8):1231-6.
- Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):164-83. doi: 10.1111/prd.12117.
- Jain S, Darveau RP. Contribution of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010;53–70.
- Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LS, Leung CC, Peros WJ, Rynar JE, Deasy MJ. Localization of interleukin-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol*. 1991;62(1):36-43.
- Jeffcoat MR, Reddy MS. Alveolar bone loss and osteoporosis: Evidence for a common mode of therapy using the bisphosphonate alendronate. In: Davidovitch ZN, Norton LA, editors. *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*, Vol. 1. Boston: Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, 1996: 365–373.
- Johnson JD, Chen R, Lenton PA, Zhang G, Hinrichs JE, Rudney JD. Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2008;79:2305–2312. [PubMed: 19053921]
- Jones DS, Irwin CR, Woolfson AD, Djokic J, Adams V. Physicochemical characterization and preliminary in vivo efficacy of bioadhesive, semisolid formulations containing flurbiprofen for the treatment of gingivitis. *J Pharm Sci*. 1999;88(6):592-8.
- Jordan HV. Rodent model systems in periodontal disease research. *J Dent Res*. 1971;50:236-242.
- Juman S, Yasui N, Ikeda K, Ueda A, Sakanaka M, Negishi H, Miki T. Caffeic acid phenethyl ester suppresses the production of pro-inflammatory cytokines in hypertrophic adipocytes through lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(11):1941-6.
- Jung WK, Lee DY, Choi YH, Yea SS, Choi I, Park SG, Seo SK, Lee SW, Lee CM, Kim SK, Jeon YJ, Choi IW. Caffeic acid phenethyl ester attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine model of ovalbumin-induced asthma. *Life Sci*. 2008;82(13-14):797-805. doi: 10.1016/j.lfs.2008.01.014.



- Kador PF, O'Meara JD, Blessing K, Marx DB, Reinhardt RA. Efficacy of structurally diverse aldose reductase inhibitors on experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2011;82:926-933. doi:10.1902/jop.2010.100442.
- Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Host-mediated resolution of inflammation in periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2006;40:144-163.
- Kim MH, Choi YY, Lee HJ, Lee H, Park JC, Yang WM. Topical application of herbal formula for the treatment of ligature-induced periodontitis. *J Periodontal Implant Sci*. 2015;45(4):145-51. doi: 10.5051/jpis.2015.45.4.145.
- Kim MS, Yi JM, Kim SH, Hong SH, Kim HM. Madimadi, Korean folk medicine, blocks TNF-alpha, IL-1beta, and IL-8 production by activated human immune cells. *Cytokine*. 2004;25:179-86.
- Kinane DF, Attstrom R. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32(6):130-131. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00823.x.
- Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2007;43:278-93.
- Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG; Working Group 2 of Seventh European Workshop on Periodontology. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2011;38(11):44-8.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2001;25:8-20.
- Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2007;43:294-315. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00166.x.
- Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*. 1991;62:59-73. doi:10.1902/jop.1991.62.1.59.
- Koksel O, Ozdulger A, Tamer L, Cinel L, Ercil M, Degirmenci U, Unlu S, Kanik A. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Pulm Pharmacol Ther*. 2006;19:90-95.
- Koltuksuz U, Mutus HM, Kutlu R, Ozyurt H, Cetin S, Karaman A, Gurbuz N, Akyol O, Aydin NE. Effects of caffeic acid phenethyl ester and epidermal growth factor on the development of caustic esophageal stricture in rats. *J Pediatr Surg*. 2001;36:1504-1509.
- Korish AA, Arafa MM. Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Braz J Infect Dis*. 2011;15(4):332-338.
- Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2004;39:101-106.

