

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRESİNDE HİDROJEN
PEROKSİT İLE OLUŞTURULAN OKSİDATİF STRESTE
HEKZAGONAL BOR NİTRÜR UYGULAMASININ HÜCRE
CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

İŞİL YALÇIN BİLKE

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN

BOLU, EYLÜL - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Işıl YALÇIN BİLKE tarafından hazırlanan “**İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRESİNDE HİDROJEN PEROKSİT İLE OLUŞTURULAN OKSİDATİF STRESTE HEKZAGONAL BOR NİTRÜR UYGULAMASININ HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Periodontoloji Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 9/09/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Şadiye GÜNPINAR
Bezm-i Alem Vakıf Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Tuğçe PAKSOY
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2023/208 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....
IŞIL YALÇIN BİLKE

ÖZET

**İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRESİNDE HİDROJEN
PEROKSİT İLE OLUŞTURULAN OKSİDATİF STRESTE
HEKZAGONAL BOR NİTRÜR UYGULAMASININ HÜCRE CANLILIĞI
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ
IŞIL YALÇIN BİLKE
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ BİLGE MERACI YILDIRAN)
BOLU, EYLÜL - 2024
XIV + 69**

Bu *in vitro* çalışmanın amacı, insan gingival fibroblast (İGF) hücrelerinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ile oluşturulan oksidatif stresin öncesinde ve sonrasında hekzagonal bor nitrür (hBN) uygulamasının oksidatif hasarda koruyucu ve tedavi edici etkileri etkisini değerlendirmektir.

Çalışmamızda İGF primer hücre hattı kullanıldı. Hücreler $800 \mu M H_2O_2$ ile indüklenerek oksidatif stres oluşturulmadan önce ve sonra 3 farklı konsantrasyonda (0.001, 0.005 ve 0.01 mg/mL) hBN uygulanarak İGF hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi XTT testi ile incelendi. Ayrıca 0.01mg/mL konsantrasyonundaki hBN için İGF hücrelerinde oksidatif hasar öncesi ve sonrasında total oksidan seviye (TOS) ölçümü yapıldı.

Çalışmadan elde ettiğimiz verilere bakıldığında; İGF hücrelerine oksidatif hasar öncesi hBN uygulandığında hücre hasarını %2-%5,5, oksidatif hasar sonrası uygulandığında hücre hasarını %3-%6,5 oranında azalttığı tespit edildi. TOS ölçümlerinde anlamlı bir farklılık bulunamadı. Sadece hBN uygulanan hiçbir konsantrasyonda İGF hücrelerinde hücre canlılığını azaltıcı bir etki görülmedi.

Sonuç olarak, İGF hücrelerinde H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif streste hBN uygulamasının koruyucu ve tedavi edici etkinliği olduğu görüldü. Elde edilen sonuçlar, hBN'nin periodontitis gibi oksidatif stres kaynaklı enflamasyonların ve doku hasarlarının önlenmesinde ve tedavisinde kullanımını açısından umut verici olup ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: Hekzagonal bor nitrür, fibroblast, oksidatif stres

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HEXAGONAL BORON NITRIDE APPLICATION ON CELL VIABILITY IN HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST CELLS UNDER OXIDATIVE STRESS CAUSED BY HYDROGEN PEROXIDE

SPECIALIZATION THESIS IN THE DEPARTMENT OF
PERIODONTOLOGY
IŞIL YALÇIN BİLKE

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

FACULTY OF DENTISTRY, DEPARTMENT OF PERIODONTOLOGY
(SUPERVISOR: DR. ASSISTANT PROFESSOR BILGE MERACI

YILDIRAN)

BOLU, SEPTEMBER 2024

XIV + 69

The aim of this *in vitro* study was to evaluate the protective and therapeutic effects of hexagonal boron nitride (hBN) application before and after hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced oxidative stress on human gingival fibroblast (HGF) cells.

In our study, the HGF primary cell line was used. Before and after oxidative stress was created by inducing cells with 800 µM H₂O₂, hBN was applied at 3 different concentrations (0.001, 0.005, and 0.01 mg/mL) and its effect on the viability of HGF cells was examined by XTT test. In addition, total oxidant status (TOS) was measured before and after oxidative damage in HGF cells for hBN at 0.01 mg/mL concentration.

Considering the data we obtained from the study; it was determined that when hBN was applied to HGF cells before and after oxidative damage, it reduced cell damage (2%-5.5% and 3%-6.5%, respectively). No significant difference was found in TOS measurements. No cell viability-reducing effect was observed in HGF cells at any concentration applied only to hBN.

In conclusion, it was observed that hBN application had protective and therapeutic effects on oxidative stress induced by H₂O₂ in HGF cells. The results obtained are promising regarding the use of hBN in the prevention and treatment of oxidative stress-induced inflammations and tissue damage such as periodontitis, and further studies are needed.

KEYWORDS: Hexagonal boron nitride, fibroblast, oxidative stress

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
FOTOĞRAF LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	v
TEŞEKKÜR	1
1. GİRİŞ	2
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Periodonsiyum	5
2.2 Diş Eti	5
2.2.1 Diş Eti Epiteli.....	6
2.2.2 Diş Eti Bağ Dokusu	7
2.3 Fibroblastlar	7
2.4 Periodontal Hastalık.....	8
2.4.1 Periodontal Hastalık Patogenezi	8
2.4.2 Reaktif Oksijen Türleri	10
2.4.3 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	11
2.4.4 Periodontal Hastalıkta Aşırı ROT Üretimi	11
2.5 Antioksidanlar	12
2.6 Oksidatif Stres.....	13
2.6.1 Periodontal Hastalıkta Oksidatif Stres.....	14
2.7 Bor.....	14
2.7.1 Borun Tıp ve Diş Hekimliği Alanındaki Önemi.....	16
2.7.2 Bor ve İmmün Cevap	19
2.7.3 Borun Metabolizmaya Etkileri.....	19
2.8 Bor Nitrür.....	21
2.8.1 Hekzagonal Bor Nitrür.....	21
2.9 Total Oksidan Seviye Testi (TOS).....	24
2.10 XTT Testi.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1 Kullanılan Alet ve Cihazlar	27
3.2 Kullanılan Sarf Malzemeler	28
3.3 Gingival Fibroblast Hücrelerinin Elde Edilmesi ve Hücre Kültürü Uygulamaları	28
3.4 İnsan Gingival Fibroblast Primer Hücre Hattında Hidrojen Peroksit İle Hasar Modelinin Oluşturulması.....	35
3.5 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde hBN Etkisinin Değerlendirilmesi.....	35
3.6 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Öncesi hBN Etkisinin Değerlendirilmesi.....	35

3.7 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Sonrası hBN Etkisinin Değerlendirilmesi.....	36
3.8 Hücre Proliferasyon Canlılık Testi (XTT).....	36
3.9 Total Oksidan Seviye.....	37
3.10 İstatistiksel Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Hasar Modeli Oluşturulacak H ₂ O ₂ Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	41
4.2 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi.....	42
4.3 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Öncesi hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi.....	43
4.4 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Sonrası hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi.....	44
4.5 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Oluşum Öncesi ve Sonrasında hBN Uygulamasında Total Oksidan Seviyelerinin Değerlendirilmesi.....	45
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
7. KAYNAKLAR.....	55
8. EKLER	69

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Periodontal hastalık sırasında artan reaktif oksijen türleri (ROT) üretiminin mekanizması (Wang vd., 2017).....	12
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda hidrojen peroksitin insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı (%) üzerine etkisi	42
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda hekzagonal bor nitrürün insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı (%) üzerine etkisi	43
Şekil 4.3. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar öncesi farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının hücre canlılığına (%) etkisi	44
Şekil 4.4. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar sonrası farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının hücre canlılığına (%) etkisi.	45
Şekil 4.5. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının total oksidan seviyeleri üzerine etkisi	46

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan altyapı ve ekipmanlar ile kullanım amaçları	27
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kullanım amaçları	28
Tablo 4.1. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda H ₂ O ₂ ile oluşturulan hasar modelinde XTT testi ile ölçülen canlılık değerlerinin (%) karşılaştırılması	41
Tablo 4.2. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda hBN'nin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.3. Oksidatif stres oluşumu öncesi farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının insan gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.4. Oksidatif stres sonrası farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının insan gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.5. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasında total oksidan seviyelerinin karşılaştırılması	46

FOTOĞRAF LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Fotoğraf 3.1. Hastalardan alınan gingival fibroblastların kültür için hazırlanması	29
Fotoğraf 3.2. Hücrelerin fotoğraflanması amacıyla kullanılan inverted mikroskop (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı).....	30
Fotoğraf 3.3. Alınan diş eti dokusundan gingival fibroblast hücresi üretimi	30
Fotoğraf 3.4. Hücrelerin %5 CO ₂ içeren 37 °C'lik ortamda inkübe edilmesi için kullanılan inkübatör (Etüv). (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı)	31
Fotoğraf 3.5. Gingival fibroblastların 1. pasajının 13. gündeki invert mikroskop görüntüsü	32
Fotoğraf 3.6. EVE otomatik hücre sayma cihazı ile hücrelerin sayılması. (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı).....	34
Fotoğraf 3.7. Kazıyıcılar yardımıyla hücrelerin kazınması.....	38
Fotoğraf 3.8. Birinci ajan sonrası açık sarı renk görünümü	39
Fotoğraf 3.9. İkinci ajan sonrası platein koyu portakal rengine değişimi	39

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

Aβ:	Amiloid Beta
B:	Bor
BA:	Borik Asit
BN:	Bor Nitür
BNNS:	Boron Nitrit Nano Tabaka
BNNT:	Boron Nitrit Nano Tüp
Ca:	Kalsiyum
CAT:	Katalaz
DMEM:	Dulbecco'nun Modifiye Minimal Esansiyel Medyumu
DMSO:	Dimetilsülfoksit
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
FBS:	Fetal Bovine Serum
F. Nucleatum:	Fusobacterium Nucleatum
GPx:	Glutasyon Peroksidaz
GR:	Glutasyon Redüktaz
HA:	Hidroksiapatit
hBN:	Hekzagonal Bor Nitür
HOCl:	Hipokloröz Asit
HUVEC:	İnsan Göbek Kordonu Endotel Hücreleri
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
IL:	İnterlökin
IDF:	İnsan Dermal Fibroblast
İGF:	İnsan Gingival Fibroblast
kg:	Kilogram
mg:	Miligram

Mg:	Magnezyum
mL:	Mililitre
mRNA:	Haberci RNA
N:	Azot
Na:	Sodyum
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NF-κB:	Nükleer Faktörü Kappa B
NO:	Nitrik Oksit Radikali
O₂⁻:	Süperoksit Radikali
OH⁻:	Hidroksil Radikali
RANKL:	Reseptör Aktivator Nükleer Kappa B (RANK)/RANK Ligandı
RNA:	Ribonükleik Asit
ROT:	Reaktif Oksijen Türevleri
S. mutans:	Streptococcus Mutans
SOD:	Süperoksit Dismutaz
S. pasteurii:	Staphylococcus Pasturi
SR:	Serbest Radikal
TNF-α:	Tümör Nekroz Faktörü alfa
TOS:	Total Oksidan Seviye
UV:	Ultraviyole
μg:	Mikrogram

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında bilgi, destek ve tecrübelerini sabır ve anlayışla bana sunan değerli tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN'a

Tez çalışmam boyunca bir baba gibi desteğini hep arkamda hissettiğim, her koşulda bana bir şeyler öğretmek için çabalayan Prof. Dr. Akif Hakan KURT'a, benimle hiç bıkmadan usanmadan sanki kız kardeşiyimmişçesine ilgilenip tüm sorunlarıma çözüm bulan Dr. Cansu KARA ÖZTABAĞ'a,

Bilgi ve deneyimlerini daima cömertçe paylaşarak uzmanlık eğitimime çok büyük katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi Nuray ERCAN, Dr. Öğr. Üyesi Esra ATEŞ YILDIRIM ve Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKGÜL'e,

Hekzagonal bor nitrür temin ve tedarikinde bana yardımcı olup materyale dair bilgi birikimlerini en ince ayrıntısına kadar paylaşan sevgili hocalarım Prof. Dr. Nuran AY ve Doç. Dr. Yapıncak GÖNCÜ'ye,

Tezimin deneyleri için kendi laboratuvar malzemelerini gözünü kırpmadan bize ödünç veren Dr. Öğr. Üyesi Özge KAYA'ya, istatistiksel analiz sürecinde bana destek veren Doç. Dr. Mehmet Ali SUNGUR'a,

Asistanlık hayatım boyunca pek çok şeyi paylaştığım ve benim için kardeşten öte olan sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. İlayda GÜNEY, Arş. Gör. Dt. Fatmanur Ezgi DOĞAN, Arş. Gör. Dt. Hatice Aysim LEYMUN ERKİN ve Arş. Gör. Dt. İsmail Furkan GÜNEY'e,

Bana tez dönemimde ve klinikte her zaman yardımcı olan beraber çalışmaktan keyif aldığım sevgili dostlarım Arş. Gör. Dt. Utku BÖCÜOĞLU, Arş. Gör. Dt. Tuğba BULUT, Arş. Gör. Dt. Tuğçe ÇAĞIRAN GÜRBÜZ, Arş. Gör. Dt. Hilal KECEL TURAN ve Arş. Gör. Dt. Senem FİLİZ'e,

Başından sonuna kadar Bolu Perio ailesinin tüm çalışanlarına ve bana emeği geçen herkese,

Bugünlerimin mimarı olan her şeyden çok sevdiğim canım annem Işık YALÇIN ve canım babam Aydın YALÇIN'a,

Ve böylesine stresli bir dönemde dahi beni güldürmeyi başarabilen sevgili eşim Onur BİLKE ve ailesine gönülden teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, dişleri destekleyen dokuların zarar görmesi ile ortaya çıkan enflamatuvar bir hastalıktır ve en yaygın oral hastalıklardan biridir (1,2). Periodontal hastalığın başlangıcı bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkilendirilse de patojene karşı oluşan immün ve enflamatuvar yanıtların periodontal dokuların yıkımındaki rolü daha önemlidir (3,4). Son dönemde gerçekleştirilen araştırmalar, oksidatif stresin periodontitis gibi çeşitli kronik enflamasyon türlerinin gelişiminde önemli bir rol oynadığını gösteren kanıtların arttığını ortaya koymuştur (5). Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT) seviyeleri ile vücudun doğal antioksidan kapasitesi arasındaki dengenin bozulduğu bir durum olarak tanımlanır. Periodontitisin ilerlemesi sırasında nötrofiller aşırı derecede aktive olur ve bakterilere karşı tepki olarak H₂O₂ ve süperoksit gibi ROT'ları salgılar. ROT seviyelerindeki bu artış, lipid peroksidasyon ürünlerinin yanı sıra DNA ve protein hasarının da artmasına neden olarak hücrelerde ve dokularda tahribata yol açar (6–10). ROT, enflamatuvar faktörlerin ekspresyonunu tetikleyen NF-κB sinyal yolunu aktive eden bir sinyal faktörü olarak işlev görür. Ayrıca, ROT RANKL sinyal yolu aracılığıyla osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu destekleyerek alveolar kemik rezorpsiyonuna ve periodontal doku hasarına neden olur (11,12).

Periodontitis tedavisinin temel amacı, patojenik mikrobiyotayı ortadan kaldırarak enflamatuvar yanıtı durdurmak ve böylece iyileşmeyi sağlamaktır (13). Etkili bir periodontal tedavinin ana unsuru, yerleşik biyofilmi bozmak için uygulanan mekanik kök yüzeyi debridmanıdır. Diğer tüm tedaviler ve kullanılan ajanlar, mekanik periodontal tedaviye yardımcı ek uygulamalar olarak kabul edilmektedir (14). Ancak, mekanik debridman derin ceplere ve furkasyonlara ulaşamama ve bazı patojenleri tamamen yok edememe gibi sınırlamalara sahip olduğu için zor bir prosedür olarak değerlendirilir (15). Literatürde, başta bir antimikrobiyal olan klorheksidin olmak üzere periodontal tedaviye yardımcı olarak incelenen birçok ilaç ve alternatif terapiler mevcuttur; fakat hepsinin kendilerine göre dezavantajları da bulunmaktadır (16–24). Periodontal tedaviyi destekleyici olarak araştırılan son ajanlardan biri de antibakteriyel ve anti-enflamatuvar özelliklere sahip borik asittir (25–28).

Son yıllarda bor bileşikleri, çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (29,30). Doğada serbest halde bulunmayıp laboratuvar ortamında elde

edilen Bor Nitrür (BN), bor ve nitrojen kaynaklarından eşit sayıda B ve N atomu içerecek şekilde sentezlenen bir bileşiktir (30–32). BN, benzersiz kimyasal, fiziksel, termal ve mekanik özelliklerinin yanı sıra biyouyumlu ve toksik olmaması nedeniyle sağlık alanında büyük ilgi görmektedir (33–35). Ayrıca, BN nanoparçacıkları düşük sitotoksikite potansiyeli, yüksek kimyasal stabilite, yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve hızlı hücre alımı gibi avantajlara sahiptir (36). Basınç ve sıcaklık değişimlerine bağlı olarak BN molekülü, çeşitli kristal formlarında bulunabilir; fakat oda sıcaklığında en kararlı olanı hekzagonal bor nitrür (hBN) formudur (37,38).

Hekzagonal bor nitrürün farklı uygulamalara imkân veren üstün özellikleri, tıp alanındaki uygulamalarının ve araştırmalarının hızla artmasına neden olmuştur. Hekzagonal bor nitrür nanopartiküllerin insan dermal fibroblast (İDF) hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini ve antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, hBN'nin 0.025-0.1 mg/mL konsantrasyon aralığında İDF hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin olmadığı; diğer yandan yüksek hBN konsantrasyonlarında (0.2-0.4 mg/mL) ise İDF hücrelerinde hafif sitotoksikiteye neden olduğu bildirilmiştir (40). Ayrıca bu çalışmada hBN nanopartiküllerinin üç bakteri (*S. mutans* 3.3, *S. mutans* ATTC 25175, *S. pasturi* M3) ve bir mantar (*Candida sp.* M25) türü üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Hekzagonal bor nitrür nanopartiküllerinin kullanılan konsantrasyonda (0.025–0.4 mg/mL) bakteri üremesini engellediği fakat bakterileri öldürmediği rapor edilmiştir. Bunun yanında hBN nanopartiküllerin antibiyofilm özellik göstererek özellikle önceden oluşturulmuş biyofilmin büyümesi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, bu çalışmanın tüm sonuçları göz önüne alındığında, hBN nanopartiküllerin uygun konsantrasyonda (0.1 mg/mL) kullanıldığında potansiyel olarak güvenli bir ağız bakım ürünü olabileceğini belirtmişlerdir. (39). Emanet ve arkadaşlarının hBN'nin yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hBN'lerin düşük konsantrasyonda yara kapanmasını hızlandırdığı, antioksidan özellikleri sayesinde reaktif oksijen türleri (ROT) seviyelerini düşürerek yara iyileşme sürecini iyileştirebildiği, anjiogenik aktivitesi olduğu, hücre proliferasyonu üzerinde etkisi olduğu ve hücreleri apoptozdan kurtarabildiği tespit edilmiştir (40). Çakır Gündoğdu ve ark. (41) sıçan beyinlerinde lipopolisakkarit ile indüklenen enflamasyona karşı hBN

nanopartiküllerin olası koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmalarında, hBN nanopartiküllerinin pro-enflamatuar sitokinler olan tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) düzeylerindeki lipopolisakkarit kaynaklı artışın azalmasını sağlayarak beyindeki enflamasyonu engellediği bildirilmiştir. Bunun yanında hBN nanopartiküllerin total oksidan seviye (TOS) artışını azaltarak lipopolisakkarit kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve intrinsik apoptotik yolun bileşenleri olan sitokrom c ve kaspaz-3 düzeylerini dūřürerek apoptozu engellediği belirtilmiştir.

Bilgilerimiz dahilinde periodontoloji alanında henüz hBN nanopartiküller ile ilgili bir çalışma bulunmazken, hBN'nin muhtemel bozunma ürünü olan borik asit (BA) ile ilgili çalışmalar mevcuttur (40,42). Hekzagonal bor nitrür ile karşılaştırıldığında BA daha kısa sürede ve daha hızlı parçalandığından yarı ömrü çok daha kısadır; bu da BA'nın yara iyileşmesinde kullanımını sınırlandırmaktadır (40,42). Periodontitis tedavisinde BA'nın etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmalarda, deneysel periodontitis oluşturulan hayvan modellerinde periodontitis tedavisinde BA'nın periodontal enflamasyon ve ataşman kaybında azalma sağlayarak tedaviye fayda sağladığı gösterilmiş ve bunun, bor içeren bileşiklerin antimikrobiyal, anti-enflamatuar ve immün düzenleyici etkilerinin kombinasyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (25,27,28). Ek olarak, BA'nın osteogenetik hücrelerin farklılaşmasını uyararak osteogenezi teşvik ettiği gösterilmiştir (25,27,43). Yapılan klinik çalışmalarda kronik periodontitisli hastalarda mekanik periodontal tedaviye ilave %0.75'lik borik asit ile subgingival irrigasyonun veya %0.75'lik borik asit jelin subgingival uygulanmasının periodontal klinik parametrelerde iyileşme sağladığı ve borik asitin klorheksidine alternatif olabileceği bildirilmiştir (25,43,44).

Nanopartikül yapıda bir bor bileşiği olan hBN'nin antibakteriyel, antiplak, antitümör ve antioksidan özellikleri bilinmesine rağmen, bilgilerimiz dahilinde güncel literatürde insan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruma ve tedavi edici potansiyelini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple bu çalışmada, hidrojen peroksit yoluyla oksidatif hasar oluşturulan insan gingival fibroblast hücrelerinde, hBN'nin koruyucu ve iyileştirici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Periodonsiyum

Periodonsiyum, dişlerin etrafında yer alan ve dişleri destekleyen dokular bütünüdür. Periodontal dokular dört ana bileşenden oluşur: (a) mukozal doku, dişler ve kemiğe bağlanan altta yatan bağ dokularından oluşan diş eti; (b) hücresel ve hücresel olmayan formlarıyla kök dentinini saran ince, mineralize doku olan sement; (c) dişler ve çevredeki kemik arasında uzanan mineralize olmayan, fibröz bir doku olan periodontal ligament; ve (d) alveolar kemik (45).

Bu periodontal bileşenlerin her biri konumu, doku mimarisi, biyokimyasal bileşimi ve kimyasal bileşimi bakımından birbirinden farklıdır, ancak bu bileşenlerin tümü birlikte tek bir birim olarak işlev görür. Bu nedenle periodontal bileşenlerin birinde oluşan patolojik değişiklikler periodonsiyumun diğer bileşenlerinin bakımı, onarımı veya rejenerasyonu üzerinde önemli etkilere sahip olabilir.(46)

2.2 Diş Eti

Diş eti; serbest diş eti, interdental diş eti ve yapışık diş eti olmak üzere üç anatomik bölümden meydana gelmiştir. Serbest diş eti, mercan pembesi renkte olup, mat bir yüzeye ve sıkı bir dokuya sahiptir. Dişlerin vestibüler ve lingual/palatal bölgelerindeki diş etini içerir. Dişlerin vestibüler ve lingual yüzeylerinde bulunan serbest diş eti, diş eti kenarından mine-sement birleşimine karşılık gelen apikal seviyeye kadar uzanarak serbest diş eti oluşuna ulaşır (47). Serbest diş eti genellikle yaklaşık 1 mm genişliğinde olup, diş eti oluşunun yumuşak doku duvarını meydana getirir. Periodontal sond kullanılarak diş yüzeyinden kolayca ayrılabilir (47).

