



TC
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE
KEMİK REZORPSİYONU VE GİNGİVAL ENFLAMASYON ÜZERİNDE
SİSTEMİK VE LOKAL OLARAK UYGULANAN HÜMİK ASİDİN ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK AÇIDAN ARAŞTIRILMASI

METİN ÇALIŞIR

DOKTORA TEZİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

2013

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE KEMİK
REZORPSİYONU VE GİNGİVAL ENFLAMASYON ÜZERİNDE SİSTEMİK VE
LOKAL OLARAK UYGULANAN HÜMİK ASİDİN ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK
VE HİSTOMORFOMETRİK AÇIDAN ARAŞTIRILMASI

METİN ÇALIŞIR

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. AYSUN AKPINAR

SİVAS

2013

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof. Dr. Yasin ÇİÇEK	
Üye	Doç. Dr. Hülya TOKER	
Üye	Doç. Dr. Hakan DEVELİOĞLU	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Aysun AKPINAR	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Kerem Engin AKPINAR	

ONAY

Bu tez çalışması 22/02/2013 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ömer POYRAZ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde sistemik ve lokal olarak uygulanan hümkik asidin alveoler kemik kaybı ve dişeti enflamasyonu üzerine etkilerinin biyokimyasal, histopatolojik ve morfometrik açıdan araştırılmasıdır.

Materyal metot: 62 adet Wistar rat 8 deney grubuna ayrıldı; ligatürsüz kontrol (K, n=6) grup bağı kontrol (LK, n=8) grubu; bağı + Lokal-20 mg/kg hümkik asit (L-20, n=8) grup; ligatür + Lokal-80 mg/kg hümkik asit (L-80, n=8) grubu; bağı + Yerel-150 mg/kg hümkik asit (L-150, n=8) grubu; ligatür + Sistemik-20 mg/kg hümkik asit (S-20, n=8) grubu; bağı + Sistemik-80 mg/kg hümkik asit (S-80, n=8) grubu; bağı + Sistemik-150 mg/kg hümkik asit (S-150, n=8) grubu. Çalışma gruplarında hümkik asit miktarları 15 gün boyunca uygulandı. Deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla ratların sağ alt birinci molar dişlerin gingival marjinlerine 4/0 ipek ligatürler yerleştirildi. 15 günün sonunda ratlar sakrifiye edildi. Alveoler kemik kaybı stereomikroskopta mine-sement sınırı ile alveoler kret tepesi arasındaki mesafe olarak ölçüldü (25x). Dişeti homojenatlarında ve serumda IL-1 β ve IL-10 seviyeleri ELISA ile belirlendi. Histopatolojik olarak enflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibrozis, osteoklast sayısı ve osteoblastik aktivite değerlendirildi.

Bulgular: 15 günün sonunda LK grubunda alveoler kemik kaybı K, L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına oranla anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). S-80 grubunda alveoler kemik kaybı LK, L-20, L-80 ve S-20 gruplarına oranla anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). S-80 ve S-150 gruplarında osteoblastik aktivite diğer tüm gruplara oranla anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). LK grubunda osteoklast sayısı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). En yüksek fibrozis değeri L-80 grubunda tespit edildi. Ayrıca LK, L-80 ve S-20 gruplarında enflamatuvar hücre infiltratı diğer gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.05$). S-80 grubunda serum ve dişeti homojenatı IL-10 düzeyleri en yüksek oranda tespit edildi. LK grubunda serum ve dişeti homojenatı IL-1 β düzeyleri K, L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.05$).

Sonuçlar: Bu çalışmanın sınırları dahilinde sistemik olarak alınan 80 mg/kg hümkik asidin rat modelinde alveoler kemik kaybını azaltabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Deneysel periodontitis, Alveoler kemik kaybı, Enflamatuvar sitokinler, Hümik asit.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı biyokimyasal, morfolojik ve yanıt olarak sıçanlarda deneysel periodontitis ile ilişkili histopatolojik değişiklikler hümkik asidin sistemik ve lokal uygulaması.

Yöntemler: 62 Wistar sıçanı 8 deney grubuna ayrıldı: bağlanmamış (K, n=6) grup; sadece bağ (LK, n=8) grubu; ligatür + lokal hümkik asit uygulaması (20, 80 15 gün boyunca günde 150 mg/kg vücut ağırlığı) (L-20 n=8, L-80 n=8 ve L 150 n=8 grup); bağ + sistemik hümkik asit uygulaması (20, 80 ve 150 mg/kg 15 gün boyunca günlük canlı ağırlık) (S-20, S-80 ve S-150 grupları). 4/0 ipek ligatürler mandibular kadranın alt birinci molar dişlerinin diş eti kenarına yerleştirildi. 15 gün sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Alveolar kemik seviyelerindeki değişiklikler, klinik olarak sement-mine birleşiminden alveolar kemik tepesine olan mesafe olarak ölçülür bir stereomikroskop (x25) ile değerlendirilmek için dokular histopatolojik olarak incelendi. fibroz, osteoklast sayıları, osteoblastik aktivite ve inflamatuvar hücre farklılıkları Çalışma grupları arasında sızma. Serum ve diş etinde ELISA IL-1 β ve IL-10 seviyeleri homojenatlar değerlendirildi.

Bulgular: 15 günün sonunda alveolar kemik kaybı LK'de anlamlı olarak daha yüksekti. grubu K, L-20, L-150, S-80 ve S-150 grupları ile karşılaştırıldı (p<0,05). Ayrıca, alveol S-80 grubundaki kemik kaybı, LK, L-20, L-80 ve S-20'den önemli ölçüde daha düşüktü gruplar (p<0.05). S-80 ve S-150 gruplarındaki osteoblastik aktivite önemli ölçüde diğer gruplardan daha yüksek (p<0.05). LK grubundaki osteoklast sayısı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre anlamlı olarak yüksek (p<0.05). En yüksek S-80 grubunda fibrozis düzeyi belirlendi. Enflamatuvar hücre infiltrasyonu LK, L-80 ve S-20 gruplarında diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.05). bu en yüksek serum ve diş eti homojenat IL-10 seviyeleri S-80 grubunda belirlendi (p<0.05). LK grubunda serum ve diş eti homojenat IL-1 β seviyeleri anlamlı olarak bulundu. K, L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarına göre daha yüksek (p<0,05).

Sonuç: Bu çalışmanın sınırları dahilinde hümkik asidin ne zaman kullanılacağı önerilebilir. sistemik olarak uygulanan 80 mg/kg dozu, sıçan modelinde alveolar kemik kaybını önleyebilir.

Anahtar kelimeler: Deneysel periodontitis, Alveolar kemik kaybı, İnflamatuvar sitokinler,
Hümik asit.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca desteklerini benden esirgemeyen sevgili danıőman hocam
Yrd. Doç. Dr. Aysun AKPINAR'a;

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili hocam Doç.
Dr. Hülya TOKER'e;

Doktora eğitimim süresince bilgilerini benimle paylaşan sevgili hocalarım Yrd. Doç.
Dr. Vildan BOSTANCI, Yrd. Doç. Dr. Hakan ÖZDEMİR ve Doç. Dr. Hakan DEVELİOğLU'na;

Tez ęalıőmamın deneysel aşamalarında yardımlarını sunan sayın hocalarım Prof. Dr.
Fahrettin GÖZE, Prof. Dr. Ömer POYRAZ, Doç. Dr. Yavuz SİLİĞ ve Yrd. Doç. Dr.
Ziyet ÇINAR'a;

Tez ęalıőmamı maddi olarak destekleyen Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Başkanlığı'na;

Doktoram süresince bana sıcak ve samimi bir ortam sunan Cumhuriyet Üniversitesi Diş
Hekimliği Fakültesi Periodontoloji ailesi ve değerli dostlarıma;

Varlığı ile bana her zaman güç veren ve yaőamı benimle paylaşan sevgili eőim Gülten
FIRAT ÇALIŞIR'a;

Beni yetiőtiren, bugün olduğum insan olmamı sağlayan sevgili annem ve babama;

Akademisyenlik yolunda bana ışık tutan ve örnek aldığım sevgili ablam Yrd. Doç. Dr.
Deniz TEKİN, sevgili abim Prof. Dr. Bayram TEKİN ve eğlence kaynağım biricik yeğerim Elif
Ada TEKİN'e;

Destekleri ile hep yanımda olan sevgili dostlarım Tayfun SÖNMEZ ve Ümit
KARAKUŐ'a;

Teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
Hastalık.....	5 2.1. Periodontal Hastalık
Tabakası.....	5 2.1.1. Biyofilm
(MDP).....	6 2.1.2. Mikrobiyal Dental Plak
Patogenezi.....	6 2.1.3. Periodontal Hastalığın
Modelleri.....	7 2.1.4. Deneysel Periodontitis
Sitokinler.....	8 2.1.5.
IL-1 β	10 2.1.5.1.
IL-10.....	13 2.1.5.2.
Modülasyonu.....	15 2.2. Konak
Asit.....	16 2.3. Hümik
Yapısı.....	18 2.3.1.
Uygulamaları.....	19 2.3.2. Sağlık Alanında
Üzerine Etkileri.....	22 2.3.2.1. Kemik Metabolizması
Aktivitesi.....	22 2.3.2.2. Antiviral
Etkileri.....	22 2.3.2.3. Anti-Enflamatuvar
Etkileri.....	23 2.3.2.4. Kan Parametreleri Üzerine
Etkileri.....	24 2.3.2.5. Mineral Transferi Üzerine
Etkileri.....	24 2.3.2.6. İmmün Sistem Üzerine
Etkileri.....	24 2.3.3. Hümik Asit
İçeriği.....	25
2.3.4. Sitotoksisite.....	26
3.MATERYAL METOT.....	27
Grupları.....	27 3.1. Çalışma
.....	27 3.2. Çalışma Prosedürü
.....	28 3.2.1. Deneysel Periodontitis
Oluşturulması.....	28 3.2.2. Hümik Asit
Uygulaması.....	28 3.2.3.
Sakrifikasyon.....	28 3.2.4. Ratlardan
Serum Elde Edilmesi.....	29 3.2.5. Dişeti Biyopsilerinin
Biyokimyasal Analizi.....	29 3.2.6. Morfometrik
Değerlendirme.....	30 3.2.7. Histopatolojik
İşlemler.....	30 3.2.8. IL-10 ELISA Kitinin
Hazırlanması.....	31 3.2.9. IL-1 β ELISA Kitinin
Hazırlanması.....	32 3.2.10. İstatistiksel Değerlendirme
.....	34

4.BULGULAR.....	35
4.1. Morfometrik Ölçümler	36
4.2. Serum ve Dişeti Homojenati IL-10 ve IL-1 β Değerleri.....	39
4.3. Histopatolojik Değerlendirme	43
4.3.1. Osteoblastik Aktivite.....	43
4.3.2. Osteoklast Sayısı.....	45
4.3.3. Fibrozis.....	47
4.3.4. Enflamatuvar Hücre İnfiltratı.....	49
5.TARTIŞMA.....	59
Sonuç ve Öneriler	67
KAYNAKÇA.....	68
ÖZGEÇMİŞ	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Bakteri ve konak yanıtı arasındaki etkileşim sonrasında artmış doku yıkımının şematik gösterimi.

Şekil 2: Sitokinlerin immün yanıtındaki etkilerinin şematik gösterimi.

Şekil 3: Hümik maddelerin basit oluşum şeması.

Şekil 4: Oksidize hümik asidin kimyasal yapısı.

Şekil 5: Uluslararası Hümik Maddeleri Derneği (IHSS) tarafından tarif edilen ekstraksiyon yöntem.

Şekil 6: Hümik maddelerin doğada buldukları renkleri.

Şekil 7: Ratların sağ mandibular birinci molar dişlerine yerleştirilmiş olan 4/0 ipek ligatürün görüntüsü.

Şekil 8: Gruplara ait alt sağ birinci molar dişlerin stereomikroskop görüntüsü (x25).

Şekil 9: Gruplara ait alveoler kemik kaybı ortalamaları.

Şekil 10: Gruplara ait osteoblastik aktivite dağılımı (%).

Şekil 11: Gruplara ait ortalama osteoklast sayısı değerleri.

Şekil 12: Gruplara ait ortalama fibrozis değerleri (%).

Şekil 13: Gruplara ait enflamatuvar hücre infiltratı dağılımı (%).

Şekil 14: Kontrol Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 15: Ligatürlü Kontrol Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 16: Lokal-20 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 17: Lokal-80 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 18: Lokal-150 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 19: Sistemik-20 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 20: Sistemik-80 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

Şekil 21: Sistemik-150 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1: Gruplara ait alveoler kemik kaybı ortalamaları ve ortanca değerleri.

Çizelge 2: Gruplara ait Serum IL-10 düzeyleri.

Çizelge 3: Gruplara ait Dişeti Homojenatı IL-10 düzeyleri.

Çizelge 4: Gruplara ait Serum IL-1 β düzeyleri.

Çizelge 5: Gruplara ait Dişeti Homojenatı IL-1 β düzeyleri.

Çizelge 6: Gruplara ait osteoblastik aktivite değerleri.

Çizelge 7: Gruplara ait ortalama osteoklast sayısı.

Çizelge 8: Gruplara ait ortalama fibrozis değerleri.

Çizelge 9: Gruplara ait enflamatuvar hücre infiltratı değerleri.

KISALTMALAR DİZİNİ

MDP: Mikrobiyal dental plak

IL: İnterlökin

TNF: Tümör nekroz faktör

IFN: İnterferon

PGE2: Prostaglandin E2

MMP: Matris metalloproteinaz

Th-2: T helper-2 hücresi

Th-1: T helper-1 hücresi

RANK: Nükleer faktör kappa B'nin reseptör aktivatörü

NSAI: Steroid olmayan antiinflamatuvar

COX: Siklooksijenaz

HA: Humik asit

FA: Fulvik asit

HÜ: Humin

MPO: Miyeloperoksidaz

ECM: Hücre dışı matris

TIMP: Metalloproteinaz doku inhibitörü

RANKL: Nükleer faktör kappa B'nin reseptör aktivatörü bağlayıcısı

OPG: Osteoprotegrin

CFU-GM: Granülositler ve makrofajlar için koloni şekillendirici eleman

M-CSF: Makrofaj koloni stimüle edici faktör

HSV-1: Herpes simpleks tip-1 virüs

HIV: İnsan immün yetmezlik virüs

CMV: Sitomegalovirüs

ICAM-1: İntrasellüler adezyon molekül-1

VCAM-1: Vasküler adezyon molekül-1

RBC: Kırmızı kan hücreleri

CEJ: Mine-sement sınırı

ABC: Alveoler kemik kreti

1. GİRİŞ

Periodontitis birden fazla periodontopatojene karşı konak enflamatuvar ve immünolojik reaksiyonlarının oluşturduğu, bağ dokusu ataşmanı ve alveoler kemik kaybıyla karakterize diş destek dokularının bir hastalığıdır [1]. Bu hastalıklar genellikle birbirini takip eden aktif ve pasif dönemlerle karakterize dönemsel kronik hastalıklardır [2, 3].

Periodontitisin meydana gelmesinde değişik etkenlerden söz edilmesine rağmen primer etiyolojik faktör mikrobiyal dental plak (MDP) olarak tanımlanmıştır [4, 5]. Fakat hastalığın patogenezi açıklamada MDP tek başına yeterli değildir. Hastalığın gelişebilmesi ve ilerleyebilmesi için bakteriler ve konak savunma mekanizmaları arasında bir takım etkileşimlerin olduğu düşünülmektedir. Bakteri ve ürünleri konak dokularına doğrudan veya enflamatuvar cevaba yol açarak dolaylı olarak zarar verebilir [4]. Periodontopatojenlere karşı konakta oluşan enflamatuvar mediatör süreci devam ederse konak dokusunda hasar meydana gelir [6]. Periodontopatojenlerin hastalık oluşturabilmesi için periodontal dokularda belli bir miktarda bulunmaları ve hastalığa sebep olabilecek patojenik faktörlere sahip olmaları gerekmektedir [7]. Enflamasyon sürecinde kemik kaybı olup olmayacağı dişetindeki enflamatuvar belirleyicilerin anlamlı düzeylere ulaşmasına ve bu belirleyicilerin alveol kemiğe ulaşabilecek mesafede dişeti dokularına penetre olmasına bağlıdır. Bu belirleyicilerin en önemlilerinden biri sitokinlerdir. İnterlökin (IL)-1, IL-6, IL-11, IL-17 ve Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi pro-enflamatuvar sitokinler kritik konsantrasyonlara ulaşarak alveoler kemik yıkımını başlatır. Diğer yandan anti enflamatuvar özellikleri bilinen IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, İnterferon-beta (IFN- β) ve İnterferon-gama (IFN- γ) gibi sitokinler kemik yıkımını baskılayarak tam tersi etki gösterirler [8].

Sitokinler hücreler arasında iletişimi sağlayan ve bağışık yanıtı düzenleyen hücrelerce salınan hormon benzeri aracı maddelerdir [9]. Peptit ya da glikoprotein yapısında çözünebilen mediatörler olan sitokinler, etkilerini salındığı hücrelerde veya ilgili hücrelerin yakınında gösterirler. Enflamatuvar olaylar esnasında meydana gelir ve ortama salınırlar. Sonrasında aynı ya da daha farklı bir hücre reseptörüne bağlanarak etki gösterirler [10]. Yapılan birçok çalışmada periodontopatojenik bakteriler ve ürünlerine karşı farklı konak

hücrelerinin sitokin salgıladığı gösterilmiştir. Bu sitokinler periodonsiyumda enflamatuvar yanıtı başlatmak ve sürdürmekle görevlidir [11-13]. Yapılan çalışmalar sonucunda sitokinler ve periodontal doku kaybı arasında bir neden-sonuç ilişkisi olduğu gösterilmiştir [14, 15].

IL-1 enfeksiyon alanına hücrelerin toplanmasını sağlayan pro-enflamatuvar bir sitokindir ve kemik yıkım sürecini ilerletir [16]. IL-1 β , IL-1'in periodontal dokularda bulunan dominant formu olup başlıca makrofajlardan salınır [17]. Artmış IL-1 β düzeyi periodontitis hastalarında enflamasyonlu dişeti dokusuyla ilişkili olduğu bulunmuştur [18].

IL-10 başlıca T helper-2 (Th-2) lenfositleri tarafından üretilir ve T helper-1 (Th-1) klonlarını aktive ederek sitokin üretimini inhibe eder [19]. IL-10'un birçok deneysel çalışmada farklı hücre tipleri için anti-enflamatuvar etkisi ve periodontal hastalıkta immün yanıt üzerinde düzenleyici etkisi gösterilmiştir [20, 21].

Periodontal doku yıkımı periodontopatojen bakterilerin varlığı ve bunlara karşı oluşan konak yanıtı sonucunda oluşur. Bu yanıt çevresel (sigara kullanımı gibi), kazanılmış (sistemik hastalıklar) ve genetik risk faktörlerinden etkilenir [22]. Periodontal dokuların yıkımı konak yanıtıyla doğrudan bağlantılı olduğu için kronik periodontitisin tedavisinde anti-bakteriyel uygulamalara ek olarak konak yanıtını modüle etmeye yarayan terapötik uygulamalar faydalı olabilir. Konak modülasyonunu sağlamak için üç potansiyel uygulama olduğu bildirilir. Bunlar [23];

1. Antiproteinazlarla matriks metalloproteinaz (MMP) inhibisyonu
2. Anti-enflamatuvar ilaçlarla prostaglandinlerin ve pro-enflamatuvar sitokinlerin üretiminin engellenmesi
3. Kemik koruyucu ajanlarla osteoklast aktivasyonunun inhibe edilmesi

Periodontal dokuların yıkımını önlemek için farklı maddelerin kullanımına ilişkin çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır [24-28].

Periodontal bağ dokusu kollajenazlar ve jelatinazlar gibi bir dizi MMP'lar tarafından yıkıma uğratılır. Bu enzimler dokuların remodelasyonunda önemli rol oynarlar. Aktiviteleri bazı spesifik ve non-spesifik inhibitörler ile düzenlenir [29]. Golub ve ark. [30]

tetrasiklinlerin konak kaynaklı MMP'ların etkilerini direkt bloke edebildiğini göstermişlerdir. Bu sonuç tetrasiklinlerin bağ dokusu yıkımıyla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanımını gündeme getirmiştir.

Periodontitiste görülen alveoler kemik kaybı osteoklastik aktivitenin bir sonucudur. Osteoporözün tedavisinde sıkça kullanılan bifosfonat ilaçlar etkilerini osteoklastların aktivitesini direkt bloke ederek gösterirler. Bifosfonat türevlerinden bir tanesi olan alendronat maymunlarda ligatürle oluşturulan periodontitis modelinde periodontal kemik kaybını önemli oranda azaltmıştır [31].

Araşidonik asit metabolitleri kronik periodontitis gibi çeşitli kemik yıkım süreçlerinde rol oynayan pro-enflamatuvar mediatörlerdir [32]. Bu mediatörler aspirin, ibuprofen ve naproksen gibi ilaçları içeren non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçlar (NSAI ilaçlar) tarafından inhibe edilebilir. NSAI ilaçlar analjezik, anti-platelet ve anti-trombotik etkilerinin yanında siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonunu da sağlar. Böylece araşidonik asit metabolitlerinin üretimini engeller. NSAI ilaçların kullanımı sonucu pro enflamatuvar mediatör düzeylerinin azalması kronik periodontitiste oluşan konakla ilişkili alveoler kemik yıkımını azaltabilir [23].

Hüyük asitlerin araşidonik asit metabolitlerinin üretimini inhibe edebildiği gösterilmiştir [33]. Hüyük asitler anti-enflamatuvar etkilerini çeşitli yollarla gösterir [34, 35]. Araşidonik asit metabolitlerinin üretiminin inhibisyonu bu yollardan bir tanesidir [33]. Ayrıca, hüyük asitler anti-enflamatuvar [36], anti-viral [36], anti-bakteriyel [37], anti alerjik [37], anti-ülserojenik [37] vs. özellikleri ile tıpta yaygın olarak çalışma alanı bulmuşlardır. Fakat periodontal dokularda daha önce çalışılmamış olup çalışmamız dış hekimliği alanında yapılan ilk deneysel çalışmadır.

Hüyük asitler doğada yaygın bulunan organik karbon formlarıdır [38]. Diğer bir ifadeyle hüyükli yapılar organik maddelerin kabasını oluşturur. Toprak, linyit, turba, kanalizasyon suları, kaynak suları ve çökeltilerinden oluşan organik maddelerin çoğunu temsil eder. Hüyük maddeler temel olarak üçe ayrılır: Fulvik asitler (FA), hüyük asitler (HA) ve Humin (HU). Hüyük asitler ve fulvik asitler alkali ortamda çözünen humus yapılarını temsil ederken humin çözünmeyen tortuyu temsil eder. Hüyük maddelerinin en

önemli parçalarından biri hümik asitlerdir [39]. Doğal olarak meydana gelen hümik asitler bütün topraklarda ve su yüzeylerinde olmak üzere doğada her yerde bulunan kahverengi siyah renkli polimerik organik asitlerdir [40]. Çalışmamızda turbadan elde edilen hümik asit kullanıldı. Turba ölü bataklık bitkilerinin humifikasyonu sonucu oluşan organik toprak şeklidir. Turbanın organik kısmı %90 oranında humin, hümik ve fulvik asit (%40'dan fazla), lignin, polisakkaritler, lipidler, pektinler, hemisellülöz ve sellülöz içerir [41]. Turba yüzyıllar boyunca tıp alanında kullanılmıştır. Turba tedavisinin uygulandığı bazı endikasyonlar; dejeneratif ve deforme artrozlar, Gut hastalığı, osteoporöz, spondilopatiler, kas romatizması, romatoid artritler, kronik enflamatuvar hastalıklar, hormonal dengesizlikler, bel ağrısı, kronik egzema, nörodermatit ve sedef hastalığıdır. Hümik asitler kan dolaşımını arttırarak rejenerasyon süresini hızlandırır [36].

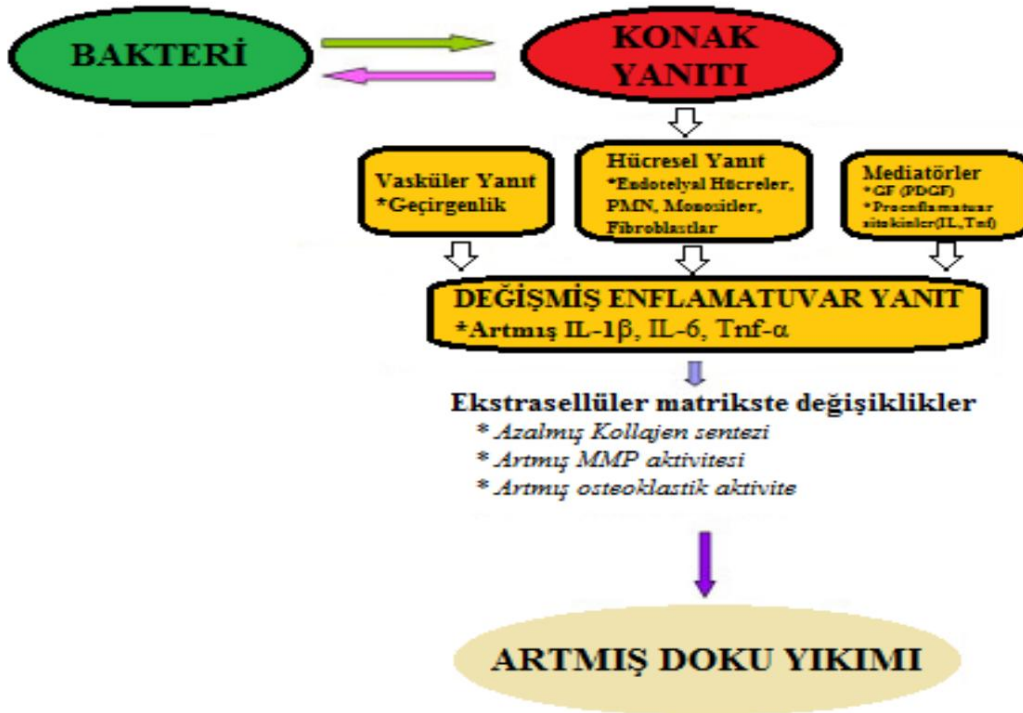
Çalışmamızın amacı, hümik asidin anti-bakteriyel ve anti-enflamatuvar özelliklerinden yararlanarak, ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde kemik rezorbsiyonu ve gingival enflamasyon üzerinde hem sistemik hem de lokal etkisinin histopatolojik ve morfometrik açıdan araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalıklar diş-destek yapılarının yıkımı ile karakterize kronik, enfeksiyöz ve enflamatuvar hastalıklardır [42]. Hastalığın başlaması için periodontopatojenlerin varlığı gereklidir fakat bu tek başına yeterli değildir [43]. Periodontopatojenlere karşı oluşan sürekli bir konak enflamatuvar ve immün yanıt yumuşak ve mineralize periodontal dokuların yıkımına neden olur [43, 44]. (Şekil.1)

Gingivitis, mikrobiyal biyofilm ve konak arasındaki etkileşim sonucunda gelişen, dişetinde kızarıklık, şişlik ve kanama ile karakterize olan enflamatuvar bir hastalık olup dişetiyle lokalize, geri dönüşümü olabilen bir durumdur. Periodontitis ise bakteriyel etkiler sonucunda dişetinde başlayan iltihabi değişimlerin diş-destek dokularına yayılmasıyla alveoler kemikte yıkım, cep derinliğinde artış, klinik ataşman kaybı, mobilite ve tedavi edilmediği takdirde diş kaybı ile sonuçlanabilen geri dönüşümsüz kronik enflamatuvar bir hastalıktır [45, 46].



Şekil 1. Bakteri ve konak yanıtı arasındaki etkileşim sonrasında artmış doku yıkımının şematik gösterimi [47].

2.1.1. Biyofilm Tabakası

Dişler temizlendikten kısa bir süre sonra salya ve dişeti oluğu sıvısında bulunan protein ve glikoproteinlerden oluşan ince bir pelikül tabakası diş yüzeyini kaplar. Kısa bir süre içerisinde ilk gram pozitif bakteriler olmak üzere bu tabaka üzerine tutunur ve kolonize olurlar [48]. Ağız içerisinde dental yüzeyler ve mukoza üzerinde biyofilm tabakası oluşur fakat bu yüzeylerdeki biyofilm tabakası birbirinden farklı oral mikroflora kompozisyonu gösterirler [49]. Biyofilm tabakası konakta lokal ve sistemik immün ve enflamatuvar yanıtı başlatır [50, 51]. Periodontal hastalıkta, biyofilm oluşumuna verilen enflamatuvar yanıt dişeti oluğu sıvısı akışında (bazen kanama eşlik edebilir) ve sıcaklıkta lokal bir artış olarak görülür [52]. Bu proteolitik metabolizma şekli pH değerinde az da olsa bir artışa neden olur. PH değerindeki bu artış enflamasyon sırasında subgingival alandaki periodontopatojenlerin birbirleriyle olan rekabetini artırır [53]. Diş yüzeyinde konağa ait hücreler kolonize olduğunda, bakteriler de aynı bölgede mikrokoloniler oluşturur. Daha sonra bu mikrokoloniler yapışkan bir ekstrasellüler polimerik madde salgırlar [54]. Ekstrasellüler polimerik madde içerisinde polisakkaritler, proteinler, lipidler, nükleik asitler ve diğer polimerleri barındırır. Bu da bakterilerin hem yüzeye hem de birbirlerine tutunmasına yardım eder [55].