- Kujumgiev A, Bankov, V, Ignatova A, Popov S. Antibacterial activity of propolis, some of its components and their analogs. *Pharmazie*. 1993;48:785-786.
- Kumar A, Sunkara MS, Pantareddy I, Sudhakar S. Comparison of Plaque Inhibiting Efficacies of Aloe Vera and Propolis Tooth Gels: A Randomized PCR Study. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(9):ZC01-3. doi: 10.7860/JCDR/2015/13185.6413.
- Kumar G, Jalaluddin M, Rout P, Mohanty R, Dileep CL. Emerging trends of herbal care in dentistry. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(8):1827-9. doi: 10.7860/JCDR/2013/6339.3282.
- Lane N, Armitage GC, Loomer P, Hsieh S, Majumdar S, Wang HY, Jeffcoat M, Munoz T. Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol*. 2005;76:1113–1122.
- Larki-Harchegani A, Hemmati AA, Arzi A, GhafurianBorojerdnia M, Shabib S, Zadkarami MR, Esmaeilzadeh S. Evaluation of the Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Prostaglandin E2 and Two Key Cytokines Involved in Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(7):850-858.
- Lee HS, Lee SY, Park SH, Lee JH, Ahn SK, Choi YM, Choi DJ, Chang JH. Antimicrobial medical sutures with caffeic acid phenethyl ester and their in vitro/in vivo biological assessment. *MedChemComm*. 2013;4:777-782. doi:10.1039/C2MD20289A.
- Liao J, Zhao L, Yoshioka M, Hinode D, Grenier D. Effects of Japanese traditional herbal medicines (Kampo) on growth and virulence properties of *Porphyromonas gingivalis* and viability of oral epithelial cells. *Pharm Biol*. 2013;51(12):1538-44. doi: 10.3109/13880209.2013.801995.
- Lindhe J, Hamp SE, Loe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *Int Dent J*. 1973;23:432-437.
- Lindhe J, Liljenberg B, Listgarten M. Some microbiological and histopathological features of periodontal disease in man. *J Periodontol*. 1980;51:264-269. doi:10.1902/jop.1980.51.5.264.
- Lindsley CB, Warady BA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs. Renal toxicity. Review of pediatric issues. *Clin Pediatr (Phila)*. 1990;29:10-13.
- Liu R, Desta T, Raptis M, Darveau RP, Graves DTP. *P. gingivalis* and *E. coli* lipopolysaccharides exhibit different systemic but similar local induction of inflammatory markers. *J Periodontol*. 2008;79:1241-1247.
- Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol* 2000. 2010;52:163-206. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00321.x.
- Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis In Man. *J Periodontol*. 1965;36:177-187. doi:10.1902/jop.1965.36.3.177.

- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193:265-275.
- Lutfioglu M, Sakallioğlu U, Sakallioğlu EE, Diraman E, Ciftci G, Tutkun F. Dietary-induced hyperparathyroidism affects serum and gingival proinflammatory cytokine levels in rats. *J Periodontol.* 2010;81:150-157. doi:10.1902/jop.2009.090353.
- Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005;32(6):57-71. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00821.x.
- Magro-Filho O, de Carvalho AC. Topical effect of propolis in the repair of sulcoplasties by the modified Kazanjian technique. Cytological and clinical evaluation. *J Nihon Univ Sch Dent.* 1994;36:102-111.
- Mahanonda R and Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol.* 2007;43:41-55.
- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:1115–1117.
- Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990;25:156-163.
- McGee JM, Tucci MA, Edmundson TP, Serio CL, Johnson RB. The relationship between concentrations of proinflammatory cytokines within gingiva and the adjacent sulcular depth. *J Periodontol.* 1998;69:865–871.
- Mergenhagen SE. Thymocyte activating factor(s) in human gingival fluids. *J Dent Res.* 1984;63:461-464.
- Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer Res.* 1999;59:2347-2352.
- Moreno NMI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol.* 2000;71:109–14.
- Muller-Glauser W, Schroeder HE. The pocket epithelium: a light- and electronmicroscopic study. *J Periodontol.* 1982;53:133-144. doi:10.1902/jop.1982.53.3.133.
- Murtaza G, Karim S, Akram MR, Khan SA, Azhar S, Mumtaz A, Bin Asad MH. Caffeic acid phenethyl ester and therapeutic potentials. *Biomed Res Int.* 2014;145342. doi:10.1155/2014/145342.
- Myneni SR, Settem RP, Sharma A. Bacteria take control of tolls and T cells to destruct jaw bone. *Immunol Invest.* 2013;42:519-531. doi:10.3109/08820139.2013.822761.