Yapışık diş eti, mukogingival birleşim ile diş eti oluşunun tabanı arasındaki bölümdür (48). Oldukça esnek bir yapıdadır ve alttaki kemiğin periostuna sıkıca bağlanmaktadır.

İnterdental diş eti, komşu dişlerin temas noktaları arasındaki embraşür boşluğunu dolduran kısımdır. Çiğneme mukozasından ve oral epitel ile kaplı yoğun bir bağ dokusundan oluşur (5). İnterdental papillanın şekli komşu dişler arasındaki temas noktalarından, interdental diş yüzeylerinin genişliğinden ve mine-sement birleşiminin seyrinden etkilenir (49).

2.2.1 Diş Eti Epiteli

Diş eti epiteli, marjinal diş etinin tepesini, dış yüzeyini ve yapışık diş etinin yüzeyini kaplar. Keratinize/parakeratinize veya bunların çeşitli kombinasyonları şeklinde bulunabilirken ağırlıklı olarak parakeratinizedir (50–52).

Diş eti epiteli, diş ve alveolar kemikle arasındaki adaptasyona ve bulunduğu konuma göre farklı morfolojik özellikler göstermektedir. Üç farklı tipi mevcuttur: (a) ağız boşluğuna bakan oral epitel; (b) diş yüzeyine temas etmeden dişe bakan sulkular epitel; (c) diş eti ile diş arasındaki teması sağlayan bağlantı epiteli (53).

Oral epitel çok katlı yassı epitelden oluşur ve keratin üreten hücrelerin farklılaşma derecelerine bağlı olarak dört farklı hücre tabakasına ayrılır: (a) bazal katman (stratum bazale veya stratum germinativum); (b) dikensi/boynuzsu hücre katmanı (stratum spinosum); (c) granüler hücre katmanı (stratum granulosum) ve (e) keratinize hücre katmanı (stratum corneum).

Keratinositlerin farklılaşması, bazal katmandan üst katmanlara doğru göç eden hücrelerde meydana gelen biyokimyasal ve morfolojik olayların meydana gelmesinden oluşan keratinizasyon sürecini içerir. Ana morfolojik değişikliklerden biri de ortokeratinizasyon olarak adlandırılan çekirdeğin ortadan kaybolmasıdır. Oral epitelin yalnızca bazı alanları ortokeratinizedir; insan diş eti epitelinin stratum korneum hücreleri çoğunlukla çekirdek kalıntılarını içerir. Bu tür bir durumda, epitelin parakeratinizasyon gösterdiği ifade edilir (47,48,54).

Bazal katmandaki hücreler silindirik veya küboid şekildedir ve epitel ile bağ dokusu arasındaki temas bazal membran tarafından sağlanır. Bazal hücreler bölünme yeteneğine sahiptir, dolayısıyla epitelin yenilediği katman bazal katmandır. Bu sebeple, bu katman aynı zamanda stratum germinativum olarak bilinir ve epitelial progenitör hücrelerin bulunduğu bölge olarak tanımlanır. Hücreler hızlı bir şekilde stratum granulozumdan stratum korneuma geçer. Bu durum, keratinosit sitoplazmasının aniden keratinle dolmasının bir işaretidir. Stratum korneumdaki hücrelerin sitoplazması tamamen keratinle doldurulur, bu nedenle protein sentezi ve enerji üretimi için gerekli olan tüm organeller kaybolur. Ancak, parakeratinizasyon durumunda, stratum korneum hücreleri çekirdek kalıntılarını içerebilir.

Sulkular epitel, diş yüzeyi ile diş eti kenarı arasında uzanan diş eti oluşunu kaplayan epitel tabakasıdır. Sulkular epitelin de hücresel yapısı ve bileşimi oral epitel gibi parakeratinize ve çok katmanlıdır (55).

Bağlantı epiteli, yüzey hücreleri dışı bağlanma amacıyla özelleşmiş olduğundan benzersiz bir yapıya sahiptir (46). Bu nedenle diğer epitel dokulardan farklı olarak hücrelerin yüzeyden dökülmesine olanak yoktur. Bunun yerine, bazal katmandaki hücreler sürekli olarak bölünür. Bağlantı epitelinin hücreleri arasındaki boşluklar da diğer epitelyal dokularda görülenlerden daha büyüktür. Bu konfigürasyon, bağlantı epitelindeki desmozom yoğunluğunun dış eti epitelinden daha düşük olmasının bir sonucudur. Ayrıca bağlantı epiteli, oral epitel ve sulkular epitelten farklı olarak keratinizasyon göstermemektedir. Bu özelliklerinden dolayı birleşim epiteli geçirgen özellik gösterir (47). Bu durumun periodontal patogenezi açısından büyük önemi vardır. Oral epitel ve sulkular epitel koruyucu fonksiyona sahipken, birleşim epiteli konak savunma sistemi ve doku sağlığının düzenlenmesinde büyük önem taşır (56).

2.2.2 Dış Eti Bağ Dokusu

Dış etinin baskın doku bileşeni lamina propria olarak da adlandırılan bağ dokusudur. Dış eti bağ dokusu; hücre dışı matrikse gömülü kolajen lifler, fibroblastlar, kan damarları ve lenfatik damarlar, bağışıklık hücreleri, sinirler ve hücre dışı matrislerden meydana gelir (57).

2.3 Fibroblastlar

Dış eti bağ dokusundaki hücrelerin %65'ini oluşturan fibroblastlar, bağ dokusunun temel hücreleridir. Fibroblastların temel işlevi; kollajen ve elastik lifleri, bağ dokusunun hücre dışı matrisini oluşturan glikoproteinleri ve glikozaminoglikanları sentezlemek, bağ dokusunun gelişimine, onarımına ve yeniden düzenlenmesine katkıda bulunmaktır (58,59).

Fibroblastların morfolojisi incelendiğinde tipik olarak ince, uzun iğ şeklinde oldukları ve yüksek sentez aktiviteleriyle tutarlı olarak belirgin kaba endoplazmik retikulum ve golgi aparatına sahip oldukları görülmektedir. Sitoplazmalarında genellikle bol miktarda mitokondri, vakuol ve vezikül bulunur. Hareketsiz fibroblastlarda hücre içi mikrofilamentler nadiren görülür, ancak hücre göçü aktive olduğunda belirginleşir (48).

Fibroblastlar kolajenaz adı verilen ve matriks metalloproteinazlar ailesine dahil olan bir enzim salgılayarak bağ dokusunun yeniden yapılanmasını, metabolik

degradasyonları sağlar ve hücre dışı matriksi parçalar. Bu nedenle fibroblastlar diş eti doku bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynar (60).

2.4 Periodontal Hastalık

Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plak içindeki patojen bakterilerin neden olduğu konak-bakteri etkileşimi sonucu gelişen, diş ve çevre dokuları etkileyen hastalıklardır (47). Mikrobiyal dental plak uzaklaştırılmadığı takdirde önce ataşman kaybı olmayan fakat kanama ve enflamasyonla karakterize gingivitis; daha sonrasında ise periodontal cep oluşumu, diş eti çekilmesi ve alveolar kemik yıkımının eşlik ettiği periodontitis tablosu ortaya çıkar (61). Tüm bu destek doku kayıpları diş kaybına yol açarak çiğneme bozukluklarına, estetik problemlere ve bireylerin yaşam kalitesinin düşmesine neden olabilir (62).

2.4.1 Periodontal Hastalık Patogenezi

Klinik olarak enflame olmayan ve sağlıklı olduğu düşünülen diş etinde bile her zaman nötrofil gibi bazı enflamatuar hücreler mevcuttur. Sürekli mevcut olan enflamatuar hücrelerin oluşturduğu düşük dereceli enflamatuar yanıt klinik düzeyde makroskobik olarak saptanamasa da patojenlerle mücadele etmek, bakterilerin ve bunların ürünlerinin birleşim epitelinden dokulara sızmasını ve doku hasarına neden olmasını önlemek için temel bir koruyucu mekanizma olarak görev yapar. Birleşim epitelinin geçirgen özellikte olması patogenezi açısından önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Birleşim epitelindeki desmozom adındaki genişlemiş hücreler arası boşluklar nötrofillerin göçüne ve makrofajların sulkusa girerek bakterileri fagosite etmesine izin verir. Ayrıca buradan bakteri ürünleri ve antijenlerin girişi de meydana gelir. Nötrofiller sürekli olarak bağ dokuları boyunca göç eder ve sulkusa veya cebe girmek üzere birleşim epitelinden geçer (63).

Doğal bağışıklık, enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı görevi görür ve potansiyel patojenlerin çoğu bir enfeksiyon oluşturmadan önce bu yolla ortadan kaldırılır. Ancak bu fizyolojik süreç spesifik olmayan bağışıklığı kapsar. Periodontal sağlıkta, serum veya diğer vücut sıvılarının bazal membranlardan geçişini betimleyen transüda sıvısı diş eti oluşunu yıkar. Transüda sıvısı, düşük protein içeriğine ve az sayıda hücreye sahiptir. Enflamasyonun vasküler fazı mikrosirkülasyonu etkiler, diş eti kılcal yataklarından sıvı sızıntısının artmasına ve polimorfonükleer lökositlerin akışına neden olarak hücre açısından zengin bir enflamatuar eksüda oluşturur. Bu enflamatuar eksüdanın üretimi akut enflamatuar

yanıtın ayırt edici özelliğidir. Konak savunma hücreleri histamin, lökotrienler, heparin, serotonin ve hyaluronik asitin yanı sıra antimikrobiyal enzimler ve faktörler de dahil olmak üzere çok çeşitli granül ürünleri içermektedir. Bu birincil spesifik olmayan savunma sürecinin başarısız olması durumunda, edinsel bağışıklık sistemi hücrelerini ve biyomoleküllerini içeren kronik enflamatuar yanıt ortaya çıkar (64).

Kronik enflamatuar faz sırasında *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* ve *Treponema denticola* gibi patojen olarak kabul edilenler de dahil olmak üzere çok sayıda oral bakteriye karşı daha spesifik reaksiyonların varlığında doku yıkımı artar. Fakat bu bakterilerin varlığı her zaman periodontal hastalık ile sonuçlanmamaktadır (65). Hastalığın yayılabilmesindeki en önemli faktör bu bakterilerin biyofilm adı verilen son derece organize mutualizm içeren bir bakteri topluluğu haline evrilebilmesidir (66). Gram-pozitif bakteri toplulukları, konakta kolonileşme yeteneğine sahiptir ve simbiyotik olarak var olabilir. Bu özellikleri sayesinde gram negatif anaerob patojenik bakterilerin büyümesini etkili bir şekilde engelleyerek koruma sağlarlar (67). Artan mikrobiyal yük, enflamatuar yanıtın gelişmesine ve biyofilmin büyümesine neden olarak virülansın artmasına katkıda bulunabilir. Bu durum, daha disbiyotik bir biyofilmin oluşumunu destekleyebilir ve artan enflamasyon, gram-negatif anaerobik bakterilerin çoğalmasını teşvik edebilir. Bu bakterilerin virülans faktörleri, diş eti oluşunu istila etmelerine ve bazı konak savunmalarından korunmalarına yardımcı olur. Sonuç olarak, konağın immüno-enflamatuar yanıtını tetikleyebilir ve tedavi edilmezse periodontal hastalığa yol açabilir (68). Bakteriyel ürünler, periodontal enflamasyonun gelişiminin ilk aşamasında proenflamatuar mediyatörlerin salınımını tetiklemektedir. Nükleer faktör kappa-B (NF-KB) transkripsiyonunun proenflamatuar sitokinlerin artan salınımına sebep olduğu düşünülmektedir (69). Bu artan sitokin salınımı, gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan bir endotoksin olan lipopolisakkaritin mevcudiyetinde başlamaktadır (70).

Periodontitiste konak kökenli enzimler, sitokinler ve mediyatörler de ekstrasellüler matriksin ve alveol kemiğinin yıkımında rol oynar (2). Periodontal enflamasyon sırasında, gingival dokularda yükselen interlökin (IL)-1, IL-6, IL-11, IL-17 ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α düzeyleri, kemik rezorpsiyonunu tetikleyen süreçleri harekete geçirir. Bu sitokinler ve enflamatuar mediyatörler periodontal

hastalıkta kemik ve yumuşak doku yıkımında temel yollardan biri olan doku kökenli matriks metalloproteinazlar yolu ile kolajen yıkımını ve alveol kemik rezorpsiyonunu uyarır (71). Ayrıca kallidin ve bradikinin gibi kininler, trombin ve çeşitli kemokinler de kemik rezorpsiyonunu teşvik edici etkiye sahiptir. Öte yandan, IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi antienflamatuvar mediyatörlerin ise kemik rezorpsiyonunu engelleyici etkileri bulunur (72,73).

Nötrofiller, makrofajlara kıyasla daha az sitokin salgılamalarına rağmen, gingivitis ile periodontitis arasındaki geçiş safhasında periodonsiyumdaki nötrofillerin sayısı kemik yıkımının boyutunda belirleyici bir faktördür (74,75). Nötrofiller, osteoblastlardan RANKL ekspresyonunu uyararak osteoklastik kemik rezorpsiyonunu tetikleyen bir sitokin olan IL-17' nin önemli bir kaynağıdır (74,76). Ayrıca, nötrofiller kemik yıkımının önemli mediyatörlerinden olan prostaglandinlerin ana kaynağını oluşturur (74,77). Bu nedenle, periodontitiste sürekli nötrofil varlığı, osteoklastojenik faktörler ve doku yıkım mediyatörleri için ek bir kaynak sağlar. Ek olarak, nötrofillerin kemik yıkımında osteoklastogenezini doğrudan etkilediğine dair bulgular da mevcuttur (74,78). Periodontal hastalıklarda esas etiyolojik faktör subgingival biyofilmde bulunan ağırlıklı gram negatif anaerobik veya fakültatif bakteriler olsa da, periodontal doku harabiyetinin büyük çoğunluğundan bu mikroorganizmalara ve ürünlerine karşı gelişen aşırı veya düzensiz konak yanıtının sorumlu olduğu düşünülmektedir (47,79). Konak savunmasında esasen, proteolitik enzimler ile reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengeyi korumanın asıl görev olduğuna inanılmaktadır (80).

2.4.2 Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROT); süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve nitrik oksit radikali (NO^{\cdot}) gibi serbest radikal türlerinin yanı sıra hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi oksijenin radikal olmayan türevlerini de kapsayan genel bir terimdir. Serbest radikal (SR) türlerinin dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronun bulunması, bu türleri doğada aşırı derecede reaktif hale getirir. ROT hem çeşitli hücresel mekanizmaların düzenlenmesinde önemli roller oynamakta, hem de canlı organizmalarda ciddi yıkımlara neden olabilecek birçok zararlı etkiye sahip olmaktadır (81,82).

ROT'nin zararlı maddelere karşı hücresel yanıt geliştirme, hücresel iletişim, mitojenik yanıt ve çeşitli reseptörler aracılığıyla sinyal yollarını aktive etme gibi yetenekleri faydalı etkiler arasındadır (83). Mikroorganizmalara karşı yanıt olarak SR oluşumu fizyolojik bir durumdur. Ancak, ROT'nin aşırı salgılanması antioksidan savunma sistemi tarafından dengelenemez; bu da oksidatif strese daha sonrasında da hücre düzeyinde DNA dahil çeşitli biyomoleküllerde ve dokularda hasara sebep olur (84,85). Sonuç olarak; ROT lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, protein bozulması ve tepkimelerdeki kilit enzimlerin oksidasyonu gibi doğrudan doku hasarlarına yol açabilir. Ayrıca, sinyal molekülleri veya enflamasyon aracılıları olarak da işlev görebilir (80).

2.4.3 Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Birçok sistem, süperoksidin spontan dismutasyon reaksiyonu sonucunda H₂O₂ üretir. H₂O₂ eşleşmemiş bir elektrona sahip olmadığından SR olarak kabul edilmez, ancak reaktif oksijen türlerinin oluşumunda öncül rol oynar. H₂O₂' in en önemli özelliği süperoksitte bulunmayan hücre zarından geçebilme yeteneğidir. Bu nedenle, bir bölgede üretilen H₂O₂, yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikaline dönüşmeden önce diğer bölgelere yayılabilir ve toksik etkilerini burada gösterebilir (86,87).

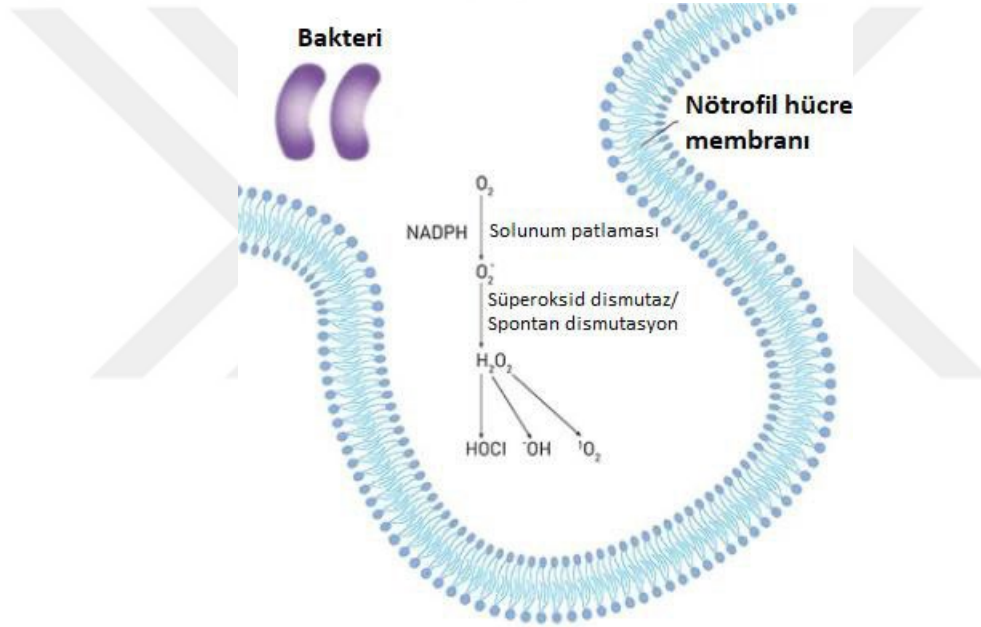
Güçlü bir oksitleyici ajan olduğu için makromoleküllerde hasar oluşturma riski taşır; bu nedenle hücrelerde bulunan katalaz ve peroksidaz gibi antioksidan enzimler tarafından hızla yok edilmelidir (82,88,89).

2.4.4 Periodontal Hastalıkta Aşırı ROT Üretimi

Periodontitiste başlıca ROT kaynağının nötrofiller olduğu düşünülmektedir. Bunlar kanda en fazla bulunan hücreler olup, bakteriyel enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını oluştururlar. Mikrobiyal dental plağın oluşturduğu biyofilmin konak yanıtını tetiklemesinin ardından, nötrofiller periodontal dokuda ve diş eti oluğunda birikerek en yaygın enflamatuar hücreler haline gelirler (90). Patojenler tarafından uyarılan nötrofiller fagositoz sırasında nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH) enziminin kataliz ettiği "solunum patlaması" olarak bilinen bir metabolik yol ile süperoksit anyonu (O₂⁻) üretirler (80). Bu O₂⁻, fagozom ve hücre dışı ortama salınabilir ve daha sonra H₂O₂, HOCl, OH⁻ ve tek oksijen (¹O₂) gibi çeşitli radikal ve radikal olmayan türevlere dönüşebilir.

Protein fosforilasyonu, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, apoptoz, bağışıklık yanıtları ve hücre farklılaşması gibi süreçlerin hepsi, uygun

seviyede ROT üretimine ve bu seviyelerin hücre içinde düşük tutulmasına bağlıdır (91). ROT'nin üretimi arttığında proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi hayati hücresel yapılar üzerinde zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (92). Bu moleküller, esas olarak mitokondri, peroksisom ve endoplazmik retikulumda gerçekleşen çeşitli metabolik reaksiyonlarda tüketilen oksijenden üretilir. Mitokondrilerde tüketilen oksijenin yaklaşık %2'sinin indirgenerek süperoksit oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle mitokondriler ROT'nin ana kaynağı olarak kabul edilir (93,94). Peroksisomlar, hem ROT'nin temizlenmesinde hem de ROT üretiminde rol oynar (95). Endoplazmik retikulum ise, disülfit bağlarının oluşumu ve proteinlerin katlanmasını destekleyen, protein oksidasyonu yoluyla ROT seviyelerini artıran oksitleyici bir ortam sağlar (96).



Şekil 2.1. Periodontal hastalık sırasında artan reaktif oksijen türleri (ROT) üretiminin mekanizması (Wang vd., 2017)

2.5 Antioksidanlar

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda bile oksitlenebilen bir substratla karşılaştıklarında onun oksidasyonunu önemli ölçüde engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanabilir (97). Antioksidanlar, SR'lerin oluşturduğu hasara karşı koruma sağlamak için çeşitli mekanizmalar kullanır. Bu mekanizmalar SR oluşumunu engellemek, reaktif metabolitleri temizleyip daha az reaktif hale dönüştürmek, SR'yi nötralize etmek, SR'nin neden olduğu hasarı onarmayı kolaylaştırmak ve diğer antioksidanların etkili çalışabilmesi için uygun bir ortam oluşturmaktır (98).

Epidemiyolojik araştırmalar, antioksidanların ROT aktivitesini azaltarak kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını düşürdüğünü ortaya koymuştur (99). Oksidatif hasara karşı ilk tanımlanan savunma mekanizmaları, ROT oluşumunu engelleyenler ve oluşan SR'leri etkisiz hale getirenler olarak bilinir (100). Vücudun redoks dengesini korumak için detoksifikasyon enzimleri ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar ağından oluşan bir sistem bulunmaktadır. Antioksidanlar, iç kaynaklı (endojen) ve dış kaynaklı (eksojen) olmak üzere iki temel gruba ayrılabilir. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar SR'leri etkisiz hale getirme yeteneğine sahiptir ve vücudu SR'lerden koruyarak oksidan/antioksidan dengesini sağlarlar.

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR), enzimatik savunma mekanizmasını oluşturan temel enzimatik antioksidanlardır. Bu enzimatik antioksidanlar, doğrudan ROT'leri nötralize ederek ROT seviyelerinin normal aralıkta kalmasını sağlamada kritik öneme sahiptir (101,102).

ROT'leri nötralize etmek için kullanılan ikincil mekanizmalar eksojen antioksidanlardır (80). Çeşitli meyve ve sebzelerden elde edilen dengeli bir beslenme ile eksojen antioksidanlar alınır (103). Eksojen antioksidanlar, vitamin ve ilaç olarak kullanılanlar şeklinde iki ana kategoriye ayrılabilir. α -Tokoferol, β -karoten, askorbik asit ve folik asit vitamin kaynaklı eksojen antioksidanlardır (104,105). Ksantin oksidaz ve NADPH inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-c, sitokinler, barbitüratlar ve demir şelatörleri ise ilaç kaynaklı eksojen antioksidanlar arasında yer alır (103–105).