2.1.2. Mikrobiyal Dental Plak (MDP)

Periodontitisin oluşumunda rol oynayan primer etiyolojik etken MDP ve ürünleridir [4, 5]. MDP; diş yüzeyi üzerinde gelişen, tükürük ve bakteriyel orijinli bir polimer matris içerisine gömülmüş olan mikrobiyal topluluk olarak tarif edilir [56]. Supragingival ve subgingival bölgelerdeki MDP'in mikrobiyal içeriği farklılık gösterir. Başlangıçta sayıca fazla olan Gram pozitif mikroorganizma oranı, lezyon ilerledikçe Gram negatif anaeroblar lehinde değişir [57]. Subgingival plak örneğinde yaklaşık 300-400 farklı bakteri türü bulunur. Fakat yıkıcı periodontal hastalığın patogeneğinde yaklaşık 10-20 türün rol oynadığı düşünülür [58]. Turuncu kompleks olarak adlandırılan ve hastalıkla ilişkilendirilen ilk bakteri topluluğu *Prevotella intermedia* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi patojenleri içermektedir. Hastalık daha da ilerlerse mikrobiyata 'kırmızı kompleks' adı

verilen bakteri topluluğuna kayar. Bu kompleks Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia ve Treponema denticola gibi periodontal patojenleri içerir [59, 60].

2.1.3. Periodontal Hastalığın Patogenezi

Subgingival plak mikroskop altında incelendiğinde MDP içerisinde mikroorganizmalar ve nötrofiller görülür [61]. Nötrofiller enfeksiyon oluşturan ajanlara karşı konak savunmasında ilk savunma hattını oluştururlar [62]. Nötrofillerin en önemli görevi fagositoz yapmak ve bakterileri yok etmektir [63]. Dişeti oluşunda ya da periodontal cepte mikrobiyal kolonizasyon gibi spesifik bir uyarın varlığında, nötrofiller periodontal dokulara dolaşım sistemi yardımıyla gelerek endotelial hat boyunca sıralanırlar. Endotelial hat boyunca gerçekleşen bu yuvarlanma hareketi nötrofiller yüzeyindeki selektinlerin endotelial hattaki lektinlere zayıf bir şekilde bağlanması yoluyla kolaylaşır [64].

MDP subgingival alana ulaştığında, nötrofiller bakterilerce salınan ve kemotaktik peptidler adı verilen moleküllere saldırmak için dişeti oluşuna ya da periodontal cep içerisine toplanırlar. Ayrıca bakteriler ve ürünlerinin epitel hücrelerine zarar vermesi durumunda epitel hücrelerince sitokin adı verilen moleküllerin salınmasına neden olurlar. Sulkus içerisindeki nötrofiller bakteri ve ürünlerini fagosit ederler. Eğer nötrofiller fagositoz esnasında bakteriler ile aşırı şekilde dolarsa degranüle olarak ve toksik enzimlerini ortama salırlar [61]. Nötrofiller etkilerini iki yolla gösterir [64]:

1. Myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimler ile lizozomal granüllerinden birçok proteolitik enzim salgırlar.
2. Süperoksit ve hidroksil radikalleri sentezleyip salgılayarak bu iki ürünü hidrojen peroksite dönüştürüp oksidatif patlama yaparlar.

Periodontal hastalıklar konak yanıtı sonucunda bağ dokuda bir takım değişikliklerin görüldüğü, dişeti ve dişleri destekleyen dokuları etkileyen lokal iltihabi hastalıklardır [4, 65]. Periodontal hastalıkların başlama süreci multifaktöriyeldir. Hastalığın başlama sürecinde periodontopatojenler ve diğer anaeroblar enflamasyonu başlatır ve dokuları

hasara uğratırlar. Doku hasarına hem bakteri ve ürünleri hem de konak kaynaklı etkenler neden olur [66]. Bu etkenlerden bazıları endotoksinler [67], bakteriyel hyaluronidazlar [68], konak kollajenazları [69], katepsinler [70], nötral proteazlar (elastaz, tripsin, kimotripsin) [71], alkalın fosfataz [72], β -glukuronidaz ve arilsülfataz [73, 74] ve özellikle IL-1 α ve IL 1 β olmak üzere sitokinlerdir [75].

Birçok mikrobiyal yüzey protein molekülü konakta immün yanıtı başlatabilir ve lokal doku enflamasyonu oluşturabilir [66]. Proteazlar kollajen yapısında yıkıma neden olurlar ve bu yıkımdan meydana gelen boşluklara lökosit infiltrasyonu görülür [29]. Periodontal dokular dişe daha gevşek tutunur ve dokular ödemli ve daha enflamasyonlu bir hale gelir. Periodontitiste dişe tutunan bağ doku ataşmanı hasara uğrar. Böylece epitelyal hücreler kök yüzeyi boyunca apikale migre olur ve cep daha da derin bir hal alır. Cep derinleştikçe doku enflamatuvar infiltratları daha derin dokulara ulaşır. Alveol kemiğe ulaşan bu infiltratlar nedeniyle osteositler kemik yıkımını başlatırlar [76]. Cep derinliği arttıkça mikroflora daha anaerobik hale gelir ve konak yanıtı daha yıkıcı ve kronik olur [61].

2.1.4. Deneysel Periodontitis Modelleri

Yıkıma uğramış periodontal dokularda uygulanan yeni rejeneratif tedavileri test etmek ve onaylamak için uygun deneysel hayvan modelleri gereklidir. Hayvan çalışmaları insanların genellikle kabul etmediği histolojik biyopsi gerektiren yeni klinik tedaviler için yararlı uygulamalardır [77]. Periodontal hastalıklar insanlarda retrospektif çalışmalar için uygun olsa da, devam eden doku yıkımını gösteren klinik parametrelerin belirlenmesini içeren çalışmalar insanlarda her zaman mümkün değildir [78]. Bu nedenle insanlardaki periodonsiyuma benzer bir anatomiye sahip olan ve insanlardaki periodontal hastalığı taklit edebilen hayvanlarla yapılan deneysel hayvan modeli çalışmaları önerilmektedir. Bu özelliğe sahip deney hayvanlarının kullanımı çalışma sonuçlarının insanlara uyarlanabilmesi açısından önemlidir. Periodontal dokuların enflamatuvar yıkımı fareler, ratlar, tavşanlar ve maymunlar gibi birçok deney hayvanında türe göre spontan olarak gelişebilir veya deneysel olarak oluşturulabilir [79, 80].

Kemirgenler ve ratlar deneysel periodontal araştırmalar için uygun modellerdir [81]. Fakat periodontal hastalığın görölme sıklığı ratlarda insanlara göre daha azdır. Patolojiyi oluşturmak için patojen bakterilerin periodonsiyuma inoküle edilmesi, karbonhidrattan zengin diyetlerin verilmesi veya dişlerin etrafına ligatür yerleştirilmesi gerekmektedir. Bu modeller sıklıkla mikrobiyolojik ve immünolojik çalışmalarda tercih edilmektedir [82].

Ratlar periodontal hastalığın patogenezinde en yaygın çalışılan kemirgenlerdir. Çünkü diş yüzeyine tutunan birleşim epiteli ve siğ gingival sulkus gibi özellikleri ile ratların periodontal alanları insanlardaki periodonsiyum ile benzerlik göstermektedir [81]. Ayrıca kolay ve ucuz elde edilebilir olmaları, küçük olmaları, fazla sayıda denekle çalışma şansı, bakımlarının kolay olması ve yaşama karşı dayanıklı olmaları gibi avantajlarından ötürü çalışmalarda tercih edilirler [83]. Ratlardaki birleşim epiteli insanlardaki gibi yabancı cisimler, bakteriyel endotoksinler ve enflamatuvar hücre eksüdasyonları için bir giriş yolu olarak görülür [80]. Normal şartlar altında ratlar periodontal hastalıklara oldukça dirençlidirler. Fakat diş etrafına ligatür yerleştirilmesiyle deneysel periodontitis modeli oluşturulabilir. Deneysel periodontitis modelinde ilk adım ödem ve ülserasyonun görüldüğü marjinal gingivitis iken, ikinci aşama ise yiyecek debrisleriyle dolu derin cep formasyonudur. Şiddetli periodontitis durumlarında lezyon interradiküler alanları etkiler ve şiddetli alveol kemik rezorbsiyonu sonucunda kök yüzeyleri açığa çıkar [84].

Kemirgenlerde dentisyondaki fizyolojik değişiklikler yaşam boyunca devam eder. Ratlar her bir yarı çenede bir tane kökü bulunmayan kesici diş ve üç tane molar diş sahiptir [85]. Kesici dişlerin köksüz olması ve sürekli erüpsiyona uğraması periodontal hastalıklarda model olarak kullanımını kısıtlar. Molar dişlerin periodontal dokularının yapısı ve organizasyonu (dişeti epiteli, sulkuler epitel, birleşim epiteli, periodontal kollajen fibrilleri, hücreli-hücretsiz sement ve alveoler kemik) insanlar ve ratlarda oldukça benzerdir [84, 86]. Bütün molar dişler ratlar 5 haftalık iken tamamen sürmüş olurlar [78]. Dişlerin sürekli erüpsiyonuna ve kemik ile sementin apozisyonuna bağlı olarak oklüzal yüzeylerde hızlı bir değişiklik söz konusudur. Bu da diş pozisyonlarında aşırı bir değişikliğe neden olur. Özellikle molar dişlerde oklüzal-distal-bukkal yönde sürekli bir hareket meydana gelir. Ayrıca yaşla birlikte interproksimal atrizyon devam ederse interdental alan daralmaya başlar [87].

Ratlardaki bağ doku ve epitelin birçok histolojik özelliği insanlarla benzerlik gösterir. Fakat insanlarda keratinize olmayan sulkuler epitel ratlarda keratinizedir [86]. Ratlarda dişeti sulkusuna yerleştirilen maddelerin birleşim epitelinden geçtiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [88, 89]. Periodontopatojenlerin varlığından birkaç gün sonra klinik olarak hafif sondlamayla dişetinde kanama görülebilir [90]. İnsanların oral kavitelerinden izole edilen bazı gram pozitif bakteri türleri ile ratlar enfekte edildiğinde 84. gün sonunda periodontal yıkım gözlenmiştir. Bu türler *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces israelii*, *Streptococcus mutans* [91], *Actinomyces naeslundii* [92] dir. Kemik yıkımı oluşmaya başladığında ratlarda sürekli bir yıkım söz konusuken insanlarda dönemsel bir yıkım söz konusudur. Gram negatif bakterilerin indüklediği lezyonlardaki enflamasyon minimaldir. Bağ doku infiltratı primer olarak nötrofilleri ve daha az sayıda lenfositleri içerir. Plazma hücreleri ise bulunmamaktadır. Bu nedenle ratların gram negatif bakterilere yanıtındaki yıkım süreci hücre-aracılı immün yanıtın oluşmaması şeklinde gerçekleşir. Bu özelliği ile insanlardan farklılık gösterir [93]. Yine insanlarda lezyon kök yüzeyi boyunca uzanırken ratlarda lezyonun en apikal uzantısı interdental dokuların orta kısmında lokalize olur. Yani birleşim epitelinin apikale migrasyonu kemik kaybını takip etmez [94]. Enflamasyona verilen dişeti yanıtı insanlardaki gibi kronik değil akutur [79].

2.1.5. Sitokinler

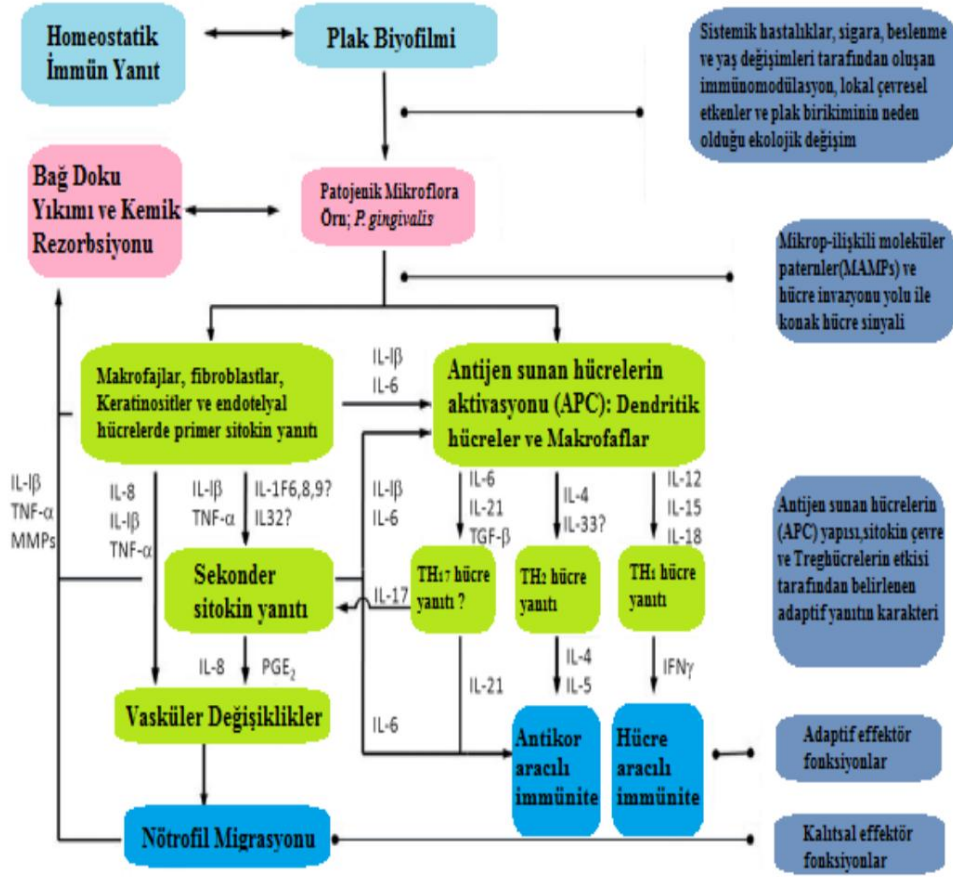
Periodontal hastalığın patogenezi oluşturulan olaylar enflamasyonla ilişkili moleküller tarafından başlatılır ve düzenlenir. Bu moleküller bölgedeki gingival hücrelerden, gingival dokuya infiltre olan lökositlerden, plazmada bulunan kompleman sistem ve kinin sistemi tarafından sentezlenirler [95]. Sitokinler, molekül ağırlığı 8-40.000 Da arasında değişen, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen, protein ve/veya glikoprotein yapılı immünomodülatörlerdir [96, 97]. Temel görevleri immün yanıtın regülasyonudur [98]. Sitokinler IL, IFN ve TNF ailesini içerir [99]. Sitokinler; lenfositlerden salındığı zaman lenfokin, monosit ve makrofajlardan salındığı zamanda monokin adını alır. Kemotaksiste etkili olanlarına kemokin, tek bir lökosit tarafından üretilen ve diğer lökositler üzerinde etkili olanlara ise interlökin denir [97]. Lenfokin,

monokin, interlökin ve interferon olarak da adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri [100];

1. Sitokinler doğal ve spesifik immünitinin başladığı fazda üretilirler.
2. Bir sitokin farklı hücreler tarafından yapılabilir.
3. Bir sitokin farklı hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Düşük moleküler ağırlıktadırlar.
5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları aynı anda, bazıları ise dakikalar, saatler hatta günler sonra oluşabilir.
6. Birçok sitokin aynı etkiyi gösterebilir.
7. İki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) veya değişik bir etkiye yol açabilir.
8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile başlar, hücrede önceden yapılmış halde bekletilmezler.
9. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini başlatırlar.
10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.
11. İmmünite ve enflamasyon reaksiyonlarında konak cevabının genişliği ve süresini düzenlerler.
12. Her zaman geçici bir süreyle ve lokal olarak sentezlenirler.
13. Son derece güçlü etkiye sahiptirler.

Hücresel bağışıklıkta etkili olan IL-2, TNF- β ve IFN- α gibi sitokinler Th1 hücrelerinden salgılanırken, humoral bağışıklıkta rol oynayan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 ise Th2 hücrelerinden üretilir [101]. Endotel hücreleri ve fibroblastlardan köken alan sitokinlerin bir kısmı enflamasyonun ilerlemesine sebep oldukları için "pro-enflamatuvar sitokin" ler, bazıları da enflamasyonu baskılayıcı özellikleri nedeniyle "anti-enflamatuvar sitokin" ler olarak tanımlanır. İnterlökin-1 β , IL-6, TNF- α pro-enflamatuvar etki gösterirken, B-lenfositlerin esas uyarıcıları olan IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler anti enflamatuvar özelliği ile IL-1, TNF ve kemokinler gibi pro-enflamatuvar sitokinleri kodlayan genleri baskılama yeteneğine sahiptirler [97, 102].

Periodontal hastalığın patogeneğinde sitokinlerin rolü yaygınca araştırılmıştır. Kemik yıkım belirleyicilerinden biri olarak varsayılan sitokinler, kemik çevresinde bulunur ve osteoklast oluşumu üzerinde etkilidir [103]. Çalışmalar periodontopatojenik bakterilere ve ürünlerine yanıt olarak birçok pro-enflamatuvar sitokin salındığını göstermiştir. Bu sitokinler periodonsiyumda enflamatuvar yanıtı başlatır ve sürdürürler [13, 104]. Periodontal hastalıkta immün yanıtın başlaması, organizasyonu ve sürdürülmesinde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle diagnostik ve terapotik olarak oldukça önemlidir [99]. Enflamatuvar hastalıklara karşı konak savunmasında etkin olan sitokinler aşırı üretildiklerinde dokularda zararlı etkilere neden olabilir [97, 102]. Periodontal hastalıkta immün yanıt üzerinde sitokinlerin oynadığı kilit rol Şekil.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Sitokinlerin immün yanıtındaki etkilerinin şematik gösterimi [99].

2.1.5.1. IL-1β

IL-1 sitokinleri tek bir peptid olarak üretilirlerken, çoğu interlökinler iki farklı peptid zinciri içeren homodimer ya da heterodimer olarak üretilir [99]. IL-1 enfeksiyon bölgesine hücrelerin toplanmasını sağlayan pro-enflamatuvar bir sitokindir. Kemik rezorpsiyonunu iletir, monositler ve fibroblastlardan prostaglandin salınımını artırır. Ayrıca ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerini yıkan metalloproteinazları salıverir [16]. IL-1'in periodontal dokularda yaygın olarak bulunan formu IL-1β'dir ve temel olarak makrofajlardan salınırlar [17, 105]. Enflamatuvar ve immün yanıtın temel düzenleyicisi olan güçlü bir multifonksiyonel sitokindir. Biyolojik aktivitelerini pikomolar (10⁻¹² M) ve femtomolar (10⁻¹⁵ M) konsantrasyonlarında gösterir [106]. Periodontitis hastalarının enflamasyonlu periodontal dokularında artmış IL-1 düzeyi olduğu rapor edilmiştir [18,

107]. IL-1 β kemik rezorbsiyonunu stimüle etmede IL-1 α 'dan 15 kat, TNF- α 'dan 500 kat daha etkilidir [108].

IL-1 β yapısal olarak IL-1 α ile ilişkili olan 17 KDa'luk bir glikoproteindir [109]. Başlıca monositler ve makrofajlar [17, 105, 110] olmak üzere fibroblastlar ve kemik hücreleri tarafından üretilir [110]. IL-1 sitokin ailesinin bir prototipidir. İmmün-ilişkili hastalıklarda ve immün yanıtta temel bir rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur [102, 111]. IL-1 β , sentezi için gerekli enzimleri aktive ederek nitroz oksit, platelet aktive edici faktör ve PGE2 sentezini stimüle eder. Bu mediatörler enflamasyonla ilişkili vasküler değişiklikler için gereklidir ve enfeksiyon ve/veya hasar bölgesine kan akışını kolaylaştırır. Ayrıca membran adezyon moleküllerinin salınımını artırır. Diğer hücrelerden CXCL8 (IL-8) salınımını stimüle eder. Bu ve benzer kemokinler etkilenmiş dokulara nötrofil infiltrasyonunu stimüle eder. Makrofajlardan B-hücreleri aktive eden IL-6 salınımını tetikler [99]. IL-1 β T-hücrelerinin antijen-aracılı stimülasyonunu artırır [112]. İmmüno-histolojik çalışmalar ile dişeti dokularının lamina propriasında IL-1 β varlığı gösterilmiştir [113, 114]. IL-1 β düzeyi plağın indüklediği gingival enflamasyonda [115] ve aktif periodontitis alanlarında [116] artar. IL-1 β 'nın dokudaki seviyesi hastalık şiddetinin klinik ölçümleriyle de ilişkilidir [113, 114]. Yine yapılan bir hayvan çalışmasında enflamasyon ve kemik rezorbsiyonunda IL-1 β seviyesinin önemli derecede arttığı gösterilmiştir [117].

IL-1 β 'in biyolojik bazı özellikleri; T-lenfositlerin stimülasyonu ve lenfokin üretimi [118], B-lenfositlerin proliferasyonu ve antikor üretimi [119], fibroblast proliferasyonu, monositler ve fibroblastlar tarafından salınan PGE2'lerin stimülasyonu ve metalloproteinazların salınımıdır [16]. Ayrıca osteoklast formasyonunda ve kemik rezorbsiyonunda [120], nötrofil kemotaksis ve aktivasyonunda da [121, 122] rol oynar. Periodontitis hastalarının dişeti oluşu sınırlarında ve periodontal dokularında artmış IL-1 β düzeyi saptanmıştır [18, 75, 107, 123].

2.1.5.2. IL-10

IL-10 insan immün yanıtında var olan en önemli anti-enflamatuvar sitokindir. Birinci kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanır. IL-10 birçok sistemik ve enflamatuvar hastalıkta dolaşımda ölçülebilir [124].

IL-10 süper ailesi daha sonraları keşfedilen bir takım sitokinleri içerir. Bu sitokinler IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, IL-28 ve IL-29'dur. Fakat bu sitokinler periodontal hastalıklarda henüz çalışılmamıştır [99].

IL-10 immünosüpresif özelliklerinden dolayı pleiotropik sitokin olarak bilinir [125-127]. Başlıca; T-hücre, B-hücre ve monositler/makrofajlar tarafından üretilirler [126-128]. Hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçlarda yıkıcı enflamatuvar cevabın azaltılarak düzenlenmesinde IL-10'un merkezi rolü gösterilmiştir [129]. IL-10'un dişeti oluşu sıvısında ve periodontal dokularda varlığını gösteren birçok çalışma bulunmasına rağmen çalışmalarda örneklerin sonuçları farklılık göstermektedir [130-132]. IL-10 doku yıkımının azaltılması ile ilişkilendirilir. IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder [133, 134]. Bu özelliğinden dolayı akut enflamatuvar yanıt sürecini azaltmada önemli bir düzenleyici olarak rol oynar [133]. Ayrıca makrofajlarda metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) sentezini arttırarak metalloproteinaz üretimini durdurur [135].

Periodontal hastalıkta rol oynayan, kemik ve bağ dokusunun homeostazisini bozan faktörleri belirlemek önemlidir. IL-1, TNF- α ve Th1-tip sitokin IFN- γ gibi enflamatuvar mediatörler osteoklastogenezin ve MMP üretiminin pozitif düzenleyicisi olarak bildirilir. Bu etkinin tersi etkiyi IL-4 ve IL-10 gibi Th2-tip sitokinler gösterir [136, 137]. Periodontal lezyonlarda Th1 ve Th2-tip mediatörlerin üretimi arasındaki dengesizlik hastalığın belirleyicilerinden olan MMP/TIMP ve Nükleer faktör kappa- β 'nin reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) / Osteoprotegrin (OPG) arasındaki dengeyi bozar [138, 139]. MMP, RANKL ve katepsin-K ile IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ arasında pozitif bir ilişki vardır. Birçok enflamatuvar ve Th1-tip sitokinler periodontal hastalıkların patogenezinde zararlı bir rol oynar. Özellikle IL-1 ve TNF- α MMP üretiminin stimülasyonu ve kemik rezorpsiyonuyla ilişkilidir [136, 140]. Th2 sitokinleri olan IL-4 ve IL-10 düzeyleri TIMP ve OPG'in artmış

üretimiyle ilişkili bulunmuştur. Bununla ilgili olarak Th2 sitokinleri (IL-4 ve IL-10) hastalıklı periodontal dokularda ve hastalık şiddetinin azalmasıyla üretimi artar [141, 142]. Garlet ve ark. [143] yaptıkları bir çalışmada sitokinlerin MMP/TIMP ve RANKL/OPG arasındaki dengeyi düzenlediğini göstermiştir. Deneysel periodontal hastalığın erken dönemleri boyunca periodontal dokudaki TNF- α , IL-1 β ve IFN- γ düzeylerinin yüksek olduğunu ve ayrıca MMP, RANKL ve katepsin-K üretimi ile TNF- α , IL-1 β ve IFN- γ sitokinleri arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu bildirmiştir. Bu durum, enflamatuvar ve Th1-tip sitokinlerin periodontal hastalık patogenezinde zararlı bir rol oynadığını gösterir. IL-4 ve IL-10 düzeylerinin enfeksiyondan 30 gün sonra TIMP ve OPG salınımına paralel olarak önemli oranda arttığı gösterilmiştir.

Passoja ve ark. [144] yaptıkları bir çalışmada periodontitis hastalarında serum IL-10 düzeyinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

2.2. Konak Modülasyonu

Periodontal patojenler kemikte osteoklastik rezorpsiyonu aktive edebilen ve dışınınin ECM'ini yıkıma uğratabilen hücre duvar komponentlerine ve enzimlere sahiptir. Fakat ileri bilgiler periodontitiste ECM ve kemik yıkımının büyük kısmına konak kaynaklı enzimlerin, sitokinlerin ve diğer mediatörlerin aracılık ettiğini göstermektedir. Bakteriler konak mekanizmalarını aktive ederek hastalığı başlatırlar ve periodonsiyumu yıkıma uğratırlar. Konak yanıtı doku yıkımında önemli bir rol oynadığı için çalışmalar bazı yıkıcı konak mekanizmalarını değiştirerek periodontal yıkımı önleme üzerine yoğunlaşmıştır. Bakteriyel eklentinin uzaklaştırılması ve düzenli dıştaşı temizliği periodontitis tedavisinde izlenebilecek en doğru tedavi seçeneğidir. Fakat bazı hastalarda bakteriyel eklentilerin rutin uzaklaştırılması periodontal hastalığın önlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle bakteri kontrolüne ek olarak spesifik konak mediatörlerinin kontrolünü içeren destekleyici tedaviler yararlı olabilir [145].

Geçen 20 yıl boyunca çeşitli farmakolojik ajanların periodontal hastalığın yönetiminde konak modülatörü olarak olası rolleri araştırılmıştır. Bunlar NSAİ ilaçlar, bisfosfonatlar ve tetrasiklinlerdir. Ayrıca periodontal tedavide denenen yeni ilaçlar anti-

sitokin ilaçlar, çözünebilir sitokin blokerleri ve lipoksindir. Günümüzde periodontal hastalığın tedavisinde konak yanıt modülatörü olarak geçerli sayılan tek sistemik ilaç subantimikrobiyal doksisisiklidir [146].

Periodontitisin tedavisinde kullanılan antiproteinazlar tetrasiklinlerdir. Antimikrobiyal etkilerinin yanında tetrasiklinler periodontal dokuların yıkımıyla ilişkili olan MMP'ları, osteoklastları ve nötrofilleri inhibe edebilme kabiliyetine sahiptir [147]. Ayrıca tetrasiklinlerin anti-enflamatuvar özellikleri vardır ve osteoklastların inhibisyonuyla kemik koruyucu ajan olarak da kullanılabilirler [148]. Kullanılan tetrasiklinler arasında doksisisiklin en çok çalışılan ve en güçlü kollajenaz inhibitörüdür [149].

Geçmiş 10 yıl boyunca bisfosfonatların kemik koruyucu ajan olarak kullanımı osteoporöz ve diğer kemik-rezorptif hastalıkların tedavisinde uygulanmaktadır. Bisfosfonatlar kemikler tarafından emilir ve osteoklastik aktiviteyle ilişkili asidifikasyon sürecinde lokal olarak salınırlar. Bisfosfonatlar osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik yıkımını durdururlar. Bu nedenle periodontitis hastalarında alveoler kemik kaybının durdurulmasında potansiyel bir rol oynayabilirler [150]. Bisfosfonat ailesinin bir üyesi olan alendronatın köpeklerde oluşturulan ilerleyen periodontitis modelinde ve maymunlarda ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik kaybını önemli oranda azalttığı gösterilmiştir [25, 31].

