



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ARCTİN MADDESİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS  
MODELİ ÜZERİNDEKİ ANTİENFLAMATUVAR  
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Ahmet AYDOĞDU**

**Samsun**

**Temmuz-2014**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ARCTİİN MADDESİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS  
MODELİ ÜZERİNDEKİ ANTIENFLAMATUVAR  
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Ahmet AYDOĞDU**

**Danışman**

**Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU**

**Samsun**

**Temmuz-2014**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ahmet AYDOĞDU tarafından Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU danışmanlığında hazırlanan “ARCTİN MADDESİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ ÜZERİNDEKİ ANTIENFLAMATUVAR ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 01/07 /2014 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. H. Gökhan AÇIKGÖZ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.

Üye : Prof. Dr. Bülent KURTİŞ  
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.

Üye : Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.

Üye : Doç. Dr. Müge LÜTFİOĞLU  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.

Üye : Doç. Dr. Hasan ALAÇAM  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD.

ONAY:

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

..../..../2014

**Prof. Dr. Süleyman KAPLAN**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, tezimin her aşamasında emeğini ve ilgisini esirgemeyen kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Elif Eser SAKKALLIOĞLU'na,

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

Tezimin biyokimyasal aşamalarını gerçekleştiren, değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın hocam Doç. Dr. Hasan ALAÇAM'a,

Tezimin istatistiksel değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Sevgi CANBAZ' a,

Tezimin her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY ve mesai arkadaşlarına,

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

Bu günlere gelmemi sağlayan ve desteklerini hep hissettiğim anneme, kardeşime ve rahmetli babama,

Bu zorlu süreci atlatırken belki de benden daha fazla sıkıntı çeken değerli eşim Deniz ve ailesine,

Kokusunun bile beni kendime getirmeye yettiği biricik kızım Ada'ya,

**Gönülden teşekkürler,**

## ÖZET

### ARCTIİN MADDESİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ ÜZERİNDEKİ ANTIENFLAMATUVAR ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, bitkisel bir madde olan arctiinin, konak yanıtını düzenleyip periodontal doku yıkımını ve kemik kaybını önleyebileceği veya azaltabileceği hipotezini test edip, bu maddenin deneysel periodontitis modeli oluştuktan sonraki dönemde dişeti interlökün-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve Tümör Nekroze Edici Faktör-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) seviyeleri üzerine etkisini biyokimyasal olarak incelemektir.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamızda 30 adet Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Kontrol grubu (Grup 1: sistemik gavaj yolu ile sadece çözücü verilen grup, n=10) dışındaki tüm hayvanların üst sol 1. molar diş ve üst 2. molar dişlerin interproksimal birleşim yeri hizasındaki dişeti altına lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu yapılarak deneysel periodontitis oluşturuldu. Periodontitis oluşturulan hayvanlar rastgele iki gruba ayrılarak (Grup 2: periodontitis oluşturulan ve sistemik gavaj yolu ile çözücü verilen grup n=10; Grup 3: periodontitis oluşturulan ve sistemik olarak 21 gün boyunca arctiin maddesi verilen grup, n=10) bir gruba sistemik olarak arctiin maddesi verildi. Deney periyodu sonrası sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen dişeti örnekleri sıçana özgü IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ELISA kitleri ile biyokimyasal olarak incelendi.

**Bulgular:** Dişeti örnekleri üzerinde yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarına göre IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri kontrol grubunda (Grup 1), periodontitis gruplarına (Grup 2, Grup 3) göre istatistiksel olarak daha az bulundu (P<0,001). Sistemik olarak arctiin maddesi verilen periodontitis grubunda (Grup 3) IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri diğer periodontitis grubuna (Grup 2) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu (P<0,001).

**Sonuç:** Bu çalışmanın sınırları dahilinde, sonuçlarımız arctiin maddesinin, konak yanıtını düzenleyerek deneysel periodontitis geliştikten sonraki dönemde periodontal hastalığın şiddetini ve yıkıcı etkilerini azaltabileceğini gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Arctiin maddesi; IL-1 $\beta$ ; LPS; periodontitis; TNF- $\alpha$

**Ahmet AYDOĞDU, Doktora Tezi**  
**Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Temmuz-2014**

## ABSTRACT

### EVALUATION OF ANTI INFLAMMATORY EFFECT OF ARCTIIN ON EXPERIMENTAL PERIODONTITIS MODEL

**Aim:** The aim of this study was to test the hypothesis that arctiin, a plantery lignan, may avoid or downregulate the periodontal tissue destruction via host modulation. We managed to 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 after the period of experimental periodontitis model development.

**Material and Method:** 30 Sprague-Dawley rat were used for this study. Experimental periodontitis were developed by injection of lipopolysaccharit(LPS) to the interproximal junction line of left maxillar first and second molar teeth of animals except control group (Group 1: only solvent given by systemic gavage, n=10). After the development of experimental peridontitis rats were divided into two groups (Group 2: periodontitis group which solvent given by systemic gavage, n=10; Group 3: periodontitis group which arctiin given by systemic gavage for 21 days, n=10) and randomly and arctiin was systemically given to one of them. At the end of the experiment, gingival samples which were obtained from sacrificed animals were investigated biochemically using enzym linked immuno assay (ELISA) kit peculiar to rat's IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ .

**Results:** According to the results of biochemically analysis of gingival samples, the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in control group were found significantly lesser than in periodontitis groups (P<0.001). The levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in periodontitis group who were systemically given arctiin were found statistically lesser than in the other periodontitis group (P<0.001).

**Conclusion:** Within the limits of this study, our results demonstrated that arctiin may reduce the severity and the destuctive effects of periodontal disease, after the experimental periodontitis development period, via the modulation of host response.

**Keywords:** Arctiin; IL-1 $\beta$ ; LPS; TNF- $\alpha$ ; periodontitis

Ahmet AYDOĞDU, Ph. D. Thesis  
Ondokuz Mayıs University-Samsun, July-2014

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

DMSO: Dimetilsülfoksit

DNA: Deoksiribonükleik asit

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

g: gram

G: ivmelenme kuvveti

ICTP: Kollojen Karboksiterminal Telopektidi

IL-1: İnterlökün-1

IL-1R1: İnterlökün-1 Reseptör1

IL-1R2: İnterlökün-1 Reseptör2

IL-1ra: İnterlökün-1 Reseptör antagonisti

IL-1 $\alpha$ : İnterlökün-1 $\alpha$

IL-1 $\beta$ : İnterlökün-1 $\beta$

IL-6: İnterlökün-6

IL-8: İnterlökün-8

iNOS: Nitrik oksit sentetaz

LPS: Lipopolisakkarit

mg: Miligram

mL: Mililitre

MMP: Matriks metalloproteinaz

MMP-13: Matriks metalloproteinaz-13

MMP-8: Matriks metalloproteinaz-8

NF-  $\kappa$ B: Nükleer Transkripsiyon faktörü-  $\kappa$ B

NO: Nitrik oksit

NSAID: Steroid olmayan anti enflamatuvar ilaç

PAF: Platelet aktive edici faktör

PDGF: Platelet derive edici büyüme faktörü

pg: Pikogram

PGE2: Prostaglandin E2

TGF- $\beta$ : Transforme edici büyüme faktörü-  $\beta$

TLR2: Toll-like reseptör2

TLR4: Toll-like reseptör4

TNF: Tümör nekroz faktörü

TNFR1: Tümör nekroz faktörü reseptör1

TNFR2: Tümör nekroz faktörü reseptör2

TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktörü- $\alpha$

TÜBİTAK: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu

TÜBİVES: Türkiye Bitkileri Veri Servisi



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>5</b>
2.1. Periodontal Hastalıkların Histopatolojisi.....	5
2.1.1. Başlangıç Lezyonu.....	6
2.1.2. Erken Lezyon.....	6
2.1.3. Yerleşik Lezyon.....	7
2.1.4. İlerlemiş Lezyon.....	8
2.2. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıtı.....	9
2.2.1. Periodontal Doku Yıkımı ve Medyatörler.....	9
2.2.2. LPS' lerin Periodontal Dokular Üzerindeki Etkileri.....	13
2.3. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıt Modülasyonu.....	15
2.4. Arctiin Maddesi.....	20
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>24</b>
3.1. Çalışma Protokolü.....	24
3.2. Deney Grupları.....	25
3.3. Dişeti Örneklerinin Elde Edilmesi.....	28
3.4. Dişeti Örneklerinin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması.....	28
3.5. Dişeti Proenflamatuvar Sitokin Seviyelerinin Belirlenmesi.....	29
3.6. Dişeti Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	30
3.7. İstatistiksel Değerlendirme.....	31
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>32</b>
4.1. Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	32
4.1.1. IL-1 $\beta$ Verilerinin Değerlendirilmesi.....	32
4.1.2. TNF- $\alpha$ Verilerinin Değerlendirilmesi.....	33
4.1.3. Dişeti Protein Konsantrasyon Seviyelerinin Değerlendirmesi.....	33
4.2. Korelasyon Analizi Sonuçları.....	34
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>38</b>

<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>52</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>53</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>73</b>

immünoenflamatuvar yanıt olduğunu savunmaktadır. Bu yanıt; nötrofil, monosit, lenfosit ve fibroblast gibi savunma hücreleri tarafından üretilen konak kaynaklı medyatör üretimi ile birlikte meydana gelen endotel hücre ve intersellüler adezyon molekülü üretimi gibi olayları kapsar (Kornmann ve DiGiovine, 1998; Salvi ve ark., 1998; Kinane ve Chestnutt, 2000; Albandar, 2002). Birçok hücre tipi tarafından üretilen interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü (TNF)' nün doku yıkımıyla sonuçlanan enflamatuvar cevabın gelişiminde rol oynadıkları, birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Ridderstad ve ark., 1991; Feghali ve Wright, 1997; Jacobs ve ark., 2001). Lökositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttıran bu sitokinlerin, aynı zamanda lökositlerin dokular içerisinde ilerlemesini sağlayan kemokinlerin salınımını da arttırdıkları bilinmektedir. Enflamatuvar yanıtı arttıran ve/veya bu yanıtın devamlılığını sağlayan prostoglandinler ve matriks metallo proteinaz (MMP)' lar gibi litik enzimlerin üretimini uyarırlarken, bunun yanında fagositik aktiviteyi ve bakterilerin öldürülme hızını da arttırlar (Dinarello, 1996; Pfizenmaier ve ark., 1996). Kemik yıkımını arttırıcı sinerjik bir etki gösterirler (Stashenko ve ark., 1987).

Periodonsiyum, tamir kapasitesi yüksek bir doku olmasına rağmen, bazı durumlarda sitokinler, matriks üreten hücreleri apoptozise zorlayarak tamir süreçlerini sınırlandırır (Amin ve ark., 2000; Hock ve ark., 2001). Proenflamatuvar sitokin üretiminin inhibe edilmesi ile periodontal doku yıkımına sebep olan mekanizmaların baskılanabileceği görüşü birçok araştırmacı tarafından desteklenmiştir. (Gemmel ve ark., 1997; Kantarcı ve ark., 2006; Kirkwood ve ark., 2007; Souza ve ark., 2012).

*Phopyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* lipopolisakkarit (LPS)'lerinin kronik periodontitis oluşumunda kilit bir role sahip olduğu kabul edilmektedir. LPS indüksiyonu; lokal enflamatuvar hücrelerin bölgeye göçü, prostonoid ve sitokin üretimi, litik enzimlerin aktif hale geçmesi ve osteoklastik aktivitenin artması olaylarını içeren lokal konak yanıtını başlatır (Hirschfeld ve ark., 2000; Bainbridge ve Darveau, 2001).

İmmünolojik çalışmalar; *P.gingivalis* LPS'inin farklı immünoenflamatuvar yanıtları indükleyebildiğini ortaya koyarken (Dixon ve ark., 2004), fibroblastlar, nötrofiller, epitel hücreleri gibi birçok hücre grubu üzerinde, proenflamatuvar

sitokinlerin (interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin-8 (IL-8) ve interlökin-6 (IL-6)) üretiminin indüklenmesi yoluyla etki gösterdiği bildirilmiştir (Lamont ve Jenkinson, 1998).

Periodontal hastalığın tedavisine yardımcı olarak kullanılan tedavi edici ajan stratejilerinden biri antimikrobiyal tedavileri içerirken, bir diğeri ise konak yanıtını modüle etmeyi amaçlayan yöntemleri kapsar (Kirkwood ve ark., 2007). 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 seçenekleri oluşturmaya itmiştir (Cao ve Sun, 1998; Chan ve ark., 2003; Sastavaha ve ark., 2005; Bothelho 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).

*Arctium lappa* (burdock) birçok ülkede üretimi yapılan ve sebze olarak tüketilen bir bitki olmakla birlikte tohumları da geleneksel Kore Tıbbı'nda diüretik ve antienflamatuvar olarak kullanılmaktadır (Park ve ark., 2007). *Arctium lappa*'nın antienflamatuvar ve antioksidan özelliği, yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir. (Yoshihiko ve ark., 1995; Lin ve ark.,1996; Park ve ark., 2007). Geleneksel Çin Tıbbı'nda da *Fructus Arctii* olarak bilinen ve *Arctium lappa* bitkisinden elde edilen ilaç; soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, kabakulak, kızamık, açık yaralar, egzama ve kanser tedavisinde kullanılmaktadır. İçeriğindeki arctiin maddesi ile immunolojik fonksiyonları arttıran ve antienflamatuvar olarak işlev görebilen bu bileşik (Yan ve Lee, 1993), aynı zamanda platelet aktive edici faktör (PAF) antagonisti (Lwakami ve ark., 1992), Ca<sup>+2</sup> agonisti olma ve anti-hipertansif etki gösterme (Fujimoto ve ark., 1992; Xie ve ark., 2003) özelliklerine de sahiptir. Yakın dönemde yapılan çalışmalar arctiinin, anti-tümör özelliklerine sahip olduğunu da ortaya koymuştur (Hirose ve ark., 2000; Bull, 2003; Hasumura ve ark., 2007).

Arctiin maddesi, *Arctium lappa* haricinde, *Arctium minus* (Erdemoğlu ve ark, 2009), *Arctium tomentosum* (Zhou ve ark., 2011), *Centaurea dealbata* (Shoeb ve ark., 2006), *Centaurea macrocephala* (Shoeb ve ark., 2004), *Centaurea schischkinii* (Shoeb

ve ark., 2004), *Centaurea sclerolepis* (Erdemgill ve ark., 2006; Szokol-Borsodi ve ark., 2012), *Centaurea pseudoscabiosa*, *Centaurea areneria* (Csapi ve ark., 2010) gibi birçok bitkide bulunmaktadır ve adı geçen bu bitkilerin tamamı “Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu” (TÜBİTAK) tarafından geliştirilen “Türkiye Bitkileri Veri Servisi” (TÜBİVES)’ne kayıtlıdır (TÜBİVES internet sitesi, 2014). Ülkemizin birçok yerinde yetişen bu bitkiler üzerinde yapılan analizler, içeriklerindeki arctiin miktarlarını ortaya koymuştur (Erdemgill ve ark., 2006; Erdemoğlu ve ark., 2009; Boldizsár ve ark., 2010; Csapi ve ark., 2010; Zhou ve ark., 2011; Szokol-Borsodi ve ark., 2012).

Şu an için, arctiin maddesinin periodontal hastalık üzerine etkisiyle ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca arctiin maddesinin antiinflamatuvar sistemik etkinliği ile ilgili de az sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Lee ve ark., 2007; Wu ve ark. 2009; Park ve ark 2008; Lee ve ark., 2011).

Bu bilgiler ışığında; bitkisel bir madde olan arctiinin IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın üretimini azaltıp, konak yanıtını düzenleyerek periodontal doku yıkımını ve kemik kaybını önleyebileceği veya azaltabileceği hipotezinden yola çıkarak planladığımız çalışmamızda, arctiin maddesinin periodontitis oluştuktan sonraki dönemde IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üzerine etkisinin biyokimyasal olarak incelenmesini amaçladık.

## 1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü, genel sağlığı tehdit eden ciddi durumlar içerisinde kabul ettiği periodontal hastalıkları, “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 tanımlamıştır (WHO, 1987). Bunun yanı sıra 2009 yılında ağız sağlığının, genel sağlığın ve yaşam kalitesinin önemli bir parçası olduğunu vurgulayarak, bu konuda farkındalığın tüm dünya çapında artması gerektiğini belirtmiştir (Petersen, 2009). Yapılan araştırmalara göre; oral ve/veya periodontal hastalıkların prevalansının, Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde Avrupa’ nın bazı bölgelerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Cobert, 2006; Hugason ve Norderyd, 2008; Bernabe ve Marcenes, 2010). Şiddet farklılığı ve popülasyon özelliklerine bağlı olarak prevalans değişkenliği göz önüne alındığında periodontitisin toplumun %10 ila %20’sini etkileyen yaygın bir hastalık olduğu bildirilmiştir (Burt, 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 (Fardal ve ark., 2012; Fleming ve Beikler, 2013).

Multi-faktöriyel olarak kabul edilen periodontal hastalıklar, sitokin, eikozonoid (araşidonik asit metabolitleri) ve matriks metalloproteinaz üretiminin gerçekleştiği enflamatuvar yanıtı içerirler (Salvi ve Lang, 2005). Mikrobiyal dental plağın, gingival enflamasyon ve ardından gelişebilecek olan periodontal doku yıkımı için primer etyolojik ajan olduğu genel olarak kabul görmüş bir gerçektir (Haffaje ve Sockransky, 1994). Ancak kronik olarak bakteri ve endotoksine maruz kalma durumu ön koşul olarak görülse de, hastalık oluşumunda tek başına göreceli olarak düşük (yaklaşık %15-20) bir öneme sahip olduğu kanıtlanmıştır (Grossi ve ark., 1994). Güncelliğini korumakta olan periodontal hastalık patogenez modelleri (Offenbacher, 1996; Page ve Kornmann, 1997) ise hastalığın oluşumu ve ilerleyişini tam olarak tanımlayabilmek için bu bilgileri yetersiz bulmakta ve periodontal hastalık ile ilişkili sert ve yumuşak doku yıkımının ana komponentinin, konağın bakteriler ile mücadelesinde aktif hale gelen

## 2. GENEL BİLGİLER

Periodonsiyum; dişe destek olan ve etrafını saran kök sementi, periodontal ligament, alveol kemiği ve dişeti dokularını içeren bütünlüğü tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Hoffman, 1966; Schroeder, 1986; Cho ve Garant, 2000). Bu dokuların bir kısmı ve/veya tamamında görülen patolojik değişikliklere periodontal hastalık adı verilir. İleri gelen araştırmacılar tarafından periodonsiyumun polimikrobiyal, immünoenflamatuvar ve kronik bir enfeksiyonu olarak tanımlanan bu hastalıklar, dişeti enflamasyonu ile sınırlı ve geri dönüşümlü olan “gingivitis”; patolojik cep oluşumu ve periodonsiyumun yıkımı ile karakterize geri dönüşümü olmayan “periodontitis” kavramlarını da içerir (Page, 1986; Socransky ve ark., 1998; Armitage ve ark., 1999).

### 2.1. Periodontal Hastalıkların Histopatolojisi

Klinik açıdan bakıldığında, gingivitisin gelişimi net bir şekilde gözlemlenebilir. Dokular ultrastrüktüel olarak incelendiğinde ise meydana gelen değişiklikler daha açık şekilde görülebilir. Genel olarak; nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri ve lenfositler gibi savunma hücrelerinin bağ dokusuna infiltrasyonu izlenir (Seymour ve ark., 1983). Bu hücrelerin birikimi ve yıkıcı ekstrasellüler enzimlerinin salınımı sonucu; kollajen azalması ve birleşim epitelindeki proliferasyon ile birlikte bağ dokusu hasarı görülür. Vazodilatasyonda ve vasküler permeabilitede meydana gelen artış, damar dışına sızan sıvı miktarının artışı da beraberinde getirir (Abbas ve ark., 1986). Bu durum, savunma hücrelerinin damarlardan dokulara geçişini kolaylaştırır. Dokulardaki sıvı miktarının artması, hücreler arasındaki boşlukların genişleyerek, dokuların eritematöz ve ödematöz bir görünüm almalarına sebep olur. Ancak bu değişikliklerin tümü geri dönüşümlü olup, sürdürülebilir oral hijyen uygulamalarıyla dişeti sağlığı tekrardan sağlanabilir (Preshaw ve Taylor, 2012).

Page ve Schröder (1976) dişeti dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikleri *başlangıç lezyonu*, *erken lezyon*, *yerleşik lezyon* ve *ileri lezyon* olarak tanımlamıştır. Başlangıç lezyonu klinik olarak sağlıklı dokuları, erken lezyon klinik olarak belirti gösteren gingivitisin erken safhalarını, yerleşik lezyon kronik gingivitis, ilerlemiş lezyon ise gingivitisten ataşman ve kemik kaybı ile birlikte görülen periodontitise geçişi ifade eder.

### **2.1.1. Başlangıç Lezyonu**

Başlangıç lezyonu plak birikimini takiben 2 ila 4 gün içinde gelişir. Plak olmadığında lezyonun gelişmediği ve enflamasyonun görülmediği kanıtlanmış olsa da bu durum klinik olarak mümkün gözükmemektedir. Subgingival biyofilmin sürekli varlığı düşük seviyeli kronik enflamatuvar yanıtın sebebi olarak görülmektedir (Preshaw ve Taylor, 2012). Arterioller, kapiller ve venüllerden oluşan damarsal ağıın belirgin hale geldiği ve bölgedeki mikrodolaşımın, hidrostatik basınç ile birlikte arttığı görülür. Kapiller etrafındaki endotel hücreleri arasındaki boşluklar ve dokunun geçirgenliği artar. Böylelikle damarlar içindeki protein ve sıvılar dokulara geçebilir (Kinane ve ark., 2008). Nötrofiller ve monositler gibi savunma hücrelerinin de damar dışına çıkışları bu dönemde gözlemlenmektedir. Bu hücreler bağ dokusunun içinde ilerleyebilmek için kemokin adı verilen uyarılara ihtiyaç duyarlar. Dişeti oluğundaki bakteri ve ürünleri damar endotel hücreleri üzerinde bulunan adezyon moleküllerini aktive ederek transendotelial migrasyon adı verilen ve nötrofillerin damar dışına çıkıp dokular içinde ilerlemesiyle sonuçlanan bir seri mekanizmayı başlatır (Moughal ve ark., 1992). Lokal mikrodolaşımdaki artış, dokudaki hidrostatik basıncı arttırarak dişeti oluğu sıvısı (DOS) miktarının da artışına neden olur (Griffiths ve ark., 1992).