2.6 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, ROT üretimi ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki homeostatik dengenin bozulmasından kaynaklanır ve periodontal hastalık gibi çeşitli enflamatuvar hastalıklarla bağlantılı olduğu düşünölmektedir (106). Genel olarak süperoksit (O₂) ve hidroksil (HO-) serbest radikalleri gibi reaktif özellikteki oksijen içeren moleküller ile H₂O₂ gibi radikal olmayan moleküller ROT olarak adlandırılır. Protein fosforilasyonu, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, apoptoz, bağışıklık ve farklılaşma gibi süreçler, uygun ROT üretimine ve hücreler içinde düşük seviyelerde tutulmasına bağlıdır (91). Orta derecede stres apoptozu

tetiklerken, daha yoğun stresler nekroza yol açabilir. Antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kaldığında, çeşitli dokularda hasar meydana gelebilir ve artmış oksidatif stresin zararlı etkileri oksidatif hasar olarak adlandırılır (107,108). Aşırı ROT üretimi, hücrel lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek hücre işlevselliğini bozabilir (91). Hücreler, ROT'nin neden olduğu hücrel hasardan korunmak için esas olarak süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik bileşenlere dayanan bir antioksidan savunma sistemi kullanır (109). Oksidatif stres, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, diyabetes mellitus, enflamatuvar hastalıklar, psikolojik hastalıklar ve yaşlanma süreçleri dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenetik mekanizmalarıyla ilişkili bir durumdur (110).

2.6.1 Periodontal Hastalıkta Oksidatif Stres

Periodontitis patogeneğinde, enflamatuvar hücrelerin en baskın bağışıklık sistemi hücreleri olan nötrofillerin aşırı üretimi, normalden daha fazla ROT oluşumuna yol açar. Bu durum, oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengeyi bozarak oksidatif strese sebep olur (80,111). Nötrofiller, NADPH oksidaz aktivasyonu, süperoksit radikali (O₂⁻) ve ikincil ROT oluşumuyla proenflamatuvar yolları aktive eden sinyal uyarımına aracılık eder ve bu, enflamasyon sırasında artan oksidatif stresin nedenidir. Periferal kan menşeli nötrofillerin ürettiği ROT'lerin tamamı, birçok akut ve kronik enflamatuvar durumda görülen doku hasarı ile ilişkilidir (112,113). ROT'lerin enflamasyon alanında doku hasarına neden olmasının yanı sıra, proenflamatuvar sitokinler için ikincil haberci olarak davrandıkları da gösterilmiştir (114). Ayrıca ROT, osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından RANKL reseptör aktivatörünü artırarak kemik yıkımına katkıda bulunur (115).

2.7 Bor

Bor (B), atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81 g, yoğunluğu 2.84 g/cm³, ve erime noktası 2300 °C olan, metal ve ametal özellikler arasında yarı iletken özelliklere sahip, periyodik tablonun üçüncü grubunun başında yer alan bir elementtir. Doğada kütle numaraları 10 ve 11 olan iki kararlı izotopu bulunmaktadır (116). Dünya bor rezervlerinin %73,5'i Türkiye'de bulunmaktadır (29).

Yaklaşık 250 çeşit bor minerali bulunmaktadır. Bor, doğada serbest halde bulunmaz; bol miktarda borik asit (BA) ve boratlar halinde bulunur (117). Metal-

bor oksijen bileşiklerine genel olarak borat denir (referans). Bor mineralleri genellikle magnezyum (Mg), sodyum (Na) ve kalsiyum (Ca) gibi metallere birleşmiş halde bulunur (118). Bu mineraller arasında en önemlileri, kalsiyum veya sodyum boratları içeren kolemanit, uleksit ve tinkaldir (119).

Bor, yeryüzünde toprak, kaya ve suda yaygın olarak bulunan bir elementtir. Element olarak kullanımı daha az yaygın ve yenidir. Ancak, borun en çok kullanılan formu olan boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) binlerce yıldır bilinmektedir. En çok bulunan bor bileşikleri borik oksit ve boraktır (120). Suda kolayca çözünen boratlar, kokusuz, beyaz kristal, granüler ve toz halinde bulunurlar. Bor oksit, sıkça rastlanan bor bileşiklerinden biridir ve özellikle okyanuslardan buharlaşarak atmosfere karışan borik asit (BA), yağmur ve kar yoluyla toprağa inip, yer altı kaplıca suları ve yer üstü sularıyla geniş alanlara yayılmaktadır. Bu doğal sular aracılığıyla insanlara geçmektedir (119). BA, beyaz yapraklar şeklinde kristalize olan bir bileşiktir. Susuz boraksın asitle reaksiyona girmesi sonucu elde edilir (120).

Bor minerali, çeşitli yollarla canlılara geçmektedir. Hava ve sudaki bor mineralleriyle temas, bor açısından zengin yiyecek ve içeceklerin tüketimi, sabun, deterjan gibi temizlik ürünleri ile güzellik malzemeleri ve benzeri maddelerin üretim yerlerinde çalışmak veya bu tür ürünleri kullanmak suretiyle alınabilir. Bor, insan vücuduna ağız, solunum veya deri yoluyla girebilir. Ancak, borun besin zinciri yoluyla biyolojik birikimi söz konusu değildir (118). Vücuda alınan borun %85-90'ı kısa sürede idrarla değişmeden atılırken, %10-15'i boratlar halinde bağırsaklardan emilerek beyin-omurilik sıvısı, kemik, beyin, karaciğer ve yağ dokularında birikir (119,121). Borun yarılanma ömrü 24 saatten daha azdır (122).

Dünya Sağlık Örgütü, yetişkinler için günlük alınabilir bor miktarını kilogram başına 0.4 mg olarak belirtirken, Avrupa Birliği bu sınırı kilogram başına 10 mg olarak belirlemiştir. Borun doğal yollarla insan ve hayvan vücuduna alınması, akut zehirlenmeye yol açabilecek seviyede değildir (122,123). Yumuşak doku, idrar ve kanda bulunan bor seviyeleri genellikle 0.05 ppm ile 10 ppm arasında değişir. Ancak, zehirlenme durumunda beyin ve karaciğer dokularında bu seviyeler 2000 ppm'e kadar çıkabilir (124).

İnsanlar için BA'nın en düşük ölümcül dozu ağız yoluyla alındığında 640 mg/kg, deri yoluyla alındığında 8600 mg/kg ve enjeksiyon yoluyla alındığında 29

mg/kg'dır. İnsanlar bir günde toplamda 500 mg'dan fazla bor aldığında toksisite belirtileri ortaya çıkabilir. Bu belirtiler arasında bulantı, kusma, baş ağrısı, karın ağrısı, ishal, kas kasmaları, şok, halsizlik, sindirim ve merkezi sinir sistemi bozuklukları, salgı bezlerinin işleyişinde bozulmalar ve cilt lezyonları bulunur. Borun gıda ve içme suyu ile alındığında bu dozun aşılmasının mümkün olmadığı belirtilmektedir (29).

Bor, bitkilerin büyüme ve gelişimi için gerekli olan mikro besleyici bir elementtir. Canlı sistemlere doğrudan proton verici olarak katkıda bulunarak, hücre zarı yapısı ve fonksiyonlarına etki ettiği tespit edilmiştir. Bor dokularda sentezlenemediği için alınan miktar azaldığında gelişimsel bozukluklar ortaya çıkmaktadır (125). Bu nedenle borun kemik ve mineral metabolizması için esansiyel bir element olduğu bildirilmektedir (126,127). Son araştırmalar, borun üreme sistemi hastalıkları, kanser ve periodontal hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde rol oynadığını göstermektedir (117).

Bor bileşikleri son yıllarda birçok alanda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bor bileşikleri; sağlık sektörü, inşaat malzemeleri, tarım, ahşap koruma, cam ve seramik endüstrisi, temizlik ve beyazlatma sanayi, tekstil, metalürji ve nükleer sanayi gibi çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır (118).

2.7.1 Borun Tıp ve Diş Hekimliği Alanındaki Önemi

Bor içeren ilk doğal biyomolekül, *Streptomyces antibioticus* türünün bir suşundan izole edilen ve "boromisin" olarak adlandırılan bir antibiyotiktir. Boromisinin gram (+) bakterilere, bazı mantar türlerine ve protozoalara karşı etkili olduğu, ancak gram (-) bakterilere karşı etkili olmadığı belirtilmiştir (128). Ayrıca, eritromisin, gentamisin ve streptomisin gibi antibiyotiklerin bakterilere karşı gösterdiği etkinliğin, borik asit esterlerinin etkisiyle benzer düzeyde olduğu rapor edilmiştir. (26). Bor içeren diğer biyomoleküller *Sorangium cellulosum* tarafından üretilen tartrolon B ve *Streptomyces griseus* tarafından üretilen aplasmomisindir (128,129).

BA'nın tıpta kullanım alanlarına bakıldığında, %0.4-5 (4.000-50.000) konsantrasyonlarında BA'nın antifungal etki gösterdiği ve *Candida albicans* izolatlarının %50'sinden fazlasını iki gün içinde öldürdüğü belirtilmiştir (123). Larsen ve arkadaşları, ağız yoluyla kullanılan organobor komplekslerinin ilaca

dirençli *Candida albicans* ve *Candida glabrata* üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir (130).

Bor bileşiklerinin osteoporoz ve romatoid artrit tedavisinde, Bor Nötron Yakalama Tedavisi (BNCT) ile beyin tümörlerinin tedavisinde, yanıkların iyileştirilmesinde, yara tedavisinde, antiseptik olarak lens solüsyonlarında, merhemlerde, gargaralarda ve göz damlalarında kullanıldığı bilinmektedir (29).

Borun kanser tedavisindeki kullanımı üzerine yapılan araştırmalar giderek artmaktadır. Borun en önemli etkilerinden biri beyin tümörü, akciğer, meme ve prostat kanseri risklerini azaltmasıdır (121,131,132). Li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, yüksek miktarda bor alan erkeklerde prostat kanseri görülme sıklığının daha az olduğu ve bunun borun steroid hormonları üzerindeki etkisiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür(133). Beyin tümörü olan hastalarda, ameliyatın riskli olduğu durumlarda BNCT önemli bir tedavi yöntemi haline gelmiştir (123).

Bor, kemik sağlığı için önemli bir elementtir (134). Araştırmalarda, borun postmenopozal dönemde osteoporozu önleyebileceği belirtilmiştir (135). Bor, erkek ve kadın üreme sistemlerinde de etkili bir mineraldir. Yapılan çalışmalarda, borun seks steroid hormon mekanizmasının hidroksilasyon basamağında etkili olduğu ve hormon seviyelerini artırdığı bildirilmiştir (29,136). Borun yara iyileşmesine olumlu etkileri de gözlenmiştir. Bir çalışmada, sodyum pentaborat pentahidrat içeren bir jelin sıçanlarda ikinci derece yanık yaralarının iyileşmesini sağladığı ve antibakteriyel, antimikrobiyal etkiler gösterdiği bulunmuştur (137). Araştırmalar, borun insanlarda beyin fonksiyonları ve zihinsel performans üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bor eksikliğinin beynin elektriksel aktivitesini azaltarak kısa süreli hafıza kayıpları, dikkat eksikliği ve algı problemlerine yol açabileceği bildirilmiştir. Bu sonuçlar borun sinir iletimine etkisi olabileceğine işaret etmektedir (29,138).

Borik asit kuinolin esterleri, literatürde en iyi karakterize edilmiş bor içeren bileşikler arasında yer almaktadır. Bu bileşiklerden biri olan AN0128, *Staphylococcus aureus*'un deride kolonizasyonu ile ilişkili atopik dermatitin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (28). AN0128'in periodontal hastalığın tedavisindeki etkinliğini değerlendiren bir çalışmada (139), deneysel olarak ligatürle periodontitis oluşturulan sıçanlarda AN0128 topikal olarak uygulanmıştır.

AN0128 ile tedavi edilen periodontitisli sıçanlarda kemik kaybındaki azalma bir non steroid anti enflamatuar ilaç olan ketorolak ve triklosan içeren total diş macunu ile elde edilene benzer olduğu görülmüştür. Sıçanların azı dişleri arasındaki alveoler kemik alanı histolojik olarak incelendiğinde, AN0128 uygulanan grupta alveoler kemik alanında %50 kemik oluşumu gözlemlendiği, bu oranın tetrasiklin (%33) ve klorheksidin (%40) uygulanan gruplarda elde edilen sonuçlarla kıyaslanabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir. AN0128'in hem antibakteriyel hem de antienflamatuar etkileri olduğu rapor edilmiştir. AN0128'in periodontal hastalıkla ilişkili *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Eubacterium nodatum* ve *Treponema denticola* gibi bakterilere karşı in vitro antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir (139).

Periodontal hastalıkların tedavisi üzerindeki etkinliği incelenen bor bileşiklerinden bir diğeri de BA'dır. Demire ve arkadaşları (126), ligatürle deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlara 11 gün boyunca günlük 3 mg sistemik BA uygulamışlardır. Bu sıçanlar 11 gün sonra sakrifiye edilerek, alveoler kemikteki değişiklikler ve doku örnekleri histopatolojik olarak incelenmiştir. BA verilen sıçanlarda, enflamatuar hücre infiltrasyonu, osteoklast sayısı ve alveoler kemik kaybının borik asit verilmeyen kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sistemik BA uygulamasının, periodontal hastalıklı sıçanlarda periodontal enflamasyonu ve alveoler kemik kaybını azalttığı rapor edilmiştir. Yapılan klinik araştırmalarda BA içerikli gargaranın kronik periodontitisli hastalarda alveolar kemik kaybını azalttığı ve periodontal hastalıkların klinik parametrelerini iyileştirmede klorheksidine kıyasla daha etkili olduğu bildirilmiştir (140). Deneysel periodontitis oluşturularak yapılan diğer başka hayvan modellerinde ve klinik çalışmalarda BA'nın periodontal inflamasyonu ve ataşman kaybını azaltarak tedaviye olumlu katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu etkinin, bor içeren bileşiklerin antimikrobiyal, anti-enflamatuar ve immün düzenleyici etkilerinin birleşiminden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (25,27,28). Ayrıca, BA'nın osteogenetik hücrelerin farklılaşmasını teşvik ederek osteogenezi artırdığı kanıtlanmıştır (27,28,43). Yapılan klinik çalışmalarda, kronik periodontitisli hastalarda mekanik periodontal tedaviye ek olarak %0.75'lik borik asit ile yapılan subgingival irrigasyonun veya %0.75'lik borik asit jelin subgingival

uygulanmasının periodontal klinik parametrelerde iyileşme sağladığı ve borik asitin klorheksidine bir alternatif olabileceği rapor edilmiştir (43).

2.7.2 Bor ve İmmün Cevap

Diyet ile alınan borun insanlarda bağışıklık yanıtını etkileyebileceğine dair kanıtlar mevcuttur (141,142). Armstrong ve arkadaşları (143), 2.2 mg B/kg içeren bazal diyetle eklenen 5 mg B/kg borun enflamatuar yanıtı azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, diyet ile bor alımı 2.2 mg B/kg'dan 7.2 mg B/kg'a çıkarıldığında TNF- α üretiminde artış olduğu rapor edilmiştir (144). Diyet ile bor alımı doza bağlı olarak arttıkça serum bor seviyeleri de yükselmektedir. Bazal diyetle (13.3 mg B/kg içeren) 5 veya 15 mg B/kg bor eklenmesi durumunda, borun bağışıklık yanıtında etkili olmadığı görülmüştür. Bu durum, bazal diyetdeki yüksek bor içeriğinin, borun immünsüpresif özellik göstermesini engellemesiyle ilişkilendirilmiştir.

Diyete 100 mg/kg bor eklenmesi, lipid peroksidasyon seviyelerini azaltarak antioksidan savunma sistemlerini ve vitamin dengesini güçlendirmektedir (145). BA ve boraks arasında oksidan/antioksidan denge ve biyokimyasal parametreler açısından fark bulunmamaktadır. BA ve boraksın sıçanların yaşam süresini uzatabileceği ve yaşam kalitesini artırabileceği öne sürülmüştür. Siklofosamid ile tetiklenen lipid peroksidasyonu, antioksidan durumu, DNA hasarı ve histopatolojik değişikliklerin intraperitoneal bor çözeltisi ile engellenebildiği rapor edilmiştir (146). Borun bu koruyucu etkisi, hem antioksidan savunma sisteminin aktive ederek hem de hem de lipid peroksidasyonunu engelleyerek gerçekleşmektedir. Bor, hücreleri koruyarak, doku hasarının ardından hücrelerin çoğalmasını ve yenilenmesini desteklemektedir. BA ve 2-aminoetoksidifenil borat (2-APB)'ın oksidatif stres ve enflamasyon üzerindeki etkilerini inceleyen bir araştırmada, glutasyon tüketiminde azalma ve antioksidan savunma sisteminde bir güçlenme gözlemlenmiş, ancak genel antioksidan durumu üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir (147). Bununla birlikte BA'nın hipoksi ve hipotermi ile tetiklenen IL-6 ve TNF- α artışını da engellediği bildirilmiştir.

2.7.3 Borun Metabolizmaya Etkileri

Borun; üreme ve embriyogenez, yara iyileşmesinin desteklenmesi, kalsiyum metabolizması düzenlenmesi ve kemik metabolizması üzerindeki etkileri daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (148–150). Kültüre edilmiş insan fibroblastları ve tavuk embriyosunun pelvik kıkırdakları üzerinde yapılan

araştırmalar, borun ekstraselüler matriks dönüşümünü düzenlediğini, TNF- α gibi bazı büyüme faktörlerinin mRNA sentezini tetiklediğini ve bu faktörlerin hücrelerde ve kültür ortamında seviyelerini artırdığını göstermiştir (151,152). Bor, zamanla fibroblastların toplam RNA seviyelerini artırmakta ve bu artış inkübasyondan 6 saat sonra en yüksek düzeyine ulaşmaktadır (151). Plazenta nükleusu kullanılarak yapılan bir çalışmada, borun RNA transkripsiyonu üzerinde doğrudan etkili olduğu ve anjiyogenez ile yara onarımında rol oynayan büyüme faktörlerini kodlayan mRNA translasyonunu desteklediği gözlemlenmiştir (153).

Borun kalsiyum ve fosfor metabolizması üzerinde de etkileri olabileceği bildirilmiştir. Nielsen ve arkadaşları (135), günlük 3 mg bor alımının idrarla atılan kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) miktarını azalttığını ortaya koymuşlardır. Diyetle alınan borun büyüme performansı, kemiklerin mekanik özellikleri ile kalsiyum ve fosfor metabolizması üzerindeki etkisi, 36 domuz üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada incelenmiştir. (142). Bu çalışmada, düşük bor içerikli bazal diyet, bazal diyet + 5 mg bor/kg diyet ve bazal diyet + 15 mg bor/kg diyet olmak üzere üç grup belirlenmiştir. Sonuçlar, diyetteki borun kalsiyum ve fosfor metabolizmasını belirgin bir şekilde etkilemeden büyümeyi ve kemik dayanıklılığını artırdığını göstermiştir.

Fizyolojik sınırlar içinde diyetle alınan bor, enerji kullanımını ve mineral metabolizmasını düzenlemektedir. Benzer şekilde, Vitamin D3 de enerji kullanımını düzenleyerek kıkırdak mineralizasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Vitamin D3 eksikliğiyle ortaya çıkan mineral metabolizmasındaki bozulma, diyetle alınan bor takviyesi ile hafifletilebilir. Ayrıca, bor ve Vitamin D3'ün lokal enerji kullanımı üzerinde benzer etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, yeterli düzeyde D3 vitamini alındığında, borun diyetteki bazı etkileri daha az belirgin hale gelebilir (154).

Mineralizasyon bozukluğu görülen durumlarda, borun kemik mineral dengesine tek başına etkisi olmadığını gösteren araştırmalar da bulunmaktadır (155–157). Overleri alınmış dişi sıçanlar üzerinde yapılan bir araştırmada, borun 17 β -östradiol (E2) ve paratiroid hormonun (PTH) etkilerini güçlendirip güçlendirmedeği incelenmiştir (155). Bor ve E2'nin birlikte uygulanmasının Ca, P ve Mg emilimini belirgin şekilde iyileştirdiği görülmüştür. Ayrıca, bu

kombinasyonun Ca ve Mg retansiyonunu ve serumdaki Ca ve Mg seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, borun E2 ile birlikte kullanımının, overleri çıkarılmış sıçanlarda Ca ve Mg dengesini sinerjik bir şekilde güçlendirdiği gösterilmiştir. Aynı ekip başka bir çalışmada, borun E2 ve PTH ile birlikte kemik kalitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir (156). Bu çalışmada, borun E2'nin etkisini artırdığı, ancak PTH'nin etkisinde bir değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiştir. Hem PTH hem de E2, kemik içeriğindeki Ca, Mg ve P seviyelerini, trabeküler kemik hacmini, kemik yüzey alanının hacme oranını, trabeküler plaka yoğunluğu ve kalınlığını artırırken, trabeküler ayrılığı azaltmaktadır. E2 ve bor birlikte kullanıldığında bu etkinin arttığı, ancak PTH ile bor birlikte uygulandığında ek bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, yaşlı dişi sıçanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, borun tek başına veya E2 ile birlikte kullanımının, overektomi ile tetiklenen osteopeniye karşı koruyucu bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (157).

2.8 Bor Nitrür

Bor Nitrür (BN), bor ve azot (N) elementlerinin birleşmesiyle oluşan, normalde doğada olmayan, kimyasal yöntemlerle üretilen bir bileşiktir (158). BN'nin kristal yapısı karbonun yapısına benzemektedir (39,159). Düşük reaktiviteye sahip olup birçok alanda kullanılan inorganik bir malzemedir. İnsan yapımı olan en sert malzemelerden biridir. BN; yüksek ısıl şok direnci, ısıl iletkenlik, elektriksel yalıtıcılık, kimyasal kararlılık ve yağlayıcılık gibi üstün özelliklere sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı, yüksek sıcaklık uygulamalarında, elektrik-elektronik sektöründe, seramik kompozit malzeme üretiminde ve kimya endüstrisinde toz, sprey veya macun formunda kullanılmaktadır. Bu niteliklerin çeşitli kombinasyonlarını içermesi, BN'nin farklı uygulamalarda kullanılabilmesini sağlar (39,159,160). Hekzagonal, kübik, eşkenar dörtgen, vurtzit ve turbostatik bor nitrür gibi çeşitleri bulunmaktadır. BN'nin en stabil formlarından biri günümüzde beyaz grafit olarak da bilinen hekzagonal bor nitrür (hBN)'dür (39,161).

2.8.1 Hekzagonal Bor Nitrür

Hekzagonal bor nitrür, beyaz renkte olup, yapısal olarak grafit benzeyen, toksik olmayan ve kaygan bir malzemedir. Seramik malzemeler arasında en düşük yoğunluğa ($2,27 \text{ g/cm}^3$) sahiptir. hBN tozları, dokunulduğunda ipeksi bir his

uyandırır. hBN nanomateryaller, yüksek kimyasal stabilite, oksidasyon direnci, yüksek termal iletkenlik ve mükemmel elektrik yalıtım özellikleri sergiler (39).

hBN, inert bir malzeme olup, kimyasal reaksiyonlara girmez ve toksik değildir. Oldukça yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Normal atmosferde 1000 °C'ye, vakum ortamında 1400 °C'ye, argon atmosferinde 2000 °C'ye ve azot atmosferinde 2400 °C'ye kadar kullanılabilir. Isıl şoklara karşı kararlılığının yanı sıra mükemmel elektrik yalıtımı, bakır kadar iyi ısı iletkenlik ve UV ışınlarını yansıtma özelliklerine sahiptir (158).