- Nakamura H, Fukusaki Y, Yoshimura A, Shiraishi C, Kishimoto M, Kaneko T, Hara Y. Lack of Toll-like receptor 4 decreases lipopolysaccharide-induced bone resorption in C3H/HeJ mice in vivo. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23:190–195.
- Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000*. 2006;40:11-28. doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00141.x.
- Natarajan K, Singh S, Burke TR, Jr., Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:9090-9095.
- Nehal NS, Shivaprasad BM, Savita S. Health from the hive: Propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis- A clinicomicrobiologic study. *JCDR*. 2014;8(9):ZC41-ZC44.
- Nishida E, Hara Y, Kaneko T, Ikeda Y, Ukai T, Kato I. Bone resorption and local interleukin-1alpha and interleukin-1beta synthesis induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *J Periodontal Res*. 2001;36:1–8.
- Noelker C, Bacher M, Gocke P, Wei X, Klockgether T, Du Y. The flavanoid caffeic acid phenethyl ester blocks 6hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Neurosci Lett*. 2005;383:39– 43. doi:10.1016/j.neulet.2005.04.023
- O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC. Antigens of bacteria associated with periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004:101–134.
- Oates TW, Graves DT, Cochran DL. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1 / TNF-alpha antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29:137–143.
- O'Dell JR. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2004;350:2591-2602. doi:10.1056/NEJMra040226.
- Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*. 1993;64:432-444. doi:10.1902/jop.1993.64.5s.432.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996;1:821-878. doi:10.1902/annals.1996.1.1.821.
- Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009;54(1):2-10. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01139.x.
- Okada H, Kida T, Yamagami H. Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. *Infect Immun*. 1983;41:365-374.
- Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(3):248-66.
- Okada S, Inoue H, Yamauchi K, Iijima H, Ohkawara Y, Takishima T, Shirato K. Potential role of interleukin-1 in allergen-induced late asthmatic reactions in

- guinea pigs: suppressive effect of interleukin-1 receptor antagonist on late asthmatic reaction. *J Allergy Clin Immunol.* 1995;95:1236-1245.
- Orban Z, Mitsiades N, Burke TR, Jr., Tsokos M, Chrousos GP. Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation. *Neuroimmunomodulation.* 2000;7:99-105. doi:26427.
- Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(4):256-60.
- Özer Yücel Ö, Berker E, Mesci L, Eratalay K, Tepe E, Tezcan İ. Analysis of TNF- $\alpha$  (-308) polymorphism and gingival crevicular fluid TNF- $\alpha$  levels in aggressive and chronic periodontitis: A preliminary report. *Cytokine.* 2015;72(2):173-7. doi:10.1016/j.cyto.2015.01.001.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;34:235-249.
- Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1986;13:345-359.
- Palaska I, Papathanasiou E, Theoharides TC. Use of polyphenols in periodontal inflammation. *Eur J Pharmacol.* 2013;720(1-3):77-83. doi:10.1016/j.ejphar.2013.10.047.
- Park EH, Kahng JH. Suppressive effects of propolis in rat adjuvant arthritis. *Arch Pharm Res.* 1999;22:554-558.
- Park SG, Lee DY, Seo SK, Lee SW, Kim SK, Jung WK, Kang MS, Choi YH, Yea SS, Choi I, Choi IW. Evaluation of anti-allergic properties of caffeic acid phenethyl ester in a murine model of systemic anaphylaxis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;226:22-29. doi:10.1016/j.taap.2007.08.003.
- Pathirana RD, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC. Host immune responses to *Porphyromonas gingivalis* antigens. *Periodontol 2000.* 2010;52:218-237. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00330.x.
- Payne WA, Page RC, Ogilvie AL, Hall WB. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res.* 1975;10:51-64.
- Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005;83:661-669. doi:/S0042-96862005000900011.
- Petersen PE, Ogawa H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontol 2000.* 2012;60:15-39. doi:10.1111/j.1600-0757.2011.00425.x.
- Petersen PE. Global policy for improvement of oral health in the 21st century--implications to oral health research of World Health Assembly 2007, World Health Organization. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2009;37:1-8. doi:10.1111/j.1600-0528.2008.00448.x.