Subgingival plak tarafından oluşturulan mikrobiyal atak, periodontal dokularda konak immün-enflamatuvar yanıtın artmasına neden olur. Bu yanıt enflamatuvar sitokinlerin (IL'ler, TNF- α), prostanooidlerin (PGE2) ve enzimlerin (MMP) aşırı biçimde üretilmesiyle karakterizedir. Bu pro-enflamatuvar mediatörler periodontal yıkımın temel bileşenleri olup hastalığın klinik belirti ve semptomlarına neden olurlar [146]. Enflamatuvar mediatörlerin periodontal dokulardaki düzeylerine göre pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinler ile enzimler arasındaki göreceli denge daha önemlidir. Bu nedenle, prostaglandinler ve çoğu sitokinler gibi pro-enflamatuvar mediatörler anti-enflamatuvar sitokinler ve lipoksinlerle dengelenir [151]. MMP'ın yıkıcı aktivitesi inhibitörü olan TIMP ile dengelenir. Periodontal dokulardaki pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar aktiviteler arasındaki dengesizlik periodontal yıkımın temel bir belirleyicisidir. Bu nedenle uygulanacak konak modülatör tedavinin amacı pro-enflamatuvar mediatörler ve yıkıcı

enzimler ile anti-enflamatuvar mediatörler ve enzim inhibitörleri arasındaki dengeyi sağlamaktır [146].

Birçok çalışma periodontitisin patogenezinde araşidonik asit metabolitlerinin, özellikle de prostaglandinlerin, önemli rollerini göstermiştir [11, 152]. Periodontitisin tedavisinde çeşitli NSAİ ilaçlar klinik başarı sağlamıştır. NSAİ ilaçlar etkilerini kemik kaybı miktarını azaltarak göstermektedir [145].

2.3. Hümik Asit

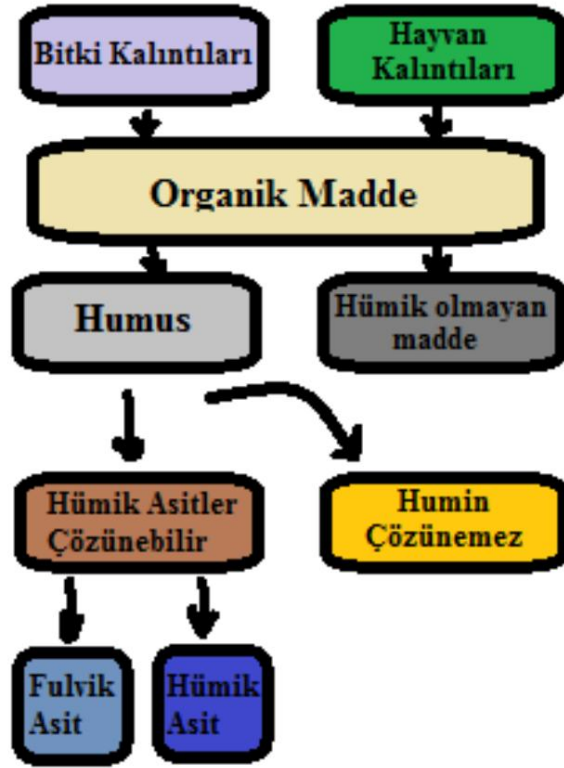
Hümik maddeler üçe ayrılır: Fulvik asitler, hümik asitler ve humin. (Şekil.3) Hümik asitler hümik maddelerinin en önemli parçalarından birisidir. Hümik asitler doğada birçok farklı kaynaktan meydana gelmektedir ve doğadaki en geniş karbon rezervlerinden birini [36] oluşturur. Bu kaynaklar başlıca linyit, boru, mumya, silaj, kömür ve kömürdür. bitkiler, yosun vs. olarak sayılabilir [153]. Bütün topraklarda, okyanus ve deniz gibi suların yüzeylerinde ve altında, sulak topraklarda bol miktarda bulunurlar ve humusun kahverengi siyah renkli, polimerik, alkali-çözünabilir organik asit fraksiyonlarıdır [154]. (Şekil.6)

Hümik asidin kimyasal karakteristikleri ve fiziksel özellikleri elde edildikleri kaynaklara bağlı olarak değişiklik gösterir [155, 156]. Turba (peat) gibi doğal humifikasyon ürünleri medikal alandaki çeşitli uygulamalarda farmakolojik ajan olarak geliştirilmektedir [157]. Bu ajanlar anti-enflamatuvar ajan olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Çünkü lokal olarak analjezik ve anti-enflamatuvar özellikleri gösterilmiştir [158, 159].

Farklı kaynaklardan elde edilen hümik asitler yakıt, organik gübre, tıbbi malzemeler için hammadde ve bazı endüstriyel ürünlerin sentezlenmesinde başlama materyali olarak kullanım alanı bulmaktadır. Bu kaynaklardan bir tanesi de turbadır. Turbanın çamur terapisi (balneoterapi) olarak kullanımı uzun zamandır bilinmektedir [36]. Hümik asit yönünden zengin olan çürümüş orman turbası, Babil'de ve Roma İmparatorluğu'nda çok uzun zaman önce çamurun tedavi edici özelliğini bilen yerliler tarafından tedavi amaçlı kullanılmıştır. Sağlık kliniklerinin özel bir uygulaması olarak çamur banyoları 19. yüzyılın başlarında Avrupa'da önerilmiştir. Çamur tedavisi için önerilen endikasyonlar jinekolojik ve

romatizmal hastalıklar olmuştur. Daha sonraları turba içeren çamur banyoları özellikle mide, bağırsak veya karaciğer hastalıklarında uygulanmaya başlanmıştır [36].

Yapılan bir çalışmada osteoartrit üzerine çamur banyosu terapisinin olumlu etkisi gösterilmiştir [160]. Osteoartrit hastalarında yapılan bir diğer çalışmada ise sodyum humatın analjezik, anti-enflamatuvar ve lipid düzenleyici etkileri gösterilmiştir [161].

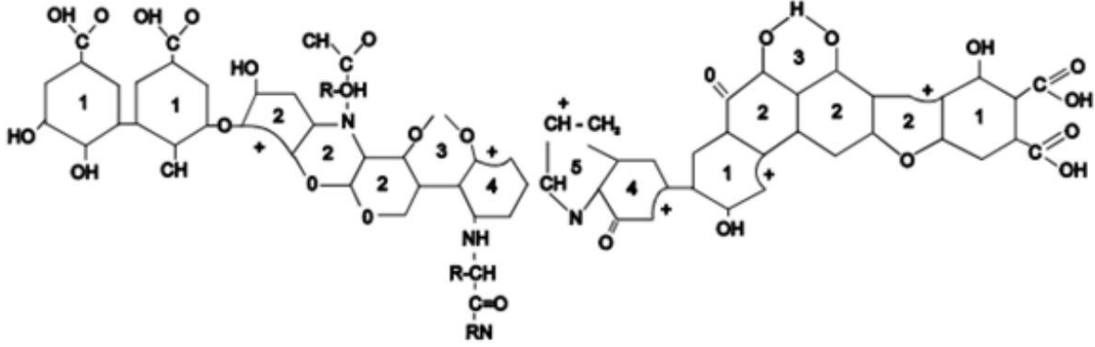


Şekil 3. Hümik maddelerin basit oluşum şeması.

2.3.1. Yapısı

Polifenoller, hümik asitlerin oluşumunda temel maddeler olarak kabul edilir ve hümik asit öncülleri olarak düşünülebilir. Hümik asitlerin yapısına bakılacak olursa; aminoasitler, ligninler, pektinler veya karbonhidratlar gibi çeşitli bileşenlerin moleküller arası etkileşimler sonucu bir araya geldiği görülür. Bu bileşikler birkaç şekilde oluşturulabilir ve ligninin bu süreçlerin çoğunda büyük bir rolü vardır [162, 163]. Fulvik ve hümik asitlerin

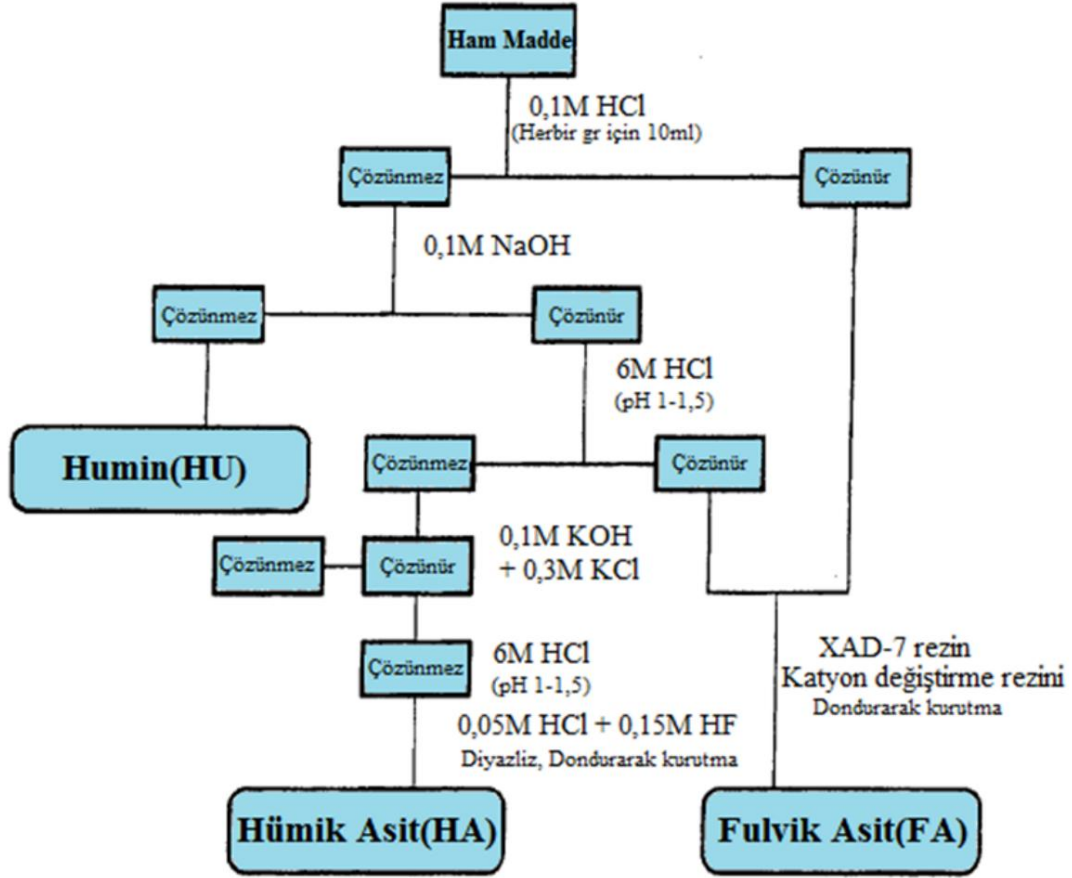
yapısını oluşturan başlıca elementler karbon, hidrojen, oksijen, azot ve kükürt (C, H, O, N ve S) tür. (Şekil.4) Bu elementler hümik maddelerin kökeni, ülkesi veya kıtası ne olursa olsun daima mevcuttur [164].



Şekil 4. Oksidize hümik asidin kimyasal yapısı [38].

Turba kaynaklı hümik maddeler, lignin benzeri maddelerin fenolik, karboksilik ve metoksil karbonlarını önemli oranda içerir. Hümik ve fulvik asitin bitkisel olarak başlangıç maddesi lignin ve vanilinin bozunma ürünleri olan vanilik asit, resorkinol, ferulik asit, protokateşik asit ve benzoik asit gibi farklı fenolik asitlerdir. Hümik maddeler bu bileşiklerin heterojen karışımını içerir. Bu nedenle tek bir yapısal formül ile tanımlama yapmak yeterli değildir. Fakat hümik maddeler aminoasitli, amino şekerli, peptidli ve aromatik gruplarla bağ kurmuş alifatik bileşikli kompleks aromatik makromoleküller olarak düşünülmektedir [153].

Orta moleküler hacme sahip olup moleküler ağırlığı 5.000-10.000 Da civarındadır. Bu madde içerisinde %33-36 oranında oksijen bulunurken nitrojen oranı yaklaşık %4 civarındadır [38].



Şekil 5. Uluslararası Hümik Maddeleri Derneği (IHSS) tarafından tarif edilen ekstraksiyon yöntemi.

HÜMİK MADDELER

FULVİK ASİT		HÜMİK ASİT		HUMİN
Açık Sarı	Sarı-Kahverengi	Koyu Kahverengi	Gri-Siyah	Siyah

Şekil 6. Hümik maddelerin doğada buldukları renkleri.

2.3.2. Sağlık Alanında Uygulamaları

Hümik asitlerin tıpta kullanım alanı bulduğu bazı endikasyonlar: yanıklar, yaralanmalar, kemik fraktürleri, dislokasyonlar, cilt hastalıkları, nöralji, artrit, zehirlenmeler, diyabet, kolesterolemi, egzama, amnezi, epilepsi, astım, dismenore ve ülser gibi sindirim bozukluklarıdır [37]. Hümik asitlerin etil alkolün neden olduğu gastritin zararlı etkilerini önemli şekilde azalttığı gösterilmiştir [165]. Hümik asitlere gittikçe artan ilginin ana sebebi antiviral, profibrinolitik, anti-enflamatuvar ve östrojenik özellikleri ile açıklanabilir [166]. Ayrıca hümik maddeler anti-bakteriyel [167, 168], anti-viral [169-173], antikanser [37], diüretik [37] ve immün stimüle edici ajan [37] gibi özellikleri sayesinde tıbbi uygulamalarda yeni kullanım alanları bulmaktadır. Yapılan bazı tıbbi çalışmalarda hümik maddelerin özellikle de fulvik asitlerin kanser ve kansere neden olan virüslere karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [174-176]. Hümik asidin çalışılan tıbbi uygulamaları:

2.3.2.1. Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri

Yapılan bir deneysel kemik fraktürü çalışmasında fraktür sonrası ilk hafta boyunca hümik asit uygulaması ile osteoid formasyonunda ve mineralizasyonda hızlanma tespit edilirken, hümik asit tedavisi ikinci haftaya ertelendiğinde osteoid formasyonu ve mineralizasyonun önemli oranda azaldığı gözlenmiştir [177]. Çocuklardaki kemik fraktürleri üzerine yapılan bir diğer çalışmada hümik asidin kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etki sağladığı gösterilmiştir [178].

2.3.2.2. Antiviral Aktivitesi

Koksaki A9 virüs, influenza A virüs ve herpes simpleks tip-1 virüs (HSV-1) ile yapılan in-vitro ön çalışmalar, hümik asidin hem çıplak hem de zarflı DNA virüslerine karşı etkili olduğunu göstermiştir [169, 170]. Hümik asit benzeri polimerlerin insan immün yetmezlik virüs tip-1 (HIV-1), tip-2 (HIV-2) ve sitomegalovirüsleri (CMV) seçici olarak inhibe ettiği bildirilmiştir. Hümik asitlerin virüsler üzerindeki inhibitör etkisi virüs replikasyonunun erken evresinde (virüslerin hücrelere tutunması sırasında) ortaya çıkar [179, 180].

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, tavşanlarınkonjüktivalarınaenfeksiyöz ajan ile birlikte aynı anda sentetik hümkik asit uygulanmış ve çalışmanın sonucunda HSV-1 ile enfekte olmuş tavşanların kornealarındaki lezyonların sayısında önemli derecede azalma elde edilmiştir. Fakat 1 ve 24 saat sonra uygulanan hümkik asitin lezyon gelişimi üzerinde herhangi bir etkisi bulunamamıştır [181].

Başka bir çalışmada fare kulağında deneysel olarak oluşturulmuş herpes enfeksiyonu topikal hümkik asit türevi bir madde uygulanılarak tedavi edilmiş ve sonuçlar hümkik asit türevi maddenin enfeksiyonu önemli derecede azalttığını veya tamamen baskıladığını göstermiştir [182].

Yine yapılan başka bir çalışmada, hümkik asit influenza virüsünün endonükleaz aktivitesini inhibe ederek anti-gribal etki gösterdiği bulunmuştur [183].

2.3.2.3. Anti-Enflamatuvar Etkileri

Doğal ve sentetik hümkik asitler araşidonik asit döngüsünün lipoksijenaz yolunu inhibe ederek anti-enflamatuvar etki gösterirler. Araşidonik asit hücre membranının tamamlayıcı bir parçasıdır ve lökotrienler, tromboksan ve prostasiklin gibi eikozanoid kökenli enflamasyon mediatörlerinin sentezi için bir substrattır [33]. Bu, hümkik asitlerin anti enflamatuvar özelliğini açıklayabilir. Taugner ve ark. [184] ratlarda yaptıkları bir çalışmada sodyum humatın tedavi edilmemiş kontrollerle kıyaslandığında ödem gelişimini önemli derecede azalttığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışma dizaynında yapılan bir araştırmada, turbadan izole edilen amonyum humat, sodyum humatın anti-enflamatuvar etkinliğini arttırdığını bulmuşlardır. Bu araştırmalar sonucunda anti-enflamatuvar etkisinin asetilsalisilik asit ve aminofenazon kadar etkili olduğu bulunmuştur [185]. Hümkik asitlerin sadece enflamasyonu hafifletmediği, ayrıca zarar görmüş kemik ve tendonları tamir etmek için kollajen liflere tutunduğu bildirilmiştir. Tendonların kuvvetini %75'e kadar arttırdığı gösterilmiştir [186].

Ratlarla yapılan bir diğer çalışmada 50 mg/kg'lık hümkik asit dozunun enflamasyonu baskıladığı bulunmuştur [187]. Gau ve ark. [188] hümkik asitlerin intersellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1), vasküler adezyon molekül-1 (VCAM-1) ve E-selektin gibi protein tip enflamatuvar mediatörlerinin salınımını inhibe ettiğini göstermişlerdir.

2.3.2.4. Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

Buczko ve ark. [189] insanlarda 100-300 mg/kg hümik asit dozunun kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı, trombin zamanı ve platelet agregasyonu üzerine bir etkisinin bulunmadığını bildirmiştir. Ayrıca kırmızı kan hücreleri(RBC) ve hemoglobin düzeyleri üzerine etkisi bulunmamıştır [190]. Literatür hümik asit varlığında kırmızı kan hücrelerinin daha fazla oksijen taşıma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Fazla oksijen taşınmasının sonucu olarak yara iyileşmesi daha hızlı olmaktadır [38]. Dabovich ve ark. [191] hümik asit ürünü olan Promax'ın nötrofil aktivitesini stimüle ettiğini ve böylece bakteriyel patojenlere karşı koruma sağlanabildiğini ve akut bakteriyel enfeksiyon esnasında mortalitenin azaltılabildiğini bildirmişlerdir.

2.3.2.5. Mineral Transferi Üzerine Etkileri

Hümik asit hücre duvarı geçirgenliğini arttıran bir dilatör olarak rol oynar. Bu artmış geçirgenlik kandan kemik ve hücrelere mineral transferini kolaylaştırmaktadır. Yapılan bir çalışma hümik asitin sıgır kaynaklı greftlerin kalsifikasyonunu %16 oranında arttırdığını göstermiştir [186].

2.3.2.6. İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Hümik asitler immünomodülatör etkisi dolayısıyla Escherichia coli gibi patojenlere karşı immün sistemi geliştirerek koruma sağlamaktadır [38]. Yapılan bir çalışmada hümik asit ürünleri tümör hücrelerinin büyümesini baskılamıştır. Mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte, antitümör aktivitesi doğal bağışıklığı arttırmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir [192].

Vucskits ve ark. [193] hümik asit ve fulvik asit diyetinin ratlarda hem immün yanıtı arttırdığını hem de immün yanıt süresini uzattığını göstermişlerdir. Ayrıca plazmada antikor düzeyini de arttırdığını bildirmişlerdir.

2.3.3. Hümik Asit İçeriği

Çalışmamızda kullandığımız hümik asit turbadan elde edilmiştir. İçeriği aşağıda gösterilmiş olup, içerisinde radyoaktif madde tespit edilmemiştir. Ağır metaller ise eser miktarda olup güvenlik dozunun oldukça altındadır.

Hümik asitler	%15
organik C	%28,5
pH	11-12
Yoğunluk	1,12 kg/L
Kasyon Değişim Kapasitesi	400-600 mval/100g
Koloit partiküllerinin boyutu	<100 mikron
Renk	Koyu kahve-siyah
Ürün türü	Sıvı süspansiyon
Enerji	195 kalori/100 gr
Protein	2,6 gr/100 gr
Yağ	yok
Karbonhidrat	46,1 mg/kg
Demir (Fe)	6776 mg/kg
Çinko (Zn)	40,2 mg/kg
Magnezyum (Mg)	2017 mg/kg
Selenyum (Se)	18587 mikrogram /kg
Molibden (Mo)	2300 mikrogram/kg

Radyoaktif elementler	yok
Ağır metaller	eser miktarda

2.3.4. sitotoksosite

Bilim adamları hümik asidin kan, kardiyovasküler sistem, endokrin sistem ve diğer önemli organlara zararının bulunmadığını bildirmişlerdir [38]. Yapılan bir çalışmada doğal hümik asidin kemik iliği hücrelerine önemli bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir [194].

Dos Santos ve ark. [195] oral yolla verilen 512 mg/kg'lık hümik asit dozunun ratlarda toksik olmadığını bildirmişlerdir.

Farelerde LD50 (lethal dose, ortalama öldürücü doz, %50 öldürücü doz) değeri 11500 mg/kg olarak belirlenmiştir. Fakat 163.5-205.8 mg/kg dozda farelerde parenteral yolla ve tavşanlarda karın zarına enjekte edildiği zaman toksiktir. Farelerde 30 gün boyunca 100 mg/kg/gün ve köpeklerde 90 gün boyunca 1000 mg/kg/gün oral yolla hümik asit verilmesi herhangi bir toksik etkiye neden olmamıştır. Ayrıca 50-150 mg/kg konsantre hümik asit ve 500-15000 mg/ml sodyum humat insan fibroblastları ile hamster ve tavşan böbrek hücrelerinde herhangi bir toksik etkiye neden olmamıştır [153].

Rensburg ve ark.'nın [196] yaptıkları bir çalışmada 30 gün boyunca günlük 1000 mg/kg hümik asit solüsyonunun ratlarda herhangi bir toksik etki göstermediğini tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmanın devamında hamile ratlara hamileliklerinin 5. ve 17. günlerinde verilen 500 mg/kg hümik asit solüsyonunun herhangi bir teratojenik ya da sitotoksik etkiye neden olmadığı gözlenmiştir. 30 günlük çalışma süresince hiçbir ratta ölüme rastlanmamıştır.

Domuzlara 30 gün boyunca 500 ve 2000 mg/kg/gün, koyunlara 30 gün boyunca 1000 ve 2000 mg/kg/gün oral yolla hümik asit verilmesi sonucunda kan plazmasında, karaciğerde, kaslarda ve böbrekte hümik asite rastlanmamıştır [153].

3. MATERYAL YÖNTEMLER

Bu araştırma için Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu tarafından 06.10.2011 tarih ve 253 sıra numarası ile onay alındı. Denek olarak 12 haftalık, ortalama ağırlıkları 280-300 gr olan Wistar cinsi 62 adet erkek rat kullanıldı. Deney hayvanlarının seçiminde genel sağlıklarının iyi olması ve önceden üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamış olması gibi şartlara özen gösterildi. Her bir gruptaki ratlar ayrı kafeslerde aynı şartlarda beslendi. Tüm ratlar 12 saat gece/gündüz, 21 ± 1 oC sıcaklık ve %40-60 nem oranı gözetilerek standart diyet ve su ile beslendiler. Ratlar çalışma öncesi yeni yaşam koşullarına hazırlanması için 10 gün metal kafeslerde tutuldu. Çalışmamızın deney aşamaları Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Çalışma Grupları

Ratlarda deneysel işlemler için sağ mandibuler birinci molar dişler seçildi. Denekler 8 gruba ayrıldı.

1. grup kontrol grubu.(K, n=6)
2. grup ligatürlü deneysel periodontitis, ligatürlü (pozitif) kontrol grubu.(LK, n=8)
3. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük lokal olarak 20 mg/kg hümik asit. (L-20, n=8)
4. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük lokal olarak 80 mg/kg hümik asit. (L-80, n=8)
5. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük lokal olarak 150 mg/kg hümik asit. (L-150, n=8)
6. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük sistemik olarak (gastrik sonda) 20 mg/kg hümik asit. (S-20, n=8)
7. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük sistemik olarak (gastrik sonda) 80 mg/kg hümik asit. (S-80, n=8)

8. grup ligatürlü deneysel periodontitis + 14 gün boyunca günlük sistemik olarak (gastrik sonda) 150 mg/kg humik asit. (S-150, n=8)

3.2. Çalışma Prosedürü

3.2.1. Deneysel Periodontitis Oluşturulması

Rompun (Bayer, İstanbul, Türkiye) 5 mg/kg s.c. veya i.m. ve Ketalar (Pfizer, New York, ABD) 30 mg/kg i.m. kullanılarak denekler anestezi altına alındı. Tüm ratların sağ mandibuler birinci molar dişlerine steril 4/0 ipek sütur (Doğsan İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) subgingival olarak yerleştirilerek bu bölgede plak retansiyonu sağlamak koşuluyla deneysel periodontitis oluşturuldu. Süturlar 14 gün boyunca günlük kontrol edildi.

3.2.2. Hümik Asit Uygulaması

Ratların kiloları göz önünde tutularak her bir gruptaki ratlar için uygun hümik asit konsantrasyonu hazırlandı. Lokal uygulama yapılacak gruplar için belirlenen hümik asit miktarı (0.5 cc) küçük pamuk peletlere emdirilerek sütur geçirilen dişin etrafında 1 dakika süre ile tutuldu. Sistemik uygulama yapılacak gruplar için belirlenen hümik asit miktarı (0.5 cc) gastrik gavaj yolu ile günde bir kez olmak üzere uygulandı.

3.2.3. Kurban

Çalışmanın 15. gününde anestezi altında tüm ratların mandibuler sağ birinci molar dişlerinin bukkal dişetinden 2x2 mm'lik dişeti biyopsileri alındı. Kardiyak ponksiyon ile 4 cc kan alınarak jelli tüplere (Vacutest, Kima, İtalya) konuldu. Daha sonra 200 mg/kg i.p. pentotal sodyum (Ekipental, Tümeqip İlaç San, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile sakrifiye edilen ratların mandibulaları çıkarıldı. Çıkarılan mandibulalar %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi.

3.2.4. Ratlardan Serum Elde Edilmesi

Ratlardan kardiyak ponksiyon ile alınan 4 cc'lik kan örneği Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 10 dakika (3000 devir/dakika) santrifüj edildi. (Nüve NF-1000 R İstanbul-Türkiye) Örnekler serum ve plazma olarak ayrıldıktan sonra serum kısmı eppendorf tüplere alındı ve analiz edileceği güne kadar - 800C'de saklandı.

3.2.5. Dişeti Biyopsilerinin Biyokimyasal Analizi

Deneyel araştırmanın bu aşaması Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Dişeti homojenatı elde etmek için ratların sağ mandibuler birinci molar bölgesinden 2x2 mm ebatlarında alınan dişeti örnekleri hassas terazide tartılarak standardize edildi. Dişeti örnekleri 10 mg doku/ml fosfat tampon+proteaz inhibitör solüsyon dilüsyonu elde etmek için bir proteaz içeren (5 µ g/ml aprotinin ve 1 mM EDTA) yeterli hacimde fosfat tampon solüsyonuna (4°C, pH7.0) yerleştirildi. Dişeti örnekleri homojenizasyon, ultrasonikasyon ve ultrasentrifügasyon işlemlerine tabi tutularak süpernatant elde edildi. Örnekler teflon-cam tip homojenizatörün (B. Braun, Melsungen, Almanya) en yüksek ayarında 30 saniye homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası örnekler 2 kez dondurma çözme işlemine tabi tutuldu. Elde edilen homojenatlar ultrasonikatörün (Thermo Fisher Scientific, ABD) 7 ayarında 15-20 mikronda 10-20 saniye aralıklar ile 3 kez ultrasonikasyona tabi tutuldu. Son olarak 15.000 rpm'de 16 dakika santrifüj edildi. Tüm bu uygulamalar 0-4°C'de gerçekleştirildi. Elde edilen süpernatantlar IL-1β ve IL-10 ELISA analizi için -80°C'de bekletildi.

Deneyel araştırmanın morfometrik değerlendirmesi tek bir araştırmacı tarafından gerçekleştirildi.

3.2.6. Morfometrik Değerlendirme

Alveoler kemik kaybı her bir dişin altı farklı bölgesinden mine-sement sınırı ile alveoler kret tepesi arasındaki mesafe ölçülerek belirlendi. Her bir dişin ortalaması o diş için alveoler kemik kaybı miktarı olarak alındı. Histopatolojik işlemlerden önce mandibulalar metilen mavisine batırılarak stereomikroskop (Stemi DV4, Carl Zeiss, Almanya) altında x25 büyütmede mikroskoba uyumlu bir fotoğraf makinesi (Canon EOS 1000, Tokyo, Japonya) ile fotoğraflandı. Çekilen bu fotoğraflar üzerinden bir görüntü analiz programı (Clemex Vision Lite, Quebec, Kanada) ile morfometrik ölçümler yapıldı.