Son yıllarda hBN, düşük yoğunluğu, yüksek termal iletkenliği, kimyasal kararlılığı, biyouyumlu olması ve toksik olmaması gibi özellikleri nedeniyle tıp, ilaç ve kozmetik sektörlerinde çokça kullanılan bir malzeme haline gelmiştir (162). Atila ve ekibi, hidroksiapatit (HA)/hBN kompozitlerinin rat femurlarına implantasyonu sonrasında serumdaki bor konsantrasyonlarını inceledikleri çalışmada, HA/hBN kompozitlerinin implant malzemesi olarak umut vadettiğini belirtmişlerdir (163).

Kıvanç ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada ise, hBN-nanopartikülleriyle önceden oluşturulmuş biyofilmler üzerinde yüksek antibiyofilm aktivitesi gösterdiği, *S. mutans* 3.3, *S. mutans* ATCC 25175 ve *Candida* sp. M25'in biyofilm büyümesini engellediği bulunmuştur (referans). Bu sonuçlar, hBN-NP'nin oral biyofilmleri kontrol etmek için potansiyel bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Aynı çalışmada, hBN-NP'nin insan deri fibroblastı (CCD-1094Sk, ATCC® CRL 2120™) ve Madin Darby Canine Kidney (MDCK) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri de incelenmiş ve bu partiküllerin bu hücreler üzerinde sitotoksik etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar, çalışmanın sonucunda hBN nanopartiküllerinin uygun konsantrasyonda (0.1 mg/mL) kullanıldığında potansiyel olarak güvenli bir ağız bakım ürünü olabileceği sonucuna varmışlardır (39).

Aydın ve arkadaşları (30), hBN nanopartiküllerinin Alzheimer hastalarında amiloid beta (A β) birikiminden kaynaklı nörotoksik hasarı önleyebileceği ve bunun ilaç geliştirme ve taşımada yenilikçi bir yaklaşım olabileceğini rapor etmişlerdir. Kar ve ekibi (164) 80 adet sıçanı 8 gruba ayırıp bunlara 50-3200 μ g/kg konsantrasyon aralığında hBN nanopartiküllerini i.v. olarak enjekte ettikten 24 saat

sonra biyokimyasal, hematolojik ve oksidan/antioksidan parametreleri incelemişlerdir. Bunun sonucunda 50-800 µg/kg konsantrasyon aralığındaki hBN nanopartiküllerinin biyolojik kullanıma uygun ve güvenilir olabileceği fakat 1600-3200 µg/kg gibi yüksek dozlarda karaciğer, böbrek, kalp, dalak ve pankreasta akut olarak zarara yol açabileceği bulunmuştur.

Şen ve ekibinin yaptıkları bir çalışmada hBN'nin BA'nın yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir (40). Çalışma sonucunda hem BA hem de hBN'nin yara iyileşmesini hızlandırdığını, bununla birlikte kısa zamanda ortamdan uzaklaşıp etkisini yitiren BA'ya kıyasla hBN nanopartiküllerinin daha yavaş biyodegradasyona uğraması ve yarılanma ömrünün daha fazla olması nedeniyle uzun süre uygulandığı yerde kalabilmesi açısından daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların hBN ve BA'nın prostat kanseri üzerindeki etkilerini yine karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmalarında, hBN nanopartiküllerinin prostat kanser hücrelerinde reaktif oksijen türlerini arttırarak onları apoptoza sürüklediği ve metastatik kapasitelerini azalttığını, hBN nanopartiküllerinin prostat kanserine karşı güvenilir terapötik bir materyal olabileceğini öne sürmüşlerdir (42).

Çakır ve arkadaşlarının (41) hBN nanopartiküllerinin sepsis kaynaklı nörodejenerasyondaki profilaktik etkisini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, sıçanların beyinlerinde lipopolisakkarit ile indüklenmiş bir enflamasyon oluşturulup beyin dokularında proenflamatuar, oksidatif stres ve apoptoz göstergelerinin incelenmesinin yanı sıra, serebral korteks ve hipokampus histopatolojik olarak analiz edilmiştir. Bu çalışmanın bulguları, hBN nanopartikül uygulanmasının, sıçan beyinde lipopolisakkarit kaynaklı sepsisin tetiklediği dejenerasyonları iyileştirebileceğini göstermiştir. Bunun yanında hBN nanopartiküllerinin proinflamatuar sitokinler TNF-a ve IL-1β konsantrasyonlarını ve toplam oksidan durumu azaltırken toplam antioksidan durumu artırdığı, oksidatif stresi hafiflettiği ve sitokrom c ve kaspaz-3 seviyelerini azaltarak apoptozu engellediği belirtilmiştir.

Li ve ark. (133) içi boş hBN nanoküreler ile yaptıkları çalışmada hBN'nin prostat kanseri hücresi apoptozunu arttırdığı ve tümör büyümesini baskılayan anti-kanser özellik gösterdiği bulunmuştur

İki boyutlu hBN nano tabakalarından elde edilen üç boyutlu bor nitrür nano tüpleri (BNNT) son zamanlarda yeni ve güvenilir ilaç taşıma sistemleri olarak ilgi çekmektedir (31,33,165–171). Tübüler ve gözenekli nanoyapıya sahip BNNT'ler, hBN'nin fiziksel ve kimyasal özelliklerini taşır (169). Bu nano tüpler, karbon atomları yerine B ve N atomlarının geçmesiyle oluşan ve karbon nano tüplerine yapısal olarak benzeyen bir analoga sahiptir (31). Bu yapıda, yüksek yapısal stabilite, antioksidan özellikler ve iyi kimyasal kararlılık sağlanmıştır (31,33,167,168,171). BNNT'ler iyi bir elastik modülüse (750-1200 GPa) ve yüksek çekme dayanımına (>24 GPa) sahiptir (172–174). Ayrıca, implantlar ve yapı iskeleleri için biyoseramikler ve biyopolimerlerin güçlendirilmesi açısından da önemli bir potansiyele sahip oldukları bildirilmiştir (175,176).

Şen ve ekibi, hBN ve BNNT'yi ilaç taşıyıcı olarak kullanıp bir kemoterapi ilacı olan doxorubicin yüklemişler ve deneyleri sonucunda BNNT'lerin aromatik halka içeren kemoterapi ilaçlarının terapötik etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak için etkili bir taşıyıcı olarak potansiyel bir aday olduğunu rapor etmişlerdir (31). Yapılan diğer bir çalışmada BNNT'nin yüzeyi glikol-kitosan polimeri ile kaplanarak sulu ortamda yüksek stabilite ve *in vitro* yüksek biyoyumluluk sağlanmıştır (170). Başka bir araştırmada ise BNNT'ler polietilenimin ile kaplanmış ve *in vitro* olarak insan nöroblastoma hücre hatları üzerinde test edilmiştir. Bu çalışmada, 100 µg/mL konsantrasyona kadar hücre canlılığının çok iyi olduğu gözlenmiştir (177).

Raval ve arkadaşları (178), hBN nanopartiküllerini alkol ve deiyonize su içinde çözüp santrifüjleyerek boron nitrit nanosheet (BNNS) denilen 2 boyutlu bir malzeme oluşturup bununla titanyum disklerin dış yüzeyini kaplamışlardır. Yüzeyi BNNS ile kaplanmış diskler ile kaplanmamış diskleri karşılaştırdıklarında, BNNS'nin *S.mutans*'a karşı bakterisidal etki gösterdiği görülürken *F.nucleatum*'da aynı etki görülemedi. Bu sonuçlara göre BNNS kaplamanın başlangıç kolonizasyonu için etkili olabileceği öne sürülmüştür.

2.9 Total Oksidan Seviye Testi (TOS)

Oksidatif stresin kesin bir şekilde belirlenebilmesi için oksidatif hasar sonucu oluşan ürünlerin ölçülmesi gerekmektedir (179). Ayrıca, serum (plazma) içerisindeki farklı oksidan türlerinin konsantrasyonları laboratuvar ortamında ayrı

ayrı tespit edilebilmektedir. Ancak bu işlemler zaman alıcı, maliyetli, çokça emek gerektiren ve karmaşık teknikler içeren işlemler olduğundan, her bir oksidan molekülünün ayrı ayrı ölçülmesi pratik değildir ve bu moleküllerin oksidan etkileri birbirini desteklemektedir (180).

Bu nedenlerle, total oksidatif seviyenin (TOS) ölçülmesinin diğer yöntemlere kıyasla daha avantajlı olduğu belirtilmektedir (113,180). TOS ölçümü, lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılan güncel bir yöntemdir (113,181).

2.10 XTT Testi

Kimyasal ve biyolojik maddeler veya fiziksel faktörler, hücreleri farklı seviyelerde etkileyerek sitotoksositeye neden olabilir. Bir maddenin biyolojik davranışını anlamak için, hücreler üzerindeki toksik veya toksik olmayan etkilerinin tespit edilmesi gerekmektedir. Çeşitli mekanizmalar ve duyarlılıklara sahip birçok sitotoksosite testi mevcuttur. XTT [2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5- karboksianilid] tetrazolyum tuzu aracılığıyla hücre canlılık miktarını ve uygulanan deney materyalinin sitotoksitesini ölçen bir testtir (182).

Tetrazolyum tuzlarının indirgenmesi, elektron alarak formazan adı verilen bir yapıya dönüşmelerine ve bu süreçte soluk sarı renkten baskın bir turuncu renge değişikliğine neden olur. Tetrazolyum halkası, yalnızca aktif mitokondrilerdeki mitokondri dehidrogenaz enzimi tarafından kırılabilir, bu nedenle renk reaksiyonu sadece canlı hücrelerde gözlemlenebilir (183). Ölü hücreler ise tetrazolyum bileşiklerini indirgeme kapasitesini kaybeder ve dolayısıyla herhangi bir renk değişikliği oluşturmazlar (184).

Literatüre bakıldığında hBN'nin antibakteriyel, antiplak, antitümör ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (39,40,42). Daha önceleri borik asitin pek çok periodontitis çalışmasında denenip anti enflamatuar etkisinin raporlanmış olmasına rağmen (139,185), hBN'nin muhtemel bozunma ürünü olan borik asit ile yapılan karşılaştırmalı deneylerinde de hBN'nin yarı ömrünün çok daha uzun olduğu gösterilmiştir. Yavaş biyodegradasyonu sebebiyle hBN,

periodontal sağlığın korunmasında umut vadeden bir biyomalzemedir(40). Tüm bu bilgiler ışıkında çalışmamızın amacı, insan gingival fibroblast hücresinde hidrojen peroksit ile oluşturulan oksidatif streste hekzagonal bor nitrür uygulamasının koruyucu ve tedavi edici yönünün hücre canlığı üzerine etkisinin araştırılmasıdır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. (Tarih: 20.06.2023 Karar 2023/208)

3.1 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmamızda kullanılan altyapı ve ekipmanlar ile kullanım amaçları Tablo 3.1 'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan altyapı ve ekipmanlar ile kullanım amaçları

Altyapı/Ekipman Türü, Modeli (Laboratuvar, Araç, Makine-Teçhizat, vb.)	Kullanım Amacı
Thermo Scientific Multiskan FC	Moleküler analiz
Biosan CH-100 Heating/Cooling Dry Block	Moleküler analiz
BİORAD MJ Mini Personal Thermal Cyclers	Moleküler analiz
RT-PCR sistem	Moleküler analiz
-20 derin dondurucu	Moleküler analiz, Hücre üretimi
-80 derin dondurucu	Moleküler analiz, Hücre üretimi
Homejenizatör (mekanik parçalayıcı)	Moleküler analiz
A&D Company, Limited. HR-250AZ Analitik terazi	Moleküler analiz
Hanna Instruments pH 211 Microprocessor pH Meter	Moleküler analiz
Velp Scientifica heating magnetik stirrer ısıtıcılı karıştırıcı	Moleküler analiz, Kök hücre üretimi
Olympus CX41 Fluorescence Mikroskop,	Hücre üretimi, analiz
Olympus CX31 Upright mikroskop	Hücre üretimi, analiz
MMM Medcenter Einrichtungen GmbH Ecocell Etüv	Moleküler analiz
Thermo Scientific Heracell 150 L CO ₂ inkübatör	Moleküler analiz, Hücre üretimi
Biosafety Cabinet Class II güvenlik kabini	Hücre üretimi
NanoEnTek EVE otomatik hücre sayacı	Hücre sayımı
Hettich Universal 320R Santrifüj	Moleküler analiz

3.2 Kullanılan Sarf Malzemeler

Çalışmamızda kullanılan sarf malzemeler ve kullanım amaçları Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kullanım amaçları

Sarf Malzeme/Kimyasal Madde Adı	Projede Kullanım Amacı
Nano boyutlu yüksek saflıkta (%99,97) hegzagonal bor nitrür (BORTEK)	Hücrelere hegzagonal bor nitrür uygulaması aşamasında kullanıldı.
Mikrosantrifüj Tüpü - P.P - 1,5 Ml - Dna & Rna Free – Steril Sertifikalı microcult	Hücre kültürü uygulamasında kullanılacaktır.
Tüp - Santrifüj - P.P – Vidalı Kapaklı - 15 Ml - Steril (50 Adet/Pk) microcult	
Tüp - Santrifüj - P.P – Vidalı Kapaklı - 50 Ml -- Gamma Steril - Tekli Ambalaj (25 Ad/Pk) microcult	
Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium - high glucose 500 ml sigma d5796	
Fetal Bovine Serum Advanced (FBS Advanced), Collected in South America 500 ml	
Trypsin-EDTA solution 0.25%, sterile-filtered, BioReagent, suitable for cell culture, 2.5 g porcine 100 ml sigma	
Cell Culture Flask, 25 cm ² , Vent Cap, TC, Sterile, (10 ad/pk)	
Ethanol 2,5 L merck	
Pastör Pipetleri - P.E - 3 Ml - Steril - Tekli Paket (500 Adet/kutu) microcult	
Collagenase, Type I, Clostridium histolyticum 100 mg Genaxxon	
Eldiven Nitril Pudrasız Large 100 Adet nitril	Laboratuar çalışmalarında kişisel koruyucu ekipman olarak kullanılacaktır.
Cell Proliferation Kit (XTT based) 1000assay 1000 assays	XTT testi için kullanılacaktır.
Hydrogen peroxide solution (H1009 Sigma-Aldrich) 5 ml	Hücrelerde oksidatif stres oluşturmak için kullanılacaktır.
Total Oxidant Status (TOS) Colorimetric Assay Kit (96test)	Total antioksidan kapasite ölçümü için kullanılacaktır.

3.3 Gingival Fibroblast Hücrelerinin Elde Edilmesi ve Hücre Kültürü Uygulamaları

Bu çalışmada kullanılacak insan gingival fibroblast hücreleri Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’na

gingivektomi ve kuron boyu yükseltilmesi için sevk edilen hastaların çıkarılan diş eti dokularının eksplant kültürleri ile elde edildi. 18-35 yaş aralığında, sistemik ve periodontal olarak sağlıklı, herhangi bir ilaç kullanmayan, sigara içmeyen bireylerden alınmış diş eti dokuları kullanıldı. Tüm katılımcılar çalışma prosedürleri hakkında sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilip onamları alındı.

Eksize edilen diş etleri deepitelize edilerek taşıma solüsyonu Dulbecco'nun Modifiye Minimal Esansiyel Medyumu (DMEM), %10 Fetal Sığır Serumu (FBS), 250 µg/ml gentamisin sülfat ve 1,5 µg/ml Amfoterisin B içeren bir çözeltide laboratuvara getirildi. Bağ dokusu örnekleri, laminar flow kabini içerisinde petri kaplarına aktarıldı ve taşıma çözeltisi ile iki kez yıkandı. Daha sonra, doku örnekleri 15 numaralı bistüri kullanılarak küçük parçalara ayrıldı. Parçalara ayrılan doku örnekleri, %10 FBS içeren DMEM ile üç kez daha yıkandıktan sonra başka bir 60 mm'lik petri kabına aktarıldı. Petri kabına, dokuları kaplayacak şekilde 2 ml %10 FBS içeren DMEM eklendi ve inkübasyona bırakıldı (Fotoğraf 3.1).



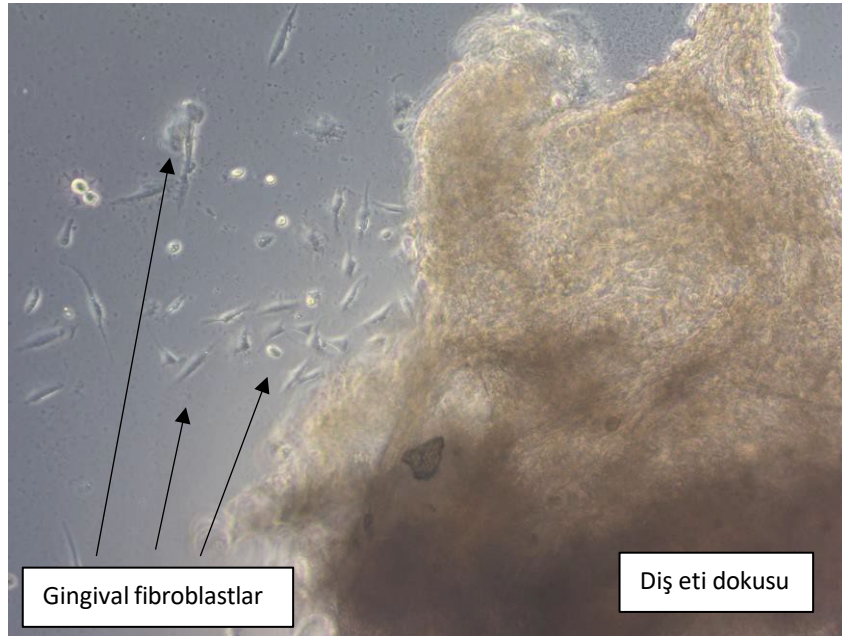
Fotoğraf 3.1. Hastalardan alınan gingival fibroblastların kültür için hazırlanması

Ertesi gün, kültür ortamı %10 FBS, 100 U/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren DMEM ile değiştirilerek devam edildi. Hücrelerin yüzeye tutunma durumu, inverted hücre kültürü mikroskobu kullanılarak izlendi (Fotoğraf 3.2).



Fotoğraf 3.2. Hücrelerin fotoğraflanması amacıyla kullanılan inverted mikroskop (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Hücreler petri kabının yaklaşık dörtte birini kapladığında, kap içindeki 2 ml besiyeri aspire edildi (Fotoğraf 3.3).



Fotoğraf 3.3. Alınan diş eti dokusundan gingival fibroblast hücresi üretimi

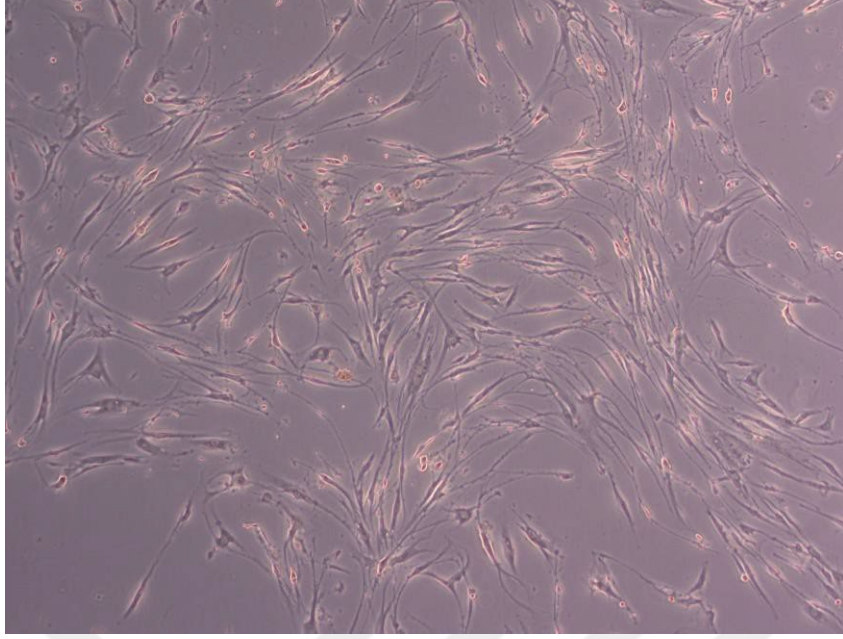
Hücreler, 2 ml serum içermeyen besiyeri ile yıkanarak ortam tripsin enziminin etkinliği için uygun hale getirildi ve ardından 1,5 ml Tripsin- Etilen diamine tetra asetikasit (EDTA) kültür kabına eklendi. Hücrelerin birbirlerinden ve yüzeyden ayrılması için, bu işlem %5 CO₂ içeren bir su bazlı inkübatörde beş dakika boyunca gerçekleştirildi (Fotoğraf 3.4).



Fotoğraf 3.4. Hücrelerin %5 CO₂ içeren 37 °C'lik ortamda inkübe edilmesi için kullanılan inkübatör (Etüv). (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Sonrasında, kültür kabına 2 ml %10 FBS içeren DMEM besiyeri eklenerek Tripsin-EDTA'nın aktivitesi durduruldu. Petri kabından toplanan hücre süspansiyonu, oda sıcaklığında 2500 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek hücre peleti elde edildi. Bu hücre peleti, 2 ml %10 FBS içeren DMEM ile süspanse edilip 100 mm'lik petri kabındaki besiyeri ile karıştırıldı.

Bu şekilde insan gingival fibroblast (İGF) hücrelerinin ilk pasajları gerçekleştirildi (Fotoğraf 3.5). Yirmi dört saat sonra, kültür kabındaki besiyerinin tamamı alındı ve yerine 8 ml taze besiyeri eklendi. Devam eden günlerde, petri kaplarındaki besiyeri iki günde bir değiştirildi. Hücreler, kültür kabının üçte dördünü kapladığında, İGF kültürü elde edilmiş oldu.



Fotoğraf 3.5. Gingival fibroblastların 1. pasajının 13. gündeki invert mikroskop görüntüsü

Fibroblastların Alt Kültürü:

Tek katman halinde büyüyen hücreler, titreme, manyetik karıştırma gibi fiziksel yöntemlerle veya proteolitik enzimler (tripsin) ve şelatör maddeler (EDTA) gibi kimyasal yöntemlerle alt kültüre alınabilir.

Fibroblast alt kültürleri, primer kültürden elde edilirken, harcanan medyum, doku parçalarının birkaç kez steril fosfatlı tampon tuzlu su (PBS) ile yıkanması ve fibroblastları bağlı oldukları yüzeyden kaldırmak için 0.5 - 0.8 ml tripsin ve EDTA kullanılması süreçleri uygulanır.

Tripsin ve EDTA ile muamele edilen hücrelerin kültür flasklarından ayrıldığı gözlemlendikten sonra, hücreler 37°C'de 2 dakika inkübe edildi. Bu işlemten sonra, hücreler dikkatlice flasklardan çıkarıldı ve enzim aktivitesi, 5-8 ml %10 fetal sıgır serumu içeren DMEM eklenerek durduruldu. Hücreler, 3. ve 4. pasajlar için benzer bir yöntemle kültüre edildi. Hücreler 2. pasajdayken dondurulup deney zamanı çözülerek 4. pasaja geldiklerinde tüm deneyler yapıldı.