- Plaeger SF. Clinical immunology and traditional herbal medicines. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10:337-8.
- Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine.* 2005;12:221-228. doi:10.1016/j.phymed.2003.09.007.
- Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994;65(5):423-8.
- Preshaw PM, Hefti AF, Novak MJ, Michalowicz BS, Pihlstrom BL, Schoor R, Trummel CL, Dean J, Van Dyke TE, Walker CB, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: a multicenter trial. *J Periodontol.* 2004;75:1068-1076. doi:10.1902/jop.2004.75.8.1068.
- Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011;38(11):60–84.
- Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000.* 2008;48:92-110. doi:10.1111/j.1600-0757.2008.00252.x.
- Pulendran B, Kumar P, Cutler CW, Mohamadzadeh M, Van Dyke T, Banchereau J. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *J Immunol.* 2001;167:5067-5076.
- Ramamurthy NS, Rifkin BR, Greenwald RA, Xu JW, Liu Y, Turner G, Golub LM, Vernillo AT. Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats: a comparison of 6 chemically modified tetracyclines. *J Periodontol.* 2002;73:726-734. doi:10.1902/jop.2002.73.7.726.(a)
- Ramamurthy NS, Xu JW, Bird J, Baxter A, Bhogal R, Wills R, Watson B, Owen D, Wolff M, Greenwald RA. Inhibition of alveolar bone loss by matrix metalloproteinase inhibitors in experimental periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2002;37(1):1-7.(b)
- Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):12-37.
- Reddy MS, Weatherford TW 3rd, Smith CA, West BD, Jeffcoat MK, Jacks TM. Alendronate treatment of naturally occurring periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol.* 1995; 66: 211–217.
- Reinhardt RA, Masada MP, Johnson GK, DuBois LM, Seymour GJ, Allison AC. IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planing and papillary flap debridement. *J Clin Periodontol.* 1993;20(7):514-9.
- Rescala B, Rosalem W, Jr., Teles RP, Fischer RG, Haffajee AD, Socransky SS, Gustafsson A, Figueredo CM. Immunologic and microbiologic profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. *J Periodontol.* 2010;81:1308-1316. doi:10.1902/jop.2010.090643.

- Robinson M, Hart D, Pigott GH. The effects of diet on the incidence of periodontitis in rats. *Lab Anim.* 1991;25:247-253.
- Rocha M, Nava LE, Vazquez de la Torre C, Sanchez-Marin F, Garay-Sevilla ME, Malacara JM. Clinical and radiological improvement of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus treated with alendronate: a randomized, placebo-controlled trial. *J Periodontol.* 2001;72:204–209.
- Rocha ML, Malacara JM, Sanchez-Marin FJ, Vazquez de la Torre CJ, Fajardo ME. Effect of alendronate on periodontal disease in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled trial. *J Periodontol.* 2004;75:1579–1585.
- Rossi A, Ligresti A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L. The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine.* 2002;9(6):530-5.
- Rossomando E, Kennedy JE, Hadjimichael J. Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archives Oral Bio.* 1990;35:431–434.
- Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62:527–534.
- Ruscitti P, Cipriani P, Cantarini L, Liakouli V, Vitale A, Carubbi F, Berardicurti O, Galeazzi M, Valenti M, Giacomelli R. Efficacy of inhibition of IL-1 in patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes mellitus: two case reports and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2015;9:123. doi:10.1186/s13256-015-0603-y.
- Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia.* 2002;73(1):21-29. doi:10.1016/S0367-326X(02)00187-9.
- Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2005;32(6):108–129.
- Sanghani N, Shivaprasad BM, Savita S. Health from the Hive: Propolis as an Adjuvant in the Treatment of Chronic Periodontitis - A Clinicomicrobiologic Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2014;8(9): ZC41-ZC44.
- Santos VR, Gomes RT, de Mesquita RA, de Moura MD, Franca EC, de Aguiar EG, Naves MD, Abreu JA, Abreu SR. Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. *Phytother Res.* 2008;22:1544-1547. doi:10.1002/ptr.2541.
- Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:258-265. doi:10.1016/j.jaad.2005.10.004.
- Sastravaha G, Gassmann G, Sangtherapitikul P, Grimm WD. Adjunctive periodontal treatment with *Centella asiatica* and *Punica granatum* extracts in supportive periodontal therapy. *J Int Acad Periodontol.* 2005;7(3):70-9.