DeneySEL araştırmanın histopatolojik değerlendirmesi Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.2.7. Histopatolojik İşlemler

Histopatolojik analizler için mandibulalar %10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat süresince tespit edildi. Örnekler %10'luk formik asitte dekalsifiye edildikten sonra parafine gömülecek çalışma bölgeleri bistüri aracılığıyla dikkatli bir biçimde çıkarıldı. Distile su ile yıkanan örnekler derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulanarak parafine gömüldü. Bloklardan alınan 5 µ m kalınlıktaki seri kesitler histopatolojik değerlendirme için 1 gece 60°C etüvde bekletilerek ksilende deparafinize edildikten sonra rehidratasyon işlemi uygulanarak Hematoksilin-Eozin (HE) ile boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler ışık mikroskobu (Nikon Eclipse 80i, Nikon, Tokyo, Japonya) altında x40, x100, x200 ve x400 büyütmelerde değerlendirildi. Kesitlerde periodontal dokularda enflamatuvar hücre infiltrasyonu, kollajen lif demetleri, osteoblastik aktivite ve alveol kemik ile interdental septumdaki osteoklast sayıları incelendi. Enflamatuvar hücre infiltratı semi-kantitatif bir değerlendirme ile gözle görülebilir infiltrat yokluğu (0), hafif derecede enflamatuvar hücre varlığı (1), orta derecede enflamatuvar hücre varlığı (2) ve şiddetli derecede enflamatuvar hücre varlığı (3) olarak skorlandı. Osteoklastlar morfolojileri dikkate alınarak sayıldı. Osteoblastik aktivitenin değerlendirilmesi için osteoid ve osteoblastlar ile çevrelenmiş aktif kemik yapımı olan alanlar belirlendi. Osteoblastik aktivite semi-kantitatif bir değerlendirme ile aktivite

yokluğu (0), hafif ölçüde aktivite varlığı (1), orta ölçüde aktivite varlığı (2) ve yoğun aktivite varlığı (3) olarak skorlandı. Fibrozis varlığı ise gözle görülebilir fibrozis yokluğu (0), hafif derecede fibrozis varlığı (1), orta derecede fibrozis varlığı (2) ve şiddetli derecede fibrozis varlığı (3) olarak skorlandı.

3.2.8. IL-10 ELISA Kitinin Hazırlanması

Rat IL-10 ELISA kit (Invitrogen, Kaliforniya, A.B.D.)

Standart Kontrolleri

Standart'ın Dilüsyonu

Standart şişesi üzerinde yazan miktarda Standart Dilüent Buffer ile sulandırıldı. (20.000 pg/ml) Karıştırıldıktan sonra 10 dakika bekletildi.

Streptavidin (SAV)-HRP Hazırlanması

Streptavidin-HRP; 1strip için 10 µ l Streptavidin-HRP + 1 ml Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu hazırlandı.

Yıkama Solüsyonunun Dilüsyonu

50 ml Yıkama solüsyonu + 1250 ml distile su hazırlandı.

Deney Prosedürü

1. Sıfır standart için Standart dilüent buffer kullanıldı. Kromojen Blank kuyucuğu boş bırakıldı.
2. Kuyucuklara 100 µ l standart solüsyonundan konuldu.

3. Diğer kuyucuklara 50 µ l standart dilüent buffer ve çalışılacak örneklerden 50 µ l konuldu.
4. Kromojen hariç tüm kuyucuklara 50 µ l biotinylated Rt IL-10 Biotin Konjugat ilave edildi. Plate karıştırıldı.
5. Üzeri kapatılarak iki saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
6. Dört defa yıkandı.
7. Kromojen hariç tüm kuyucuklara 100 µ l Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu aktarıldı.
8. 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
9. Dört defa yıkandı.
10. Tüm kuyucuklara 100 µ l Kromojen konuldu.
11. 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
12. 100 µ l stop solüsyonu eklendi.
13. 450 nm dalga boyunda okundu.
14. Standartlara göre grafik çizildi.
15. Örnekler bu grafiğe göre değerlendirildi.
16. Çıkan sonuçlar iki ile çarpıldı.

3.2.9. IL-1β ELISA Kitinin Hazırlanması

Rat IL-1β ELISA kit (eBioscience Platinum, Viyana, Avusturya) kullanıldı.

Standart Kontrolleri

Yıkama Solüsyonu

50 ml yıkama solüsyonu + 1000 ml distile su hazırlandı.

Tahlil Tamponu

5 ml assay buffer + 100 ml distile su hazırlandı.

Biyotin Eşleniği

12 strip için; 60 µ l Biotin konjugat + 5.94 ml assay buffer hazırlandı.

Streptavidin-HRP

12 strip için; 60 µ l Streptavidin-HRP + 11.94 ml assay buffer hazırlandı.

Testere IL-1β Standardı

Şişe üzerinde yazan miktar kadar distile su ile sulandırıldı. 10-30 dakika homojen şekilde karışması için beklenildi ve karıştırıldı. (4000 pg/ml)

Deney Prosedürü

1. Mikro plak kuyucukları iki defa yıkandı.
2. Standartlardan kuyucuklara 100 µ l aktarıldı.
3. Blank kuyucuğuna 100 µ l örnek dilüent eklendi. 4.
- Örnek kuyucuklarına 50 µ l örnek dilüent eklendi. 5.
- Örneklerden 50 µ l aktarıldı.
6. Hazırlanan Biotin Konjugattan 50 µ l aktarıldı. 7. Üzeri kapatılıp 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
8. Sonra üç defa yıkandı.
9. 100 µ l sulandırılan Streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı.
10. Oda ısısında 1 saat inkübe edildi.
11. Üç defa yıkandı.

12. 100 μ l TMB Substrat Solüsyonu eklendi.
13. 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
14. 100 μ l stop solüsyonu eklendi.
15. 450 nm dalga boyunda okundu.
16. Standartlara göre grafik çizildi.
17. Örnekler bu grafiğe göre değerlendirildi.
18. Çıkan sonuçlar iki ile çarpıldı.

3.2.10. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver:14.0) programına yüklenerek istatistiksel analiz yapıldı. Parametrik varsayımlar yerine getirilemediğinden gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi, anlamlı bulunan sonuçlarda grupların ikişerli karşılaştırılmasında Man-Whitney U testi kullanıldı. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma, minimum, maksimum ve ortanca olarak belirtilip yanılma düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Deney süresince yerleştirilen ligatürlerde herhangi bir kopma ya da ayrılma gözlenmedi. Ayrıca deney süresince hiçbir grupta komplikasyon (kilo kaybı vs.) görülmedi. Histopatolojik değerlendirmede L-20 grubundaki bir örnekte HE boyamasında kesit net görünmediğinden değerlendirmeye alınmadı.



Şekil 7. Ratların sağ mandibuler birinci molar dişlerine yerleştirilmiş olan 4/0 ipek ligatürün görüntüsü.

4.1. Morfometrik Ölçümler

Gruplara ait alveol kemik kaybı ölçümleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-1) Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında;

K grubundaki alveoler kemik kaybı miktarı LK, L-80 ve S-20 gruplarına oranla anlamlı oranda düşüktü ($p<0.05$).

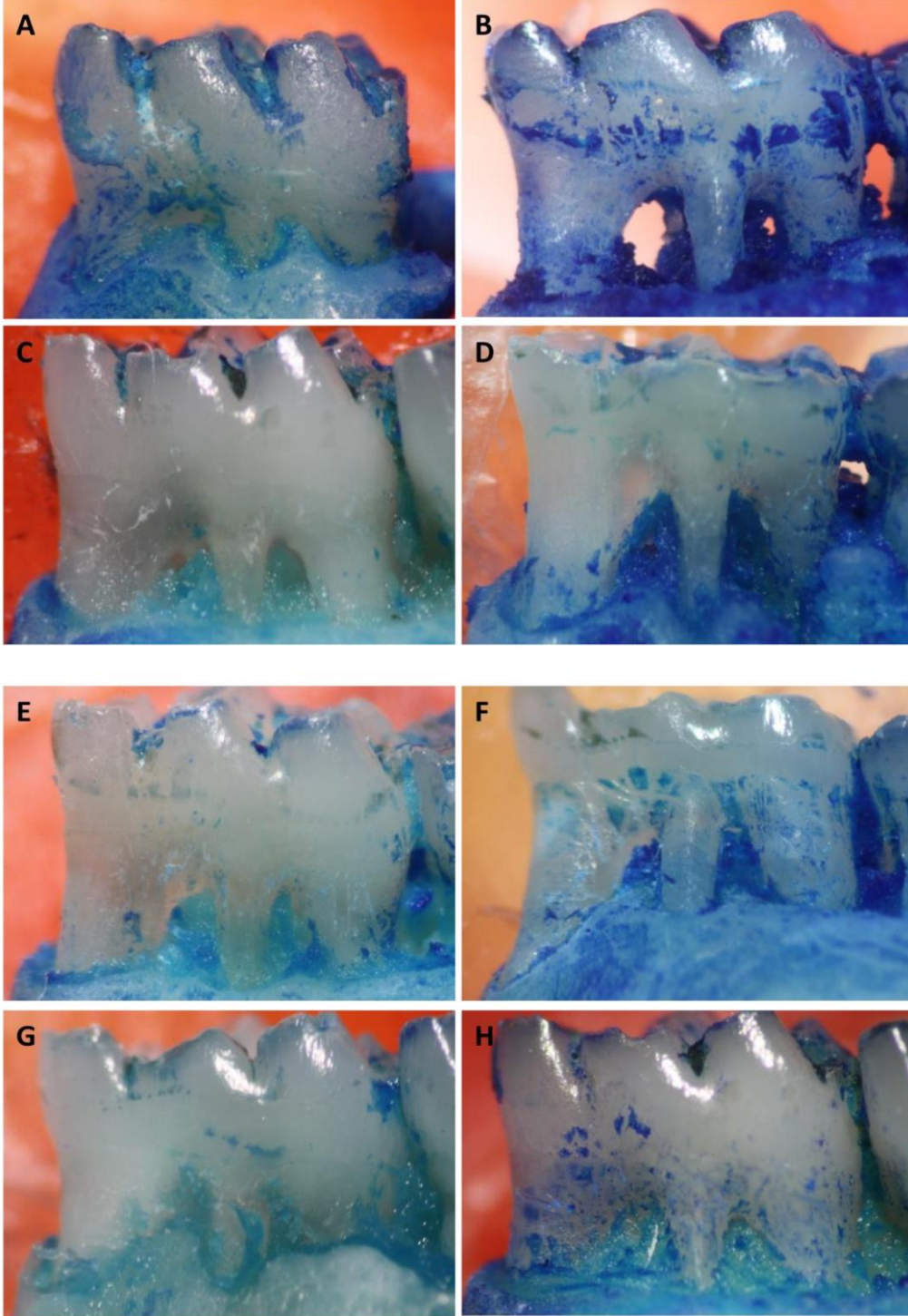
LK grubundaki alveoler kemik kaybı miktarı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre önemli düzeyde yüksek bulundu ($p<0.05$).

L-80 grubunda S-80 ve S-150 gruplarına göre daha fazla alveoler kemik kaybı tespit edildi ($p<0.05$).

L-20 ve S-20 gruplarındaki alveoler kemik kaybı miktarı S-80 grubuna oranla daha fazla bulundu ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0.05$).

Tüm gruplarda hümitik asit miktarı alveoler kemik kaybı miktarını azaltırken özellikle S-80 ile S-150 grubundaki alveoler kemik kaybı miktarının kontrol grubuna yakın olması dikkat çekicidir.

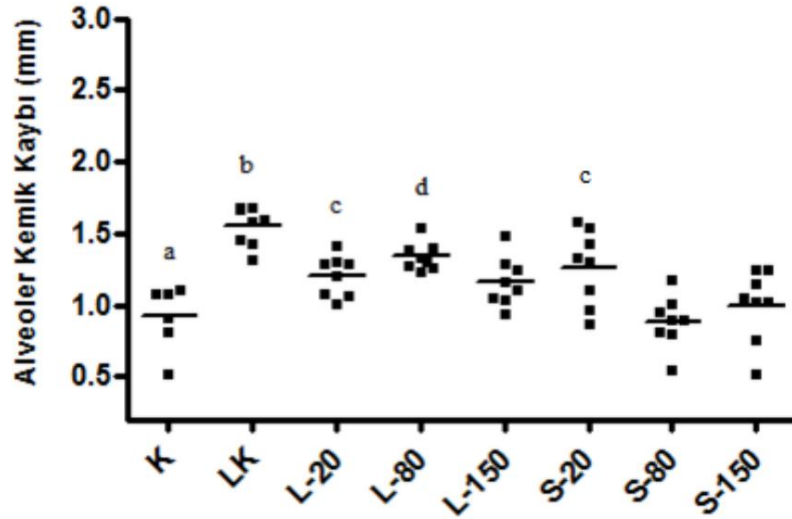


Şekil 8. Gruplara ait alt sağ birinci molar dişlerin stereomikroskop görüntüsü (x25). A: K grubu, B: LK grubu, C: L-20 grubu, D: L-80 grubu, E: L-150 grubu, F: S-20 grubu, G: S 80 grubu, H: S-150 grubu.

Çizelge 1. Gruplara ait alveoler kemik kaybı ortalamaları ve ortanca değerleri.

Gruplar Ortalama Alveoler Kemik Kaybı		
	\bar{X}	(Min - Maks) Ortanca
K	0,91 ± 0,22a	(0,51 - 1,10) 0,99
LK	1,54 ± 0,13b	(1,30 - 1,67) 1,59
L-20	1,20 ± 0,14c	(1,00 - 1,41) 1,24
L-80	1,34 ± 0,09d	(1,23 - 1,54) 1,31
L-150	1,16 ± 0,17	(0,94 - 1,48) 1,13
S-20	1,26 ± 0,26c	(0,86 - 1,58) 1,31
S-80	0,88 ± 0,18	(0,55 - 1,17) 0,89
S-150	0,99 ± 0,24	(0,52 - 1,24) 1,03
Sonuç	KW=37.59 p=0.001* önemli	

*p<0.05 önemli



Şekil 9. Gruplara ait alveoler kemik kaybı ortalamaları.

^a p<0.05 LK, L-80 ve S-20 gruplarından farklı;

^b p<0,05 L-20, L-150, S-80 ve S-150

gruplarından farklı; ^c p<0.05 S-80 grubundan farklı;

^d p<0.05 S-80 ve S-150 gruplarından

farklı

4.2. Serum ve Dişeti Homojenati IL-10 ve IL-1 β Değerleri

Gruplara ait serum IL-10 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-2) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubundaki serum IL-10 düzeyi LK, L-80 ve S-20 gruplarına göre istatistiksel olarak yüksek iken, S-80 grubuna göre anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.05$).

S-80 grubundaki serum IL-10 düzeyi diğer gruplara göre önemli oranda yüksek bulundu ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

S-80 grubunun serum IL-10 düzeyini anlamlı oranda arttırdığı tespit edildi. Ayrıca hümkik asit uygulamasının LK grubuyla kıyaslandığında diğer tüm gruplarda serum IL-10 düzeyini arttırdığı bulundu.

Çizelge 2. Gruplara ait Serum IL-10 düzeyleri.

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
K	21,44a	12,08	3,90	2,03	37
LK	10,39	4,97	2,24	8,34	5,03
L-20	3,68	39,12b	7,08	9,12	4,05
L-80	22,45	p=0,002*		4,61	7,81
L-150			8,16	5,68	11,36
S-20			4,26	2,84	10,65
S-80			39,00	32,75	45,75
S-150			9,58	5,68	14,91
Sonuç	*p<0.05 önemli				

^ap<0.05 LK, L-80 ve S-20 gruplarından farklı;

^bp<0.05 tüm gruplardan farklı

Gruplara ait dişeti homojenatı IL-10 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-3) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda dişeti homojenatı IL-10 düzeyi LK, L-20, L-80 ve L-150 gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$).

LK ve L-80 gruplarında dişeti homojenatı IL-10 düzeyinin S-20, S-80 ve S-150 gruplarından düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

L-20 ve L-150 gruplarında dişeti homojenatı IL-10 düzeyi S-20 ve S-80 gruplarına göre önemli oranda düşüktü ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Dişeti homojenatı IL-10 sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında; S-80 grubunda IL-10 düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek oranda tespit edildi.

Çizelge 3. Gruplara ait Dişeti Homojenatı IL-10 düzeyleri.

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
K	89,80a	18.60	96,47	62,50	103,78
LK	22,71b	20.07	22,13	2,84	43,75
L-20	35,77c	12.92	34,31	22,70	51,75
L-80	29,52b	12.65	33,25	11,36	40,25
L-150	36,94c	12.80	33,50	25,54	55,25
S-20	70,45	4.04	70,02	66,37	75,40
S-80	91,41	16.42	84,86	80,13	115,82
S-150	66,84	8.17	65,67	59,75	76,26
Sonuç	KW=25,46 p=0,001*		*p<0.05 önemli		

^ap<0.05 LK, L-20, L-80 ve L-150 gruplarından farklı; ^bp<0.05 S-20, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^cp<0.05 S-20 ve S-80 gruplarından farklı.

Gruplara ait serum IL-1 β değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-4) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

Kontrol grubunda serum IL-1 β düzeyi diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0.05$).

LK grubunda en yüksek serum IL-1 β düzeyi tespit edildi. LK grubu ile L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

L-20, L-80, L-150 ve S-20 gruplarında serum IL-1 β düzeyi S-80 ve S-150 gruplarından istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık önemli değildi ($p>0.05$).

Özellikle S-80 grubu ile S-150 grubunda diğer ligatürlü gruplarla karşılaştırıldığında serum IL-1 β düzeyi daha düşük oranda tespit edildi.

Çizelge 4. Gruplara ait Serum IL-1 β düzeyleri.

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
K	4,68a	2,10	96,95b	6,86	6,1c
LK	11,85	87,61c	5,68	56,84c	
L-20	71,68c	6,76	32,48	135,50	
L-80	12,13	KW=29,07 $p=0,001^*$		35,43	21,43
L-150					
S-20					
S-80					
S-150					

Sonuç

^a $p<0.05$ diğer tüm gruplardan farklı; ^b $p<0,05$ L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^c $p<0.05$ S-80 ve S-150 gruplarından farklı.

Gruplara ait dişeti homojenatı IL-1 β değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-5) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda dişeti homojenatı IL-1 β düzeyi LK, L-20, L-80, S-20 ve S-150 gruplarına göre anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0.05$).

LK grubunda dişeti homojenatı IL-1 β düzeyinin en yüksek olduğu tespit edildi. L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$).

L-20 grubunda dişeti homojenatı IL-1 β düzeyi L-80 ve S-20 gruplarından düşük, S-80 grubundan ise istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0.05$).

L-80 ve S-20 gruplarında L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre daha yüksek IL-1 β düzeyi tespit edildi ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık önemli değildi ($p>0.05$).

S-80 grubunun dişeti homojenatı IL-1 β düzeyini istatistiksel olarak önemli oranda azalttığı saptandı. Bu değer kontrol grubuyla yakın değerlerde olması dikkat çekicidir.

Çizelge 5. Gruplara ait Dişeti Homojenatı IL-1 β düzeyleri.

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
K	6,02a	3.59	6,25	1,79	9,82
LK	63,69b	5.17	64,11	56,98	69,58
L-20	25,89c	3.17	26,79	21,43	28,58
L-80	54,57d	11.24	55,79	42,28	64,43
L-150	21,65	2.56	22,77	17,86	23,22
S-20	45,38d	14.91	45,03	27,68	63,79
S-80	8,03	2.18	7,59	6,25	10,72
S-150	23,66	3.45	23,66	19,65	27,68
Sonuç	KW=28,01 $p=0,001^*$		$*p<0.05$ önemli		

^a $p<0.05$ LK, L-20, L-80, S-20 ve S-150 gruplarından farklı;

^b $p<0,05$ L-20, L-150, S-20, S-

80 ve S-150 gruplarından farklı;

^c $p<0.05$ L-80, S-20 ve S-80 gruplarından farklı;

^d $p<0.05$

L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı.

4.3. Histopatolojik Değerlendirme

4.3.1. Osteoblastik Aktivität

Gruplara ait osteoblastik aktivite değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p < 0.05$). (Çizelge-6) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda osteoblastik aktivite diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($p < 0.05$).

LK, L-20, L-80, L-150 ve S-20 gruplarında osteoblastik aktivite S-80 ve S-150 gruplarına göre önemli oranda düşük bulundu ($p < 0.05$).

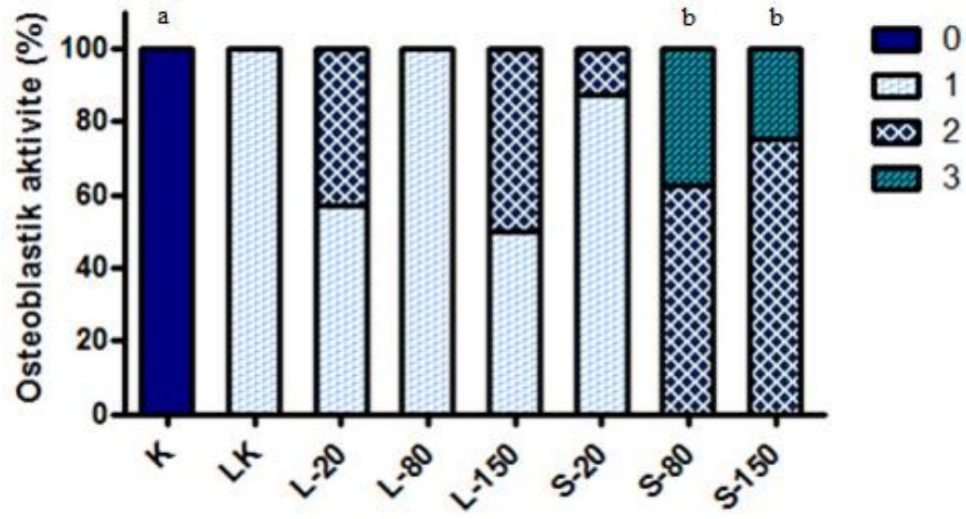
Diğer gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Osteoblastik aktivite en çok S-80 ve S-150 gruplarında elde edildi. Bu iki grupta yoğun ve yeni kemik yapı alanları gözlemlendi.

Çizelge 6. Gruplara ait osteoblastik aktivite değerleri.

Gruplar	Osteoblastik Aktivität	
	$\bar{X} \pm S$	(Min - Maks) Ortanca
K	0,00 \pm 0,00a	(0,00 - 0,00) 0,00
LK	1,00 \pm 0,00	(1,00 - 1,00) 1,00
L-20	1,43 \pm 0,53	(1,00 - 2,00) 1,00
L-80	1,00 \pm 0,00	(1,00 - 1,00) 1,00
L-150	1,50 \pm 0,53	(1,00 - 2,00) 1,50
S-20	1,13 \pm 0,35	(1,00 - 2,00) 1,00
S-80	2,38 \pm 0,51b	(2,00 - 3,00) 2,00
S-150	2,25 \pm 0,46b	(2,00 - 3,00) 2,00
Sonuç	KW=47.28	p=0.001* önemli

* $p < 0.05$ önemli



Şekil 10. Gruplara ait osteoblastik aktivite dağılımı (%).

^a $p < 0.05$ diğer tüm gruplardan farklı; ^b $p < 0.05$ LK, L-20, L-80, L-150 ve S-20 gruplarından farklı.

4.3.2. Osteoklast Sayısı

Gruplara ait osteoklast sayısı değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-7) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda osteoklast sayısı LK, L-80, L-150 ve S-20 gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($p<0.05$).

LK grubunda osteoklast sayısı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$).

L-20 grubunda osteoklast sayısı L-80 ve S-20 gruplarına göre daha düşük tespit edildi ($p<0.05$).

L-80 grubunda osteoklast sayısı L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre daha fazla bulundu ($p<0.05$).

L-150 grubunda S-20 grubuna oranla daha düşük sayıda osteoklast tespit edildi ($p<0.05$).

S-20 grubunda osteoklast sayısı S-80 ve S-150 gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

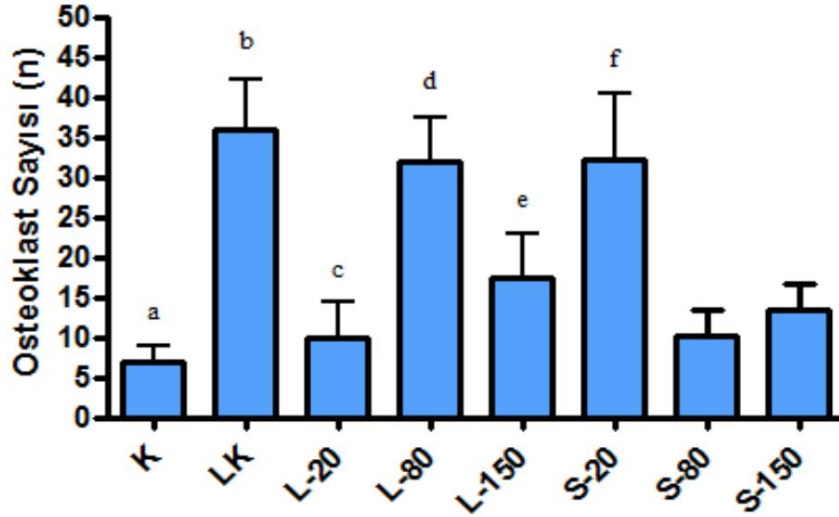
Diğer gruplar arasındaki farklılık önemli değildir ($p>0.05$).

L-20, S-80 ve S-150 gruplarında osteoklast sayısı K grubunda fazla bulunmasına rağmen sonuç istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

Çizelge 7. Gruplara ait ortalama osteoklast sayısı.

Gruplar	Osteoklast Sayısı	
	$\bar{X} \pm S$	(Min - Maks) Ortanca
K	7.00 \pm 2.00a	(5.00 - 10.00) 7.00
LK	35,88 \pm 6,22b	(27.00 - 45.00) 35.50
L-20	10.00 \pm 4.50c	(5.00 - 16.00) 10.00
L-80	31,88 \pm 5,51 gün	(25.00 - 40.00) 32.00
L-150	17,50 \pm 5,37e	(10.00 - 25.00) 15.50
S-20	32,25 \pm 8,19f	(20.00 - 44.00) 32.00
S-80	10,13 \pm 3,22	(5.00 - 15.00) 10.00
S-150	13,50 \pm 3,29	(9.00 - 18.00) 14.00
Sonuç KW=49.36 p=0.001* önemli		

*p<0.05 önemli



Şekil 11. Gruplara ait ortalama osteoklast sayısı değerleri.

^ap<0.05 LK, L-80, L-150 ve S-20 gruplarından farklı; ^bp<0.05 L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^cp<0.05 L-20 ve S-20 gruplarından farklı; ^dp<0.05 L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^ep<0.05 L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^fp<0,05 S-80 ve S-150

4.3.3. Fibrozis

En düşük fibrozis oranı K grubunda gözlenirken, en yüksek fibrozis oranı L-80 grubunda elde edildi.

Gruplara ait fibrozis değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-8) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda fibrozis değeri LK, L-80 ve S-20 gruplarına göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$).

LK grubunda fibrozis değeri L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarından yüksek iken L-80 grubundan anlamlı oranda düşük idi ($p<0.05$).

L-20 grubunda fibrozis değeri L-80 ve S-20 gruplarına göre anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.05$).

L-80 grubunda fibrozis değeri L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarına oranla daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

L-150 grubunda fibrozis değeri S-20 grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulundu ($p<0.05$).

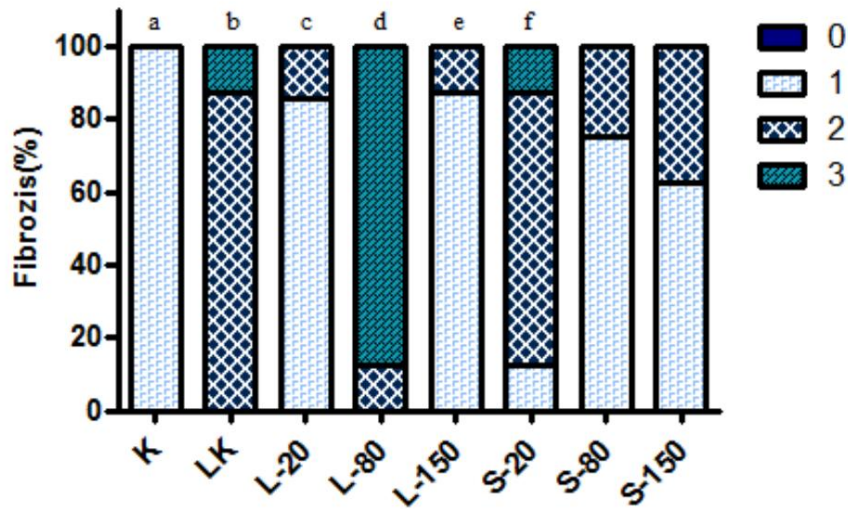
S-20 grubu ile S-80 grubu arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık önemli değildir ($p>0.05$).

Çizelge 8. Gruplara ait ortalama fibrozis değerleri.