Hücrelerin Toplanması ve Dondurulması:

Büyüme ortamı flasktan uzaklaştırıldıktan sonra, flask PBS ile yıkandı. Ardından, 25 cm²'lik flasklar için 1-2 ml, 75 cm²'lik flasklar için ise 3-5 ml önceden 37°C'ye ısıtılmış tripsin/EDTA solüsyonu eklendi. Bu flasklar 4-5 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Yüzeiden ayrılan hücreler toplanarak 15 ml'lik tüplere aktarıldı ve tüplere 5 ml medyum eklendi. Pellet, uygun miktarda ve önceden 37°C'de inkübe edilmiş büyüme ortamına karıştırıldı. Hücre süspansiyonu sayılarak, gerekli seyreltme işlemi yapıldıktan sonra flasklara veya plaklara pasajlandı. Dondurulacak hücre süspansiyonuna ise soğuk %95 FBS ve %5 DMSO eklendi. Elde edilen süspansiyon cryo tüplere bölüştürülerek kademeli olarak donduruldu ve -20°C'de muhafaza edildi. -20°C'de bir saat bekletilen cryo tüpler, eğer 3-4 hafta içinde çözülmesi planlanıyorsa -80°C'ye, uzun süreli saklama amacıyla ise sıvı nitrojene transfer edildi.

Hücrelerin Çözülmesi:

Sıvı nitrojende saklanan hücreler, deney yapılacağı zaman çözülerek kullanıma hazır hale getirildi. Sıvı nitrojen veya -80°C'den alınan cryo tüpler, hızla 37°C'de çözüldü. DMSO'nun 4°C'nin üzerinde hücreler için toksik etkisi olduğundan, hücreler 37°C'de çözülürken hızlı hareket edildi. Tüp içindeki hücre süspansiyonu 15 ml'lik tüplere aktarılıp, üzerine önceden 37°C'de ısıtılmış 10 ml büyüme ortamı eklendi. Tüp, 1500 rpm hızında 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, pellet 7 ml büyüme ortamında yeniden süspanse edilerek, iki adet 25 cm²'lik flaska paylaştırıldı. Bu flasklar, %5 CO₂ ve %95 nem içeren 37°C'deki etüve yerleştirilerek inkübasyona bırakıldı.

Hücrelerin Sayılması:

Tüm deneylerde, belirli sayıda hücrenin flasklara ekilmesi amacıyla hücre süspansiyonundaki hücre yoğunluğunun belirlenmesi gerekmektedir. Bu yöntemin prensibi, membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerin Tripan mavisi boyasını içeri alarak ölü hücre olarak değerlendirilmesine ve membran bütünlüğünü koruyan hücrelerin ise bu boyanın geçişine izin vermemesine dayanır (183). Canlı hücreler, mitokondri organellerinde enerji üretebildikleri için, hücre zarından giren boyayı aktif taşıma yoluyla dışarı atar ve bu nedenle renksiz görünürler. Ölü hücreler ise,

mitokondri organellerinde yeterli enerji üretemediklerinden, hücre zarından geçen boyayı absorbe eder, dışarı çıkaramaz ve mavi renkte görünürler, çünkü aktif taşıma için gerekli enerjiye sahip değildirler.

- 50 µl gingival fibroblast hücre süspansiyonu, 1,5 ml'lik bir eppendorf tüpüne aktarıldı.

- Ardından, üzerine 50 µl %0,5 Tripan mavisi boyası eklendi ve iyice karıştırıldı.

- Tripan mavisi ile boyanmış hücre süspansiyonundan 10 µl örnekler alınıp, özel EVE™ Lamının her iki kuyucuğuna yüklendi.

- EVE otomatik hücre sayacı kullanılarak hücre sayımı gerçekleştirildi (Fotoğraf 3.6).

- Parlak görünüme sahip, Tripan mavisi boyasını metabolize eden hücreler canlı olarak, boyayı içine alıp mavi renkte görünen hücreler ise ölü olarak değerlendirildi.

- 96'lık plate, her bir kuyucuğa $1,1 \times 10^4$ hücre olacak şekilde 100 µl hücre süspansiyonu eklendi (186).



Fotoğraf 3.6. EVE otomatik hücre sayma cihazı ile hücrelerin sayılması. (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı)

3.4 İnsan Gingival Fibroblast Primer Hücre Hattında Hidrojen Peroksit İle Hasar Modelinin Oluşturulması

Gingival fibroblast hücre serisi üzerinde hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidatif stres kaynağı olarak kullanıldı. Gingival fibroblast hücreleri, her bir kuyucuğa yaklaşık 22.000/200 μ l olacak şekilde 96'lık plakelere ekildi. Hücrelerin uygun serisi oluşturuldu.

Çalışmada, hücreler seri dilüsyonlar halinde hazırlanmış (100-1000 μ M) H_2O_2 çözeltileriyle gruplara ayrıldı. 102 μ l H_2O_2 üzerine 10 ml DMEM eklenerek H_2O_2 çözeltisi hazırlandı. Bu ana stok çözeltiden seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 μ M H_2O_2 çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiler ile 48 saat inkübasyona bırakılan gingival fibroblast hücreleri, canlılık (sitotoksosite) durumu belirlemek için kullanıldı.

3.5 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde hBN Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışmalarımızda hegzagonal bor nitür, H_2O_2 ile oksidatif hasara uğratılmış insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki etkisi incelenen maddedir. Hekzagonal bor nitür için çeşitli konsantrasyonlarda (0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1mg) çözeltiler Kıvanç ve arkadaşlarının makalesindeki gibi hazırlanmıştır(39).

İnsan gingival fibroblast hücreleri 96 kuyucuklu plakelere ekildi ve uygun hücre serileri oluşturuldu. Bu hücre serileri, %5 CO_2 ve %95 hava içeren bir inkübatörde, 37°C sıcaklıkta 48 saat boyunca inkübe edildi. Hazırlanan insan gingival fibroblast hücre serisi plakelerindeki besiyeri aspire edilerek çıkarıldı ve yerine 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1 mg konsantrasyonlarında hegzagonal bor nitür içeren 200 μ l çözelti eklenerek 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin ardından, hücre canlılığı XTT (2,3-bis [2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid tuzu) yöntemi ile değerlendirildi. Bu yöntem, canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin bir tetrazolyum tuzunu formazan ürüne dönüştürmesini esas alır.

3.6 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Öncesi hBN Etkisinin Değerlendirilmesi

Hekzagonal bor nitürün oksidatif strese karşı profilaktik etkinliğinin olup olmadığını belirlemek amacıyla, 96 kuyucuklu plakalar üzerine eşit sayıda hücreler ekildi ve %5 CO_2 ile %95 hava içeren etüvde, 37 °C sıcaklıkta 48 saat boyunca

inkübe edildi. Daha sonra, hücreler kontrol grubu, medyum kontrol grubu ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış hegzagonal bor nitrür (0,001, 0,005, 0,01 mg) olmak üzere 100 µl uygulanarak, 24 saat boyunca inkübe edildi. Yirmi dört saatlik inkübasyonun ardından, hücelere 800 µM konsantrasyonda 100 µl H₂O₂ eklenerek 20 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra XTT çözeltisi hazırlanarak hücre canlılığı değerlendirildi.

3.7 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Sonrası hBN Etkisinin Değerlendirilmesi

Oksidatif hasar oluşumunun ardından hegzagonal bor nitrür uygulamasını değerlendirmek amacıyla, insan gingival fibroblast hücrelerinin uygun hücre serisi 96 kuyucuklu plakelere oluşturuldu. Hücelere 800 µM konsantrasyonunda H₂O₂ çözeltisi 100 µl eklenerek 4 saat boyunca inkübe edildi. Dört saatlik inkübasyonun ardından 0,001, 0,005 ve 0,01 mg konsantrasyonlarında hazırlanan hegzagonal bor nitrür çözeltileri 100 µl olarak hücelere uygulandı ve 20 saat inkübe edildi. Son olarak, XTT çözeltisi hazırlanarak hücre canlılığı değerlendirildi.

3.8 Hücre Proliferasyon Canlılık Testi (XTT)

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki hegzagonal bor nitrürün çeşitli uygulamalar altında insan gingival fibroblast hücre canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla araştırma yapılmıştır. Hücre canlılığını değerlendirmek için en yaygın yöntemlerden biri olan XTT (2,3-bis [2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid tuzu) kullanılmıştır. XTT yöntemi, canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenazları tarafından tetrazolyum tuzunun formazan ürününe dönüşümü ve bu ürün miktarının spektrofotometrede kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır ve hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilir(187).

Bu amaçla, hücreler DMEM besiyeri ortamında her kuyucukta 1×10^4 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Yirmi dört saat sonra plakalarındaki besiyeri uzaklaştırılmış ve fenol red içermeyen DMEM içerisinde dilüe edilmiş hegzagonal bor nitrür hücelere 24 saat boyunca uygulanmıştır. Kültür süresi tamamlandığında hücelere XTT (Cell Proliferation Kit II) çözeltisi eklenmiş ve dört saat bekletilmiştir. Süre sonunda, 450 ve 620 nm dalga boylarında absorbans değerleri mikroparka okuyucu ile ölçülmüştür. Kontrol hücrelerinden (hegzagonal bor nitrür içermeyen kuyucuklar) elde edilen absorbans değeri %100 kabul edilerek, diğer örneklerin absorbanslarından canlılık değerleri hesaplanmıştır. Yüzde

Canlılık = [Örnek ABS ortalama / Kontrol ABS ortalama] x 100 formülü kullanılarak belirlenmiştir.

3.9 Total Oksidan Seviye

Erel'in geliştirdiği metoda göre, insan total oksidan seviyesi ölçüm kiti (Human Total Oxidant Status ELISA Kit Cat.No NN241650) kullanılarak, reaktiflerin ve örneklerin eklenmesinden 5 dakika sonra bu süre zarfında 37 derece sıcaklıkta inkübatörde bekletildikten sonra spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir (180). Bu yöntemde, örnek içindeki oksidan maddeler Fe²⁺ -o-dianisidin kompleksini ferri (Fe³⁺) iyonuna oksitler. Oksidasyon sonucu artan Fe³⁺ iyonları, asidik ortamda xylenele orange ile renkli asidik bir kompleks oluşturur. Bu renkli kompleksin yoğunluğu, örnekteki oksidan maddelerin toplam miktarına bağlı olarak değişir ve spektrofotometrede 530 nm'de ölçülür. Metot; hidrojen peroksit, PBS ve distile su standardı kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar µmol H₂O₂ Eşdeğeri/L olarak ifade edilmiştir. Çalışmamızda total oksidan seviyelerini belirlemek için, insan gingival fibroblast hücreleri 6 kuyucuklu plâtelere ekilmiş ve tutunmaları için bir gece boyunca inkübatörde bekletilmiştir. Sonrasında hücreler, 37°C sıcaklıkta 20 saatlik inkübasyon süresince yalnızca hidrojen peroksit, yalnızca hegzagonal bor nitrür, oksidatif stres öncesi ve sonrasında hegzagonal bor nitrür uygulamalarına maruz bırakılmıştır.

Hücreleri Kaldırma Protokolü:

Hücrelerin bulunduğu medyum, hücreler kontamine olmadan dikkatlice aspire edilerek uzaklaştırıldı. Medyumun 1ml'si eppendorfa konulup kalanı atıldı. Hücreler 500 µl soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) ile kalan serumun ve diğer maddelerin uzaklaştırılmasını sağlamak amacıyla yıkandı. Daha sonra kontrol grubu hücrelerine 500 µl, H₂O₂ grubuna da 300 µl soğuk PBS eklenerek hücre kazıyıcılar yardımıyla hücreler kazınarak eppendorflara alındı (Fotoğraf 3.7).



Fotoğraf 3.7. Kazıyıcılar yardımıyla hücrelerin kazınması

Hücre Lizatı İçin Protokol:

Hücreler test öncesinde, aşağıdaki adımlar izlenerek parçalandı: 6'lı plakalardaki hücreler önce 500 µl Tripsin ile yıkandı. Ardından 250 µl Tripsin eklendi ve bu hücreler 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Hücrelere 500 µl medium ilave edilip, pipetaj yapıldı.

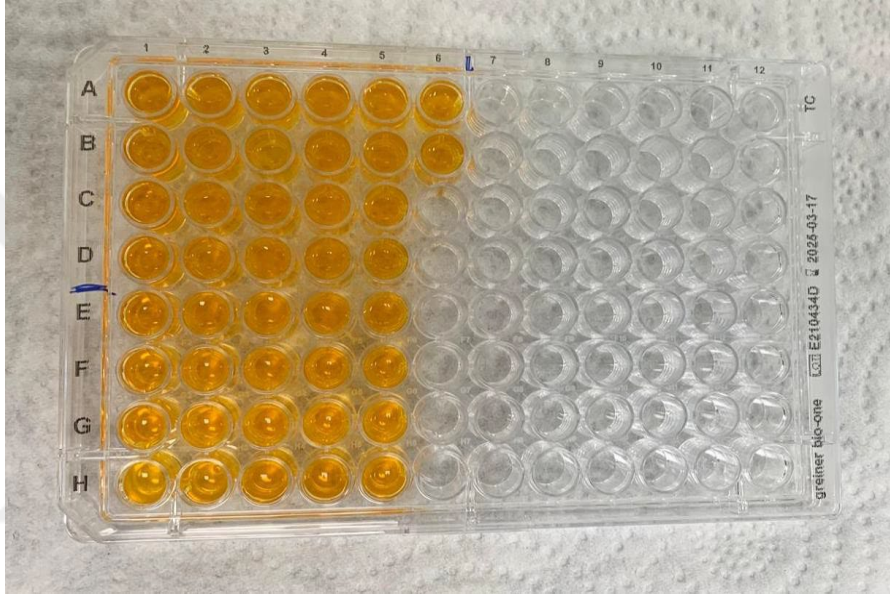
Test Prosedürü

Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlanıp oda sıcaklığına getirildi. Örnekler, standartlar ve H₂O₂ her bir kuyuya 45 µl olacak şekilde eklendi. Ardından ilk ajan her kuyucuğa 300 µl eklenip 30 saniye beklendikten sonra spektrofotometrede ilk okuma yapıldı (Fotoğraf 3.8). Daha sonra her kuyucuğa 15 µl ikinci ajan eklenip 5 dakikalığına 37°C 'deki inkübatöre kaldırıldı. 5 dakikalık süre sonunda spektrofotometrede ikinci okuma yapıldı (Fotoğraf 3.9). Daha sonra şu formüle göre hesaplaması yapıldı:

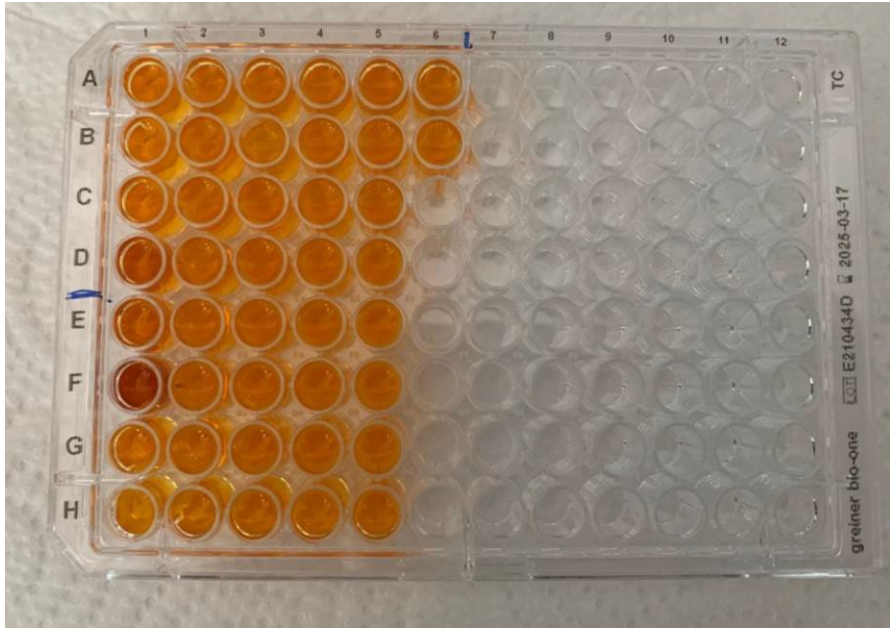
$$A2-A1= \Delta \text{ standart/örnek/ H}_2\text{O}_2$$

$$\text{Sonuç} = \frac{\Delta \text{ standart/örnek/ H}_2\text{O}_2}{\Delta \text{ standard}} \times 10^*$$

*Standartın konsantrasyonu



Fotoğraf 3.8. Birinci ajan sonrası açık sarı renk görünümü



Fotoğraf 3.9. İkinci ajan sonrası platein koyu portakal rengine değişimi

3.10 İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde, normal dağılım varsayımının sağlanıp sağlanmadığı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiş ve ayrıca basıklık ve çarpıklık katsayıları incelenmiştir. Gruplar arasındaki farkların belirlenmesinde One-Way ANOVA testi uygulanmış, çoklu karşılaştırmalar için Fisher's LSD post hoc testi kullanılmıştır. Kontrol grubu ile uygulamaların karşılaştırılması ve hidrojen peroksit grubu ile kontrolün karşılaştırılması için ise Dunnet post hoc testi kullanılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri ortalama ve standart sapma değerleri ile birlikte tablo olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler SPSS v.22 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

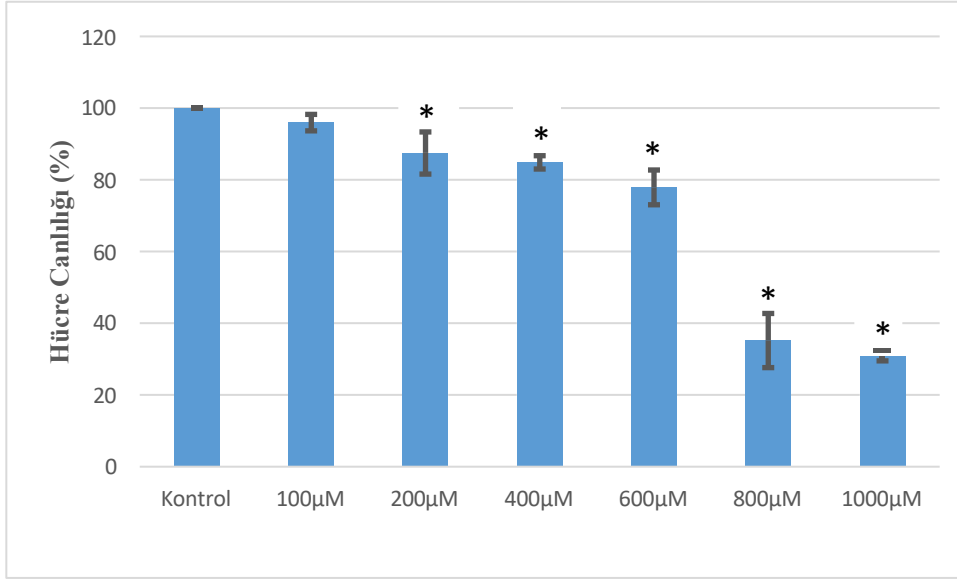
4.1 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Hasar Modeli Oluşturulacak H₂O₂ Konsantrasyonunun Belirlenmesi

İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif strese bağlı hücre hasarı modelinin oluşturulmasında kullanılan hidrojen peroksit, konsantrasyona bağlı olarak (200,600,800 ve 1000 µM) hücre ölümünü artırdı (Şekil 4.1.). %35-40 oranında hücre ölümüne neden olan hidrojen peroksit konsantrasyonu (800 µM), sonraki deneylerde hücre hasar modeli oluşturmak için kullanıldı (p<0.001; Tablo 4.1).

Tablo 4.1. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda H₂O₂ ile oluşturulan hasar modelinde XTT testi ile ölçülen canlılık değerlerinin (%) karşılaştırılması

Grup	Ort±SS	p
Kontrol	100 ± 0	<0,001
100 µM H ₂ O ₂	95,960 ± 2,295	
200 µM H ₂ O ₂	87,481 ± 5,880*	
400 µM H ₂ O ₂	84,876 ± 1,857*	
600 µM H ₂ O ₂	77,895 ± 4,846*	
800 µM H ₂ O ₂	67,666 ± 7,552*	
1000µM H ₂ O ₂	30,843 ± 1,330*	

One-way ANOVA ve Dunnet post hoc testi, p<0,001, *: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık, H₂O₂: Hidrojen peroksit, Ort: Aritmetik ortalama, Ss: Standart Sapma



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda hidrojen peroksitin insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı (%) üzerine etkisi

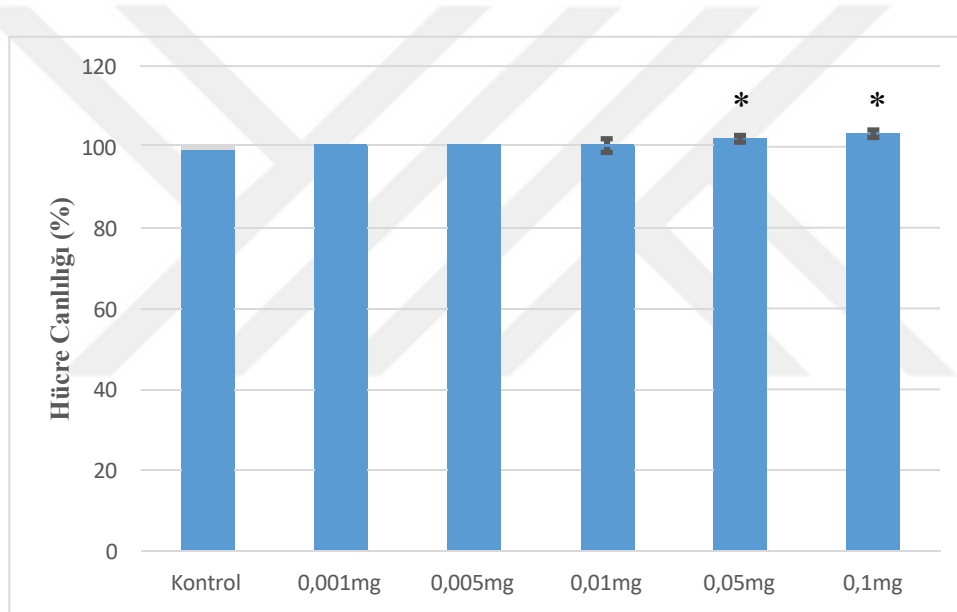
4.2 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi

Oksidatif hasara karşı profilaktik olarak kullanılması planlanan heksagonal bor nitür, insan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif stres oluşturmadan, tek başına farklı dozlarda uygulandığında, kontrol grubuna kıyasla hiçbir doz hücre hasara neden olmazken; 0,05mg hBN ve 0,1mg hBN dozları kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında artışa neden olmuştur (Tablo 4.2). Hücre canlılığındaki bu göreceli artışın sebebi sebebi 0,1 ve 0,05 mg/mL hBN konsantrasyonlarının kitle oluşturacak şekilde çökmesi ve buna bağlı olarak spektrofotometrede absorbans değeri okunan platede renk değişimi meydana gelmesidir.