- Schroeder HE, Graf-de Beer M, Attstrom R. Initial gingivitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1975;10:128-142.
- Schwartz J, Stinson FL, Parker RB. The passage of tritiated bacterial endotoxin across intact gingival crevicular epithelium. *J Periodontol.* 1972;43:270-276. doi:10.1902/jop.1972.43.5.270.
- Sekino S, Ramberg P, Lindhe J. The effect of systemic administration of ibuprofen in the experimental gingivitis model. *J Clin Periodontol.* 2005;32(2):182-7.
- Serkedjieva J, Manolova N, Bankova V. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *J Nat Prod.* 1992;55:294-302.
- Seymour GJ, Greenspan JS. The phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1979;14:39-46.
- Seymour GJ, Powell RN, Aitken JF. Experimental gingivitis in humans. A clinical and histologic investigation. *J Periodontol.* 1983;54:522-528. doi:10.1902/jop.1983.54.9.522.
- Sforcin JM. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytother Res.* 2016;30(6):894-905. doi: 10.1002/ptr.5605.
- Shannon J, Shannon J, Modelevsky S, Grippo AA. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59(12):2350-5. doi: 10.1111/j.1532-5415.2011.03713.x.
- Shinoda H, Takeyama S, Suzuki K, Murakami S, Yamada S. Pharmacological topics of bone metabolism: a novel bisphosphonate for the treatment of periodontitis. *J Pharmacol Sci.* 2008;106:555-8.
- Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC, Aravena O, Lastres P, Pozo P, Vernal R, Gamonal J. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol.* 2008;35:206-214. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01190.x.
- Smith MA, Braswell LD, Collins JG, Boyd DL, Jeffcoat MK, Reddy M, Li KL, Wilensky S, Vogel R, Alfano M, et al. Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey. *Infect Immun.* 1993;61:1453-1459.
- Soares GM, Figueiredo LC, Faveri M, Cortelli SC, Duarte PM, Feres M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(3):295-309.
- Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1984;11:21-32.



- Soeken KL, Miller SA, Ernst E. Herbal medicines for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42:652-9.
- Song HS, Park TW, Sohn UD, Shin YK, Choi BC, Kim CJ, et al. The effect of caffeic acid on wound healing in skinincised mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2008;12:343-7.
- Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee H M, Golub LM, Brown DL and Mäntylä P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann. Med*. 2006;38:306-321.
- Souza JA, Rossa C, Jr., Garlet GP, Nogueira AV, Cirelli JA. Modulation of host cell signaling pathways as a therapeutic approach in periodontal disease. *J Appl Oral Sci*. 2012;20:128-138.
- Spelman K, Burns J, Nichols D, Winters N, Ottersberg S, Tenborg M. Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Altern Med Rev*. 2006;11:128-50.
- Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1991;18(7):548-54.
- Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socranski SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*. 1991;62:504-509.
- Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J*. 2010;4:37-47. doi:10.2174/1874210601004010037
- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Puskareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipooxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett*. 1993;329:21-4.
- Sun Y, Shu R, Li CL, Zhang MZ. Gram-negative periodontal bacteria induce the activation of Toll-like receptors 2 and 4, and cytokine production in human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 2010;81:1488-1496. doi:10.1902/jop.2010.100004.
- Swamy DN, Sanivarapu S, Moogla S, Kaplavai V. Chemically modified tetracyclines: The novel host modulating agents. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19:370-374.
- Takeshita A, Imai K, Hanazawa S. CpG motifs in *Porphyromonas gingivalis* DNA stimulate interleukin-6 expression in human gingival fibroblasts. *Infect Immun*. 1999;67:4340-4345.
- Tanabe S, Yoshioka M, Hinode D, Grenier D. Subinhibitory concentrations of tetracyclines induce lipopolysaccharide shedding by *Porphyromonas gingivalis* and modulate the host inflammatory response. *J Periodontal Res*. 2014;49:603-608. doi:10.1111/jre.12140.
- Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today*. 1992;13:151-153. doi:10.1016/0167-5699(92)90116-o.