Gruplar	Fibrozis	
	$\bar{X} \pm S$	(Min - Maks) Ortanca
K	1.00±0.00a	(1.00 - 1.00) 1.00
LK	2,13±0,35b	(2.00 - 3.00) 2.00
L-20	1,14±0,37c	(1.00 - 2.00) 1.00
L-80	2,88 ± 0,35 gün	(2.00 - 3.00) 3.00
L-150	1,13±0,35e	(1.00 - 2.00) 1.00
S-20	2,00± 0,53f	(1.00 - 3.00) 2.00
S-80	1,25±0,46	(1.00 - 2.00) 1.00
S-150	1,38 ± 0,51	(1.00 - 2.00) 1.00
Sonuç	KW=41.80 p=0.001* önemli	

*p<0.05 önemli



Şekil 12. Gruplara ait ortalama fibrozis değerleri (%).

^ap<0.05 LK, L-80 ve S-20 gruplarından farklı;^bp<0.05 L-20, L-80, L-150, S-80 ve S-150

gruplarından farklı; ve S-150 grubu S-20 grubundan farklı;

^cL-150, S-20, S-80 f p<0.05

farklı

S-20 grubundan farklı;

^dp<0.05 S-80 grubundan

4.3.4. Enflamatuvar Hücre İnfiltratı

K grubunda enflamatuvar hücre infiltratı gözlenmezken, LK, L-80 ve S-20 gruplarında en yüksek düzeyde tespit edildi.

Gruplara ait enflamatuvar hücre infiltratı değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). (Çizelge-9) Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında;

K grubunda enflamatuvar hücre infiltratı miktarı LK, L-80, L-150, S-20 ve S-150 gruplarına göre anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.05$).

LK grubunda enflamatuvar hücre infiltratı miktarı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre önemli oranda yüksek tespit edildi ($p<0.05$).

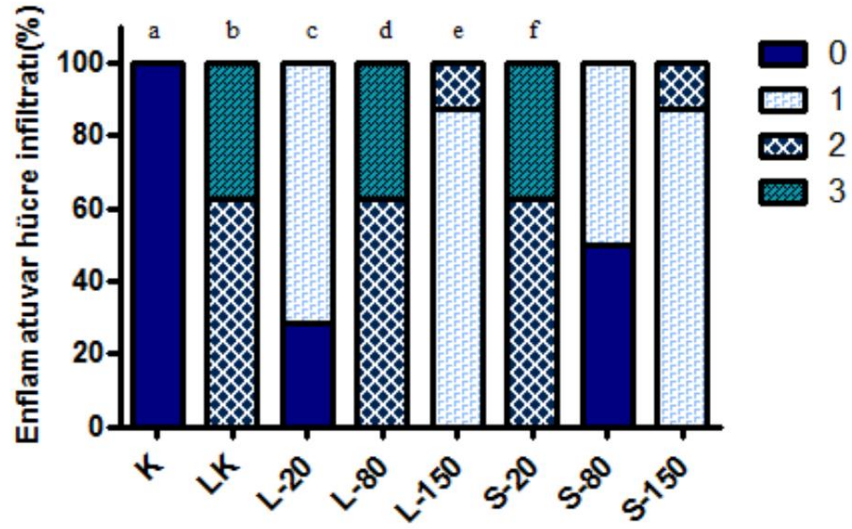
L-80 ve S-20 gruplarında enflamatuvar hücre infiltratı miktarı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarına göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasındaki farklılık önemli değildi ($p>0.05$).

Çizelge 9. Gruplara ait enflamatuvar hücre infiltratı değerleri.

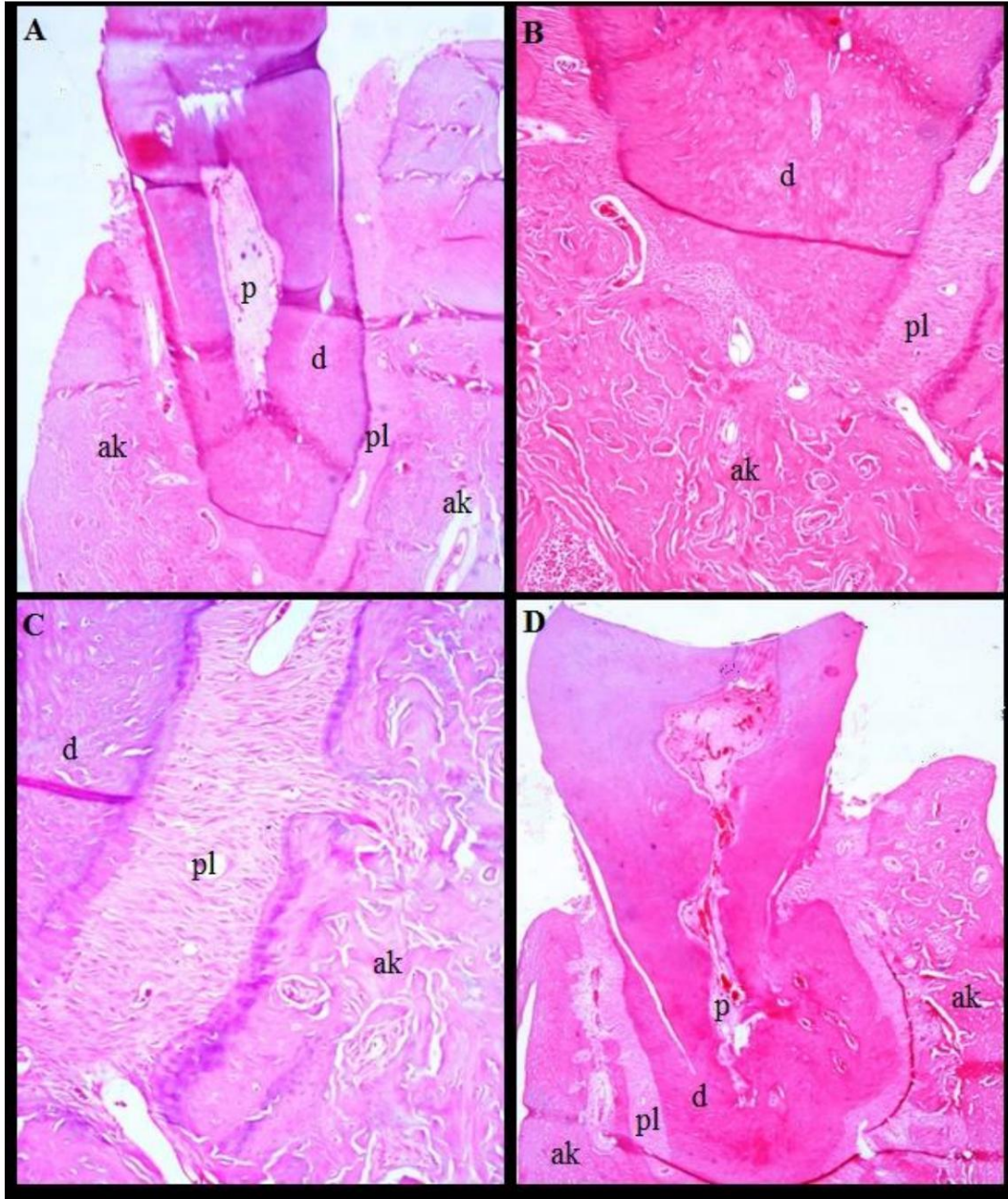
Gruplar	Enflamatuvar Hücre İnfiltratı	
	$\bar{X} \pm S$	(Min - Maks) Ortanca
K	0,00 \pm 0,00a	(0,00 - 0,00) 0,00
LK	2,38 \pm 0,51b	(2.00 - 3.00) 2.00
L-20	0,71 \pm 0,48c	(0,00 - 1,00) 1,00
L-80	2,38 \pm 0,51 gün	(2.00 - 3.00) 2.00
L-150	1,13 \pm 0,35e	(1.00 - 2.00) 1.00
S-20	2,38 \pm 0,51 f	(2.00 - 3.00) 2.00
S-80	0,50 \pm 0,53	(0,00 - 1,00) 0,50
S-150	1,13 \pm 0,35	(1.00 - 2.00) 1.00
Sonuç	KW=50.62 p=0.001* önemli	

* $p<0.05$ önemli



Şekil 13. Gruplara ait enflamatuvar hücre infiltratı dağılımı (%).

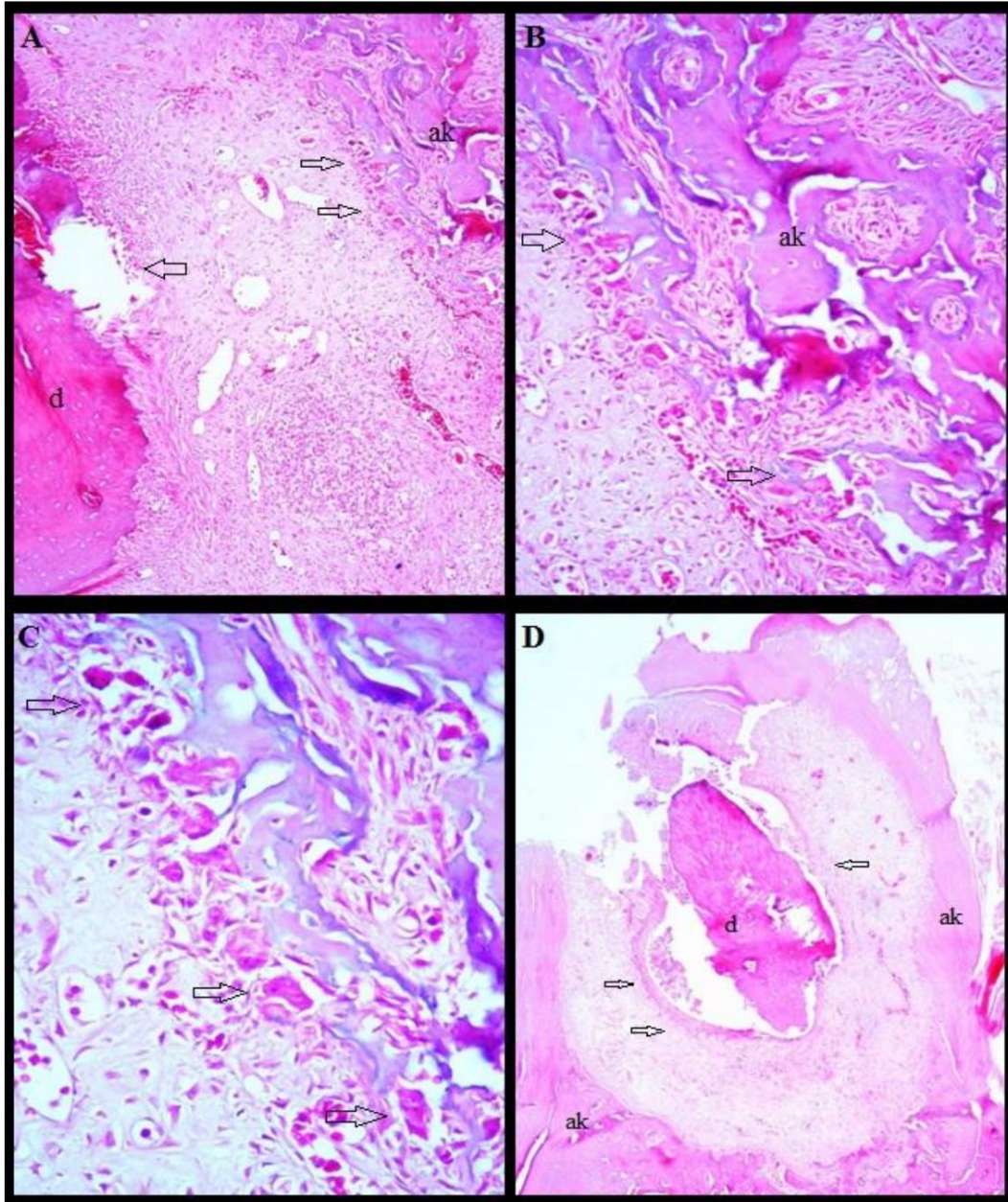
^ap<0.05 LK, L-80, L-150, S-20 ve S-150 gruplarından farklı; ^bp<0,05 L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^cp<0.05 L-80 ve S-20 gruplarından farklı; ^dp<0,05 L-150, S-80 ve S-150 gruplarından farklı; ^ep<0.05 S-20 grubundan farklı; ^fp<0,05 S-80 ve S-150 gruplarından farklı.



Şekil 14. Kontrol Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Alveoler kemik ve diş fotoğrafı. Osteoblastik aktivite ve iltihabi hücre infiltratı görülmemektedir. Oldukça az sayıda osteoklast ve çok düşük oranda fibrozis izlenmektedir. (x40)
- B. Dişin apeksi ve alveoler kemik fotoğrafı. (x100)
- C. Dentin, periodontal ligament ve alveoler kemik (periodonsiyum) fotoğrafı. Normal yapı izlenmektedir. (x200)
- D. Osteoblastik aktivite ve iltihabi hücre infiltratı izlenmemektedir. Osteoklast miktarı minimaldir. Fibrozis oranı oldukça düşüktür. (x40)

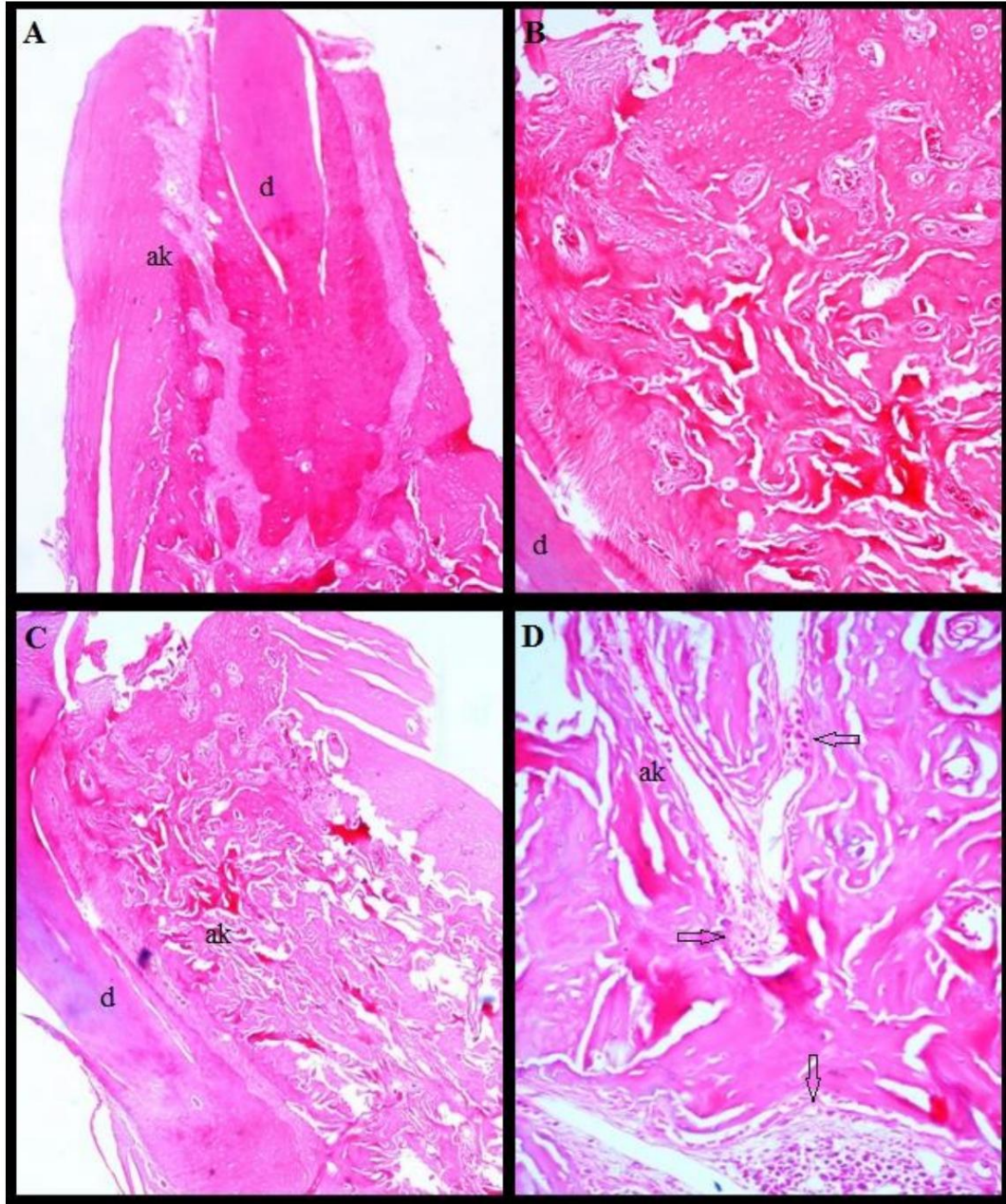
ak: Alveoler kemik, d: Dentin, p: Pulpa, pl: Periodontal ligament



Şekil 15. Ligatürlü Kontrol Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Diş köküne komşu alveoler kemikte ve dentinde yıkım görülmektedir. Yoğun bir şekilde iltihabi hücre infiltratı ve fibrozis izlenmektedir. Osteoblastik aktivite miktarı oldukça düşüktür. Sağ okla alveoler kemik boyunca dizilmiş olan osteoklastlar gösterilmektedir. Sol okla ise abseleşme tarzında yıkım gösterilmektedir. (x100)
- B. Alveoler kemik boyunca dizilmiş olan osteoklastlar izlenmektedir. (x200)
- C. Osteoklastların görüntüsü. (x400)
- D. Kök kalıntısını kuşatan yoğun iltihap görülmektedir. Diş kökü çevresinde neredeyse kemik dokusu kalmamıştır. (x40)

ak: Alveoler kemik, d: Dentin



Şekil 16. Lokal-20 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

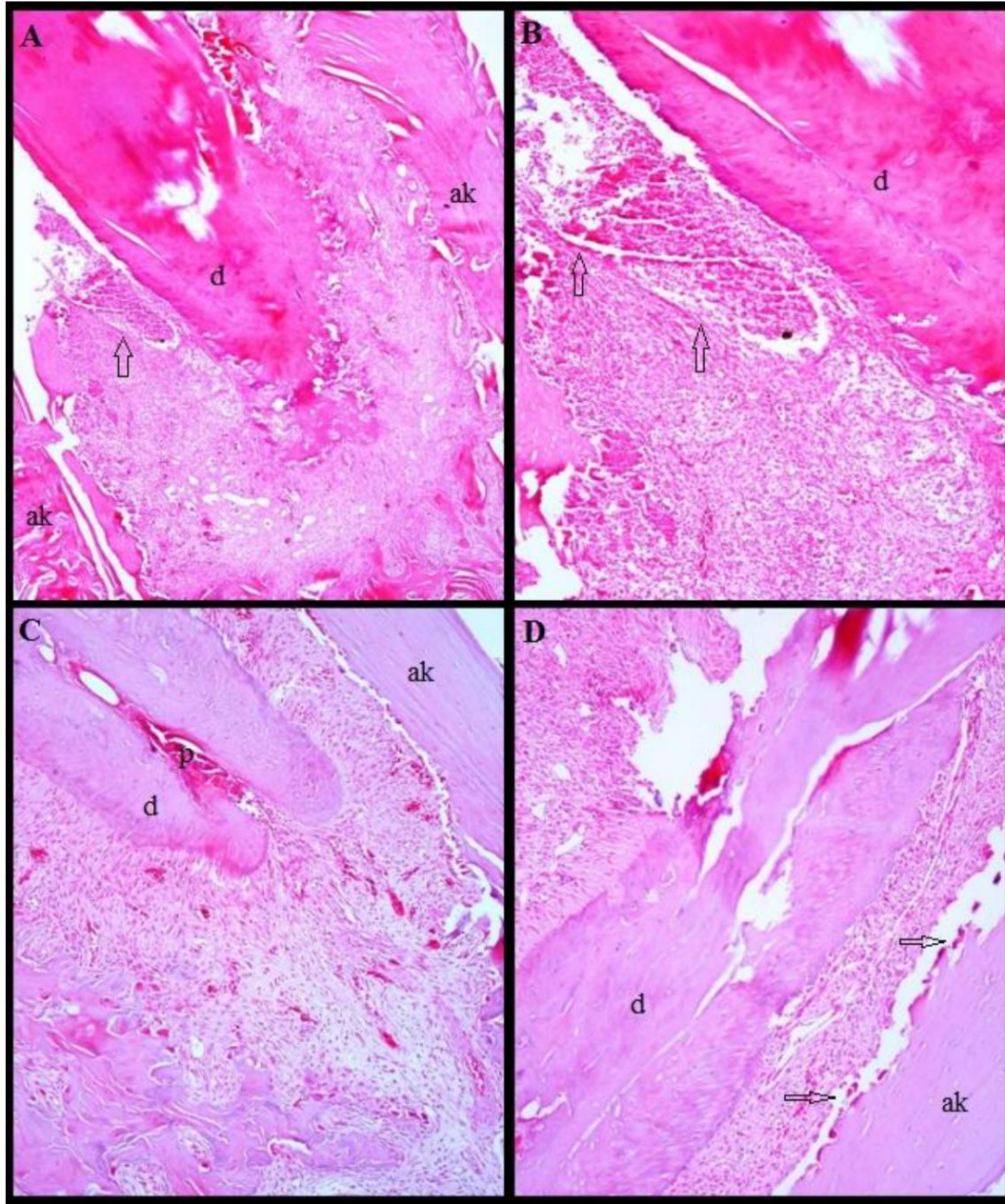
A. İltihabi hücre infiltratı yoktur ve fibrozis oranı düşüktür. (x40)

B. İltihabi hücre ve osteoklast gözlenmemektedir. Fibrozis oranı oldukça düşüktür. (x100)

C. Fotoğrafta yeni kemik yapım alanları görülmektedir. İltihabi hücreler ve osteoklastlar gözlenmemektedir. Fibrozis alanları yok denebilecek kadar azdır. (x40)

D. Alveoler kemikte osteoblastik aktivite izlenmektedir. (x200)

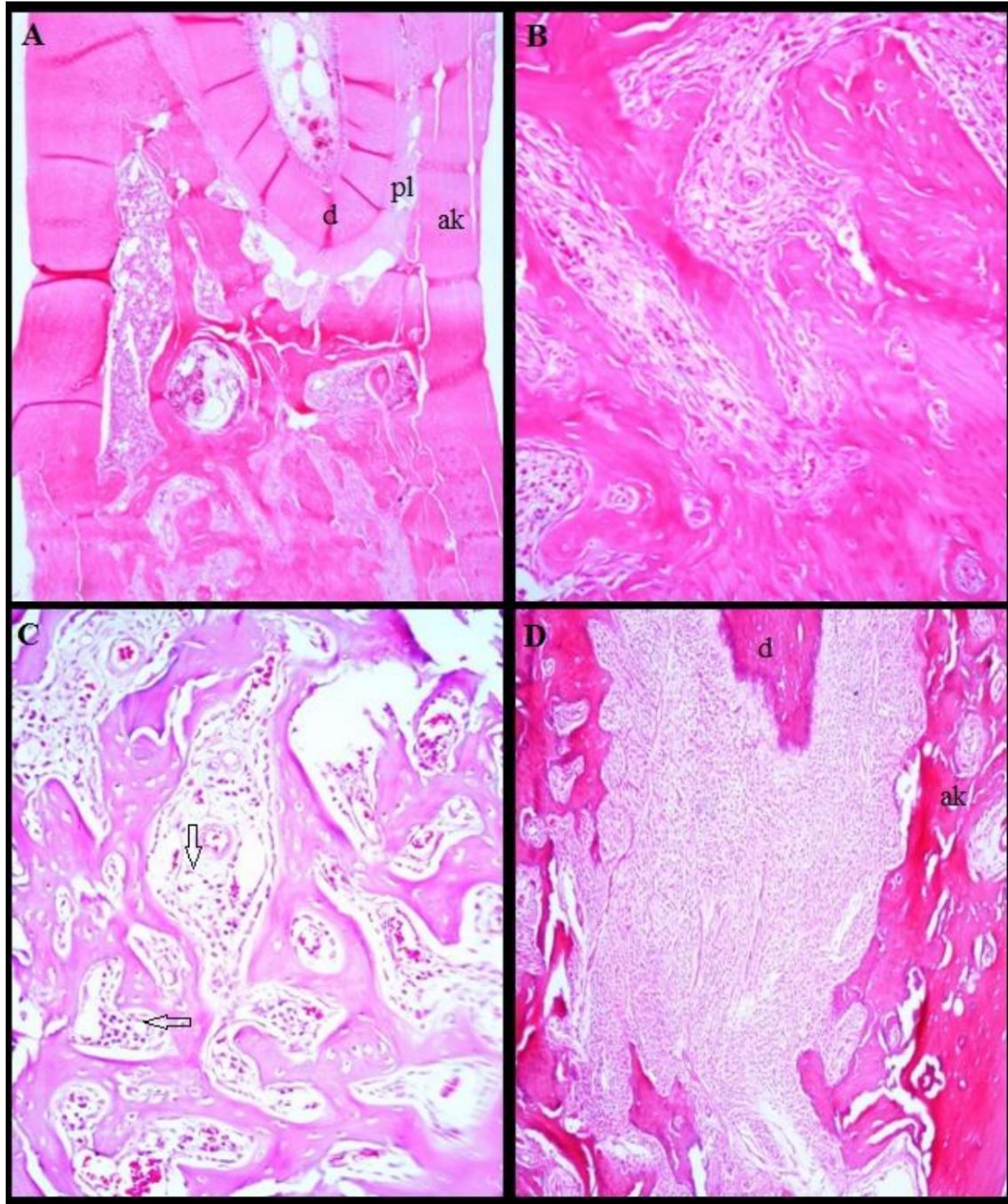
ak: Alveoler kemik, d: Dentin



Şekil 17. Lokal-80 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Diş kökünü çevreleyen yoğun osteoklastlar ve yoğun fibrozis alanları izlenmektedir. Osteoblastik aktivite oldukça düşüktür. Ok ile gösterilen alanda abse formasyonu mevcuttur. (x40)
- B. Ok ile gösterilen alanda abse formasyonu görülmektedir. Ayrıca yoğun iltihabi hücre infiltratı izlenmektedir. (x100)
- C. Dişin apikal bölgesinde görülen yoğun fibrozis. (x100)
- D. Diş çevresinde sıralanmış osteoklastlar ve iltihabi hücreler görülmektedir. (x100)

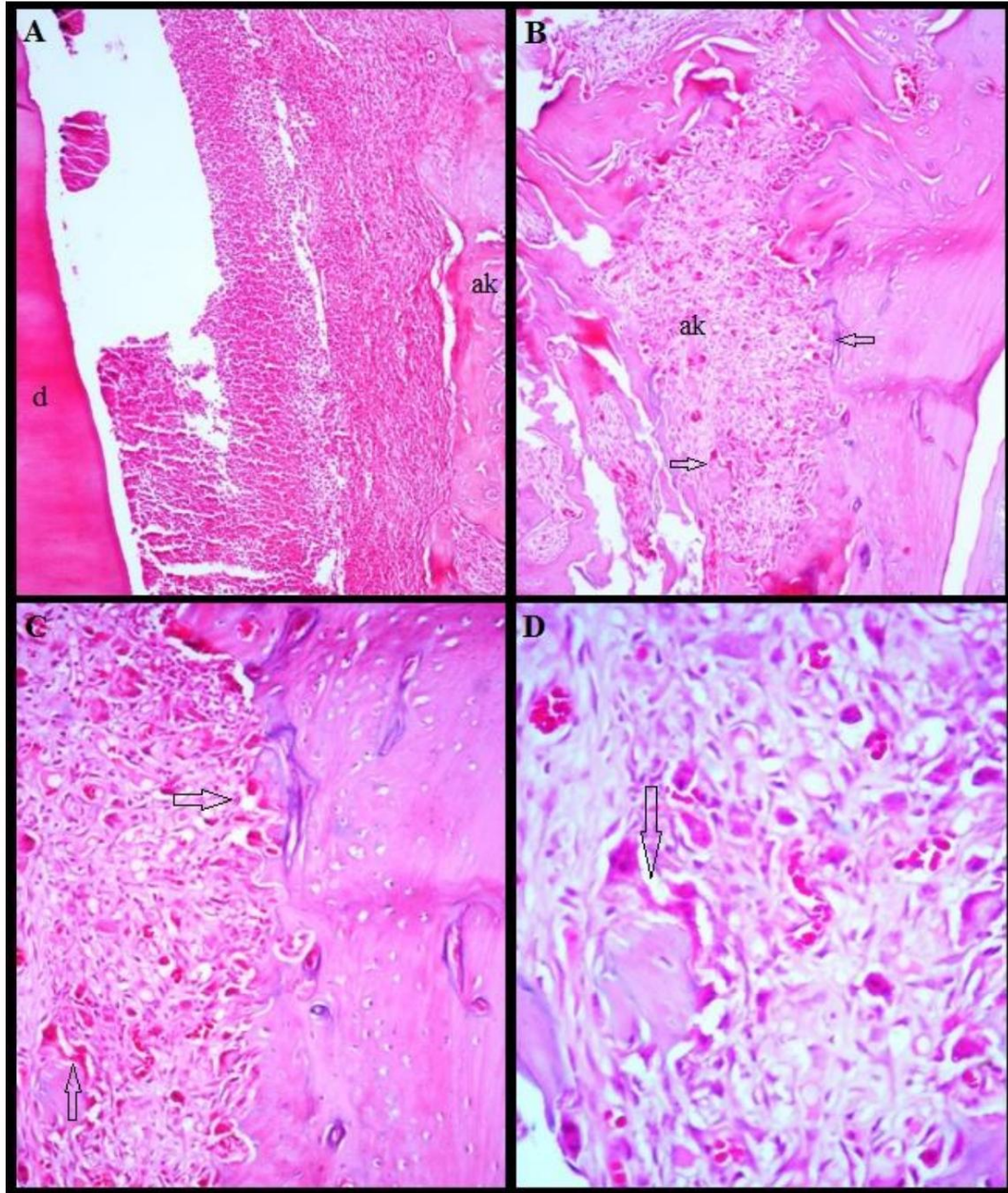
ak: Alveoler kemik, d: Dentin, p: Pulpa



Şekil 18. Lokal-150 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Düşük oranda fibrozis ve iltihabi hücre infiltratı gözlenmektedir. Alveoler kemikte osteoblastik aktivite izlenmektedir. (x40)
- B. Yoğun osteoblastik aktivite. (x200)
- C. Alveoler kemikte yeni kemik yapımı. Ok ile gösterilen bölgelerde kübik formulu osteoblastlar görülmektedir. (x200)
- D. Alveoler kemik ve fibrozis alanları izlenmektedir. (x100)

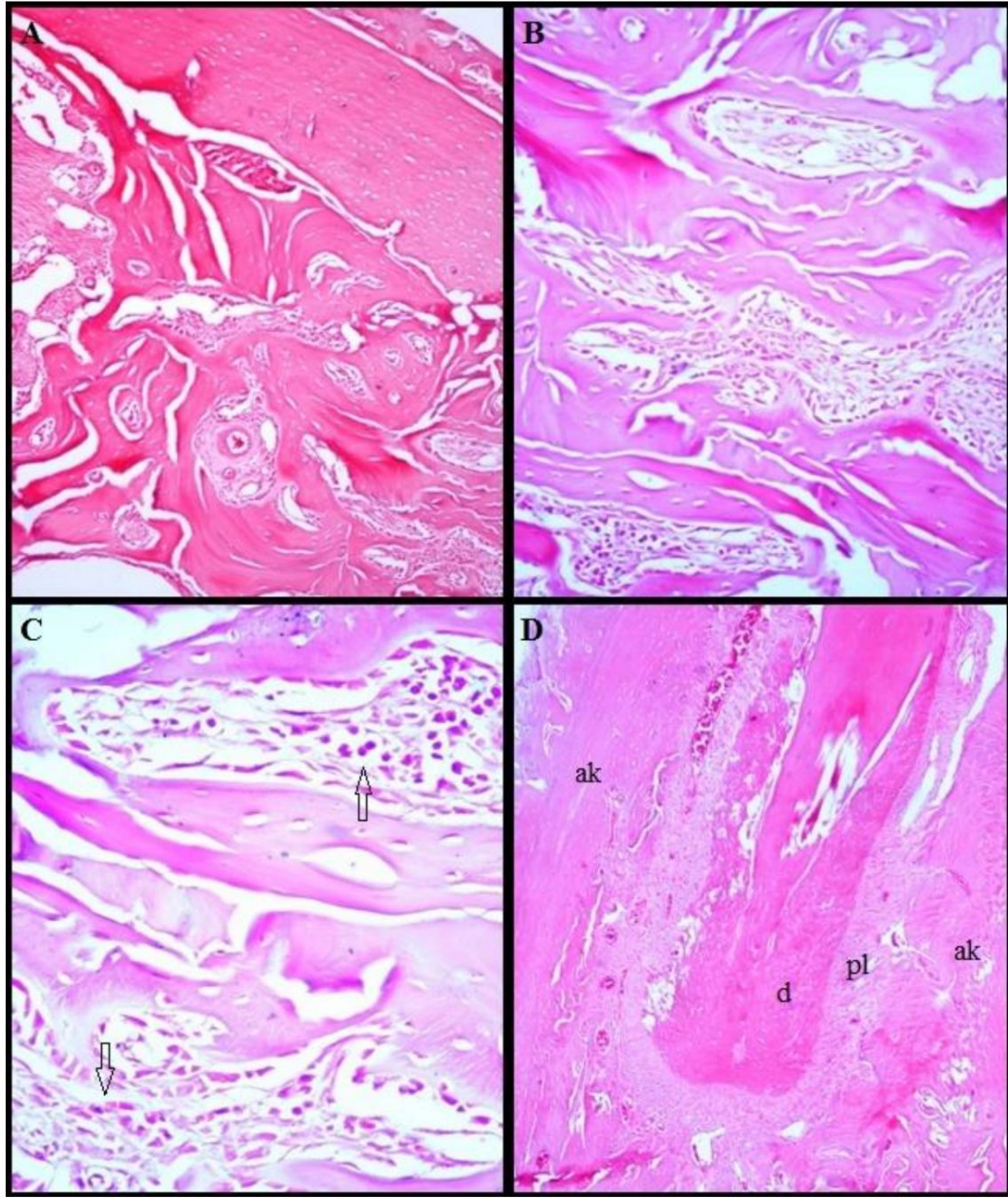
ak: Alveoler kemik, d: Dentin, p: Pulpa



Şekil 19. Sistemik-20 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Diş kökü ve alveoler kemik arasında yoğun iltihap. (x100)
- B. Alveoler kemikte yoğun osteoklast görüntüsü. (x100)
- C. Alveoler kemikte sıralanmış osteoklastlar görülmektedir. (x200)
- D. Kemiği yıkıma uğratan aktif osteoklastların görüntüsü. (x400)

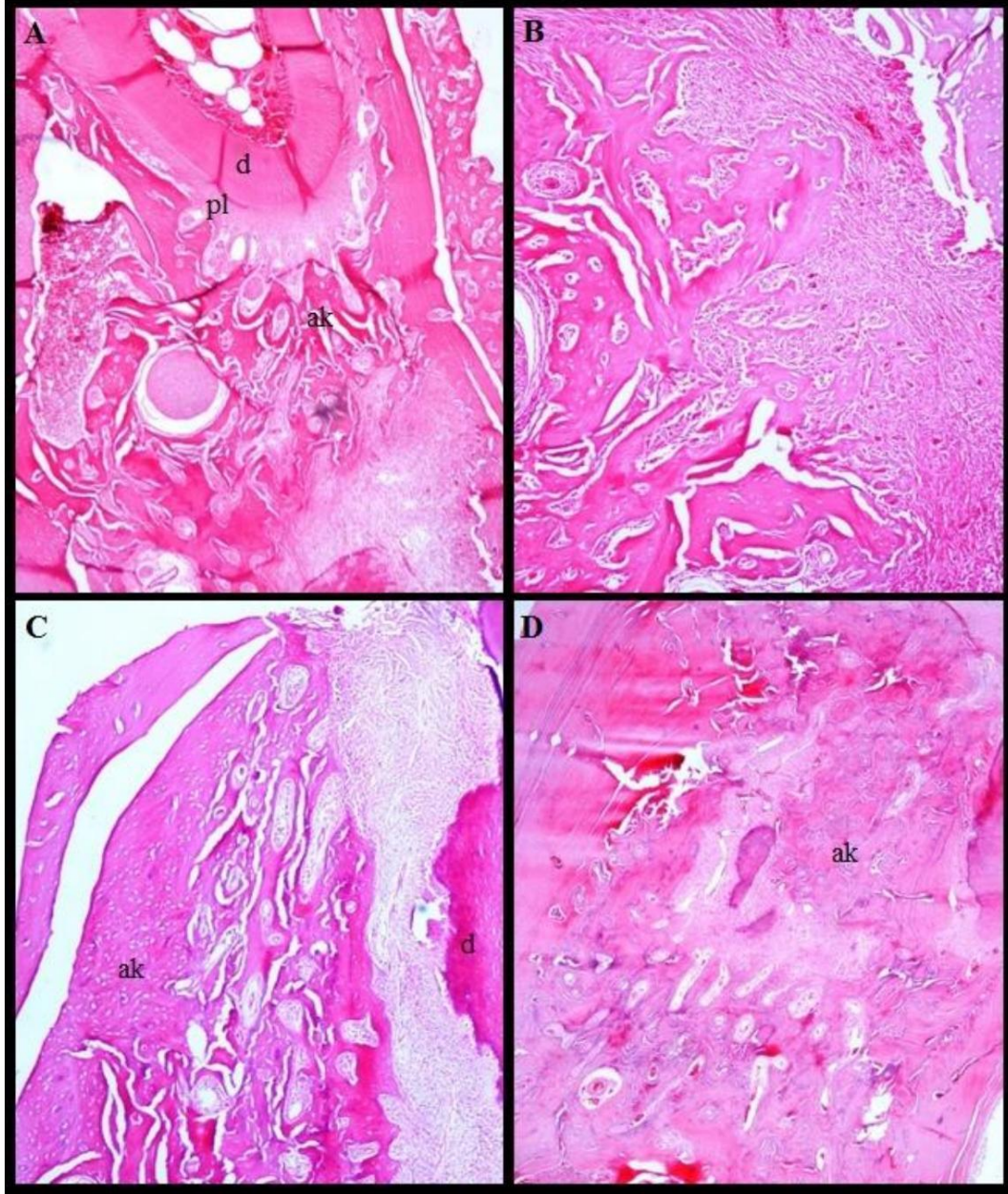
ak: Alveoler kemik, d: Dentin



Şekil 20. Sistemik-80 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Tüm yüzeylerde osteoblastik aktivite vardır. Fibrozis oranı oldukça düşüktür. Osteoklastlar gözlenmemektedir. (x100)
- B. Tüm yüzeylerde kuvvetli osteoblastik aktivite ve düşük oranda fibrozis görülmektedir. (x200)
- C. Büyük osteoblastlar, osteoblastik aktivite. (x400)
- D. İltihabi hücre infiltratı bulunmamaktadır. Minimal sayıda osteoklast bulunmaktadır. (x40)

ak: Alveoler kemik, d: Dentin



Şekil 21. Sistemik-150 mg/kg Grubu'na ait histolojik kesitler.

- A. Alveoler kemik içi ve dışında yeni kemik yapım alanları görülmektedir. (x40)
- B. Yoğun osteoblastik aktivite. (x100)
- C. Düşük oranda fibrozis ve iltihabi hücre infiltratı izlenmektedir. (x40)
- D. Tüm sahayı dolduran kemik yapımı vardır. Yoğun osteoblastik aktivite izlenmektedir. (x40)

ak: Alveoler kemik, d: Dentin

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar MDP mikroorganizmaları ve konak savunma mekanizmaları arasındaki ilişkiden kaynaklanır [197]. MDP içerisindeki periodontopatojen bakterilere ve ürünlerine karşı farklı konak hücrelerinden birçok pro-enflamatuvar sitokin (IL-1, TNF- α , IL-6 vs.) salınır. Bu pro-enflamatuvar sitokinler periodonsiyumda enflamatuvar yanıtı başlatmakla ve sürdürmekle görevlidir [13]. IL-1 bu sitokinlerin en önemlilerinden biridir ve kemik rezorpsiyonunu organize eder. Pro-enflamatuvar etkilerini monosit ve fibroblastlardan PGE2 salınımını ve ECM'i yıkıma uğratan MMP'ların salınımını stimüle ederek gösterirler [16]. Periodontal hastalığın düzenlenmesinde rol oynayan bir diğer sitokin IL-10'dur. IL-10'un birçok deneysel modelde çeşitli hücre tipleri için anti enflamatuvar ve immünoşüpresif etkisi olduğu gösterilmiştir [20, 21]. Periodontal lezyonlarda anti-enflamatuvar ve pro-enflamatuvar sitokinler arasındaki denge ya da dengesizlik hastalığın seyrini belirler [138, 139, 198]. Bu nedenle periodontal hastalıklarda pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokin düzeylerinin belirlenmesi hastalığın seyri açısından önemlidir. Periodontitiste ECM ve alveoler kemik yıkımına çoğunlukla konak kaynaklı enzimler, sitokinler ve diğer mediatörler neden olur. Bundan dolayı çalışmalar bazı yıkıcı konak mekanizmalarını değiştirerek periodontal doku yıkımını önleme üzerine yoğunlaşmıştır [145].

Hümkik asitler doğada bulunan en yaygın organik karbon formları olup [38], lökositlerin aktive ettiği IL-1 β ve TNF- α salınımını inhibe ederek güçlü anti-enflamatuvar etki gösterirler [199]. Bu çalışmada ratlarda ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modelinde sistemik ve lokal uygulanan hümkik asidin alveoler kemik kaybı ve gingival enflamasyon üzerine etkileri histopatolojik, morfometrik ve biyokimyasal açıdan araştırılmış ve periodontal hastalık oluşumu ile aynı zamanda hümkik asit uygulamasının periodontal hastalığı önlemedeki etkisi değerlendirilmiştir.

Ratların molar dişleri etrafına ligatür yerleştirilmesiyle oluşturulan deneysel periodontitis modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır [200-202]. Diş çevresine yerleştirilen ligatür MDP için retansiyonu arttırıcı bir faktör olarak işlev görerek doku bütünlüğünü bozar ve sonuçta periodontitis oluşumuna yol açar. Alveoler kemik yıkımı miktarı ilk on beş günde hızlıdır ve daha sonra azalarak devam eder. Alveoler kemik kaybının ligatür bağlandıktan kısa bir süre sonra oluştuğunu gösteren çalışmalar mevcuttur

[200-203]. Kuhr ve ark. [203] ratların molar dişlerine suture geçirmişler ve 1, 15, 30. ve 60. günlerde aldıkları kesitlerde morfolometrik olarak alveoler kemik düzeyini ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonucunda en fazla kemik kaybının ilk 15 günlük süreçte olduğu, 30. ve 60. günlerdeki kaybın hafif bir artış olarak devam ettiğini belirlemişlerdir. Bununla beraber ratlarda dişlerin oklüzal-bukkal-distal yönde hareketi ligatürün etkisinde zamanla azalmaya neden olabilir. Ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modelinde bir süre sonra gözlenen yıkım şiddetindeki azalma bu durum ile açıklanabilir. Bundan dolayı ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modellerinde çalışma süresi 15 gün olmalıdır [202, 203]. Buna karşın dokudaki travma ve bakteri miktarındaki artışa bağlı olarak periodontal yıkım insanlardaki kronik periodontitis seyrinden farklı olarak akut bir seyir gösterir. Bu da ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinin kısıtlamalarından biri olarak söylenebilir. Bu çalışmada deneysel periodontitisi indüklemek amacıyla bütün ratların birinci molar dişleri çevresine 15 gün süresince submarjinal olarak ligatür yerleştirildi ve 15. günde histopatolojik ve morfolometrik değerlendirme için ratlar kurban edildi. Bu süreçte ligatür yerleştirilen bütün gruplarda deneysel periodontitis başarıyla oluşturuldu.

Ratlarda molar dişler oklüzal yüzeylerdeki atreziona bağlı olarak sürekli erüpsiyona uğrar. Bu nedenle alveoler kemik kendi kendini sürekli şekillendirir [204]. Periodontal hastalığın görülmediği durumlarda bukkal yüzeylerde mine-sement sınırı ve alveoler kemik kreti arasındaki mesafe sabit kalırken, palatal ve lingual alanlarda bu iki nokta arasındaki mesafe yaşa bağlı olarak artış gösterir [205]. Bu nedenle çalışmalarda aynı haftalık ratlar kullanılmaktadır. Biz de çalışmamızda standart olarak 12 haftalık erkek Wistar ratlar kullandık.

Çalışmamızda alveoler kemik kaybı miktarını ölçmek için stereomikroskop yardımıyla mine-sement sınırı ile alveoler kret tepesi arasındaki mesafenin ölçümü tercih edildi. Deneysel olarak oluşturulan alveoler kemik kaybı iki yöntemle belirlenebilir. Birincisi mine-sement sınırı ile alveoler kret tepesi arasındaki mesafenin ölçümü, ikincisi açığa çıkan kök yüzeylerinden alan ölçümüdür. Alan ölçümü mesafe ölçümüne oranla kemik kaybını daha erken dönemlerde belirleyebilir ancak 15. günde her iki yöntem de kemik kaybı açısından doğru sonuçlar verir. Daha ileri günlerde ratlarda ligatür ile oluşturulan periodontal kaybı belirlemede alan ölçümü yetersiz kalırken mesafe ölçümü

daha güvenilir sonuçlar verebilir [203]. Bu nedenle mine sement sınırı ile alveoler kret tepesi arasındaki mesafenin ölçümü daha güvenilir bir yöntem olarak söylenebilir [202, 206].

Dişe ligatür yerleştirilmesiyle alveoler kemikte hızlı bir yıkım meydana gelmektedir [28, 200, 207]. Çalışmamızda LK grubundaki alveoler kemik kaybı miktarı en yüksek bulundu. Sistemik ve lokal hümitik asit grupları alveoler kemik kaybını farklı oranlarda azaltmakla birlikte, L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarındaki alveoler kemik kaybı miktarı LK grubundan anlamlı oranda düşük bulundu. Özellikle S-80 ve S-150 gruplarındaki alveoler kemik kaybı miktarının K grubuna yakın olması dikkat çekicidir. Bu durum histopatolojik değerlendirmede gözlenen yüksek osteoblastik aktivite, düşük osteoklast sayısı, düşük oranda enflamatuvar hücre infiltratı ve yeni kemik yapım alanlarının varlığı ile açıklanabilir.

Ratlarda ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modeli dokuları lokal olarak etkileyen bir modeldir. Bu nedenle lokal sitokin seviyelerinin belirlenmesi sistemik seviyelere oranla lokal enflamasyon durumunun tespit edilebilmesi açısından daha güvenilir sonuçlar sağlayabilir. Ratlarda ligatür yerleştirilen dişlerin dişeti dokusundan alınan biyopsi örneklerinden homojenat oluşturulması lokal sitokin seviyelerinin belirlenebilmesi için uygun bir yöntemdir [208].

Yüksek IL-1 β düzeyi dişeti dokularında enflamasyon derecesinin bir indikatörüdür [209]. Ayrıca IL-1 β seviyeleri periodontal hastalıklar ile ilişkili olup kemik yıkımının potansiyel bir stimülatörü olarak ileri periodontal yıkımın patogeneğinde rol oynar [75, 114, 210]. Çalışmamızda L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarında dişeti homojenatı IL-1 β düzeyinin LK grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Özellikle S-80 grubundaki dişeti homojenatı IL-1 β değeri K grubuna yakın bulundu.

Hönig ve ark. [18] periodontitis hastalarının dişeti dokularında farklı miktarlarda IL-1 β seviyesi tespit etmişlerdir. Fakat sağlıklı dişeti dokularında IL-1 β düzeyi tespit edememişlerdir. Çalışmamızda da benzer olarak ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis gruplarının dişeti dokularında kontrol grubundan daha yüksek oranda IL-1 β düzeyi tespit edildi. Kontrol grubunda ise IL-1 β düzeyi oldukça düşüktü.

IL-10, IL-1 ve TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe ederek anti enflamatuvar etki göstermektedir [125]. IL-10 enflamasyonla ilişkili PGE2 ve kemokinlerin üretimini inhibe eder. Ayrıca IL-1ra ve çözünebilir TNF- α reseptörleri gibi anti enflamatuvar mediatör üretimini artırır [144]. Periodontitis lezyonlarında IL-10 üretimi sağlıklı dişeti dokularına göre daha düşüktür [211]. Çalışmamızda dişeti homojenatı IL-10 düzeyi çalışma gruplarında LK grubuna göre daha yüksek oranda tespit edildi. En yüksek değer S-80 grubunda elde edildi ve bu değer diğer tüm gruplardan anlamlı şekilde yüksek bulundu. Sonuçlar sistemik olarak alınan 80 mg/kg hümkik asit miktarının dişetinde lokal olarak hem pro-enflamatuvar sitokin (IL-1 β) düzeyini anlamlı şekilde azalttığını hem de anti-enflamatuvar sitokin (IL-10) düzeyini anlamlı şekilde arttırdığını göstermiştir.

Pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin belirlenmesi hem konak korumasındaki rollerinin çalışılmasına yardımcı olur hem de periodontitis hastalarının sistemik enflamatuvar durumlarının belirlenmesinde önemli rol oynar. Çalışmalar kronik periodontitisin düşük düzey sistemik enflamasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir [212-214].

Çalışmamızla benzer olarak, Passoja ve ark. [144] serum IL-10 düzeyinin periodontitis hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Fakat hastalığın ileri aşamalarında serum IL-10 düzeyinin tekrar yükseldiğini göstermişler. Çalışmamızdan farklı olarak, serum IL-10 düzeyinin kronik periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere oranla daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur [130, 215, 216]. Çalışmamızda serum IL-10 seviyelerine bakıldığında en yüksek değer S-80 grubunda elde edildi. S-80 grubundaki serum IL-10 düzeyi diğer tüm gruplardan önemli oranda yüksek bulundu.

Gorska ve ark. [216] periodontitisli bireylerde serum IL-1 β konsantrasyonunun sağlıklı kontrollere göre daha yüksek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda serum IL-1 β düzeyi en yüksek LK grubunda, en düşük K grubunda tespit edildi. L-20, L-150, S-20, S-80 ve S-150 gruplarında serum IL-1 β düzeyi LK grubuna göre düşük bulundu. Özellikle S-80 ve S-150 gruplarındaki IL-1 β düzeyi diğer çalışma gruplarına göre daha düşük bulundu. S-80 grubunda serumdan elde edilen sonuçlar hümkik asidin bu dozda anti-

enflamatuvar sitokin (IL-10) düzeyini arttırdığını, pro-enflamatuvar sitokin (IL-1 β) düzeyini azalttığını göstermektedir.

Periodontitisin histopatolojisinde mononükleer hücrelerden oluşan enflamatuvar infiltratlar ve yüksek sayıdaki osteoklastlar önemli rol alırlar [217]. Bakteriyel uyarı ile konak yanıt uyarılarak enflamatuvar hücre infiltratında ve osteoklast formasyonunda artış meydana gelir. Böylece alveoler kemikte kayıp olur [206]. IL-1 β gibi enflamatuvar sitokinler bölgeye enflamatuvar hücre göçünü yönlendirir [218]. Kemik kaybı miktarı osteoklast sayısı ve osteoblastik kemik formasyonu arasındaki dengeye bağlıdır [219]. Osteoblastlar ve osteoblastik aktivite kemik matriks komponentlerinin üretimi ve osteoklast aktivitesinin kontrolü için önemlidir [220]. Bu nedenle periodontal hastalığın histopatolojisini değerlendirmede bu parametreler yarar sağlar. Yapılan çalışmalarda alveoler kemik kaybı miktarı ile osteoklast sayısı, fibrozis alanları ve enflamatuvar hücre infiltratı arasında bir korelasyon, osteoblastik aktivite ile arasında ise ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [200, 207, 221].

Toker ve ark. [200] yaptıkları bir deneysel periodontitis modeli çalışmasında N asetilsisteinin alveoler kemik kaybını azalttığını bulmuşlardır. Bu çalışmada alveoler kemik kaybının azalması osteoklastik aktivitenin azalması kadar ve osteoblastik aktivitenin artmasına da bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Yine, Toker ve ark. [207] propolisin deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik kaybı üzerine morfometrik ve histopatolojik etkilerini değerlendirdikleri bir diğer çalışmada, propolisin alveoler kemik kaybını azalttığı fakat enflamatuvar hücre infiltratı üzerine etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada propolisin osteoklast sayısını azalttığı ve osteoblastik aktiviteyi arttırdığı sonucu elde edilmiştir. Çalışmamız bu çalışmalarla uyumlu olarak, alveoler kemik kaybının düşük osteoklast sayısı ve yüksek osteoblastik aktiviteyle ilişkili olduğunu gösterdi. Enflamatuvar hücre infiltratı L-20, L-150, S-80 ve S-150 gruplarında LK grubuna göre daha düşük düzeyde tespit edildi.

Nyman ve ark. [222] yaptıkları bir deneysel periodontitis modeli çalışmasında, alveoler kemik kaybındaki azalmanın osteoklast sayısında azalmayla ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Bu çalışmayla benzer olarak çalışmamızda, osteoklast sayısı ve alveoler kemik yıkımı arasında bir ilişki bulundu.

Hou ve ark. [223] periodontitisli bölgelerden elde ettikleri dişeti biyopsilerinde sağlıklı bölgelere göre IL-1 β konsantrasyonunun arttığını bulmuşlardır. Bu artış enflamatuvar hücre yoğunluğuyla ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda da dişeti homojenati IL-1 β düzeyi ile enflamatuvar hücre infiltratı arasında bir korelasyon bulundu.

Çalışmamızda alveoler kemik yıkımının yüksek olduğu LK, L-80 ve S-20 gruplarında osteoklast sayısı, enflamatuvar hücre infiltratı oranı ve fibrozis alanları yüksek bulunurken osteoblastik aktivite düşük bulundu. Alveoler kemik yıkımını miktarının düşük bulunduğu S-80 ve S-150 gruplarında osteoblastik aktivite yüksek bulunurken, fibrozis alanları, enflamatuvar hücre infiltratı oranı ve osteoklast sayıları düşük olarak tespit edildi.

Hümkik asitlerin başlıca terapötik özellikleri anti-bakteriyel, antitoksik, anti ülserojenik, antiartritik, antialerjik, immünomodülatör ve anti-enflamatuvar olarak sayılabilir [37, 187, 224].

Van Rensburg ve ark. [196] ratlar üzerine yaptıkları bir çalışmada, potasyum humatın anti-enflamatuvar özelliğini tespit etmişler ve çalışmanın sonucunda linyitten elde edilen hümkik asit solüsyonunun (61 mg/kg) ratların kulaklarında oluşturulan ödemi baskılamada anti-enflamatuvar etki gösterdiği bilinen prednizolon (steroid grubu) kadar etkili olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda da benzer olarak 80 mg/kg hümkik asit solüsyonunun sistemik olarak verilmesi dişeti enflamasyonunun bir göstergesi olan IL-1 β düzeyini anlamlı oranda azalttığı bulundu.

Yapılan bir çalışmada, potasyum humatın lenfosit proliferasyonu, sitokin üretimi ve kompleman aktivasyonu üzerindeki etkisi araştırılmış. İn vitro çalışmanın sonucunda, potasyum humatın 40 μ g/ml dozunda mononükleer lökositlerin stimüle ettiği TNF- α , IL 1 β , IL-6 ve IL-10 salınımını önemli oranda inhibe ettiği bulunmuştur [199]. Ayrıca, potasyum humat 10 μ g/ml ve daha yüksek dozlarda (10-60 μ g/ml) hem alternatif hem de klasik kompleman yolu inhibe ederek anti-enflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır [199]. Bu çalışmayla paralel olarak çalışmamızda da hümkik asit S-80 grubunda serum ve dişeti homojenati IL-1 β düzeyini önemli oranda azaltırken, farklı olarak IL-10 düzeyini arttırdığı tespit edildi.

Hümik asit anti-enflamatuvar özelliğini farklı mekanizmalarla göstermektedir. Bu mekanizmalardan bir kısmı aşağıdaki çalışmalarda açıklanmıştır.

Joone ve ark. [158] potasyum humatın, nötrofillerin aktive ettiği ve doku hasarına neden olabilecek sitokinlerin üretimiyle ilişkili olan mediatörlerin salınımını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca sonuçlar hümik asidin enflamasyon sürecinde önemli bir rol oynayan myeloperoksidaz salınımını da inhibe ettiğini göstermiştir. Hümik asidin anti enflamatuvar özelliği nötrofil tutunmasının ve degranülasyonunun inhibisyonuna bağlı gerçekleştiği öne sürülmektedir.

Hümik asidin dermal, oral ya da subkutan kullanımı enflamasyon üzerinde inhibitör etkiye neden olduğu ve hümik asidin bu enflamasyonu inhibe edebilme kabiliyeti içerisindeki flavonoid gruplarıyla ilişkili olabileceğine inanılır [38].

Junek ve ark. [35] yaptıkları çalışmada hümik asidin konsantrasyona bağlı olarak çift taraflı etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Düşük hümik asit konsantrasyonları (10-80 µ g/ml) TNF-α salınımını 3 kat arttırırken (pro-enflamatuvar etki), daha yüksek konsantrasyonları (>100 µ g/ml) yaklaşık 10 kat azaltmıştır (anti-enflamatuvar etki). Çalışmanın bu sonucunu hümik asidin anti-enflamatuvar etkisinin lipoksijenaz yolunu inhibe etmesine bağlamışlardır.

Yapılan bir in vitro çalışmada potasyum humatın enflamasyonda anahtar rol oynayan adezyon moleküllerini doğrudan bloke ettiği ve bu nedenle anti-enflamatuvar etki gösterdiği sonucuna varılmıştır [158].

Ratlarda yapılan benzer bir çalışmada Naude ve ark. [34] hem normal hem de immün yetmezliği bulunan gruplarda potasyum humatın enflamatuvar reaksiyonları indometazin kadar inhibe edebildiğini göstermişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada hümik asidin güçlü bir hümoral immün stimülanı olduğu ve immün yanıtın hem miktarını hem de süresini uzattığı bulunmuştur [193]. Bu özellik hümik asidin konak savunma yanıtını arttırarak enfeksiyonla savaşta konağa yardımcı olduğunu göstermektedir.

