



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

**Yüksek Glukoz Konsantrasyonuna Maruz Bırakılmış
Ligamentum Periodontale Hücre Hattı Üzerine
CurCumin'in Koruyucu Etkisi**

SEMİH EKİCİ

Ocak 2022
DENİZLİ

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Yüksek Glukoz Konsantrasyonuna Maruz Bırakılmış Ligamentum Periodontale
Hücre Hattı Üzerine CurCumin'in Koruyucu Etkisi**

**ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

Semih EKİCİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Bülent ÖZDEMİR

Denizli, 2022

Pamukkale Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uygulama Esasları Yönergesi Madde 24-(2) "Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencileri için: Doktora tez savunma sınavından önce, doktora bilim alanında kendisinin yazar olduğu uluslararası atıf indeksleri kapsamında yer alan bir dergide basılmış ya da basılmak üzere kesin kabulü yapılmış en az bir makalesi olan öğrenciler tez savunma sınavına alınır. Yüksek lisans tezinin yayın haline getirilmiş olması bu kapsamda değerlendirilmez. Bu ek koşulu yerine getirmeyen öğrenciler, tez savunma sınavına alınmazlar" gereğince yapılan yayın/yayınların listesi aşağıdadır (Metinleri ekte sunulmuştur):

Ek-1 Danış Aygün, Arş. Gör. **Semih Ekici**, Şahika Pınar Akyer, Doç. Dr. "**Diş hekimliği öğrencilerinin üst ekstremitte antropometrik ölçüleri ve bu ölçülerin laboratuvar başarısı ile ilişkisi**" .pau tıp dergisi 14/ 3 <https://doi.org/10.31362/patd.796289>

Bu tezin tasarımı, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğinin ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Semih EKİCİ

ÖZET

YÜKSEK GLUKOZ KONSANTRASYONUNA MARUZ BIRAKILMIŞ LİGAMENTUM PERİODONTALE HÜCRE HATTI ÜZERİNE CURCUMİN'İN KORUYUCU ETKİSİ

Semih EKİCİ

Doktora Tezi, Anatomi Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Mehmet Bülent ÖZDEMİR

Ocak 2022, 56 Sayfa

Ligamentum periodontale (PDL) dokusu, periodontium ve dişin karşılıklı desteği için alveolar kemiğe diş kökü sementini ekler. PDL, periodonsiyumun homeostazı, sürdürülmesi ve yenilenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Periodontal hastalık dünya çapında yüksek insidansa sahip bir hastalıktır. Bu hastalığın nedenlerinde biri de yüksek glukozlu besin kullanımı ve diabetes mellitustur. CurCumin (Curcuma longa)'nın diğer sistemik tedavi edici etkileri ile periodontal etkileri daha önce çalışılmıştır.

Fakat, CurCumin'in terapik ve sitotoksik özelliklerini belirlemek için sekonder PDL hücre hattındaki (hPdLF) yapılan ilk çalışma bizim çalışmamız olacaktır. Amacımız, glukozu maruz bırakılmış PDL hücre hattı üzerinde CurCumin'in koruyucu etkisini göstermektir. Bu amaç için sekonder PDL hücrelerini pasajlandıktan sonra sayıldı ve steril 96-kuyucuklu hücre kültür plakalarına kuyucuk başına 5×10^3 hücre olacak şekilde ekildi. Hücrelerin, plaka tabanına tutunması için CO₂ inkübatöründe 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki besiyerleri uzaklaştırılarak ve normal glukoz, yüksek glukoz, CurCumin değişik dozları hücrelere uygulandı. Uygulama işleminin ardından, glukozun ve CurCumin'in hücreler üzerindeki 72 saatlik etkisini kolorimetrik bir yöntem olan MTT yöntemi ile belirlendi. Mekanizma olarak apoptozis tünel yöntemi ile gösterildi. CurCumin'in yanında yaygın olarak çalışılan Metformin ve Fesleğenin de glukozu maruz bırakılmış PDL hücre kültürü üzerindeki etkilerine incelendi. 2 µM CurCumin verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığı arttı ($P < 0,05$). CurCumin dozu 5 µM dan 50 µM'a kadar periodontal hücrelere toksik etkisini gösterdi ve bu aralıklarda hücre canlılığı belirgin şekilde azaldı. CurCumin antiapoptotik etkisi gösterdi. Aynı zamanda Metforminin tüm dozlarında hücre canlılığının istatistiki olarak anlamlı derecede arttığını gözlemlendi ($P < 0,05$). Fakat 250, 300 ve 350 µM Fesleğende istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığı artarken 400 µM dan fesleğen PDL hücrelerine toksik etkisini gösterdi. Sonuç olarak CurCumin'in, glukozun PDL hücreleri üzerinde yıkıcı etkisine rağmen istatistiki anlamda hücre canlılığını arttırarak koruyucu etkisi gösterildi. Aynı zamanda CurCumin'in PDL hücre kültürü üzerindeki tedavi edici ve toksik dozları ilk defa literatüre kazandırıldı. CurCumin'in etki mekanizmasının antiapoptotik yolakla olduğu gösterildi. Bu çalışma

sirasında, CurCumin ile benzer özellikleri olan ve yaygın olarak araştırılan Metformin ve Fesleğenin glukoza maruz bırakılmış sekonder PDL hücre hattındaki, hücre canlılığına etkileri, terapötik ve sitotoksik dozları ilk defa gösterildi. Bu çalışmadan sonra CurCumin'in ve yanında Metformin ve Fesleğenin, özellikle lokal olarak, PDL ile ilgili patolojik durumlarda kullanılması için prelinik ve klinik çalışmaların planlanabileceğini söylenebilir.

Anahtar kelimeler: ligamentum periodontale, hücre hattı .CurCumin,glukoz

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2019SABE019).

ABSTRACT**PROTECTIVE EFFECT OF CURCUMIN ON THE LIGAMENTUM PERIODONTALE
CELL LINE EXPOSED TO HIGH GLUCOSE CONCENTRATION**

Semih EKİCİ

PhD Thesis in Anatomy

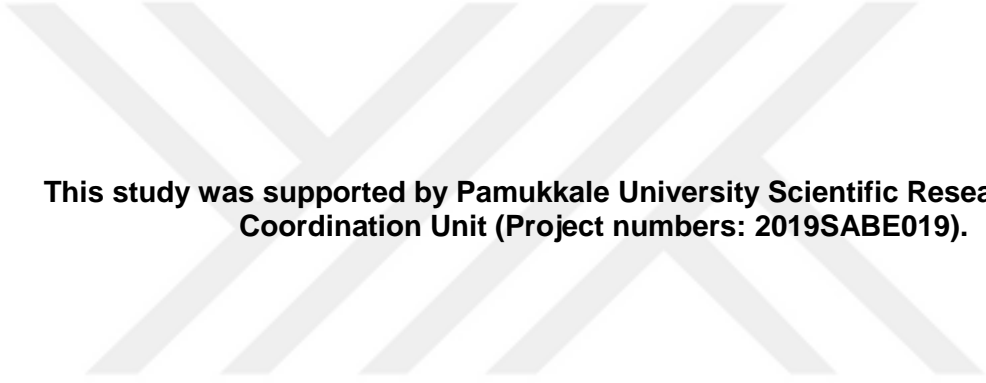
Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Bülent ÖZDEMİR

January 2022, 56 Pages

The ligamentum periodontale (PDL) tissue adds tooth root cementum to the alveolar bone for mutual support of the periodontium and tooth. PDL plays an important role in homeostasis, maintenance and regeneration of the periodontium. Periodontal disease is a disease with a high incidence worldwide. One of the causes of this disease is the use of high glucose food and diabetes mellitus. The periodontal effects of CurCumin (*Curcuma longa*) along with other systemic therapeutic effects have been studied before. However, our study will be the first study in a secondary PDL cell line (hPdLF) to determine the therapeutic and cytotoxic properties of CurCumin. Our aim is to demonstrate the protective effect of CurCumin on the glucose-exposed ligamentum periodontale cell line. For this purpose, we counted secondary PDL cells after passage and seeded them in sterile 96-well cell culture plates at 5×10^3 cells per well. We incubated the cells in a CO₂ incubator for 24 hours so that they adhere to the plate bottom. After 24 hours of incubation, the media in the wells will be removed and we applied different doses of normal glucose, high glucose CurCumin to the cells. We determined the effect of glucose and CurCumin on cells at 72 hours after the application, using the MTT method, which is a colorimetric method. As a mechanism, we showed apoptosis with the tunnel method. We looked at the effects of Metformin and Basil, which are widely studied alongside CurCumin, on glucose-exposed PDL cell culture. When 2 μM of CurCumin was given, cell viability increased statistically significantly ($p < 0.05$). CurCumin dose was toxic to periodontal cells from 5 μM to 50 μM , and cell viability decreased significantly in these ranges. CurCumin has been shown to have antiapoptotic effects. At the same time, we observed a statistically significant increase in cell viability at all doses of Metformin ($p < 0.05$). However, cell viability increased statistically significantly in 250, 300 and 350 μM of Basil, while Basil from 400 μM had a toxic effect on ligamentum periodontale cells. As a result, despite the destructive effect of glucose on PDL cells, the protective effect of CurCumine was demonstrated by increasing cell viability statistically. At the same time, the therapeutic and toxic doses of CurCumin on PDL cell culture were brought to the literature for the first time. The mechanism of action

of CurCumin was shown to be through an antiapoptotic pathway. During this study, the effects on cell viability, therapeutic and cytotoxic doses of metformin and basil, which have similar properties with CurCumin and have been widely researched, on glucose-exposed secondary PDL cell line were demonstrated for the first time. After this study, we can say that preclinical and clinical studies can be planned for the use of CurCumin, as well as Metformin and Basil, especially locally, in pathological conditions related to PDL.

Keywords: ligamentum periodontale, cell line CurCumin, glucose



This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project numbers: 2019SABE019).

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince üzerimde büyük emekleri olan, her türlü sorunla yakından ilgilenerek anlayışla yol gösteren, tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde rehberlik eden, bilimsel ve manevi desteğini benden hiç esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Bülent ÖZDEMİR'e,

Doktora eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimimin yanında tezimin her safhasında katkı ve emekleriyle desteğini gördüğüm, hoşgörü ve desteklerini lisansüstü eğitimimin ilk gününden beri hissettiğim hocam Sayın Doç. Dr. Şahika Pınar AKYER'e

Üzerimde emekleri bulunan, bilgi ve deneyimleri ile bana sağladıkları katkılarından dolayı Anatomi Anabilim Dalındaki değerli Hocalarım Sayın Prof. Dr. Esat ADIGÜZEL'e, Sayın Doç. Dr. Özgür Barış DÖNMEZ'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şule ONUR'a,

Her zaman hayatımda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her konuda fikir danışabildiğim, tez deneylerimin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sevgili Doç. Dr. Mükerrrem HATİPOĞLU'na

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için deneysel çalışmalarda vermiş olduğu destek ve olanaklar için Sayın Dr. Öğr. Üyesi Onur TOKGÜN'e,

Tez çalışmam süresince her anlamda desteklerini gördüğüm, kendi çalışmalarını gibi benimle çalışan, dostlukları ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan Arş. Gör. Dr. Danış AYGÜN'e, Dr. Hülya ÖZDEMİR, Dr. Nuriye KURBETLİ, Büşra ÇELİKKAYA'ya ve Kubilay İNCİ'ye

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam süresince manevi olarak desteklerini hissettiğim sevgili asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her konuda desteklerini benden esirgemeyen, sevgileri ve fedakarlıkları ile bugüne kadar attığım her adımda hep yanımda ve arkamda duran, minnet duyduğum canım aileme,

Doktora eğitimim boyunca sınırsız sabır ve gayret gösteren, her zaman en büyük destekçim olan eşim Nuray EKİCİ, çocuklarım Erdem EKİCİ, Selahaddin Furkan EKİCİ, Mahinur EKİCİ'ye

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Semih Ekici

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR.....	.ix
İÇİNDEKİLERx
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Amaç.....	2
2. KURAMSAL BİLGİLER ve LİTERATÜR TARAMASI.....	3
2.1..Anatomi.....	3
2.1.1. Dişeti	3
2.1.2 .Ligamentum Periodontale.....	5
2.1.2.1 Ligamentum Periodontale Lif Demetleri	7
2.1.2.2 Ligamentum Periodontale Kanlanması Ve İnervasyonu	8
2.1.3 .Alveolar Kemik	9
2.1.4. Sement.....	10
2.2. CurCumin	11
2.2.1. CurCumin'in Antieflamatuar Etkisi	13
2.2.2.CurCumin'in Antimikrobiyal Etkisi	13
2.2.3 CurCumin'in Antidiyabetik Etkisi	14
2.3. CurCumin'in Fizikokimyasal Yapısı.....	14

2.4 .Hipotez.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	16
3.1. Periodontale Ligamentum Hücre Kültürünün Hazırlanışı.....	16
3.2. CurCumin Dozlarının Hazırlanması	17
3.3 Metformin Dozlarının Hazırlanması	17
3.4 Fesleğen Dozlarının Hazırlanması	18
3.5. Sitotoksosite testi ile hücre canlılığının saptanması.....	18
3.5.1. Sitotoksosite Testi için Hazırlık	19
3.5.2. MTT testi uygulanışı.....	20
3.5.3. TUNEL Yöntemi ile Apoptozis Belirlenmesi.....	20
3.5.3.1. TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) Yöntemi.....	21
3.6. İstatistiksel Yöntemler	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. CurCumin ,Fesleğen ,Metformin konsantrasyonlarının Belirlenmesi	22
4.2. MTT uygulamasında hücre canlılığı	27
4.3. Apoptozisin Değerlendirilmesi.....	31
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ.....	45
7. KAYNAKLAR	46
8. ÖZGEÇMİŞ.....	54
9. EKLER	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1.1 Sağlıklı Diş Eti Görünümü	4
Şekil 2.1.2.1 Ligamentum Periodontale Histolojik Görüntüsü.....	6
Şekil 2.1.2.2 Ligamentum Periodontale Temel Lifleri	7
Şekil 2.1.3.1 Alveolar Kemik.....	10
Şekil 2.2.1 CurCumin'in Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 2.3.1 CurCumin'in Fizikokimyasal Yapısı	15
Şekil 3.1.1 Ligamentum Periodontale Hücresi....1. GÜN.....	16
Şekil 3.1.2 Ligamentum Periodontale Hücresi....7. GÜN.....	17
Şekil 4.1.1 CurCumin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi.....	23
Şekil 4.1.2 Metformin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi.....	24
Şekil 4.1.3 Fesleğen'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi.....	26
Şekil 4.2.1 MTT uygulanmasında hücre canlılığı kontrol grubu(x40)	27
Şekil 4.2.2. MTT uygulanmasında hücre canlılığı kontrol grubu düşük doz glukoz...(x40)	28
Şekil 4.2.3. MTT uygulanmasında hücre canlılığı kontrol grubu yüksek doz glukoz (x40)	29
Şekil 4.2.4. MTT uygulanmasında hücre canlılığı CurCumin 2µM + yüksek doz glukoz	30
Şekil 4.2.5. MTT uygulanmasında hücre canlılığı CurCumin 2µM + düşük doz glukoz.....	31
Şekil 4.3.1 TUNEL boyama ile PDL hücresi kontrol grubu.....	32
Şekil 4.3.2. TUNEL boyama ile PDL hücresi düşük doz glukoz.....	33
Şekil 4.3.3. TUNEL boyama ile PDL hücresi yüksek doz glukoz	34
Şekil 4.3.4. TUNEL boyama ile PDL hücresi CurCumin +düşük doz glukoz	35
Şekil 4.3.5. TUNEL boyama ile PDL hücresi CurCumin +yüksek doz glukoz.....	36

TABLolar DİZİNİ**Sayfa**

Tablo 4.1.1: CurCumin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi 22

Tablo 4.1.2: Metformin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi 24

Tablo 4.1.3: Fesleğen'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi 25

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Akt	Protein Kinaz B
AP-1	Aktivatör Protein 1
Bcl2	B hücreli lenfoma 2
C5	CurCumin 5 mikromolar
C10	CurCumin 10 mikromolar
C20	CurCumin 20 mikromolar
C25	CurCumin 25 mikromolar
C50	CurCumin 50 mikromolar
C75	CurCumin 75 mikromolar
C100	CurCumin 100 mikromolar
C150	CurCumin 150 mikromolar
COX -2	Siklooksijenaz-2
EGF	Epidermal Büyüme Faktör
EGFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
ELAM -1	Lökosit Yapışma Moleküler 1
ELİSA	Enzim-Linked İmmunosorbent Assay
Fas	Fagositoz Hücre Reseptörü Sitotoksit T
FBS	Fetal Bovine Serum
F250	Fesleğen 250mikromolar
F 300	Fesleğen 300 Mikromolar
F350	Fesleğen 350 Mikromolar
F400	Fesleğen 400 Mikromolar
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GCF	Diş Eti Oluğu Sıvısı
HER-2	Tirozin Protein Kinaz -2
hPdLF	Periodontal Ligament Hücresi
ICAM-1	İntercellular Yapışma Moleküler1
IL -6	İnterlökin 6
IL -8	İnterlökin 8
IV	İntravenöz
Kg	Kilogram
MAPK	Mitojenle Etkileşen Protein Kinaz
M2	Metformin 2 Mikromolar

M5	Metformin 5 Mikromolar
M20	Metformin 20 Mikromolar
M30	Metformin 30 Mikromolar
M 50	Metformin 50 Mikromolar
Mg	Miligram
ml	Mililitre
MMP9	Matris Metallo Peptitaz 9
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid
mTOR	Fosfatidilinositol-3 Kinaz
NF _κ B	Nuclear Factor kappa B
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyon
PDL	Ligamentum Periodontale
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktiva
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNFR1	Tümör Nekroz Faktör Reseptör -1
UV	Ultraviole
VCAM-1	Vasculer Hücresi Yapışma Moleküler1
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar

1. GİRİŞ

Ligamentum Periodontale, PDL olarak kısaltılır ve alveol kemiği ile dişin kök kısmını bağlayan özel bir bağ dokusu lifidir. PDL'nin bir tarafı köksementine diğer tarafı alveol kemiğine bağlanır. PDL; ana lifler, malassez epitel artıklarından, gevşek bağ dokusu, oksitalan lifler, osteoblast ve klast hücrelerinden oluşur. Ligamenti oluşturan ana lif grubu alveolodental liflerdir. Ayrıca, alveolar kret, oblik, horizontal, apikal ve çok köklü dişlerde interradyiküler lifler olmak üzere 5 alt lif grubunda yapısına katılır.

Tüm bu lifler, dişin çiğneme esnasında ortaya çıkan baskı kuvvetlerine dayanmasına ve kemiğe gömülü kalmasına yardımcı olur. Ana liflerin uçları sement veya alveol kemiği duvarı (radyografik olarak lamina dura) içerisinde kalırsa buna Sharpey lifleri olarak adlandırılır. Gevşek bağ doku; hücre dışı matris, lifler, sinirler, hücreler ve kan damarlarını içerir. Bu hücreler arasında fibroblastlar, savunma hücreleri ve farklılaşmamış mezenkimal hücreler bulunur. PDL'nin ayrıca duyusal, besleyici, destekleyici ve yeniden şekillendirici (remodelling) işlevleri vardır. Periodontal ligamentte osteoblastlara dönüşebilen progenitör hücreler bulunmaktadır. Bu hücreler alveolar kemiğin fizyolojik bakımının yanı sıra tamirinde de görev alır. Bu sayede PDL, alveol kemiğinin kemik yapıcı osteoblastlarla sürekli olarak yeniden şekillendirilmesinde görev almış olur. PDL ayrıca periodontitisli periodonsiyumun daha derin yapılarını içeren kronik periodontal hastalıkta ciddi değişikliklere uğrar. Bu durumda PDL'nin lifleri düzensiz hale gelir ve alveol kemiğinin ve sementin rezorbe olması nedeniyle bu iki sert doku arasında uzanan Sharpey lifleri yok olur. Patolojik olarak hasarlı veya hastalıklı PDL, dişin çekildiği durumlarda alveolar soketin daha geç iyileşmesine neden olabilir. PDL için en büyük risk faktörlerinden biri de yüksek glukozlu besin kullanımı ve diabetes mellitus'tur. Diyabetinen tipik bulgusu olan hiperglisemi, hücre çoğalması, farklılaşması üzerinde zararlı etkilere sahiptir ve hatta hücre ölümüne neden olarak periodontal yara iyileşmesinde gecikmeye yol açar. Yüksek glukoz konsantrasyonunun vücut genel mekanizması üzerine olumsuz etkisi kadar, dişeti ve alveolar kemik üzerinde yıkıcı etkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ana vatanı Güney Asya olan CurCumin; halk arasında "*zerdecal, zerdecop, hint safranı, safran kökü*" olarak bilinen CurCuma longa L. (*C. longa*)'nin rizomlarından elde edilen sarı-turuncu renkli polifenolik bir bileşiktir (Ammonve Wahl 1991).

Çeşitli prelinik hücre kültürü ve hayvan çalışmalarında CurCumin'in antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal etkileri barındırdığı, yara iyileşmesini hızlandırdığı; ayrıca kardiyovasküler, nörodejeneratif, gastrointestinal, otoimmün rahatsızlıklarda yararlı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. CurCumin üzerine yapılan klinik araştırmalarda geleneksel tıbbi kullanımını ve terapötik rolünü desteklemektedir (Aggarwal 2003, Maheshwari 2006, Goel 2008, Hatcher 2008).