- Taubman MA, Valverde P, Han X, Kawai T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol.* 2005;76:2033-2041. doi:10.1902/jop.2005.76.11-S.2033.
- Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000.* 2010;54:160-194. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00344.x.
- The American Academy of Periodontology. Information Paper. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999;70:457-70.
- Toker H, Ozan F, Ozer H, Ozdemir H, Eren K, Yeler H. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2008;79:1089-1094. doi:10.1902/jop.2008.070462.
- Tonetti MS, Van Dyke TE. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol.* 2013;84:24-29. doi:10.1902/jop.2013.1340019.
- Toyoda T, Tsukamoto T, Takasu S, Shi L, Hirano N, Ban H, Kumagai T, Tatematsu M. Anti-inflammatory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a nuclear factor-kappaB inhibitor, on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Int J Cancer.* 2009;125(8):1786-95. doi: 10.1002/ijc.24586.
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995 Oct;66(10):852-9.
- Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine.* 2005;31:34-40. doi:10.1016/j.cyto.2005.02.007.
- Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(7):883-8.
- Uzar E, Sahin O, Koyuncuoglu HR, Uz E, Bas O, Kilbas S. The activity of adenosine deaminase and the level of nitric oxide in spinal cord of methotrexate administered rats: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Toxicology.* 2006;218:125–133. doi:10.1016/j.tox.2005.10.014
- Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res.* 2003;82:82-90.
- Vardar-Sengul S, Arora S, Baylas H, Mercola D. Expression profile of human gingival fibroblasts induced by interleukin-1beta reveals central role of nuclear factor-kappa B in stabilizing human gingival fibroblasts during inflammation. *J Periodontol.* 2009;80(5):833-49. doi: 10.1902/jop.2009.080483.
- Velazquez C, Navarro M, Acosta A, Angulo A, Dominguez Z, Robles R, Robles-Zepeda R, Lugo E, Goycoolea FM, Velazquez EF, Astiazaran H, Hernandez J. Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *J Appl Microbiol.* 2007;103:1747-1756. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03409.x.
- Vilela Pd, de Oliveira JR, de Barros PP, Leão MV, de Oliveira LD, Jorge AO. In vitro effect of caffeic acid phenethyl ester on matrix metalloproteinases (MMP-1 and

- MMP-9) and their inhibitor (TIMP-1) in lipopolysaccharide-activated human monocytes. *Arch Oral Biol.* 2015;60(9):1196-202. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.04.009.
- Walker SG, Golub LM. Host modulation therapy for periodontal disease: Subantimicrobial-dose doxycycline, medical as well as dental benefits. *Oral Sci.* 2012;11:10–8.
- Wang PL, Ohura K. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblasts-CD14 and Toll-like receptors. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13:132-142.
- Wang X, Pang J, Maffucci JA, Pade DS, Newman RA, Kerwin SM, Bowman PD, Stavchansky S. Pharmacokinetics of caffeic acid phenethyl ester and its catechol-ring fluorinated derivative following intravenous administration to rats. *Biopharm Drug Dispos.* 2009;30:221-228. doi:10.1002/bdd.657.
- Wardle EN. COX-2 inhibitors and risk of heart failure. *Lancet.* 2004;364:1487. doi:10.1016/s0140-6736(04)17267-x.
- Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH et al. Ibuprofen: an inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. *J Periodontal Res.* 1988;23:225–229.
- Williams RC, Jeffcoat MK, Kaplan ML, Goldhaber P, Johnson HG, Wechter WJ. Flurbiprofen: a potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. *Science.* 1985;227:640-642.
- Williams RC. Periodontal disease. *N Engl J Med.* 1990;322:373-382. doi:10.1056/nejm199002083220606.
- Wilton JM, Bampton JL, Griffiths GS, Curtis MA, Life JS, Johnson NW, Powell JR, Harrap GJ, Critchley P. Interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study. *J Clin Periodontol.* 1992;19(1):53-7.
- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191-2194.
- Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest.* 2001;107(2):135-42.
- Yavuzyilmaz E, Yamalik N, Bulut S, Ozen S, Ersoy F, Saatçi U. The gingival crevicular fluid interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Aust Dent J.* 1995;40(1):46-9.
- Yoshimura A, Hara Y, Kaneko T, Kato I. Secretion of IL-1 beta, TNF-alpha, IL-8 and IL-1ra by human polymorphonuclear leukocytes in response to lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res.* 1997;32:279-286.