### **2.1.2. Erken Lezyon**

Erken lezyon safhası 7 günlük devamlı plak birikimi sonrasında başlar ve gingivitisin erken dönem klinik belirtilerini içerir. Dişetleri, kapiller proliferasyon sonucu genişleyen damar yatakları ve devam eden vazodilatasyon nedeni ile eritematöz bir görüntü alır (Lindhe ve Reylander., 1975). Vasküler permeabilite artışı ile birlikte DOS akışında ve nötrofil transmigrasyonunda kayda değer bir artış görülür (Theilade ve ark., 1975). Bu dönemde bağ dokusunda nötrofil ve öncül timik T-lenfosit hücreleri baskındır (Payne ve ark., 1975). Nötrofiller, bu evrede dokulardan geçerek dişeti oluğundaki bakterileri fagosite etmek üzere bölgeye göç ederler (Attström ve Egelbert, 1971, Newman ve Addison, 1982). Fibroblastların programlanmış hücre ölümü ile birlikte dejenere olmaları, nötrofillerin infiltrasyonu için gerekli boşluğu hazırlar. Birleşim epitel ve oluk epitelinin apikalinde ve lateralinde meydana gelen yıkıma bağlı kollajen azalması görülür. Epitel yapısında bulunan bazal hücreler, prolifer olmaya başlar. Bakteri ve ürünlerine karşı kollajen yıkımı vasıtasıyla konak tarafından



oluşturulmaya çalışılan bariyer nedeni ile meydana gelen boşluklar, epitel hücreleri ile kapanır (Schroeder ve ark., 1973). Ödem nedeniyle gingival dokularda genişleme görülür. Buna bağlı olarak dişeti cep derinliğinde çok az da olsa bir artış görülebilir. Subgingival biyofilmin varlığına ve konak yanıtına bağlı olarak lezyon ilerleyebilir veya kronik bir enfeksiyon olarak kalabilir (Socransky ve ark., 1976; Preshaw ve Taylor, 2012).

### **2.1.3. Yerleşik Lezyon**

Yerleşik lezyonun klinik olarak karşılığı kronik gingivittir. Erken lezyon evresinden yerleşik lezyon evresine geçiş birçok etkene bağlıdır. Bu etkenler mikrobiyal dental plak (kompozisyonu ve miktarı), konağın duyarlılığı, lokal ve sistemik risk faktörleri olarak sıralanabilir (Lamster ve ark., 1994). Dokulardaki baskın hücre popülasyonunu oluşturan plazma hücreleri, yerleşik lezyon evresinin şekillenmesinde rol alırlar (Page ve Schroder, 1976; Mallison ve ark., 1991; Preshaw ve Taylor, 2012). İnsan çalışmalarında yaşlı bireylerde, plazma hücrelerinin (Fransson ve ark., 1996), gençlerde ise lenfosit hücrelerinin yoğun olduğu görülmüş ve net bir sonuca varılamamıştır (Brecx ve ark., 1988). Ancak belirgin bir enflamatuvar hücre infiltrasyonu ile birlikte dokuların önemli ölçüde enflame olduğu görülür. Birleşim ve oluk epiteline, damarların etrafına ve kollajen fiber demetleri arasına yoğun hücre infiltrasyonu olur. (Brecx, 1991). Kollajen yıkımı ile birlikte, epitelin bağ dokusu içerisine proliferasyonu da görülür. Nötrofiller dokuda birikirler ve fagosite edilmemiş bakterileri öldürmek için lizozomal enzimlerini hücre dışına bırakırlar, bu durum aynı zamanda doku yıkımına da yol açar (Miyasaki, 1991). Nötrofiller ayrıca matriksmetalloproteinaz (MMP)'lar için de ana kaynak vazifesi görürler (Birkedal-Hansen, 1993). Bu enzimler, enflame dokularda yüksek miktarlarda bulunur ve nötrofillerin dişeti oluşuna geçebilmeleri için yoğun kollajen demetlerini yıkarak ilerlemelerini sağlar. Birleşim ve oluk epiteli, patolojik bir form olan cep epiteline dönüşür. Bu doku, dişe tam olarak tutunmayan, nötrofil açısından zengin ve bağ dokusuna geçişin daha kolay olduğu gevşek bir yapıdadır (Müller-Glauser ve Schroeder, 1982; Papaioannou ve ark., 1999). Patolojik cep epitelinin, ülser ve periodontal sonda daha az direnç gösteren bir yapı olmasından dolayı sondalamada kanama kronik gingivitisin en belirgin özelliklerindedir (Keagle, 1995). Ancak bu

değişikliklerin tümünün, iyi bir plak kontrolü sağlandığında, henüz geri dönüşümünün mümkün olduğu unutulmamalıdır (Preshaw ve Taylor, 2012).

#### **2.1.4. İlerlemiş Lezyon**

İlerlemiş lezyon gingivitten periodontitise geçişi ifade eder. Bu geçiş, birçok faktörden etkilenmektedir. Hangisinin daha önemli olduğu kesinlik kazanmamış olsa da bakteriyel mücadelede ki konak enflamatuvar yanıt (Amano, 2010) duyarlılığı, çevresel ve genetik risk faktörlerinin varlığında artış gösterir (Genco ve Borgnakke, 2013). Histolojik incelemeler bu evrede de kollajen yıkımının devam ettiğini göstermektedir. Cep epiteli ve dişeti cebinde nötrofiller baskın hücre grubu iken, bağ dokusunda plazma hücreleri yoğunluktadır (Zappa, 1995). Birleşim epiteli, kollajen yıkımını takip ederek diş kök yüzeyi boyunca apikale doğru göç eder. Bu hareketin amacı, intakt bir epitelyal bariyer oluşturmaktır (Saglei ve ark., 1982). Bununla birlikte başlayan osteoklastik kemik rezorpsiyonun, amacı kemiğin enflamatuvar lezyondan uzaklaşarak bakterilerin kemiğe invaze olmasını engellemektir (Bartold ve ark., 2010).

Cep derinleştikçe, bakteriler apikale doğru göç ederler. Periodontopatojenlerin derin ceplerde görülme sıklığı daha fazladır (Kigure ve ark., 1995; Kuboniwa ve Lamont, 2010). Periodontal cep, vücut dışı bir ortamdır; ancak bakteriler için sağladığı koruyucu, sıcak, nemli, anaerobik ve besin açısından zengin koşulları nedeni ile oldukça hayati bir öneme sahiptir (Maiden ve ark., 1998). Bu bölgedeki bakteri popülasyonu, enflamatuvar yanıtın neden olduğu kayda değer bir azalma göstermez. Bu nedenle kronik enflamasyon ve buna bağlı doku yıkımı ile subgingival biyofilm gelişimi arasında kısır bir döngü oluşur. Daha açık bir ifade ile doku yıkımı ile oluşan metabolik artıklar, bakteriler için besin kaynağı olurken, bakteriler de doku yıkımını tetikleyen konak yanıtı için sürekli uyaran görevi görürler. Periodontal ligamentteki kollajen fiberlerin yıkımı devam eder (Gemmel ve Seymour, 1994; Dickinson ve ark., 2011). Kemik rezorpsiyonu gelişir, birleşim epiteli intakt bir bariyer oluşturmak için apikale göçünü sürdürür (Cochran, 2008; Myneni ve ark., 2013). Periodontal cebin derinliğinin artması, oral hijyen uygulamalarının mikrobiyal dental plağı uzaklaştırmakta yetersiz kalacağı bir ortam oluşturur (Hellström ve ark., 1996; Petersilka ve ark., 2002; Preshaw ve Taylor, 2012).

## 2.2. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıtı

Periodontal hastalığın gelişimi ve ilerleyişi, oral patojenlere karşı oluşan immunoenflamatuvar yanıt ile ilişkilendirilmektedir. Periodontopatojenler zararlı yan ürünler ve enzimler (hyaluronidaz, kollajenaz, proteaz) üreterek kollajen gibi ekstrasellüler elemanları, yıkıma uğratırlar. Aynı şekilde konak hücre membranlarına da zarar verirler (Potempa ve ark., 2000). Böylece kendileri için gerekli besinleri sağlamanın yanı sıra dokulara invaze olabilmek içinde kendilerine ortam hazırlamış olurlar. Birçok bakteri yüzey proteini ve LPS molekülü, konak immün yanıtına ve lokal doku enflamasyonuna sebep olur. *P. gingivalis*, *A. Actinomycescomitans* ve diğer bazı periodontopatojenler sitoplazmik membranlar, peptidoglikanlar, dış zar proteinleri, LPS, kapsül ve fimbrialar gibi çeşitli virülan faktörlere sahiptirler. İmmünoenflamatuvar süreç bir kez başladığında MMP'lar, diğer konak enzimleri, sitokinler ve prostoglandinler gibi çeşitli enflamatuvar moleküller, lökositler, fibroblastlar ve diğer doku kaynaklı hücreler tarafından serbestlenirler (Kinane ve ark., 1999). Proteinazlar, periodontal dokulardaki kollajeni yıkarak lökosit infiltrasyonunun gerçekleşebileceği yollar açarlar. Kollajenaz üretimi, bölgeye infiltre olan nötrofiller ve periodontal doku hücreleri tarafından oluşturulan doğal konak yanıtın bir parçası olsa da periodontal hastalıkta doku yıkımına sebep olan MMP'lar ve inhibitörleri arasında bir dengesizlik söz konusudur (Reynolds ve Meikle, 1997; Butler ve Overall, 2013).

### 2.2.1. Periodontal Doku Yıkımı ve Mediyatörler

Periodontitis, oral patojenlerin konağa bağlı doku yıkımıyla sonuçlanan, birçok enflamatuvar sinyal yolunu indüklemesi ile oluşur. Periodontal doku yıkımındaki mekanizmaları anlayabilmek için araştırmacılar, bu süreç üzerine etkili molekülleri incelemeye yönelmişlerdir (Graves ve Cochran, 2003). Bu bağlamda, farklı hücre tipleri tarafından salınan ve sitokinlerin de içinde bulunduğu birçok mediyatör, araştırılmış ve araştırılmaktadır (Graves ve Cochran, 2003). Sitokinler, lökositler ve endotelial hücreler üzerinde bulunan ve lökositlerin dolaşım sisteminden ayrılarak dokulara geçişini sağlayan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırlar ve düzenlerler (Van Dyke ve Hoop, 1990; Graves ve ark., 1998). IL-1 ve TNF gibi primer mediyatörlerin indüksiyonu, kemotaktik sitokinler ve prostoglandin üretimine neden olan siklooksijenazlar gibi sekonder moleküllerin üretimini stimüle eder. Bu olaylar zinciri

enflamatuvar yanıtın artması, doku yıkımı ve osteoklastik kemik rezorbsiyonuna neden olan enzim ve moleküllerin aktif hale geçmesine sebep olur. Yapılan çalışmalar, prostoglandinlerin konak yanıtına bağlı kemik yıkımında önemli rol oynadığını göstermiştir (Nyman ve ark., 1979; Williams ve ark., 1985). Ayrıca sitokinler ve periodontal doku kaybı arasındaki sebep-sonuç ilişkileri araştırılmış ve kanıtlanmıştır (Assuma ve ark., 1998; Delima ve ark., 2001; Graves ve Cochran, 2003). Bu çalışmalar; periodontal doku yıkımı ile ilişkili sitokinlerin ve kuramsal hipotezlerin yeniden değerlendirilmesine ve yeni hipotezlerin kurulmasına olanak sağlamıştır (Graves ve Cochran, 2003). Bunlara ek olarak; bakteri uyarısı sonucu oluşan sitokin üretiminin, bağ dokusu hasarını onaran hücreler olan fibroblast hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri de tartışılan konular arasındadır (Graves ve ark., 2001)

IL-1; proenflamatuvar bir sitokin olup enflamasyon esnasında eksprese edilen birçok gen üzerinde direk düzenleyici etkiye sahiptir (Dinarello, 1996). IL-1'in agonist aktivite gösteren interlökin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) ve İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) olarak isimlendirilen, iki ana formu bulunmaktadır. Hedef hücreler üzerinde iki farklı IL-1 reseptörü bulunur ve bunlar interlökin-1-reseptör1 (IL-1R1) ve interlökin-1-reseptör2 (IL-1R2) olarak tanımlanır. IL-1'e duyarlı birçok mekanizma yoğun olarak IL-1R1 üzerinden işlev görür (McMahan ve ark., 1991; Greenfeder ve ark., 1995; Cullinan ve ark., 1998). IL-1R2 daha çok tuzak reseptör işlevindedir. Bu işlev sadece IL-1R2'nin çözülebilir formu için geçerlidir ve IL-1 moleküllerini hücre yüzeyindeki IL-1R1 ile etkileşime girmeden bağlanması ile gerçekleşir. IL-1R2'nin hücresel aktiviteyi yönlendirebildiği (Chou ve ark., 2000) ve enflamasyon bölgelerinde hücrelerden ayrılarak, IL-1 için endojen bir inhibitör olarak işlev görebildiği bildirilmiştir (Collata ve ark., 1993).

IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  fonksiyonlarında ve/veya IL-1R1 ekspresyonlarında defekt oluşturulmuş hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalar, bu moleküllerin incelenmesi için temel oluşturmuştur. IL-1 aktivitelerinde defekt oluşturulan farelerin, zayıflamış bir enflamatuvar yanıt gösterdikleri ve enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Labow ve ark., 1994). IL-1R1 defekti bulunan farelerde yapılan araştırmalar ise bu reseptörün enflamatuvar süreçler üzerindeki etkilerini aydınlatmaya yardımcı olmuştur (Labow ve ark., 1994; Glaccum ve ark., 1997). Farelerin gelişiminde bir anormallik görülmemekle birlikte, ekzojen antijenlere karşı antikor oluşturmalarında da bir bozukluk saptanmamıştır. Ancak IL-1 ile ilgili fonksiyonların enfeksiyonların

yayılmasını önlemede önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır. Endodontik bir enfeksiyonun bile, IL-1 reseptör anomalisi olan farelerde ölümcül sonuçlara yol açabildiği bildirilmiştir (Graves ve ark., 2000).

IL-1' in astım, konjestif kalp yetmezliği, artrit, septik şok ve erken doğum gibi birçok rahatsızlığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir (Dudley, 1994; Okada ve ark., 1995). Periodontal hastalığın patogeneğinde de önemli role sahip bu molekülün izotipleri periodontitisten etkilenen bölgelerde artış göstermektedir (Hanazawa ve ark., 1985; Jandinski ve ark., 1991; Kinane ve ark., 1992). Sıçan modellerinde dişetine IL-1 uygulaması yapıldığında enflamasyonun ve kemik yıkımının arttığı görülmüştür (Koide ve ark., 1995). IL-1'in genetik polimorfizminin ise periodontal hastalığa karşı duyarlılığı arttırdığı kanıtlanmıştır (Kornmann ve ark., 1997; Laine ve ark., 2001; Thomson ve ark., 2001).

TNF terimi, TNF- $\alpha$  ve Tümör Nekroz Faktörü- $\beta$  (TNF- $\beta$ ) adlı iki benzer molekülü ifade eder. TNF, yapısal olarak benzerlik gösteren Tümör Nekroz Faktörü Reseptör 1 (TNFR1) ve Tümör Nekroz Faktörü Reseptör 2 (TNFR2) olmak üzere iki hücre yüzey reseptörüne bağlanarak işlev gösterir (Pfizenmaier ve ark., 1996). Bu reseptörler farklı sitoplazmik bölgelere sahip olduklarından ayrı sinyal yollarını aktive ederler. Enflamatuvar etkilerin birçoğu, TNFR1 yolu üzerinden aktivite gösterir. TNFR2' nin TNF tarafından uyarılmış enflamatuvar yanıtı azaltıcı etkileri in-vivo olarak gösterilmiştir (Amar ve ark., 1995; Peschon ve ark., 1998). Deneysel kanıtlar, TNF'nin mikrobiyal patojenlere karşı dirençte rol oynadığını göstermiştir (Tartaglia ve Goeddel, 1992; Ferrante ve ark., 1993). TNFR1 ve/veya TNFR2 fonksiyon bozukluğu olan farelerin periferik lenfoid organ gelişimlerinde, anormallikler olduğu saptanmıştır ve bu hayvanların enfeksiyonlara karşı çok duyarlı oldukları gösterilmiştir (Matsumoto ve ark., 1996; Peschon ve ark., 1998; Chen ve ark., 1999).

Hastalık patogenezi ve enflamatuvar sitokinler arasındaki sebep sonuç ilişkisi IL-1 veya TNF antagonistlerinin kullanıldığı araştırmalar ile açıklığa kavuşturulmak istenmiştir. Bu antagonistler, İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti (IL-1ra), IL-1 veya TNF ye özel çözülebilir reseptörler ve monoklonal antikolar gibi polipeptitlerdir. IL-1 veya TNF baskılayıcılarının, deneysel artrit ve sepsiste, enflamatuvar barsak hastalığında ve doku transplantasyonlarında oluşan enflamatuvar yanıtı inhibe etme özelliğine sahip

oldukları görülmüştür (McCarthy ve ark., 1991; Rogler ve Andus, 1998; Brown ve ark., 1999; Maini ve ark., 2000; Dayer ve ark., 2001).

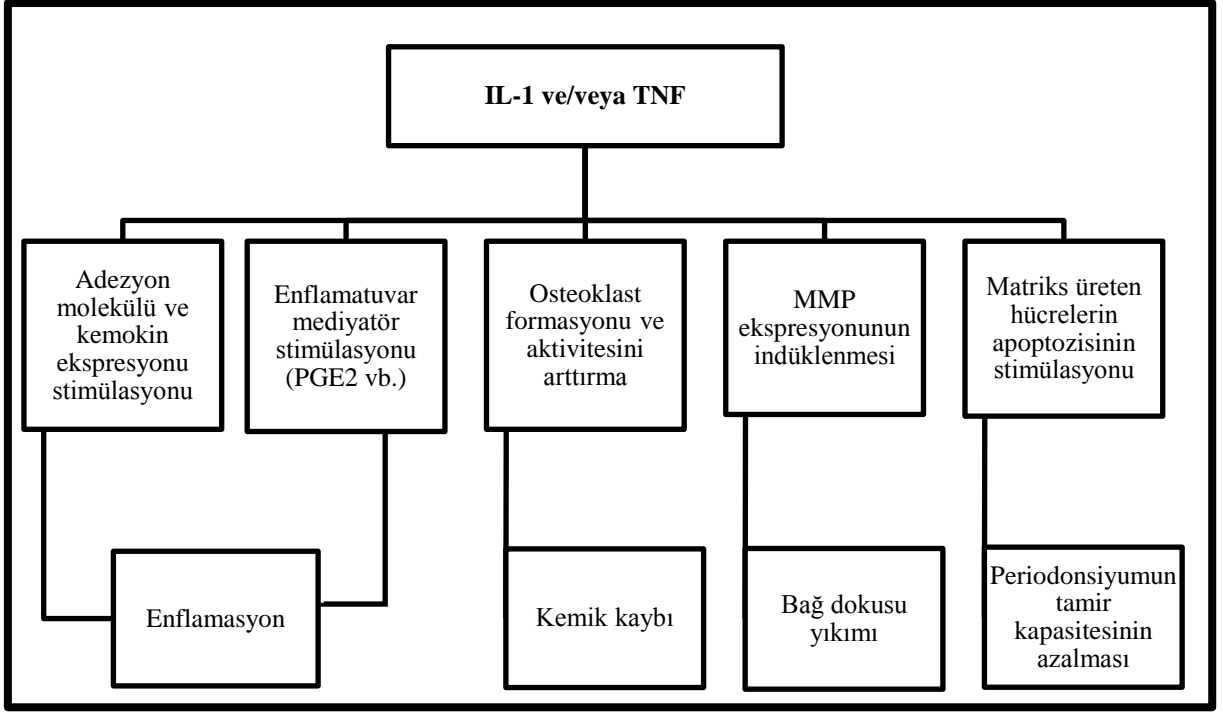
IL-1 ve TNF, birçok hücre tipi tarafından üretilir (Tablo 1). Bu sitokinlerin doku yıkımıyla sonuçlanan enflamatuvar cevabın gelişiminde rol oynadıkları ise birçok araştırma tarafından gösterilmiştir (Ridderstad ve ark., 1991; Feghali ve Wright, 1997; Jacobs ve ark., 2001). Lökositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttıran bu sitokinlerin, lökositlerin dokular içerisinde ilerlemesini sağlayan kemokinlerin salınımını da arttırdığı bilinmektedir. IL-1 ve TNF, enflamatuvar yanıtı arttırıcı ve/veya devamlılığını sağlayan prostoglandinler ve MMP'lar gibi litik enzimlerin üretimini uyarırlar. Bunun yanında fagositik aktiviteyi ve bakterilerin öldürülme hızını arttırırlar (Dinarello, 1996; Pfizenmaier ve ark., 1996). Daha da önemlisi kemik yıkımını arttırıcı sinerjik etki gösterirler (Stashenko ve ark., 1987). Periodonsiyum; hasar sonrası tamir kapasitesi yüksek bir doku olmasına rağmen, bazı durumlarda sitokinler matriks üreten hücreleri apoptozise zorlayarak, tamir süreçlerini sınırlandırır (Amin ve ark., 2000; Hock ve ark., 2001). IL-1 ve TNF'ün periodontal dokular üzerine etkileri Şekil 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Periodontal hastalıkta işlev gören IL-1 ve TNF'ün hücrel kaynakları (Graves ve Cochran, 2003'ten modifiye edilmiştir)

---

Monositler/Makrofajlar
Polimorfonükleer lökositler
Fibroblastlar (gingival ve periodontal ligament)
Epitel Hücreleri
Endotel hücreleri
Osteoblastlar

---



Şekil 1. IL-1 veya TNF'ün periodontal doku hasarına yol açma mekanizması (Graves ve Cochran, 2003' ten modifiye edilmiştir)

### 2.2.2. LPS' lerin Periodontal Dokular Üzerindeki Etkileri

*P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans* LPS'lerinin, kronik periodontitis oluşumunda kilit role sahip olduğu kabul edilmektedir. LPS indüksiyonu lokal enflamatuvar hücrelerin bölgeye göçü, prostonoidler ve sitokinlerin üretilmesi, litik enzimlerin aktif hale geçmesi ve osteoklastik aktivitenin artmasını içeren lokal konak yanıtı başlatır (Hirschfeld ve ark., 2000; Bainbridge ve Darveau, 2001).

LPS ekstrasellüler moleküller ve Toll-like reseptör-4 (TLR4)'ün öne çıktığı hücre yüzey reseptörleri gibi konak tarafından eksprese edilen polipeptidler tarafından algılanır (Kawai ve Akira, 2009). LPS gibi stimülatörlerin, gen transkripsiyonu ve protein yapımı gibi hücresel cevaplarda, molekül reseptör etkileşimlerinde ve hücre içi sinyal yollarında nasıl etkiler yarattıkları açıklığa kavuşmuştur (O'Neill ve Bowie, 2007; Kawai ve Akira 2009). Ancak bu bilgilerin çoğu, *Escherichia coli* LPS'i ve sentetik Toll-like reseptör ligandları ile yapılan çalışmalardan elde edilmiş verilerdir. Periodontal hastalıklar gibi polimikrobiyal hastalıkların patogeneğinde LPS'lerin ve Toll-like reseptörlerin rollerini, farklı mikrobiyal moleküllerin Toll-like reseptörler ile nasıl bir etkileşim içinde olduğunu anlamakla ortaya konabileceğini düşünen

araştırmacılar, Toll-like reseptör sinyal yollarını modifiye edici farmakolojik ajanlar ile çalışmalar yapmışlardır (Carpenter ve ark., 2007; Darveau, 2009; O'Neill ve ark., 2009).