Çalışmamızda CurCumin'in, yüksek doz glukozun (4500 mg/mL) PDL hücreleri üzerine olan etkisine karşı hücre canlılığını artırarak koruyucu etki oluşturduğu gösterildi. Aynı zamanda CurCumin'in PDL hücre kültürü üzerindeki tedavi edici ve toksik dozları ilk defa literatüre kazandırıldı. CurCumin'in etki mekanizmasının antiapoptotik yolakla olduğu gösterildi. Bu çalışma sırasında, CurCumin ile benzer özellikleri olan ve yaygın olarak araştırılan Metformin ve Fesleğen'in yüksek glukoz maruz bırakılmış ikincil PDL hücre hattındaki, hücre canlılığına etkileri, teröpatik ve sitotik dozları ilk defa gösterildi. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak CurCumin'in ve yanında Metformin ve Fesleğen'in, özellikle lokal olarak, PDL ile ilgili patolojik durumlarda tedavi amacıyla kullanılması için prelinik ve klinik çalışmaların planlanabileceğini söyleyebiliriz.

1.1 Amaç

Periodontitis, dişlerin etrafındaki destekleyici dokuların bakteriyel infeksiyonu, sistemik hastalıklar, yüksek oranda glukoz tüketimi gibi nedenler ile oluşan kronik bir enflamatuvar hastalıktır. CurCumin'in birçok hastalıkta koruyucu etkisi bilinmektedir. Bizim amacımız bugüne kadar CurCumin'in *in vivo* olarak periodontal hastalık üzerindeki etkileri değerlendirilmediğini dikkate alarak, Yüksek Glukoz Konsantrasyonuna Maruz Bırakılmış Ligamentum Periodontale Hücre Hattı Üzerine CurCumin'in Koruyucu Etkisini ortaya koymaktır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Periodonsiyum Anatomisi

Periodonsiyum “*dişleri saran ve destekleyen dokular*” olarak tanımlanır. Periodonsiyum benzersiz bir vasküler sistem, lenfatik sistem ve sinirsel ağ ile yaşam boyunca hizmet eden dinamik bir yapıdır. Periodonsiyumun yapısal konfigürasyonu ve normal işlevleri olan hücresel elemanları klinik olarak bilinen homeostatik dengeyi korumaktadır. Periodonsiyum şu dokulardan oluşur; diş eti (gingiva), alveolar kemik, sementum ve ligamentum periodontale.

2.1.1 Diş Eti (Gingiva)

Normal gingiva (Şekil 2.1.1) pembe renklidir (somon pembesi) ve oral mukozadan apikal olarak mukogingival çizgi ile ayrılır (genellikle koyu kırmızı renktedir) ve keratinizasyon derecesine bağlı olarak belirginliği değişir. Diş etinde melanin pigmentasyonunun birikmesi normaldir ve bu kişiden kişiye değişir. Afrikalılarda ve Asyalılarda, Kafkasyalılara göre daha sık görülür. Gingiva yapışık keratinize dişetine uzanır, mukogingival hattın koronal olarak ve kollajen lifleri ile alttaki periosteuma sıkıca bağlıdır. Yapışık dişetin koronoapikal genişliği dişten dişe ve farklı bireyler arasında önemli ölçüde değişebilir, yaşla birlikte genişleme eğilimindedir (Ainamo vd 1981). Periodontal sağlık için gerekli olan belirli bir minimum yapışık dişeti genişliği yoktur (Wennstrom ve Lindhe 1983). Dişetin yüzeyi sıklıkla noktalanma olarak adlandırılan portakal kabuğu benzeri bir görünüm sergiler. Diş eti epitel ve bağ dokusu hücrelerinden oluşur.

Oral epitel, periodonsiyumun koruyucu bütünlüğünü sağlar. İnsan dişeti epitelinin histolojik görünümü çok detaylı olarak incelenmiş ve çok sayıda yazar tarafından tanımlanmıştır (Schroeder vd 1966, Schroeder1981, Muller-Glauser ve Schroeder1983). Serbest marjinal ve yapışık dişeti, 4 klasik epitel tabakasından oluşan tipik bir keratinize edici tabakalı skuamöz epitel ile kaplıdır: bazale, spinosum, granülozum ve corneum tabakalarıdır.



Şekil2.1.1 -Sağlıklı diş eti görünümü. (Carranza vd 2012)

Oral sulkular epitel, oral gingival epitelin gingival sulkusa uzantısıdır. Bu yapının koronal sınırı, serbest marjinal diş etinin yüksekliği kadardır. En tepedeki sınırı, birleşme epitelinin kabuk değiştiren yüzeyidir, bu nedenle oral sulkular epitel, gingival sulkusun yan duvarını oluşturur. Oral sulkular epitel, oral gingival epitel ile aynı 4 epitel tabakasına sahiptir. Histolojik enine kesitte, oral sulkular epitel, komşu bağlantı epitelinden görsel olarak keskin bir şekilde sınırlanabilir, bunun sebebi oral sulkular epitel hücrelerinin yüksek bazofilisitesinden dolayı çok daha koyu görünmesidir (Schroeder 1991).

Periodonsiyumun epitel tabakasının üçüncü bileşeni bileşke epitelidir. Epitelin diş sert maddesinin (mine veya sement veya dentin) yüzeyine tutunma mekanizmasını sağlayan bağlantı epitelidir. Bağlantı epiteli ayrıca alttaki periodontal bağa göre daha koruyucu bir işlev sağlar. Enflamatuvar dişeti ve periodontal hastalıklardaki ilk olaylardan biri, tutturma aparatının bileşenleri arasındaki normal ilişkilerin bozulmasıdır.

Epitel tabakasının altında, lamina propria olarak da adlandırılan dişeti bağ dokusu tabakası bulunur. Bağlayıcının yaklaşık %60-65'i sağlıklı diş etinin doku kompartımanı olan kollajen tarafından işgal edilir, daha az yaygın olan yapılar arasında fibroblast hücreleri (yaklaşık %5), lökositler, mast hücreleri, doku makrofajları (yaklaşık %35) bulunur (Schroeder vd 1973).

Beş ana lif demeti grubu ve 6 küçük grup vardır (Page vd 1974). Başlıca gruplar dentogingival lifler, alveologingival lifler, dairesel lifler, dentoperiosteal lifler ve

transseptal lifler'dir. İkincil veya minör kollajen lif demetleri, periostogingival, interpapiller, transgingival, intersirküler, intergingival ve semisirküler liflerdir.

Periodontal bağ dokusunda açık ara en yaygın hücre ve işlevsel olarak en önemlisi fibroblasttır. Dişeti bağ dokusundaki hücrelerin %65 fibroblastlardır (Schroeder vd 1973). Bu hücrenin rolü, yapısal bağ dokusu proteinleri, kolajen ve elastin yanı sıra periodontal bağ zemin maddesini oluşturan glikoproteinler ve glukozaminoglikanlardır.

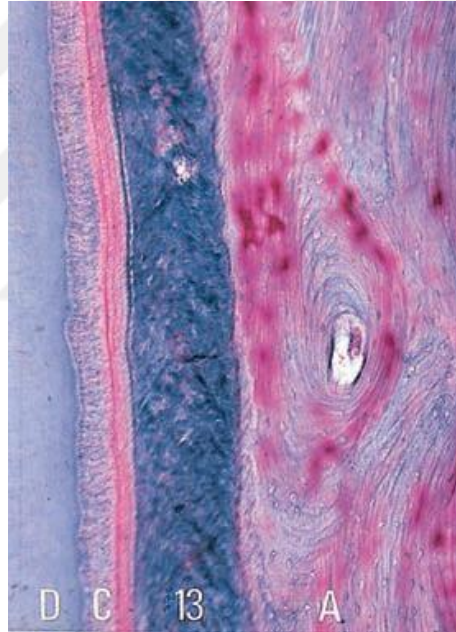
Periodontal fibroblastlar ayrıca aktif bir kolajenaz ve topluca matris metalloproteinazlar olarak bilinen bir enzim grubunu salgırlar (Birkedal-Hansen1976, Pettigrew vd 1978, Birkedal-Hansen 1988) salgırlar. Bu enzimler, hücre dışı matrisi parçalama kapasitesine sahiptir (Page 1991). Metalloproteinazların tümü, fibroblastlar tarafından inaktif olan öncü formda salgılanır. Ayrıca, metalloproteinaz enzim ailesi, aktive edildiğinde bile, çeşitli doku inhibitörleri tarafından etkili bir şekilde inhibe edilir (Goldberg vd 1989).

Normal koşullar altında, periodontal fibroblastlar hücre dışı matrisi üretir ve sürdürürler. Homeostazı da oluşturdukları matriksin parçalarını değiştirmede rol oynayarak sağlarlar (Page1991). Böylece bu hücre, diş etinin yapısını ve durumunu düzenleyebilir ve dokuyu koruyabilir. Ayrıca, fibroblastların yabancı cisimleri fagosite etme ve çapraz bağlı kollajeni sindirme yeteneğine sahip olduğu ve bu hücrenin periodonsiyumdaki homeostazı kontrol etme yeteneğini daha da artırdığı bilinmektedir. Fibroblastların büyük, soluk lekeli çekirdekleri, düşük güçte bile ana lif gruplarının histolojik bölümlerinde kolaylıkla görülür. Hücre gövdeleri, genellikle ayırt edilmesi zor olan bir bazofilik sitoplazma ile lif demetinin uzun eksenine paralel olarak uzanmış şekilde görünür.

2.1.2 Ligamentum Periodontale

Ligamentum periodontale (PDL) dokusu, ektomezenkimal kökenli bir bağ dokusudur. Sürüngeçlerin ve alt türlerin aksine, insanlarda ve diğer memelilerde dişler kemiğe sert bir şekilde bağlı değildir. Bunun yerine, kökü kaplayan sement ile alveolar kemiği arasında 0,15 ila 0,4 mm'lik bir boşluk vardır. Bu boşluk, her diş kemik içinde destekleyen ve koruyan yumuşak bir bağ dokusu kompleksi tarafından işgal edilir. PDL olarak adlandırılan bu yapı, çevreyi tamamen doldurur (ŞEKİL 2.1.2.1).

PDL ve hücreleri, periodonsiyumun alveolar segmentinde homeostazın korunmasında çok önemli bir rol oynar. Bu hücreler bağ dokularının makromoleküllerini sentezleme ve rezorbe etme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle alveolar kemik ve sementin yanı sıra PDL'nin hücre dışı maddesinin sentez ve emiliminin düzenlenmesine katkıda bulunur (Melcher1989). Periodontal bağ hücrelerinin aktivitelerinin nasıl düzenlendiğini tam olarak anlamak için, ilgili hücrelerin, özellikle fibroblastların, osteoblastların ve sementoblastların kökenlerini anlamak gerekir. PDL'nin işlevleri arasında diş ankraji, fibröz doku gelişimi, kalsifiye doku gelişimi ve bakımı, besleyici ve metabolit taşınması ve inervasyon. Vasküler ve lenfatik ağlar, PDL'nin ve kısmen diş etinin yumuşak dokularına besin sağlar ve metabolik yan ürünleri uzaklaştırır. Sinir elemanları genellikle vasküler yolları ve lenfatik kanalları takip eder, damar duvarlarının kas bileşenleri için stimülasyon sağlar ve periodonsiyum için duyuşal algının yanı sıra refleks döngüleri de sağlar.



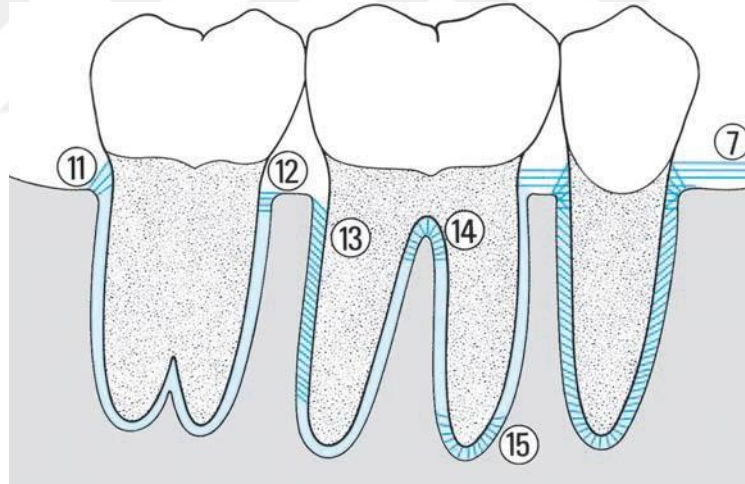
Şekil 2.1.2.1. Histolojik görüntü (X50) Ligamentum periodontale (13)

A (alveol kemik), D (dentin), C (sement) (Wolf vd 2004)

2.1.2.1 Ligamentum Periodontale Lif Demetleri

Olgun PDL, belirli düzlemlerde oryantasyon mimarisi sergileyen ana lif demetlerinden oluşur (Sicher 1954). Bunların arasında interstisyel olarak bilinen gevşek bağ dokusu adacıkları bulunur. Bu adacıklar PDL hücrelerinin, ikincil liflerin, damarların, lenfatik kanalların ve sinir elemanlarının bulunduğu boşluklardır. PDL lif kompleksi, dişeti

karşılığının hemen altında bulunur. İkisi arasındaki sınır her zaman belirsizdir. Diş etinde olduğu gibi, periodontal bağın kolajeninin çoğu, başlıca lif grupları olarak bilinen demetler halinde toplanır. Bu yoğun lif demetleri semente bağlıdır, çeşitli düzlemlerde PDL'nin boşluğunu kaplar ve Sharpey lifleri alveolün kribiform plakasına girer. Normal, istirahatte ve gerilmemiş durumlarda, temel periodontal liflerin yolu sementten kemiğe doğru düz değildir; bunun yerine, lifler dalgalı bir şekilde görünürler. Kollajen lifleri esnek olmadığı için, bu dalgalanma, dişin, çiğneme, konuşma ve yutma gibi aktiviteler sırasında sürekli olarak meydana gelen, yuvasındaki küçük hareketlerine uyum sağlamak için yeterli gevşekliği sağlar. Dört ana lif grupları tüm dişlerde anatomik olarak ayırt edilir. Alveolar kret, yatay (horizontal), oblik ve apikal gruplar. Çok köklü dişlerde, interradiküler grup olan beşinci bir grupta vardır (ŞEKİL 2.1.2.2.). Alveolar kret grubunun lifleri servikal semente bağlıdır ve alveolar prosesin kretine sokulmak için periodontal boşluk boyunca apikal olarak yönlendirilmiş bir yol izler. Bu lifler hem vestibüler hem de meziodistal kesitlerde kolayca görüntülenebilir. Bu lif grubunun işlevleri, dişleri yuvalarına sabitlemek ve karşıt yanal kuvvetleri karşılamaktır.



ŞEKİL 2.1.2.2. Ligamentum periodontale temel lifler. 11. Alveolar kret, 12. Horizontal, 13. Oblik, 14. Interradiküler, 15. Apikal (Wolf vd 2004)

Ana lif grupları arasında yer alan ikincil lifler ise nispeten yönsüz ve rastgele yönlendirilmiş, işlevi bilinmeyen kolajen demetleridir. Henüz ana lif demetlerine dahil olmamış yeni oluşturulmuş kollajen elementlerdir. İkincil lifler sıklıkla PDL boşluğunu korono-apikal olarak geçerler ve sıklıkla damar ve sinir yolları ile ilişkilidirler.

2.1.2.2 Ligamentum Periodontale Kanlanması Ve İnervasyonu

PDL'nin lif yoğunluğu göz önüne alındığında, genel olarak periodonsiyuma kan akışı olduğu gibi vasküler beslenmesi de boldur. Hayashi (1932) periodontal kan kaynağının karmaşık yapısını ilk tanımlayan kişidir. Daha sonraki araştırmalar, orijinal açıklamalara yalnızca küçük ayrıntılar ekledi.

Dişetine kanı getiren arterler; *a. facialis*, *a. infraorbitalis*, *a. alveolaris superior posterior*, *a. buccalis*, *a. palatina major*, *aa. palatina minores*, *a. mentalis*, *a. lingualis*'dir.

Bu arterler periost aracılığı ile interdental papilaya ve interdental papillanın komşu bölgelerindeki dişetine ulaşır. PDL'nin kanlanması; periapikal bölgeden, alveol kemiğini delerek gelen kan damarlarından ve dişeti periostu aracılığıyla gelen kan dolaşımı ile sağlanır. Metabolik ürünler ise venler aracılığıyla bölgeden uzaklaştırılır. PDL'de damarlar anastomozlar halinde olup diş çepçevre sarmaktadır.

PDL'in lenf kanalları kan damarlarına paralel olarak seyretmektedir. Vasküler ve lenfatik yapının yeterliliği, vücutta sürekli olarak meydana gelen çeşitli gelişim, onarım ve iyileşme süreçlerinin etkinliğinde kendini gösterir. Biyolojik olarak zorlu diş çekimi sürecinin ardından meydana gelen rutin olarak hızlı iyileşme, başlıca örnek olarak sunulabilir.

PDL'nin duyuşal inervasyonu, proprioseptif fonksiyonun yanı sıra dokunma, basınç ve ağrıya hizmet eder (Harris 1975). Tüm PDL'nin inervasyonu, *nervus alveolaris*'lerin diş dalları tarafından diş soketinin apikal perforasyonları yoluyla veya kemikten geçen *nervus interalveolaris*'lerin perforan dallarıdır. Bazı sinirlerin uçları, PDL stromal hücreleri arasında hassas bir ağaçlandırma oluşturur. Byers (1985, 1990) aksonların radyoaktif olarak etiklendiği ve daha sonra otoradyografi aracılığıyla görselleştirildiği yeni bir araştırma yöntemi geliştirerek periodontal inervasyon bilgisini önemli ölçüde genişletmede etkili olmuştur. Olgun, sağlıklı periodontal bağın mekanoreseptörler tarafından zengin bir şekilde inerve edildiğini göstermek için çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır; bu hücrelerin gövdeleri ya *Ganglion trigeminale* ya da *Nucleus mesencephalicus nervi trigemini* dedir. Reseptörler öncelikle dokunma ve basınçla ve çiğneme, konuşma vb. sırasında dişlerin doğal mikro hareketi ile aktive edilir.

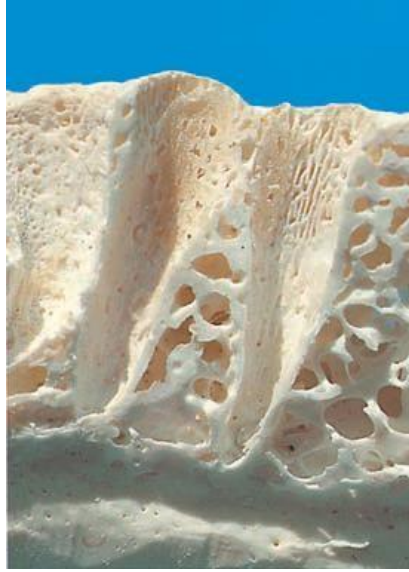
PDL ayrıca *Ganglion trigeminale*'deki nöronlar tarafından sağlanan nosiseptörler de sergiler (Shigenaga vd 1988). Duyusal reseptörler en çok PDL'nin apikal segmentinde bulunur. Periodontal bölgedeki sinir aksonlarının çoğu kapsülsüz, dalları olan Ruffini benzeri uçlarda sonlanırlar ve bu reseptörler her zaman periodontal alan ile yakın ilişki içinde gözlenir.

2.1.3 Alveolar Kemik

1. Alveolar bone proper (cribriform plate, esas alveol kemiği): Diş köklerini (soket duvarı) çevreleyen kortikal kemiktir. PDL liflerin yapıştığı ve nörovasküler demetlerin alveolar kemiğin merkezine (süngerimsi kemiğe) ulaşabilmesini sağlayan bu kemiğe radyografik olarak lamina dura ismi verilmektedir.

2. Supporting alveolar bone (destekleyen alveol kemiği, destek kemiği): Alveolar bone properi çevreler ve sokete destek sağlar. Bukkal ve oral kortikal kemiğin arasında kalan spongiöz (süngerimsi) kemikten oluşmaktadır. Alveol kemiğinin yapısı; farklı bireyler arasında ve aynı çenede farklı bölümlerde boyut, şekil ve kortikal tabakanın kalınlığı açısından farklılık göstermektedir (Şekil 2.1.3.1).

Kemik, mineralize olmuş bağ dokusudur. Hacim olarak inorganik matriks %60, organik matriks %25'dir, geri kalanını su oluşturur. Organik matriks; %90'ı Tip I kollajenden oluşmuştur. Vücuttaki diğer kemiklerden farklı değildir. Periosteal ve endosteal yüzeylerde oluşmuştur. Alveol kemiğin hücreleri; osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar, osteoprogenitör hücre, inaktif osteoblastlardan oluşur.



ŞEKİL 2.1.3.1- Sagittal kesitte molar diş alveolar kemik görüntüsü. (Wolf vd 2004).

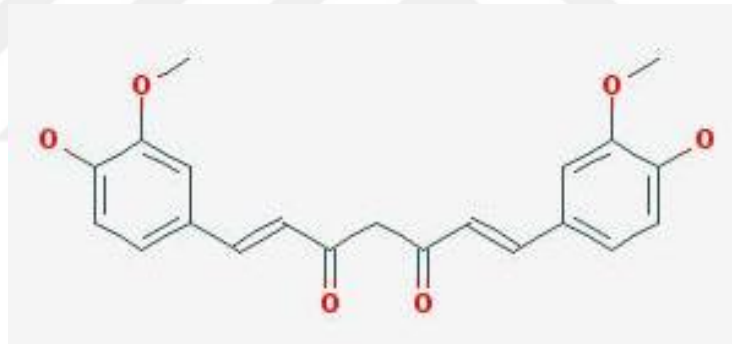
2.1.4 Sement

Diş köklerinin dentini'ni ince bir tabaka olarak (50-200 pm) saran kalsifiye dokudur. Sementin temel işlevi, dişin alveolünde ankrajını sağlamaktır. Başka bir işlevi de oklüzal ilişkilerin korunmasına yardımcı olmaktır. Damar, sinir, lenfatik içermez fizyolojik rezorpsiyon/remodelasyona uğramaz. Hayat boyu yapılıdır. Sementin kalınlığı hayat boyunca değişir. Sementoblastlar oranlarını değiştirebilirler. Sement kalınlığı; servikalde 20-50 µm, apikalde 150-200 µm. Sement tipleri; hücreli fibrilsiz sement, hücreli ekstrinsik fibrilli sement, hücreli intrinsik fibrilli sementtir. Kemik ve sement arasındaki önemli fark, kemiğin yaklaşık %70'i inorganik maddelerden oluşur, tuzlar ve hücreler için karşılık gelen rakam semente sadece %46'dır (Selvig 1962). Sementin içeriği; organik içerik hücreler (sementoblast, sementosit, periodontal ligament fibroblastları), fibriller (Tip 1 ve 3 kollagen) ara madde inorganik içerik, proteoglikan ve glikoprotein yapıda ara maddedir. Sementoblastlar tarafından oluşturulur. Mineralize olur. İnorganik içerik şunlardan oluşur: hidroksiapatit kristalleri, kalsiyum, fosfor, magnezyum, florid, karbonat, sitrat.

2.2. CurCumin

Zingiberaceae familyasının önemli üyelerinden biri olan ve halk arasında "zerdeçal" olarak bilinen *Curcuma longa* L., sarı çiçekli, büyük yapraklı, çok yıllık otsu bir bitkidir. Anavatanı Güney Asya'dır. CurCuma cinsi gelişmiş yer altı kök, sap ve rizomlara sahip olup tozu yemeklere eklendiğinde gıdaların tazeliğini koruması, karakteristik

koku ve tat katması nedeniyle özel bir önem taşır, lezzetini artırır ve gıdaları koruyucu etki gösterir. CurCumin Çin, Endonezya, Hindistan, Tayland ve Afrika'nın tropikal bölgelerinde yaygın bir şekilde yetişmektedir (World Health Organisation 1999). Suda çözünmeyen fakat DMSO, etanol ve asetonda çözünebilen bir kimyasal yapıya sahiptir. Moleküler ağırlığı 368,37 g/mol olan CurCumin'in erime noktası ise 183 °C'dir (ŞEKİL 2.2.1) (Liu and Chen 2013). Bitkinin toprak altındaki ana kökleri (rizom) yumurta veya armut, yan kökleri ise parmak şeklindedir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir. Acımsı bir tadı olup, Nepal'de evlerde ilaç olarak kullanılır (Eigner ve Scholz 1999). Ayurveda tıbbında CurCumin; dahili olarak midevi, kan temizleyici ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılır (Jayaprakasha vd 2005). Geleneksel Hint Tıbbında ise tozundan safra hastalıklarının tedavisinde, anoreksi, grip, soğuk algınlığı, diyabetik yaralar, hepatik rahatsızlıklar, romatizma ve sinüzitte yararlandığı kayıtlıdır (Ammon vd 1992). Antienflamatuvar özelliklerinin ortaya çıkmasıyla birlikte 1970'li yıllardan sonra CurCumin üzerindeki ilgi artmaya başlamıştır. Antiseptik, koku ve tat düzeltici olarak bilinen CurCumin klinik testlerle antibakteriyel etkileri kanıtlanmış, böylece gıda ve kozmetik alanının dışında da kullanımı artmıştır (Ammon 1992, Srimal 1997).



Şekil 2.2.1. CurCumin'in kimyasal yapısı (Becit vd 2017)

Yaklaşık son 50 yılda yapılan detaylı araştırmaları özetleyen bir çalışmada, CurCumin'in kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein [low density lipoprotein (LDL)] düzeyini düşürdüğü, platelet agregasyonunu ve miyokard infarktüsünü engellediği, Tip 2 diyabet, romatoid artrit, multipl skleroz ve Alzheimer ile ilişkili semptomları azalttığı, HIV replikasyonun inhibe ettiği, karaciğer ve akciğer toksisitesini önlediği, safra salgılamasını artırdığı, katarakt oluşumuna karşı koruyucu, ayrıca kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkin rolü olduğu belirtilmiştir (Aggarwal vd 2003, Pari vd 2008).

CurCumin üzerine yapılan birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmada, çeşitli hastalıklar üzerinde koruyucu ve tedavi edici rolü bildirilmektedir. Bu etkilerinde transkripsiyon

faktörleri, büyüme faktörleri, inflamatuvar sitokinler, protein kinazlar ve diğer enzimlerin regülasyonunun aracılık ettiği belirtilmektedir (Aggarwal 2007, Gupta 2013, Shishodia 2005, Pari 2008).

Şifalı bitkiler, geleneksel tıp pratisyenleri tarafından günlük uygulamalarında çeşitli hastalıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel tıp sisteminde, fesleğen'in farklı kısımları (yapraklar, gövde, çiçek, kök, tohumlar ve hatta bütün bitki) bronşit, sıtma, ishal, dizanteri, cilt hastalığı, artrit, göz hastalıkları, böcek ısırıkları vb. tedavisi için tavsiye edilmiştir (Hatcher 2008). Çeşitli iyileştirici özellikleri nedeniyle Ayurveda'da binlerce yıldır kullanılmaktadır. Hindistan'ın efsanevi 'Benzersiz' olan şifalı otların kraliçesi Fesleğen, doğunun şifalı ve sağlıklı şifalı bitkilerinin en kutsal ve en sevilenlerinden biridir. Yaprak uçucu yağı (öjenol) içerir, ürosolik asit, karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol), linalool (3,7-dimetilokta-1,6-dien-3-ol), limatrol, karyofillen, metil karvikol (Estragol olarak da adlandırılır: 1-allil-4-metoksibenzen) tohum uçucu yağında yağ asitleri ve sitosterol bulunurken; ek olarak, tohum müsilajı bazı seviyelerde şeker içerir ve yeşil yapraklarda bulunur. Şekerler ksiloz ve polisakkaritlerden oluşur (Goel vd 2008).

Metformin (1,1-dimetilbiguanid) HCl (MF), tip 2 diabetes mellitus tedavisinde kullanılan Fransız leylakından (*Galega officinalis*) türetilen ikinci nesil bir biguaniddir (Witters 2001). Giugliano ve ark (1993) bazı çalışmalarında yağlı karaciğer hastalığını iyileştirdiği, hepatomegali, steatoz ve aminotransferaz anormalliklerini tersine çevirdiği ortaya konmuştur.

SARS-CoV-2 enfeksiyonunda Metformin'in glukoz seviyelerini optimal düzeyde tutması ve immün modüle edici özelliğinin hastaların sonuçları üzerinde faydalı bir etkiye neden olabileceği fikri öne atılmıştır (Ursini vd 2020).

2.2.1. Antiinflamatuvar Etki

CurCumin'in antiinflamatuvar etkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Hücre kültürü, hayvan çalışmaları ve klinik araştırmalarda CurCumin'in inflamatuvar barsak hastalıkları, pankreatit gibi inflamatuvar yanıtın olduğu hastalıklarda kronik ve akut inflamasyonu baskılayarak etki yaptığı bilinmektedir. Birçok hayvan çalışmasında CurCumin'in antiinflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Hayvan çalışmalarından birinde, %1'lik karragen ile indüklenen ödemde CurCumin'in fareler üzerindeki antiinflamatuvar etkisi gösterilmiştir.

Farelerde CurCumin 48mg/kg dozunda ödemi yarı yarıya azaltarak benzer dozdaki kortikosteroite yakın etki gösterdiği belirtilmiştir (Jurenka 2009).

Nonsteroidantiinflamatuvar ilaçlar ile antiinflamatuvar etkisi yönünden CurCumin karşılaştırıldığında uzun süreli kullanımda yan etki profili açısından daha uygun ve ekonomik olduğu bildirilmiştir (Aggarwal vd 2009).

CurCumin'in antiinflamatuvar etkisine yönelik öne sürülen etki mekanizmaları şu şekildedir. İnflamasyon ile ilişkili hücre yüzeyinde bulunan adezyon moleküllerinin oluşumunun baskılanması (Hatcher vd 2008). İnflamasyon sürecinde rol oynayan oksijen radikallerini süpürücü etkisi (Aggarwal vd 2007).

Transkripsiyon faktörü nukleer faktor kapa B (NF-kB)'nin aktivasyonunun engellenmesi (Singh ve Aggarwal 1995). Proinflamatuvar enzimlerden siklooksijenaz ve 5-lipooksijenazenziminin ekspresyonunu engellenmesi (Hong vd 2009). Sitokinlerin [tümör nekrozis faktör (TNF), interlokin (IL)-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12] ekspresyonunun etkisinin hidrokarbon reseptörleri üzerinden inhibisyonu (Ciolino 1998, Jagetia 2007).

Periferal mononukleer hücreler (PBMCs) tarafından oluşturulan [matriks metalloproteinaz (MMP)]'lerin üretimini ve aktivitesinin doza bağımlı inhibisyonu (Hatcher vd 2008).

2.2.2. Antimikrobiyal Etki

CurCumin' in gıda ve tekstil ürünlerinde toksik etki göstermeden antibakteriyel özelliğe sahip olmasından dolayı kullanıldığı bilinmektedir (Han ve Yang 2005). Antibakteriyel etkisinin yanı sıra CurCumin'in antiviral, antimalaryal, antifungal, antiprotozoal etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir (Ammon HP, Wahl 1991).

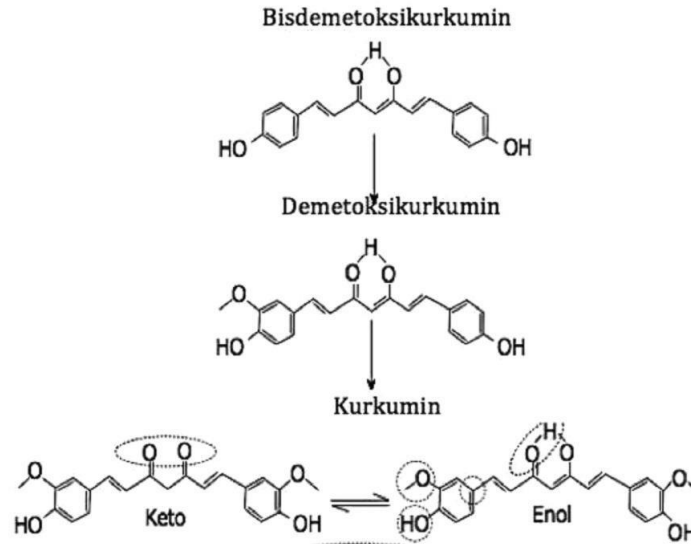
Birçok in vitro çalışmada CurCumin'in HIV Tip 1 ve 2 virüsünün replikasyonunu önleyerek AIDS hastalarında umut vaat edeceği sonuçlar alınabileceği ileri sürülmektedir (Aggarwal ve Harikumar2009). CurCumin ile çeşitli antibiyotikler denenmiş ve CurCumin varlığının antibiyotik ile sinerjistik etki ortaya çıkardığı gösterilmiştir (Moghaddam vd 2009).

2.2.3. Antidiyabetik Etki

CurCumin'in diyabet hastalığında geleneksel tıbbi kullanımının olduğu bilinmektedir. CurCumin'in karaciğer bozuklukları, glisemi, adipoz doku disfonksiyonu, nefropati, nöropati, vasküler hastalıklar, pankreatik beta hücre disfonksiyonu, testikuler hasar gibi diyabet ve diyabet komplikasyonların da etkili olduğu bildirilmektedir (Zhang vd 2013). CurCumin'in, proinflamasyon sinyalleri düzenleyerek etki gösterdiği, ayrıca TNF-alfa ve NF-kB ekspresyonunu engelleyerek insülin direncini azaltarak insüline dirençli Tip 2 diyabet hastalarında ve birçok diyabetik hayvan modellerinde antidiyabetik etki gösterdiği bildirilmektedir (Aggarwal vd 2007). CurCumin'in hipoglisemik etkisi çeşitli araştırmalarda farklı şekillerde açıklanmaktadır. Bir araştırmada, CurCumin'in doğrudan pankreasın beta hücrelerini uyararak hipoglisemik etkiye neden olduğu belirtilirken, bir başka çalışmada ise peroksizom proliferator aktive reseptör gama bağlama aktivitesi ile kan glukoz seviyelerinin yükselmesini engellediği belirtilmektedir (Best 2007, Nishiyama 2005). Fareler üzerinde oluşturulan diyabetik ağrı modelinde CurCumin'in, nitrik oksit ve TNF-alfa salı verilmesini inhibe edici etkisi gösterilmiştir (Sharma vd 2007).

2.3. CurCumin'in Fizikokimyasal Yapısı

C. longa bitkisinin aktif bileşenleri CurCuminoit olarak adlandırılmakta ve bitki yaklaşık olarak %5 oranında CurCuminoid içermektedir. CurCumin (%80), demetoksi kurkumin (%18) ve bis-demetoksikurkumin (%2) doğal fenoller olarak bilinen CurCuminoid ailesinin en bilinen üç ana fenolik bileşikleridir (Şekil 2.3.1) (Sharma 2005, Goel 2008, Pari 2008, Gupta 2013).



ŞEKİL 2.3.1: Bis-demetoksi CurCumin, Demetoksi CurCumin ve CurCuminin (enol ve keto formları) kimyasal yapıları (Becit vd 2017)

CurCumin'in (diferuloilmetan, C₂₁H₂₀O₆; MA:368,38 g/mol)'in kimyasal adı Uluslararası Temel ve Uygulamaları Kimya Birliği [International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)] tarafından 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion olarak belirlenmiştir. CurCumin; portakal kabuğu renginde, eterde ve suda çözünmeyen, lipofilik bir bileşik olup çeşitli organik çözücülerde (etanol aseton, dimetilsulfoksit, kloroform gibi) çözünen fenolik yapı bir bileşiktir (Aggarwal 2003, Sharma 2005, Goel 2008). CurCumin'in kimyasal yapısı incelendiğinde keto ve enol formu olmak üzere iki tautomerik formdan oluşmaktadır. Enol formu katı halde ve solusyon içinde etkilidir. Beta pozisyonunda bağlanmış olan 2 keton grubu CurCuminin antioksidan etkisinde sorumlu tutulmaktadır (Kolev 2005, Dulbecco 2013).

2.4 Hipotez

Bu çalışmada hipotezimiz; Yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz bırakılmış PDL hücre hattı üzerine CurCumin'in koruyucu etkisi olduğudur ve PDL fibroblast hücre hattı (hPDLF) CurCumin'in yüksek doz glukozun (4500 mg/mL) yol açtığı harabiyete karşı koruyucu etkisi moleküler düzeyde daha kolay anlaşılabilir olacak ve CurCumin'in farklı prepatlarının ilaç olarak çalışmalarının önü açılacaktır. Ayrıca, CurCumin ile karşılaştırmak amacıyla yaygın olarak çalışılan Fesleğen ve Metformin'nin PDL üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı kontrol edildi.

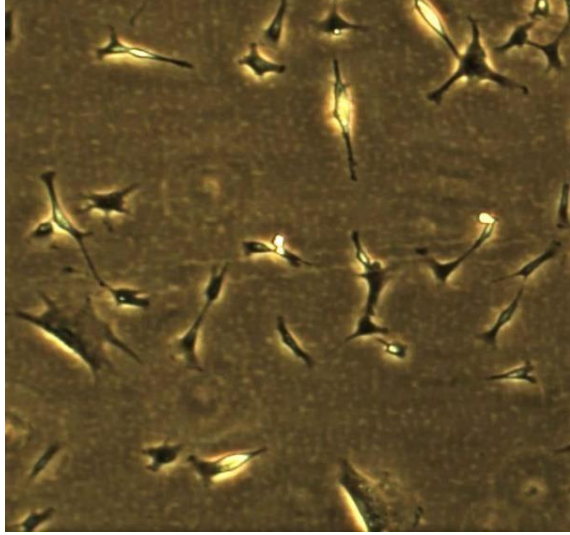
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Ligamentum Periodontale Hücre Kültürünün Hazırlanışı

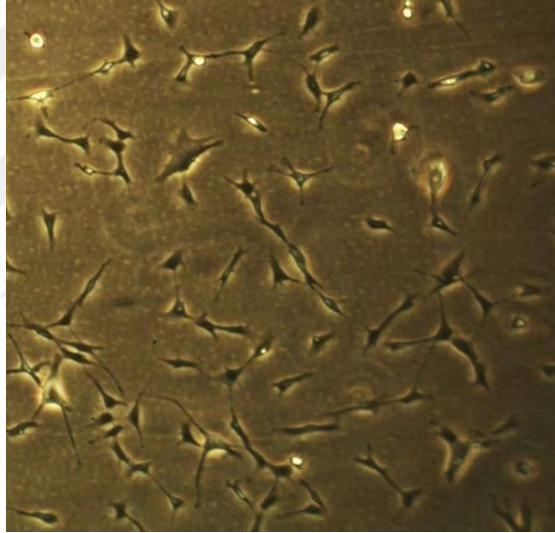
PDL Fibroblast hücreleri (hPdLF) firma tarafından önerilen protokol doğrultusunda medium bileşikleri kullanılarak kültüre edildi.

Medium içeriği:

500 mL Clonetics Stromal Basal Medium Cat. No: CC-3204 Lot No: 0000935042 içerisine FBS 25 mL, İnsülin 0,5 mL, GA1000 (Gentamisin Sülfate Amphotericin B) 0,5 mL, rhFGF 0,5 mL growth supplementler eklenerek hazırlandı. Hazırlanmış olan besiyeri 37 °C su banyosunda inkübe edildi. (Şekil 3.1.1) Oda sıcaklığında besiyeri 5 ayrı flaska 5 ml olarak konuldu, flasklar 30 dk 37 °C inkübatörde bekletildi. 1 mL gelen PDL hücresi, her flaska 200 µL olacak şekilde toplamda 5 flaska bölündü. Ortalama her gün kontrolleri yapılarak yaklaşık 4 gün sonra hücrelerin eski besiyerleri çekilip üzerilerine 5 mL yeni besiyerleri verilerek kültürasyona devam edildi. Hücreler flask yüzeyini kaplayınca 1 mL PBS solusyonu ile yıkanip %25 tripsin ile kaldırıldı. 123 g'de santrifülenip %5 DMSO 'da donduruldu (Şekil 3.1.2).



ŞEKİL 3.1.1- Ligamentum Periodontale Hücresi 1. gün



ŞEKİL 3.1 2 Ligamentum Periodontale Hücresi;7. gün

3.2. CurCumin Dozlarının Hazırlanması

CurCumin (*Curcuma longa* [Turmeric], powder C1386 Sigma-Aldrich) ticari olarak satın alındı. Yavaş yavaş ısıtılarak DMSO (*Dimethyl sulfoxide*, D2650 Sigma-Aldrich)'da çözülüp filtreden geçirildi. 10 mM/mL stok CurCumin elde edildi. CurCumin'in 2 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 50 μ M, dozlarında 6 farklı konsantrasyonu hazırlanarak, 72 saatlik inkübasyonunda doza bağımlı araştırması yapıldı. Tüm çalışmalar 2 tekrarlı olarak sürdürüldü.

3.3. Metforminin Hazırlanışı

Ticari olarak satın alınan Metformin üretici firmanın protokolüne uygun olarak hazırlandı. 5 mg Metformin hassas terazi yardımıyla tartıldı. 3019 µL moleküler grade suda çözülerek 10 mM stok Metformin solüsyonu hazırlandı. 2 µM, 5 µM, 20 µM, 30 µM, 50 µM dozlarında 6 farklı konsantrasyonu hazırlanarak, 72 saatlik inkübasyonunda doza bağımlı araştırması yapıldı. Tüm çalışmalar 2 tekrarlı olarak sürdürüldü.

3.4. Fesleğen Hazırlanışı

Ticari olarak satın alınan Fesleğen firmanın protokolüne uygun olarak hazırlandı. 4 mg Fesleğen hassas terazi yardımıyla tartıldı. 5 mL distile su suda çözündürülerek 800 mg/mL ana stok hazırlandı. 250 µM, 300 µM, 350 µM, 400 µM dozlarında 6 farklı konsantrasyonu hazırlanarak, 72 saatlik inkübasyonunda doza bağımlı araştırması yapıldı. Tüm çalışmalar 2 tekrarlı olarak sürdürüldü.

3.5. Sitotoksosite Testi İle Hücre Canlılığının Saptanması

MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid) testi kolorimetrik ölçümlere dayanan hücre çoğalma miktarının tespit edildiği bir yöntemdir. Örneklerin hücre kültürü üzerinde sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için uygulanan MTT testi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı Hücre Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirildi.

CurCumin, Fesleğen, Metformin, Düşük Doz Glukoz (1100 mg/mL), Yüksek Doz Glukoz (4500mg/mL) belirtilen dozlarda besiyeri içerisinde çözdürülerek kullanımı ile hücrelerin çoğalması üzerinde inhibisyona yol açıp açmadığı incelendi. Ayrıca, yapılacak uygulamaların hücre ölümü üzerindeki etkileri kantitatif olarak araştırıldı. Bu amaçla MTT testi uygulandı.

3.5.1. Sitotoksosite Testi İçin Hazırlık

Laminar flow kabininde PDL hücreleri (hPDLF), Fibroblast Media içeren 75 cm² flask içine alındı. Hücreler, %5 CO² ve %95 nem içeren inkübatörde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Mikroskop ile hücrelerin canlılığı, kontaminasyon durumu incelendi. Laminar flow kabininde hücre kültür süspansiyonu flasktan cam pipet ve vakum yardımıyla şişe tabanına değmeden dikkatlice uzaklaştırıldı. Hücreler 2 kez 2–3 mL PBS ile yıkandı ve ardından flaska 5 mL tripsin-EDTA çözeltisi ilave edildi.

İnkübatörde 3-5 dak. süreyle bekletilerek hücrelerin flask tabanından ayrılması sağlandı. Pipetajla attıktan sonra 10 mL besi eklenerek tripsin-EDTA uzaklaştırıldı. Santrifüj tüpüne alınan hücre süspansiyonu 25 °C'de 1200 rpm'de 5 dak. santrifüj edildi. Laminar flow kabiniinde süpernatant atıldı, dipte toplanan hücre pelleti 2 mL besi yerinde homojenize edildi.

Elde edilen hücre süspansiyonundan 50 mL alındı üzerine 50 mL tripan-blue çözeltisi eklenerek süspanse edildi. Süspansiyondan 20 µL thoma lamına eklendi. Hücreler mikroskopta sayıldı. Canlı hücre sayısı; Toplam Hücre Sayısı x Dilüsyon Faktörü x 10.000 formülüne göre hesaplandı. Hücre süspansiyonu daha fazla hücreelde etmek için dilüe edildi. Her bir kuyucuğa 200 µL olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plağa ekim yapıldı. Hücreler, %5 CO² ve %95 nem içeren inkübatörde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra besi yeri uzaklaştırıldı.

24 saatlik inkübasyondan sonra 96'lık plağın her kuyucuğuna 100 µL besiyeri eklendi. Hazırlanan CurCumin dozları (2 µM, 5 µM, 10 µM, 20 µM, 30 µM, 50 µM), Fesleğen dozları (250 µM, 300 µM, 350 µM, 400 µM), Metformin dozları (2 µM, 5 µM, 20 µM, 30 µM, 50 µM) 2 tekrarlı olmak üzere PDL fibroblast (hPdLF) medyuma ilave edildi. Madde uygulanan hücre hatlarına 72 saat süreli inkübasyondan sonra MTT yöntemi uygulandı.

3.5.2. MTT Testi Uygulanışı

Test maddeleri ile 37 °C'de %5 CO²'de 72 saat inkübe edilen hücre dizisini içeren 96 well plate'te her kuyuya 10,000 hücre olacak şekilde ekildi. Ertesi gün eski besiyeri çekilip total hacim 100 µL olacak şekilde CurCumin, Fesleğen, Metformin, Düşük Doz Glukoz (1100 mg/mL), Yüksek Doz Glukoz (4500 mg/mL) her kuyucuğuna MTT çözeltisi eklendi. 37 °C, %5 CO² ve %95 nem içeren etüvde 4 saat daha inkübasyona bırakıldı. 4 saatlik inkübasyon süresinin sonunda oluşan formazan kristallerinden kaynaklanan renkdeğişimi, mikropalak okuyucu spektrofotometre (Promega) ile 450 nm absorbans değerinde ölçüldü. Microsoft Excel programı yardımı ile uygulanan doz ve % hücre sağkalım eğrisi belirlenerek %50 baskılayıcı konsantrasyon (IC₅₀) değeri hesaplandı.

3.5.3. TUNEL Yöntemi ile Apoptozis Belirlenmesi

TUNEL uygulaması için kullanılan apoptoz tarama kiti 11 684 809 910 Roche In Situ Cell Death Detection Kit, AP 'dur. In Situ Cell Death Detection Kit, hücrelerde ve dokularda tek hücre seviyesinde apoptotik hücre ölümünü tespit etmek ve ölçmek için kesin, hızlı ve basit, radyoaktif olmayan bir teknik olarak tasarlanmıştır. -15 — -25 °C'de saklanmalıdır.

TUNEL reaksiyonu, apoptozis sırasında ortaya çıkan DNA zinciri kırılmalarını etiketleyerek *in situ* olarak tanınmalarını sağlar (Gavrieli, Sherman et al. 1992, Kressel ve Groscurth 1994). Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. DNA polimerazın yanı sıra terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) etiketli nükleotidlerin *in situ* DNA zincir kırıklarına dahil edilmesi için kullanılmıştır. Bu kolay ve hızlı prosedürün ana avantajı, floresan-dUTP kullanılmasıdır. Bu, ikincil anti-floresin-AP konjugatının eklenmesinden önce TUNEL reaksiyonundan hemen sonra floresan mikroskopu ile DNA fragmentasyonunun saptanmasına izin verir.

Gerekli solüsyonlar:

- ✓ PBS
- ✓ Fiksasyon Solüsyonu - PBS içinde %4 paraformaldehit (pH: 7,4)
- ✓ Permeabilizasyon Solüsyonu - %0,1 sodyum sitrat içinde %0,1 Triton X-100

3.5.3.1. TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) Yöntemi

50.000 hücre ekildi. 24 saat inkübasyondan sonra maddeler (Kontrol grubu, Düşük Doz Glukoz (1100 mg/mL), Yüksek Doz Glukoz (4500 mg/mL), Düşük doz glukoz+CurCumin (2 µM), Yüksek doz glukoz+CurCumin (2 µM) eklendi. 72 saat sonra Besiyeri + PBS + Tripsin'de hücreler ayrı falkonlara toplandı. 1500 rpm'de 5 dak. santrifüj edildi. Üst faz atıldı, pelletlerin üzerine 100 µL paraformaldehit eklenerek 5-6 kez pipetajlandı. 5 dak. bekletildi. Pozitif lam üzerine fiksasyon solüsyonu dikkatlice yayıldı. 60 dk 15 °C – 25 °C'de üstü açık şekilde inkübe edildi. Inkübasyon sonunda lamlar iki kere PBS'e daldırılıp çıkarıldı, kurumaya bırakıldı. Lamaların üzerine 100 µL permeabilizasyon solüsyonu eklendi ve +4 °C'de inkübe edildi.

TUNEL solüsyonu hazırlandı; 4 örnek için, 25 µL Enzim + 225 µL Label = 250 µL. Lamların üzerine 50 µL TUNEL solüsyonu eklendi, 60 dk karanlık ortamda 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 3 kez PBS solüsyonunda yıkandı. Kuruduktan sonra flouresan mikroskobunda incelenerek görüntü alındı.

3.6. İstatistiksel Yöntemler

Değerler, 96 bağımsız deneyden ortalama \pm standart hata olarak verildi. İstatistiksel çalışmada önce varyans analizi ve eşleştirilmemiş t testi (bağımsız örneklem t testi) yapıldı. Daha sonra varyans analizindeki anlamlılığın hangisinden kaynaklandığını belirlemek için StatView yazılımı (Abacus kavramları, Berkeley, CA, ABD) kullanılarak post-hoc test yapıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

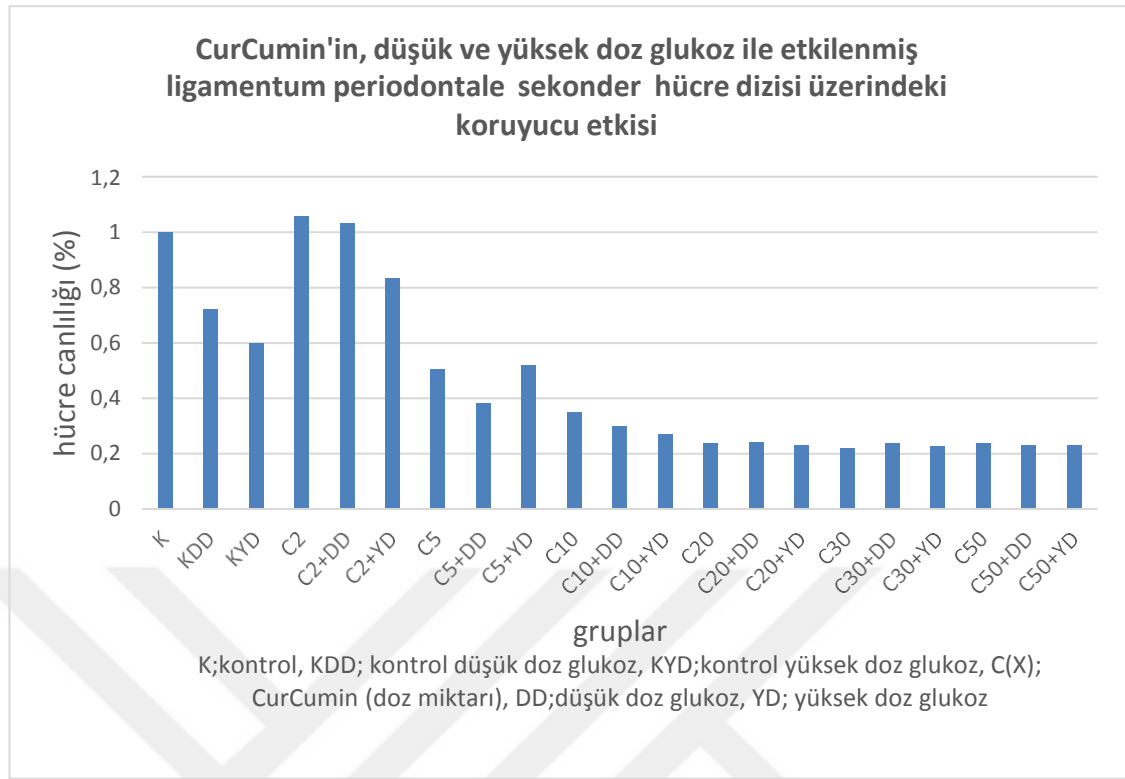
4.1. CurCumin, Fesleğen, Metformin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Kontrol grubunda hücre canlılığı yüzde yüz (1) kabul edilmiştir. Hücelere uygulanan Düşük Doz Glukoz (1100 mg/mL), Yüksek Doz Glukoz (4500 mg/mL) sekonder PDL hücre canlılığını istatistiki olarak anlamlı derecede azaldı ($p < 0,05$). Yüksek ve düşük doz glukoz verilen hücelere aynı zamanda 2 μ M CurCumin verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığı arttı. CurCumin dozu 5 μ M 50 μ M'a kadar PDL hücrelerinde toksik etkisini gösterdi ve bu aralıklarda hücre canlılığı belirgin şekilde azaldı. Bu yüzden bu doz aralıklarında CurCumin etkisi ölçülemedi (Tablo 4.1.1, şekil 4.1.1).

Tablo 4.1.1: CurCumin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi

K	KDD	KYD
1	0,72	0,6
C2	C2+DD	C2+YD
1,057	1,032	0,835
C5	C5+DD	C5+YD
0,504	0,383	0,52
C10	C10+DD	C10+YD
0,35	0,301	0,271
C20	C20+DD	C20+YD
0,238	0,241	0,231
C30	C30+DD	C30+YD
0,22	0,238	0,228
C50	C50+DD	C50+YD
0,238	0,23	0,231

(gruplar: K;kontrol, KDD; kontrol düşük doz glukoz, KYD; kontrol yüksek doz glukoz, C(X); CurCumin (doz miktarı), DD;düşük doz glukoz, YD; yüksek doz glukoz)

SEKİL 4.1.1:

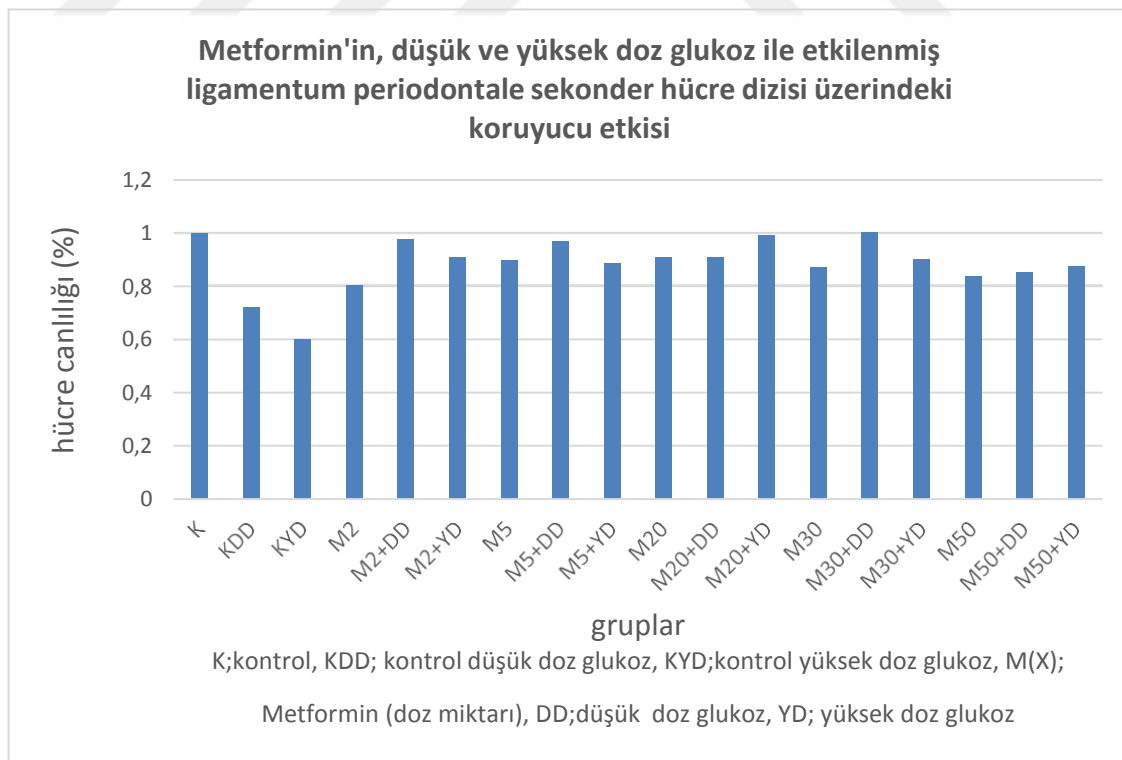
Metformin için yapılan deneyde yine kontrol grubunda hücre canlılığı yüzde yüz (1) kabul edildi. Hücrelere uygulanan düşük doz (1100 mg/mL) ve yüksek doz glukoz (4500 mg/mL), sekonder PDL hücre canlılığını istatistiki olarak anlamlı derecede azalttı ($p < 0,05$). Yüksek ve düşük doz glukoz verilen hücrelere aynı zamanda 2, 5, 20, 30 ve 50 μ M Metformin verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığı tüm dozlarda arttı ($p < 0,05$). Kullandığımız Metformin dozları PDL hücrelerde toksik etki göstermedi. Metformin tüm gruplarda istatistiki olarak anlamlı şekilde hücre canlılığını arttırdı (Tablo 4.1.2, Şekil 4.1.2).

Tablo 4.1.2: Metformin'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi

K	KDD	KYD
1	0,72	0,6
M2	M2+DD	M2+YD
0,804	0,978	0,91
M5	M5+DD	M5+YD
0,896	0,968	0,888
M20	M20+DD	M20+YD
0,909	0,908	0,99
M30	M30+DD	M30+YD
0,87	1,003	0,9
M50	M50+DD	M50+YD
0,837	0,854	0,875

(gruplar: K;kontrol, KDD; kontrol düşük doz glukoz, KYD; kontrol yüksek doz glukoz, M(X); Metformin (doz miktarı), DD;düşük doz glukoz, YD; yüksek doz glukoz)

Sekil 4.1.2:



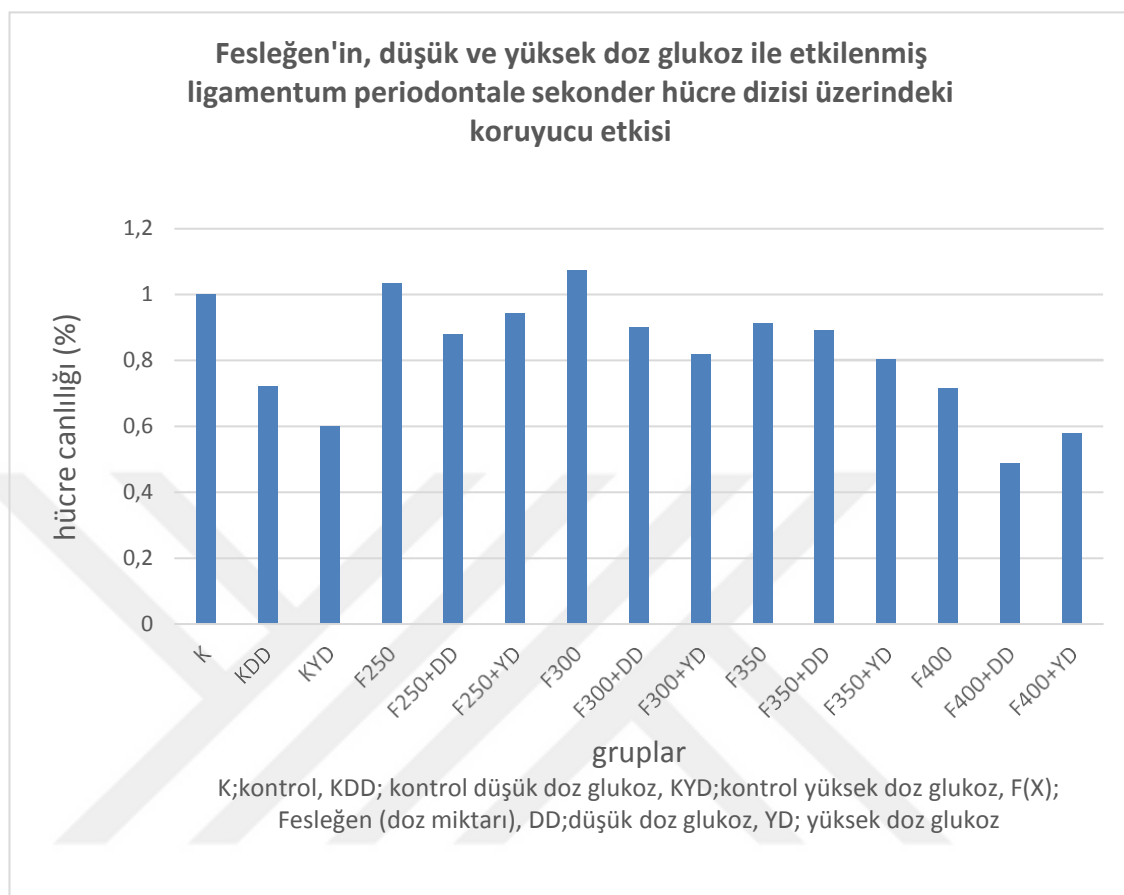
Fesleğen için yapılan deneylerde, kontrol grubunda hücre canlılığı yüzde yüz (1) kabul edildi. Hücrelere uygulanan düşük doz (1100 mg/mL) ve yüksek doz glukoz (4500 mg/mL), sekonder PDL hücre canlılığını istatistiki olarak anlamlı derecede azalttı ($p < 0,05$). Yüksek ve düşük doz glukoz verilen hücrelere aynı zamanda 250, 300 ve 350 μ M Fesleğen verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığı arttı. Fakat 400 μ M Fesleğen PDL hücrelerine toksik etkisini göstermiş ve bu aralıklarda hücre canlılığı belirgin şekilde azaldı. Bu yüzden bu dozda Fesleğen etkisi ölçülemedi (Tablo 4.1.3, Şekil 4.1.3).

Tablo 4.1.3: Fesleğen'in, düşük ve yüksek doz glukoz ile etkilenmiş ligamentum periodontale sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkisi

K	KDD	KYD
1	0,72	0,6
F250	F250+DD	F250+YD
1,033	0,88	0,941
F300	F300+DD	F300+YD
1,074	0,899	0,817
F350	F350+DD	F350+YD
0,911	0,893	0,802
F400	F400+DD	F400+YD
0,715	0,487	0,58

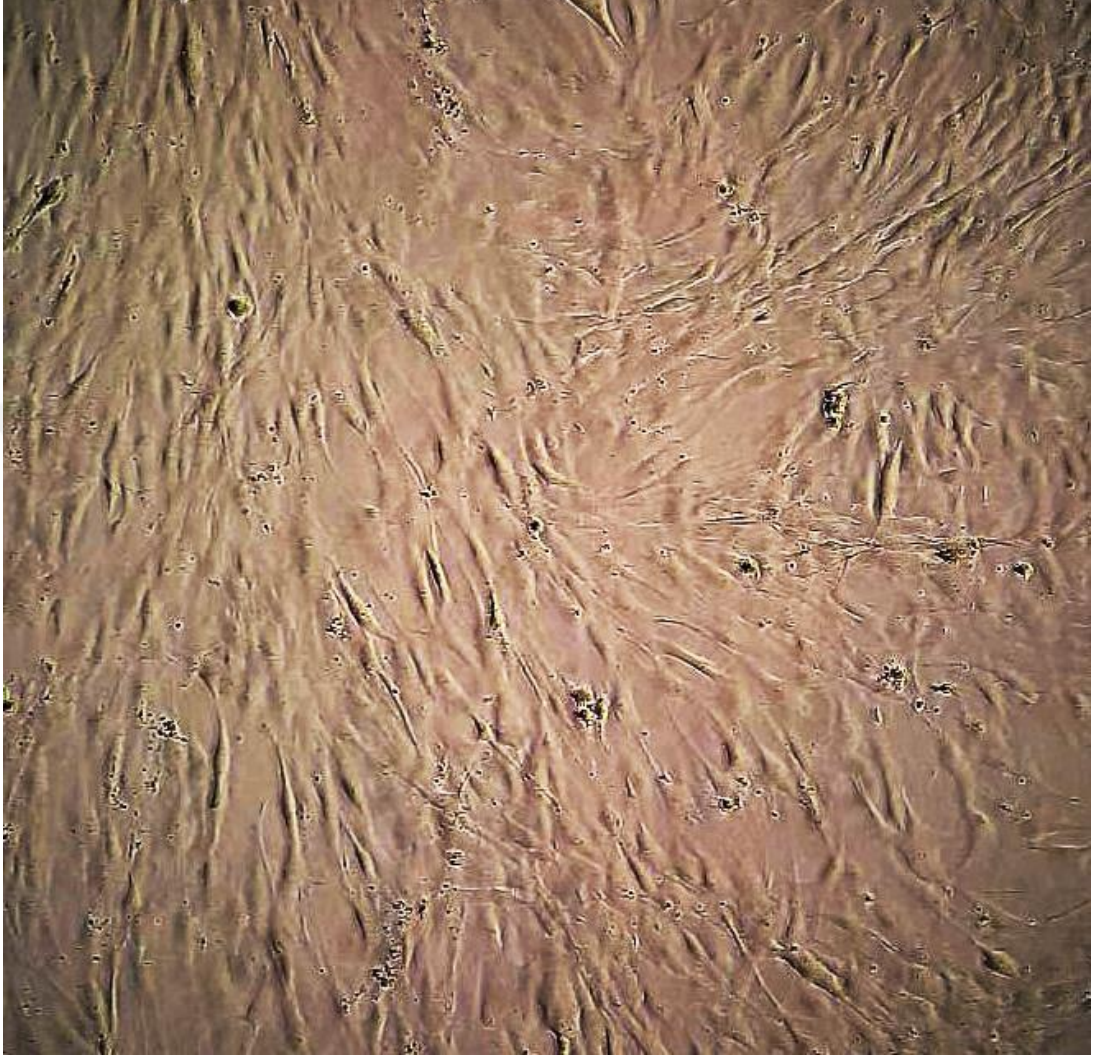
(gruplar: K;kontrol, KDD; kontrol düşük doz glukoz, KYD; kontrol yüksek doz glukoz, F(X); Fesleğen (doz miktarı), DD;düşük doz glukoz, YD; yüksek doz glukoz)

Şekil 4.1.3:

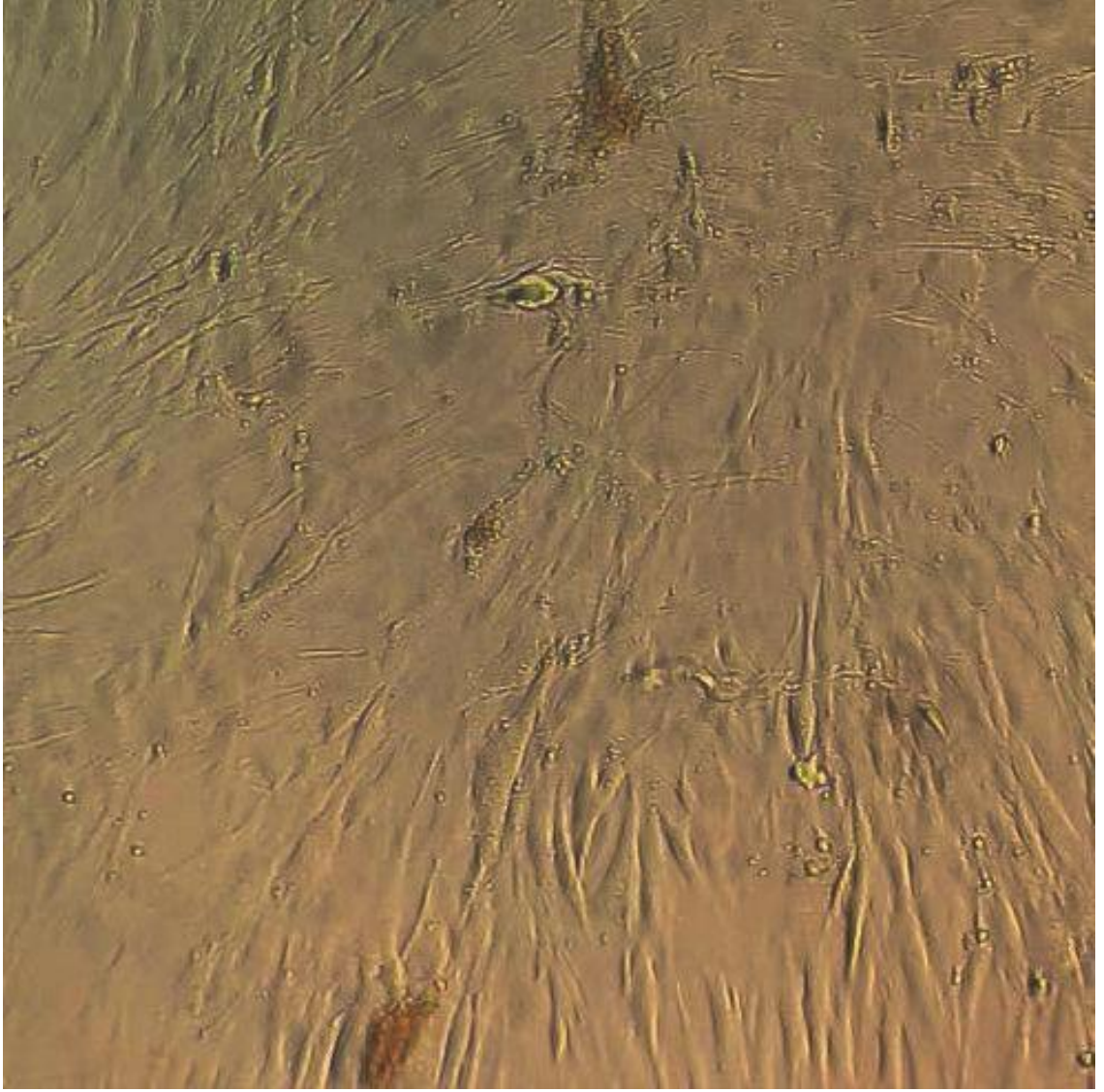


CurCumin, Metformin ve Fesleğen'in ortak özellikteki antioksidan özellikleri daha önceki birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmalar daha çok sinir sistemi ve sinir sisteminde bulunan hücrelerde yapılmıştır. İlk defa olarak bizim çalışmamızda bu 3 ajanın beraber kullanımı ile PDL sekonder hücre dizisi üzerindeki koruyucu etkileri istatistiki olarak anlamlı derecede ortaya konuldu ($p < 0,05$).

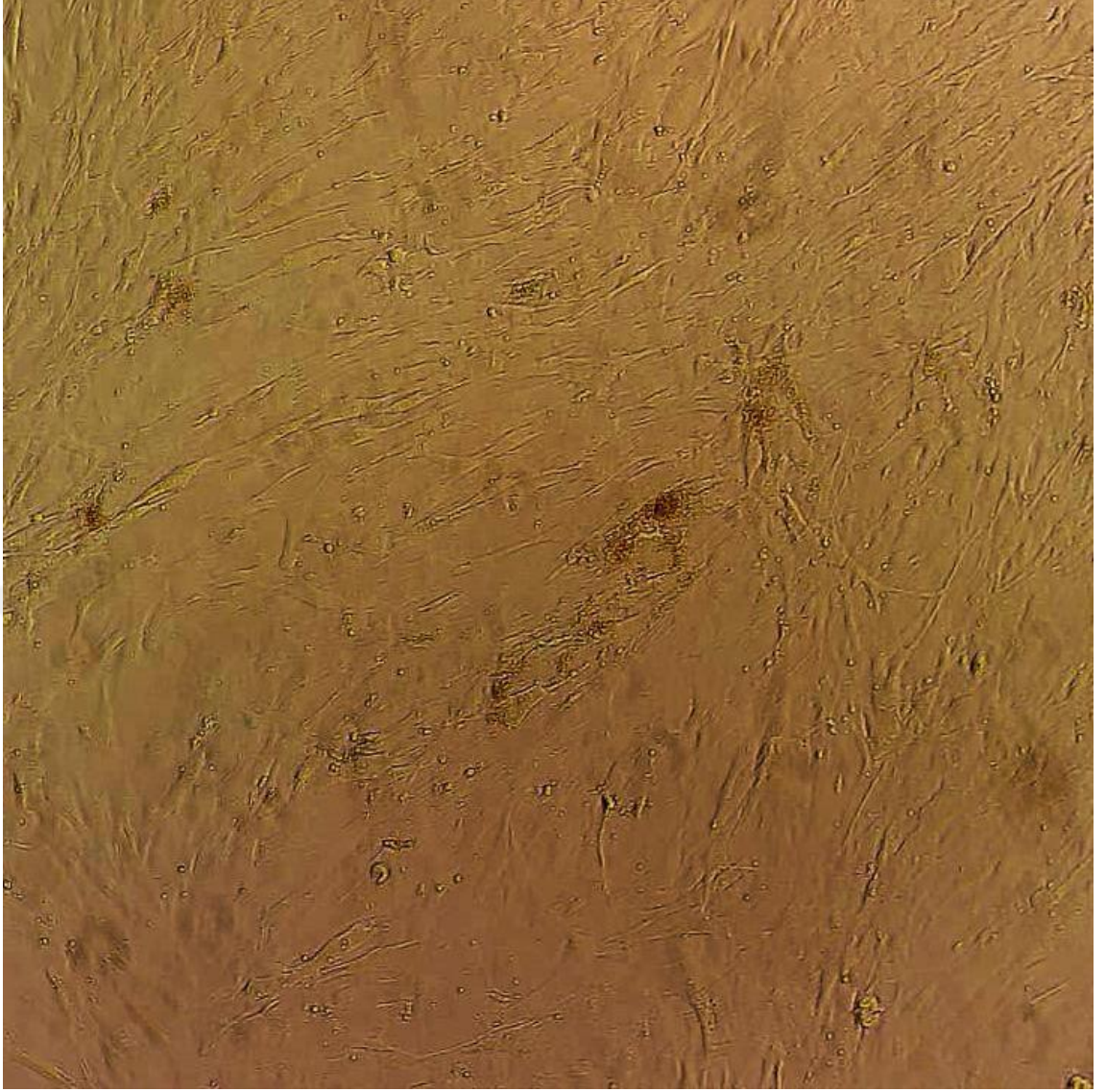
4.2. MTT Uygulamasında Hücre Canlılığı



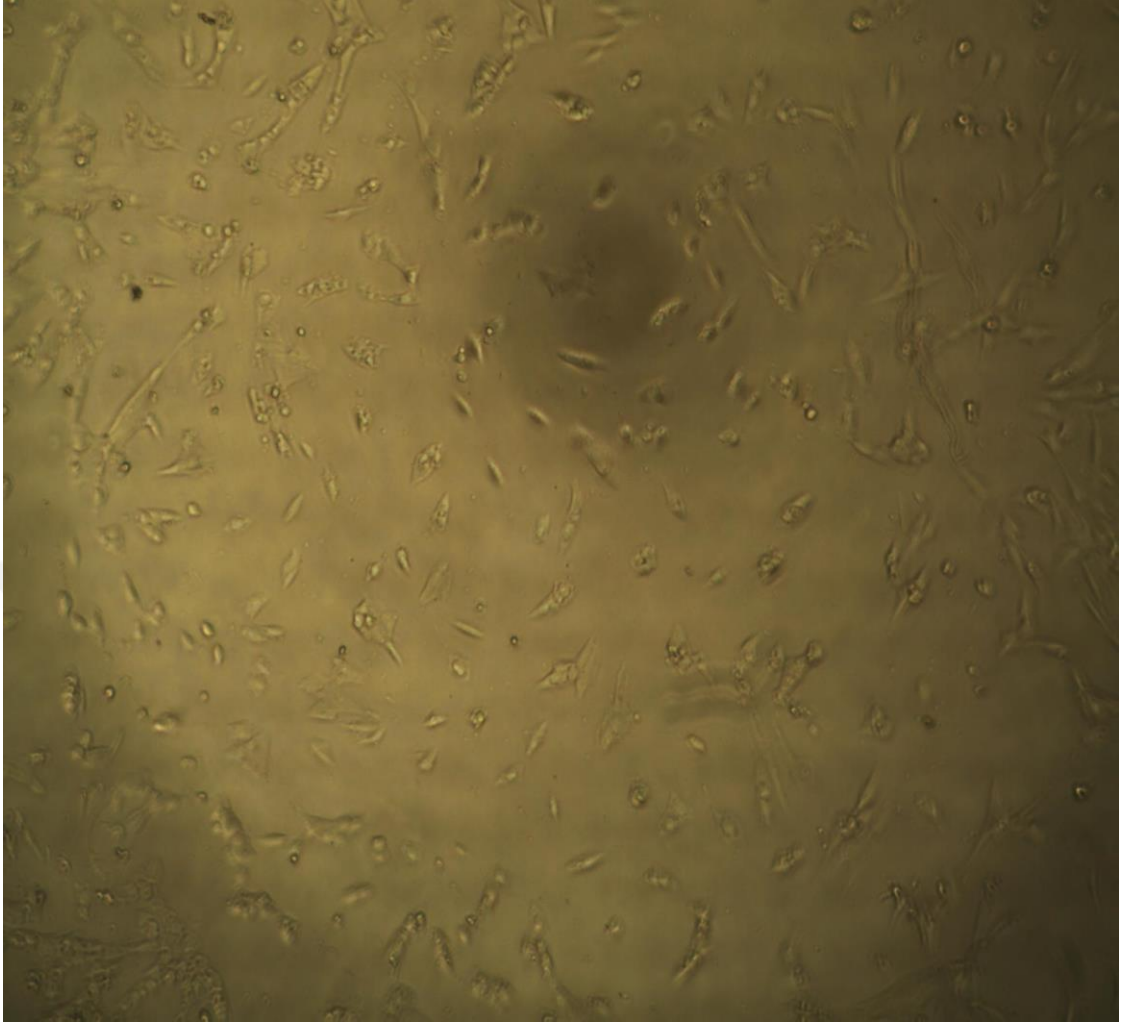
Şekil 4.2.1 MTT uygulamasında hücre canlılığı. Kontrol grubu (x40).



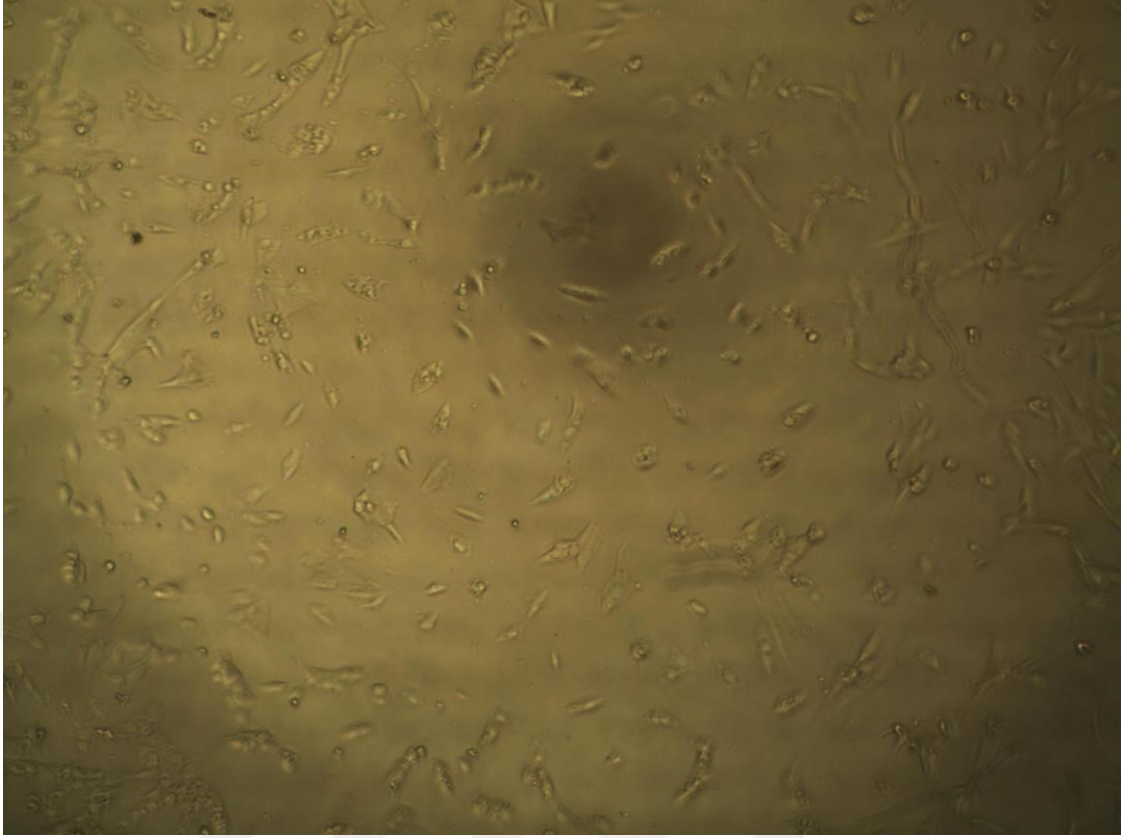
Şekil 4.2.2. MTT uygulamasında hücre canlılığı. Düşük Doz Glukoz grubu (x40).



Şekil 4.2.3. MTT uygulamasında hücre canlılığı. Yüksek Doz Glukoz Grubu (x40).



Şekil 4.2.4 MTT uygulamasında hücre canlılığı CurCumin 2 μ M +Yüksek Doz Glukoz Grubu(x40).



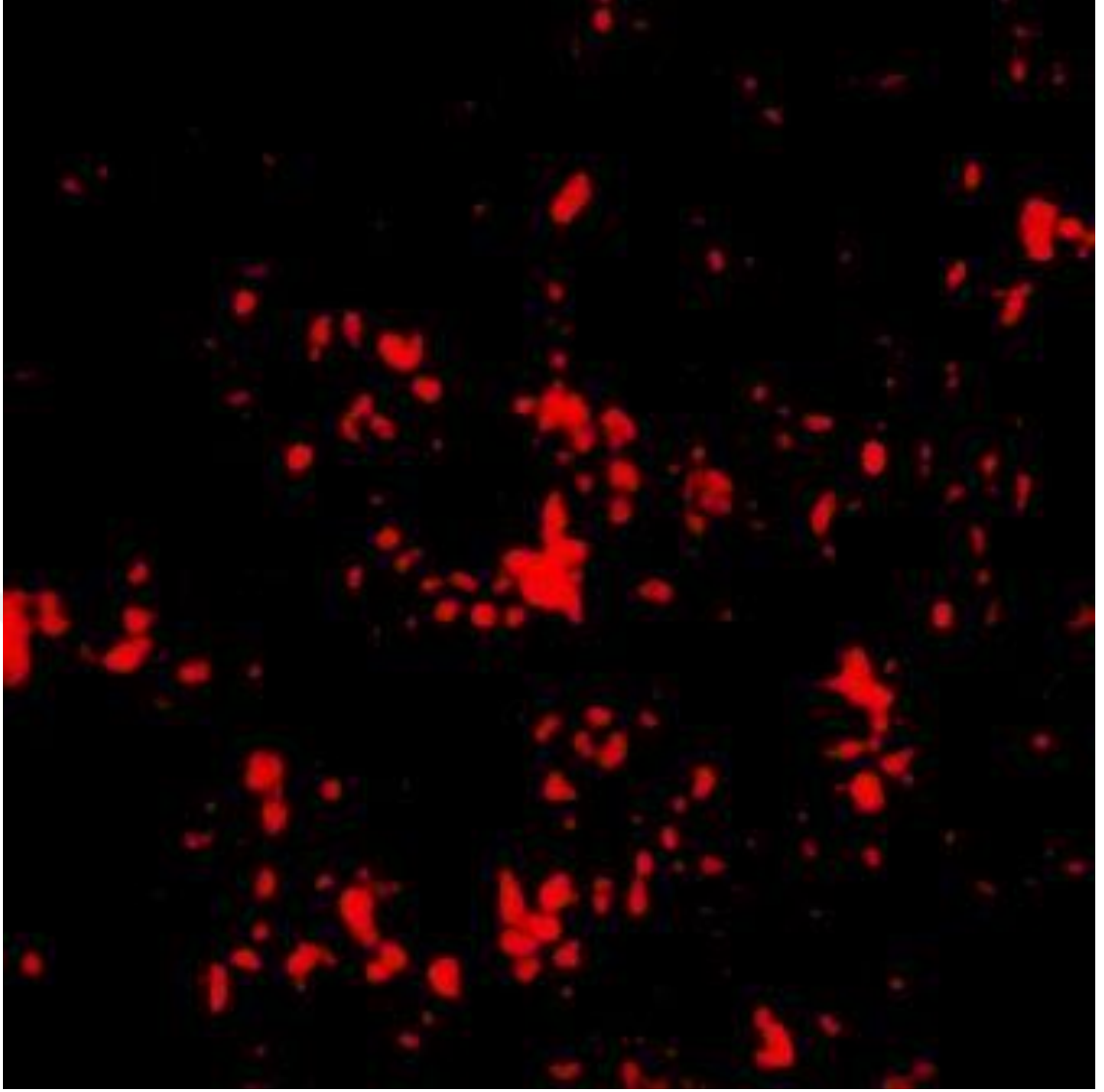
Şekil 4.2.5 MTT uygulamasında hücre canlılığı. CurCumin 2 μ M + düşük doz glukoz grubu (x40).

4.3. Apoptozisin Değerlendirilmesi

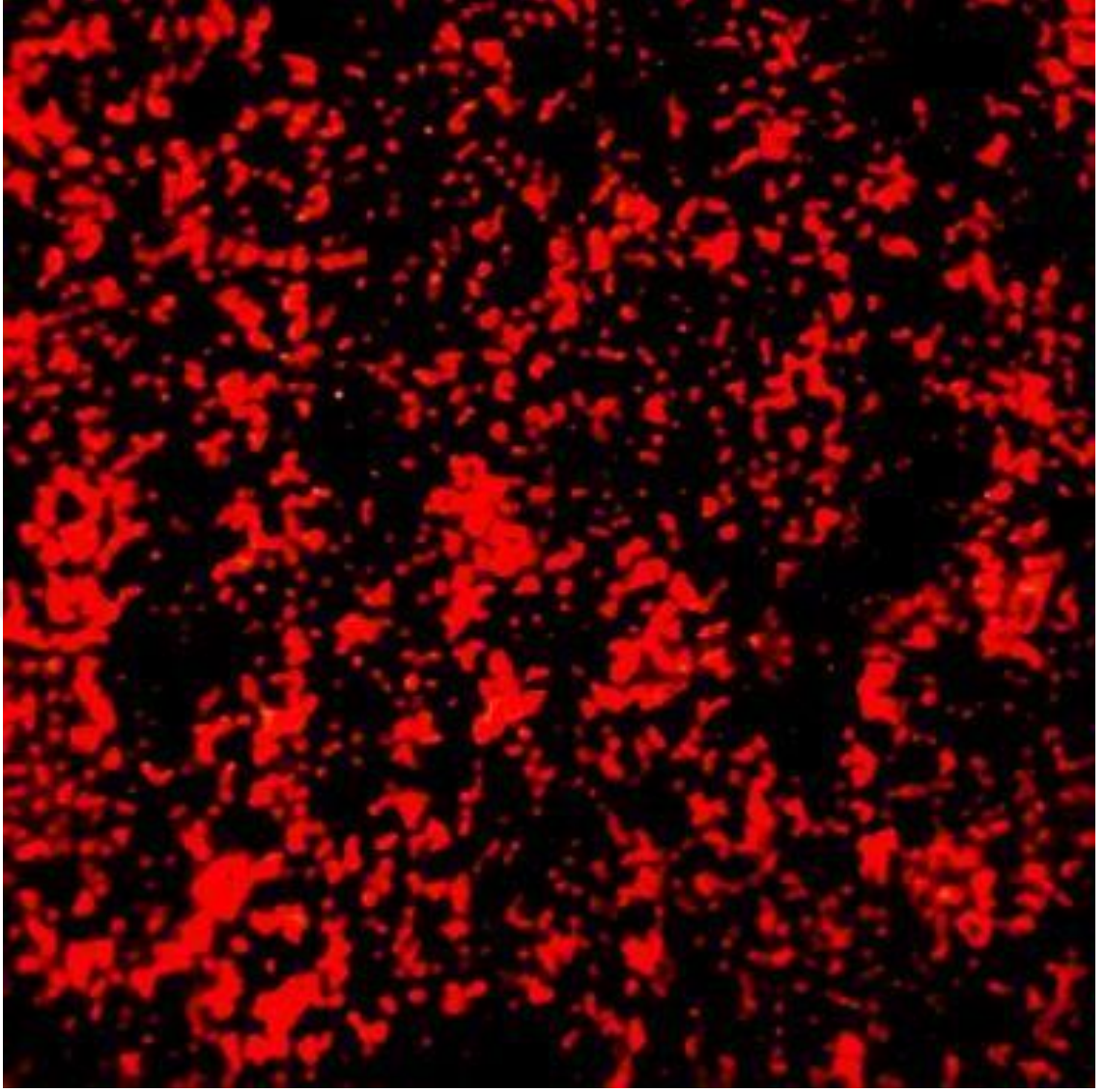
Gruplarda PDL hücrelerinde apoptozis 24. saatte değerlendirildi. Apoptozis kontrol grubunda en düşük, yüksek glukoz grubunda en yüksekti. Yüksek glukoz grubuyla karşılaştırıldığında, CurCumin + yüksek doz glukoz grubundaki apoptozis düşüklüğü, CurCumin'in koruyucu etkisini destekledi. Düşük doz glukoz grubundaki apoptotik etki yüksek glukoz grubuyla karşılaştırıldığında düşük doz glukoz apoptotik etkisinin az olduğunu gördüldü.



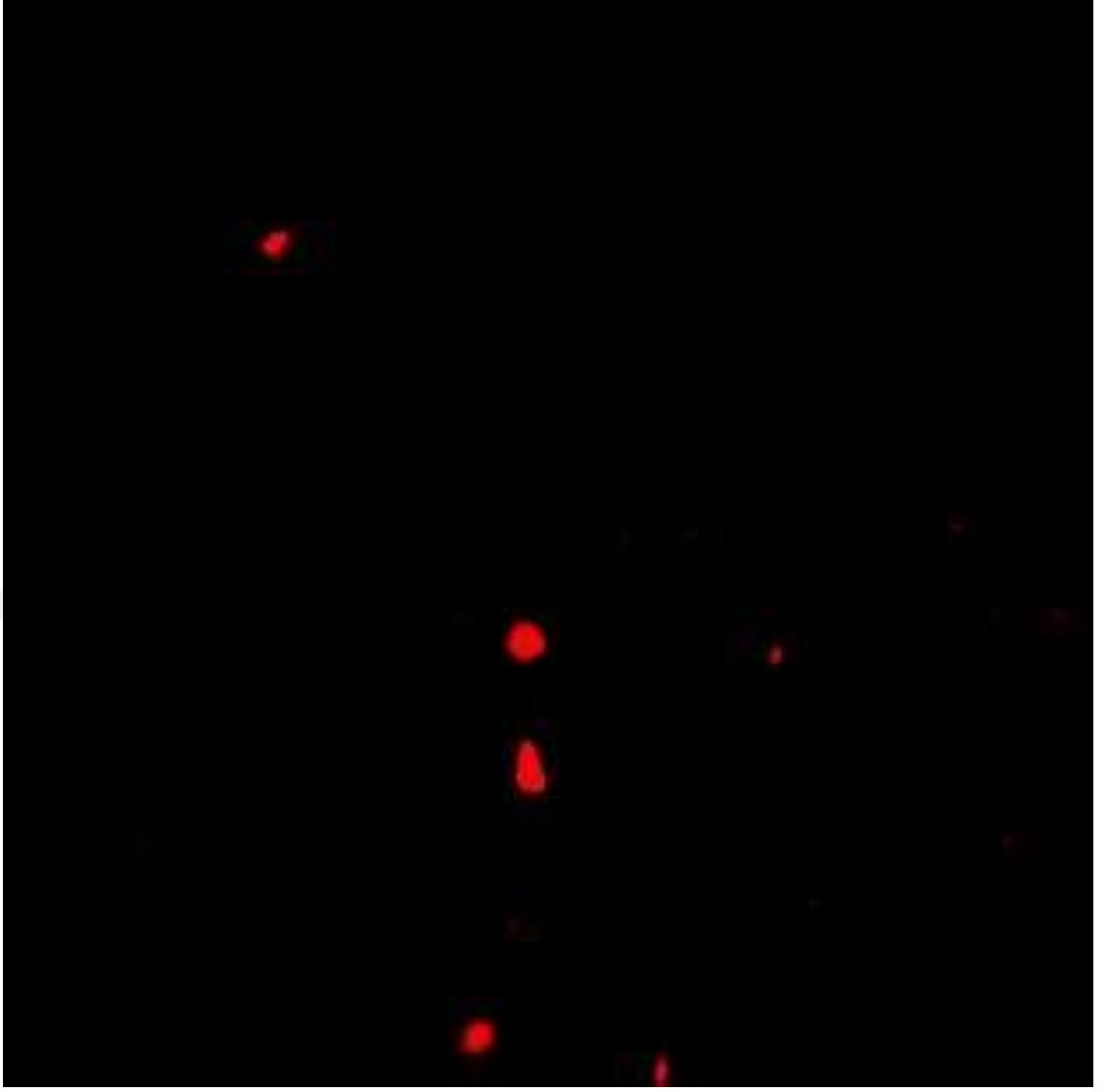
Şekil 4.3.1. TUNEL boyama ile Ligamentum Periodontale hücreleri.
Kontrol grubu (x40).



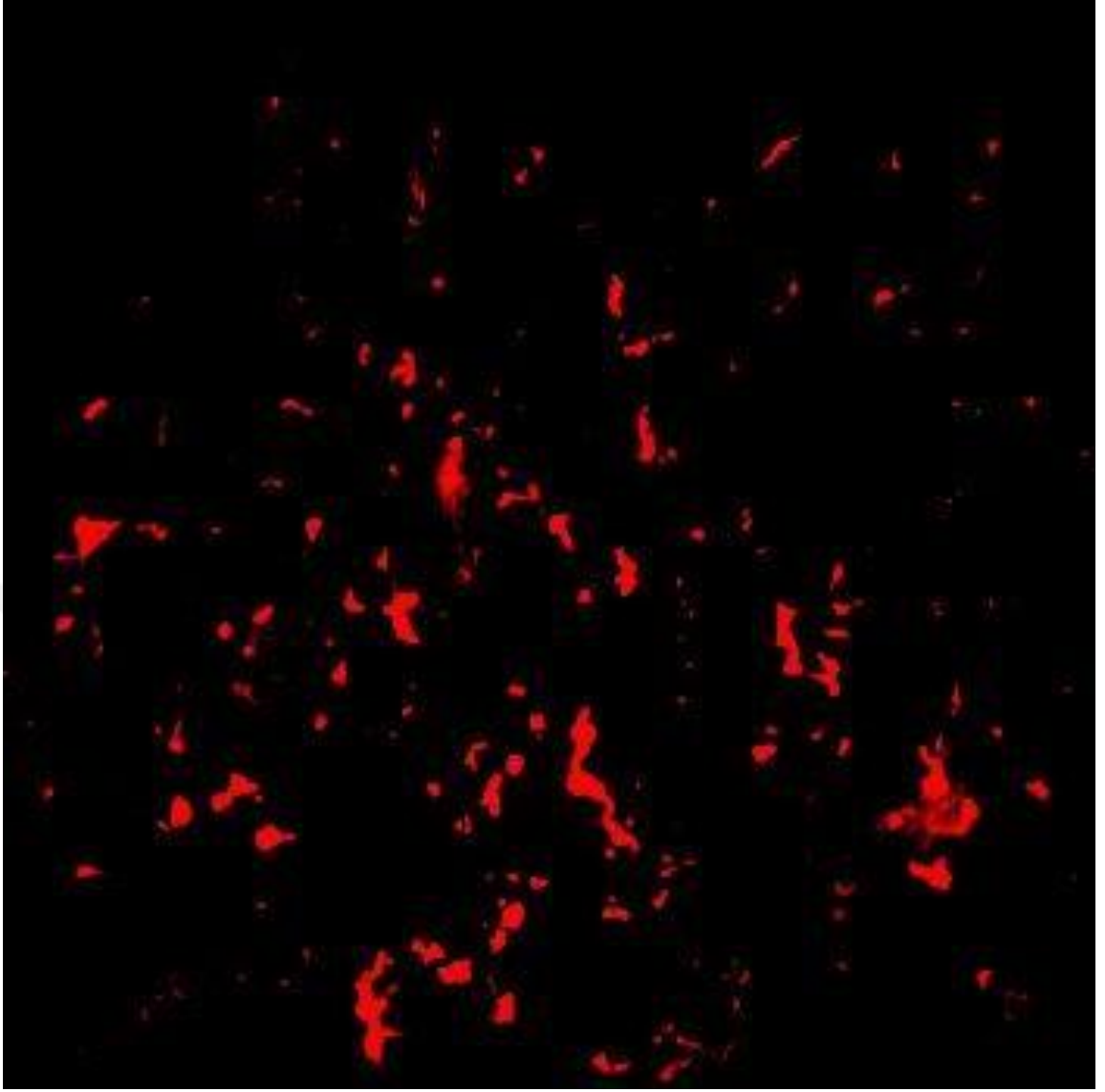
Şekil 4.3.2. TUNEL boyama ile Ligamentum Periodontale hücreleri.
Düşük Doz Glukoz Grubu (1100mg/ml) (x40).



Şekil 4.3.3. TUNEL boyama ile Ligamentum Periodontale hücreleri.
Yüksek Doz Glukoz Grubu(4500mg/ml) (x40).



Şekil 4.3.4. TUNEL boyama ile Ligamentum Periodontale hücreleri.
CurCumin 2 μ M + Düşük Doz Glukoz grubu(1100mg/ml) (x40).



Şekil 4.3.5. TUNEL boyama ile Ligamentum Periodontale hücreleri.
CurCumin 2 μ M + Yüksek Doz Glukoz(4500 mg/ml) grubu (x40).

5. TARTIŞMA

PDL dokusu, ektomezenkimal kökenli bir bağ dokusudur. Periodonsiyum ve dişin karşılıklı desteği için alveolar kemiğe diş kökü sementini ekler. PDL, periodonsiyumun homeostazı, sürdürülmesi ve yenilenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

PDL, rejenerasyon, yara iyileşmesi, hücre farklılaşması ve iltihaplanma ile ilgili özel bir dokudur. PDL dokusundaki heterojen hücre popülasyonu, fibroblastlar, endotel hücreleri, epitel hücreleri, PDL progenitör hücreleri ve enflamatuar hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinden oluşur. PDL doku hücre popülasyonlarının farklılaşma kapasitesi ve farklılaşma aşamasında uygun bir ortama bağlıdır. Bu nedenle, PDL hücre popülasyonları ve işlevleri henüz tam olarak karakterize edilmemiştir.

Periodontal hastalık dünya çapında yüksek insidansa sahip enflamatuar bir hastalık olmasına rağmen, hücre fonksiyonları, enflamatuar yollar, hücre-hücre etkileşimleri ve PDL'nin sinyal transdüksiyonları belirsizliğini korumaktadır.

Bu hastalığın nedenlerinde biri de yüksek glukozlu besin kullanımı ve diabetes mellitustur. Özellikle metabolik kontrolü zayıf hastalarda diabetes mellitusun periodontitis riskini ve şiddetini arttırdığı iyi bilinmektedir (Sanz 2018). Gerçekten de periodontitis, diyabetin altıncı komplikasyonu olarak kabul edilir. Diyabetin en tipik semptomu olan hiperglisemi, hücre çoğalması, farklılaşması üzerinde zararlı etkilere sahiptir ve hatta hücre ölümüne neden olarak periodontal yara iyileşmesinde gecikmeye yol açar. Yüksek glukoz konsantrasyonunun vücut genel mekanizması üzerine olumsuz etkisi kadar dişeti

ve alveolar kemik üzerinde yıkıcı etkisi yapılan çalışmalarca desteklenmiştir. Hücre canlılıklarını inhibe ederek doku yıkımına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda yüksek şeker konsantrasyonunun da fibroblast aktivitesinin ilk başlarda arttığı daha sonra zaman içinde inhibe olarak fibroblast vitalitesinde ve minerilizasyonda azalma olduğu, buna bağlı rahatsızlığın olduğu deneyler ile çalışılmıştır. Turner (1978) ve Hehenberger (1997)'e göre glukoz hücre proliferasyonu için önemlidir. Yaptıkları çalışmaya göre; kan glukoz seviyesi 15,5 mM'den,18 mM'e yükseldiğinde fibroblast çoğalmasını artırdığını, kontrolsüz diyabette daha fazla artışın olduğunu belirlemişlerdir. Kanda yaygın olarak 20 mM-30 mM arasında glukoz miktarlarının proliferasyonu arttırdığı gözlemlenmiştir (Parker 1993). (Kim vd 2006), *in vitro* PDL hücre hattı üzerine yüksek glukoz uygulayarak yaptıkları çalışma sonunda, PDL hücrelerinin hücresel aktivitesinde azalma tesbit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda, yüksek glukoz seviyesi olarak, 25 mM belirlendi. Bu dozun PDL hücre hattında hücre canlılığını istatistiki olarak anlamlı derecede azalttığını belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.1.1).

Zhu ve arkadaşları, yüksek glukoz (30 mM)'un, hücre apoptozuna veya hücre canlılığı inhibisyonuna neden olmadığını, ancak TNF- α ile indüklenen proliferasyon inhibisyonunu ve TNFR1'in aktivasyonu ve yukarı regülasyonu yoluyla hücre apoptozunu şiddetlendirdiğini belirlemişlerdir (Zhu vd 2020). Periodontitisin ilerlemesinde en kritik inflamatuvar faktörlerden biri olan TNF- α , esas olarak aktive makrofajlar, doğal öldürücü hücreler, T lenfositler ve B lenfositler tarafından üretilir (Yücel vd 2015). Dişeti sıvısındaki TNF- α konsantrasyonu ile periodontal inflamatuvar durum arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (Liu vd 2018). TNF- α , membrana bağlı reseptörlerine bağlanarak hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve apoptozu düzenler (Locksley vd 2001). Periodontitis hastalarının dişeti oluk sıvısında (GCF) ortalama TNF- α düzeyinin 9,5 ng/mL'ye kadar çıktığı bildirilmiştir (Zhu ve Liu 2010). Ek olarak, diyabetik durum gram-negatif bakteriyel yüklemesinde periodontitis hastalarının monositik TNF- α sekresyonunu 4-6 kat arttırdığı gözlemlenmiştir (Murray vd 2007).

Bizim çalışmamızda da yüksek doz glukozun PDL hücre canlılığını azalttığını belirlendi. Bunu hücrelerde apoptotik mekanizmayı başlatarak yapmıştır. Yapılan Tunel testinde, yüksek doz glukoz içeren PDL hücre hatlarında apoptotik hücrelerin sayısı istatistiki olarak anlamlı derecede arttırdı ($p<0,05$) (Şekil 4.3.3). Bu bakımdan çalışmamız Zhu ve arkadaşlarının (2020) çalışmasını desteklemektedir. Çalışmamızda verilen yüksek doz glukoz TNF- α üzerinden hücre apoptozunu şiddetlendirdiği düşünüldü.

Yüksek glukozun PDL fibroblastlarda proliferasyonunu inhibe ettiği ve kaspaz-3'e bağlı apoptozu indüklediği bildirilmektedir (Liu vd 2013).

Yüksek glukoz seviyesi, proenflamatuar sitokinleri uyararak periodontal doku yıkımını başlatır (Duarte 2007, Wu 2014). IL-6 ve IL-8 her ikisi PDL'deki periodontitis ile ilişkilidir (Javed vd 2012). Dolayısıyla mevcut çalışmalarda yapılan analizlerde yüksek glukoz konsantrasyonlarının IL-6'yı indüklediğini bulmuşlardır. Putri ve arkadaşları (2020), %1 CurCumin jel subgingival uygulamasının, PDL dokusu üzerine, önce ve sonra IL-6 seviyeleri üzerindeki etkinliğini analiz etmeyi amaçlamışlar, kronik periodontitisli 21 hastadan oluşan 3 gruba ön test ve son test kontrol grup olmak üzere, öncesi her gruba diş eti sıvısındaki IL-6 seviyeleri incelemişler ve ardından %1 CurCumin jel, %0.2 klorheksidin jel uygulamasından 7. günde tekrar incelemişler. IL-6 seviyeleri ELISA yöntemi ile analiz edilmiş. Elde edilen veriler, Wilcoxon Testi ve T testi kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı bir $p < 0.05$ değeri ile işlenmiştir. IL-6 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş vardır (Putri vd 2020).

Bizim çalışmamızda özellikle 2 μM CurCumin uygulanan hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı derecede hücre canlılığının arttığı gözlemlendi ($p < 0,05$) (Şekil 4.1.1). Yüksek doz glukozun PDL hücre hattında sitokin fırtınası yarattığı, buna bağlı IL-6 ve IL-8 seviyelerinde artış olduğu öngörülmüştür. CurCumin'nin bu sitokin fırtınasını durdurarak hücre canlılığını arttırdığı varsayılmaktadır. Burada 2 μM 'dan fazla CurCumin'in hücrelerde toksik etki yaptığı, aksine IL-6 ve IL-8 seviyelerini arttırdığı söylenebilir.

Nükleer faktör NF- κB bir transkripsiyon faktörüdür, kronik enflamatuar ve periodontalde yaygın olarak rol oynar (Barnes 1997, Chang 2009). Chang ve ark (2009) NF- κB 'nin osteoblast farklılaşmasını ve kemik oluşumunu engellediğini; ancak, PDL üzerine etkisi tam bilinmemektedir.

Liu ve arkadaşları (2013), insan PDL fibroblastlarında yüksek glukoz seviyelerinin apoptoz üzerindeki etkilerini ve olası mekanizmaları araştırmıştır. İnsan PDL fibroblastları, 6, 12 veya 24 saat boyunca normal glukoz (5 mM) ve yüksek glukoz (35 mM) seviyeleri ile DMEM içinde kültürlemişlerdir. Apoptoz, akış sitometrisi, kaspaz deneyleri, floresan gerçek zamanlı PCR ve Western blot analizi ile araştırılmıştır. Yüksek glukoz inkübasyonunun farklı süreleri, kültürlenmiş insan PDL fibroblastlarında zamana bağlı bir apoptoz ve kaspaz-3 aktivitesini indüklemiştir. Ek olarak, kültürlenmiş insan PDL fibroblastlarındaki kaspaz-3 ve substrat PARP konsantrasyonları zamana bağlı bir şekilde artmıştır.

Yüzyıllardır CurCumin “Ayurveda (uzun yaşam bilgisi)” ve geleneksel Çin tıbbında ; anoreksi, öksürük, diyabet, yaralar, karaciğer hastalıkları, romatizma vesinüzit gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Birkaç klinik öncesi ve klinik çalışma göstermiştir ki CurCumin kanserde önleyici ve terapötik bir öneme sahiptir. CurCumin, insan sağlığı için arzu edilen çeşitli biyolojik aktivitelerde büyük potansiyele sahip doğal ürünler arasında moleküllerinden biridir. COVID-19 salgını sırasında antiviral aktivitesi de araştırılmaktadır (İlkay vd 2020).

CurCumin'in NF-kB ve çeşitli pro-inflamatuar sitokinler üzerinde güçlü inhibe edici etkilere sahip olduğu bilindiğinden, ciddi vakalarda COVID-19 meydana gelen ölümcül sitokin fırtınasını tersine çevirmede yardımcı olarak özellikle yardımcı olabilir (Zahedipour 2020). CurCumin'in önemli yara iyileştirici özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. İyileşmeyi hızlandırmak için doğal yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarına etki eder. Granülasyon dokusu oluşumunu, kolajen birikimini, doku yeniden şekillenmesini ve yara kontraksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (Sidhu 1998, Akbik 2014). CurCumin ile tedavi edilen yaralar, tedavi edilmeyen yaralara kıyasla sadece daha fazla sayıda fibroblast değil, aynı zamanda daha fazla infiltratör makrofaj ve nötrofil içerir. CurCumin düşük su çözünürlüğüne sahip olduğundan topikal uygulamalar için uygun bir ilaçtır (Sidhu 1998, Akbik 2014). CurCumin'in hücre canlılığını artırdığı ve birincil diş pulpası fibroblastlarının çoğalmasında indüklediği gösterilmiştir (Mandrolvd 2016). Akpınar ve arkadaşları (2018), farklı dozajlarla sistemik CurCumin artışının osteoblastik aktivite ve varlığını artırdığını, azalmış alveolar kemik kaybına bağlı osteoklastlar oluştuğunu sıçan modeli üzerinde yaptıkları bir çalışmanın sonucu olarak rapor etmişlerdir.

Biyomalzemelerin klinik kullanımlarından önce biyolojik ve toksikolojik özelliklerinin değerlendirilmesi önemlidir. Sitotoksikite tarama deneyleri, materyallerin veya bunların özlerinin neden olduğu hücre ölümünün bir ölçüsünü sağlar. Bir materyalin hücre hayatta kalması üzerinde sahip olabileceği etki, biyoyumluluğun açık bir belirleyicisidir. Biyoyumluluğun en önemli yönü olan *in vitro* sitotoksikite taraması hücre kültürü ile belirlenir (Murray vd 2007). CurCumin, dişeti ve periodontal hastalıkların tedavisinde bir yer bulmuş olsa da (Chen 2008, Anitha 2015, Elavarasu 2016, Elburki 2017, Nasra 2017,) nihai klinik önemi olan hücreler (yani PDL

fibroblastlar) üzerinde bildirilmiş sitotoksosite çalışmaları yoktur. Bu açıdan bizim çalışmamız ilktir. Bizim çalışmamızda CurCumin dozu 5 mikrogramdan 50 microgram'a kadar ligamentum periodontale hücrelerinde toksik etkisini gösterdi ve bu aralıklarda hücre canlılığı belirgin şekilde azaldı. Bu yüzden bu doz aralıklarında CurCumin etkisi ölçülemedi (Tablo 4.1.1, Şekil 4.1.1). Bu çalışmamızın literature kazandırdığı en değerli bilgilerden biridir. Klinik kullanım için yeni materyallerin geliştirilmesinin nedeni, başarılı uygulamaları arttırmaktır. Bu nedenle, sitotoksositeyi değerlendirmek için araştırma çalışmaları yapılmalıdır. Klinik kullanımları sırasında terapötik malzemeler istenen etkiye sahip olmalı, maksimum doku canlılığını korumalı ve aynı zamanda ihmal edilebilir sitotoksik etkiye sahip olmalı veya hiç olmamalıdır. Biyouyumluluğun birincil faktörü olarak *in vitro* sitotoksik tarama, hücre kültürü tarafından belirlenir ve MTT testi, hücre kültürlerinde farklı kökenlerden materyallerin sitotoksitesini değerlendirmek için en sık kullanılan testlerden biridir. Klinik olarak anlamlı olan hücrelerin *in vitro* toksisite testleri için seçilmesi önerilmektedir (Chang vd 1998). Biz de bu yüzden çalışmamızı sekonder PDL hücre kültüründe planladık. Terapötik uygulamaları romatoid artrit, kolon kanseri ve depresyon dahil olmak üzere çeşitli koşullarda incelenmiştir, ancak hiçbir çalışma tam olarak, CurCumin'in *in vivo* olarak periodontal hastalık üzerindeki etkilerini değerlendirmemiştir (Guimaraes vd 2011).

Bizim çalışmamızda CurCumin'in yaygın etkileri yanında özellikle PDL üzerindeki iyileştirici etkisi üzerinde duruldu. Bu yüzden hücre kültürü seçildi. Yüksek glukozun sebep olduğu hücre destrüksiyonuna rağmen hücre canlılığını istatistiki olarak anlamlı şekilde arttırdığı hücre deneyleri sonucunda çalışmamızda gösterildi. Tedavi edici CurCumin dozu belirlendi. Çalışmanın geneline bakıldığında, bizim çalışmamızda CurCumin'in topikal olarak diş macunlarının içinde PDL korumak için kullanabileceği görüldü. Bu tezimiz için prelinik ve klinik araştırmalar gelecekte planlanmaktadır. Zaten yapılan çalışmalarda CurCumin'in sistemik olarak oral kullanımlarında önemli emilim ve yararlanılma sorunları olduğu görülmüştür. Bu açıardan CurCumini topikal olarak kullanmak daha doğru olacaktır. CurCumin'in farmakokinetik özelliklerine dair çalışmalarda; oral absorpsiyonunun düşük olduğu, önemli miktarının feçesle ve az bir kısmının ise idrarla atıldığı bildirilmektedir. Oral olarak CurCumin (36-180 mg/kg) verilen 15 hasta ile yapılan bir çalışmada, 4 aya kadar CurCumin metabolitlerinin kan veya idrarda saptanamaz iken, feceste bulunabildiği gösterilmiştir (Sharma vd 2001). Varsayılan kemopreventif ve terapötik CurCumin özellikleri büyük ilgi yaratmış ve biyolojik etkiyi oluşturan moleküler mekanizmaları anlamak için son birkaç on yılda yapılan araştırmalar göstermiştir ki CurCumin çoklu sinyal yollarını hedefler ve enflamatuar çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ifadesi sitokinler, enzimler, büyüme

faktörleri, reseptörler, adezyon moleküller, antiapoptotik proteinler ve hücre döngüsü proteinleri ile ilişkilidir (Shishir 2012).

Özellikle yüksek dozlarının alınmasını takiben karaciğer başta olmak üzere kan, mide, barsak, kalp, böbrek gibi farklı organlarda farklı düzeylerde bulunabildiği ve vücuttaki yarılanma ömrünün alınan CurCumin miktarına bağlı olarak doz artışı ile orantılı değişebildiği gösterilmiştir. Oral CurCumin uygulanan Sprague-Dawley sıçanlarda diyet ile 1 g/kg verilen CurCumin'in oral absorpsiyonunun çok düşük olduğu, büyük bir kısmının (%75) feçesle ve çok az bir kısmının ise idrarla atıldığı gösterilmiştir (Wahlström ve BLennow 1978). Sıçanlara oral CurCumin uygulanan diğer bir çalışmada da trityum ile işaretli CurCumin'in çoğunun fecesle; intravenöz (IV) ve intraperitoneal (IP) uygulamada ise safra yolu ile atıldığı gösterilmiştir (Holder vd 1978). İnsanlarda yapılan farmakokinetik çalışmaların çoğunda da hayvan çalışmalarına benzer sonuçlara ulaşılmıştır (Goel vd 2008). CurCumin'in gönüllü bireylere, oral yoldan tek doz (yaklaşık 10-12g) verilmesinde 15 dk ve 72 saat sonra serum örneklerinde, sülfat ve glukuronat konjugatları saptanmıştır (Vareed vd 2008).

Yüksek glukoza bağlı olarak gelişen enflamasyon ve ileri aşamada oluşan apoptotik yolağı inhibe ettiği bilinen CurCumin'in, antiinflamatuvar etkisi yönünden nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ile karşılaştırıldığında uzun süreli kullanımda yan etki profili açısından daha uygun ve ekonomik olduğu bildirilmiştir. Klorheksidin uzun zamandır etkili bir antiinflamatuvar, antimikrobiyal ajan, antiseptik ajan ve diğer birçok faydalı özellik gösteren bir ilaçtır. 30 kronik periodontitis hastası üzerinde yürütülmüştür bir çalışmada, CurCumin jelin kronik periodontitis hastalarında hafif ile orta dereceli periodontal cepler üzerinde bir etkisi olduğu denysel olarak kanıtlanmıştır (Shweta vd 2016). Yine başka bir çalışmada, antibakteriyel CurCumin konsantrasyonunun %0,003 olduğu zaman daha az fibroblast sitotoksitesi ve mükemmel yara iyileşmesi sergilediği ortaya konmuştur (Sangeetha vd 2021). Bizim çalışmamızda 2 µM CurCumin uygulanan hücre hattında anlamlı derecede hücre canlılığı gözlemlendi ($p < 0,05$) (Şekil 4.1.1).

Klinik çalışmalar insanların CurCumin'i tolere edebileceğini göstermiştir. Yüksek dozlara rağmen 8 g/gün dozunda bile CurCumin (2-12 g) CurCumin çeşitli yan etkiler göstermiştir (Cheng vd 2001). Bazı kişilerde hafif bulantı veya ishal bildirilmektedir. Praveenkumar ve ark(2021), CurCumin'in insan PDL fibroblastlarına karşı invitro sitotoksitesini araştırmıştır. MTT testi ile kullanılan konsantrasyonların herhangi birinde (%100, %50 ve %25) CurCumin için hiçbir sitotoksite saptanmamıştır. Bununla birlikte, klinik öncesi aşamada yanlış pozitif sonuçlardan kaçınmak için sitotoksite değerlendirmesi için iki veya daha fazla hassas ve kantitatif yöntemin bir kombinasyonu

gereklidir. MTT testi, hücre kültürlerinde farklı kökenlerden materyallerin sitotoksitesini değerlendirmek için en sık kullanılan testlerden biridir. Klinik olarak anlamlı olan hücrelerin *in vitro* toksisite testleri için seçilmesi önerilmektedir (Chang vd 1998). Bu yüzden biz çalışmamızı, normal ve yüksek glukozu karşı CurCumin'in PDL hücrelerindeki koruyucu ve sitotoksik etkisini MTT yöntemi ile belirledi. PDL hücreleri pasajlandıktan sonra sayıldı ve steril 96-kuyucuklu hücre kültür plakalarına kuyucuk başına 5×10^3 hücre olacak şekilde ekildi. Hücrelerin, plaka tabanına tutunması için CO_2 inkübatöründe 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik inkübasyonun ardından kuyucuklardaki besiyerleri uzaklaştırdı ve normal glukoz, yüksek glukoz gruplarına CurCumin'in literatürden yararlanılarak elde edilen dozları uygulandı. Uygulama işleminin ardından, glukozun ve CurCumin'in hücreler üzerindeki 72 saatlik sitotoksik etkisini kolorimetrik bir yöntem olan MTT yöntemi ile belirledi. Böylece yüksek glukozu maruz kalan ligamentum periodontale hücresine, CurCumin'in etkili olduğu miktar tespit edildi. Mekanizma olarak da apoptosizi çalışıldı ve yüksek doz glukozun sebep olduğu apoptozis'i CurCumin'in antiapoptotik bir mekanizma ile durdurduğunu gösterildi.

CurCumin'in etkisine yönelik öne sürülen etki mekanizmaları şu şekilde özetleyebiliriz; CurCumin çeşitli moleküler hedefleri gen ekspresyonlarını değiştirerek yapar ve bunu yaparken sinyal yollarını kullanır veya bunu doğrudan etkileşim yoluyla yapar. CurCumin, enflamatuar sitokinlerin (örn. TNF, IL-1), büyüme faktörlerinin (örn., VEGF, EGF, FGF), büyüme faktörü reseptörlerin (örn. EGFR, HER-2, AR), enzimlerin (örn. COX-2, LOX, MMP9, MAPK, mTOR, Akt), yapışma moleküllerinin (örn. ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1), apoptoza bağlı proteinlerin (örn. Bcl-2, kaspazlar, DR, Fas) ve hücre döngüsü proteinlerinin (örn. Siklin D1) çalışmasını indirek veya direkt olarak kontrol eder. CurCumin birkaç transkripsiyon faktörünün aktivitesini modüle eder (ör. NF- κ B, AP-1, STAT) ve bunların sinyal yollarını düzenler (Becit vd 2017). Biz çalışmamızda bütçemizi gözönüne alarak sadece antiapoptotik mekanizmayı çalışabildik ve CurCumin'in antiapoptotik etkisi gösterildi.

CurCumin'in yanısıra oldukça yaygın araştırılan Fesleğen ve Metformin'in glukozu maruz bırakılan sekonder PDL hücre hattındaki hücre canlılığına etkilerini de CurCumin ile karşılaştırmak için incelendi. Yüksek ve düşük doz glukoz verilen hücrelere aynı zamanda 2, 5, 20, 30 ve 50 mikrogram Metformin verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığının tüm dozlarda arttığını gözlemlendi ($p < 0,05$). Kullandığımız metformin dozları periodontal hücrelerde toksik etki göstermedi. Metformin tüm gruplarda istatistiki olarak anlamlı şekilde hücre canlılığını arttırdı

(Tablo 4.1.2, şekil 4.1.2). Fakat Fesleğende durum farklı idi. Yüksek ve düşük doz glukoz verilen hücrelere aynı zamanda 250, 300 ve 350 mikrogram Fesleğen verildiğinde istatistiki olarak anlamlı derecede hücre canlılığını artırdı. Fakat 400 mikrogramdan Fesleğen PDL hücrelerine toksik etkisini gösterdi ve bu aralıklarda hücre canlılığı belirgin şekilde azaldı. Bu yüzden bu dozda Fesleğen etkisi ölçülemedi (Tablo 4.1.3, Şekil 4.1.3). Fesleğen, CurCumin ile benzer özelliklerinden dolayı birçok çalışmada, özellikle PDL üzerindeki etkisi çalışılmıştır (Gupta vd 2014). Fesleğenin de CurCumin gibi tedavi edici dozu kritiktir. Bu çalışma sonucu yine ilk defa bizim çalışmamızda gösterildi. Metformin, Fesleğen ve CurCumin ile karşılaştırıldığında tedavi edici doz açısından çok daha güvenilirdir. Bugüne kadar literatür de periodontitis ve ilgili durumların tedavisinde Metformin tedavisinin etkinliğini inceleyen yayınlanmış sistematik bir derleme yoktur. Shariq ve arkadaşları (2018), 1949'dan 2016'ya kadar yayınlanan ilgili makaleler için PubMed/Medline, ISI Web of Science ve Google Akademik veritabanları aracılığıyla "metformin", "periodontal" ve "periodontitis" anahtar kelimeleri kullanılarak elektronik bir arama yaptı. Ele alınan odaklanılan soru şuydu: "metformin periodontitiste kemik kaybını azaltmada etkili midir?" Seçilen çalışmalarda elde edilen sonuçların eleştirel incelemesi ve meta analizi yapılmıştır. Yinelenen sonuçların kaldırılmasının ardından, birincil arama 17 makaleyle sonuçlandı ve başlık ve özete göre yedi makale hariç tutuldu. Bu nedenle, uygunluk için 10 makale tamamen okunmuştur. Dört alakasız çalışma çıkarıldıktan sonra altı makale dahil edildi. Metformin'in topikal uygulaması iyileştirilmiş histolojik, klinik ve radyografik sonuçlarla sonuçlandı. 6 çalışmanın hepsinden elde edilen sonuçlar, Metformin kullanımının kemik kaybını azaltmada ve periodontal tedavinin sonuçlarını iyileştirmede etkili olduğunu göstermektedir.

CurCumin biyoyararlanımı zayıftır ve bu uygulamaları sınırlar. CurCumin'in temel sınırlamaları düşük iyon, hızlı metabolizma ve hızlı eliminasyondur. CurCumin'in su içinde çözünmesi zayıf ve UV'dir. Fotokimyasal bozunmayı aktive edebilir. Artırmak için biyoyararlanım kullanılmalıdır (Nabavi vd 2014).

6. SONUÇ

Sonuç olarak CurCumin binlerce yıldır tıbbi özelliği için kullanılmıştır ve son 20 yıldır en çok çalışılan doğal kaynaktır. Fakat PDL sekonder hücre kültürü ile ilk defa çalışılmıştır. Çalışma sonucunda CurCumin'in, yüksek doz glukozun PDL hücreleri üzerinde yıkıcı etkisine rağmen istatistiki anlamda hücre canlılığını arttırarak koruyucu etkisi gösterildi. Aynı zamanda CurCumin'in PDL hücre kültürü üzerindeki tedavi edici ve toksik dozları ilk defa literatüre kazandırıldı. CurCumin'in etki mekanizmasının antiapoptotik yolakla olduğu gösterildi. Bu çalışma sırasında, CurCumin ile benzer özellikleri olan ve yaygın olarak araştırılan Metformin ve Fesleğen'in yüksek doz glukozu maruz bırakılmış sekonder PDL hücre hattındaki, hücre canlılığına etkileri, terapötik ve sitotik dozları ilk defa gösterildi. Bu çalışmadan sonra CurCumin'in ve yanında Metformin ve Fesleğen'in, özellikle lokal olarak, PDL ile ilgili patolojik durumlarda kullanılması için prelinik ve klinik çalışmaların planlanabileceği söylenebilir.

7. KAYNAKLAR

Akbik D, Ghadiri M, Chrzanowski W, Rohanzadeh R. CurCumin as a wound healing agent. **Life Sci** 2014;116:1-7.

Akpinar A., Calisir M., Karakan N., Alpan A., Goze F., Poyraz Ö Effects of CurCumin on Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis in Rats: A Morphometric and Histopathologic Study Received: **International Journal for Vitamin and Nutrition Research** October 2018 87(5-6):1-9

Ainamo A, Ainamo J, Poikkeus R. Continuous widening of the band of attached gingiva from 23 to 65 years of age. **J Periodont Res** 1981; 16: 595-599.

Ammon, H.P.,Wahl, M.A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Planta Med**,1991; 57 (1), 1-7.

Ammon, H.P., Anazodo, M.I., Safayhi, H., Dhawan, B.N.,Srimal, R.C. CurCumin: a potent inhibitor of leukotriene B4 formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL). **Planta Med**, 1992; 58 (2), 226. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of CurCumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Res** 2003;23

Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of CurCumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Res** 2003;23(1A):363-98

Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia S. The molecular targets and therapeutic uses of CurCumin in health and disease. In: Back N, Cohen IR, Kritchevsky D, Lajtha A, Paoletti R, eds. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1st ed. **New York: Springer Science Business Media, LLC**; 2007. p.1-480

Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of CurCumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **Int J Biochem Cell Biol** 2009;41(1):40-59.

Anitha V, Rajesh P, Shanmugam M, Priya BM, Prabhu S, Shivakumar V. Comparative evaluation of natural CurCumin and synthetic chlorhexidine in the management of chronic periodontitis as a local drug delivery: A clinical and microbiological study. **Indian J Dent Res** 2015;26:53-6.

Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N Engl J Med** 1997;336:1066-1071.

Becit M, Aydın S, Başaran N. CurCuminin Terapötik Ve Toksik Etkilerinin Değerlendirilmesi, *Türkiye Klinikleri J. Pharm Sci* 2017;6(2):126-42

Best L, Elliott AC, Brown PD. CurCumin induces electrical activity in rat pancreatic beta cells by activating the volume-regulated anion channel. *Biochem Pharmacol* 2007;73(11):1768-75.

Birkedal-Hansen H. Synthesis and release of procollagenase by cultured fibroblasts. *J Biol Chem* 1976; 251: 3162-3 168.

Birkedal-Hansen H. From tadpole collagenase to a family of matrix metalloproteinases. *J Oral Pathol* 1988; 17: 445-451

Byers M. Sensory innervation of periodontal ligament of rat molars consists of unencapsulated Ruffini-like mechanoreceptors and free nerve endings. *J Comp Neurol* 1985; **231**: 500-518.

Byers M, Dong W. Comparison of trigeminal receptor Location and structure in the periodontal ligament of different types of teeth from the rat, cat and monkey. *J Comp Neurol* 1989; 279: 117-127.

Byers M. Segregation of NGF receptor in sensory receptors, nerves and local cells of teeth and periodontium demonstrated by EM immunocytochemistry. *J Neurol* 1990; 19: 765-775.

Carranza.F.A, Newman.G.M ,Takei.H.H Klokkevold.P.R .*Carranza's Clinical Periodontology* 2012 : 3

Chang YC, Huang FM, Cheng MH, Chou LS, Chou MY. *In vitro* evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of root canal medicines on human pulp fibroblasts. *J Endod.* 1998;24: 604-6

Chang J, Wang Z, Tang E, et al. Inhibition of osteoblastic bone formation by nuclear factor-kappaB. *Nat Med* 2009;15:682-689

Cheng, A.L., C.H. Hsu, J.K. Lin, M.M. Hsu, Y.F. Ho, T.S. Shen, J.Y. Ko, J.T. Lin, B.R. Lin, W. Ming-Shiang, H.S. Yu, S.H. Jee, G.S. Chen, T.M. Chen, C.A. Chen, M.K. Lai, Y.S. Pu, M.H. Pan, Y.J. Wang, C.C. Tsai, and C.Y. Hsieh Phase I clinical trial of CurCumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res*, 2001 21.4B: p.2895 – 900.

Chen D, Nie M, Fan MW, Bian Z. Antiinflammatory activity of CurCumin in macrophages stimulated by lipopolysaccharides from *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacology* 2008;82: 264-9.

Ciolino HP, Daschner PJ, Wang TT, Yeh GC .Effect of CurCumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome p450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 1998;56(2):197-206

Duarte PM, de Oliveira MC, Tambeli CH, Parada CA, Casati MZ, Nociti FH Jr. Overexpression of interleukin-1beta and interleukin-6 may play an important role in periodontal breakdown in type 2 diabetic patients. *J Periodontal Res* 2007;42:377-381.

Dulbecco P, Savarino V. Therapeutic potential of CurCumin in digestive diseases. *World J Gastroenterol* 2013;19(48):9256-70.

Elavarasu S, Suthanthiran T, Thangavelu A, Alex S, Palanisamy VK, Kumar TS. Evaluation of superoxide dismutase levels in local drug delivery system containing 0,2% CurCumin strip as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis: A clinical and biochemical study. **J Pharm Bioallied Sci** 2016;8:S48-52.

Elburki MS, Moore DD, Terezakis NG, Zhang Y, Lee HM, Johnson F, *et al.* A novel chemically modified CurCumin reduces inflammation-mediated connective tissue breakdown in a rat model of diabetes: Periodontal and systemic effects. **J Periodontal Res** 2017;52: 186-200.

Erdogan O. İ, Senol S.F. Golden Pigment CurCumin: An Inspiring Antiviral Molecular Model for COVID- 19 **Drug Design**. September 2020 DOI: 10.12996 /gmj.2020.115

Eigner, D., Scholz, D. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. **J Ethnopharmacol**, 1999; 67 (1), 1-6.

Gavrieli, Y., Y. Sherman and S. A. Ben-Sasson "Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation." **Journal of cell Biology** 1992. 119(3): 493-501.

Giugliano D, De Rosa N, Di Maro G, Marfella R, Acampora R, Buoninconti R, D'Onofrio F. Metformin improves glucose, lipid metabolism, and reduces blood pressure in hypertensive, obese women. **Diabetes Care**. 1993; 16(10):1387-90.

Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. CurCumin as "curecumin": from kitchen to clinic. **Biochem Pharmacol** 2008;75(4):787-809.

Goldberg G, Marmer B, Grant G, Eisen A, b'ilhelm S, He C. Human 72 kDa type IV collagenase forms a complex with a novel tissue inhibitor of metalloproteinase designated TIMP-2. **Proc Natl Acad Sci USA** 1989; 86: 8207-82 11.

Govindarajan, V.S. Turmeric-chemistry, technology, and quality. **Crit Rev Food Sci Nutr**, 1980;12 (3), 199-301.

Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of CurCumin: lessons learned from clinical trials. **AAPS J** 2013;15(1):195-218.

Gupta D, Bhaskar DJ, Gupta RK, Karim B, Jain A, Singh R, *et al.* *Ocimum sanctum* ve klorheksidin gargarasının diş plağı ve diş eti iltihabı üzerinde randomize kontrollü bir klinik çalışması . **J Ayurveda Entegre Med**. 2014; 5 : 109–16

Guimarães M. R. Coimbra L. S. de Aquino S. G. Spolidorio L. C. Kirkwood K. L. C. Rossa Jr Potent anti-inflammatory effects of systemically administered CurCumin modulate periodontal disease invivo **J Periodontal Res** 2011 Apr;46(2):269-79.

Holder GM, Plummer JL ,Ryan AJ. The metabolism and excretion of CurCumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) in the rat. **Xenobiotica** 1978;8(12):761-8.

Kolev TM, Velcheva EA, Stamboliyska BA, Spiteller M. DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of CurCumin. **Int J Quantum Chem** 2005;102(6): 1069-79

Liu, D. and Z. Chen (2013). "The effect of CurCumin on breast cancer cells." **Journal of breast cancer** 16(2): 133.

Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. CurCumin: from ancient medicine to current clinical trials. **Cell Mol Life Sci** 2008;65(11):1631-52.

Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, TortiSV. CurCumin: from ancient medicine to current

Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of CurCumin: **lessons learned from clinical trials**. AAPS J 2013;15(1):195-218.

Han S, Yang Y. Antimicrobial activity of wool fabric treated with CurCumin. **Dyes and Pigments** 2005;64(2):157-61

Hayashi S. Untersuchungen uber die arterielle Blutversorgung des Parodontiums. **Dtsch Monatsschr Zahnheilk** 1932: **50**: 145.

Harris R. Innervation of the human periodontium. **Monogr Oral Sci** 1975: 4: 27-44.

Hehenberger K., Hansson A., High glucose-induced growthfactor resistance in human fibroblasts can be reversed by antioxidants and protein kinase C-inhibitors, **Cell Biochem. Funct.** **15** (1997) 197–201

Hugar S.S, Patil S , Metgud R , Nanjwade B , Hugar M.S , Influence of application of chlorhexidine gel and CurCumin gel as an adjunct to scaling and root planing: A interventional study .**J Nat Sci Biol Med** ,Jul-Dec 2016, 7(2):149-54

Hong J, Bose M, Ju J, Ryu JH, Chen X, Sang S, et al. Modulation of arachidonic acid metabolism by CurCumin and related betadiketonederivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. **Carcinogenesis** 2004;25(9):1671-9.

Jagetia GC, Aggarwal BB. "Spicing up" of the immune system by CurCumin. **J Clin Immunol** 2007;27(1):19-3

Javed F, Al-Askar M, Al-Hezaimi K. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients with and without type 2 diabetes: A literature review. **J Periodontol** 2012;83:156-16

Jayaprakasha, G.K., Jagan, L., Rao, M., Sakariah, K.K. Chemistry and biological activities of *Curcuma longa*. **Trends in Food Science & Technology**, 2005; 16 (12), 533-548

Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of CurCumin, a major constituent of curcuma longa: a review of preclinical and clinical research. **Altern Med Rev** 2009;14(2):141-53

Kressel, M. and P. Groscurth (). "Distinction of apoptotic and necrotic cell death by in situ labelling of fragmented DNA." **Cell and tissue research** 1994 278(3): 549-556.

Kim H. , Park J. , Shin Y , Byung C. , Jo S Effects of high glucose on cellular activity of periodontal ligament cells in vitro **Diabetes Research and Clinical Practice** 74 (2006) 41–47

Liu Y., Mu F., Liu L., and Shan C., "Effects of Kangfuxin solution on IL-1 β , IL-6, IL-17 and TNF- α in gingival crevicular fluid in patients with fixed orthodontic gingivitis," **Experimental and Therapeutic Medicine**, 2018 vol. 16, no. 1, pp. 300–304.

Liu J., Jiang Y., Mao J., Gu B., Liu H., and Fang B., "High levels of glucose induces a dose-dependent apoptosis in human periodontal ligament fibroblasts by activating caspase-3 signaling pathway," **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2013 vol. 170,no. 6, pp. 1458–1471.

Liu J, Jiang Y, Mao J, Gu B., Liu H, Fang B, High levels of glucose induces a dose-dependent apoptosis in human periodontal ligament fibroblasts by activating caspase-3 signaling pathway. **BiochemBiotechnol** 2013Jul;170(6):1458-71. doi: 10.1007/s12010-013-0287-y.

Locksley R. M., Killeen N., and Lenardo M. J., "The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology," 2001, **Cell**, vol. **104**, no. 4, pp. 487–501

Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, SrimaIRC. Multiple biological activities of CurCumin: a short review. **Life Sci** 2006;78(18):2081-7 Goel.

Mandrol PS, Bhat K, Prabhakar AR. An *in vitro* evaluation of cytotoxicity of CurCumin against human dental pulp fibroblasts. **J Indian Soc Pedod Prev Dent** 2016;34: 269-72.

Melcher A. An overview of the anatomy and physiology of the periodontal ligament. In: Norton L, Burstone C, ed. The biology of tooth movement. Boca Raton, **FL: CR Press**, 1989: 1-7

Moghaddam KM, Iranshahi M, Yazdi M, Shahverdi AR. The combination effect of CurCumin with different antibiotics against Staphylococcus aureus. **Int J Green Pharmacy** 2009;3(2):141-3

Muller-Glauser W, Schroeder H. Exfoliative cytology and ultrastructure of superficial epithelial cells from the normal human oral stratified epithelia. **J Biol Buccale** 1983; **11**: 317-326.

Murray P., García Godoy C, García Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? **Med Oral Patol OralCir Bucal** 2007;12:E258-66.

Nabavi, S.F., Daglia, M., Moghaddam, A. H., Habtemariam, S., Nabavi, S.M. . CurCumin and liver disease: from chemistry to medicine. **Comprehensive Reviews in Food Science and Safety**, 2014. 13. 1: p. 62 – 77.

Nasra MM, Khiri HM, Hazzah HA, Abdallah OY. Formulation, *in vitro* characterization and clinical evaluation of CurCumin in-situ gel for treatment of periodontitis. **Drug Deliv** 2017;24: 133-42.

Nishiyama T, Mae T, Kishida H, Tsukagawa M, Mimaki Y, Kuroda M, et al. CurCuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice. **J Agric Food Chem** 2005;53(4):959-63.

Page R, Ammons W, Schectman L, Dillingham L. Collagen fibers bundles of the normal marginal gingiva in the marmoset. **Arch Oral Biol** 1974; **19**: 1039-1043.

Page R. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. **J Periodont Res** 1991; **26**: 230- 242

Parker RC, Rapley JW, Isley W, Spencer P, Killoy WJ. Gingival crevicular blood for assessment of blood glucose in diabetic patients. *J Periodontol* 1993;64: 666-672.

Pari L, Tewas D, Eckel J. Role of CurCumin in health and disease. *Arch Physiol Biochem* 2008;114(2):127-49.

Pari L, Tewas D, Eckel J. Role of CurCumin in health and disease. *Arch Physiol Biochem* 2008;114(2):127.

Pettigrew D, Ho G, Sodek J, Brunette D, Wang H-M. Effect of oxygen tension and indomethacin on production of collagenase and neutral proteinase enzymes and their latent forms by porcine gingival explants in culture. *Arch Oral Biol* 1978; **23**: 767-777.

Praveenkumar S, Mandroli, A. R. Prabhakar¹, Kishore Bhat², Sushma Krishnamurthy³, Chetana Bogar⁴ An *in vitro* evaluation of cytotoxicity of CurCumin against human periodontal ligament fibroblasts <http://www.ayujournal.org> on Thursday, February 4, 2021, IP: 178.233.44.60]

Putri L, Rini, Syafruddin I, Irma E and Ameta P, Effectiveness of 1% CurCumin gel subgingival application on interleukin-6 levels in chronic periodontitis patients. *International Journal of Applied Dental Sciences* 2020; 6(3): 513-516

Sanz M., Ceriello A., Buysschaert M. et al., "Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology," *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 45, no. 2, pp. 138–149, 2018

Schroeder H, Theilade J. Electron microscopy of normal human gingival epithelium. *J Periodont Res* 1966; **1**: 95-119.

Schroeder H, Munzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol* 1973; **18**: 899-923.

Schroeder H. Differentiation of human oral stratified epithelia. Basel: Karger, 1981.

Schroeder H. Oral structural biology. Stuttgart: *Thieme Publishers*, 1991: 250.

Selvig K, Selvig S. Mineral content of human and seal cementum. *J Dent Res* 1962; **41**: 624-632

Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. CurCumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005;41(13):1955-68.

Sharma RA, McLelland HR, Hill KA, Ireson CR, Euden SA, Manson MM, et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral curcuma extract in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7(7):1894-900.

Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK. Effect of insulin and its combination with resveratrol or CurCumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res* 2007;21(3):278-83

Shariq N, Najeeb Muhammad Sohail Zafar, Zohaib Khurshid, Sana Zohaib, Sreenath Arekunnath Madathil, Maria Mali, Khalid Almas, Efficacy of metformin in the management of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. 2018 Jul;26(5):634-642. doi: 10.1016 /j.jsps.2018.02.029. Epub 2018 Feb 16.)

Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro Y, Doe K, Suemune S. Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating periodontal ligament of the cat. **Brain Res** 1988; **448**: 331-338.

Shishir S. Molecular Mechanisms of CurCumin Action: Gene Expression
DOI: 10.1002/biof.1041 Published online 20 September 2012 in **Wiley OnlineLibrary**,

Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. CurCumin: getting back to the roots. **Ann N Y Acad Sci** 2005;1056:206-17.

Sicher H. The principal fibers of the periodontal membrane. **Bur** 1954: 55: 2-6

Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, *et al.* Enhancement of wound healing by CurCumin in animals. **Wound Repair Regen** 1998;6: 167-77

Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcriptionfactor NF-kappa B is suppressed by CurCumin (diferulolylmethane). **J Biol Chem**1995;270(42):24995-5000

Srimal, R.C. Turmeric: A brief review of medicinal properties. **Fitoterapia**, 1997;LXVIII, 483-499.

Sukumaran K.S, Vadakkekuttical J.R, Kanakath H., Comparative evaluation of the effect of CurCumin and chlorhexidine on human fibroblast viability and migration: **Anin vitro study** . January 22, 2021, IP: 178.233.44.207

Turner J.L., Bierman E.L., Effects of glucose and sorbitol on proliferation of cultured human skin fibroblasts and arterial smooth-muscle cells, **Diabetes** 27 (1978) 583–588

Ursini F, Ciaffi J, Paola Landini M, Meliconi R. COVID-19 and diabetes: is metformin a friend or foe? **Diabetes Res Clin Pract.** 2020; 24:108167. doi: 10.1016/j.diabres.2020.108167.

Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, CrowellJA, Normolle DP, Djuric Z, *et al.* Pharmacokinetics of CurCumin conjugate metabolites in healthy human subjects. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2008;17(6):1411-7.

Wahlström B, Blennow G. A study on the fate of CurCumin in the rat. **Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)** 1978;43(2):86-92.

Wennstrom J, Lindhe J. Role of attached gingiva for maintenance of periodontal health. Healing following excisional and grafting procedures in dogs. **J Clin Periodontol** 1983; 10: 206-221.

Wenjun Z ,Qihong Q, Haoyuan L ,Fuping Z, Juan W, Xiaorui Z, and Min L. High Glucose Exacerbates TNF- α -Induced Proliferative Inhibition in Human Periodontal Ligament Stem Cells through Upregulation and Activation of TNF Receptor 1 **Hindawi Stem Cells International Volume** 2020, Article ID 4910767, 17 pages.

Witters LA Fransız leylakının çiçek açması. **J. Clin. Yatırım yapın.** 2001; 108:1105–1107.

Wolf H.F .Rateistschak K. **Colors Atlas Of Dental Medicine** 2004 : 3-17.

Wu Y, Liu F, Zhang X, Shu L. Insulin modulates cytokines expression in human periodontal ligament cells. **Arch Oral Biol** 2014;59:1301-1306.

Yücel Ö. Ö., Berker E., Mesci L., Eratalay K., Tepe E., Tezcan İ., “Analysis of TNF- α (-308) polymorphism and gingival crevicular fluid TNF- α levels in aggressive and chronic periodontitis: **Apreliminary report**,” *Cytokine*, vol. 72, no. 2,pp. 173–177, 2015.

Zahedipour F. Potential effects of CurCumin in the treatment of COVID-19 infection **Phytother Res**;2020,19;10.1002/ptr.6738. doi: 10.1002/ptr.6738.

Zhang DW, Fu M, Gao SH, Liu JL. CurCumin and diabetes: a systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013:636053.

Zhu Z. Y. and. Liu G. Q, “Changes of IL-8 and TNF- α in gingival crevicular fluid before and after treatment from chronic periodontitis,”**Chinese journal of cellular and molecular immunology**, vol. 26, no. 11, pp. 1111-1112, 2010.



9-EKLER

Pamukkale Tıp Dergisi
Pamukkale Medical Journal
doi:https://dx.doi.org/10.31362/patd.796289

Araştırma Makalesi Research Article

Diş hekimliği öğrencilerinin üst ekstremitte antropometrik ölçüleri ve bu ölçülerin laboratuvar başarıları ile ilişkisi

Upper extremity anthropometric measurements of dentistry students and their relationship with laboratory success

Danış Aygün, Semih Ekici, Şahika Pınar Akyer

Gonderilme tarihi:18.09.2021 Kabul tarihi:11.02.2021

Öz
Amaç: Diş hekimliği öğrencileri mesleki eğitimlerinin uygulamalı bölümlerinin büyük bir kısmında işlem yapması gayet zor olan cavitas oris bölgesinde çalışmak zorundadırlar. Bu çalışmada, öğrencilerin milimetrik boyutlardaki diş ayrıntılarında yaptıkları girişimlerden aldıkları eğitimlerin değerlendirilmesi aşamasında, öğrenci başarısının öğrencilerin üst ekstremitelerinin antropometrik yapısına bağlı olarak değişip değişmediğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç ve yöntem: Bu çalışmada Pamukkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 1. sınıf öğrencilerine girişimsel becerilerin öğretilmesinin ve geliştirilmesinin amaçlandığı "Diş morfolojisi ve manipülasyon" dersinin uygulama sınavından aldıkları başarı puanları ile öğrencilerin üst ekstremitelerinin morfolojik değerlendirilmesi için yapılan antropometrik ölçümlerden oluşan bir grup parametre karşılaştırılmıştır. "Diş morfolojisi ve manipülasyon" dersinin uygulama sınavından aldıkları puanların bu çalışma için seçilmesinin nedeni, bu dersin uygulama çalışmaları sırasında öğrencilerin sabun, mum ve alçı gibi materyaller üzerinde çalışarak gerçek ölçülerde ve/veya katlı ölçülerde diş yapmalarıdır. Üst ekstremitelerde ölçülen parametreler; brachium, antebrachium ve manus uzunlukları, 1. 2. ve 3. parmakların proksimal, orta ve distal falanksın uzunlukları ve bu falanksların çevre ölçümleridir.
Bulgular: Veriler SPSS 17.0 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Tanımlayıcı istatistiklerde sayı ve yüzdeler verilmiş olup, kategorik değişkenlerin karşılaştırmasında ki kare testi kullanılmıştır. Öğrencilerin sağ 3. parmak orta falanksın uzunluğunun aynı falanksın çevresine oranı, sol 3. parmak orta falanksın uzunluğunun aynı falanksın çevresine oranı ve sağ 2. parmak proksimal falanksın uzunluğunun aynı falanksın çevresine oranı, sağ üst ekstremitenin uzunluğunun vücut uzunluğuna oranı ile ders başarıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).
Sonuç: Sonuç olarak elde ettiğimiz falanks uzunluğu ile falanks çevresi oranlamasında, oranları diğer parmaklara göre daha yüksek çıkan, sağ 2. parmak, sağ 3. parmak ve sol 3. parmakların proksimal falankları daha ince ve uzun olan öğrencilerin uygulamalı derslerde daha başarılı olduğu ortaya çıkmıştır.

Anahtar kelimeler: Antropometri, diş hekimliği, üst ekstremitte.

Aygün D, Ekici S, Akyer ŞP. Diş hekimliği öğrencilerinin üst ekstremitte antropometrik ölçüleri ve bu ölçülerin laboratuvar başarıları ile ilişkisi. Pam Tıp Derg 2021;14:566-572.

Abstract
Purpose: Dentistry students have to work in the cavitas oris region, which is very difficult to process in most of the applied parts of their professional education. In this study, it was aimed to determine whether the students' success varies depending on the anthropometric structure of the upper extremities of the students at the stage of evaluating the education they received from the interventions made in millimetric tooth details.
Materials and methods: In this study, a group of parameters consisting of anthropometric measurements made for the morphometric evaluation of the Pamukkale University Faculty of Dentistry 1st grade students' upper extremities were compared with the success scores of the practice exam of the "Dental morphology and manipulation" course which aims to teach and develop interventional skills.
The reason why the scores they got from the practice exam of the course "Tooth morphology and manipulation" were chosen for this study is that the students worked on materials such as soap, wax and plaster during the application studies of this course and they made teeth in real size and / or folded sizes. Parameters were measured in the upper extremities; brachium, antibrachium and manus lengths; and proximal, medial and distal phalanx lengths of the 1st, 2nd and 3rd fingers and the circumference measurements of these phalanxes.

Danış Aygün, Arş. Gör, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: daygun@pau.edu.tr (https://orcid.org/0000-0002-6165-3422) (Sorumlu Yazar)
Semih Ekici, Doktora Öğrencisi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: ekicisemih@turkdental.net (https://orcid.org/0000-0001-5192-8755)
Şahika Pınar Akyer, Doç. Dr, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: spakyer@pau.edu.tr (https://orcid.org/0000-0002-6932-3321)

EK-1

Danış Aygün, Arş. Gör. **Semih Ekici**, Şahika Pınar Akyer, Doç. Dr. " **Diş hekimliği öğrencilerinin üst ekstremitte antropometrik ölçüleri ve bu ölçülerin laboratuvar başarıları ile ilişkisi**". pau tıp dergisi 14/ 3 <https://doi.org/10.31362/patd.796289>

EK -2



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik
Kurulu



Sayı :60116787-020/19715
Konu :Başvurunuz hk.

06/03/2020

Sayın Prof. Dr. Mehmet Bülent ÖZDEMİR

İlgi :26.02.2020 tarihli dilekçeniz

İlgi dilekçe ile başvurmuş olduğunuz "**Yüksek Glukoz Konsantrasyonuna Maruz
Bırakılmış Ligamentum Periodontale Hücre Hattı Üzerine CurCumin'in Koruyucu
Etkisi**" konulu çalışmanız **03.03.2020 tarih ve 05 sayılı** kurul toplantımızda görüşülmüş olup,

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın yapılmasında **ETİK AÇIDAN
SAKINCA OLMADIĞINA**, altı ayda bir çalışma hakkında Kurulumuza bilgi verilmesine oy
birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Tahir TURAN
Başkan