- Yun F, Firkova EI, Xun H, Jun-Qi L. Effects of surgical periodontal therapy on serum levels of TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *Folia Med (Plovdiv)*. 2007;49:37-40.
- Zachrisson BU. A histological study of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*. 1968;3:293-302.
- Zaeemzadeha N, Hemmatia A, Arzia A, Jalalib M, Rashidic I. Protective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on AmiodaroneInduced Pulmonary Fibrosis in Rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2011;10:321-328.
- Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X, Han Q, Zhang H. Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), IL-6 and IL-1beta levels and ameliorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. *Biol Pharm Bull*. 2014;37:347-354.
- Zhang X, Kohli M, Zhou Q, Graves DT, Amar S. Short- and long-term effects of IL-1 and TNF antagonists on periodontal wound healing. *J Immunol*. 2004;173(5):3514-23.



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI	KARAR TARİHİ
06	2014 / 26 - 27 - 28 - 29 - 30 - 31 2014 - 15 (DÜZELTME) 2013 - 45 - 2014 - 17	23.07.2014

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 23.07.2014 tarihinde Prof. Dr. Rüşti Cankon GERMİYANOĞLU Başkanlığı'nda toplandı.

KARAR NO : 2014 - 29

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı tarafından Etik Kurulumuz'a sunulmuş olan "Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE) 'in Deneysel Periodontitis'te Enflamasyona Olan Etkisinin İncelenmesi" başlıklı Yrd. Doç. Dr. Feyza OTAN ÖZDEN sorumluluğunda 2014/29 No.lu araştırma projesi olumlu bulundu ve araştırmacıların çalışmalarına başlamalarına oy birliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Rüşti Cankon GERMİYANOĞLU  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
BAŞKAN

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN  
(Üye)

Prof. Dr. Ahmet GÜLER  
(Üye)

Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU  
(Üye)

Doç Dr. Ahmet GÜZEL  
(Üye)

Doç Dr. N. Eylem GÜNDÜZ  
(Üye)

Ecz. Cahit KILIÇ  
(Üye)

Mehmet ÖZCELİK

Prof. Dr. Öğr. Üyesi

Aslı Gibi





Sayı : B.14.2.TBT.0.06.03.02-161-150521  
Konu : 115S805 Numaralı Proje Öneriniz

14/07/2015

Sayın Yrd. Doç. Dr. FEYZA OTAN ÖZDEN

"Hızlı Destek Programı" kapsamında Kurumumuza önerdiğiniz ve bilimsel değerlendirmeye alınması uygun bulunan 115S805 numaralı ve "Kafeik Asit Fenetil Ester `In Deneysel Periodontitis?Te Enflamasyona Olan Etkisinin İncelenmesi " başlıklı projenize ilişkin değerlendirme süreci tamamlanmıştır.

Proje öneriniz, konunun uzmanı danışmanlar tarafından "Özgün Değer", "Yöntem", "Proje Yönetimi, Ekip Ve Araştırma Olanakları" ve "Yaygın Etki" boyutlarında değerlendirilmiş olup Grup Yürütme Komitemizin 13/07/2015 tarih ve 738 sayılı toplantısında incelenerek görüşülmüş ve yapılan değerlendirmeler sonucunda proje önerinizin desteklenmesi uygun bulunmuştur.

Desteklenmesine karar verilen proje önerinizin ilgili mevzuat çerçevesinde, mali ve benzeri konularda değerlendirme çalışmalarına başlanmıştır. Süreç tamamlandığında projelere ait sözleşme ve diğer belgeler imzalanmak üzere tarafınıza gönderilecektir.

Çalışmalarınızda başarılar diler, saygılar sunarım.

Prof. Dr. Sevim AYDIN  
Sağlık Bilimleri  
Araştırma Destek Grubu  
Yürütme Komitesi  
Sekreteri V.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Esra DEMİR

**Doğum Yeri:** Trabzon

**Doğum Tarihi:** 01.04.1987

**Medeni Hali:** Bekar

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

### **Eğitim Durumu:**

1993 – 1995 İskender Paşa İlköğretim Okulu

1995 – 2001 Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu

2001 – 2005 Tevfik Serdar Anadolu Lisesi

2005 – 2010 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

2011 Eylül – 2016 Eylül Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Periodontoloji Anabilim Dalı

### **Çalıştığı Kurumlar:**

2010 Eylül – 2011 Mayıs Özel Bilge Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği

**E-posta:** demir.es@outlook.com