Tablo 4.2. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda hBN'nin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması

Grup	Ort±SS	p
Kontrol	100 ± 0	<0,001
0,001mg/mL hBN	100,688 ± 1,008	
0,005mg/mL hBN	100,709 ± 1,051	
0,01mg/mL hBN	100,620 ± 1,384	
0,05mg/mL hBN	102,015 ± 0,824*	
0,1mg/mL hBN	103,260 ± 0,925*	

One-way ANOVA ve Dunnet post hoc testi, $p < 0,001$, *: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık, hBN: Hegzagonal bor nitür, Ort: Aritmetik ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda hegzagonal bor nitürün insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı (%) üzerine etkisi

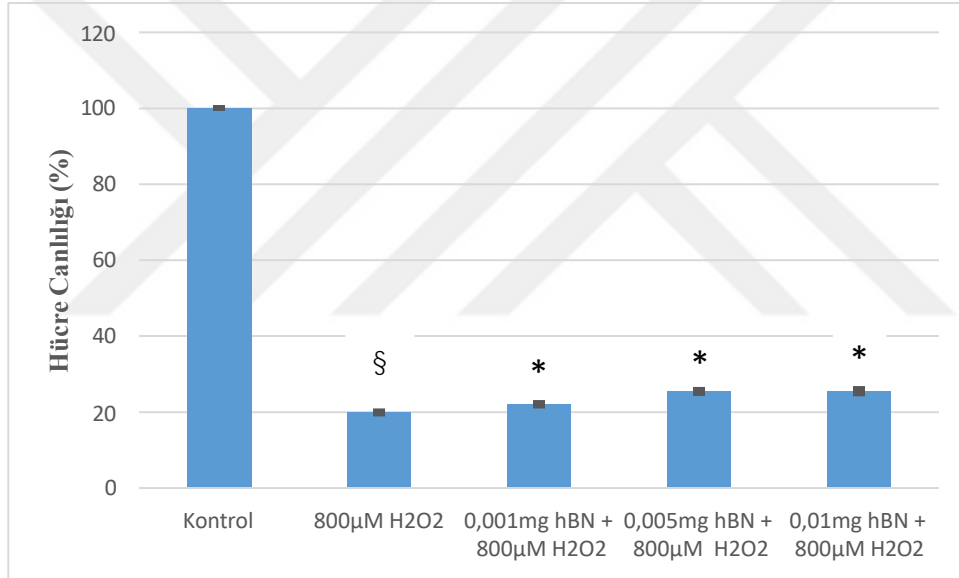
4.3 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Öncesi hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi

Oksidatif hasara karşı profilaktik olarak kullanılması planlanan hBN insan gingival fibroblast hücrelerinde 800 μM H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif stres öncesi (2 saat) farklı konsantrasyonlarda uygulandığında, tüm konsantrasyonlarda H_2O_2 grubuna kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı artış oluşturdu ($p < 0,001$). 0,001 mg hBN H_2O_2 'nin oluşturduğu hücre hasarına karşı %2 koruyucu etki sağlarken; 0,005mg/mL ve 0,01mg/mL hBN H_2O_2 'nin oluşturduğu hücre hasarına karşı yaklaşık %5,5 oranında koruyucu etki sağladı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Oksidatif stres oluşumu öncesi farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının insan gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması

Grup	Ort±SS	p
Kontrol	100 ± 0	<0,001
800µM H ₂ O ₂	19,908 ± 0,350 [§]	
0,001mg/mL hBN+800µM H ₂ O ₂	22,059 ± 0,407*	
0,005mg/mL hBN+800µM H ₂ O ₂	25,423 ± 0,496*	
0,01mg/mL hBN+800µM H ₂ O ₂	25,504 ± 0,648*	

One-way ANOVA ve Dunnet post hoc testi, p<0,001, *: H₂O₂ grubuna göre anlamlı farklılık, §: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık
hBN: Hekzagonal bor nitür, H₂O₂: Hidrojen peroksit, Ort: Aritmetik ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 4.3. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar öncesi farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının hücre canlılığına (%) etkisi

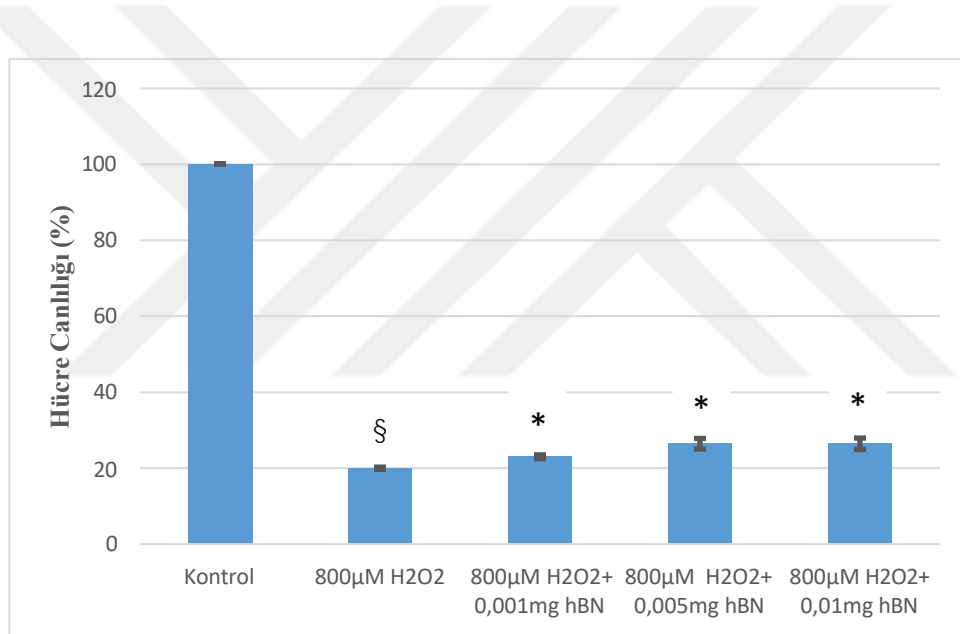
4.4 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Sonrası hBN Uygulamasının Hücre Canlılığına Etkisi

İnsan gingival fibroblastlarda 800 µM H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif hasar sonrası (2 saat) farklı konsantrasyonlarda tedavi etme amacıyla uygulanan hBN, tüm konsantrasyonlarda H₂O₂ ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı artış oluşturdu. 0,001mg hBN H₂O₂'nin oluşturduğu hücre hasarını %3; 0,005mg ve 0,01mg hBN H₂O₂'nin oluşturduğu hücre hasarını yaklaşık %6,5 oranında azalttı.

Tablo 4.4. Oksidatif stres sonrası farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının insan gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığına (%) etkisinin karşılaştırılması

Grup	Ort ± SS	p
Kontrol	100 ± 0	<0,001
800µM H ₂ O ₂	19,965 ± 0,296 [§]	
800µM H ₂ O ₂ + 0,001mg/mL hBN	22,988 ± 0,500*	
800µM H ₂ O ₂ +0,005mg/mL hBN	26,426 ± 1,390*	
800µM H ₂ O ₂ +0,01mg/mL hBN	26,410 ± 1,509*	

One-way ANOVA ve Dunnet post hoc testi, p<0,001, *: H₂O₂ grubuna göre anlamlı farklılık, §: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık hBN: Hekzagonal bor nitür, H₂O₂: Hidrojen peroksit, Ort: Aritmetik ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 4.4. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar sonrası farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının hücre canlılığına (%) etkisi

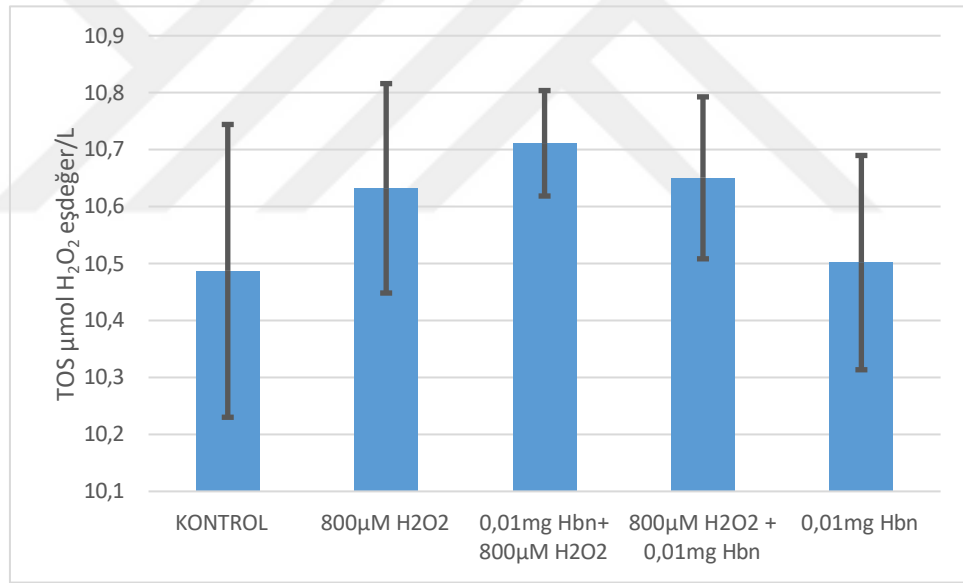
4.5 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Oksidatif Hasar Oluşum Öncesi ve Sonrasında hBN Uygulamasında Total Oksidan Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici bir ajan olarak kullanılması planlanan hBN, insan gingival fibroblast hücrelerinde 800 µM H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif hasar oluşum öncesinde ve sonrasında 100 µM uygulandığında; total oksidan seviyesinde (TOS) genel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Tablo 4.5. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasında total oksidan seviyelerinin (TOS $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğer/L) karşılaştırılması

Grup	Ort \pm SS	p
Kontrol	10,487 \pm 0,257	0,234
800 $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$	10,632 \pm 0,184	
0,01mg hBN +800 $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$	10,711 \pm 0,093	
800 $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ +0,01mg hBN	10,651 \pm 0,142	
0,01mg hBN	10,502 \pm 0,188	

One-way ANOVA ve Dunnet post hoc testi, p=0,234, hBN: Hekzagonal bor nitür, H_2O_2 : Hidrojen peroksit, Ort: Aritmetik ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 4.5. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda hBN uygulamasının total oksidan seviyeleri üzerine etkisi

5. TARTIŞMA

Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, hücre kültürü ortamında insan gingival fibroblast hücrelerinde hBN'nin hücre canlılığı üzerine etkisini ve H₂O₂ ile indüklenen oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerini inceleyen ilk çalışmadır. Deneylemiz sonucunda; hBN'nin insan gingival fibroblast hücrelerinde H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif hasar öncesi uygulandığında, 0.001 mg/mL konsantrasyonda hücre hasarını %2; 0.005 mg/mL ve 0.01 mg/mL konsantrasyonlarında ise hücre hasarını %5,5 oranında azalttığı görüldü. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif hasar sonrası hBN uygulandığında ise, 0.001 mg/mL konsantrasyonda hücre hasarını %3; 0.005 mg/mL ve 0.01 mg/mL konsantrasyonlarda hücre hasarını yaklaşık %6,5 oranında azalttığı görüldü. Oksidatif hasar oluşturulmadan uygulanan bütün hBN konsantrasyonlarında (0.001, 0.005, 0.01, 0.05 ve 0.1 mg/mL) insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığını azaltıcı bir etki görülmedi. Çalışmamızda hBN nanopartiküllerinin 800µM H₂O₂ ile indüklenmiş insan gingival fibroblast hücrelerinde 0.01 mg/mL konsantrasyonunda koruyucu ve tedavi edici etkisini TOS aracılığıyla gerçekleştirmediği görüldü. Bununla birlikte, hBN'nin antioksidan olmadığı konsantrasyonlarda dahi hücre canlılığını koruyucu ve tedavi edici etki gösterdiği tespit edildi.

Çalışmamızda insan gingival fibroblast hücrelerine farklı konsantrasyonlarda hBN uygulaması yapılmıştır. hBN'nin hangi konsantrasyonlarda uygulanacağını belirlemede Kıvanç ve ark. (39)'nın yaptıkları çalışma esas alınmıştır. Kıvanç ve ark. hBN nanopartiküllerin insan deri fibroblastları üzerine etkilerini inceledikleri çalışma sonucunda, 0.025–0.1 mg/mL konsantrasyonlarda sitotoksik etki görülmediğini ve 0.1 mg/mL konsantrasyonda hBN nanopartiküllerinin potansiyel olarak güvenli ağız bakım ürünü olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Bu nedenle çalışmaya 0.1 mg/mL hBN konsantrasyonu ile başlanmış olup 0.05 ve 0.1 mg/mL konsantrasyonlarında hBN çökmesi görüldüğünden ötürü konsantrasyonlar düşürülerek çalışmaya devam edilmiş ve deneylemiz 0.001, 0.005 ve 0.01 mg/mL konsantrasyonlarında hBN kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Dünya çapında insanların yaklaşık %10'unu etkileyen periodontitis, periodontal ataşmanın kaybıyla karakterize olan ve konak-bakteri etkileşiminin aracılık ettiği kronik enflamatuar bir hastalıktır (62,188). Periodontitis tedavisinde diş yüzeyi

temizliği ve kök yüzeyi dzleştirmesi işlemelerini içeren mekanik periodontal tedavi ile çoğunlukla klinik başarı sağlansa da özellikle derin periodontal cepler (5mm’yi aşan), furkasyon defektlere ve kemik içi defekt varlığında tek başına mekanik temizlik ile başarıya ulaşılamayabilir. Bu sebeple mekanik tedaviye ilave çeşitli yöntem ve kemoterapötik ajan arayışı periodontoloji alanındaki önemli araştırma alanlarından biridir (15,189,190). Literatürde periodontal tedaviye ek yardımcı tedavi olarak incelenen, başta antimikrobiyal özellikteki klorheksidin (191,192), tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin, metronidazol gibi lokal antibiyotik uygulamaları (193–195) ve diğer alternatif terapilerin (14,16–19,190) periodontal tedavi sonuçlarını iyileştirdiği gösterilmiş olup, diğer yandan her bir uygulamanın kendine özgü dezavantajları bulunduğu da belirtilmiştir. Bu dezavantajların bazıları klorheksidin 21 gün boyunca kullanımıyla meydana gelen oral mukozada deskuamasyon (20), dilde renk değişimi, aşırı diş taşı oluşumu, dişlerin boyanması (20,21), tat duyusunda değişim (22); tetrasiklin ve türevlerinin uzun süre kullanımındaki hem gram pozitif koklar hem de gram negatif basillere direnç gelişimi (23,24); *Fusobacterium nucleatum*’un metronidazol metabolik olarak tketebiliyor olması (196) olarak sıralanabilir. Periodontal tedaviye ek yardımcı tedavi olarak incelenen güncel maddelerden biri de antibakteriyel ve anti-enflamatuar özellikteki borik asittir (25–28).

Bor ve bileşiklerinin insan ve hayvan metabolizmasına yararlı olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda önemli bor bileşiklerinden biri olan borik asitin enflamasyon ve oksidatif strese neden olan sitokinlerin ekspresyonunu modüle ettiği, yara iyileşmesini hızlandırdığı, hücre canlılığını arttırdığı ve dolayısıyla periodontal hastalık patolojisinin tedavisinde etkili bir ajan olabileceği bildirilmiştir (43,185,197–199)

Nano yapıdaki bor bileşiklerinden biri olan hBN, doğada kendiliğinden var olmayan, B ve N öncüllerinden sentetik olarak sentezlenen bir maddedir (200). hBN nanopartiküllerinin antimikrobiyal, antibiyofilm ve antiplak etkilerinin incelendiği bir çalışmada hBN nanopartiküllerinin  bakteri türü (S. mutans 3.3, S. mutans ATTC 25175, S. pasturi M3) ve bir mantar (Candida sp. M25) zerinde bakterilerin üremesini engellediği, ancak tamamen öldürmediği tespit edilmiştir. Ayrıca, hBN’nin antibiyofilm özelliği sayesinde mevcut biyofilm yapılarının büyümesini durdurduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, hBN’nin plak oluşumunu kontrol etmede ve bakteriyel biyofilmle mücadelede potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceğini

göstermektedir (39). Ayrıca yapılan bir *in vitro* çalışmada, hBN ile tedavi edilen HUVEC (İnsan Göbek Kordonu Endotel Hücreleri) hücre hattında ROT seviyesinin, aynı konsantrasyonlarda BA ile tedavi edilen hücelere kıyasla daha fazla azaldığı gösterilmiştir (40). Çalışmamızda özellikle hBN'yi tercih etme sebebimiz, hBN'nin olası bir bozunma ürünü olan BA'nın aynı konsantrasyonlardaki hBN'ye kıyasla artan inkübasyon sürelerinde hücre canlılığının azalmasına neden olarak hücreler üzerinde farklı bir etki göstermesidir. Bu iki maddenin etkileri arasındaki farklılıklar, hBN nanopartiküllerin uzun vadede yavaş parçalanmasıyla açıklanabilir (40,42). Bu özellikleri nedeniyle hBN'nin periodontitis tedavisinde faydalı olabileceği düşüncesinden yola çıkılarak bu çalışmada, hBN'nin insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda, oksidatif stresin periodontitis de dahil olmak üzere çeşitli kronik enflamasyon türlerinin patogeneğinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar artmıştır (5). Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunma sistemi ile vücutta aşırı miktarda üretilen ROT arasındaki dengesizlik durumunda ortaya çıkan tablodur (106). ROT, periodontitis gelişimi sırasında nötrofillerin aşırı aktif hale gelerek bakterilere yanıt olarak H₂O₂ ve süperoksit gibi ROT türevlerini salması sonucu hücre ve doku hasarına yol açmaktadır (6,7). Çalışmamızda insan gingival fibroblast hücrelerine oksidatif stres mekanizmasının son ürünü olan H₂O₂ uygulanarak *in vitro* enflamasyon modeli oluşturuldu.

Çalışmamızda, periodontal tedavide terapötik bir ajan olarak kullanımı umut vadeden hBN'nin insan diş etinde bulunan fibroblast hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Klinik kullanım söz konusu olduğunda hBN'nin etkileşimde bulunacağı dokular ağız mukozası, diş eti ve periodontal dokular olacaktır. Diş etinin büyük çoğunluğunu oluşturan bağ dokusunda en yoğun bulunan hücre tipi %65 oranla fibroblastlardır (201). Bu nedenlerle bu çalışmada fibroblast hücrelerinin kullanımı daha uygun görülmüştür. Fibroblast kaynağının periodontal ligament değil de diş eti olmasının temel sebepleri; periodontal ligament fibroblastlarının diş çekimi sonrası kök kısmını koruyarak nazik bir şekilde biyopsi alınarak daha hassas koşullarda elde edilebilmesi, hücre kültüründe daha yavaş proliferasyon göstermesi ve bu kültür şartlarına daha zor adapte olabilmesidir (202).

Bu çalışmada uygulanan konsantrasyonların (0.001-0.1 mg/mL) hiçbirinde hBN'nin insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı üzerinde olumsuz bir

etkisi görülmedi Literatür incelendiğinde, hBN'nin insan gingival fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerini inceleyen başka bir çalışmaya rastlanmamakla birlikte, farklı hücre tipleri ile yapılmış çalışmalar mevcuttur(39,40,203). İnsan deri fibroblast (İDF) hücreleriyle (CCD-1094Sk, CRL 2120) yapılan bir çalışmada hem hBN nanopartikül uygulamasının hücre canlılığı üzerine etkisi, hem de hBN nanopartikül uygulamasının antibakteriyel ve antiplak etkisi incelenmiştir (39). 0,025 mg/mL-0,4 mg/mL konsantrasyonlarında hBN uygulaması yapılan bu hücre hattında 24 ve 48. saatlerde hücre canlılığına bakılmıştır. İnsan deri fibroblastı hücreleri düşük konsantrasyon (0.025, 0.05, 0.1 mg/mL) hBN uygulamalarında hücre canlılığında herhangi bir değişim göstermemiş; fakat yüksek konsantrasyonlarda (0.2 mg/mL ve 0.4 mg/mL) 1. günde hücre canlılığı yaklaşık 11%–23%, 2.günde de 25%–37% azalmıştır. Şen ve ark.'nın İDF ve HUVEC ile yaptıkları başka bir çalışmada (40) hBN ve BA karşılaştırmalı olarak 10 µg/mL-500 µg/mL konsantrasyonlarda uygulanmıştır. İDF hücrelerine 100 µg/mL'e kadar olan konsantrasyonlarda hBN ve BA uygulaması hücre canlılığını önemli ölçüde etkilememiş; fakat yüksek konsantrasyonlardaki (150–500 µg/mL) hBN hücre canlılığını doz bağımlı şekilde %64 azaltmıştır. Aynı şekilde İDF'lere yüksek konsantrasyonlardaki (200–500 µg/mL) BA uygulaması hücre canlılığını kademeli olarak %72'lere düşürmüştür. Aynı çalışmada HUVEC hücre hattına uygulanan düşük dozdaki (10–100 µg/mL) hBN, hücre canlılığını %118'e kadar arttırırken, 150 µg/mL ve 200 µg/mL hBN hücre canlılığını önemli ölçüde etkilememiştir. En yüksek hBN konsantrasyonları (300–500 µg/mL), hücre canlılığını önemli ölçüde (%42) düşürmüştür. Hücreler, 25 ve 50 µg/mL BA konsantrasyonları ile tedavi edildiğinde, hücre canlılığı %119'a kadar artıp, 100 ve 150 µg/mL BA konsantrasyonları, hücre canlılığını önemli ölçüde etkilememiştir. En yüksek BA konsantrasyonları hücre canlılığını %48'e düşürmüştür. Rasel ve ark.'nın osteoblast hücre hattıyla yaptıkları çalışmada (203) 20 µg/mL-200 µg/mL konsantrasyonlarındaki hBN nanopartikülleri uygulayıp 1., 3. ve 5.günlerde hücre canlılığına bakmışlardır. Yüksek hBN nanopartikül konsantrasyonları (50 µg/mL ve 200 µg/mL) dışındaki hiçbir konsantrasyonda hücre canlılığını azaltıcı etki görülmemiştir. 50 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonları hücre canlılığında belirgin bir şekilde azalmaya sebep olmuştur. Yaptığımız çalışmada hBN insan gingival fibroblast hücrelerinde (0.001, 0.005, 0.01, 0.05 ve 0.1 mg/mL) 5 farklı konsantrasyonlarda uygulandığında herhangi bir hücre hasarına sebep olmadığı

görülmüştür. Özellikle 0.1 ve 0.05 mg/mL konsantrasyonunda hBN'nin hücrenin üzerine kitle oluşturacak miktarda çöktüğü gözlenmiştir. Bundan dolayı koruyucu ve tedavi edici konsantrasyonlar çökme oluşturmayan dozlar arasından seçilmiştir. Ayrıca sadece hBN uygulanan ve kitle oluşturacak miktarda çöken bu 2 konsantrasyonda (0.1 ve 0.05 mg/mL) platedeki haznede çökmeden kaynaklı renk değişimi olduğu için spektrofotometrede absorbans değerleri yükselmiş ve bu sebeple hücre canlılığının artmış gibi görünmesine sebep olmuştur. Literatüre bakıldığında, çalışmamız için seçtiğimiz dozlar ve sonuçlarımız, başka araştırmacılar tarafından seçilen dozlar ve bulunan sonuçlarla uyumludur ve genel olarak hBN'lerin, muhtemel bozunma ürünü olan BA'ye kıyasla çok daha düşük sitotoksositeye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda insan gingival fibroblast hücrelerinde H₂O₂ ile enflamasyon modeli oluşturulduktan önce veya sonra hBN uygulamasının etkileri incelenmiş; hBN'nin hücre canlılığını artırarak oksidatif hasara karşı koruyucu ve iyileştirici bir etki gösterdiği görülmüştür. Literatürde aynı tasarımda bir çalışmaya rastlanmadığından, sonuçlarımızı farklı hücre tipleri veya enflamasyon modellerinde hBN veya farklı bor bileşikleri uygulanan çalışmaların sonuçları ile tartıştık. Bozkurt ve ark. (185) insan gingival fibroblast hücrelerini IL-1 β ile indükleyerek periodontal inflamasyon modeli oluşturduktan sonra hücrelere %0.75-%0.09 konsantrasyonlarında BA uygulayıp SOD ve GPx enzimlerinin etkinliklerine bakarak oksidatif stresi değerlendirmişlerdir. 72. saatte, %0.75 ve %0.37 konsantrasyonlarındaki BA tedavilerinin ROT'ları elimine eden SOD ve GPx ekspresyonlarını arttığı bildirilmiş ve BA'nın IL-1 β tarafından indüklenen oksidatif stres üzerinde faydalı bir etkiye sahip olabileceği öne sürülmüştür. Şen ve ark. (40) İDF'ler ve HUVEC'ler ile yaptıkları bir çalışmada, hBN ve BA'yı karşılaştırmalı olarak 25 μ g/mL-200 μ g/mL konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Sırasıyla artan konsantrasyonlarda hBN ve BA ile tedavi edilen İDF'lerde ROT üretiminin inhibe olduğu bildirilmiştir. ROT seviyesinin, 25 μ g/mL hBN ve 25 μ g/mL BA konsantrasyonuna maruz kalan İDF hücrelerinde önemli ölçüde azalmadığı; fakat 100 μ g/mL ve 200 μ g/mL konsantrasyonlarında hBN ve BA ile tedavi edildiğinde, ROT seviyesinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir. HUVEC'lerde 25 μ g/mL hBN ve BA konsantrasyonunun ROT seviyesini etkilemediği, bununla birlikte 100 μ g/mL ve 200 μ g/mL hBN'lerin ROT seviyesini düşürdüğü belirtilmiştir. Ek olarak, aynı konsantrasyonlarda BA ile