Hümik asitlerin kemik dokusu üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı sınırlıdır [177, 178]. Yapılan bir deneysel kemik fraktürü çalışmasında fraktür sonrası ilk hafta boyunca hümik asit uygulanmıştır. Bu uygulamayla osteoid formasyonunda ve kemik mineralizasyonunda hızlanma elde edilmiştir. Fakat hümik asit tedavisi ikinci haftaya ertelendiği zaman osteoid formasyonu ve mineralizasyon önemli oranda düşüş tespit edilmiştir [177]. Yine çocuklardaki kemik fraktürleri üzerine yapılan bir diğer çalışmada hümik asidin kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etki sağladığı gösterilmiştir [178]. Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda özellikle S-80 ve S-150 gruplarında alveoler kemik yıkımında azalma, osteoblastik aktivitede artma gözlemlendi. Ayrıca diş köküne komşu alveoler kemik içerisinde yeni kemik yapım alanları görüldü.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları aşağıda gösterildiği şekilde özetlenebilir:

DeneySEL periodontitis modeli başarıyla oluşturulmuştur.

Morfometrik ölçüm sonuçlarına göre Lokal-20 mg/kg, Lokal-150 mg/kg, Sistemik 80 mg/kg ve Sistemik-150 mg/kg hümkik asit uygulaması ratlarda ligatürle oluşturulan periodontal yıkımı azaltmıştır. Özellikle Sistemik-80 mg/kg ve Sistemik-150 mg/kg hümkik asit dozlarının periodontal yıkım üzerine etkileri Kontrol grubu ile benzer bulunmuştur.

ELISA sonuçlarına göre serum ve dişeti homojenatı IL-10 seviyeleri özellikle Sistemik-80 mg/kg hümkik asit uygulaması yapılan grupta yüksek bulunmuştur. ELISA sonuçlarına göre Sistemik-80 mg/kg hümkik asit uygulaması ratlardan elde edilen serum ve dişeti homojenatı IL-1 β seviyelerini azaltmıştır.

Sistemik-80 mg/kg hümkik asit uygulamasının histopatolojik olarak enflamatuvar hücre infiltrat oranını, fibrozis skorunu ve osteoklast sayılarını azaltıp, osteoblastik aktiviteyi arttırdığı gözlenmiştir.

Hayvan çalışma modellerinin limitasyonları göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmanın histopatolojik ve morfometrik sonuçlarına göre sistemik olarak uygulanan 80 mg/kg hümkik asidin ratlarda deneySEL periodontitis modelindeki alveoler kemik kaybını azaltmada ve enflamasyonu baskılamada etkili olduğu öne sürülebilir.

Çalışmamızda hümkik asidin doku yıkımını önlediği gösterilmiş olmasına karşın etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamız Diş Hekimliği'nde yapılan ilk deneySEL çalışma olup, hümkik asidin alveoler kemik kaybı ve dişeti enflamasyonu üzerine etkisinin tam olarak hangi mekanizmalar veya yollar üzerinden gerçekleştiğinin araştırılması için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Novak, MJ (2006). Periodonsiyumu etkileyen hastalık ve durumların sınıflandırılması. İçinde: Carranza'nın Klinik Periodontolojisi. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, Onuncu baskı, 100-109.
2. Greenstein, G. & Caton, J. (1990). Periodontal hastalık aktivitesi: kritik bir değerlendirme, J Periodontol, 61, 543-552.
3. Goodson, JM (1992). Periodontitisin fiziksel ölçümle teşhisi: epizodik hastalık hipotezinden yorumlama, J Periodontol, 63, 373-382.
4. Carranza, FA, Newman, MG (1996) Glickman's Clinical Periodontology, WB Saunders Co, Eight Edition.
5. Lindhe, J. (1998). Klinik Periodontoloji ve İmplant Diş Hekimliği. Üçüncü baskı.
6. Garlet, GP, Cardoso, CR, Campanelli, AP, Ferreira, BR, Avila-Campos, MJ, Cunha, FQ & Silva, JS (2007). Actinobacillus actinomycetemcomitans kaynaklı deneysel periodontitiste p53 tümör nekroz faktörü-alfa reseptörünün ikili rolü: konakçı koruma ve doku yıkımı, Clin Exp Immunol, 147, 128-138.
7. Darveau, RP (2000). Oral doğuştan gelen konakçı savunma yanıtları: mikrobiyal topluluklarla etkileşimler ve hastalığın gelişimindeki rolleri, İçinde: Oral Bakteriyel Ekoloji: Moleküler Temel, Horizon Scientific Press, Wyomondham, BK, 170-202.
8. Cochran, DL (2008). Periodontal hastalıkta iltihaplanma ve kemik kaybı, J Periodontol, 79, 1569-1576.
9. Kjeldsen, M., Holmstrup, P. & Bendtzen, K. (1993). Marjinal periodontitis ve sitokinler: literatürün gözden geçirilmesi, J Periodontol, 64, 1013-1022.
10. Eley, BM & Cox, SW (1998). Periodontal tanıdaki gelişmeler. 5. Potansiyel inflamatuvar ve immün belirteçler, Br Dent J, 184, 220-223.
11. Offenbacher, S. (1996). Periodontal hastalıklar: patogenezi, Ann Periodontol / Am Acad Periodontol, 1, 821-878.
12. Birkedal-Hansen, H. (1993). Doku yıkımında sitokinlerin ve inflamatuvar mediatörlerin rolü, J Periodontal Res, 28, 500-510.
13. Sayfa, RC (1991). Periodontal hastalığın patogenezi inflamatuvar mediatörlerin rolü, J Periodontal Res, 26, 230-242.
14. Assuma, R., Oates, T., Cochran, D., Amar, S. & Graves, DT (1998). IL-1 ve TNF antagonistleri, deneysel periodontitiste inflamatuvar yanıtı ve kemik kaybını inhibe eder, J Immunol, 160, 403-409.
15. Graves, DT, Delima, AJ, Assuma, R., Amar, S., Oates, T. & Cochran, D. (1998). İnterlökin-1 ve tümör nekroz faktörü antagonistleri, deneysel periodontitiste alveoler kemiğe doğru inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ilerlemesini engeller, J Periodontol, 69, 1419-1425.
16. Dewhirst, FE, Stashenko, PP, Mole, JE & Tsurumachi, T. (1985). İnsan osteoklast aktive edici faktörün saflaştırılması ve kısmi sekansı: interlökin 1 beta ile özdeşlik, J Immunol, 135, 2562-2568.
17. Matsuki, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1991). İnsan kronik olarak iltihaplı diş eti dokularında interlökin-1 mRNA ekspresyonu eden makrofajlar, Am J pathol, 138, 1299-1305 .
18. Honig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F. (1989). Periodontitis hastalarından diş eti dokusunda artan interlökin-1 beta (IL-1 beta) konsantrasyonu, J Periodontal Res, 24, 362-367.

19. Fiorentino, DF, Bond, MW & Mosmann, TR (1989). İki tür fare T yardımcı hücresi. IV. Th2 klonları, Th1 klonları tarafından sitokin üretimini engelleyen bir faktör salgılar, *J Exp Med*, 170, 2081-2095.
20. Arai, T., Hiromatsu, K., Kobayashi, N., Takano, M., Ishida, H., Nimura, Y. & Yoshikai, Y. (1995). IL-10, dibütiril siklik adenosin monofosfatın endotoksin kaynaklı enflamatuar karaciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkisine dahil olur, *J Immunol*, 155, 5743-5749.
21. Tumpey, TM, Elnor, VM, Chen, SH, Oakes, JE & Lausch, RN (1994). İnterlökin-10 tedavisi, herpes simpleks virüsü tip 1 tarafından indüklenen stromal keratiti baskılayabilir, *J Immunol*, 153, 2258-2265.
22. Salvi, GE, Lawrence, HP, Offenbacher, S. & Beck, JD (1997). Periodontitis patogenezinde risk faktörlerinin etkisi, *Periodontol 2000*, 14, 173-201.
23. Reddy, MS, Geurs, NC & Gunsolley, JC (2003). Antiproteinaz, antiinflamatuar ve kemik koruyucu ajanlarla periodontal konak modülasyonu. Sistematik bir inceleme, *Ann Periodontol / Am Acad Periodontol*, 8, 12-37.
24. Tonetti, MS & Chapple, IL (2011). Yeni periodontal tedavilerin geliştirilmesine yönelik biyolojik yaklaşımlar -- Yedinci Avrupa Periodontoloji Çalıştay'ının fikir birliği, *J Clin Periodontol*, 38, 114-118.
25. Reddy, MS, Weatherford, TW, 3rd, Smith, CA, West, BD, Jeffcoat, MK & Jacks, TM (1995). Av köpeklerinde doğal olarak oluşan periodontitisin alendronat tedavisi, *J Periodontol*, 66, 211-217.
26. Reddy, MS, Palcanis, KG, Barnett, ML, Haigh, S., Charles, CH & Jeffcoat, M. (1993). Hızla ilerleyen periodontitisin tedavisinde meclofenamat sodyumun (Meclomen) etkinliği, *J Clin Periodontol*, 20, 635-640.
27. Golub, LM, Evans, RT, McNamara, TF, Lee, HM & Ramamurthy, NS (1994). Antimikrobiyal olmayan bir tetrasiklin, sıçanlarda *Porphyromonas gingivalis*'in neden olduğu periodontitiste diş eti matrisi metalloproteinazlarını ve kemik kaybını inhibe eder, *Ann NY Acad Sci*, 732, 96-111.
28. Menezes, AM, Rocha, FA, Chaves, HV, Carvalho, CB, Ribeiro, RA & Brito, GA (2005). Sıçanlarda deneysel periodontitiste alveoler kemik rezorpsiyonu üzerine sodyum alendronatin etkisi, *J Periodontol*, 76, 1901-1909.
29. Reynolds, JJ ve Meikle, MC (1997). Periodontitiste bağ dokusu matris yıkımının mekanizmaları, *Periodontol 2000*, 14, 144-157.
30. Golub, LM, Lee, HM, Lehrer, G., Nemiroff, A., McNamara, TF, Kaplan, R. & Ramamurthy, NS (1983). Minosiklin, diyabet sırasında diş eti kollajenolitik aktivitesini azaltır. Ön gözlemler ve önerilen yeni bir etki mekanizması, *J Periodontal Res*, 18, 516-526.
31. Brunsvold, MA, Chaves, ES, Kornman, KS, Aufdemorte, TB & Wood, R. (1992). Bisfosfonatın maymunlarda deneysel periodontitis üzerindeki etkileri, *J periodontol*, 63, 825-830.
32. Williams, RC, Jeffcoat, MK, Howell, TH, Rolla, A., Stubbs, D., Teoh, KW, Reddy, MS & Goldhaber, P. (1989). Steroid olmayan anti-enflamatuar ilaç flurbiprofen, *J Periodontol*, 60, 485-490 ile insan alveoler kemik kaybının ilerlemesinin değiştirilmesi.
33. Schewe, C., Klocking, R., Helbig, B. & Schewe, T. (1991). Polifenollerin antiviral polimerik oksidasyon ürünlerinin lipoksijenaz önleyici etkisi, *Biomed Biochim Açta*, 50, 299-305.

34. Naude, PJ, Cromarty, AD ve van Rensburg, CE (2010). Potasyum humat, sıçanlarda İrlanda yosunu kaynaklı pençe ödemi ve bir aşıya karşı konakçı reaksiyonunu inhibe eder, *Inflammopharmacology*, 18, 33-39.
35. Junek, R., Morrow, R., Schoenherr, JI, Schubert, R., Kallmeyer, R., Phull, S. & Klocking, R. (2009). Hümik asitlerin, farklılaşmış U937 hücrelerinden LPS kaynaklı TNF-alfa salınımı üzerindeki çift modlu etkisi, *Phytomed: Int J Phytother Phytopharmacol*, 16, 470-476.
36. Klocking, R., Helbig, B. (2005). Humik Maddenin tıbbi yönleri ve uygulamaları, *Tıbbi ve Farmasötik Uygulamalar için Biyopolimerler*, Wiley-VCH Weinheim, 3-16.
37. Schepetkin I, KA, Kwon BS. (2002). Humus maddesinden tıbbi ilaçlar: mummyaya odaklan, *Drug Dv Res*, 57, 140-159.
38. İslam KMS, SA a. JJ (2005). Hayvan Tarımında Humik Asit Maddeleri, *Pak J Nutr*, 4, 126-134.
39. Senesi, N., et al. (1991). Floresans spektroskopisi ile hümik maddelerin karakterizasyonu, farklılaşması ve sınıflandırılması, *Soil Sci*, 152, 259-271.
40. Davies, G. (1996). Humik asitlerin özellikleri ve fonksiyonları, *Toplantı raporu. Çekirdek*.
41. Orlov, DS (1997). Biyosferdeki hümik maddeler, *Soros Obraz Zh*, 2, 56-63.
42. Tonetti, MS & Claffey, N. (2005). Periodontitisin ilerlemesindeki ilerlemeler ve risk faktörü araştırmalarında kullanılmak üzere bir periodontitis vakası ve hastalık ilerlemesi tanımlarının önerilmesi. 5. Avrupa Periodontoloji Çalıştayının C Grubu konsensüs raporu, *J Clin Periodontol*, 32, 210-213.
43. Graves, D. (2008). Periodontal doku yıkımını destekleyen sitokinler, *J Periodontol*, 79, 1585-1591.
44. Liu, YC, Lerner, UH & Teng, YT (2010). Periodontal enfeksiyona karşı sitokin tepkileri: koruyucu ve yıkıcı roller, *Periodontol 2000*, 52, 163-206.
45. Mariotti, A. (1999). Diş plağı kaynaklı dişeti hastalıkları, *Ann Periodontol / Am Acad Periodontol*, 4, 7-19.
46. Flemmig, TF (1999). Periodontitis, *Ann Periodontol / Am Acad Periodontol*, 4, 32- 38.
47. Kamer, AR, Craig, RG, Dasanayake, AP, Brys, M., Glodzik-Sobanska, L. & de Leon, MJ (2008). Enflamasyon ve Alzheimer hastalığı: periodontal hastalıkların olası rolü, *Alzheimer ve bunama: J Alzheimer Assoc*, 4, 242-250.
48. Sayfa, RC (1998). Periodontal hastalıkların patobiyolojisi sistemik hastalıkları etkileyebilir: bir paradigmanın tersine çevrilmesi, *Ann Periodontol / Am Acad Periodontol*, 3, 108-120.
49. Aas, JA, Paster, BJ, Stokes, LN, Olsen, I. & Dewhirst, FE (2005). Ağız boşluğunun normal bakteri florasının tanımlanması, *J Clin Microbiol*, 43, 5721-5732.
50. Cullinan, MP, Ford, PJ & Seymour, GJ (2009). Periodontal hastalık ve sistemik sağlık: mevcut durum, *Aust Dent J*, 54, S62-S69.
51. Baker, PJ (2000). Periodontal hastalık sırasında kemik kaybında immün yanıtların rolü, *Mikroplar Enfekte / Institut Pasteur*. 2, 1181-1192. 52. ter Steeg, PF, Van der Hoeven, JS, de Jong, MH, van Munster, PJ & Jansen, M. (1987). Bacteroides türlerinin, Peptostreptokokların ve Fusobakterilerin birikmesine yol açan insan serumunda subgingival mikrofloranın zenginleştirilmesi, *Antonie van Leeuwenhoek*, 53, 261-272.
53. Marsh, PD, McDermid, AS, McKee, AS & Baskerville, A. (1994). Büyüme hızı ve heminin *Porphyromonas gingivalis*'in virülansı ve proteolitik aktivitesi üzerindeki etkisi W50, *Microbiology*, 140, 861-865.

54. Davey, ME & O'Toole G, A. (2000). Mikrobiyal biyofilmler: ekolojiden moleküler genetiğe, *Microbiol Mol Biol Rev*: MMBR, 64, 847-867.
55. Liu, YQ, Liu, Y. & Tay, JH (2004). Hücre dışı polimerik maddelerin biyogranüllerin oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkileri, *App Microbiol Biotechnol*, 65, 143-148.
56. Marsh, PD, Martin, MV (2009). Diş plağı. In *Oral microbiology*. Churchill Livingstone Elsevier, Beşinci baskı, 74-102.
57. Gül, NN (1992). Klinik Laboratuvar İmmünolojisi El Kitabı, Amerikan Mikrobiyoloji Derneği. Washington, Dördüncü Baskı.
58. Socransky, SS & Haffajee, AD (1994). Bakteri etiolojisinin kanıtı: tarihsel bir bakış açısı, *Periodontol* 2000, 5, 7-25.
59. Socransky, SS, Bellek, AD, Cugini, MA, Smith, C&Kent, RL, Jr. (1998). Subgingival plakta mikrobiyal kompleksler, *J Clin Periodontol*, 25, 134-144.
60. Socransky, SS & Haffajee, AD (2005). Periodontal mikrobiyal ekoloji, *Periodontol* 2000, 38, 135-187.
61. Kinane, DF (2001). Periodontal hastalığın nedeni ve patogenezi, *Periodontol* 2000, 25, 8-20.
62. Roitt I, BJ, Erkek D. (1996). *Immunology*. Mosby, Barselona, İspanya, Dördüncü Basım.
63. Dennison, DK & Van Dyke, TE (1997). Akut inflamatuvar yanıt ve fagositik hücrelerin periodontal sağlık ve hastalığıdaki rolü, *Periodontol* 2000, 14, 54-78.
64. Ryder, MI (2010). Agresif ve kronik periodontitiste nötrofil fonksiyonlarının karşılaştırılması, *Periodontol* 2000, 53, 124-137.
65. Genco, RJ (1992). Periodontal hastalıklarda konak yanıtları: güncel kavramlar, *J Periodontol*, 63, 338-355.
66. Darveau, RP, Tanner, A. & Page, RC (1997). Periodontitiste mikrobiyal mücadele, *Periodontol* 2000, 14, 12-32.
67. Schwartz, J., Stinson, FL & Parker, RB (1972). Tritiye bakteriyel endotoksinin bozulmamış dişeti oluşu epitelinden geçişi, *J Periodontol*, 43, 270-276.
68. Caffesse, RG & Nasjleti, CE (1976). Bozulmamış sulküler epitelden enzimatik penetrasyon, *J Periodontol*, 47, 391-397.
69. Christner, P. (1980). İnsan periodontal bağındaki kollajenaz, *J Periodontol*, 51, 455-461.
70. Kunimatsu, K., Yamamoto, K., Ichimaru, E., Kato, Y. & Kato, I. (1990). Kronik yetişkin periodontitis hastalarından ve deneysel diş eti iltihabı hastalarından alınan dişeti oluşu sıvısında katepsin B, H ve L aktiviteleri, *J Periodontal Res*, 25, 69-73.
71. Cox, SW & Eley, BM (1989). 7-amino-4-trifluorometil kumarinin peptidil türevleri ile diş eti iltihabı ve periodontitis hastalarının oluk sıvısında katepsin B- ve L-, elastaz-, triptaz-, tripsin- ve dipeptidil peptidaz IV benzeri aktivitelerin saptanması, *J Periodontal Res*, 24, 353-361.
72. Ishikawa, I. & Cimasoni, G. (1970). İnsan diş eti sıvısındaki alkalın fosfataz ve bunun periodontitis ile ilişkisi, *Arch Oral Biol*, 15, 1401-1404.
73. Lamster, IB, Mandella, RD & Gordon, JM (1985). Filtre kağıdı şeritleri ile toplanan dişeti oluşu sıvısındaki laktat dehidrojenaz aktivitesi: iltihaplı olmayan ve hafif iltihaplı dişeti olan deneklerde analiz, *J Clin Periodontol*, 12, 153-161.
74. Oshrain, RL, Lamster, IB, Hartley, LJ & Gordon, JM (1984). İnsan dişeti oluşu sıvısında arilsülfataz aktivitesi, *Arch Oral Biol*, 29, 399-402.

75. Masada, MP, Persson, R., Kenney, JS, Lee, SW, Page, RC & Allison, AC (1990). Dişeti oluşu sırasında interlökin-1 alfa ve -1 beta ölçümü: periodontal hastalığın patogenezi için çıkarımlar, *J Periodontal Res*, 25, 156-163.
76. Schwartz, Z., Goultschin, J., Dean, DD & Boyan, BD (1997). Periodontitiste alveoler kemik yıkımının mekanizmaları, *Periodontol* 2000, 14, 158-172.
77. Madden, TE & Caton, JG (1994). Periodontal hastalık için hayvan modelleri, *Meth Enzymol*, 235, 106-119.
78. Griffiths, GS, Wilton, JM, Curtis, MA, Maiden, MF, Gillett, IR, Wilson, D. T., Sterne, JA & Johnson, NW (1988). Periodontal hastalıklar açısından yüksek riskli grup ve bireylerin tespiti. Periodonsiyumun klinik değerlendirmesi, *J Clin Periodontol*, 15,403-410.
79. Weinberg, MA & Bral, M. (1999). Periodontolojide laboratuvar hayvan modelleri, *J Clin Periodontol*, 26, 335-340.
80. Struillou, X., Boutigny, H., Soueidan, A. & Layrolle, P. (2010). Periodontolojide deneysel hayvan modelleri: bir inceleme, *Open Dent J*, 4, 37-47.
81. Yamasaki, A., Nikai, H., Niitani, K. & Ijuhin, N. (1979). Germfree sıçan diş etinin birleşme epitelinin ince yapısı, *J Periodontol*, 50, 641-648.
82. Peruzzo, DC, Benatti, BB, Antunes, IB, Andersen, ML, Sallum, EA, Casati, MZ, Nociti, FH & Nogueira-Filho, GR (2008). Kronik stres periodontal hastalığı modüle edebilir: farelerde yapılan bir çalışma, *J Periodontol*, 79, 697-704.
83. Klausen, B. (1991). Sıçanlarda deneysel periodontal hastalığın mikrobiyolojik ve immünolojik yönleri: bir gözden geçirme makalesi, *J Periodontol*, 62, 59-73.
84. Sayfa R, SH (1982). İnsanda ve diğer hayvanlarda periodontitis. karşılaştırmalı inceleme., Basel: Karger.
85. Navia, JM (1977). Diş araştırmalarında hayvan modelleri., Alabama Üniversitesi Yayınları, Birmingham, AL.
86. Listgarten, MA (1975). Sıçan ve insan diş etindeki epitelyal ilişkilerin benzerliği, *J Periodontol*, 46, 677-680.
87. Hardt, AB (1988). Sıçan molar kayması sırasında alveol kemiği üzerindeki bisfosfonat etkileri, *J Dent Res*, 67, 1430-1433.
88. Romanowski, AW, Squier, CA & Lesch, CA (1988). Kemirgen birleşim epitelinin ekzojen proteine geçirgenliği, *J Periodontal Res*, 23, 81-86.
89. Ijuhin, N. (1988). Sıçan periodontal dokusunda deneysel olarak indüklenen patolojik değişikliklerin ışık ve elektron mikroskopik çalışmaları, *Adv Dent Res*, 2, 209-214.
90. Lekic, P., Klausen, B., Friis-Hasche, E., Beloica, D., Knezevic, M. & Hougen, HP. (1989). Sıçanlarda diş eti iltihabının gelişimi üzerinde yaş ve aşılanmanın etkisi, *Açta Odonto Scan*, 47, 233-238.
91. Klausen, B., Hougen, HP, Hjort Eriksen, W. & Fiehn, NE (1986). *Streptococcus mutans* ile monoenfekte atimik (çıplak) sıçanlarda periodontal kemik kaybının uyarılması, *J Periodontal Res*, 21, 5-12.
92. Garant, PR (1976). *Actinomyces naeslundii* ile monoenfekte sıçanlarda osteoklastik alveoler kemik rezorpsiyonunun ışık ve elektron mikroskopik gözlemleri, *J Periodontol*, 47,717-723.
93. Irving, JT, Socransky, SS & Heeley, JD (1974). Gnotobiyotik sıçanlarda ve geleneksel hamsterlerde deneysel periodontal hastalıkta histolojik değişiklikler, *J Periodontal Res*, 9, 73-80.

94. Heijl, L., Wennstrom, J., Lindhe, J. & Socransky, SS (1980). Gnotobiyotik sıçanlarda periodontal hastalık, *J Periodontal Res*, 15, 405-419.
95. Garrison, SW & Nichols, FC (1989). Monositlerde LPS ile ortaya çıkan salgı tepkileri: yetişkin periodontitisli hastalarda PGE2'nin değiştirilmiş salınımı, ancak IL-1 beta değil, *J Periodontal Res*, 24, 88-95.
96. Bidwell, J., Keen, L., Gallagher, G., Kimberly, R., Huizinga, T., McDermott, MF, Oksenberg, J., McNicholl, J., Pociot, F., Hardt, C. & D'Alfonso, S. (1999). İnsan hastalığında sitokin gen polimorfizmi: çevrimiçi veritabanları, *Gene Immun*, 1, 3-19.
97. Dinarello, CA (2000). Proinflamatuvar sitokinler, *Chest*, 118, 503-508.
98. Dinarello, CA (2009). İnterlökin 1 ailesinin immünolojik ve inflamatuvar fonksiyonları, *Ann Rev Immunol*, 27, 519-550.
99. Taylor, JJ (2010). *Porphyromonas gingivalis*'e karşı bağışıklık tepkilerinin sitokin regülasyonu, *Periodontol 2000*, 54, 160-194.
100. Balkwill, FR & Burke, F. (1989). Sitokin ağı, *Immunol Today*, 10, 299-304.
101. Gaffen, SL & Hajishengallis, G. (2008). Bloкта yeni bir enflamatuvar sitokin: Th17 hücreleri ve IL-17 bağlamında periodontal hastalığı ve Th1/Th2 paradigmasını yeniden düşünmek, *J Dent Res*, 87, 817-828.
102. Dinarello, CA (1996). Hastalıkta interlökin-1 için biyolojik temel, *Blood*, 87,2095-2147.
103. Yavuzylmaz, E., Yamalık, N., Bulut, S., Özen, S., Ersoy, F. & Saatçi, U. (1995). Hızla ilerleyen periodontitisli hastalarda dişeti oluğu sıvısı interlökin-1 beta ve tümör nekroz faktörü-alfa seviyeleri, *Aust Dent J*, 40, 46-49.
104. Meikle, MC, Heath, JK & Reynolds, JJ (1986). Doku rezorpsiyonunda hücre etkileşimlerini anlamadaki gelişmeler. Periodontal hastalıkların patogeneziyle ilgililik ve yeni bir hipotez, *J Oral Pathol*, 15, 239-250.
105. Matsuki, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1992). İn situ hibridizasyon ve immünohistokimya kombinasyonu ile insan iltihaplı diş etinde enflamatuvar sitokin haberci RNA (mRNA) eksprese eden hücrelerin saptanması, *Immunology*, 76, 42-47.
106. Tatakis, DN (1993). Interleukin-1 ve kemik metabolizması: bir inceleme, *J Periodontol*, 64, 416-431.
107. Tokoro, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1996). Baskın inflamatuvar sitokin transkripti olarak IL-1 beta mRNA: insan diş etine inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile korelasyon, *J Oral Pathol Med: International Association of Oral Pathologists ve Am Acad Oral Pathol*'ün resmi yayını, 25, 225-231.
108. Stashenko, P, Dewhirst, FE, Peros, WJ, Kent, RL & Ago, JM (1987). Kemik rezorpsiyonunda interlökin 1, tümör nekroz faktörü ve lenfotoksin arasındaki sinerjistik etkileşimler, *J Immunol*, 138, 1464-1468.
109. Dinarello, CA (1991). İnterleukin-1 ve interlökin-1 antagonizmi, *Blood*, 77, 1627- 1652.
110. Horowitz, MC (1993). Kemikte sitokinler ve östrojen: anti-osteoporotik etkiler, *Science*, 260, 626-627.
111. Barksby, HE, Nile, CJ, Jaedicke, KM, Taylor, JJ & Preshaw, PM (2009). *Porphyromonas gingivalis* ve *Escherichia coli* lipopolisakarit'e yanıt olarak monositlerde immün düzenleyici genlerin farklı ekspresyonu, *Clin Exp Immunol*, 156, 479-487.

112. Ben-Sasson, SZ, Hu-Li, J., Quiel, J., Cauchetaux, S., Ratner, M., Shapira, I., Dinarello, CA & Paul, WE (2009). IL-1, antijen güdümlü genişlemelerini ve farklılaşmalarını geliştirmek için doğrudan CD4 T hücreleri üzerinde etki eder, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 7119-7124.
113. Matsuki, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1993). İnsan iltihaplı diş etinde interlökin-1 (IL-1) mRNA eksprese eden makrofajların lokalizasyonu ve diş eti oluşu sırasında IL-1 aktivitesi, *J Periodontal Res*, 28, 35-42.
114. Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, MS, Prostack, L., Haffajee, AD & Socransky, SS (1991). Aktif periodontal hastalık bölgelerinden alınan dokudaki interlökin 1 beta seviyeleri, *J Clin Periodontol*, 18, 548-554.
115. Heasman, PA, Collins, JG & Offenbacher, S. (1993). İnsanlarda deneysel diş eti iltihabında interlökin-1 beta, lökotrien B4, prostaglandin E2, tromboksan B2 ve tümör nekroz faktörü alfanın kreviküler sıvı seviyelerindeki değişiklikler, *J Periodontal Res*, 28, 241-247.
116. Lee, HJ, Kang, IK, Chung, CP & Choi, SM (1995). Dirençli periodontitiste subgingival mikroflora ve gingival oluk sıvısı sitokinleri, *J Clin Periodontol*, 22, 885-890.
117. M. Koide, S. Suda, S. Saitoh, Y. Ofuji, T. Suzuki, H. Yoshie, M. Takai, Y. Ono, Y. Taniguchi & K. Hara (1995). IL-1 beta'nın in vivo tatbikatı, sıçanlarda ipek bağıyla indüklenen alveolar kemik rezorpsiyonunu hızlandırır, *J Oral Pathol Med: Uluslararası Oral Patologlar Birliği'nin resmi yayını ve Am Acad Oral Pathol*, 24, 420-434.
118. Mizel, SB (1982). Interleukin 1 ve T hücresi aktivasyonu, *Immunol Rev*, 63, 51-72.
119. Chiplunkar, S., Langhorne, J. & Kaufmann, SH (1986). Murin rekombinant interlökin 1, *J Immunol*, 137, 3748-3752 ile B hücresi büyümesinin ve farklılaşmasının uyarılması.
120. Gowen, M. & Mundy, GR (1986). Rekombinant interlökin 1, interlökin 2 ve interferon-gamanın in vitro kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkileri, *J Immunol*, 136, 2478-2482.
121. Sauder, DN, Mounessa, NL, Katz, SI, Dinarello, CA & Gallin, JI (1984). Kemotaktik sitokinler: nötrofil kemotaksisinde lökositik pirojen ve epidermal hücre timosit aktive edici faktörün rolü, *J Immunol*, 132, 828-832.
122. Westmacott, D., Wadsworth, J. & Bloxham, DP (1987). Rekombinant insan interlökin-1'in kemotaktik aktivitesi, *Ajanlar ve eylemler*, 21, 323-324.
123. Reinhardt, RA, Masada, MP, Kaldahl, WB, DuBois, LM, Kornman, KS, Choi, JI, Kalkwarf, KL & Allison, AC (1993). Dirençli periodontitiste dişeti sıvısı IL-1 ve IL-6 seviyeleri, *J Clin Periodontol*, 20, 225-231.
124. Weiss, JM, Sundar, SK, Becker, KJ & Cierpial, MA (1989). Hücresel bağışıklık tepkileri üzerinde davranışsal ve sinirsel etkiler: stresin ve interlökin-1'in etkileri, *J Clin Psychiatr*, 50, 43-53; tartışma 54-55.
125. Moore, KW, O'Garra, A., de Waal Malefyt, R., Vieira, P. & Mosmann, TR (1993). Interleukin-10, *Ann Rev Immunol*, 11, 165-190.
126. Commins, S., Steinke, JW & Borish, L. (2008). Genişletilmiş IL-10 süper ailesi: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28 ve IL-29, *J Allergy Clin Immunol*, 121, 1108-1111 .
127. Couper, KN, Blount, DG & Riley, EM (2008). IL-10: enfeksiyona bağışıklığın ana düzenleyicisi, *J Immunol*, 180, 5771-5777.
128. de Waal Malefyt, R., Yssel, H., Roncarolo, MG, Spits, H. & de Vries, JE (1992). Interleukin-10, *Curr Opin Immunol*, 4, 314-320.

129. Sasaki, H., Okamatsu, Y., Kawai, T., Kent, R., Taubman, M. & Stashenko, P. (2004). İnterlökin-10 nakavt fare, Porphyromonas gingivalis'in neden olduğu alveoler kemik kaybına karşı oldukça hassastır, *J Periodontal Res*, 39, 432-441.
130. Bozkurt, FY, Yetkin Ay, Z., Berker, E., Tepe, E. & Akkuş, S. (2006). Periodontitis ve romatoid artritli hastalarda dişeti oluğu sıvısındaki anti inflamatuvar sitokinler: bir ön rapor, *Cytokine*, 35, 180-185.
131. Honda, T., Domon, H., Okui, T., Kajita, K., Amanuma, R. & Yamazaki, K. (2006). Stabil gingivitis ve progresif periodontitis lezyonlarında inflamatuvar yanıtın dengesi, *Clin Exp Immunol*, 144, 35-40.
132. Seymour, GJ & Gemmell, E. (2001). Periodontal hastalıkta sitokinler: buradan nereden?, *Açta Odonto Scan*, 59, 167-173.
133. Cassatella, MA, Meda, L., Bonora, S., Ceska, M. & Constantin, G. (1993). Interleukin 10 (IL-10), insan polimorfonükleer lökositlerinden proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını inhibe eder. Lipopolisakarit tarafından tetiklenen IL-8 üretimine aracılık etmede tümör nekroz faktörü ve IL-1 beta'nın otokrin rolüne ilişkin kanıt, *J Exp Med*, 178, 2207-2211.
134. Cassatella, MA, Meda, L., Gasperini, S., Calzetti, F. & Bonora, S. (1994). Interleukin 10 (IL-10), mRNA degradasyonunu geciktirerek, lipopolisakarit ile uyarılan insan polimorfonükleer lökositlerinden IL-1 reseptörü antagonisti üretimini yükseltir, *J Exp Med*, 179, 1695-1699.
135. Lacraz, S., Nicod, LP, Chicheportiche, R., Welgus, HG & Dayer, JM (1995). IL-10, metaloproteinazı inhibe eder ve insan mononükleer fagositlerinde TIMP-1 üretimini uyarır, *J Clin Invest*, 96, 2304-2310.
136. Graves, DT & Cochran, D. (2003). İnterlökin-1 ve tümör nekroz faktörünün periodontal doku yıkımına katkısı, *J Periodontol*, 74, 391-401.
137. Katagiri, T. & Takahashi, N. (2002). Osteoblast ve osteoklast farklılaşmasının düzenleyici mekanizmaları, *Oral Dis*, 8, 147-159.
138. Taubman, MA & Kawai, T. (2001). T-lenfositlerin periodontal hastalıkta ve kemik rezorpsiyonunun doğrudan ve dolaylı indüksiyonunda yer alması, *Crit Rev Oral Biol Med: American Association of Oral Biologists'in resmi yayını*, 12, 125-135.
139. Gemmell, E. & Seymour, GJ (2004). Periodontal hastalıkta Th1/Th2 sitokin profillerinin immün düzenleyici kontrolü, *Periodontol 2000*, 35, 21-41.
140. Birkedal-Hansen, H. (1993). İnsan periodontal hastalıklarında matriks metaloproteinazların rolü, *J Periodontol*, 64, 474-484.
141. Lappin, DF, MacLeod, CP, Kerr, A., Mitchell, T. & Kinane, DF (2001). Periodontitis granülasyon dokusunda anti inflamatuvar sitokin IL-10 ve T hücresi sitokin profili, *ClinExp Immunol*, 123, 294-300.
142. Tokoro, Y., Matsuki, Y., Yamamoto, T., Suzuki, T. & Hara, K. (1997). İltihaplı diş eti dokusunda immüno-yetkin sızıntılarda lokal Th2 tipi sitokin mRNA ekspresyonunun periodontal hastalıklarla ilgisi, *Clin Exp Immunol*, 107, 166-174.
143. Garlet, GP, Cardoso, CR, Silva, TA, Ferreira, BR, Avila-Campos, MJ, Cunha, FQ & Silva, JS (2006). Sitokin paterni, Actinobacillus actinomycetemcomitans'in MMP'ler, RANKL ve fizyolojik inhibitörleri *Oral Microbiol Immunol*, 21, 12-20'nin modülasyonu yoluyla indüklediği deneysel periodontal hastalığın ilerlemesini belirler .

144. Passoja, A., Puijola, I., Knuuttila, M., Niemela, O., Karttunen, R., Raunio, T. & Tervonen, T. (2010). Kronik periodontitiste serum interlökin-10 ve tümör nekroz faktörü-alfa seviyeleri, *J Clin Periodontol*, 37, 881-887.
145. Kornman, KS (1999). Periodontal hastalığın tedavisinde terapötik bir strateji olarak konak modülasyonu, *Clin Infect Dis: Infectious Diseases Society of America'nın resmi yayını*, 28, 520-526.
146. Preshaw, PM (2008). Periodontolojide konak yanıtı modülasyonu, *Periodontol 2000*, 48, 92-110.
147. Ingman, T., Sorsa, T., Suomalainen, K., Halinen, S., Lindy, O., Lauhio, A., Saari, H., Konttinen, YT & Golub, LM (1993). Farklı periodontal hastalıklarda dişeti oluşu sırasında tetrasiklin inhibisyonu ve hücrel kollajenaz kaynağı. Bir gözden geçirme makalesi, *J Periodontol*, 64, 82-88.
148. Vernillo, AT, Ramamurthy, NS, Golub, LM & Rifkin, BR (1994). Periodontal hastalığın tedavisi için tetrasiklinin antimikrobiyal olmayan özellikleri, *Curr Opin Periodontol*, 111-118.
149. Golub, LM, Sorsa, T., Lee, HM, Ciancio, S., Sorbi, D., Ramamurthy, NS, Gruber, B., Salo, T. & Konttinen, YT (1995). Doksisisiklin, insan yetişkin periodontitis diş etinde nötrofil (PMN) tipi matris metalloproteinazları inhibe eder, *J Clin Periodontol*, 22, 100-109.
150. Sato, M., Grasser, W., Endo, N., Akins, R., Simmons, H., Thompson, DD, Golub, E. & Rodan, GA (1991). Bisfosfonat eylemi. Sıçan kemiğinde alendronat lokalizasyonu ve osteoklast ince yapısı üzerindeki etkileri, *J Clin Invest*, 88, 2095-2105.
151. Van Dyke, TE & Serhan, CN (2003). Enflamasyonun çözülmesi: periodontal hastalıkların patogenezi için yeni bir paradigma, *J Dent Res*, 82, 82-90.
152. Howell, TH & Williams, RC (1993). Periodontal hastalık ilerlemesinin inhibitörleri olarak nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, *Crit Rev Oral Biol Med: American Association of Oral Biologists'in resmi yayını*, 4, 177-196.
153. Dizman, M., Tutar, A., Karaman, M.R., Turan, M., Horuz, A.(2012). Hümik maddelerin ilaç olarak kullanımı ve insan sağlığına etkileri, *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi*, 1, 25-33.
154. Kuhnert, M., Fuchs, V. & Golbs, S. (1982). [Hümik asidin kimyasal karakterizasyonu ve farmakolojik ve toksikolojik özellikleri], *Arch Exp Veterinarmed*, 36, 169-177.
155. Visser, SA (1986). Hümik maddelerin bitki büyümesine etkileri., Reda, Roma.
156. Vaughan, D., Malcolm, RE, Ord, BG (1985). Hümik maddelerin bitkilerdeki biyokimyasal süreçler üzerindeki etkisi., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Hollanda.
157. Vengerovskii, AI, Golovina, EL, Burkova, VN & Saratikov, AS (2001). [Enterik sorbentler, deneysel toksik hepatitte eplir'in hepatoprotektif etkisini güçlendirir], *Eksp Klin Farmakol*, 64, 46-48.
158. Joone, GK & van Rensburg, CE (2004). Potasyum humatın anti inflamatuvar özelliklerinin in vitro araştırılması, *Inflammation*, 28, 169-174.
159. antiflojistik ve analjezik etkili, *Medizinische Monatsschrift*, 28, 548-550.
160. Bellometti, S., Giannini, S., Sartori, L. & Crepaldi, G. (1997). Çamur banyosu tedavisi gören osteoartroz hastalarında sitokin seviyeleri, *Int J Clin Pharmacol Res*, 17, 149-153.

161. Iubitskaia, NS & Ivanov, EM (1999). [Osteartroz hastalarının tedavisinde sodyum humat], Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult, 22-24.
162. Burdon, J. (2001). Hümik maddelerin yapılarına ilişkin geleneksel kavramlar gerçekçi midir?, Soil Sci, 166, 752-769.
163. Davies, G., Ghabbour, EA, Steelink, C. (2001). Hümik asitler: Muhteşem toprak kimyası ürünleri., J Chem Educ, 78, 1609-1614.
164. Kurkova, M., Klika, Z., Klikova, C. & Havel, J. (2004). Oksitlenmiş kömürlerden hümik asitler I. Element bileşimi, titrasyon eğrileri, HA numunelerindeki ağır metaller, HA'ların nükleer manyetik rezonans spektrumları ve kızılötesi spektroskopi, Chemosphere , 54, 1237-1245.
165. Brzozowski, T., Dembinski, A. & Konturek, S. (1994). Tolpa Peat Preparatının gastroproteksiyon ve gastrik ve duodenal ülserler üzerindeki etkisi, Açta Pol Pharma, 51, 103-107.
166. Yamada, E., Ozaki, T., Kimura M. (1998). Çevresel sularda trihalometan öncülleri olarak hümik maddelerin belirlenmesi ve davranışları., Anal Sci, 14, 327-332.
167. Ansorg, R. & Rochus, W. (1978). [Doğal ve sentetik hümik asitlerin antimikrobiyal etkisi üzerine çalışmalar (yazarın çevirisi)], ArzneimForsch, 28, 2195-2198.
168. Skliar, TV, Krysenko, AV, Gavriiliuk, VG & Vinnikov, AI (1998). Neisseria gonorrhoeae ve Staphylococcus aureus kültürlerinin farklı kompozisyonlardaki besi ortamlarındaki gelişimsel özelliklerinin karşılaştırılması], Mikrobiol Z, 60, 25-30.
169. Klocking, R. & Sprossig, M. (1972). Hümik asitlerin antiviral özellikleri, Experientia, 28, 607-608.
170. Thiel, KD, Klocking, R, Schweizer, H & Sprossig, M (1977). [Amonyum humatın herpes simpleks virüsü tip 1 ve tip 2'ye karşı antiviral etkinliğinin in vitro çalışmaları (yazarın çevirisi)] .
171. Thiel, KD, Helbig, B, Klocking, R, Wutzler, P, Sprossig, M & Schweizer, H. (1981). [Amonyum humatın ve enzimatik olarak oksitlenmiş klorojenik ve kafeik asitlerin tip 1 ve tip 2 insan herpes virüsüne karşı in vitro aktivitelerinin karşılaştırılması (yazarın çevirisi)], Die Pharmazie, 36, 50-53.
172. Schiller, F., Klocking, R., Wutzler, P. & Farber, I. (1979). [Herpesvirus hominis (HVH) enfeksiyonlarının lokal tedavisi için amonyum humatın yönlendirilmiş bir klinik denemesinin sonuçları], Dermatol Monatschrift, 165, 505-509.
173. Klocking, R., Helbig, B., Schotz, G., Schacke, M. & Wutzler, P. (2002). p-difenolik başlangıç bileşiklerinden türetilen sentetik hümik asit benzeri polimerlerin anti-HSV-1 aktivitesi, Antivir Chem Chemother, 13, 241-249.
174. Schneider, J., Weis, R., Manner, C., Kary, B., Werner, A., Seubert, BJ & Riede, U. (1996). HIV-1'in hücre kültüründe hidrokinnondan türetilen sentetik hümik asit analogları ile inhibisyonu: inhibisyon mekanizması, Virology, 218, 389-395.
175. van Rensburg, CE, Dekker, J., Weis, R., Smith, TL, Janse van Rensburg, E. & Schneider, J. (2002). Oksihumatın anti-HIV özelliklerinin araştırılması, Chemotherapy, 48, 138-143.
176. Joone, GK, Dekker, J & van Rensburg, CE (2003). Oksihumatın immüno-uyarıcı özelliklerinin araştırılması, Journal für Naturforschung C, J Biosci, 58, 263-267.

177. Tkachenko, SS, Rutsikii, VV & Grachev, IR (1979). [Mumie-asil etkisi altında kemik dokusunun onarıcı rejenerasyonu], *Ortop Travmatol Protez*, 11, 49-52.
178. Kel'ginbaev, NS, Sorokina, VA, Stefanidu, AG & Ismailova, VN (1973). [Uzun tübüler kemik kırıklarının Deneylerde ve klinik koşullarda Mumie Assil preparatları ile tedavisi], *Eksp KhirAnesteziol*, 18, 31-35.
179. Schols, D., Wutzler, P., Klocking, R., Helbig, B. & De Clercq, E. (1991). Fenolik bileşiklerden türetilen polihidroksikarboksilatların insan immün yetmezlik virüsü replikasyonuna karşı seçici inhibitör aktivitesi, *JAcq Imm Def Syn*, 4, 677-685.
180. Neyts, J., Snoeck, R., Schols, D., Balzarini, J., Esko, JD, Van Schepdael, A. & De Clercq, E. (1992). Sülfatlanmış polimerler, insan sitomegalovirüsünün hücre yüzeyi heparan sülfat ile etkileşimini inhibe eder, *Virology*, 189, 48-58.
181. R., K. (1994). Potansiyel terapötikler olarak hümkik maddeler, Elsevier., Amsterdam, Londra, New York, Tokyo.
182. Dürre, K., Schindler, S. (1992). Penetrasyon araçlarının etkisi dikkate alınarak farelerde tekrarlayan kutanöz herpes simpleks virüsü enfeksiyonlarında antiviral maddelerin test edilmesi.
183. Lu, FJ, Tseng, SN, Li, ML & Shih, SR (2002). Protokatekuik asitten türetilen sentetik hümat analoglarının in vitro anti-grip virüsü aktivitesi, *Arch virol*, 147, 273-284.
184. Taugner, B. (1963). Bir sodyum humat salisilik asit banyosu üzerinde hayvan deneyleri, *ArzneimForsch*, 13, 329-333.
185. Klocking R, HR, Mücke D (1968). Humatların anti-enflamatuar etkisi üzerine hayvan deneyleri, *ArzneimForsch*, 18, 941-942.
186. Kreutz B, SW (1992). İmplantе sığır kalsiyum hidroksiapatitin humat ile etkileri., *Arch Orthop Trauma Surg*, 111, 259-264.
187. Goel, RK, Banerjee, RS & Acharya, SB (1990). Shilajit ile antiülserojenik ve antiinflamatuvar çalışmalar, *J Ethnopharmacol*, 29, 95-103.
188. Gau, RJ, Yang, HL, Chow, SN, Suen, JL & Lu, FJ (2000). Hümkik asit, NF-kappaB aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla hücre yüzeyi yapışma proteinlerinin LPS kaynaklı ekspresyonunu bastırır, *Toxicol App Pharmacol*, 166, 59-67.
189. Buczko, W., Malinowska, B., Pietraszek, MH, Pawlak, D. & Chabielska, E. (1993). Tolpa Peat Preparatının sıçanlarda hemostaz üzerindeki etkisi, *Açta Pol Pharma*, 50, 507-511.
190. Lotosh, TD (1991). [Tıpta ve tarımsal üretimde turbadan elde edilen hümkik asit müstahzarlarının kullanımına ilişkin deneysel temeller ve beklentiler], *Nauchnye doklady vysshei shkoly Biologicheskie nauki*, 99-103 .
- [PubMed] 191. Dabovich, LA, L. Hulbert, A. Rudine, S. Kim, F. Ji ve JJ McGlone. Domuz bağışıklığı üzerindeki nutrisötik etkilerin değerlendirilmesi: Promox'un Etkileri. 2003'te Güney Bölümü ASAS , Domuz Endüstrisi Enstitüsü, Hayvan ve Gıda Bilimi Bölümü, Texas Tech Üniversitesi, Lubbock, TX 79409 toplantısı.
192. Kodama, H. ea (2007). Humus ekstraktının murin transplante edilebilir L1210 Lösemi üzerindeki antitümör etkisi, *J Vet Med Sci*, 69, 1069-1071.
193. Vucskits, AV, Hullar, I., Bersenyi, A., Andrasofszky, E., Kulcsar, M. & Szabo, J. (2010). Fulvik ve hümkik asitlerin sıçanlarda performans, bağışıklık tepkisi ve tiroid fonksiyonu üzerindeki etkisi, *J Anim Physiol Anim Nutr*, 94, 721-728.
194. Bernacchi, F., Ponzanelli, I., Minunni, M., Falezza, A., Loprieno, N. & Barale, R. (1996). Doğal hümkik asidin in vivo sitogenetik etkileri, *Mutagenesis*, 11, 467-469.

195. Dos Santos, A., Botero, WA, Bellin, IC, Oliveira, L. & C., R., JC, Mendonca, AGR, Godinho, AF (2007). Hüyük maddeler ve metalik iyonlar: hüyük maddelerin ve bunların olası terapötik uygulamalarının seçici bir çalışması, *J Brazil Chem Soc*, 18, 824-830.

196. Van Rensburg, CE, Snyman, JR, Mokoale, T. & Cromarty, AD (2007). Kahverengi kömürden elde edilen humat, temas aşırı duyarlılığını engeller; sıçanlarda bir etkinlik, toksisite ve teratojenisite çalışması, *Inflammation*, 30, 148-152.

197. Seymour, GJ (1991). Periodonsiyumda konak yanıtının önemi, *J Clin Periodontol*, 18, 421-426.

198. Garlet, GP, Martins, W., Jr., Fonseca, BA, Ferreira, BR & Silva, JS (2004).

Matris metaloproteinazlar, bunların fizyolojik inhibitörleri ve osteoklast faktörleri, insan periodontal hastalığında sitokin profili tarafından diferansiyel olarak düzenlenir, *J Clin Periodontol*, 31, 671-679.

199. van Rensburg, CE & Naude, PJ (2009). Potasyum humat, kompleman aktivasyonunu ve in vitro inflammatuar sitokinlerin üretimini inhibe eder, *Inflammation*, 32, 270-276.

200. Toker, H., Özdemir, H., Eren, K., Özer, H. & Şahin, G. (2009). Bir tiyol antioksidan olan N-asetilsistein, sıçanlarda deneysel periodontitiste alveolar kemik kaybını azaltır, *J Periodontol*, 80, 672-678.

201. Di Paola, R., Mazzon, E., Maiere, D., Zito, D., Britti, D., De Majo, M., Genovese, T. & Cuzzocrea, S. (2006). Rosiglitazon, sıçanda deneysel periodontitis gelişimini azaltır, *J Dent Res*, 85, 156-161.

202. Di Paola, R., Mazzon, E., Zito, D., Maiere, D., Britti, D., Genovese, T. & Cuzzocrea, S. (2005). Bir kemirgen modeli periodontitiste membran geçirgen bir radikal temizleyici olan Tempol'ün etkileri, *J Clin Periodontol*, 32, 1062-1068.

203. Bir Kühr, Bir Popa-Wagner, H Schmoll, C Schwahn & T Kocher (2004).

Sıçanlarda deneysel marjinal periodontitis üzerine gözlemler, *J Periodontal Res*, 39, 101-106.

204. Vignery, A. & Baron, R. (1980). Yetişkin sıçanda alveolar kemiğin yeniden şekillenmesinin dinamik histomorfometri, *Anatomic Rec*, 196, 191-200.

205. Amstad-Jossi, M. & Schroeder, HE (1978). Mikropsuz farelerde mine-sement birleşimi çevresindeki periodontal yapıların ve diş eti bağ dokusu bileşiminin yaşa bağlı değişiklikleri, *J Periodontal Res*, 13, 76-90. 206. de Lima, V., Bezerra, MM, de Menezes Alencar, VB, Vidal, FD, da Rocha, F.

A., de Castro Brito, GA & de Albuquerque Ribeiro, R. (2000). Klorpromazinin sıçanlarda deneysel periodontal hastalıkta alveolar kemik kaybı üzerindeki etkileri, *Euro J Oral Sci*, 108, 123-129.

207. Toker, H., Ozan, F., Özer, H., Özdemir, H., Eren, K. & Yeler, H. (2008). Sıçanlarda deneysel periodontitiste propolis alveolar kemik kaybı üzerindeki etkilerinin morfolojik ve histopatolojik bir değerlendirmesi, *J Periodontol*, 79, 1089-1094.

208. Lutfioglu, M., Sakallioğlu, U., Sakallioğlu, E. E., Diraman, E., Ciftci, G. & Tutkun, F. (2010). Diyet kaynaklı hiperparatiroidizm, sıçanlarda serum ve diş eti proinflammatuar sitokin seviyelerini etkiler, *J Periodontol*, 81, 150-157.

209. McGee, JM, Tucci, MA, Edmundson, TP, Serio, CL & Johnson, RB (1998).

Diş eti içindeki proinflammatuar sitokinlerin konsantrasyonları ile bitişik oluk derinliği arasındaki ilişki, *J Periodontol*, 69, 865-871.

210. Ishihara, Y., Nishihara, T., Kuroyanagi, T., Shirozu, N., Yamagishi, E., Ohguchi, M., Koide, M., Ueda, N., Amano, K. & Noguchi, T (1997). Dişeti oluşu interlökin-1 ve interlökin-1 reseptör antagonist seviyeleri periodontal olarak sağlıklı ve hastalıklı bölgelerde, *J Periodontal Res*, 32, 524-529.
211. Hirose, M., Ishihara, K., Saito, A., Nakagawa, T., Yamada, S. & Okuda, K. (2001). İltihaplı diş eti dokusunda sitokinlerin ve indüklenbilir nitrik oksit sentazın ifadesi, *J Periodontol*, 72, 590-597.
212. Nibali, L., D'Aiuto, F., Griffiths, G., Patel, K., Suvan, J. & Tonetti, MS (2007). Şiddetli periodontitis, sistemik enflamasyon ve dismetabolik bir durumla ilişkilidir: bir vaka kontrol çalışması, *J Clin Periodontol*, 34, 931-937.
213. Paraskevas, S., Huizinga, JD & Loos, BG (2008). Periodontitis ile ilgili olarak C-reaktif protein üzerine sistematik bir inceleme ve meta analizler, *J Clin Periodontol*, 35, 277-290.
214. Saxlin, T., Suominen-Taipale, L., Leiviska, J., Jula, A., Knuuttila, M. & Ylostalo, P. (2009). Vücut ağırlığı ve periodontal enfeksiyon arasındaki ilişkide serum sitokinleri tümör nekroz faktörü-alfa ve interlökin-6'nın rolü, *J Clin Periodontol*, 36, 100-105.
215. Dutzan, N., Gamonal, J., Silva, A., Sanz, M. & Vernal, R. (2009). Çatal uçlu kutu P3'ün aşırı ekspresyonu ve kronik periodontitisin ilerlemesi sırasında nükleer faktör-kappa B ligandı, interlökin (IL) -17, IL-10 ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta'nın reseptör aktivatörü ile ilişkisi, *J Clin Periodontol*, 36, 396-403.
216. Gorska, R., Gregorek, H., Kowalski, J., Laskus-Perendyk, A., Syczewska, M. & Madalinski, K. (2003). Klinik parametreler ile iltihaplı diş eti dokusundaki sitokin profilleri ve kronik periodontitisli hastalardan alınan serum numuneleri arasındaki ilişki, *J Clin periodontol*, 30, 1046-1052.
217. Mundy, GR (1991). Enflamatuar mediatörler ve kemiğin yok edilmesi, *J Periodontal Res*, 26, 213-217.
218. Wilson, M., Reddi, K. & Henderson, B. (1996). Periodontopatojenik bakterilerin sitokin oluşturan bileşenleri, *J Periodontal Res*, 31, 393-407.
219. Harada, S. & Rodan, GA (2003). Osteoblast fonksiyonunun kontrolü ve kemik kütlelerinin düzenlenmesi, *Nature*, 423, 349-355.
220. Martin, TJ & Ng, KW (1994). Osteoblast soyunun hücrelerinin osteoclast oluşumunu ve aktivitesini kontrol ettiği mekanizmalar, *J Celi Biochem*, 56, 357-366.
221. Özdemir, H., Kara, Mİ, Erciyas, K., Özer, H. & Ay, S. (2012). Bir sıçan periodontitis modelinde timokinonun önleyici etkileri: morfometrik ve histopatolojik bir çalışma, *J Periodontal Res*, 47, 74-80.
222. Nyman, S., Schroeder, HE & Lindhe, J. (1979). Köpeklerde deneysel periodontitis sırasında indometasin ile enflamasyonun ve kemik rezorpsiyonunun baskılanması, *J Periodontol*, 50, 450-461.
223. Hou, LT, Liu, CM, Liu, BY, Lin, SJ, Liao, CS & Rossomando, EF (2003). Periodontitis hastalarından alınan biyopsi alınmış dişeti dokusunun interleukin-1beta, klinik parametreler ve uyumlu hücresel-histopatolojik değişiklikleri, *J Periodontal Res*, 38, 247-254.
224. Soliev, TS (1983). Deforme osteoartrozun spesifik olmayan biyostimülatörle tedavisi Mumie, *Med J Uzbek*, 8, 19-21.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Metin ÇALIŞIR
Doğum Yeri ve Tarihi	Adıyaman 25/12/1983
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD, 58140-SİVAS
E-posta Adresi	calisir_metin@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Adıyaman Anadolu Öğretmen Lisesi
Üniversite	Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Doktora	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

İş Tecrübesi

Adıyaman Gölbaşı Özel Çınar Tıp Merkezi Diş Hekimi	2007-2008
Cumhuriyet Üniversitesi	Araştırma Görevlisi 2009-