*P. gingivalis* LPS'i *E.coli* LPS inden farklı olarak yapısında kendine özgü bir lipid A bileşeni bulundurur (Ogawa, 1993). *P. gingivalis* LPS' sinin heterojen özellikte olması Toll-like reseptör ile farklı yollarla etkileşime geçmesini sağlar (Hajishengallis ve ark., 2002; Darveau ve ark., 2004; Dixon ve Darveau, 2005). Bu yüzden, TLR4'ün yanı sıra TLR2' ye de bağlanma özelliğine sahiptir (Hajishengallis ve ark., 2002, Ogawa ve ark., 2002; Darveau ve ark., 2004, Dixon ve Darveau, 2005). Ayrıca, hücreye bağlanan diğer bakteri LPS'leri ile antagonist veya agonist etki gösterebilir (Darveau ve ark., 2002, Hajishengallis ve ark., 2002, Yoshimura ve ark., 2002). *P. gingivalis* ortamda hemin bileşeni bulunduğunda biyolojik aktivitesini ve Lipid A yapısını değiştirebilme yeteneğine sahiptir (Champagne ve ark., 1996; Cutler ve ark., 1996; Al-Qutub ve ark., 2006). Ortamdaki hemin konsantrasyonunun yüksek ya da düşük olması, LPS'nin TLR4 için antagonist veya agonist olmasına sebep olabilir (Coats ve ark., 2003; Coats ve ark., 2005, Reife ve ark., 2006). LPS'lerin konak hücrelerini etkileme yolları çok çeşitli ve karmaşık olup Toll-like reseptör yolu ile aktivasyon bu yollardan sadece bir tanesidir (Dixon ve Darveau, 2005).

İmmünolojik çalışmalar *P. gingivalis* ve *E. coli* bakteri LPS' lerinin farklı immün yanıtları indükledikleri bildirilmiştir (Dixon ve ark., 2004). Bunun yanında *P. gingivalis* LPS'inin daha düşük biyolojik aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır (Dixon ve Darveau, 2005). Ancak *P.gingivalis* LPS'inin fibroblastlar, nötrofiller ve epitel hücreleri üzerinde etkisini, birçok proenflamatuvar sitokinin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8 ve IL-6) üretimini indüklenmesi yoluyla gösterdiği bildirilmiştir (Lamont ve Jenkinson, 1998).

*P. gingivalis* LPS'inin farklı formlarının endotelial hücrelerinin gen ekspresyonu üzerindeki etkileri çalışılmış ve *E. coli* LPS'i tarafından modifiye edilen gen ekspresyonlarının sadece küçük bir kısmının *P. gingivalis* tarafından da değişikliğe uğratılabildiği görülmüştür (Chen ve ark., 2007). Ancak bu genlerin, doğal bağışıklık ile ilgili komponentleri de kontrol edebildiği kanıtlanmıştır. Örneğin her iki bakteri (*E. coli* LPS'si daha güçlü olmakla birlikte) LPS'sinin de IL-8 gen ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür (Chen ve ark., 2007).



*P. gingivalis* LPS'inin, monositler üzerindeki TLR4'e ve TLR2'ye bağlanması sonucu, her iki reseptörün birden aktive olmasıyla, monositlerin makrofaja (Baqui ve ark., 1999), dönüşme hızlarında artış gözlenmiştir (Hajishengallis ve ark., 2002; Muthukuru ve ark., 2005; Foster ve ark., 2007). *P. gingivalis*, *E. coli* LPS'si ile benzer etkilere sahip olsa da kinetik olarak kantitatif farklılıklar gösterir (Foster ve ark., 2007). *P. gingivalis*, makrofaj kümelerinin dişetinde birikimine sebep olan ve daha sonraki immünolojik süreçleri etkileyebilecek farklılıklara sahiptir (Carayol ve ark., 2006; Nares ve ark., 2009).

*P. gingivalis* LPS'inin immün miyeloid hücreler üzerindeki etkileri sayesinde, bu hücreler tarafından üretilen sitokinler aracılığı ile T-hücre aktivasyonunu değiştirerek, kazanılmış bağışıklık üzerinde de etki gösterebildiği bildirilmiştir (Pulendran ve ark., 2001).

### **2.3. Periodontal Hastalıklarda Konak Yanıt Modülasyonu**

Periodontal hastalığın patogenezi tam olarak anlaşılamamış olsa da, bu hastalığın enfeksiyöz olduğu ve bakterilere karşı gösterilen konak immün ve enflamatuvar yanıt vasıtasıyla doku yıkımının gerçekleştiği çok net bir şekilde açıklığa kavuşturulmuştur (Offenbacher, 1996). Bu açıdan bakıldığında periodontal hastalığın tedavisine yardımcı olmak amacı ile kullanılan tedavi edici ajan stratejileri, iki farklı gruba ayrılır. Bu stratejilerden biri antimikrobiyal tedavileri içerirken, bir diğeri ise konak yanıtını modüle etmeyi amaçlayan yöntemleri kapsar (Kirkwood ve ark., 2007). Periodontal hastalığın primer etyolojik faktörü olarak bilinen mikrobiyal dental plak içeriğindeki periodontopatojenler ve ürünlerinin mekanik ve kimyasal yöntemlerle azaltılmasına yönelik uygulamalar, periodontal hastalığa sahip bireylerin tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Greenwell, 2001).

Günümüzde konak immünoenflamatuvar yanıt mediyatörlerinin hastalık gelişimindeki rolleri üzerine yapılan çalışmalar sayesinde, periodontal tedaviye ek olarak kullanılan modülasyon ajanı araştırmalarında da artış görülmektedir (Kirkwood ve ark., 2007). Bu ajanlar üzerinde yapılan araştırmaların, proteolitik enzimlerin, proenflamatuvar mediyatörlerin ve osteoklast aktivitesinin inhibisyonu veya bloke edilmesindeki etkilerinin ortaya konması, prelinik ve klinik olarak umut vaadeden sonuçların elde edilmesini sağlamıştır (Reddy ve ark., 2003).

Konak modüle edici ajanların periodontal tedavide kullanımını; antiproteinazlar, antienflamatuvarlar ve kemik koruyucular olarak üç ana başlık altında değerlendirmek mümkündür. Periodontal dokularda bulunan en önemli proteolitik enzimlerin; kollajenazlar, jelatinazlar ve metalloelastazları içeren MMP'lar olduğu bilinmekle birlikte, bu molekülerin fibroblast, keratinosit, makrofaj, nötrofil ve endotel hücreleri tarafından üretilerek, ekstrasellüler matriksin yapım ve yıkımında rol oynadığı da kanıtlanmıştır (Birkedal-Hansen, 1993). Patolojik durumlarda makrofajlar tarafından üretilen IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinlerin çeşitli MMP'ların periodontal dokulardaki lokal üretimini arttırdığı bildirilmiştir (Preshaw ve ark., 2004). 1985 yılında tetrasiklinlerin antikollajenolitik aktivitesinin keşfiyle bu preparat, periodontal tedavi için konak modüle edici bir ajan olarak önerilmeye başlanmıştır (Golub ve ark., 1985). Konu ile ilgili ilk çalışmaları yapan araştırmacılar, doksisisiklinin kollejenolitik aktivite inhibisyonunda rol alan en yüksek potansiyele sahip tetrasiklin grubu olduğunu göstermişlerdir (Burns ve ark., 1989). Doksisisiklinlerin bu özelliği, düşük veya subantimikrobiyal dozda kullanıldıklarında kollajenaz aktivitesini, antibiyotik direnci gelişmeden inhibe etmelerine olanak sağlamıştır (Golub ve ark., 1990).

Çeşitli klinik çalışmalarda; periodontal hastalık tedavisinde, diş yüzeyi temizliğine ek olarak kullanılan subantimikrobiyal doz doksisisiklinin sağladığı faydalar incelenmiştir. Diş yüzeyi temizliğine ek olarak kullanılan subantimikrobiyal doz doksisisiklinin, herhangi bir ciddi yan etki göstermeden, uzun dönemde, cep derinliğinde plasebo ilaç gruplarına göre anlamlı bir azalma gösterdiği bildirilmiştir (Golub ve ark., 1990; Ashly, 1999; Cotan ve ark., 2000; Golub ve ark., 2001; Novak ve ark., 2002; Preshaw ve ark., 2002; Reddy ve ark., 2003; Emingil ve ark., 2004; Gapski ve ark., 2004; Lee ve ark., 2004; Preshaw ve ark., 2004; Gurkan ve ark., 2005). Daha güncel çalışmalardan elde edilen sonuçlar, subantimikrobiyal doz doksisisiklin tedavisinin farmakolojik temelini güçlendirmiştir. Bu tedavi yönteminin, dişeti oluşu sıvısındaki matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8), matriks metalloproteinaz-13 (MMP-13) ve çapraz bağlı tip I kollajen karboksiterminal telopeptidi (ICTP) seviyelerini plasebo uygulamalara göre anlamlı bir şekilde düşürdüğü görülmüştür (Emingil ve ark., 2004; Gapski ve ark., 2004; Lee ve ark., 2004; Gurkan ve ark., 2005).

MMP-8, hastalıklı periodontal dokularda bulunan ve kollajen yıkımından sorumlu olan en baskın kollajenazdır (Sorsa ve ark., 1988; Weiss, 1989). Mekanik periodontal tedavi, MMP-8 seviyesini tek başına düşürebilse de; tedaviye ek olarak kullanılan subantimikrobiyal doz doksisisiklinin, bu düşüşü daha da arttırdığı bildirilmiştir (Gapski ve ark., 2004). MMP-13 ve çapraz bağlı ICTP moleküllerinin, kemik yıkımı ile ilişkili olması ile birlikte; subantimikrobiyal doz doksisisiklin tedavisi ile azalış göstermeleri, bu preparatın kemik koruyucu fonksiyonlarını açıklar niteliktedir (Gapski ve ark., 2004).

Periodontal hastalık sonucu oluşan konak yanıtı inhibe eden ilaçların farklı bir türü de nonsteroidal antiinflamatuar ilaç (NSAID)'lardır (Jeffcoat ve ark., 1995; Bragger ve ark., 1997; Cavanaugh ve ark., 1998; Bichara ve ark., 1999). Bu ajanların prostanoit formasyonunu önledikleri gösterilmiştir. Bu süreçte hücre membran fosfolipitlerinin, doku yıkımı veya stimülasyonu sonucu tetiklenen siklooksijenaz veya lipooksijenaz yolları ile parçalanmasıyla oluşan araşidonik asit metabolitlerinin potansiyel biyolojik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Offenbahr ve ark., 1993). Siklooksijenaz enzimlerinin siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) olmak üzere iki formu bulunmaktadır. COX-1, çoğu hücrede bulunan ve yapım olaylarında görev alan bir enzim iken; COX-2, enflamatuar sürece katılan hücrelerde bulunan ve uyarılabilir özellikte bir enzimdir (DeWitt ve ark., 1993). Siklooksijenaz yolu; prostoglandinler, prostosiklinler ve tromboksan gibi prostanoitlerin üretimine sebep olur. Bazı prostanoitlerin, proenflamatuar özellikleri olduğu ve enflamatuar hastalıklardaki yıkıcı süreçlerle ilişkilendirildikleri bilinmektedir (Kirkwood ve ark., 2007)

Periodontal hastalıklarda, prostoglandin-E2 (PGE2) enflamasyon ve kemik yıkımı ile ilişkilendirilmiştir (Offenbahr ve ark., 1993). Periodontal hastalığa sahip bireylerde PGE2 seviyeleri, dişeti oluşu sıvısı ve dişeti dokusunda sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Offenbahr ve ark., 1981; DeWhirst ve ark., 1983). Bunun da ötesinde dişeti oluşu sıvısı PGE2 seviyesi, hastalığın şiddetiyle ilişkilendirilmiştir (Offenbahr ve ark., 1984).

In vitro (Vane ve ark., 1971; Goldhaber ve ark., 1973; Gomes ve ark., 1976; Shimizu ve ark., 1998) ve in-vivo (Nyman ve ark., 1979; Weeks-Dybvig ve ark., 1982; Williams ve ark., 1988; Kornmann ve ark., 1990; Offenbahr ve ark., 1992) olarak

yapılan prelinik çalışmalar, NSAID'ların siklooksijenazları inhibe ederek prostanoit üretimini düşürdüklerini göstermiştir. NSAID'ların sistemik veya lokal uygulamalarının osteoklast diferansiyasyonunu ve kemik rezorpsiyonunu azalttıkları görülmüştür. Seçici NSAID'ların COX-2 üretimini inhibe ettikleri, ancak bunu gerçekleştirirken, COX-1 üzerine etki etmedikleri görülmüştür (Shimizu ve ark., 1998; Bezzera ve ark., 1999; Holzhausen ve ark., 2002; Holzhausen ve ark., 2005). Bu sayede COX-1 süpresyonu ile ortaya çıkan gastroduedonal problemler ve renal toksisite gibi olumsuz yan etkilere de yol açmamaktadırlar (Lindsley ve ark., 1990; Hawkey, 1993).

NSAID'ların klinik kullanımı ile ilgili yapılan periodontoloji çalışmaları sistemik bir derlemede bir araya getirilmiştir (Reddy ve ark., 2003). Bu derlemede NSAID'ların klinik ataşman seviyeleri veya radyolojik alveoler kret yüksekliği üzerine etkilerini inceleyen on çalışma ele alınmıştır (Williams ve ark., 1988; Heasman ve ark., 1993; Reddy ve ark., 1993; Haffajae ve ark., 1995; Flemming ve ark., 1996; Bragger ve ark., 1997; Cavanaugh ve ark., 1998; Ng ve Bissada 1998; Bichara ve ark., 1999). Bu çalışmalarda; fluriprofen, meklofenamat, ibuprofen, ketorolaz, naproksen ve aspirin gibi farklı NSAID'lar sistemik veya lokal olarak uygulanmıştır. Veriler; heterojen olup meta analiz için uygun bir zemin oluşturmamakla birlikte sınırlı sayıdaki kantitatif analizler, konvansiyonel tedaviye ek olarak NSAID kullanımının kemiğin korunmasında fayda sağlayabileceğini düşündürmüştür (Williams ve ark., 1988; Heasman ve ark., 1993; Reddy ve ark., 1993; Jeffcoat vve ark., 1997; Cavanaugh ve ark., 1998; Reddy ve ark., 2003). Öte yandan, klinik ataşman seviyesi parametresi başarı ölçütü olarak kabul edildiğinde, olumlu sonuç alınan çalışmalarda tutarsızlıklar olduğu görülmüştür (Reddy ve ark., 2003).

Periodontal hastalıktan etkilenen bölgelerdeki en önemli hasar, alveoler kemik rezorpsiyona bağlı diş kayıplarıdır. Kemik koruyucu ilaçların kullanımı ile yıkımın azaltılması, konak modülasyon tedavilerinin farklı bir yönünü oluşturur (Kirkwood ve ark., 2007). Bisfosfonatlar, insan metabolizmasının bir ürünü olan pirofosfatlara yapısal olarak benzeyen ilaç gruplarıdır. Hidroksiapatit kristallerine bağlanarak çözünmelerini engelleyen bu ajanlar, direkt veya indirekt olarak osteoklast fonksiyonlarını engellerler (Rogers ve ark., 2000). Bisfosfonatların antirezorptif etkileri, taşıdıkları zincirlere göre değişkenlik gösterir (Rogers ve ark., 2000). Etki düzeylerine göre; birinci, ikinci ve

üçüncü jenerasyon olarak sınıflandırılırlar. Bisfosfonat tedavilerinin ana kullanım alanları osteoporöz tedavisi, Paget Hatalığı ve kemik tümörleridir (Fleish, 1997).

Hayvan peridontitis modelleri üzerinde yapılan periodontoloji çalışmalarında, bisfosfonatların alveoler kemik kaybını azalttıkları ve mineral yoğunluğunu arttırdıkları görülmüş; ancak klinik olarak bir iyileşme sağlamadıkları bildirilmiştir (Brunsvold ve ark., 1992; Reddy ve ark., 2003). Bisfosfonatların diş yüzeyi temizliğine ek olarak kullanıldığı klinik çalışmalarda (Jeffcoat ve Reddy 1996; Rocha ve ark., 2001; El-Shinnawi ve ark., 2003; Rocha ve ark., 2004; Lane ve ark., 2005) ise plasebo ilaç grubuna göre sondalama derinliğinde azalma (Rocha ve ark., 2001; Rocha ve ark., 2004; Lane ve ark., 2005), klinik ataşman kazancı (Rocha ve ark., 2001; Lane ve ark., 2005), sondalamada kanamada azalma (Rocha ve ark., 2001; Rocha ve ark., 2004; Lane ve ark., 2005), alveoler kemik kazancı (Jeffcoat ve Reddy,1996; Rocha ve ark., 2001; Rocha ve ark., 2004) ve kemik mineral yoğunluğunda artış (El-Shinnawi ve ark., 2003; Rocha ve ark., 2004) görülmüştür. Bu sonuçların bisfosfonatların periodontal tedaviye ek olarak kullanımını desteklemesiyle beraber bu ilaçların etkilerini değerlendirmek ve kesin sonuçlara varmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bisfosfonatların uzun dönem kullanımları, çene kemiğinin osteonekrozu ile ilişkilendirilmektedir (Marx, 2003; Ruggiero ve ark., 2004). Uzun dönem miyeloma veya meme kanseri tedavisi gören ve öncesinde dental problemi olduğu bilinen hastalarda bisfosfonat kullanımına bağlı çene kemiği osteonekroz insidansında artış bildirilmiştir (Durie ve ark., 2005). Bisfosfonatların potansiyel osteoklast inhibitörü olmaları, uzun dönem kullanımda kemik döngüsünü baskılayıcı etkileri nedeniyle fizyolojik mikrotravmalar da bile iyileşmeyi olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Odvina ve ark., 2005).

Konak modülasyon ajanları üzerinde yapılan çalışmalar bu preparatların göreceli olarak başarılı sonuçlar sağladığını göstermiştir. Ancak bu medikamanların olumlu yönleri kadar olumsuz etkilerinin de görüldüğü belirtilmiştir. Konak modülasyonu için en uygun ajanın ise bulunamadığı bilinmekle birlikte bu konuda yapılan çalışmalar güncelliğini korumaktadır.

## 2.4. Arctiin Maddesi

Bitkiler ve bitkilerden elde edilen farmakolojik ajanların çeşitli hastalıkları tedavisinde kullanımı, doğu kültürleri başta olmak üzere 4000 yılı aşkın süredir uygulanmaktadır (Cao ve Sun, 1998). Enflamatuvar hastalıklar geleneksel tıp yaklaşımlarına en çok konu olan patolojiler olmakla birlikte; Türkiye’deki geleneksel tedavi yöntemleri ise daha çok romatoid hastalıklar ve bu hastalıkla ilişkili enflamasyonun giderilmesi üzerine kuruludur (Erdemoğlu ve ark., 2003). Ülkemiz bulunduğu coğrafya nedeni ile birçok farmakolojik bitki türüne ev sahipliği yapmakta ve bu konu ile ilgili gelişmeler gün geçtikçe artmaktadır.

*Arctium Lappa* (Şekil 2), Asteraceae cinsinden olan ve koyu yeşil yapraklar ile karakterize 45 cm. uzunluğa erişebilen bir bitkidir. Aynı cinsten olan *Arctium minus* (Hill) *Bernh*, küçük dulavrat otu olarak bilinir ve genellikle Kuzeybatı Anadolu ve Güney Anadolu bölgelerinde yetişir (Kupicha, 1975). Türkiye Florası’nda iki alt türü bulunur. Bu alt türler *ssp. pubens* ve *ssp. minus*’tur (Şekil 3). *Arctium minus ssp.*’nin “kocaot, kokarot, kabalak, büyük kabalak, acı kabalak” diye adlandırılan yerel adları da mevcuttur. Anadolu’ da *Arctium minus* yaprakları romatoid ağrılar, ateş ve güneş çarpmasında eksternal olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1994; Fujita ve ark., 1995; Erdemoğlu ve ark., 2009; <http://vanherbaryum.yyu.edu.tr>, 2014). *Arctium minus ssp. Minus*’ un antienflamatuvar etkiye sahip olduğu ve bu özelliğinin içerdiği flavonoidlerden (izoquersitrin, rutin) ve lignanlardan (arctiin) kaynaklandığı düşünülmektedir (Erdemoğlu ve ark.,2009).

*Arctium lappa* (burdock), birçok ülkede üretimi yapılan ve sebze olarak tüketilen bir bitkidir. Ayrıca bu bitkinin tohumları geleneksel Kore Tıbbı’nda diüretik ve antienflamatuvar olarak kullanılmaktadır (Park ve ark., 2007). *Arctium lappa*’nın antienflamatuvar ve antioksidan özelliği birçok çalışmada bildirilmiştir (Yoshihiko ve ark., 1995; Lin ve ark., 1996; Park ve ark., 2007). Geleneksel Çin Tıbbı’nda da *Fructus Arctii* olarak bilinen ve *Arctium lappa* bitkisinden elde edilen bu ilaç; soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, kabakulak, kızamık, açık yaralar, egzama ve kanser tedavisinde kullanılmaktadır. İçeriğindeki arctiin maddesi ile immunolojik fonksiyonları arttıran ve antienflamatuvar olarak işlev görebilen bu bileşik (Yan ve Lee, 1993), aynı zamanda PAF antagonisti olma (Lwakami ve ark., 1992), Ca<sup>+2</sup> agonisti olma ve anti-hipertansif etki gösterme (Fujimoto ve ark., 1992; Nakamura ve Hattori, 2003) özelliklerine

sahiptir. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, arctiinin antitümör özelliklerine sahip olduğunu da ortaya koymuştur (Hirose ve ark., 2000; Takasaki ve ark., 2000; Hasumura ve ark., 2007).

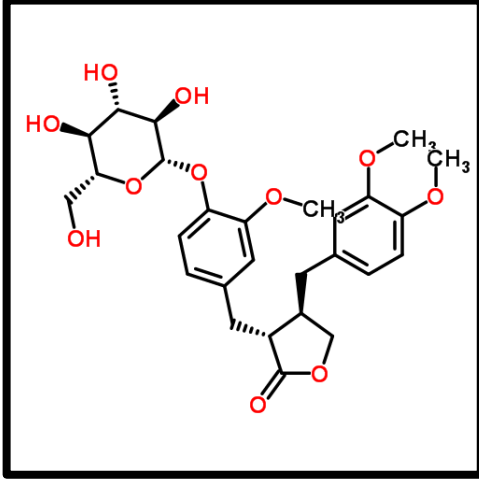


**Şekil 2.** *Arctium lappa* bitkisinin fotoğrafı ([http:// upload. wikimedia. org/wikipedia /commons/c/ca/ ArctiumLappa1.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/ca/ArctiumLappa1.jpg), 2014)'den alınmıştır



**Şekil 3.** *Arctium minus* bitkisinin fotoğrafı. (<http://vanherbaryum.yyu.edu.tr>, 2014)'den alınmıştır.

Arctiin maddesi 534,552 Da molekül ağırlığına sahip bir bileşik olup, kimyasal yapısı Şekil 4’de gösterilmiştir. “C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>11</sub>” molekül formülüne ve “4-[[[(3R,4R)-4-(3,4-Dimethoxybenzyl)-2-oxotetrahydro-3-furanyl]methyl]-2-methoxyphenyl]β-D-glucopyranoside” sistematik ismine sahip bir lignandır (Boldizár ve ark., 2010).



Şekil 4. Arctiin maddesinin moleküler yapısı (<http://www.chemspider.com/ImageView.aspx?id=90827>, 2014)’ den alınmıştır

Arctiin maddesi, *Arctium lappa* (dulavrat otu) haricinde, *Arctium minus* (löşlek) (Erdemoğlu ve ark., 2009), *Arctium tomentosum* (hanım yaması) (Zhou ve ark., 2011), *Centaurea dealbata* (mavi çiçek) (Shoeb ve ark., 2006), *Centaurea macrocephala* (sarı baş) (Shoeb ve ark., 2004), *Centaurea schischkinii* (çayır tülübaşı) (Shoeb ve ark., 2004), *Centaurea sclerolepis* (sahra kavgalazı) (Szokol-Borsodi ve ark., 2012), *Centaurea pseudoscabiosa* (yaman kavgalaz), *Centaurea arenaria* (kum düğmesi) (Csapi ve ark., 2010) gibi birçok bitkide bulunmaktadır ve adı geçen bu bitkilerin tamamı TÜBİTAK tarafından geliştirilen TÜBİVES’ne kayıtlıdır (TÜBİVES internet sitesi, 2014). Ülkemizin birçok yerinde yetişen bu bitkiler üzerinde yapılan analizler, içerdikleri arctiin miktarlarını ortaya koymuştur (Erdemoğlu ve ark., 2009; Boldizár ve ark., 2010; Csapi ve ark., 2010; Zhou ve ark., 2011; Szokol-Borsodi ve ark., 2012).

Yapılan literatür incelemesinde arctiin maddesinin antienflamatuvar etkinliği ile ilgili kısıtlı sayıda da olsa çalışmalar mevcuttur. Ancak bu maddesinin periodontal hastalık üzerine etkisiyle ilgili hiçbir çalışma bulunamamıştır (Lee ve ark., 2007; Park ve ark 2008; Wu ve ark., 2009; Lee ve ark., 2011).



Yapılan bir in vitro çalışmada, RAW 264.7 kemirgen makrofaj hücreleri, 1 gramında 47 miligram arctiin maddesi bulunan *Trachelospermi caulisin* ektratına 30 dakika boyunca maruz bırakıldıktan sonra LPS ile uyarılarak enflamatuvar cevap incelenmiş ve sonuç olarak T. caulis ekstratı'nın indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), TNF- $\alpha$  ekspresyonu ve güçlü oksijen radikallerinden olan nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Lee ve ark., 2007).

Jian-Guo Wu ve ark.'nın (2009) sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, Arctium Lappa bitkisinden izole edilen arctiin maddesinin deneysel glomerulonefrit üzerine iyileştirici bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda arctiin maddesinin, serum IL-6, TNF- $\alpha$  ve malondialdehit (MDA) değerlerini düşürebileceği, superoxide dismutase (SOD) aktivitesini arttırabileceği ve nükleer transkripsiyon faktörü (NF- $\kappa$ B)'nun deoksiribonükleik asit (DNA)'e bağlanma aktivitesi azaltabileceği gösterilmiştir.

Jee-Hun Park ve ark.'nın (2008) yaptıkları bir deneysel çalışmada, yeni bir bitkisel formül olan ve %0,8-1,6 oranında arctiin maddesi ihtiva eden SI000413' ün farelerde oluşturulmuş artrit modeli üzerine etkileri araştırmıştır. Deneysel sonuçlarına göre; SI000413'in tip iki sığır kollajeni ile aşılınmış farelerde enflamasyonun klinik semptomlarını ve antitip II kollajen antikoru sayısını azalttığı, kandaki T ve B lenfosit oranlarını arttırdığı ayrıca serumdaki IL-6 düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir.

Sungwon Lee ve ark. (2011) arctiin maddesinin, doza bağlı şekilde NO ve proenflamatuvar sitokin (IL-6, TNF- $\alpha$  ve PGE-2) üretimini baskıladığını ve uyarılmış makrofaj hücrelerinde NF- $\kappa$ B inhibisyonuna sebep olduğunu göstermişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre; arctiin maddesinin enflamatuvar hastalıklarda biyoaktif rol oynayabileceğini ve bu işlevini, NF- $\kappa$ B inaktivasyonu ile proenflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak gerçekleştirebileceğini bildirmişlerdir.

Bu bilgiler ışığında; bitkisel bir madde olan arctiinin IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın üretimini azaltarak, konak yanıtını düzenleyip, periodontal doku yıkımını ve kemik kaybını önleyebileceği veya azaltabileceği hipotezinden yola çıkarak planladığımız çalışmamızda, arctiin maddesinin periodontitis oluştuktan sonraki dönemde IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üzerine etkilerinin biyokimyasal olarak incelenmesini amaçladık.

### 3. MATERYAL ve METOT

Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 06.02.2012 tarihli ve 2012/06 numaralı kararı ile hayvan hakları ve deney etiği açısından uygun bulundu. Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.DIS.1904.12.010 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 ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD gerçekleştirildi.

#### 3.1. Çalışma Protokolü

Çalışmada 30 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 6-7 haftalık, ağırlıkları 100-117 g arasında değişen, sistemik olarak sağlıklı ve daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış sıçanlar arasından rastgele seçildi. Sıçanlar;  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve % 50 nem oranına sahip, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık bir ortamda, her bir plastik kafese tek sıçan gelecek şekilde yerleştirilerek muhafaza edildi. Standart sıçan yemi verilerek beslenme şartları eşit olacak şekilde ayarlandı (Şekli 5).



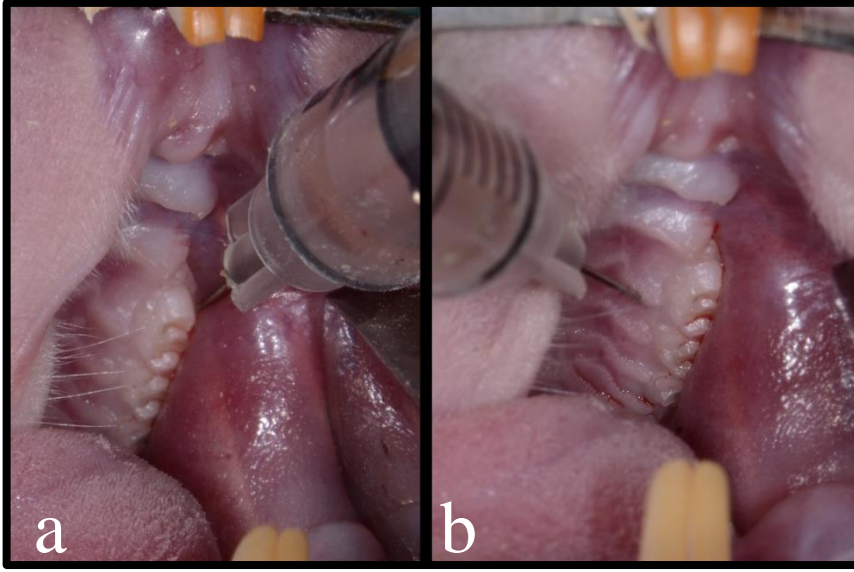
Şekil 5. Sıçanların deney süresini geçirdikleri ortam

### 3.2. Deney Grupları

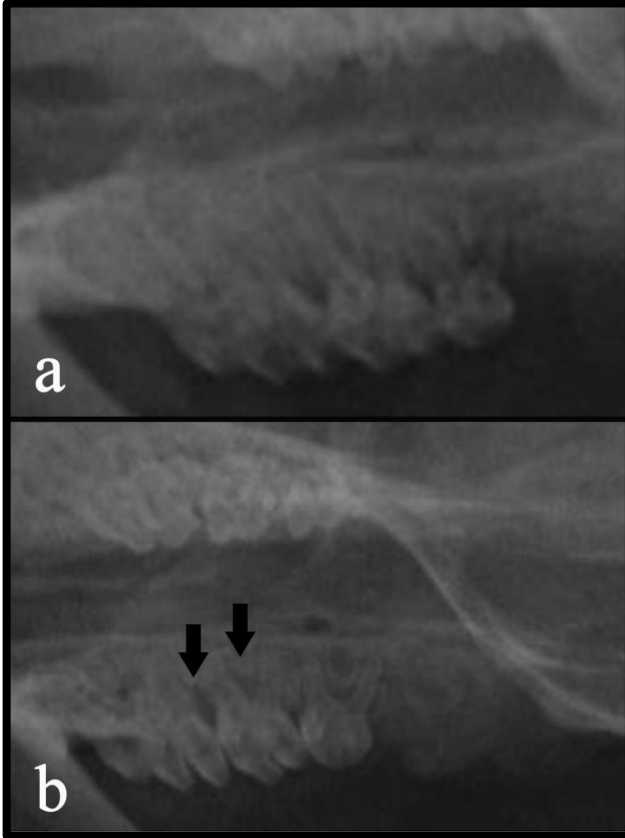
DeneySEL çalışmanın ilk aşamasında, 30 adet erkek sıçandan 10 adedi rastgele seçildi ve kontrol grubu olarak belirlendi. Geriye kalan 20 sıçan, deneysel periodontitis oluşturulmak üzere işleme alındı. Ticari olarak satın alınan ve *P. gingivalis* bakterisinden elde edilmiş LPS (InvivoGen, San Diego, CA, ABD) üretici firma direktifleri doğrultusunda; kutu içeriğindeki endotoksenden arındırılmış 1 ml. distile suyun, LPS içeren peletin bulunduğu flakona aktarılmasını takiben 10 saniye vortekslenmesiyle (VELP Scientifica 2x3, İtalya) kullanıma hazır hale getirildi. Deneysel periodontitis oluşturulacak sıçanlarda, öncelikle 75-100 mg/kg ketamin-HCl'nin intraperitoneal yolla verilmesiyle sistemik anestezi sağlandı. Daha sonra üst sol 1. molar ve üst 2. molar dişlerin interproksimal birleşim yeri hizasında, dişeti altına 30 gauge iğne uçlu insülin şıringasıyla (BD Company, New Jersey, ABD) her bir seferde bukkal ve palatinal bölgeye 10µl.'lik enjeksiyonlar yapıldı. Enjeksiyon işlemi, 48 saat aralıklarla toplam 3 kez tekrarlandı (şekil 6, 7). Aynı işlem kontrol grubunda apirojen su ile gerçekleştirildi (Kador ve ark.,2010). Böylece LPS indüklü, konak yanıtına bağlı deneysel periodontitis modeli oluşturulmaya çalışıldı. Son enjeksiyonu takip eden 24. günde, 20 sıçanın klinik (dişetinde ödem, dişeti çekilmesi) ve radyolojik bulguları incelenerek deneysel periodontitis oluştuğuna kanaat getirildi (şekil 8).



şekil 6. *P.gingivalis* LPS paket içeriği ve 30 gauge iğne uçlu insülin şıringası



Şekil 7. *P. gingivalis* LPS'in (a) bukkal ve (b) palatinal bölgedeki dişetine enjeksiyonu



Şekil 8. a) Kontrol grubunda ilk ajirojen su enjeksiyonunu takip eden 24. günde alınmış dijital radyografi; b) Periodontitis gruplarında ilk LPS enjeksiyonunu takip eden 24. günde alınmış dijital radyografi

Çalışmanın ikinci aşamasında; deneysel periodontitis oluşturulan 20 sıçan, her grupta 10 adet olacak şekilde, rastgele 2 gruba ayrıldı. Periodontitis gruplarından birine; arctiin (-) maddesini çözmek için kullanılan ve polar bir çözücü olan dimetil sülfoksitin (DMSO) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) 1/1000'lik saf su solüsyonu Tablo 1' deki sistematik dahilinde gastrik gavaj yolu ile verildi. Diğer periodontitis grubuna ise DMSO' in 1/1000'lik saf su çözeltisinde çözünmüş olan arctiin (-) (Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, ABD) maddesinin 5mg/ml yoğunlukta hazırlanan çözeltisi, 30 mg/kg' dozlarda 21 gün (Wu ve ark., 2009) boyunca Tablo 1' deki sistematik dahilinde verildi. Haftada bir gün hassas tartı (Precisa XB 220 A, Dietikon, İsviçre) ile sıçanların ağırlıkları ölçülüp, doz ayarlaması yapıldı.

Sistemik gavaj yöntemi kullanılarak sıçanların ağırlıklarına göre verilen solüsyon miktarı, aşağıdaki formül ile hesaplandı. Dozaj örnekleri Tablo 2' de gösterildi.

$$\text{Uygulanacak Solüsyon Miktarı (mL)} = \left( \frac{\text{Rat Ağırlığı (gr)}}{1000 \text{ (gr)}} \right) \times \left( \frac{\text{Doz}}{\text{Solüsyondaki Arctiin Yoğunluğu}} \right)$$

**Doz= 30 mg/kg**

**Solüsyondaki Arctiin Yoğunluğu= 5mg/mL**

**Tablo 2.** Ağırlığa göre uygulanan solüsyon miktarı örnekleri

Sıçan Ağırlığı (gr)	Gerekli Arctiin Miktarı (mg)	Uygulanan Solüsyon Miktarı (mL)
100 gr	3 mg	0,6 mL
110gr	3,3 mg	0,66 mL
120 gr	3,6 mg	0,72 mL
130 gr	3,9 mg	0,78 mL
140 gr	4,2 mg	0,84 mL
150 gr	4,5 mg	0,9 mL
160 gr	4,8 mg	0,96 mL
170 gr	5,1 mg	1,02 mL
180 gr	5,4 mg	1,08 mL
190 gr	5,7 mg	1,14 mL

Deney grupları aşağıdaki gösterilen şekilde oluşturuldu.

**Grup 1:** Dişetine apirojen su enjekte edilen ve 21 gün süre boyunca gavaj yoluyla DMSO uygulanan kontrol grubu

**Grup 2:** Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra 21 gün süre boyunca gavaj yoluyla DMSO uygulanan grup

**Grup 3:** Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra 21 gün süre boyunca gavaj yoluyla 30 mg/kg dozda arctiin uygulanan grup

### 3.3. Dişeti Örneklerinin Elde Edilmesi

Deneyin 45. gününde; tüm sıçanlar sakrifiye edilerek, üst 1. ve 2. molar dişler etrafındaki dişeti dokuları, eksizyonel biyopsi yöntemi ile alındı. Daha sonra biyokimyasal analiz aşamasına kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'deki ultra derin dondurucuda saklanmak üzere pH'ı 7,4 olan 0,01M 0,7mL fosfat tamponlu salin çözeltisi içeren 2ml'lik kapaklı saklama tüplerine (Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) konuldu.

### 3.4. Dişeti Örneklerinin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması

Biyokimyasal analizler; alınan dişeti örneklerine homojenizasyon ve santrifügasyon işlemlerinin uygulanmasının ardından elde edilen süpernatantlarda gerçekleştirildi. Homojenizasyon için pH'sı 7,4 olan 0,01M fosfat tamponu kullanıldı. Homojenizasyon 5 dakikalık iki tekrar ile gerçekleştirildi. Elde edilen homojenat,  $10000 \times G$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüm bu uygulamalar,  $0-4^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirildi (Şekil 9).



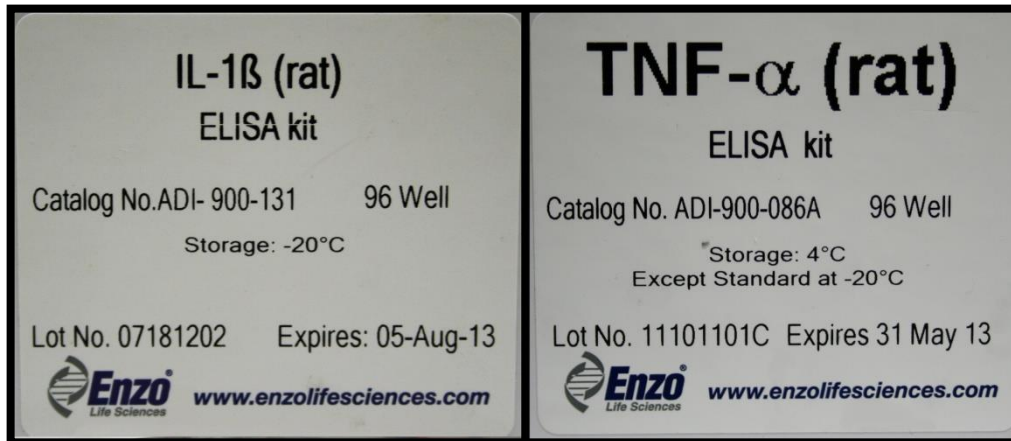
Şekil 9.  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de  $10000 \times G$ 'de 10 dakika boyunca santrifüj işleminin gerçekleştirildiği cihaz

### 3.5. Dişeti Proenflamatuvar Sitokin Seviyelerinin Belirlenmesi

Dişeti örneklerinden elde edilen süpernatantlardaki proenflamatuvar sitokin seviyelerinin biyokimyasal analiz için sıçana özgü ELISA kitleri kullanıldı, prosedürler ticari firma direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi. IL-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$  (rat), EIA kit, Catalog No. ADI-900-131, Enzo Life Sciences Int inc., New York, ABD) ve TNF- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  (rat), EIA kit, Catalog No. ADI-900-086A, Enzo Life Sciences Int inc., ABD) analizleri için kullanılan ticari ELISA kitleri ve içerikleri Şekil 10 ve Şekil 11’de gösterildi.



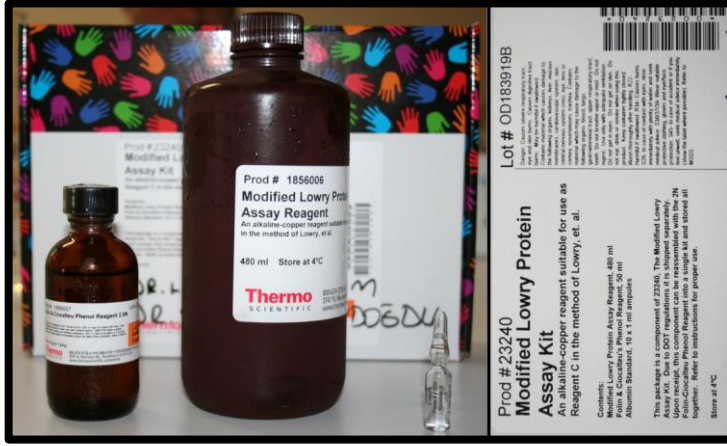
Şekil 10. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ELISA kit içerikleri



Şekil 11. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  kitlerine ait ticari bilgiler

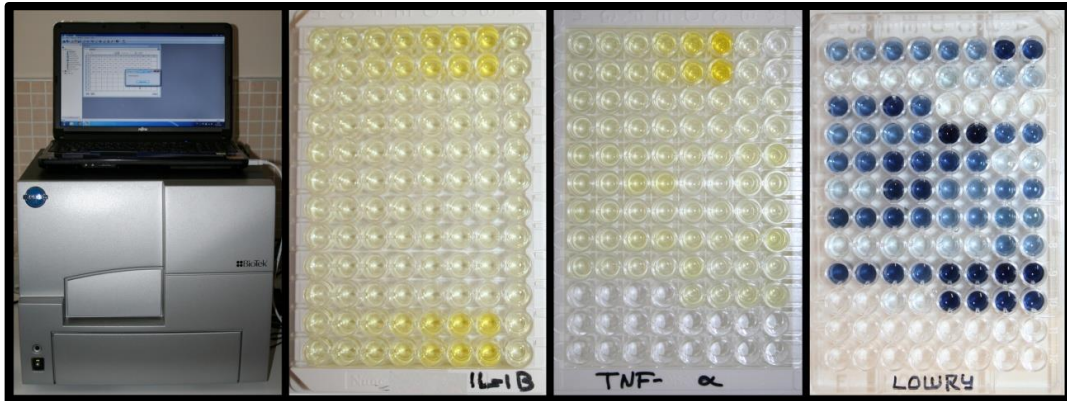
### 3.6. Dişeti Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Dişeti dokusundaki protein konsantrasyonu seviyesinin tayini amacı ile modifiye edilmiş protein tayin kiti (Modified Lowry Protein Assay Kit, Prod # 23240, Thermo Scientific, Rockford, IL, ABD) üretici firma direktifleri doğrultusunda kullanıldı ve Şekil 12’de gösterildi.



Şekil 12. Modifiye Lowry Protein Tayin Kiti içeriği ve ticari bilgileri

ELISA kitleri ve protein tayin kitine ait prosedürlerin tamamlanmasının ardından kitlere ait mikrolateler, örneklerin absorbans değerlerinin tespiti için multifonksiyonel spektrofotometre cihazına (Dalga boyları; ELISA kitleri 450nm, protein tayin kiti 750nm) alındı (Şekil 13).



Şekil 13. ELISA kitleri ve protein tayin kitinin okunduğu spektrofotometrik cihaz (Bio Tek Instruments Inc., VT, ABD) ve kitlere ait mikrolateler



Okuma işleminin ardından absorbanans değerleri, kit prosedürleri doğrultusunda elde edilen standart eğri kullanılarak konsantrasyon değerine çevrildi.

### **3.7. İstatistiksel Değerlendirme**

%99 güven aralığında, %5 duyarlılığa sahip olacak şekilde basit tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılarak, örnek büyüklüğü belirlendi. İstatistiksel analizler, SPSS versiyon 15 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu; görsel (histogram grafikleri) ve analitik yöntemler (*Shapiro-Wilk* testi) yöntemler kullanılarak incelendi. Tanımlayıcı analizler, normal dağılan değişkenler için ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verildi. Tüm veriler normal dağılıma uygunluk gösterdiğinden; gruplar arası karşılaştırmalar, tek yönlü *ANOVA* testi ile yapıldı. P-değerinin 0,05' in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan durumlarda; ikişerli post-hoc karşılaştırmalar, *Tukey* testi kullanılarak yapıldı. Tüm değişkenler normal dağıldığından; korelasyon katsayıları ve istatistiksel anlamlılıklar, *Pearson* testi ile hesaplandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlendi.

## 4. BULGULAR

Çalışma başlangıcında ve sonunda ölçülen sıçan ağırlıklarının; grup 1 (kontrol grubu) için başlangıçta  $109,03 \pm 4,89$  gr, çalışma sonunda  $182,64 \pm 9,31$  gr; grup 2 ve grup 3 (deneysel periodontitis grupları) için başlangıçta  $108,35 \pm 4,46$  gr, çalışma sonunda grup 2 (periodontitis grubu) için  $175,48 \pm 9,50$  gr, grup 3 (deneysel periodontitis + arctiin grubu)  $178,74 \pm 8,91$  gr olduğu belirlendi. Deneklerin başlangıç ağırlıkları ve son ağırlıkları gruplar arasında değerlendirildiğinde; istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ). Grup 3'e ait sıçanlardan biri deneyin 40. günde doğal yollardan ekzitus olup, kaybedildi. Ancak geride kalan sıçan sayısı, deneyi bitirmek için yeterli olduğundan çalışmaya yeni denek eklenmedi.

### 4.1. Biyokimyasal Analiz Bulguları

IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın dişeti dokusunda bulunan konsantrasyon seviyeleri ve miligram protein başına düşen miktarları belirlenerek, gruplar arası yapılan karşılaştırmalarla değerlendirildi. Ayrıca örnek standardizasyonunu sağlamak amacı ile örneklerin içerdiği protein konsantrasyon seviyeleri de tespit edildi.

Biyokimyasal analiz verileri ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 3, 4'te ve Şekil 14, 15, 16'da gösterildi.

#### 4.1.1. IL-1 $\beta$ Verilerinin Değerlendirilmesi

##### Dişeti konsantrasyon seviyesi açısından gruplar arası değerlendirme:

En yüksek IL-1 $\beta$  konsantrasyonu 2. grupta tespit edilirken, bunu sırasıyla 3. grup ve 1. grup takip etti.

1. grup ve 2. Grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu ( $P = 0,000$ ).

1. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu ( $P = 0,001$ ).

2. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $P = 0,006$ ).

**Miligram protein başına düşen IL-1 $\beta$  miktarları açısından gruplar arası değerlendirme:**

1. grup ve 2. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P= 0,000).

1. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P= 0,038).

2. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P= 0,000).

**4.1.2. TNF- $\alpha$  Verilerinin Değerlendirilmesi**

**Dişeti konsantrasyon seviyesi açısından gruplar arası değerlendirme:**

En yüksek IL-1 $\beta$  konsantrasyonu 2. grupta tespit edilirken, bunu sırasıyla 3. grup ve 1. grup takip etti.

1. grup ve 2. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P=0,000).

1. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P=0,028).

2. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P=0,021).

**Miligram protein başına düşen TNF- $\alpha$  miktarları açısından gruplar arası değerlendirme:**

1. grup ve 2. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P=0,000).

1. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P=0,000).

2. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark bulundu (P=0,000).

**4.1.3. Dişeti Protein Konsantrasyon Seviyelerinin Değerlendirmesi**

1. grup ve 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P=0,031).

1. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (P=0,973).

2. grup ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (P=0,059).

#### **4.2. Korelasyon Analizi Sonuçları**

Parametreler arası korelasyon analizi sonucunda elde edilen veriler, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  parametreleri arasında korelasyon olduğunu gösterdi ( $P < 0,005$ ). IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  konsantrasyon seviyeleri ile protein konsantrasyon seviyeleri arasında korelasyon görülmezken ( $P > 0,05$ ); IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  miligram protein başına düşen miktarları ile protein konsantrasyon seviyeleri arasında korelasyon olduğu görüldü. Korelasyon matrisi, Tablo 5'te gösterildi.

**Tablo 3.** Verilerin gruplara göre dağılımını gösteren tablo

GRUP	IL-1 $\beta$ (pg/mL)	IL-1 $\beta$ (pg/mg protein)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mg protein)	Protein Konsantrasyonu (pg/mL.)
Grup 1 N=10	70,95 $\pm$ 10,21	53,69 $\pm$ 7,29	108,72 $\pm$ 28,52	81,19 $\pm$ 16,33	1,35 $\pm$ 0,27
Grup 2 N=10	117,03 $\pm$ 16,44	127,33 $\pm$ 27,59	231,65 $\pm$ 63,11	242,29 $\pm$ 20,41	0,97 $\pm$ 0,34
Grup 3 N=9	95,82 $\pm$ 13,43	74,95 $\pm$ 10,75	168,72 $\pm$ 44,10	130,12 $\pm$ 20,25	1,31 $\pm$ 0,31

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi

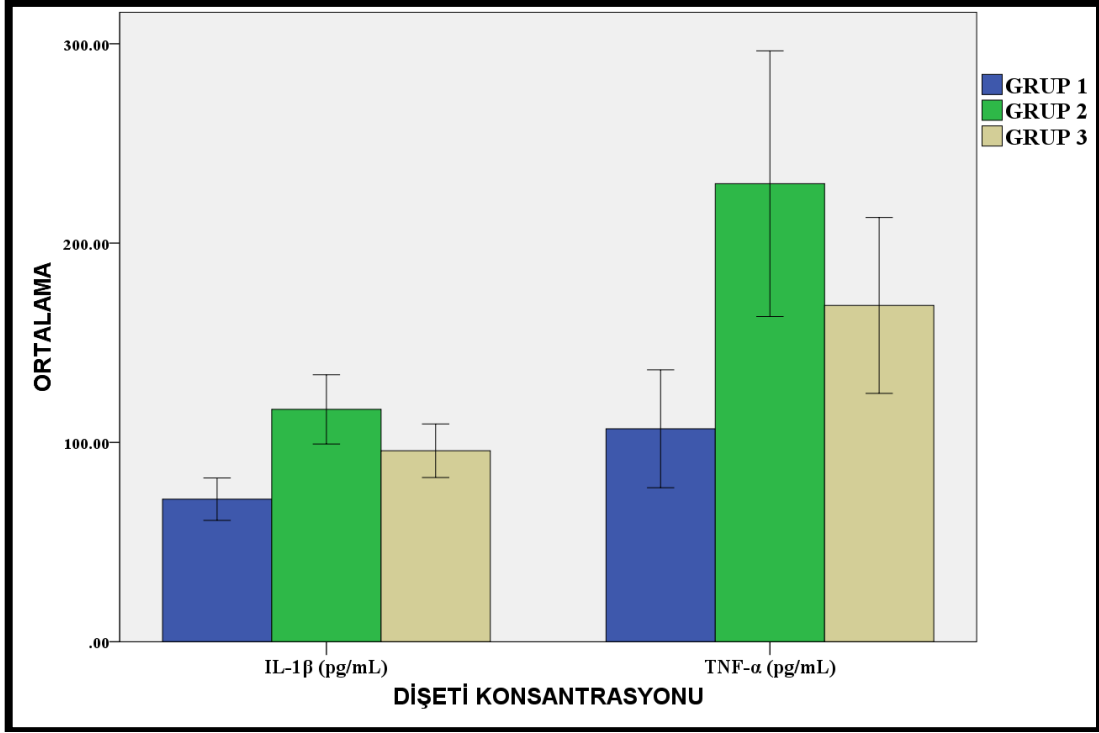
**Tablo 4.** Gruplar arası karşılaştırmalar

GRUP $\eta$	IL-1 $\beta$ (pg/mL)	IL-1 $\beta$ (pg/mg protein)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mg protein)	Protein Konsantrasyonu (pg/mL.)
p değeri					
Grup 1-Grup 2 $\phi$	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**	0,031*
Grup 1-Grup 3 $\phi$	0,001**	0,038*	0,028*	0,000**	0,973
Grup 2- Grup3 $\phi$	0,006*	0,006*	0,021*	0,000**	0,059

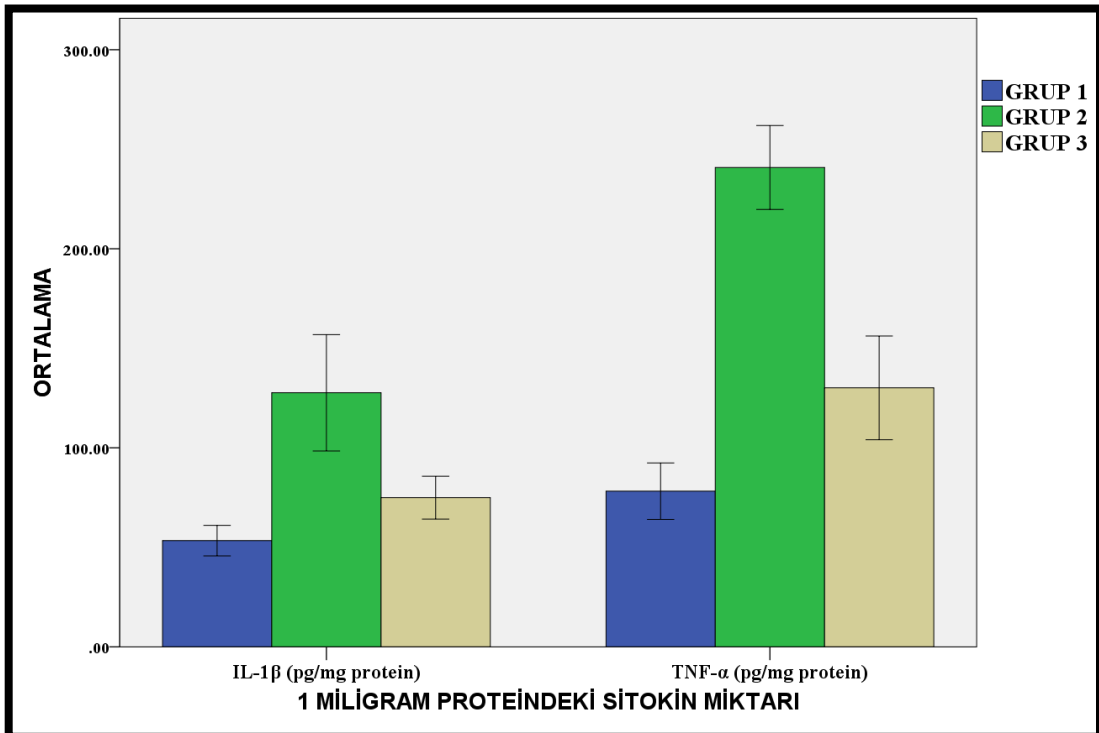
$\eta$ =Tek yönlü ANOVA testi;  $\phi$ =Post hoc TUKEY testi

\*= İstatistiksel olarak anlamlı fark var p<0,05

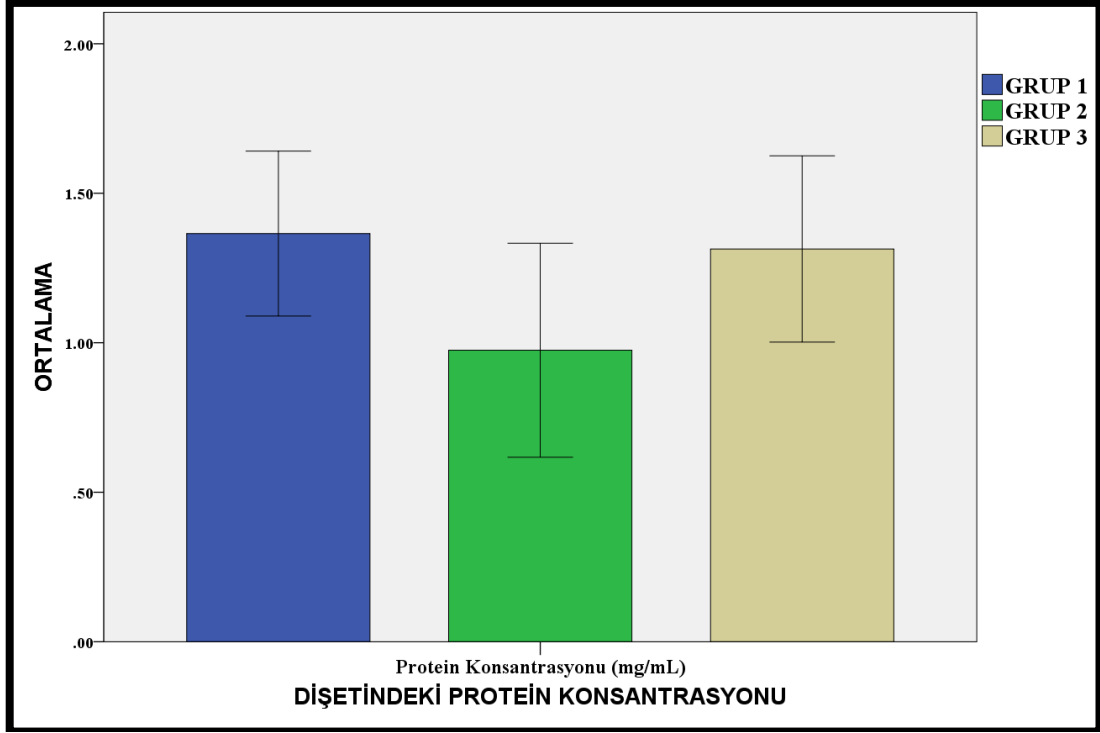
\*\*= İstatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark var p<0,005



Şekil 14. Sitokinlerin dişeti konsantrasyon ortalamaları



Şekil 15. Sitokinlerin miligram protein başına düşen miktar ortalamaları



Şekil 16. Proteinlerin dişeti konsantrasyonu ortalamaları

Tablo 5. Değişkenler arası ilişkileri gösteren korelasyon matrisi

Pearson Korelasyon Testi	TNF- $\alpha$ (pg/mg protein)	IL-1 $\beta$ (pg/mL)	IL-1 $\beta$ (pg/mg protein)	Protein Konsantrasyonu (mg/mL)
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	$r=0,716^{**}$ ; $P=0,000$	$r=0,890^{**}$ ; $P=0,000$	$r=0,429^{*}$ ; $P=0,020$	$r=0,150$ ; $P=0,588$
TNF- $\alpha$ (pg/mg protein)		$r=0,740^{**}$ ; $P=0,000$	$r=0,909^{**}$ ; $P=0,000$	$r=-0,507^{*}$ ; $P=0,001$
IL-1 $\beta$ (pg/mL)			$r=0,612^{**}$ ; $P=0,000$	$r=0,002$ ; $P=0,991$
IL-1 $\beta$ (pg/mg protein)				$r=0,741^{**}$ ; $P=0,000$

$r$ = Pearson Korelasyon Katsayısı

$P < 0,05$  ise istatistiksel olarak anlamlı

\* = 0,05 seviyesinde anlamlı

\*\* = 0,001 seviyesinde anlamlı

## 5. TARTIŞMA

Mikrobiyal dental plağın, gingival enflamasyon ve ardından gelişebilecek olan periodontal doku yıkımı için primer etyolojik faktör olduğu kabul görmüş bir gerçektir (Haffaje ve Sockransky, 1994). Ancak kronik olarak bakterilere ve endotoksinlerine maruz kalma gingival enflamasyon ve periodontal doku yıkımının görülebilmesi için ön koşul olarak kabul görse de, bu faktörlerin tek başlarına hastalığın oluşumunda göreceli olarak düşük (yaklaşık %15-20) bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Grossi ve ark., 1994). Güncelliğini korumakta olan periodontal hastalık patogenez modellerine (Offenbacher, 1996; Page ve Kornmann, 1997) göre ise bu bilgiler, hastalığın oluşumu ve ilerleyişini tam olarak tanımlamakta yetersiz kalmaktadır. Periodontal hastalık ile ilişkili sert ve yumuşak doku yıkımının ana komponentinin, konağın bakteriler ile mücadelesinde aktif hale gelen immünoenflamatuvar yanıt olduğu savunulmaktadır (Offenbacher, 1996; Page ve Kornmann, 1997). Bu yanıtın altında yatan biyolojik unsurların; nötrofil, monosit, lenfosit ve fibroblast gibi savunma hücreleri tarafından üretilen konak kaynaklı mediyatörlerin doku yıkımına sebep olan mekanizmaları tetiklemesi olduğu bilinmektedir (Salvi ve Lang, 2005).

Marsh'ın (1994) geliştirdiği "Ekolojik plak hipotezi", dental plağa bağlı diş ve dişeti hastalıkları oluşum mekanizmaları ile ilgili teorileri tek bir çatı altında toplamıştır. Bu hipoteze göre; mikrobiyal dental plağın hem miktarı hem de spesifik mikroorganizma içeriği sağlık durumundan hastalık durumuna geçişte etkili olabilmektedir. Sağlık durumunda dental plak mikroflorası stabil bir durumdadır ve konak savunma mekanizmaları, konak-bakteri etkileşiminden doğabilecek yıkıcı durumları baskılar. Ancak bu denge bağışıklık sistemindeki bozukluklar, hormonal değişiklikler, sigara kullanımı ve çeşitli sistemik durumlardan ötürü bozulabilir. Enflamasyon, doku yıkımı ve/veya dişeti oluşu sıvısındaki artış gibi konak durumunda meydana gelen değişiklikler, plak içeriğindeki periodontal hastalığa sebep olabilecek mikrobiyal popülasyonun artışına neden olabilir. Ekolojik plak hipotezinin bir diğer önemli çıkarımı ise terapötik müdahalelerin farklı hastalık seviyelerinde yararlı olabileceğini öngörmesidir. Mikroorganizmaya ve/veya konağa bağlı yıkıcı uyarıların, veya çevresel faktörlerin bu yolla elimine edilmesinin mikrobiyal homeostazın sağlanmasına yardımcı olabileceği fikri ortaya konmuştur.



Periodontal hastalığın olumsuz etkilerinin azaltılmasına yönelik çalışmalar, özellikle bu yıkım sürecinde etkili olan ve konak-bakteri etkileşiminden kaynaklanan konak yanıtını azaltmak üzerine yoğunlaşmıştır. Konak yanıtı ve periodontal hastalık patogenezi hakkındaki bilgiler; konak yanıt mekanizmalarının farmakolojik inhibisyonunun, periodontal hastalık tedavisine ek veya alternatif stratejiler geliştirilmesine olanak sağlayabileceğini düşündürmektedir (Paquette ve Williams, 2000).

Konvansiyonel periodontal tedavi yaklaşımlarına ek olarak kullanılan ve konak yanıtını modüle etmeyi amaçlayan farmakolojik preparatların (NSAID, Düşük Doz Doksisisiklin, Bisfosfonat) mevcut sistemik yan etkileri ve uzun dönem kullanımları ile ilgili ortaya çıkabilecek olumsuz durumlar (Salvi ve Lang, 2005; Shannon ve ark., 2011; Soares ve ark., 2012), araştırmacıları periodontal hastalık tedavisine yardımcı olacak alternatif tedavi seçeneklerini araştırmaya itmiştir (Cao ve Sun, 1998; Chan ve ark., 2003; Sastavaha ve ark., 2005; Bothelho 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).

Konak yanıt modülasyon stratejilerinden biri olan ve periodontal hastalık gelişiminde önemli rol oynayan konak sitokinlerinin modülasyonu ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. Bu sitokinler ve üretim mekanizmaları, birçok araştırmacı tarafından kemoterapötik hedefler olarak gösterilmiştir (Offenbaer, 1996; Okada ve Murakami, 1998). Proenflamatuvar sitokinler olarak da bilinen TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi polipeptidlerin; hücre yüzeylerinde bulunan uygun reseptörlere bağlanarak katabolik hücre aktivitelerini tetiklemeleri, bu sitokinleri konak yanıtının başlamasındaki en önemli medyatörler haline getirmiştir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin periodonsiyumda varlıkları kanıtlanmış olmakla birlikte periodontitis durumunda miktarlarının arttığı bildirilmiştir (Jandinski ve ark., 1991; Stashenko ve ark., 1991). Alveolar kemik yıkımına kadar uzanan mekanizmaların başlamasına sebep olan proenflamatuvar sitokin üretiminin inhibe edilmesinin, konak yanıtını baskılayacağı görüşü son zamanlarda geçerlilik kazanmaya başlamıştır (Gemmell ve ark., 1997; Kantarcı ve ark., 2006; Kirkwood ve ark., 2007; Souza ve ark., 2012).

*Artium Lappa* bitkisinin total ekstratı veya bitkiden elde edilen maddeler üzerinde yapılan ve antienflamatuvar, antiallerjik (Cho ve ark., 2002; Park ve ark., 2007; Kim ve ark., 2008; Knipping ve ark., 2008; Zhao ve ark., 2009), antioksidan (Lin ve ark., 2000; Lin ve ark., 2002), antikanser (Miyamoto ve ark., 1993; Tamayo ve ark., 2000; Awale ve ark., 2006; Guo ve ark., 2008), antidiyabetik (Mitsuo ve ark., 2005; Xu ve ark., 2008), atniviral (Schroder ve ark., 1996; Eick ve ark., 1996; Chiang ve ark., 2002) özelliklerin incelendiği araştırmalardan elde edilen olumlu sonuçlar, bu bitkiye verilen önemin artmasına neden olmuştur. *Arctium Lappa* bitkisinden elde edilen en önemli lignanlardan biri olan arctiin maddesi ülkemizde yetişen birçok bitki türünden elde edilebilir durumda olmakla birlikte bu türlerin ülkemizde ticari ürün olarak yetiştirilmemektedir. Yaptığımız literatür incelemeleri ülkemizde bu bitkilere gereken önemin verilmediğini, hatta bazı araştırmacılar tarafından bu bitkilerin tarlalarda yetişen yabancı ot olarak tanımlandığı ve eliminasyonları için yöntemlerin araştırıldığı görülmektedir (Malaslı, 2010).

Çalışmamız; ülkemizde yetişen bitkilerde bulunan ve antienflamatuvar etkinliği kanıtlanmış arctiin maddesinin, sistemik olarak uygulanmasının sıçanlardaki periodontal hastalık modeli üzerindeki etkilerini, proenflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak konak yanıtını modüle edip, hastalık şiddetinin azaltılabileceği hipotezinden yola çıkarak tasarlanmış olup olası olumlu sonuçların ülke ekonomisine katkıda bulunacağı düşünülerek planlanmıştır. Ayrıca çalışmamız arctiin maddesinin deneysel periodontitis modeli üzerindeki etkilerinin incelendiği ilk çalışma olması nedeniyle önem arz etmektedir.

Hayvan modelleri; insanlarda görülen karmaşık hücrenel faaliyetleri taklit edebilmenin, invitro çalışmalardaki yapay ve sınırlı hücre sayısına sahip şartlara göre daha kesin sonuçlar verebilme gibi avantajlara sahiptir (Graves ve ark., 2012). Özellikle fonksiyon kaybı veya kazancı ile ilgili çalışmalarda; hedef dokunun alınarak incelenmesindeki önemli etik engeller, bu çalışmaların insanlar üzerinde yapılmasını olanaksız hale getirmiştir (World Medical Association, 2013). Bu noktada; periodontal hastalığın gelişimdeki ve ilerleyişindeki baskın patolojik süreçlerin oluşumu ile ilgili bilimsel kanıtlara ulaşılabilişmesi açısından hayvan modelleri büyük önem taşımaktadır (Graves ve ark., 2012).

Periodontal hastalık, her aşaması (biyofilm gelişimi, bakteri ürünleri ve bakterilerin bağ dokusuna invaze olması, bağ dokusunda yıkıcı konak yanıtının gelişimi, doku yıkımı sonrasında gelişen tamir aşamaları) uygun hayvan modeli üzerinde incelenebilen bir patoloji olması nedeniyle, kurulan hipotezlerin tüm hastalığı incelemek yerine aşamaya özgü bir şekilde incelenilebilmesi mümkündür (Graves ve ark., 2012). İnsan çalışmalarında ise bu aşamaları birbirinden ayırt etmek neredeyse imkansızdır. Hayvan modelleri, limitasyonlara sahiptir ancak bunlar, invitro çalışmalara göre çok daha düşük seviyededir. Bunun da ötesinde hayvan modelleri, insan klinik çalışmalarına göre sebep-sonuç ilişkilerini inceleme açısından daha net bilgiler verirler (Klausen, 1991; Kuhr ve ark., 2004; Smith ve ark., 2010).

Tek tip hücre popülasyonuna sahip yapay ortamlarda karmaşık konak-bakteri etkileşimlerinin incelenmesi incelenmesinin mümkün olmaması, hayvan modellerini, bu açıdan önemli hale getirmektedir (Oz ve Puleo, 2011; Graves ve ark., 2012). Bu durum, periodonsiyum dışındaki dokularda da geçerli olmakla birlikte literatürde, proenflamatuvar sitokinlerin enflamatuvar hücre göçü ve kemik rezorpsiyonu üzerine etkileri bu dokular dışında da gösterilmiştir (Chiang ve ark., 1999; Bakthavatchalu ve ark., 2010; Meka ve ark., 2010). Bu sayede araştırmacılar; sitokinlerin kemik yıkımı sürecine etkilerini, kalvaryumdan periodonsiyuma kadar tüm dokularda inceleyebilmişlerdir. Bu yüzden hayvan çalışmalarının değeri periodontal dokulardaki olayları ne kadar iyi taklit ettiklerinden öte spesifik hipotezleri ne kadar iyi test ettikleri ile ölçülebilir (Graves ve ark., 2012).

Fare ve sıçan; immün sistemi ile ilgili geniş bilgilerin yanı sıra ulaşılabilirlikleri ve yeterli sayılarda elde edilebilirlikleri sayesinde, araştırmacılar tarafından sık tercih edilen deney hayvanlarıdır. Ayrıca sıçanlarda; genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, doz ve ilacın uygulanma yolları gibi bazı önemli değişkenler kontrol altına alınabilmektedir (Nassar ve ark., 2008). Sıçanlarda deneysel periodontitis modelinin oluşturulmasında, tekrarlanabilir ve bölgede travma oluşturmayan bir teknik kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Bu teknikler arasında en sık kullanılanları; dişlerin ligatürlenmesi, oral bakteri gavajı ve endotoksin enjeksiyonudur. (Klausen, 1991; Struillou ve ark., 2010).

Deneysel periodontitis çalışmalarında; asıl sorun, enflamasyonun akut mu yoksa kronik mi olduğu ile ilgilidir. Periodontal yıkım, remisyon dönemlerini de içeren agresif veya yavaş ve devamlı bir seyir izleyebilir. İnsan dişeti dokusu ve komşuluğundaki diş arasında herhangi bir durumda akut ve kronik enflamasyon karakteristiklerine sahip enflamatuvar hücre infiltratı varlığını sürdürür. Ayrıca periodontal doku yıkımında, doğal ve kazanılmış bağışıklık elemanlarının birlikte rol aldığı net bir şekilde ortaya konmuştur (Assuma ve ark., 1998; Baker ve ark., 1999; Teng ve ark., 2000; Delima ve ark., 2002). Akut ve kronik enflamasyonun veya kazanılmış ve doğal bağışıklığın periodontal hastalık üzerindeki etkileri uygun hayvan modelleri seçilerek çalışılabilir. Ayrıca hayvan modelleri, periodontal hastalık patogenezindeki moleküler mekanizmaları araştırmak için de faydalı karakteristik özelliklere sahiptir (Graves ve ark., 2012).

Ligatür modelinde dişin etrafına yerleştirilen sutur, o dişin etrafındaki kemiğin hızlı ve ileri derecede yıkımına neden olurken (Mandalunis ve ark., 1998; Duarte ve ark., 2010) periodontal hastalığın akut gelişimindeki olayları incelemek için endikedir (Graves ve ark., 2012). Diğer yandan oral gavaj modelleri ise periodontal hastalığa bağlı kemik yıkımını daha uzun sürede geliştirdiğinden daha çok kronik periodontitis modellemesinde kullanılır (Baker ve ark., 2000; Kesavalu ve ark., 2007). LPS indüklü periodontitis modelleri ise direkt ve kolay uygulanabilirliğinin yanı sıra kontrollü ve lokalize bir kemik yıkımına neden olur (Genco ve ark., 1998; Dumitrescu ve ark., 2004). Ayrıca uyaran miktarı ayarlanıp, sabit tutulabildiğinden dolayı periodontal hastalık gelişimi için gerekli tetikleyicilerin standardizasyonu da sağlanmış olur. LPS modelinde alveoler kemik yıkımı, ilk enjeksiyonu takip eden 7. günde görülmeye başlar (Nishida ve ark., 2001; Dumitrescu ve ark., 2004; Nakamura ve ark., 2008). Bu sebeplerden ötürü, bakteriyel LPS modeli akut ve kronik periodontitis modellerinin arasında bir yöntemdir (Graves ve ark., 2012).

LPS enjeksiyon modeli, bazı araştırmacılara göre, enflamasyon ve kemik kaybı süreçlerini insanlardakine benzer şekilde canlandırabilmekle birlikte dokularda gelişen enflamasyon ve hastalık süreçlerini incelemeye olanak sağlamaktadır. Bu modelde insandaki periodontal hastalıkta görülen; birleşim epitelinin apikale göçü, kollajen yıkımı ve alveoler kemik kaybı gibi birçok özellik izlenebilmektedir (Kador ve ark., 2010; Graves ve ark., 2012).

Araştırdığımız ölçüde; LPS indüklü periodontal hastalık modeli, konak-bakteri etkileşiminin ve sinyal yolu aktivasyonlarının araştırılabilmesinin yanı sıra proenflamatuvar medyatörlerin incelenebilmesi ve/veya spesifik moleküllerin periodontal hastalık patogenezi süreci içerisindeki performanslarının değerlendirilebilmesi için en uygun model olarak görülmektedir.

Hayvan modelleri ile ilgili bu bilgilerin ışığında; arctiin maddesinin periodontal hastalığın ilerleyişi üzerindeki etkilerini, dişeti dokusundaki proenflamatuvar sitokinlerin biyokimyasal analiziyle inceleyeceğimiz çalışmamızda en uygun model olarak belirlediğimiz, *P.gingivalis* LPS'i indüklü periodontal hastalık modelini olduğuna karar vererek 30 adet erkek Sprague-Dawley sıçanı çalışmamızda kullandık.

Kador ve ark., (2010) yapısal çeşitlilik gösteren aldoz redüktaz inhibitörlerinin deneysel periodontitis modeli üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, Sprague-Dawley sıçan kullanmışlardır. 4 farklı gruba ayırdıkları sıçanlarda, 10µL'lik 1mg/ml *P. gingivalis* LPS'i içeren fosfat-tamponlu salin çözeltisini 30 kalibre (çapı 0.3 mm ve 0.25 mm) kalınlığında ve dişeti altına insülin şırıngası yardımı ile, test gruplarının sağ üst çene birinci ve ikinci molar diş arasındaki palatinal dişeti bölgesine enjekte edip, periodontitis oluşturmak amacı ile kullanmışlardır. Kontrol gruplarına ise 10µL fosfat tamponu çözeltisini enjekte etmişlerdir. İlk enjeksiyonları takiben 48 saat aralıklarla 2 ek enjeksiyon daha yapmışlardır. LPS uygulamasını takip eden 24. Günde, tüm hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Biz de çalışmamızda periodontal hastalık modelini oluşturmak amacıyla bu yöntemi tercih ettik.

Lee ve ark. (2007) sıçanlarda yapmış oldukları deneysel enflamasyon çalışmasında, 1 gramında 47 mg arctiin maddesi içeren *Trachelospermi caulis* bitkisini 100-400 mg/kg'lık dozlarda sistemik olarak uygulamışlardır. Park ve ark. (2008) farelerde yapmış oldukları deneysel artrit çalışmasında, %8-16 oranında arctiin maddesi içeren ve SI000413 adı verilen bitkisel bir formülü 20, 200, 400 mg/kg'lık dozlarda 3 hafta boyunca uygulamışlardır. Wu ve ark. (2009) sıçanlarda yapmış oldukları deneysel glomerülonefrit çalışmasında, arctiin maddesini 30, 60, 120 mg/kg dozlarda 3 hafta boyunca sistemik olarak uygulamışlardır.

Biz de çalışmamızda bu literatürleri dikkate alarak; uygulanan arctiin dozunu 30 mg/kg, uygulama süresini günde bir defa olmak üzere 21 gün ve uygulama şeklini sistemik oral gavaj yolu olarak belirledik.

Sitokinler, periodontal hastalığa karşı oluşan immün yanıtın her aşamasında kilit rol oynamaktadır. Periodontal hastalık patogenezi araştırmalarında en çok çalışılan proenflamatuvar sitokinler, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'dır. Her iki sitokin de periodontal hastalıkta periodonsiyumdaki doğal bağışıklığın devreye girmesi, düzenlenmesi ve devamlılığının sağlanması açısından önemli rol oynarlar (Gemmell ve ark., 1997). IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın çözülebilir reseptör ve reseptör antagonistlerinin periodontal dokular üzerine etkilerinin araştırıldığı, deneysel periodontitis modeli çalışmalarında; IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üretiminin baskılanmasının, alveol kemiğine infiltrate olan enflamatuvar hücre sayısını azaltıp, osteoklastların artışını sınırlandırarak, periodontal ataçman ve kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir (Delima ve ark., 2001; Graves ve ark., 2001; Oates ve ark., 2002). IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  proenflamatuvar sitokinleri; dişetindeki enflamasyonun derecesini ve dolayısı ile konak yanıtının şiddetini tespit etmek amacı ile kullanılabileceğinden, çalışmamız bu parametreler üzerinden değerlendirildi. Uygulamasının pratik olması ve hassasiyetinin yüksek olması nedeni ile; dişetindeki IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonları, ELISA kitleri kullanılarak belirlendi.

Bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi, bilimsel araştırmalarda, gıda analizlerinde, endüstriyel ve biyoteknolojik birçok ürünün analizinde kullanılır. Uzun yıllardır protein tayini için en sık kullanılan ve genel kabul görmüş bir yöntem olan Lowry Metot'u; proteinlerin bakır-sülfat ve tartarat ile alkali bir solüsyon içerisinde tepkimeye girmesi temeline dayanır (Lowry ve ark., 1951). Bu reaksiyon sonucunda, tetradentate bakır-protein kompleksi oluşur. Folin-Ciocalteu ayırıcının eklenmesi ile, 750 nm. dalga boyunda, spektrofotometrede ölçülebilen mavi renk meydana gelir. Renk yoğunluğu, şelatlanmış bakır kompleksi miktarına göre değişir (Legler ve ark., 1985). Orjinal Lowry Metot'unda bakır tartarat ayırıcı, iki ayırıcının bir araya getirilmesi ile oluşurken, daha sonraları geliştirilen modifikasyon ile birlikte ayıraç teke düşürülmüş, daha kolay ve stabil bir yöntem haline almıştır (Davis, 1988).

Doxey ve ark. (1998) diyabetin periodontal dokular üzerine etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmada, dişeti platelet derive edici büyüme faktörü (PDGF),

transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  sitokin seviyelerini ELISA yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Bunun yanında aldıkları dişeti örneklerinin toplam protein konsantrasyonlarını da belirleyerek değerlendirmelerini miligram protein başına düşen sitokin miktarı üzerinden yapmışlardır.

Boas ve ark. (2013) yapmış oldukları deneysel çalışmada ortodontik diş hareketinin gingival dokular üzerindeki etkilerini ELISA yöntemi kullanarak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  sitokinleri üzerinden inceledikleri çalışmalarında, dişeti dokularındaki toplam protein konsantrasyonunu belirleyerek, sitokinlerin miligram protein başına düşen miktarları üzerinden sonuçlarını değerlendirmişlerdir.

Modifiye Lowry Protein Tayin yöntemi; dişeti örneklerindeki protein konsantrasyonunu tespit etmek ve örnek standardizasyonunu sağlamak amacı ile kullanılmış olup; uygulama kolaylığı ve duyarlılığının yüksek olması gibi avantajları (Beezhold ve ark., 1996; Soral-Smietana ve ark., 1998; Redmile-Gordon ve ark., 2013) sebebi ile tercih edildi.

Çalışma başlangıcı ve sonundaki sıçan ağırlıklarının, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemesi; sıçanların her grupta normal gelişimlerini sürdürdüklerini ve elde edilen biyokimyasal analiz verilerinin, hayvanların sistemik durumlarından etkilenmediğini düşündürmektedir.

Lee ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada; *Trachelospermi caulis* bitkisinin etanol ekstratının antiinflamatuvar etkisini, *invivo* ve *invitro* olarak incelemişlerdir. Çalışmada, bitkiden elde edilen ekstratın 1 gramında 47 mg arctiin maddesi bulunması ve bu ekstratın antiinflamatuvar etkinliğinin ölçülmüş olması, bizim çalışmamız için önem arz etmektedir. Çalışmanın *invitro* bölümü için RAW 264.7 kemirgen makrofaj hücreleri kullanmışlar ve bu hücreleri LPS ile uyardıktan önce 30 dakika boyunca bitki ekstratına maruz bırakmışlardır. Bu işlemten sonra *T. Caulis* ekstratının antiinflamatuvar mekanizmasını tanımlayabilmek için, RAW 264.7 makrofaj hücrelerinin iNOS proteinini, TNF- $\alpha$ 'nın ekspresyonunu ve NO üretimini Western Blot yöntemi ile incelemişlerdir. Kontrol grubu, bitki ekstratının çeşitli dozlarda verildiği gruplar ile karşılaştırıldığında; iNOS'un, TNF- $\alpha$  ekspresyonunu ve NO üretiminin anlamlı şekilde azaldığını görmüşlerdir. Bu sebeplerden dolayı *T.caulis* ekstratının *invitro* olarak antiinflamatuvar etkinliği olabileceği, sonuca ulaşmışlardır. Diğer

yandan, çalışmanın *invivo* kısmında 6 haftalık erkek fareler ile 6 haftalık erkek Wistar ratlar kullanmışlardır. Hayvanlarda deneysel akut enflamatuvar yanıt oluşturmak üzere 4 farklı modele başvurmuşlardır. Birinci modelde; oral yolla (400 mg/kg) *T.caulis* ekstratı verilen farelerin sağ kulaklarına 1 saat sonra araşidonik asidin %2'lik aseton çözeltisini (20 µL/kulak) topikal olarak uygulamışlardır. Antienflamatuvar yanıtı gözlemek üzere 2 farklı yol kullanılmışlardır. Bu yollardan birinde; enflamasyonun başlamasını takip eden 4. Saatte, hassas kumpas ile her kulaktan kalınlık ölçümü yapmışlardır. Diğer yolda ise enflamasyonu takip eden 1. Saatte, anestezi altındaki farelerin sağ kulaklarından 6mm. çapında diskler çıkartmışlardır. Sonuç olarak test grubunda, kontrol grubuna göre ödem, disklerin ağırlığı ve kulakların kalınlığı açısından anlamlı derecede fark bulmuşlar ve *T. Caulis* ekstratı uygulanan grubun, araşidonik asite bağlı akut enflamasyonu azalttığını gözlemlemişlerdir. İkinci modelde; 1 saat önce bitki ekstratı uygulanmış farelerin sağ kulaklarının anterior ve posterior bölgelerine, 2,5 µg dozdaki 20 µL 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA) aseton solüsyonu otomatik pipet yardımı ile uygulamışlar ve araşidonik asit modelindeki gözlem yolunu izlenmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, 1. model ile uyum göstermiştir. Üçüncü modelde ise, tam rafine deniz yosunun %1'lik salin solüsyonunu, ratların sağ pençesine subplantar yolla uygularken; simetriğindeki pençeye ise salin uygulamışlardır. Pençe hacimlerini, plethysmometre ile saat başı ölçmüşler ve elde edilen verileri karşılaştırdıklarında bitki ekstratının dozuna bağlı olarak antienflamatuvar etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Dördüncü modelde; *T.caulis* ekstratının 400 mg/kg'lık oral uygulamasını takip eden 1. saatte asetik asitin %0,7'lik sıvı çözeltisini (10 µL/kg) intraperitoneal yolla enjekte etmişler ve asetik asit enjeksiyonunu takip eden 10. Dakikada, cam kafeslerde gözlem altında olan farelerin 10 dakika boyunca abdominal kasılmalarını saymışlardır. Ekstratın verildiği grupta, kontrol grubuna göre daha az kasılma olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada; *T. caulis* ekstratının antienflamatuvar etkinliğini gözlemek için çeşitli hayvan modelleri kullanılmış, bunun yanında antinosiseptif (ağrılı kasılma azaltıcı) etkisine de bakılmıştır. Tüm hayvan modellerindeki incelemeler *T. caulis* ekstratının antienflamatuvar ve antinosiseptif etkilerini ortaya koymuştur. Bunun yanında; kültür çalışmaları ile de *T. caulis* ekstratı'nın iNOS, TNF-α ekspresyonları ve NO üretimini de inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak; araştırmacılar *T. Caulis* ekstratının *invivo* ve *invitro* olarak



antienflamatuvar ve antinosiseptif etkileri olabileceğini ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanımının olumlu sonuçlar doğurabileceğini bildirmişlerdir.

Park ve ark. (2008), %0,8-%1,6 oranında arctiin maddesi içeren SI000413 adlı bitkisel formülün tedavi edici özelliklerini incelemek üzere planladıkları çalışmalarında, kollajen indüklü artirit modeli kullanmışlardır. Farelere 1. ve 21. günlerde tip II sığır kollejeni aşılmasıyla oluşturulan model romatoid artiritteki konak yanıtını düzenleyici etkilerin incelenmesi açısından çalışmamız için önem arz etmektedir. Çalışmada; 60 adet erkek fareyi rastgele 6 gruba ayırmışlar ve çalışma gruplarını; aşılınmamış fareler (normal), tedavi edilmemiş-kollajenle aşılınmış fareler (Kontrol), kollajenle aşılınmış SI000413'le tedavi edilmiş fareler (doza bağlı 3 grup 0,02, 0,2, 0,4 gr/kg) ve kollajenle aşılınmış+indomethacinle tedavi edilmiş fareler olarak belirlemişlerdir. İlk aşılardan deneyin sonuna kadar fareler diyetlerine ek olarak gruplarına göre SI000413, indomethacin ve distitile su almışlardır. SI000413'ü 0,02, 0,2, ve 0,4 gr/kg'lık dozlarda, indomethacini ise 1 mg/kg dozda almışlardır. Artritin gelişimi, her gün kontrol edilmiş ve her pençe; 0=normal, 1=bir parmakta şişme, 2=iki veya daha fazla parmakta şişme, 3=taban yastıklarında şişme, 4=eklemler deformitesi ve ankiloz olarak derecelendirilmiştir. Her pençe için ayrı skorlama yapıp, değerler her fare için toplanmış, dolayısı ile bir fare için maksimum skor 16 olarak belirlenmiştir. Yapılan histopatolojik analizler, serum biyokimyasal analizleri ve kandaki lenfosit kümelerinin akışkan sitometrik analizleri çalışma ile ilgili verilerin elde edilmesinde kullanılmıştır. Farklı dozlarda SI000413 ve indomethacin, farelere haftada 3 kez uygulanmıştır. Uygulama, sığır kaynaklı tip II kollajen aşılmasının yapıldığı günden 6 hafta sonraki çalışma son gününe kadar devam etmiştir. Çalışmada; SI000413 tedavisinin doza bağlı olarak, klinik gözlem skorlarında azalmaya sebep olduğu gözlemlenmiştir. Indomethacin ile yapılan tedavide elde edilen skor ise daha düşük çıkmıştır. Ayrıca artritli bacak sayısı da sayılarak, SI000413'ün artritli bacak insidansını kontrol grubuna göre doza bağlı olarak, anlamlı bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. Bu kritere göre ise 0,4 gr/kg'lık SI000413 ve indomethacin'in benzer sonuçları olduğu fark edilmiştir. Histolojik sonuçlar da klinik değerlendirmeler ile paralellik göstermiş, indomethacinin antiartritlik özelliği açısından SI000413'den daha fazla iyileştirici potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Kollajen indüklü artiritli farelerin serumlarındaki anti Tip II kollajen miktarının, SI000413'ün konak yanıtı

baskılayıcı özelliği nedeni ile ilişkili olarak azaldığı gözlemlenmiştir ve romatoid artrit sistemik indikatörü olan serum IL-6 seviyesinde de anlamlı bir şekilde azalma görülmüştür. Bunun yanında, serum IL-6 seviyesinin indomethacin grubunda, kontrol grubuna göre çok az bir azalmaya neden olduğu fark edilmiştir. Kandaki tüm lenfosit alt üniteleri (B, Th ve Ts), SI000413 ve indomethacin ile tedavi edilmiş gruplarda, diğer gruplara göre artış göstermiştir. B hücrelerinde, sadece SI000413 ile tedavi edilen gruplarda önemli oranda artış görülmüştür. Ancak bu artış, indomethacin ile tedavi edilen gruplarda gözlemlenmemiştir. Deney sonuçlarına göre; SI000413'in tip II sıgır kollajeni ile aşılınmış farelerde, klinik semptomları, antitip II kollajen antikor sayısını azalttığı, kandaki T ve B lenfosit oranlarını arttırdığı ve serumdaki IL-6 düzeyini düşürdüğü görülmüştür. Bu bilgiler ise SI000413 bitki formülünün, enflamatuvar bir hastalık olan romatoid artrit tedavisinde, etkili ve güvenli bir terapötik olma potansiyelinin bulunduğu sonucuna varılmasına olanak sağlamıştır.

Wu ve ark. (2009) *Arctium Lappa* bitkisinden %98,2 saflıkta elde ettikleri arctiin maddesinin deneysel glomerulonefrit modeli üzerindeki etkilerini incelemek üzere planladıkları çalışmalarında, serum IL-6 ve TNF- $\alpha$  proenflamatuvar sitokinleri rat modeli üzerinde incelemişlerdir. Elli adet Sprague-Dawley erkek rat üzerinde yapılan çalışmada; hayvanlar 5 eşit gruba ayrılmıştır. Birinci grup normal; ikinci grup kontrol grubu; diğer üç grup ise arctiinin farklı dozlarda (30, 60 ve 120 mg/kg) uygulandığı gruplar şeklinde belirlenmiştir. Deneysel dizayn, bovin serum albümini (BSA) indüklü glomerulonefrit oluşumu üzerine kurulmuştur. Normal gruptaki ratlarda; izometrikal normal salin, kuyruktan intra venöz olarak 2. ve 4. haftalarda her gün uygulanmıştır. Aynı anda diğer üç grup sıçana ise 30, 60, 120 mg/kg arctiin içeren 10 mL'lik çözelti oral gavaj yolu ile uygulanmıştır. Diğer gruplar, aynı hacimde oral yolla distile su almışlardır. Hayvanların her birinden, arctiin uygulanmasını takiben ayrı ayrı 0., 2., 3., ve 4. haftalarda idrar örnekleri alınmıştır. Deneyin sonunda tüm hayvanlar anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Kan örnekleri; blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr), endogenous creatinine clearance rate (ECcr), IL-6 ve TNF- $\alpha$  değerlendirilmesi amacı ile toplanmıştır. Hayvanların sağ renal korteksleri alınıp; nuclear factor kappa B p65 (NF- $\kappa$ B), malondialdehyde (MDA) ve superoxide dismutase (SOD) seviyelerinin incelenmesi amacıyla homojenize edilmiştir. Sol böbrekleri ise histolojik inceleme için alınmıştır. Alınan sonuçlara göre; ilk 24 saatlik idrar tahlili sonucunda, tüm gruplarda

ürin proteini içerikleri aynı bulunmuştur. Ancak 2., 3. ve 4. haftalarda 60 ve 120 mg/kg 'lık doz gruplarındaki sıçanlardan alınan idrar örneklerinde, ürin protein içerikleri diğer gruplara göre doza bağlı olarak anlamlı şekilde azalmıştır. 30 mg/kg'lık dozun ise sadece 4. haftada anlamlı bir azalmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmalarda BSA' nın serumdaki BUN ve Scr seviyelerinde anlamlı derecede artışa, ECcr düzeyinde ise azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Beklenildiği üzere; böbrek fonksiyonlarında üç ayrı doz grubunda da kontrol grubuna göre farkedilir bir iyileşme gözlenmiştir. IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın serum düzeyleri; kontrol grubunda normal gruba göre yüksek bulunurken, yine bu değerlerde üç ayrı doz grubunda, doza bağlı bir düşüş görülmüştür. NF- $\kappa$ B 'nın DNA' ya bağlanma aktivitesi açısından; böbrek dokularında BSA uygulanmış gruplarda artış gözlenirken., üç farklı dozda uygulanan arctiin'in ise kontrol grubuna göre bu aktiviteyi doza bağlı şekilde azalttığı gözlemlenmiştir, fakat normal seviyeye gerilememiştir. Böbrek dokusunda; kontrol grubunda normal gruba göre SOD aktivitesi düşerken, MDA seviyesi yükselmiştir. Arctiin uygulaması; MDA seviyesini anlamlı derecede düşürmüş, SOD aktivitesini ise arttırmıştır. Işık mikroskopunda böbrek dokularındaki glomerüler lezyonlara; polimorphonuclear leukocyte (PMN) infiltrasyonu, fibrinoit nekroz, fokal ve segmental proliferasyon ve interstitial infiltrasyon parametreleri açısından inceleme yapılarak, arctiin uygulanan gruplarda farkedilir düzeyde iyileşmeler görülmüştür. Özet olarak bu çalışmada; Arctium Lappa bitkisinden izole edilen arctiin maddesinin BSA indüklemesi ile elde edilen deneysel glomerulonefrit üzerinde iyileştirici bir etkisinin olduğu görülmüş ve bu maddesinin renal fonksiyonları; geliştirebileceği, glomerüler lezyonlara karşı böbreği koruyabileceği, serum IL-6, TNF- $\alpha$  ve MDA değerlerini düşürebileceği, SOD aktivitesini arttırabileceği ve NF- $\kappa$ B'nın DNA'ya bağlanma aktivitesini azaltabileceği gösterilmiştir.

Lee ve ark. (2011) *Forsythia suspensa* bitkisinden elde ettikleri arctiin maddesinin antiinflamatuvar fonksiyonlarını inceledikleri in-vitro çalışmada RAW264.7 kodlu fare makrofaj hücre kültürünü kullanmışlardır. LPS ile indükledikleri makrofaj hücre kültürüne farklı dozlarda (12,5~100 $\mu$ g/ml) ekledikleri arctiin maddesinin antiinflamatuvar özelliklerini incelemek amacı ile, gerçek zamanlı ters transkripsiyon zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve Western Blot yöntemlerinin yanı sıra flow sitometri yöntemlerini de kullanmışlardır. Arctiin maddesinin doza bağlı olarak;

NO, PGE2 ve proenflamatuvar sitokin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) seviyelerini düşürdüğünü ayrıca bu sitokin ve mediyatörlerin gen ekspresyonlarında da azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte; yardımcı hücre yüzey molekülleri olan B7-1 ve B7-2 ekspresyonlarını inhibe eden arctiin maddesinin, tüm bu enflamatuvar belirteçlerin üretilmesinde önemli rol oynayan NF-k $\beta$  molekülünün aktivasyonunu engellediğini görmüşlerdir. Tüm bu verilerden elde edilen sonuçlar; arctiin maddesinin, enflamatuvar olaylarda biyoaktif rol oynayabileceğini göstermiştir. Antienflamatuvar etkinin, NF-k $\beta$  inaktivasyonundan dolayısıyla da proenflamatuvar sitokin miktarının azalmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda arctiin maddesi uygulanmayan periodontitis grubu ile arctiin maddesi uygulanan periodontitis grubu, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  biyokimyasal belirteçleri açısından karşılaştırıldığında; dişeti proenflamatuvar sitokin konsantrasyon seviyeleri ve miligram protein başına düşen proenflamatuvar sitokin miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması ve bu sitokinlerin arctiin maddesi uygulanmayan periodontitis grubunda daha fazla miktarda tespit edilmesi, arctiin maddesinin periodontal hastalık sebebiyle gelişen enflamasyon üzerine baskılayıcı bir etkiye sahip olabileceği şeklinde yorumlandı.

Arctiin maddesi uygulanan periodontitis grubu ile kontrol grubu arasında, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  biyokimyasal belirteçleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farkın olması ve sitokin seviyelerinin arctiin maddesi uygulanan periodontitis grubunda daha fazla görülmesi ise bu maddenin periodontal sağlığı geri kazandırma üzerine bir etkisinin olmayacağını, ancak hastalığın şiddetini azaltarak, ilerleyişini yavaşlatabileceğini düşündürdü. Ayrıca Modifiye Lowry Protein Tayini sonuçlarına göre; arctiin uygulanmayan periodontitis grubu ile kontrol grubu arasında protein konsantrasyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması, enflamasyon ve doku yıkımına bağlı dişeti miktarındaki azalma ile ilişkilendirildi. Bunun yanında; arctiin maddesi uygulanan periodontitis grubu ile hem arctiin uygulanmayan periodontitis grubu hem de kontrol grubu arasında protein konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmaması, maddenin doku yıkımını azalttığı görüşünü destekler niteliktedir. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  parametreleri arasındaki pozitif korelasyon ise enflamasyon belirteci olan bu sitokinlerin beraber hareket ettiğini doğrulamaktadır.

Elde ettiğimiz sonuçların arctiin maddesinin literatür ile uyumlu olarak enflamasyonu baskılandığını göstermesi, maddenin periodontal hastalık üzerinde potansiyel bir konak modüle edici ajan olarak kullanılabilceği fikrini düşündürmektedir. Çalışmamız ayrıca maddenin ilaç olarak kullanılabilmesi için yapılacak araştırmalara ışık tutmaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sistemik olarak uygulanan arctiin maddesinin, periodontitis oluştuktan sonraki süreçte, dişeti dokusunda meydana gelen enflamasyon üzerine etkilerinin proenflamatuvar sitokinler arasında yer alan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üzerinden biyokimyasal olarak incelendiği bu çalışmada;

1. Periodontitis oluşturulan gruplarda bulunan dişeti TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ve bu durumun periodontal hastalığın doğal sonucu olarak geliştiği gözlemlendi.

2. Periodontitis gruplarında ise proenflamatuvar sitokin seviyelerinin dişeti konsantrasyonlarının, sistemik olarak arctiin uygulanan grupta daha düşük olduğu izlendi. Bu durumun arctiin maddesinin antienflamatuvar ve/veya konak modüle edici etkisinden kaynaklanabileceği düşünüldü.

3. Bitkisel bir madde olan arctiinin; ülkemizde yetişen birçok bitki türünün içeriğinde bulunması ve bu bitkilerin yetiştirilmesinin kolay olması, potansiyel antienflamatuvar ve/veya konak modüle edici etkileri ile birlikte bu maddenin, ülke ekonomisine katkı sağlayabileceği ortaya konuldu.

4. Çalışmamızın sınırları dahilinde elde edilen sonuçlara ek olarak protein tayin yöntemi ile dişeti biyopsilerinin standardize edilebileceği de göstermiş oldu.

5. Arctiin maddesinin seri üretiminin şu an yapılmaması; bu ürünün maliyetini oldukça arttırmış ve yapılan çalışmayı maddi açıdan sınırlandırmıştır. Bu açıdan, çalışmada kullanılan doz yapılan literatür incelemelerine dayanarak en düşük seviyede tutuldu zorunda kalındı ve farklı doz grupları çalışmaya eklenemedi.

6. Çalışmamız arctiin maddesinin periodontal hastalık üzerine etkilerinin incelendiği ilk çalışma olması nedeni ile; bu maddenin tüm periodontal dokular üzerine etkilerinin incelendiği, farklı doz gruplarının bulunduğu, konak modüle edici etkileri olduğu bilinen diğer ilaçlar ile karşılaştırıldığı, diğer sistemik etkilerinin de incelenebildiği daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç olduğu görüldü.

## KAYNAKLAR

- Abbas F, Van der Velden U, Hart AA, Moorer WR, Vroom TM, Scholte G. Bleeding/plaque ratio and the development of gingival inflammation. *J Clin Periodontol.* 1986;13(8):774-782.
- Al-Qutub MN, Braham PH, Karimi-Naser LM, Liu X, Genco CA, Darveau RP. Hemin-dependent modulation of the lipid A structure of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *Infect Immun* 2006; 74: 4474–4485
- Amano A Host-parasite interactions in periodontitis: microbial pathogenicity and innate immunity. *Periodontol* 2000. 2010;54(1):9-14.
- Amar S, Van Dyke TE, Eugster HP, Schultze N, Koebel P, Bluethmann H. Tumor necrosis factor (TNF)-induced cutaneous necrosis is mediated by TNF receptor 1. *J Inflamm.* 1995-1996;47(4):180-189.
- Amin AR, Dave M, Attur M, Abramson SB. COX-2, NO, and cartilage damage and repair. *Curr Rheumatol Rep.* 2000;2(6):447-453.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1-6.
- Ashley RA. Clinical trials of a matrix metalloproteinase inhibitor in human periodontal disease. SDD Clinical Research Team. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 878: 335–346.
- Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol.* 1998;160(1):403-409.
- Attström R, Egelbert J Presence of leukocytes within the gingival crevices during developing gingivitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1971;6(2):110-114.
- Awale S, Lu J, Kalauni SK, Kurashima Y, Tezuka Y, Kadota S, Esumi H. Identification of arctigenin as an antitumor agent having the ability to eliminate the tolerance of cancer cells to nutrient starvation. *Cancer Res.* 2006 ;66(3):1751-1757.
- Bainbridge BW, Darveau RP. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide: an unusual pattern recognition receptor ligand for the innate host defense system. *Acta Odontol Scand* 2001;59:131–138.
- Baker PJ, Dixon M, Evans R, Dufour L, Johnson E, Roopenian D. CD4(+) T cells and the proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin- 6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infect Immun.* 1999; 67:2804–2809.
- Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Roopenian DC. Heterogeneity of *Porphyromonas gingivalis* strains in the induction of alveolar bone loss in mice. *Oral Microbiol Immunol.* 2000;15:27–32.

- Bakthavatchalu V, Meka A, Sathishkumar S, Lopez MC, Verma RK, Wallet SM, Bhattacharyya I, Boyce BF, Mans JJ, Lamont RJ, Baker HV, Ebersole JL, Kesavalu L. Molecular characterization of *Treponema denticola* infection-induced bone and soft tissue transcriptional profiles. *Mol Oral Microbiol.* 2010;25(4):260-274.
- Baqui AA, Meiller TF, Kelley JI, Turng BF, Falkler WA. Antigen activation of THP-1 human monocytic cells after stimulation with lipopolysaccharide from oral microorganisms and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Periodontal Res* 1999;34: 203–213.
- Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010;53:55-69.
- Baytop, T., 1994. A Dictionary of Vernacular Names of Wild Plants of Turkey, No. 578. Publication of the Turkish Language Society, Ankara, p. 110.
- Beezhold D, Swanson M, Zehr BD, Kostyal D. Measurement of natural rubber proteins in latex glove extracts: comparison of the methods. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;76(6):520-526.
- Bezerra MM, de Lima V, Alencar VB, Vieira IB, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2000;71: 1009–1014.
- Bichara J, Greenwell H, Drisko C, Wittwer JW, Vest TM, Yancey J, Goldsmith J, Rebitski G. The effect of postsurgical naproxen and a bioabsorbable membrane on osseous healing in intrabony defects. *J Periodontol* 1999;70:869–877.
- Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol.* 1993;64(5 Suppl):474-484.
- Boas Nogueira AV, Chaves de Souza JA, Kim YJ, Damião de Sousa-Neto M, Chan Cirelli C, Cirelli JA. Orthodontic force increases interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  expression and alveolar bone loss in periodontitis. *J Periodontol.* 2013 ;84(9):1319-26.
- 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):471-478
- Bragger U, Muhle T, Fourmoussis I, Lang NP, Mombelli A. Effect of the NSAID flurbiprofen on remodelling after periodontal surgery. *J Periodontal Res* 1997;32:575–582.
- Brex M. Histophysiology and histopathology of the gingiva. *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr.* 1991;39(2):33-38.
- Brown GR, Lindberg G, Meddings J, Silva M, Beutler B, Thiele D. Tumor necrosis factor inhibitor ameliorates murine intestinal graft-versus-host disease. *Gastroenterology.* 1999;116(3):593-601.



- 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.
- Burns FR, Stack MS, Gray RD, Paterson CA. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:1569–1575.
- Butler GS, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):123-148.
- Cao CF, Sun XP. Herbal medicine for periodontal diseases. *Int Dent J*. 1998;48(3 Suppl 1):316-322.
- Carayol N, Chen J, Yang F, Jin T, Jin L, States D, Wang CY. A dominant function of IKK / NF-kappaB signaling in global lipopolysaccharide-induced gene expression. *J Biol Chem* 2006;281:31142–31151.
- Carpenter S, O'Neill LA. How important are Toll-like receptors for antimicrobial responses? *Cell Microbiol*.2007;9:1891–1901.
- Cavanaugh PF Jr, Meredith MP, Buchanan W, Doyle MJ, Reddy MS, Jeffcoat MK. Coordinate production of PGE2 and IL-1 beta in the gingival crevicular fluid of adults with periodontitis: its relationship to alveolar bone loss and disruption by twice daily treatment with ketorolac tromethamine oral rinse. *J Periodontal Res* 1998;33:75–82.
- Champagne CM, Holt SC, Van Dyke TE, Gordon BJ, Shapira L. Lipopolysaccharide isolated from *Porphyromonas gingivalis* grown in hemin-limited chemostat conditions has a reduced capacity for human neutrophil priming. *Oral Microbiol Immunol* 1996;11:319–325.
- Chan Y, Lai CH, Yang HW, Lin YY, Chan CH. The evaluation of Chinese herbal medicine effectiveness on periodontal pathogens. *Am J Chin Med*. 2003;31(5):751-761
- Chen C, Coats SR, Bumgarner RE, Darveau RP. Hierarchical gene expression profiles of HUVEC stimulated by different lipid A structures obtained from *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli*. *Cell Microbiol* 2007;9:1028–1038.
- Chen CP, Hertzberg M, Jiang Y, Graves DT. Interleukin-1 and tumor necrosis factor receptor signaling is not required for bacteria-induced osteoclastogenesis and bone loss but is essential for protecting the host from a mixed anaerobic infection. *Am J Pathol*. 1999;155(6):2145-2152.
- Chiang CY, Kyritsis G, Graves DT, Amar S. Interleukin-1 and tumor necrosis factor activities partially account for calvarial bone resorption induced by local injection of lipopolysaccharide. *Infect Immun*. 1999;67(8):4231-6.
- Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Ng LT, Lin CC. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. *Antiviral Res*. 2002;55(1):53-62.

- Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol* 2000. 2000;24:9-27.
- Cho MK, Park JW, Jang YP, Kim YC, Kim SG. Potent inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase expression by dibenzylbutyrolactone lignans through inhibition of I-kappaB $\alpha$  phosphorylation and of p65 nuclear translocation in macrophages. *Int Immunopharmacol*. 2002;2(1):105-116.
- Chou HH, Takashiba S, Maeda H, Naruishi K, Nishimura F, Arai H, Lu H, Murayama YJ Induction of intracellular interleukin-1 beta signals via type II interleukin-1 receptor in human gingival fibroblasts. *Dent Res*. 2000;79(9):1683-1688.
- Coats SR, Pham TT, Bainbridge BW, Reife RA, Darveau RP. MD-2 mediates the ability of tetra-acylated and pentaacylated lipopolysaccharides to antagonize Escherichia coli lipopolysaccharide at the TLR4 signaling complex. *J Immunol* 2005;175:4490-4498.
- Coats SR, Reife RA, Bainbridge BW, Pham TT, Darveau RP. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide antagonizes Escherichia coli lipopolysaccharide at toll-like receptor 4 in human endothelial cells. *Infect Immun* 2003;71:6799-6807.
- Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1569-1576.
- Colotta F, Sironi M, Borrè A, Pollicino T, Bernasconi S, Boraschi D, Mantovani A. Type II interleukin-1 receptor is not expressed in cultured endothelial cells and is not involved in endothelial cell activation. *Blood*. 1993;81(5):1347-1351.
- Cullinan EB, Kwee L, Nunes P, Shuster DJ, Ju G, McIntyre KW, Chizzonite RA, Labow MA. L-1 receptor accessory protein is an essential component of the IL-1 receptor. *The Journal of Immunology* 1998;161(10):5614-5620.
- Cutler CW, Eke PI, Genco CA, Van Dyke TE, Arnold RR. Hemin-induced modifications of the antigenicity and hemin-binding capacity of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide. *Infect Immun* 1996;64:2282-2287.
- Darveau RP, Arbabi S, Garcia I, Bainbridge B, Maier RV. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide is both agonist and antagonist for p38 mitogen-activated protein kinase activation. *Infect Immun* 2002;70:1867-1873.
- Darveau RP. The oral microbial consortiums interaction with the periodontal innate defense system. *DNA Cell Biol* 2009;28:389-395.
- Davis, E. M. "Protein assays-a review of common techniques." *American Biotechnology Laboratory* 1988;6(5):28-37.
- Dayer JM, Feige U, Edwards CK 3rd, Burger D. Anti-interleukin-1 therapy in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2001;13(3):170-176.

- 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(3):233-240.
- Delima AJ, Karatzas S, Amar S, Graves DT. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *J Infect Dis*. 2002;186(4):511-516.
- Dewhirst FE, Moss DE, Offenbacher S, Goodson JM. Levels of prostaglandin E2, thromboxane, and prostacyclin in periodontal tissues. *J Periodontal Res* 1983; 18:156–163.
- DeWitt DL, Meade EA, Smith WL. PGH synthase isoenzyme selectivity: the potential for safer nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Am J Med* 1993;95:40–44.
- Dickinson BC, Moffatt CE, Hagerty D, Whitmore SE, Brown TA, Graves DT, Lamont RJ. Interaction of oral bacteria with gingival epithelial cell multilayers. *Mol Oral Microbiol*. 2011;26(3):210-220.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87(6):2095-147.
- Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontol* 2000 2004;35:53–74.
- Doxey DL, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-beta in a rat model. *J Periodontol*. 1998;69(2):113-9.
- Duarte PM, Tezolin KR, Figueiredo LC, Feres M, Bastos MF. Microbial profile of ligature-induced periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2010;55(2):142-147.
- Dudley DJ. Pre-term labor: an intra-uterine inflammatory response syndrome? *J Reprod Immunol*. 1997;36(1-2):93-109.
- Dumitrescu AL, Abd-El-Aleem S, Morales-Aza B, Donaldson LF. A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. *J Clin Periodontol*. 2004;31(8):596-603.
- Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med* 2005;353:99–102.
- Eich E, Pertz H, Kaloga M, Schulz J, Fesen MR, Mazumder A, Pommier Y. (-)-Arctigenin as a lead structure for inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase. *J Med Chem*. 1996;39(1):86-95.
- El-Shinnawi UM, El-Tantawy SI. The effect of alendronate sodium on alveolar bone loss in periodontitis (clinical trial). *J Int Acad Periodontol* 2003;5:5–10.
- 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.
- Erdemoglu N, Küpeli E, Yeşilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharmacol.* 2003;89(1):123-129.
- Erdemoglu N, Turan NN, Akkol EK, Sener B, Abacioglu N. Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *minus*. *J Ethnopharmacol.* 2009;121(2):318-323.
- Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci.* 1997;2:12-26.
- 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. *The Journal of Immunology* 1993;151(9):4821-4828.
- Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action and clinical use in osteoporosis an update. *Horm Metab Res* 1997;29:145–150.
- 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.
- Foster N, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. Pivotal advance: vasoactive intestinal peptide inhibits up-regulation of human monocyte TLR2 and TLR4 by LPS and differentiation of monocytes to macrophages. *J Leukoc Biol* 2007;81:893–903.
- Fujimoto T, Nose M, Takeda T. Study on Chinese crude drug “Luoshiteng” (II) On the biological active components in the stem part of *Luoshiteng* originating from *Trachelospermum jasminoides*. *The Japanese journal of pharmacognosy* 1992;46:224-229.
- Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yes, ilada, E., Honda, G., Takeda, Y., Tanaka, T., Takaishi, Y. Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in Middle and West Black Sea regions. *Economic Botany* 1995;49:406–422.
- Gapski R, Barr JL, Sarmant DP, Layher MG, Socransky SS, Giannobile WV. Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: a proof of concept trial. *J Periodontol* 2004;75:441–452.
- 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, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2013;62(1):59-94.
- Glaccum MB, Stocking KL, Charrier K, Smith JL, Willis CR, Maliszewski C, Livingston DJ, Peschon JJ, Morrissey PJ. Phenotypic and functional characterization of mice that lack the type I receptor for IL-1. *J Immunol* 1997;159(7):3364-71.
- Goldhaber P, Rabadjija L, Beyer WR, Kornhauser A. Bone resorption in tissue culture and its relevance to periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1973;87:1027–1033.
- Golub LM, Ciancio S, Ramamamurthy NS, Leung M, McNamara TF. Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodontal Res* 1990;25:321–330.
- Golub LM, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T, Salo T, Giannobile WV. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res* 1997;46:310–319.
- 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, Wolff M, Lee HM, McNamara TF, Ramamurthy NS, Zambon J, Ciancio S. Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodontal Res* 1985; 20:12–23.
- Gomes BD, Hausmann E, Wienfeld N, De Luca C. Prostaglandins: bone resorption stimulating factors released from monkey gingiva. *Calcif Tissue Res.* 1976;19: 285–293.
- Graves DT, Chen CP, Douville C, Jiang Y. Interleukin-1 receptor signaling rather than that of tumor necrosis factor is critical in protecting the host from the severe consequences of a polymicrobe anaerobic infection. *Infect Immun.* 2000;68(8):4746-51.
- Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74(3):391-401.
- Graves DT, Delima AJ, Assuma 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(12):1419-25.
- Graves DT, Oskoui M, Volejnikova S, Naguib G, Cai S, Desta T, Kakouras A, Jiang Y. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *J Dent Res.* 2001;80(10):1875-9.

- 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.
- Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, Ju G. Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J Biol Chem.* 1995;270(23):13757-13765.
- Greenwell H. Position paper: Guidelines for periodontal therapy. *J Periodontol* 2001;72:1624–1628.
- Griffiths GS, Sterne JA, Wilton JM, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *J Clin Periodontol.* 1992;19(7):464-470.
- Guo JF, Zhou JM, Zhang Y, Deng R, Liu JN, Feng GK, Liu ZC, Xiao DJ, Deng SZ, Zhu XF. Rhabdastrellic acid-A inhibited PI3K/Akt pathway and induced apoptosis in human leukemia HL-60 cells. *Cell Biol Int.* 2008;32(1):48-54.
- Gurkan A, Cinarcik S, Huseyinov A. Adjunctive subantimicrobial dose doxycycline: effect on clinical parameters and gingival crevicular fluid transforming growth factor beta levels in severe, generalized chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32:244–253.
- Haffajee AD, Dibart S, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. *J Clin Periodontol* 1995;22:618–627.
- Hajishengallis G, Martin M, Schifferle RE, Genco RJ. Counteracting interactions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of toll-like receptors. *Infect Immun* 2002;70:6658–6664.
- Hanazawa S, Nakada K, Ohmori Y, Miyoshi T, Amano S, Kitano S. Functional role of interleukin 1 in periodontal disease: induction of interleukin 1 production by *Bacteroides gingivalis* lipopolysaccharide in peritoneal macrophages from C3H/HeN and C3H/HeJ mice. *Infect Immun.* 1985;50(1):262-70.
- Hasumura M, Ueda M, Onose J, Imai T, Hirose M. Lack of a significant effect of arctiin on development of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Nutr Cancer* 2007;57:201–208.
- Hartree EF. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem.* 1972;48(2):422-427.
- Hawkey CJ. Gastroduodenal problems associated with non-steroidal, anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Scand J Gastroenterol Suppl* 1993;200:94–95.
- Hellström MK, Ramberg P, Krok L, Lindhe J. The effect of supragingival plaque control on the subgingival microflora in human periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1996;23(10):934-40.

- Hirose M, Yamaguchi T, Lin C, Kimoto N, Futakuchi M, Konoc T, Nishibed S, Shirai T. Effects of arctiin on PhiP-induced mammary, colon and pancreatic carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats and MelQx-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Lett* 2000;155:79–88
- Hirschfeld M, Ma Y, Weis JH, Vogel SN, Weis JJ. Cutting edge: repurification of lipopolysaccharide eliminates signaling through both human and murine toll-like receptor 2. *J Immunol* 2000;165:618–622.
- Hirschfeld M, Weis JJ, Toshchakov V, Salkowski CA, Cody MJ, Ward DC, Qureshi N, Michalek SM, Vogel SN. Signaling by toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect Immun* 2001;69:1477–1482.
- Hock JM, Krishnan V, Onyia JE, Bidwell JP, Milas J, Stanislaus D. Osteoblast apoptosis and bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2001;16(6):975-84.
- Hoffman R. Bone formation and resorption around developing teeth transplanted into the femur. *Am J Anat* 1966;118:91–102.
- Holzhausen M, Rossa Junior C, Marcantonio Junior E, Nassar PO, Spolidorio DM, Spolidorio LC. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 2002;73: 1030–1036.
- Holzhausen M, Spolidorio DM, Muscara MN, Hebling J, Spolidorio LC. Protective effects of etoricoxib, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2, in experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res* 2005;40:208–211.
- <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/ca/ArctiumLappa1.jpg>, 2014.
- [http://vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/arctiummipu/pages/Arctium%20minus%20subsp\\_%20pubens\\_jpg.htm](http://vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/arctiummipu/pages/Arctium%20minus%20subsp_%20pubens_jpg.htm), 2014
- <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.90827.html>, 2014)
- Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, Hallab NJ, Glant TT. Osteolysis: basic science. *Clin Orthop* 2001;(393):71-7.
- 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.
- Kador PF, Hamada T, Reinhardt RA, Blessing K. Effect of an aldose reductase inhibitor on alveolar bone loss associated with periodontitis in diabetic rats. *Postgrad Med.* 2010;122(3):138-144.

- Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Host-mediated resolution of inflammation in periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2006;40:144-63.
- Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol* 2009;21:317–337.
- Keagle JG, Garnick JJ, Searle JR, Thompson WO. Effect of gingival wall on resistance to probing forces. *J Clin Periodontol*. 1995;22:953-7.
- Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, Matthews C, Dawson D, Steffen M, Ebersole JL. Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease. *Infect Immun*. 2007;75(4):1704-12.
- Kigure T, Saito A, Seida K, Yamada S, Ishihara K, Okuda K. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in human subgingival plaque at different periodontal pocket depths examined by immunohistochemical methods. *J Periodontol Res*. 1995;30(5):332-41.
- Kim BH, Hong SS, Kwon SW, Lee HY, Sung H, Lee IJ, Hwang BY, Song S, Lee CK, Chung D, Ahn B, Nam SY, Han SB, Kim Y. Diarctigenin, a lignan constituent from *Arctium lappa*, down-regulated zymosan-induced transcription of inflammatory genes through suppression of DNA binding ability of nuclear factor-kappaB in macrophages. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;327(2):393-401.
- Kinane DF, Berglundh T, Lindhe J. Pathogenesis of Periodontitis. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 5th. Ed., Munksgaard; Blackwell Publishing Company. 2008;285-306.
- Kinane DF, Mooney J, Ebersole JL. Humoral immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 1999;20:289-340.
- Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E, Moughal NA. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch Oral Biol*. 1992;37(2):153-156.
- Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2007;43:294-315.
- Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*. 1991;62(1):59-73.
- Knipping K, van Esch EC, Wijering SC, van der Heide S, Dubois AE, Garssen J. In vitro and in vivo anti-allergic effects of *Arctium lappa* L. *Exp Biol Med*. 2008;233(11):1469-1477.
- Koide M, Suda S, Saitoh S, Ofuji Y, Suzuki T, Yoshie H, Takai M, Ono Y, Taniguchi Y, Hara K. In vivo administration of IL-1 beta accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J Oral Pathol Med*. 1995;24(9):420-34.



- Kornman KS, Blodgett RF, Brunsvold M, Holt SC. Effects of topical applications of meclofenamic acid and ibuprofen on bone loss, subgingival microbiota and gingival PMN response in the primate *Macaca fascicularis*. *J Periodontal Res* 1990;25:300–307.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997;24(1):72-77.
- Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. *Periodontol* 2000. 2010;52(1):38-52.
- Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2004;39(2):101-106.
- Kupicha, F.K., 1975. *Arctium L.* In: Davis, P.H. (Ed.), *In Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 5. University Press, Edinburgh, pp. 354–356.
- Labow M, Shuster D, Zetterstrom M, Nunes P, Terry R, Cullinan EB, Bartfai T, Solorzano C, Moldawer LL, Chizzonite R, McIntyre KW. Absence of IL-1 signaling and reduced inflammatory response in IL-1 type I receptor-deficient mice. *The Journal of Immunology* 1997;159(5):2452-61.
- Laine ML, Farré MA, González G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, Crusius JB, Vandenbroucke JP, van Winkelhoff AJ, Peña AS. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res*. 2001;80(8):1695-1699.
- Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1244–1263.
- 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.
- Lee JY, Lee YM, Shin SY, Seol YJ, Ku Y, Rhyu IC, Chung CP, Han SB. Effect of subantimicrobial dose doxycycline as an effective adjunct to scaling and root planing. *J Periodontol* 2004;75:1500–1508.
- Lee MH, Lee JM, Jun SH, Ha CG, Lee SH, Kim NW, Lee JH, Ko NY, Mun SH, Park SH, Kim BK, Her E, Kim YM, Choi WS. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory action of the ethanol extract of *Trachelospermi caulis*. *J Pharm Pharmacol*. 2007;59(1):123-30.
- Lee S, Shin S, Kim H, Han S, Kim K, Kwon J, Kwak JH, Lee CK, Ha NJ, Yim D, Kim K. Anti-inflammatory function of arctiin by inhibiting COX-2 expression via NF- $\kappa$ B pathways. *J Inflamm*. 2011;8(1):16.

- Legler G, Müller-Platz CM, Mentges-Hettkamp M, Pflieger G, Jülich E. On the chemical basis of the Lowry protein determination. *Anal Biochem.* 1985;150(2):278-287.
- 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.
- Lin SC, Chung TC, Lin CC, Ueng TH, Lin YH, Lin SY, Wang LY. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* on carbon tetrachloride- and acetaminophen-induced liver damage. *Am J Chin Med.* 2000;28(2):163-173.
- Lin SC, Lin CH, Lin CC, Lin YH, Chen CF, Chen IC, Wang LY. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* Linne on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride. *J Biomed Sci.* 2002;9(5):401-9.
- Lindhe J, Rylander H: Experimental gingivitis in young dogs. *Scand J Dent Res* 1975;83:314-326.
- Lindsley CB, Warady BA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs. Renal toxicity. Review of pediatric issues. *Clin Pediatr* 1990;29:10–13.
- Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol* 2000. 2010;52(1):163-206.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-275.
- Lwakami S, Wu JB, Ebizuka Y, Sankawa U. Platelet activating factor (PAF) antagonists contained in medicinal plant: lignan and sesquiterpenes. *Chem Pharm Bull* 1992;40:1196-1199
- Maiden MF, Tanner AC, Macuch PJ, Murray L, Kent RL Jr. Subgingival temperature and microbiota in initial periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1998;25(10):786-93.
- Maini MK, Reignat S, Boni C, Ogg GS, King AS, Malacarne F, Webster GJ, Bertolotti A. T cell receptor usage of virus-specific CD8 cells and recognition of viral mutations during acute and persistent hepatitis B virus infection. *Eur The Journal of Immunology* 2000;30(11):3067-78.
- Malaslı MZ., Şekerpancarı Üretim Alanlarında Yabancı Otların Mücadele Yöntemleri ve Uygulama Etkinliklerinin Belirlenmesi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Yüksek Lisans Tezi, 2010, 50:53.
- Mandalunis PM, Costa OR, Ubios AM. Dynamics of bone loss in experimental periodontitis. *Acta Odontol Latinoam.* 1998;11(1):27-35.
- Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res.* 1994;8(2):263-271.

- Markwell MA, Haas SM, Bieber LL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal Biochem.* 1978;87(1):206-210.
- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115–1117.
- Matsumoto M, Mariathasan S, Nahm MH, Baranyay F, Peschon JJ, Chaplin DD. Role of lymphotoxin and the type I TNF receptor in the formation of germinal centers. *Science.* 1996;271(5253):1289-91.
- McCarthy PL Jr, Abhyankar S, Neben S, Newman G, Sieff C, Thompson RC, Burakoff SJ, Ferrara JL. Inhibition of interleukin-1 by an interleukin-1 receptor antagonist prevents graft-versus-host disease. *Blood.* 1991;78(8):1915-8.
- McMahan CJ, Slack JL, Mosley B, Cosman D, Lupton SD, Brunton LL, Grubin CE, Wignall JM, Jenkins NA, Brannan CI. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J.* 1991;10(10):2821-32.
- Meka A, Bakthavatchalu V, Sathishkumar S, Lopez MC, Verma RK, Wallet SM, Bhattacharyya I, Boyce BF, Handfield M, Lamont RJ, Baker HV, Ebersole JL, Kesavalu L. Porphyromonas gingivalis infection-induced tissue and bone transcriptional profiles. *Mol Oral Microbiol.* 2010;25(1):61-74.
- Miyamoto K, Nomura M, Sasakura M, Matsui E, Koshiura R, Murayama T, Furukawa T, Hatano T, Yoshida T, Okuda T. Antitumor activity of oenothien B, a unique macrocyclic ellagitannin. *Jpn J Cancer Res.* 1993;84(1):99-103.
- Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol.* 1991;62(12):761-74.
- Mori Y, Yoshimura A, Ukai T, Lien E, Espevik T, Hara Y. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:54–58.
- Morony S, Capparelli C, Sarosi I, Lacey DL, Dunstan CR, Kostenuik PJ. Osteoprotegerin inhibits osteolysis and decreases skeletal tumor burden in syngeneic and nude mouse models of experimental bone metastasis. *Cancer Res* 2001;61:4432–4436.
- Moughal NA, Adonogianaki E, Thornhill MH, Kinane DF. Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally-induced gingivitis. *J Periodontal Res.* 1992; 27(6):623-30.
- Muthukuru M, Jotwani R, Cutler CW. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis. *Infect Immun* 2005;73:687–694.
- Müller-Glauser W, Schroeder HE. The pocket epithelium: a light- and electronmicroscopic study. *J Periodontol.* 1982;53(3):133-44.

- Myneni SR, Settem RP, Sharma A. Bacteria take control of tolls and T cells to destruct jaw bone. *Immunol Invest*. 2013;42(7):519-31.
- Nakamura H, Fukusaki Y, Yoshimura A, Shiraiishi 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.
- Nakamura, N.,Hattori, M.Transformation of arctiin to estrogenic and antiestrogenic substances by human intestinal bacteria. *Chem. Pharm. Bull*. 2003;51(4),378-384.
- Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, Sakai H. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275:768–775.
- Nares S, MoutsopoulosNM, Angelov N, Rangel ZG, Munson PJ, Sinha N, Wahl SM. Rapid myeloid cell transcriptional and proteomic responses to periodontopathogenic *Porphyromonas gingivalis*. *Am J Pathol* 2009;174:1400–1414.
- Newman HN, Addison IE. Gingival crevice neutrophil function in periodontosis. *J Periodontol*. 1982;53:578-586.
- Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontosis. *J Periodontol*. 1976;47:373-379.
- Ng VW, Bissada NF. Clinical evaluation of systemic doxycycline and ibuprofen administration as an adjunctive treatment for adult periodontitis. *J Periodontol* 1998;69:772–776.
- 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.
- Novak MJ, Johns LP, Miller RC, Bradshaw MH. Adjunctive benefits of subantimicrobial dose doxycycline in the management of severe, generalized, chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002;73:762–769.
- Nyman S, Schroeder HE, Lindhe J. Suppression of inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. *J Periodontol*. 1979;50(9):450-461.
- O’Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domaincontaining adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2007;7:353–364.
- O’Neill LA, Bryant CE, Doyle SL. Therapeutic targeting of toll-like receptors for infectious and inflammatory diseases and cancer. *Pharmacol Rev* 2009;61:177–197

- 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(2):137-143.
- Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, Maalouf N, Gottschalk FA, Pak CY. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1294–1301.
- Offenbacher S, Farr DH, Goodson JM. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1981;8:359–367.
- Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 1993;64:432–444.
- Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, Van Dyke TE. Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J Periodontal Res* 1984;19:1–13.
- Offenbacher S, Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Odle BM, Smith MA, Hall CM, Johnson HG, Goldhaber P. Effects of NSAIDs on beagle crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss. *J Periodontal Res* 1992;27:207–213.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821–878.
- Ogawa T, Asai Y, Hashimoto M, Takeuchi O, Kurita T, Yoshikai Y, Miyake K, Akira S. Cell activation by *Porphyromonas gingivalis* lipid A molecule through Toll-like receptor 4- and myeloid differentiation factor 88-dependent signaling pathway. *Int Immunol* 2002;14:1325–1332.
- Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:248–266.
- 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(6):1236-1245.
- Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:754-857.
- Page RC Current understanding of the aetiology and progression of periodontal disease. *Int Dent J*. 1986;36(3):153-161.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34(3):235-49.
- Papaioannou W, Cassiman JJ, Van den Oord J, De Vos R, van Steenberghe D, Quirynen M. Multi-layered periodontal pocket epithelium reconstituted in vitro: histology and cytokeratin profiles. *J Periodontol*. 1999;70(6):668-678.

- Park JH, Lee JM, Kim SN, Lee SH, Jun SH, You JH, Ahn KS, Kang H. Treatment with SI000413, a new herbal formula, ameliorates murine collagen-induced arthritis. *Biol Pharm Bull.* 2008;31(7):1337-1342.
- Park, S.Y., Hong, S.S., Han, X.H., Hwang, J.S., Lee, D., Ro, J.S., Hwang, B.Y., Lignans from *Arctium lappa* and their inhibition of LPS-induced nitric oxide production. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2007;55,150-152.
- 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(2):51-64.
- Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL, Glaccum MB, Otten C, Willis CR, Charrier K, Morrissey PJ, Ware CB, Mohler KM. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *The Journal of Immunology* 1998;160(2):943-952.
- Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol* 2000. 2002;28:56-71.
- Pfizenmaier K, Wajant H, Grell M. Tumor necrosis factors in 1996. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996;7(3):271-277.
- Potempa J, Banbula A, Travis J. Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses. *Periodontol* 2000. 2000;24:153-192.
- Preshaw MP, Taylor JJ. Periodontal Pathogenesis. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, Carranza's Clinical Periodontology, 11th. Ed., Missouri; Elsevier Saunders. 2012;194-216.
- Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S, Etienne D, Walker C, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol* 2004;31:697-707.
- Preshaw PM, Hefti AF, Novak MJ et al. Subantimicrobial dose doxycycline enhances scaling and root planing. *J Dent Res* 2002;81:A-127.
- 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.
- 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.
- Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:12-37.

- Reddy MS, Palcanis KG, Barnett ML, Haigh S, Charles CH, Jeffcoat MK. Efficacy of meclufenamate sodium (Meclomen) in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:635–640.
- 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.
- Redmile-Gordon MA, Armenise E, White RP, Hirsch PR, Goulding KW. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts. *Soil Biol Biochem*. 2013;67(100):166-173.
- Reife RA, Coats SR, Al-Qutub M, Dixon DM, Braham PA, Billharz RJ, Howald WN, Darveau RP. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide lipid A heterogeneity: differential activities of tetra- and penta-acylated lipid A structures on E-selectin expression and TLR4 recognition. *Cell Microbiol* 2006;8:857–868.
- Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1997;14:144-157.
- Ridderstad A, Abedi-Valugerdi M, Möller E. Cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Med*. 1991;23(3):219-223.
- 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.
- Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88:2961–2978.
- Rogler G, Andus T. Cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Surg*. 1998;22(4):382-389.
- Roux S, Orcel P. Bone loss. Factors that regulate osteoclast differentiation: an update. *Arthritis Res* 2000;2:451–456.
- 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.
- Saglie R, Carranza FA Jr, Newman MG, Pattison GA. Scanning electron microscopy of the gingival wall of deep periodontal pockets in humans. *J Periodontal Res*. 1982;17(3):284-293.

- Salvi GE, Lang NP. The effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (selective and non-selective) on the treatment of periodontal diseases. *Curr Pharm Des.* 2005;11(14):1757-1769.
- 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):70-79.
- Schroeder HC, Merz H, Steffen R, Müller WE, Sarin PS, Trumm S, Schulz J, Eich E. Differential in vitro anti-HIV activity of natural lignans. *Z Naturforsch C.* 1990;45(11-12):1215-1221.
- Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol.* 1973;8:899-923.
- Schroeder HE. Handbook of microscopic anatomy. Vol.5. The periodontium. Berlin: Springer-Verlag, 1986;12–323.
- Semenoff TA, Semenoff-Segundo A, Bosco AF, Nagata MJ, Garcia VG, Biasoli ER. Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: a comparison of histological section planes. *The Journal of Applied Oral Science* 2008;16(4):251-256.
- Seymour GJ, Powell RN, Aitken JF. Experimental gingivitis in humans. A clinical and histologic investigation. *J Periodontol.* 1983;54(9):522-8.
- Shannon J, Shannon J, Modelevsky S, Grippo AA. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59(12):2350-5.
- Shimizu N, Ozawa Y, Yamaguchi M, Goseki T, Ohzeki K, Abiko Y. Induction of COX-2 expression by mechanical tension force in human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 1998;69:670–677.
- Shoeb M, Celik S, Jaspars M, Kumarasamy Y, MacManus SM, Nahar L, Thoo-Lin PK, Sarker SD.. Isolation, structure elucidation and bioactivity of schischkiniin, a unique indole alkaloid from the seeds of *Centaurea schischkini*. *Tetrahedron* 2005;61:9001–9006.
- Shoeb M, Jaspars M, MacManus SM, Thoo-Lin PK, Celik S, Sarker SD. Bioactivity of the extracts and the isolation of lignans from the seeds of *Centaurea dealbata*. *Ars Pharm* 2006;47:417–424.
- Shoeb M, Rahman MM, Nahar L, Delazar A, Jaspars M, MacManus SM, Sarker SD. Bioactive lignans from the seeds of *Centaurea macrocephala*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2004;12:87–93.
- Smith M, Seymour GJ, Cullinan MP. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010;53:45-54.



- Soares GM, Figueiredo LC, Favari 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. *The Journal of Applied Oral Science* 2012;20(3):295-309.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-144.
- Soral-Smietana M, Amarowicz R, Swigoń A, Sijtsma L. Comparison of solubility of pea protein hydrolysate by three analytical methods. *Int J Food Sci Nutr*. 1999;50(6):407-411.
- Sorsa T, Uitto VJ, Suomalainen K, Vauhkonen M, Lindy S. Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontal Res* 1988;23:386–393.
- Souza JA, Rossa C Jr, Garlet GP, Nogueira AV, Cirelli JA. Modulation of host cell signaling pathways as a therapeutic approach in periodontal disease. *Journal of Applied Oral Science*. 2012;20(2):128-138.
- Stashenko P, Dewhirst FE, Peros WJ, Kent RL, Ago JM. Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *The Journal of Immunology* 1987;138(5):1464-1468.
- Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol* 1991;62:504–509.
- Suda T, Kobayashi K, Jimi E, Udagawa N, Takahashi N. The molecular basis of osteoclast differentiation and activation. *Novartis Found Symp* 2001;232:235–247.
- Takasaki M, Konoshima T, Komatsu K, Tokuda H, Nishino H. Anti-tumorpromoting activity of lignans from the aerial part of *Saussurea medusa* *Cancer Lett* 2000;158:53–59.
- Tamayo C, Richardson MA, Diamond S, Skoda I. The chemistry and biological activity of herbs used in Flor-Essence herbal tonic and Essiac. *Phytotherapy Research* 2000;14(1):1-14.
- Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today*. 1992;13(5):151-153.
- Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000. 2010;54(1):160-194.
- Teng Y, Nguyen H, Gao X, Kong Y, Gorczynski R, Singh B, Ellen R, Penninger J. Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J Clin Invest*. 2000;106:59–67.
- Theilade J, Egelberg J, Attström R. Vascular permeability to colloidal carbon in chronically inflamed gingiva. *J Periodontal Res*. 1971;6:100-109.

- Thomson WM, Edwards SJ, Dobson-Le DP, Tompkins GR, Poulton R, Knight DA, Braithwaite AW. IL-1 genotype and adult periodontitis among young New Zealanders. *J Dent Res*. 2001;80(8):1700-1703.
- Van Dyke TE, Hoop GA. Neutrophil function and oral disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1990;1(2):117-133.
- Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 1971;231:232–235.
- Wang PL, Azuma Y, Shinohara M, Ohura K. Toll-like receptor 4-mediated signal pathway induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;273:1161–1167.
- 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.
- Weeks-Dybvig M, Sanavi F, Zander H, Rifkin BR. The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontal Res* 1982;17:90–100.
- Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989;320:365–376.
- Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Reddy MS, Johnson HG, Hall CM, Goldhaber P. Ibuprofen: an inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. *J Periodontal Res* 1988;23:225–229.
- Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Rolla A, Stubbs D, Teoh KW, Reddy MS, Goldhaber P. Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J Periodontol* 1989;60:485-490.
- 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(4687):640-642.
- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-2194.
- Wu JG, Wu JZ, Sun LN, Han T, Du J, Ye Q, Zhang H, Zhang YG. Ameliorative effects of arctiin from *Arctium lappa* on experimental glomerulonephritis in rats. *Phytomedicine*. 2009;16(11):1033-1041.
- Xu Z, Wang X, Zhou M, Ma L, Deng Y, Zhang H, Zhao A, Zhang Y, Jia W. The antidiabetic activity of total lignan from *Fructus Arctii* against alloxan-induced diabetes in mice and rats. *Phytotherapy Research* 2008;22(1):97-101.
- Yan LX, Li YM. Effects of extract from *Arctium lappa* on the immunology and blood glucose in rats. *Northwest Pharma J* 1993;8:79.

- Yoshimura A, Kaneko T, Kato Y, Golenbock DT, Hara Y. Lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Capnocytophaga ochracea* are antagonists for human toll-like receptor 4. *Infect Immun* 2002;70:218–225.
- Zappa U. Histology of the periodontal lesion: implications for diagnosis. *Periodontol* 2000. 1995;7:22-38.
- Zhao F, Wang L, Liu K. In vitro anti-inflammatory effects of arctigenin, a lignan from *Arctium lappa* L., through inhibition on iNOS pathway. *J Ethnopharmacol.* 2009;122(3):457-62.
- Zhou X, Zhang H, Ge L, Gong H, Tian S, “Determination of Arctiin and Arctigenin Contents in *Arctium Tomentosum* Mill. by HPLC Method, *Journal of Chemistry*, 2011;8:372-376.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Ahmet AYDOĞDU

**Doğum Yeri:** İzmir

**Doğum Tarihi:** 04/07/1981

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):**

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2000-2005

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Peridontoloji AD Doktora 2010-

**Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:**

Tunceli Jandarma Bölge Komutanlığı 30 Yataklı İaşeli Reviri 2007-2008

Anadolu Sağlık Merkezi, İstanbul 2009-2010

**E-posta:** ahm0067@hotmail.com