tedavi edilen hücrelere kıyasla, hBN'lerle tedavi edilen hücrelerde ROT seviyesinin daha fazla azaldığı bildirilmiştir. Çakır ve ark. (41) hBN nanopartiküllerinin beyindeki sepsis kaynaklı nörodejenerasyondaki profilaktik etkisini belirlemek için, lipopolisakkaritler ile enflamasyon oluşturmadan 24 saat önce sıçanlara 50 µg/kg ve 100 µg/kg hBN nanopartiküllerini intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edip beyin dokularında oksidatif stres ölçümü yapmışlardır. Lipopolisakkarit enjeksiyonundan önce hem 50 µg/kg hem de 100 µg/kg konsantrasyonlarda hBN tedavisinin TOS artışını tersine çevirerek ROT seviyesini azalttığı, 100 µg/kg konsantrasyonunda profilaktik faydanın çok daha fazla görüldüğü rapor edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca hBN nanopartiküllerin pro-enflamatuar sitokinler, TNF-a ve IL-1β'nin konsantrasyonlarını azalttığı, sitokrom c ve kaspaz-3 seviyelerini azaltarak apoptozu engellediği de belirtilmiştir. Rasel ve ark. (203) osteoblast hücre hattıyla yaptıkları çalışmada 10 µg/mL-50 µg/mL konsantrasyonlarındaki hBN nanopartikülleri bu hücrelere uygulayıp ROT üretim seviyelerini değerlendirmişlerdir. Tüm nanopartikül konsantrasyonları için kontrole kıyasla aynı düzeyde ROT üretimi gözlemlendiğini, hBN nanopartiküllerin ilave bir oksidatif strese sebep olmadığını ve bu sonuçların hBN nanopartiküllerinin sitouyumlu olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. Kar ve ark. (166) yaptıkları hayvan deneylerinde, hBN nanopartiküllerin herhangi bir akut sitotoksik etkisinin olup olmadığını ve vücuttaki oksidan/antioksidan denge göstergelerinden biri olan tiol-disülfit bağı dengesini kullanarak oksidatif strese neden olup olmadığını araştırmışlardır. Sıçanlara 50 µg/kg-3200 µg/kg konsantrasyonundaki hBN nanopartiküllerini intravenöz (i.v.) olarak uygulayıp 24 saat sonra kan ve doku incelemelerini yapmışlardır. 1600 ve 3200 µg/kg hBN nanopartikül uygulamalarından sonra kontrole kıyasla serumdaki tiyol/disülfit dengesinin bozulduğu ve disülfit formasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlemlendiği belirtilmiştir. Karaciğer ve böbrekte tiyol/disülfit parametrelerinde ise serum sonuçlarında olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte 800 µg/kg hBN nanopartikülleri kalp ve dalak dokularında uygulanmasında şaşırtıcı bir şekilde disülfit oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda sıçanlara verilen yüksek konsantrasyonlarda hBN nanopartiküllerin sırasıyla tiyol/disülfit homeostazisinin modülasyonunu bozup enflamasyonun indüksiyonu yoluyla oksidatif stres yarattığı ve doz bağımlı olarak toksik etkilerin arttığı rapor edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise, literatürde

bulunan çalışmalardan farklı olarak hBN'nin hücreleri koruyucu ve tedavi edici etkilere sahip olduğu; ancak bu etkisini TOS aracılığıyla yapmadığı saptandı (30,164,204,205). Bunun sebebinin literatürdeki çalışmalarda kullanılan hBN konsantrasyonlarının çalışmamızdaki hBN konsantrasyonlarından çok daha yüksek olması olduğu dşnlmektedir.

Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, antimikrobiyal (39), antiplak (39), ve antioksidan (41,204) zelliklere sahip olduğu bilinen hBN'nin, insan gingival fibroblast hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır. Elde edilen sonuçlar, hBN'nin periodontitis gibi oksidatif stres kaynaklı enflamasyonların ve doku hasarlarının önlenmesinde ve tedavisinde kullanımı açısından umut vericidir. Bununla birlikte çalışmamızın bazı limitasyonları mevcuttur. Çalışmamızda hücre canlılığı ve sitotoksitesinin incelenmesi için kullanılan XTT testlerinin sonuçlarının doğruluğunun bir taramalı elektron mikroskobu tarafından desteklenmemesi bu çalışmanın limitasyonlarından biridir. Ayrıca, bu çalışma sadece *in vitro* koşullarda yapıldığından, klinik ortamdaki pek çok değişken faktörün etkisi değerlendirilemediği için sonuçlar sınırlı bir anlam taşıyabilmektedir. Çalışmamızın sonuçlarını destekleyecek daha ileri *in vitro* alışmalara, hayvan deneylerine ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda, uygulanan konsantrasyonların (0.001-0.1 mg/mL) hiçbirinde hBN'nin insan gingival fibroblast hücrelerinde hücre canlılığı üzerinde olumsuz bir etkisi görülmemiştir.
2. İnsan gingival fibroblast hücre hattında hidrojen peroksit ile indüklenen oksidatif stresin öncesinde ve sonrasında uygulanan hBN, hücre canlılığını artırarak oksidatif hasara karşı koruyucu ve iyileştirici bir etki göstermiştir.
3. Hekzagonal bor nitrürün antioksidan olmadığı konsantrasyonlarda dahi oksidatif strese karşı koruyucu ve tedavi edici etkisi olduğu; fakat bu etkisini TOS aracılığıyla yapmadığı saptanmıştır. Bu mekanizmanın aydınlatılabilmesi için kaspaz 3, hücre döngüsü analizi, hücre ölüm analizi gibi ileri biyokimyasal analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.
4. Bu in vitro çalışma, hBN'nin terapötik bir ajan olarak geliştirilmesine yönelik bir ön araştırma niteliğindedir. Elde ettiğimiz sonuçlar hBN'nin periodontal hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanımı açısından umut verici olmakla birlikte, periodontal ligament hücre hattında yapılacak in vitro çalışmalar, hayvan çalışmaları ve klinik araştırmalar gibi ileri araştırmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atf sistemi kullanılmıştır.

1. Cochran DL. Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8S):1569–76.
2. Genco RJ. Host Responses in Periodontal Diseases: Current Concepts. *J Periodontol.* 1992 Apr;63(4S):338–55.
3. Feller L, Altini M, Khammissa RAG, Chandran R, Bouckaert M, Lemmer J. Oral mucosal immunity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013 Nov;116(5):576–83.
4. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005 Oct 26;32(s6):87–107.
5. Sczepanik FSC, Grossi ML, Casati M, Goldberg M, Glogauer M, Fine N, et al. Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontol 2000.* 2020 Oct 25;84(1):45–68.
6. Hirschfeld J, White PC, Milward MR, Cooper PR, Chapple ILC. Modulation of Neutrophil Extracellular Trap and Reactive Oxygen Species Release by Periodontal Bacteria. *Infect Immun.* 2017 Dec;85(12).
7. Wei Y, Fu J, Wu W, Ma P, Ren L, Yi Z, et al. Quercetin Prevents Oxidative Stress-Induced Injury of Periodontal Ligament Cells and Alveolar Bone Loss in Periodontitis. *Drug Des Devel Ther.* 2021;15:3509–22.
8. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front Physiol.* 2017 Nov 13;8.
9. Chen M, Cai W, Zhao S, Shi L, Chen Y, Li X, et al. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2019 Jun 20;46(6):608–22.
10. Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S, Serrano F, Puig-Silla M, Dasí F. Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Dis Markers.* 2015;2015:1–7.
11. Liu C, Mo L, Niu Y, Li X, Zhou X, Xu X. The Role of Reactive Oxygen Species and Autophagy in Periodontitis and Their Potential Linkage. *Front Physiol.* 2017 Jun 23;8.
12. Kanzaki H, Wada S, Narimiya T, Yamaguchi Y, Katsumata Y, Itohiya K, et al. Pathways that Regulate ROS Scavenging Enzymes, and Their Role in Defense Against Tissue Destruction in Periodontitis. *Front Physiol.* 2017 May 30;8.
13. Greenstein G, Caton J. Periodontal Disease Activity: A Critical Assessment. *J Periodontol.* 1990 Sep;61(9):543–52.
14. Huang C, Zhang C, Yang P, Chao R, Yue Z, Li C, et al. Eldecalcitol Inhibits LPS-Induced NLRP3 Inflammasome-Dependent Pyroptosis in Human Gingival Fibroblasts by Activating

- the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway. *Drug Des Devel Ther.* 2020 Nov;Volume 14:4901–13.
15. Caffesse RG, Sweeney PL, Smith BA. Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. *J Clin Periodontol.* 1986 Mar 14;13(3):205–10.
 16. Shinwari MS, Tanwir F, Hyder PR, Bin Saeed MH. Host modulation therapeutics in periodontics: role as an adjunctive periodontal therapy. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2014 Sep;24(9):676–84.
 17. Eid Abdelmagyd HA, Ram Shetty DS, Musa Musleh Al-Ahmari DM. Herbal medicine as adjunct in periodontal therapies- A review of clinical trials in past decade. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2019 Jul;9(3):212–7.
 18. Muniz FWMG, Taminski K, Cavagni J, Celeste RK, Weidlich P, Rösing CK. The effect of statins on periodontal treatment—a systematic review with meta-analyses and meta-regression. *Clin Oral Investig.* 2018 Mar 2;22(2):671–87.
 19. Raut C, Sethi K. Comparative evaluation of co-enzyme Q10 and Melaleuca alternifolia as antioxidant gels in treatment of chronic periodontitis: A clinical study. *Contemp Clin Dent.* 2016;7(3):377.
 20. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent.* 2020 Dec;103:103497.
 21. James P, Worthington H V, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2017 Mar 31;2021(12).
 22. Helms JA, Della-Fera MA, Mott AE, Frank ME. Effects of chlorhexidine on human taste perception. *Arch Oral Biol.* 1995 Oct;40(10):913–20.
 23. EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). *Dirençli Olması Beklenen Fenotipler. sürüm 1.1 2022.*
 24. Schnappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch Microbiol.* 1996 Jun 24;165(6):359–69.
 25. Singhal S, Pradeep AR, Kanoriya D, Garg S, Garg V. Boric acid gel as local drug delivery in the treatment of class II furcation defects in chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *J Invest Clin Dent.* 2018 Feb 20;9(1).
 26. Benkovic SJ, Baker SJ, Alley MRK, Woo YH, Zhang YK, Akama T, et al. Identification of Borinic Esters as Inhibitors of Bacterial Cell Growth and Bacterial Methyltransferases, CcrM and MenH. *J Med Chem.* 2005 Nov 1;48(23):7468–76.
 27. Balci Yuce H, Toker H, Goze F. The histopathological and morphometric investigation of the effects of systemically administered boric acid on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in diabetic rats. *Acta Odontol Scand.* 2014 Nov 11;72(8):729–36.
 28. Baker SJ, Akama T, Zhang YK, Sauro V, Pandit C, Singh R, et al. Identification of a novel boron-containing antibacterial agent (AN0128) with anti-inflammatory activity, for the potential treatment of cutaneous diseases. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006 Dec;16(23):5963–7.

29. Kuru R, Yarat A. Bor ve Sağlığımıza Olan Etkilerine Güncel Bir Bakış. *Clinical and Experimental Health Sciences*. 2017;7(3):107–15.
30. Aydın N, Turkez H, Tozlu OO, Arslan ME, Yavuz M, Sonmez E, et al. Ameliorative Effects by Hexagonal Boron Nitride Nanoparticles against Beta Amyloid Induced Neurotoxicity. *Nanomaterials*. 2022 Aug 5;12(15):2690.
31. Emanet M, Şen Ö, Çulha M. Evaluation of Boron Nitride Nanotubes and Hexagonal Boron Nitrides As Nanocarriers for Cancer Drugs. *Nanomedicine*. 2017 Apr 21;12(7):797–810.
32. Bernard S, Miele P. Nanostructured and architected boron nitride from boron, nitrogen and hydrogen-containing molecular and polymeric precursors. *Materials Today*. 2014 Nov;17(9):443–50.
33. Kim JH, Pham TV, Hwang JH, Kim CS, Kim MJ. Boron nitride nanotubes: synthesis and applications. *Nano Converg*. 2018;5(1):17.
34. Sharker SMd, Alam MdA, Shill MC, Rahman GMS, Reza HM. Functionalized hBN as targeted photothermal chemotherapy for complete eradication of cancer cells. *Int J Pharm*. 2017 Dec;534(1–2):206–12.
35. Chen X, Wu P, Rousseas M, Okawa D, Gartner Z, Zettl A, et al. Boron Nitride Nanotubes Are Noncytotoxic and Can Be Functionalized for Interaction with Proteins and Cells. *J Am Chem Soc*. 2009 Jan 28;131(3):890–1.
36. Sukhorukova I V., Zhitnyak IY, Kovalskii AM, Matveev AT, Lebedev OI, Li X, et al. Boron Nitride Nanoparticles with a Petal-Like Surface as Anticancer Drug-Delivery Systems. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015 Aug 12;7(31):17217–25.
37. Izyumskaya N, Demchenko DO, Das S, Özgür Ü, Avrutin V, Morkoç H. Recent Development of Boron Nitride towards Electronic Applications. *Adv Electron Mater*. 2017 May 10;3(5).
38. Merlo A, Mokkapati VRSS, Pandit S, Mijakovic I. Boron nitride nanomaterials: biocompatibility and bio-applications. *Biomater Sci*. 2018;6(9):2298–311.
39. Kivanç M, Barutca B, Koparal AT, Göncü Y, Bostancı SH, Ay N. Effects of hexagonal boron nitride nanoparticles on antimicrobial and antibiofilm activities, cell viability. *Materials Science and Engineering: C*. 2018 Oct;91:115–24.
40. Şen Ö, Emanet M, Çulha M. Stimulatory Effect of Hexagonal Boron Nitrides in Wound Healing. *ACS Appl Bio Mater*. 2019 Dec 16;2(12):5582–96.
41. Çakır Gündoğdu A, Kar F. Hexagonal Boron Nitride Nanoparticles Prevent Neurodegeneration in Septic Rat Brain. *Osmangazi Journal of Medicine*. 2023 Jul 21;
42. Emanet Ciofani M, Şen Ö, Çulha M. Hexagonal Boron Nitride Nanoparticles for Prostate Cancer Treatment. *ACS Appl Nano Mater*. 2020 Mar 27;3(3):2364–72.
43. Sağlam M, Arslan U, Buket Bozkurt Ş, Hakki SS. Boric Acid Irrigation as an Adjunct to Mechanical Periodontal Therapy in Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol*. 2013 Sep;84(9):1297–308.

44. Kanoriya D, Singhal S, Garg V, Pradeep AR, Garg S, Kumar A. Clinical efficacy of subgingivally-delivered 0.75% boric acid gel as an adjunct to mechanotherapy in chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial. *J Investig Clin Dent*. 2018 Feb 5;9(1).
45. Andras NL, Mohamed FF, Chu EY, Foster BL. Between a rock and a hard place: Regulation of mineralization in the periodontium. *genesis*. 2022 Sep 23;60(8–9).
46. BARTOLD PM, WALSH LJ, NARAYANAN AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000*. 2000 Oct 23;24(1):28–55.
47. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza. *Clinical Periodontology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019.
48. Lindhe J, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 6th ed. Vol. 1. Chichester: John Wiley & Sons; 2015.
49. Prato GPP, Rotundo R, Cortellini P, Tinti C, Azzi R. Interdental papilla management: a review and classification of the therapeutic approaches. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004 Jun;24(3):246–55.
50. WEINMANN JP, MEYER J. Types of keratinization in the human gingiva. *J Invest Dermatol*. 1959 Feb 1;32(2, Part 1):87–94.
51. CABRINI R, CABRINI RL, CARRANZA FA. [Histologic study of keratinization of the gingival epithelium and epithelial adhesion]. *Rev Odontol Circ Odontol Parag*. 1953 May;41(5):212–8.
52. BIOLCATI EL, CARRANZA FA, CABRINI RL. [Variations and changes in keratinization of clinically healthy human gingivae]. *Rev Odontol Circ Odontol Parag*. 1953 Oct;41(10):446–50.
53. Schroeder HE. *The periodontium handbook of microscopic anatomy*. Vol. 5. Berlin: Springer-Verlag; 1986.
54. Schroeder H. *Differentiation of human oral stratified epithelia*. New York: Karger; 1981.
55. Schroeder HE, Theilade J. Electron microscopy of normal human gingival epithelium. *J Periodontol Res*. 1966;1(2):95–119.
56. Çağlayan G, editor. *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Vol. 1. İstanbul: Quintessence Publishing Türkiye; 2018.
57. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function*. 8th ed. Elsevier India; 2014.
58. ÜÇGÜL İ, ARAS S, ELİBÜYÜK U. EKSTRASELÜLER MATRİS YAPISI VE GÖREVLERİ. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*. 2018 Apr 24;23(1):295–310.
59. Kent LW, Rahemtulla F, Michalek SM. Interleukin (IL)-1 and Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide Stimulation of IL-6 Production by Fibroblasts Derived From Healthy or Periodontally Diseased Human Gingival Tissue. *J Periodontol*. 1999 Mar;70(3):274–82.
60. Birkedal-Hansen H. From tadpole collagenase to a family of matrix metalloproteinases. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1988 Nov 28;17(9–10):445–51.

61. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2004 Feb 13;34(1):9–21.
62. Michaud DS, Fu Z, Shi J, Chung M. Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiol Rev*. 2017 Jan 1;39(1):49–58.
63. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34(3):235–49.
64. Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: “double indemnity” in protecting the host. *Periodontol 2000*. 2013 Jun;62(1):163–202.
65. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb 21;25(2):134–44.
66. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*. 1994 Jul;8(2):263–71.
67. Roberts FA, Darveau RP. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontol 2000*. 2015 Oct 7;69(1):18–27.
68. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskan MA, et al. Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe*. 2011 Nov;10(5):497–506.
69. Baldwin AS. THE NF- κ B AND I κ B PROTEINS: New Discoveries and Insights. *Annu Rev Immunol*. 1996 Apr;14(1):649–81.
70. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002 Aug;13(4–5):413–21.
71. Offenbacher S. Periodontal Diseases: Pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):821–78.
72. Lee SH, Kim TS, Choi Y, Lorenzo J. Osteoimmunology: cytokines and the skeletal system. *BMB Rep*. 2008 Jul 31;41(7):495–510.
73. Lerner UH. Inflammation-induced Bone Remodeling in Periodontal Disease and the Influence of Post-menopausal Osteoporosis. *J Dent Res*. 2006 Jul 20;85(7):596–607.
74. Nussbaum G, Shapira L. How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar 16;38(s11):49–59.
75. Herrmann JM, Meyle J. Neutrophil activation and periodontal tissue injury. *Periodontol 2000*. 2015 Oct 7;69(1):111–27.
76. Kumar V, Sharma A. Neutrophils: Cinderella of innate immune system. *Int Immunopharmacol*. 2010 Nov;10(11):1325–34.
77. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*. 1993 Nov 30;28(7):500–10.

78. Kim CH. Regulation of humoral immunity by FoxP3⁺ regulatory T cells. *Expert Rev Clin Immunol*. 2006 Nov 10;2(6):859–68.
79. Lamster IB, Novak MJ. Host Mediators in Gingival Crevicular Fluid: Implications for the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1992 Jan 1;3(1):31–60.
80. Chapple ILC, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007 Feb 4;43(1):160–232.
81. Gracy RW, Talent JM, Kong Y, Conrad CC. Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1999 Jul;428(1–2):17–22.
82. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*. 1992 Jun;119(6):598–620.
83. Li M. KGF-1 and KGF Receptor Expression in Human Periodontal Disease and in vitro Microwounding-Associated Ligand-Independent KGFR Activation. 2007.
84. Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. Both Drs. Paules and Kaufmann received their doctoral degrees in Experimental Pathology from the University of North Carolina at Chapel Hill School of Medicine (in 1984 and 1979, respectively). *Free Radic Biol Med*. 2000 May;28(9):1387–404.
85. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997 Mar;82(2):291–5.
86. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett*. 2000 Dec 30;486(1):10–3.
87. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller Free Radicals. Available from: <http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/sabed/index>
88. Halliwell B. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutr Rev*. 2009 Apr 27;52(8):253–65.
89. Zhou Z, Sun X, Kang YJ. Metallothionein Protection against Alcoholic Liver Injury through Inhibition of Oxidative Stress. *Exp Biol Med*. 2002 Mar 29;227(3):214–22.
90. Miyasaki KT. The Neutrophil: Mechanisms of Controlling Periodontal Bacteria. *J Periodontol*. 1991 Dec;62(12):761–74.
91. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2014 Sep;436:332–47.
92. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013 Oct;46:200–6.
93. Finkel T. Signal Transduction by Mitochondrial Oxidants. *Journal of Biological Chemistry*. 2012 Feb;287(7):4434–40.
94. Handy DE, Loscalzo J. Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Jun 1;16(11):1323–67.

95. Schrader M, Fahimi HD. Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2006 Dec;1763(12):1755–66.
96. Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress: A Vicious Cycle or a Double-Edged Sword? *Antioxid Redox Signal*. 2007 Dec;9(12):2277–94.
97. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002 Mar 4;29(3):189–94.
98. Pendyala G, Thomas B, Kumari S. The challenge of antioxidants to free radicals in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*. 2008;12(3):79.
99. Godic A, Poljšak B, Adamic M, Dahmane R. The Role of Antioxidants in Skin Cancer Prevention and Treatment. *Oxid Med Cell Longev*. 2014 Mar 26;2014:1–6.
100. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 1993;49(3):481–93.
101. Kaklamanos EG, Tsalikis L. A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *J Int Acad Periodontol*. 2002 Apr;4(2):49–59.
102. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative Injury and Inflammatory Periodontal Diseases : the Challenge of Anti-Oxidants to Free Radicals and Reactive Oxygen Species. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1999 Jul 1;10(4):458–76.
103. Platel K, Srinivasan K. Bioavailability of Micronutrients from Plant Foods: An Update. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016 Jul 26;56(10):1608–19.
104. Aydemir B, Sarı EK. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*. 2009;2(2):56–80.
105. Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. In 2011. p. 1–37.
106. Nakanishi S, Suzuki G, Kusunoki Y, Yamane K, Egusa G, Kohno N. Increasing of oxidative stress from mitochondria in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004 Sep 22;20(5):399–404.
107. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1–13.
108. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent*. 2009 Apr;3(2):100–6.
109. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013 May;1830(5):3217–66.
110. Ďuračková Z. Some Current Insights into Oxidative Stress. *Physiol Res [Internet]*. 2010;59:459–69. Available from: www.biomed.cas.cz/physiolres
111. Nauseef WM, Borregaard N. Neutrophils at work. *Nat Immunol*. 2014 Jul 18;15(7):602–11.

112. Kehrer JP. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Crit Rev Toxicol.* 1993 Jan 25;23(1):21–48.
113. Akalın FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Total Antioxidant Capacity and Superoxide Dismutase Activity Levels in Serum and Gingival Crevicular Fluid in Pregnant Women With Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2009 Mar;80(3):457–67.
114. Harijith A, Ebenezer DL, Natarajan V. Reactive oxygen species at the crossroads of inflammasome and inflammation. *Front Physiol.* 2014 Sep 29;5.
115. Wauquier F, Leotoing L, Coxam V, Guicheux J, Wittrant Y. Oxidative stress in bone remodelling and disease. *Trends Mol Med.* 2009 Oct;15(10):468–77.
116. Yılmaz A. Her Derde Deva Hazinemiz Bor. *TUBİTAK-Bilim ve Teknik Dergisi.* 2002;414:38–41.
117. Nielsen FH. Is boron nutritionally relevant? *Nutr Rev.* 2008 Mar 26;66(4):183–91.
118. Yakıncı ZD, Mediha K. Borun Sağlık Alanında Kullanımı. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi Cilt. 4(1):36–44.
119. Demirtaş A. Bor'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2010;41(1):75–80.
120. Demirtaş A. Bor Bileşikleri ve Tarımda Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2006;
121. Uluisik I, Karakaya HC, Koc A. The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 2018 Jan;45:156–62.
122. WHO. Guidelines for drinking-water quality. 2nd ed. 1998.
123. Söğüt Ö, Acar O. Bor ve Sağlık. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi.* 2020;9(1):11–7.
124. Moseman RF. Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environ Health Perspect.* 1994 Nov;102(suppl 7):113–7.
125. Sutherland B, Strong P, King JC. Determining human dietary requirements for boron. *Biol Trace Elem Res.* 1998 Dec 5;66(1–3):193–204.
126. Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, Ay S. Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Arch Oral Biol.* 2012 Jan;57(1):60–5.
127. Yeşilbağ D, Eren M. Effects of Dietary Boric Acid Supplementation on Performance, Eggshell Quality and Some Serum Parameters in Aged Laying Hens. *Turk J Vet Anim Sci.* 2008;32(2):113–7.
128. SATO K, OKAZAKI T, MAEDA K, OKAMI Y. New antibiotics, aplasmomycins B and C. *J Antibiot (Tokyo).* 1978;31(6):632–5.
129. IRSCHIK H, SCHUMMER D, GERTH K, HÖFLE G, REICHENBACH H. Antibiotics from gliding bacteria. No.60. The Tartrolons, New Boron-containing Antibiotics from a Myxobacterium, *Sorangium cellulosum.* *J Antibiot (Tokyo).* 1995;48(1):26–30.

130. Larsen B, Petrovic M, De Seta F. Boric Acid and Commercial Organoboron Products as Inhibitors of Drug-Resistant *Candida albicans*. *Mycopathologia*. 2018 Apr 9;183(2):349–57.
131. Robertson R, Fritze K, Grof P. On the determination of lithium in blood and urine. *Clin Chim Acta*. 1973 Apr 19;45(1):25–31.
132. Nielsen FH. Update on human health effects of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2014 Oct;28(4):383–7.
133. Li X, Wang X, Zhang J, Hanagata N, Wang X, Weng Q, et al. Hollow boron nitride nanospheres as boron reservoir for prostate cancer treatment. *Nat Commun*. 2017 Jan 6;8(1):13936.
134. Gezmen Karadağ M, Türközü D. Diyetle Bor Alımının Sağlık ile Etkileşimi: Güncel Bakış. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2014;3(2):770–85.
135. Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J*. 1987 Nov;1(5):394–7.
136. Naghii MR, Mofid M, Asgari AR, Hedayati M, Daneshpour MS. Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2011 Jan;25(1):54–8.
137. Demirci S, Doğan A, Karakuş E, Halıcı Z, Topçu A, Demirci E, et al. Boron and Poloxamer (F68 and F127) Containing Hydrogel Formulation for Burn Wound Healing. *Biol Trace Elem Res*. 2015 Nov 18;168(1):169–80.
138. Nielsen FH. The emergence of boron as nutritionally important throughout the life cycle. *Nutrition*. 2000 Jul;16(7–8):512–4.
139. Luan Q, Desta T, Chehab L, Sanders VJ, Plattner J, Graves DT. Inhibition of Experimental Periodontitis by a Topical Boron-based Antimicrobial. *J Dent Res*. 2008 Feb 1;87(2):148–52.
140. Shalehin N, Hosoya A, Takebe H, Hasan MR, Irie K. Boric acid inhibits alveolar bone loss in rat experimental periodontitis through diminished bone resorption and enhanced osteoblast formation. *J Dent Sci*. 2020 Dec;15(4):437–44.
141. Armstrong TA, Flowers WL, Spears JW, Nielsent FH. Long-term effects of boron supplementation on reproductive characteristics and bone mechanical properties in gilts. *J Anim Sci*. 2002 Jan 1;80(1):154–61.
142. Armstrong TA, Spears JW. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. *J Anim Sci*. 2001;79(12):3120.
143. Armstrong TA, Spears JW. Effect of boron supplementation of pig diets on the production of tumor necrosis factor- α and interferon- γ 1,2. *J Anim Sci*. 2003 Oct 1;81(10):2552–61.
144. Fry RS, Brown TT, Lloyd KE, Hansen SL, Legleiter LR, Robarge WP, et al. Effect of dietary boron on physiological responses in growing steers inoculated with bovine herpesvirus type-1. *Res Vet Sci*. 2011 Feb;90(1):78–83.

145. Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fatih Fidan A, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2010 Jul;24(3):161–4.
146. Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Acaroz DA, Akbel E, Cigerci IH. Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere*. 2014 Aug;108:197–204.
147. Yazc S, Akşit H, Korkut O, Sunay B, Çelik T. Effects of Boric Acid and 2-Aminoethoxydiphenyl Borate on Necrotizing Enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jan;58(1):61–7.
148. Nielsen FH. Studies on the relationship between boron and magnesium which possibly affects the formation and maintenance of bones. *Magnes Trace Elem*. 1990;9(2):61–9.
149. Fort DJ, Propst TL, Stover EL, Strong PL, Murray FJ. Adverse reproductive and developmental effects in *Xenopus* from insufficient boron. *Biol Trace Elem Res*. 1998 Dec 5;66(1–3):237–59.
150. Eckhert CD. Boron Stimulates Embryonic Trout Growth. *J Nutr*. 1998 Dec;128(12):2488–93.
151. Benderdour M, Hess K, Gadet MD, Dousset B, Nabet P, Belleville F. Effect of Boric Acid Solution on Cartilage Metabolism. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 May;234(1):263–8.
152. Nzietchueng RM, Dousset B, Franck P, Benderdour M, Nabet P, Hess K. Mechanisms implicated in the effects of boron on wound healing. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2002 Jan;16(4):239–44.
153. Dzondo-Gadet M, Mayap-Nzietchueng R, Hess K, Nabet P, Belleville F, Dousset B. Action of Boron at the Molecular Level Effects on Transcription and Translation in an Acellular System. *Biol Trace Elem Res*. 2002;85(1):23–33.
154. Hunt CD. The biochemical effects of physiologic amounts of dietary boron in animal nutrition models. *Environ Health Perspect*. 1994 Nov;102(suppl 7):35–43.
155. Sheng MHC, Taper LJ, Veit H, Thomas EA, Ritchey SJ, Lau KHW. Dietary Boron Supplementation Enhances the Effects of Estrogen on Bone Mineral Balance in Ovariectomized Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2001;81(1):29–45.
156. Sheng MHC, Taper LJ, Veit H, Qian H, Ritchey SJ, Lau KHW. Dietary Boron Supplementation Enhanced the Action of Estrogen, But Not That of Parathyroid Hormone, to Improve Trabecular Bone Quality in Ovariectomized Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2001;82(1–3):109–23.
157. Gallardo-Williams MT, Maronpot RR, Turner CH, Johnson CS, Harris MW, Jayo MJ, et al. Effects of Boric Acid Supplementation on Bone Histomorphometry, Metabolism, and Biomechanical Properties in Aged Female F-344 Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2003;93(1–3):155–70.
158. Angın MH, Aydın S. Bor Nitrür Ön Fizibilite Etüdü. Ankara; 2003.
159. Aydın H. Nanoyapılı Hegzagonal Bor Nitrür Üretimi ve Karakterizasyonu. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 2018;30(2):269–75.

160. Mendelovici E, Frost RL, Klopogge JT. Modification of Chrysotile Surface by Organosilanes: An IR–Photoacoustic Spectroscopy Study. *J Colloid Interface Sci.* 2001 Jun;238(2):273–8.
161. Weimer AW. *Thermochemistry and kinetics. Carbide, Nitride and Boride Materials Synthesis and Processing.* Netherlands: Springer; 1997.
162. Göncü Y, Onar İC, Nuran A. Hezagonal Bor Nitrür İlavesinin Basınçsız Sinterlenmiş Alumina Matrisli Kompozitler Üzerine Etkisi. *Journal of Boron.* 2020;5(1):40–7.
163. Atila A, Halici Z, Cadirci E, Karakus E, Palabiyik SS, Ay N, et al. Study of the boron levels in serum after implantation of different ratios nano-hexagonal boron nitride–hydroxy apatite in rat femurs. *Materials Science and Engineering: C.* 2016 Jan;58:1082–9.
164. Kar F, Hacıoğlu C, Göncü Y, Söğüt İ, Şenturk H, Burukoğlu Dönmez D, et al. In Vivo Assessment of the Effect of Hexagonal Boron Nitride Nanoparticles on Biochemical, Histopathological, Oxidant and Antioxidant Status. *J Clust Sci.* 2021 Mar 15;32(2):517–29.
165. Şen Ö, Emanet M, Çulha M. One-Step Synthesis of Hexagonal Boron Nitrides, Their Crystallinity and Biodegradation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018 Jun 21;6.
166. Kar F, Söğüt İ, Hacıoğlu C, Göncü Y, Şenturk H, Şenat A, et al. Hexagonal boron nitride nanoparticles trigger oxidative stress by modulating thiol/disulfide homeostasis. *Hum Exp Toxicol.* 2021 Sep;40(9):1572–83.
167. Demir E, Marcos R. Antigenotoxic potential of boron nitride nanotubes. *Nanotoxicology.* 2018 Sep 14;12(8):868–84.
168. Ferreira TH, Marino A, Rocca A, Liakos I, Nitti S, Athanassiou A, et al. Folate-grafted boron nitride nanotubes: Possible exploitation in cancer therapy. *Int J Pharm.* 2015 Mar;481(1–2):56–63.
169. Kakarla AB, Kong I. In Vitro and In Vivo Cytotoxicity of Boron Nitride Nanotubes: A Systematic Review. *Nanomaterials.* 2022 Jun 15;12(12):2069.
170. Ciofani G, Raffa V, Menciasci A, Dario P. Preparation of boron nitride nanotubes aqueous dispersions for biological applications. *J Nanosci Nanotechnol.* 2008 Dec;8(12):6223–31.
171. Emanet M, Şen Ö, Çobandede Z, Çulha M. Interaction of carbohydrate modified boron nitride nanotubes with living cells. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015 Oct;134:440–6.
172. Chopra NG, Zettl A. Measurement of the elastic modulus of a multi-wall boron nitride nanotube. *Solid State Commun.* 1998 Feb;105(5):297–300.
173. Suryavanshi AP, Yu MF, Wen J, Tang C, Bando Y. Elastic modulus and resonance behavior of boron nitride nanotubes. *Appl Phys Lett.* 2004 Apr 5;84(14):2527–9.
174. Shen H. Thermal-conductivity and tensile-properties of BN, SiC and Ge nanotubes. *Comput Mater Sci.* 2009 Nov;47(1):220–4.
175. Bohns FR, Degrazia FW, de Souza Balbinot G, Leitune VCB, Samuel SMW, García-Esparza MA, et al. Boron Nitride Nanotubes as Filler for Resin-Based Dental Sealants. *Sci Rep.* 2019 May 22;9(1):7710.

176. Degrazia FW, Leitune VCB, Visioli F, Samuel SMW, Collares FM. Long-term stability of dental adhesive incorporated by boron nitride nanotubes. *Dental Materials*. 2018 Mar;34(3):427–33.
177. Ciofani G, Raffa V, Menciassi A, Cuschieri A. Cytocompatibility, interactions, and uptake of polyethyleneimine-coated boron nitride nanotubes by living cells: Confirmation of their potential for biomedical applications. *Biotechnol Bioeng*. 2008 Nov 23;101(4):850–8.
178. Raval A, S. Yadav N, Narwani S, Somkuwar K, Verma V, Almubarak H, et al. Antibacterial Efficacy and Surface Characteristics of Boron Nitride Coated Dental Implant: An In-Vitro Study. *J Funct Biomater*. 2023 Apr 6;14(4):201.
179. Tarpey MM, Fridovich I. Methods of Detection of Vascular Reactive Species. *Circ Res*. 2001 Aug 3;89(3):224–36.
180. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005 Dec;38(12):1103–11.
181. Aycicek A, Varma M, Ahmet K, Abdurrahim K, Erel O. Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr*. 2011 May 28;170(5):645–51.
182. Tokur O, Aksoy A. In Vitro Sitotoksosite Testleri. *Harran Üniversitesi Vet Fak Derg*. 2017;6(1):112–8.
183. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983 Dec;65(1–2):55–63.
184. Riss TL, Moravec RA. Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. In “Cell Biology.” Celis JE, editor. Burlington.: Elseiver Academic Press; 2006.
185. Bozkurt SB, Hakki SS, Nielsen FH. Boric acid alleviates periodontal inflammation induced by IL-1 β in human gingival fibroblasts. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2024 Jul 1;84.
186. Özkaya AB. Hct-116 kolon kanser hücre hattında yeşil çay etken maddesi olan (-)-epigallokatekin-3 gallat'ın apoptoz üzerine etkisinin incelenmesi. [İzmir]: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2009.
187. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, et al. Cell Viability Assays. 2004.
188. PAGE RC, OFFENBACHER S, SCHROEDER HE, SEYMOUR GJ, KORNMAN KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997 Jun 23;14(1):216–48.
189. Teles RP, Teles FRF. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res*. 2009 Jun;23(suppl 1):39–48.
190. Berchier CE, Slot DE, Van der Weijden GA. The efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthrinse compared with 0.2% on plaque accumulation and periodontal parameters: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2010 Sep 7;37(9):829–39.

191. Mamajiwala A, Sethi KS, Mahale SA, Raut CP, Karde PA, Kale AM. Comparative Evaluation of Boric Acid Gel versus Chlorhexidine Gel in the Treatment of Chronic Periodontitis. *Contemp Clin Dent*. 2019;10(3):457–64.
192. Steinberg D, Friedman M, Soskolne A, Sela MN. A New Degradable Controlled Release Device for Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Study. *J Periodontol*. 1990 Jul;61(7):393–8.
193. Matesanz-Pérez P, García-Gargallo M, Figuero E, Bascones-Martínez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2013 Mar 16;40(3):227–41.
194. Chow AW, Marshall JR, Guze LB. A Double-Blind Comparison of Clindamycin with Penicillin plus Chloramphenicol in Treatment of Septic Abortion. *Journal of Infectious Diseases*. 1977 Mar 1;135(Supplement):S35–9.
195. Jousimies-Somer H, Asikainen S, Suomala P, Summanen P. Activity of metronidazole and its hydroxy metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol*. 1988 Mar 18;3(1):32–4.
196. Lacroix J, Mayrand D. The effect of subminimal inhibitory concentrations of antimicrobial agents on three bacterial mixtures. *Oral Microbiol Immunol*. 1989 Jun 18;4(2):82–8.
197. Hakki SS, Nielsen FH. Anti-inflammatory and antimicrobial potentials of boron in medicine and dentistry. In: Korkmaz M, editor. *Boron and Human Health*. Nobel publishing; 2020. p. 67–82.
198. Benderdour M, Hess K, Dzondo-Gadet M, Nabet P, Belleville F, Dousset B. Boron Modulates Extracellular Matrix and TNF α Synthesis in Human Fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 May;246(3):746–51.
199. Bozkurt SB, Nielsen FH, Hakki SS. Boric Acid Reverses Nicotine-Induced Cytokine Expressions of Human Gingival Fibroblasts. *Biol Trace Elem Res*. 2023 Mar 1;201(3):1174–80.
200. Arenal R, Lopez-Bezanilla A. Boron nitride materials: an overview from <sc>0D</sc> to <sc>3D</sc> (nano)structures. *WIREs Computational Molecular Science*. 2015 Jul 30;5(4):299–309.
201. Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol*. 1973 Jul;18(7):899–923.
202. Zhu W, Liang M. Periodontal Ligament Stem Cells: Current Status, Concerns, and Future Prospects. *Stem Cells Int*. 2015;2015:1–11.
203. Rasel MdAl, Li T, Nguyen TD, Singh S, Zhou Y, Xiao Y, et al. Biophysical response of living cells to boron nitride nanoparticles: uptake mechanism and bio-mechanical characterization. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015 Nov 13;17(11):441.
204. Taskin IC, Sen O, Emanet M, Culha M, Yilmaz B. Hexagonal boron nitrides reduce the oxidative stress on cells. *Nanotechnology*. 2020 May 22;31(21):215101.

205. K c kdoğru R, T rkez H, Arslan ME, Tozlu   , S nmez E, Mardinoğlu A, et al. Neuroprotective effects of boron nitride nanoparticles in the experimental Parkinson's disease model against MPP+ induced apoptosis. *Metab Brain Dis.* 2020 Aug 25;35(6):947–57.



8. EKLER

EK 1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sizin BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmanızı arzu ediyoruz. Bu çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı "İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Hidrojen Peroksit İle Oluşturulan Oksidatif Streste Hezagonal Bor Nitrür Uygulamasının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Araştırılması"dır.

Bu araştırmanın amacı, insan diş eti hastalıklarında hezagonal bor nitrürün (küçük tanecik boyutlu bor) tedavi edici etkisini araştırmak ve böylelikle diş hekimliği camiasına katkıda bulunmaktır. Bu amaçla bu çalışmada, hezagonal bor nitrürün insan gingival fibroblast hücreleri (diş etinde bulunan hücreler) üzerindeki etkisi laboratuvar ortamında incelenecektir. Bu araştırma için, halihazırda sizin periodontal tedavi planlamanız içinde yer alan, diş kuron boyunu uzatmak için yapılacak gingivektomi (diş etinin kesilerek uzaklaştırılması) işlemi esnasında alınan diş eti dokuları laboratuvar ortamında hücre çoğaltılması için kullanılacaktır. Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 15-30dakika (gingivektomi işlemi süresi kadar) olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 2 (iki)'dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak, gingivektomi işlemi sonrası hekiminizin önereceği yara bakımı ve ağız hijyeni talimatlarına uymak sizin sorumluluklarımızdır.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk bulunmamakla beraber, yapılacak gingivektomi işlemine bağlı olarak işlemin ilk günlerinde olabilecek küçük kanamalar ve az da olsa dişlerde oluşabilecek sıcak-soğuk hassasiyeti gibi riskler ve rahatsızlıklar söz konusu olabilir. Bunun yanında gingivektomi işlemi sonucunda sizin için beklenen yararlar, diş etlerinizin daha doğal bir görünüme sahip olup kolay temizlenebilirliğinin sağlanmasıdır.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAİBÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinizi ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmanın yürütücüsü Dr. Öğr. Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN ve araştırmacısı Arş. Gör. Işıl YALÇIN BİLKE'dir. Çalışmaya dahil olan bireylerin çalışma ile ilgili soruları en kısa sürede yanıtlanacaktır. Sorular doğrudan araştırma yürütücüsüne de sorulabilir. Bu konuda gerekirse 0374 254 1000-6806 numaralı telefonu ve bilgeneraci@ibu.edu.tr e-mail adresini kullanabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermeme için bana yeterli zaman tanıdı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün, Adı-Soyadı: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:	Açıklamaları yapan araştırmacının, Adı-Soyadı: Görevi: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:
Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin, Adı-Soyadı: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:	Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının, Adı-Soyadı: Görevi: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:

EK 2: Bilgilendirilmiş Olur Formu Kontrol Listesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU KONTROL LİSTESİ			
	Var	Yok	Eksik
Araştırmayla ilgili bilgiler:			
- Gönüllünün katıldığı çalışmanın bir araştırma olduğu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmanın amacı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmadaki tedaviler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırma sırasında uygulanacak olan ve invaziv işlemleri de içeren yöntemler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmanın deneysel kısımları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırma hakkında ek bilgi alınabilecek kişiler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gönüllü ile ilgili bilgiler:			
- Gönüllünün sorumlulukları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllü için söz konusu olabilecek riskler ve rahatsızlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllü için beklenen yararlar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Uygulanabilecek alternatif işlemlerin de bulunduğu, bunların olası yararları ve riskleri, ancak şimdilik uygulanmayacağı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bunun nasıl tazmin edileceği (Bakanlıktan izin alınması zorunlu araştırmalar için), tedavinin nasıl yapılacağı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllüler için araştırmada yer almaları nedeniyle, öngörülüyorsa, yapılacak ödeme ve/veya karşılanacak masraflar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllünün araştırmada yer almasının isteğine bağlı olduğu, herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilme hakkına sahip olduğu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllü tıbbi ve kimlik bilgilerinin gizli olduğu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırma sırasında gönüllüyü ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bunun gönüllüye veya yasal temsilcisine derhal bildirileceği	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmaya bağlı bir zarar olduğunda başvurulacak kişiler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllünün isteği dışında araştırmacı tarafından araştırmadan çıkarılabileceği ve bu durumların neler olduğu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllünün araştırmada yer alması öngörülen süre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Çalışmaya katılma onayı:			
- Gönüllünün metni okuduğunu, kendisine yazılı ve sözlü açıklama yapıldığını, araştırmaya kendi isteği ile hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katıldığını gösteren beyan	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Gönüllünün veya yasal temsilcisinin adı-soyadı, imzası, adresi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Açıklamaları yapan araştırmacının adı-soyadı, imzası, görevi, adresi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının adı-soyadı, imzası, görevi, adresi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p style="text-align: center;">Yürütücülüğünü yaptığım “ İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinde Hidrojen Peroksit İle Oluşturulan Oksidatif Streste Hekzagonal Bor Nitrid Uygulamasının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Araştırılması ” başlıklı araştırmaya ait Bilgilendirilmiş Olur Formu’nu, yukarıda bulunan ve bir Bilgilendirilmiş Olur Formu’nda olması gerekli asgari bilgiler doğrultusunda hazırladım</p>			
Araştırma Yürütücüsü	İmza	Tarih	
Dr. Öğr. Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN			