

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİSTE SPİRULİNA  
(*ARTHROSPİRA PLATENSİS*) EKSTRAKTININ ANTİİNFLAMATUAR  
VE KORUYUCU AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

KAAN YILDIZ

UZMANLIK TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR. ZEYNEP TAŞTAN EROĞLU

KONYA 2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİSTE SPİRULİNA  
(*ARTHROSPİRA PLATENSİS*) EKSTRAKTININ  
ANTIİNFLAMATUAR VE KORUYUCU AKTİVİTESİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

KAAN YILDIZ

UZMANLIK TEZİ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. ZEYNEP TAŞTAN EROĞLU

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinatörlüğü tarafından 24DU24009 nolu proje ile desteklenmiştir.

KONYA 2025

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Görevlisi **Kaan YILDIZ**'ın “**Ratlarda Deneysel Periodontitiste *Spirulina (Arthrospira Platensis)* Ekstraktının Anti-inflamatuvar ve Koruyucu Aktivitesinin Araştırılması**” başlıklı tezi tarafımdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Diş Hekimliği’nde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA / 2025

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Zeynep TAŞTAN EROĞLU

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Fatma UÇAN YARKAÇ

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Dilek ÖZKAN ŞEN

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı tarafından 11/07/2025 tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Rıza TUNÇDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

## **BEYANAT**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Kaan YILDIZ



## BENZERLİK RAPORU

### RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİSTE SİRULİNA (ARTHROSPİRA PLATENSİS) EKSTRAKTININ ANTİİNFLAMATUAR VE KORUYUCU AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

#### ORJİNALLİK RAPORU

|                   |                     |            |                  |
|-------------------|---------------------|------------|------------------|
| % <b>11</b>       | % <b>7</b>          | % <b>8</b> | % <b>3</b>       |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR   | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                              |             |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>1</b> | <a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                           | % <b>2</b>  |
| <b>2</b> | Gemrekoglu, Nadin. "Başlangıç Periyodontal Tedavilerin Klinik ve Biyokimyasal Parametrelere Etkisi ve Değerlendirilmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023<br>Yayın                                                                                                       | % <b>1</b>  |
| <b>3</b> | <a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                           | <% <b>1</b> |
| <b>4</b> | Submitted to Eskisehir Osmangazi University<br>Öğrenci Ödevi                                                                                                                                                                                                                 | <% <b>1</b> |
| <b>5</b> | Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)<br>Öğrenci Ödevi                                                                                                                                                                            | <% <b>1</b> |
| <b>6</b> | Şimşek, Muhammet Kürşat. "L-NAME (N-Nitro-L-Arginin Metil Ester Hidroklorid) Uygulaması Ardından Endotelial Disfonksiyon Modeli Oluşturulan Sıçanlarda, Endotel Disfonksiyonunun Ultrasonografik Olarak Değerlendirilmesi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024<br>Yayın | <% <b>1</b> |
| <b>7</b> | Kundak, Kübra. "Cerrahisiz Periodontal Tedavinin Tükürük Melatonin, Malondialdehit,                                                                                                                                                                                          | <% <b>1</b> |

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana rehberlik eden, her aşamada sabırla destek olan değerli danışmanım Doç. Dr. Zeynep TAŞTAN EROĞLU'na,

Akademik gelişimime katkı sağlayan, bilgi ve önerileriyle yol gösterici olan kıymetli hocalarım Doç. Dr. Fatma UÇAN YARKAÇ, Doç. Dr. Üyesi Dilek ÖZKAN ŞEN ve Dr. Öğr. Üyesi Osman BABAYİĞİT'e,

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Fahriye KILINÇ ve Doç. Dr. Canan EROĞLU GÜNEŞ'e,

Bu süreçte özveriyle çalışarak destekleriyle yanımda olan KONÜDAM'ın değerli personellerine,

Bu zorlu tez ve uzmanlık eğitimim sürecinde sadece birer çalışma arkadaşı değil, aynı zamanda en büyük destekçilerim olan kıymetli dostlarım Muhammed Emin KALENDER ve Ömer ÖĞÜTCEN'e,

Hayatım boyunca yanımda olan, sevgisiyle her zaman güç bulduğum canım annem Emel YILDIZ'a,

Emekleriyle bana daima örnek olan, sabrı ve desteğiyle yolumu aydınlatan kıymetli babam Ali Osman YILDIZ'a

Her zaman yanımda hissettiğim, desteğini ve kardeşlik bağımızı hiç eksik etmeyen değerli kardeşim Doğukan YILDIZ'a,

Hayatımın her anında olduğu gibi, bu zorlu tez sürecinde de sabrı, sevgisi ve anlayışıyla yanımda olan sessizce ama en güçlü şekilde yanımda durarak bu süreci birlikte göğüslediğimiz sevgili eşim Büşra Refika YILDIZ'a

*sonsuz teşekkürlerimle...*

## İÇİNDEKİLER

|                                                         |      |
|---------------------------------------------------------|------|
| TEZ ONAY SAYFASI.....                                   | ii   |
| BEYANAT .....                                           | iii  |
| BENZERLİK RAPORU .....                                  | iv   |
| TEŞEKKÜR .....                                          | v    |
| İÇİNDEKİLER .....                                       | vi   |
| KISALTMALAR VE SİMGELER .....                           | viii |
| GRAFİKLER LİSTESİ.....                                  | x    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                                   | xi   |
| TABLolar LİSTESİ.....                                   | xii  |
| ÖZET.....                                               | xiii |
| ABSTRACT .....                                          | xiv  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                  | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                  | 4    |
| 2.1. Periodontal Hastalıklar.....                       | 4    |
| 2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması..... | 4    |
| 2.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi .....            | 12   |
| 2.1.3. Periodontal Doku Yıkımı .....                    | 15   |
| 2.2. Periodontal Hastalıklarda Sitokinlerin Rolü .....  | 17   |
| 2.2.1. İnterlökin-1 $\beta$ .....                       | 18   |
| 2.2.2. İnterlökin-4.....                                | 20   |
| 2.2.3. İnterlökin-6.....                                | 21   |
| 2.2.4. İnterlökin-10.....                               | 22   |
| 2.2.4. İnterlökin-17.....                               | 23   |
| 2.2.5. TNF- $\alpha$ .....                              | 24   |
| 2.3. Araşidonik Asit Metabolitleri .....                | 25   |
| 2.3.1. Siklooksijenaz Yolu .....                        | 27   |
| 2.4. VEGF-A .....                                       | 30   |
| 2.4. RUNX-2 .....                                       | 31   |
| 2.5. PGE <sub>2</sub> , VEGF ve RUNX-2 İlişkisi .....   | 32   |
| 2.6. Spirulina ( <i>Arthrospira</i> ).....              | 32   |
| 2.7. Amaç ve Hipotez.....                               | 34   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                 | 35   |
| 3.1. Deney hayvanları ve Barınma Koşulları .....        | 35   |

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.Çalışma Grupları .....                                              | 36        |
| Şekil 3.2. Deney akış şeması.....                                       | 37        |
| 3.3. Deneysel Periodontitis Oluşturulması.....                          | 37        |
| 3.4. Spirulina Ekstraktının Oral Gavaj Yoluyla Uygulanması.....         | 38        |
| 3.5. Ratların Sakrifikasyonu, Doku ve Serum Örneklerinin Alınması ..... | 39        |
| 3.5.1. ELISA Analizinde Uygulanan Prosedür .....                        | 41        |
| 3.6. Histopatolojik Değerlendirme .....                                 | 42        |
| 3.7. Histomorfometrik Değerlendirme .....                               | 43        |
| 3.8. İstatistiksel Analiz.....                                          | 46        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                | <b>47</b> |
| 4.1. Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi .....        | 47        |
| 4.2. Histolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi .....                  | 55        |
| 4.2.1. Histopatolojik Değerlendirme .....                               | 55        |
| 4.2.2. Histomorfometrik Değerlendirme .....                             | 57        |
| 4.3. Verilerin Korelasyonu .....                                        | 59        |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                | <b>62</b> |
| <b>6. SONUÇLAR .....</b>                                                | <b>78</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR .....</b>                                               | <b>80</b> |
| <b>8. EKLER.....</b>                                                    | <b>99</b> |

## KISALTMALAR VE SİMGELER

|                |                                         |
|----------------|-----------------------------------------|
| $\alpha$       | : Alfa                                  |
| AA             | : Araşidonik Asit                       |
| AKK            | : Alveolar Kemik Kaybı                  |
| $\beta$        | : Beta                                  |
| °C             | : Celsius                               |
| COX            | : Siklooksijenaz                        |
| DOS            | : Dişeti Oluğu Sıvısı                   |
| ELISA          | : Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz |
| HbA1c          | : Hemogloblin A1c                       |
| HIF-1 $\alpha$ | : Hipoksiye Duyarlı Faktör $\alpha$     |
| IFN- $\gamma$  | : İnterferon- $\gamma$                  |
| IL-1 $\beta$   | : İnterlökin-1 Beta                     |
| IL-2           | : İnterlökin-2                          |
| IL-4           | : İnterlökin-4                          |
| IL-6           | : İnterlökin-6                          |
| IL-8           | : İnterlökin-8                          |
| IL-10          | : İnterlökin-10                         |
| IL-17          | : İnterlökin-17                         |
| IL-23          | : İnterlökin-23                         |
| K              | : Kontrol Grubu                         |
| KAK            | : Klinik Ataşman Kaybı                  |
| kDa            | : Kilodalton                            |
| kg             | : Kilogram                              |
| LOX            | : Lipoksijenaz                          |
| LPS            | : Lipopolisakkarit                      |
| LT             | : Lökotrienler                          |
| LX             | : Lipoksinler                           |
| M-CSF          | : Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör        |
| Mg             | : Miligram                              |
| MMP            | : Matriks Metalloproteinaz              |
| mRNA           | : Haberci RNA                           |
| MSS            | : Mine-Sement Sınırı                    |

|               |                                                         |
|---------------|---------------------------------------------------------|
| <b>NF-kB</b>  | : Nükleer Faktör Kappa-B                                |
| <b>NK</b>     | : Doğal Öldürücü                                        |
| <b>OPG</b>    | : Osteoprotegerin                                       |
| <b>P</b>      | : Deneysel Periodontitis Grubu                          |
| <b>PDL</b>    | : Periodontal Ligament                                  |
| <b>PF</b>     | : Profilaksi Grubu                                      |
| <b>PG</b>     | : Prostaglandin                                         |
| <b>PMNL</b>   | : Polimorfonükleer Lökositler                           |
| <b>SD</b>     | : Sondalama Derinliği                                   |
| <b>SE</b>     | : Spirulina Ekstraktının                                |
| <b>SK</b>     | : Sondalamada Kanama                                    |
| <b>RANK</b>   | : Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatörü            |
| <b>RANKL</b>  | : Nükleer Faktör Kappa-B Ligandının Reseptör Aktivatörü |
| <b>RKK</b>    | : Radyografik Kemik Kaybı                               |
| <b>ROT</b>    | : Reaktif Oksijen Türleri                               |
| <b>RUNX-2</b> | : Runt İlişkili Transkripsiyon Faktörü 2                |
| <b>T</b>      | : Tedavi Grubu                                          |
| <b>TGF-β</b>  | : Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta                       |
| <b>Th1</b>    | : Yardımcı T Hücresi 1                                  |
| <b>Th2</b>    | : Yardımcı T Hücresi 2                                  |
| <b>Th17</b>   | : Yardımcı T Hücresi 17                                 |
| <b>TLR</b>    | : Toll-Benzeri Reseptörler                              |
| <b>TNF-α</b>  | : Tümör Nekrotizan Faktör Alfa                          |
| <b>Treg</b>   | : Düzenleyici T Hücreleri                               |
| <b>μL</b>     | : Mikrolitre                                            |
| <b>VEGF</b>   | : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü                    |
| <b>γ</b>      | : Gama                                                  |

## GRAFİKLER LİSTESİ

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Grafik 4.1.</b> Deney gruplarındaki IL-1 $\beta$ sonuçları .....                                | 48 |
| <b>Grafik 4.2.</b> Deney gruplarındaki IL-1 $\beta$ sonuçları .....                                | 49 |
| <b>Grafik 4.3.</b> Deney gruplarındaki IL-6 sonuçları .....                                        | 49 |
| <b>Grafik 4.4.</b> Deney gruplarındaki IL-10 sonuçları .....                                       | 50 |
| <b>Grafik 4.5.</b> Deney gruplarındaki IL-17 sonuçları .....                                       | 51 |
| <b>Grafik 4.6.</b> Deney gruplarındaki COX-2 sonuçları.....                                        | 52 |
| <b>Grafik 4.7.</b> Deney gruplarındaki VEGF-A sonuçları .....                                      | 53 |
| <b>Grafik 4.8.</b> Deney gruplarındaki RUNX-2 sonuçları .....                                      | 53 |
| <b>Grafik 4.9.</b> Deney gruplarındaki TNF- $\alpha$ sonuçları.....                                | 54 |
| <b>Grafik 4.10.</b> Deney gruplarındaki PGE <sub>2</sub> sonuçları.....                            | 54 |
| <b>Grafik 4.11.</b> Deney gruplarındaki inflamatuvar skorlar.....                                  | 56 |
| <b>Grafik 4.12.</b> Deney gruplarındaki osteoblast sayıları .....                                  | 56 |
| <b>Grafik 4.13.</b> Deney gruplarındaki osteoklast sayıları .....                                  | 57 |
| <b>Grafik 4.14.</b> Deney gruplarının mezial bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları .....   | 58 |
| <b>Grafik 4.15.</b> Deney gruplarının furkasyon bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları..... | 58 |
| <b>Grafik 4.16.</b> Deney gruplarının distal bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları .....   | 59 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Periodontitiste doku yıkımında hücreler ve sitokinler.....                    | 17 |
| Şekil 2.2. AA metabolizması .....                                                        | 27 |
| Şekil 2.3. PGE <sub>2</sub> -VEGF-RUNX-2 ilişkisi .....                                  | 32 |
| Şekil 3.1. Ratların bakım ortamı .....                                                   | 36 |
| Şekil 3.2. Deney akış şeması .....                                                       | 37 |
| Şekil 3.3. Maksiller 2. Molar dişe 4/0 ipek sütür uygulaması .....                       | 38 |
| Şekil 3.4. Rat'ı sabit tutmak için kullanılan aparat.....                                | 38 |
| Şekil 3.5. SE'nin oral gavaj yoluyla uygulanması.....                                    | 39 |
| Şekil 3.6. Kardiyak ponksiyonla kan örneklerin alınması .....                            | 40 |
| Şekil 3.7. Sakrifikasyon sonrası sol maksillanın çıkarılması.....                        | 40 |
| Şekil 3.8. ELISA örnekleri.....                                                          | 42 |
| Şekil 3.9. AKK için belirlenen bölgelerin görüntüsü .....                                | 44 |
| Şekil 3.10. Gruplara ait diş, diş eti, alveolar kemik alanlarını içeren görüntüler ..... | 44 |
| Şekil 3.11. Grupların daha büyük büyütmedeki görüntüsü .....                             | 45 |
| Şekil 3.12. İmaj analiz programı.....                                                    | 45 |

## TABLÖLER LİSTESİ

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> Periodontal hastalıklar 2017 sınıflandırması .....                                                              | 6  |
| <b>Tablo 2.2.</b> Periodontitisin Evrelendirilmesi (Stage) .....                                                                  | 10 |
| <b>Tablo 2.3.</b> Periodontitisin Derecelendirilmesi (Grade).....                                                                 | 12 |
| <b>Tablo 4.1.</b> Deney gruplarının IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL10 ve IL-17 değerlerinin karşılaştırılması .....                 | 47 |
| <b>Tablo 4.2.</b> Deney gruplarının COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$ ve PGE <sub>2</sub> değerlerinin karşılaştırılması ..... | 51 |
| <b>Tablo 4.3.</b> Deney gruplarının inflamatuvar skorlarının, osteoblast ve osteoklast sayılarının karşılaştırılması .....        | 55 |
| <b>Tablo 4.4.</b> Çalışma gruplarının histomorfometrik değerlerinin karşılaştırılması .....                                       | 57 |
| <b>Tablo 4.5.</b> Gruplar arasındaki değişkenler .....                                                                            | 60 |

**ÖZET**  
**RATLARDA DENEYSEL PERİODONTİTİSTE SİRULİNA (*ARTHROSPİRA***  
***PLATENSİS*) EKSTRAKTININ ANTİİNFLAMATUAR VE KORUYUCU**  
**AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Kaan YILDIZ**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**UZMANLIK TEZİ / KONYA-2025**

**Giriş:** Spirulina, tatlı su ve deniz ortamlarında yaşayan mikroskobik tek hücreli bir algdır. Besin değerinin yüksek olmasıyla tıbbi olarak birçok alanda kullanılabilir. Spirulina antioksidatif, antihiperlipidemik, antinörotoksik, antiülser, anti-inflamatuvar ve immünomodülatör etkiler gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu çalışmanın amacı ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde spirulina ekstraktının (SE) koruyucu etkilerini ve inflamatuvar parametreler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesidir.

**Yöntem:** Çalışmamızda; 32 adet wistar albino rat, 4 deney grubuna ayrıldı; Grup 1: kontrol grubu (K) (n:8), grup 2: deneysel periodontitis grubu (P) (n:8), grup 3: periodontitis oluşturulan ve profilaktik etki için oral gavaj yoluyla 400 mg/kg SE verilen profilaksi grubu (PF) (n:8), grup 4: deneysel periodontitis oluşturulan ve oral gavaj yoluyla 400 mg/kg SE verilen tedavi grubu (T) (n:8). Gruplarda deneysel periodontitis, maksiller ikinci molar dişlerin etrafına ligasyon yoluyla 4/0 ipek sütürler bağlanarak oluşturuldu. PF grubuna ligasyon yapılan günden itibaren 2 hafta boyunca distile suda çözündürülen SE oral gavaj yoluyla verildi. T grubuna deneysel periodontitis oluşturulmasından itibaren 2 hafta boyunca distile suda çözündürülen SE oral gavaj yoluyla verildi. 4. Haftanın sonunda tüm ratlara ötenazi işlemi uygulandı. Ötenazi öncesi alınan serum örneklerindeki interlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-4 (IL-4), interlökin-10 (IL-10), interlökin-17 (IL-17), siklooksijenaz-2 (COX-2), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF A) ve runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (RUNX-2) seviyeleri Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz (ELISA) yöntemiyle analiz edildi. Alveol kemik kaybı, görüntü analiz yöntemiyle histomorfometrik olarak incelendi. Osteoblast, osteoklast ve inflamatuvar hücreler sayılarak kantitatif olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Bu çalışmada, deney gruplarına ait histopatolojik, histomorfometrik ve biyokimyasal veriler değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede, gruplar arasında inflamatuvar skor, osteoblast ve osteoklast sayıları bakımından anlamlı farklılık gözlemlendi ( $p<0,001$ ). P grubunda inflamatuvar skor anlamlı düzeyde artarken ( $2,0 \pm 0,76$ ), osteoblast sayısı azaldı ( $31,75 \pm 2,76$ ) ve osteoklast sayısı ise arttı ( $14,75 \pm 2,12$ ) ( $p<0,05$ ). PF ve T gruplarında inflamatuvar skor, osteoblast ve osteoklast sayıları ile biyokimyasal parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Histomorfometrik analiz sonuçlarına göre alveolar kemik kaybı tüm bölgelerde (mezial, furkasyon, distal) P grubunda en yüksek düzeyde belirlendi (sırasıyla  $598,9 \pm 78,44 \mu\text{m}$ ,  $545,33 \pm 88,62 \mu\text{m}$ ,  $665,41 \pm 88,86 \mu\text{m}$ ). PF ve T gruplarında ise anlamlı azalma tespit edildi ( $p<0,001$ ). Korelasyon analizinde IL-1 $\beta$  ile IL-6, IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> arasında; COX-2 ile VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> arasında pozitif yönde anlamlı ilişkiler belirlendi ( $p<0,05$ ).

**Sonuçlar:** Bu çalışmada, 400 mg/kg dozunda sistemik SE uygulamasının, deneysel periodontitis modelinde inflamasyonu baskılayıcı ve alveolar kemik kaybını azaltıcı etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Biyokimyasal analizlerde IL-1 $\beta$ , COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar parametrelerde anlamlı düzeyde azalma gözlenirken, histopatolojik ve histomorfometrik bulgular bu etkiyi desteklemiştir. SE'nin hem tedavi edici hem de profilaktik olarak periodontal doku yıkımını sınırlandırdığı saptanmıştır. Bu bağlamda, SE'nin periodontal hastalıkların önlenmesi ve yönetiminde potansiyel bir adjuvan ajan olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** anti-inflamatuvar, COX-2, periodontitis, PGE<sub>2</sub>, spirulina, VEGF-A

**ABSTRACT**  
**INVESTIGATION OF ANTI-INFLAMMATORY AND PROTECTIVE**  
**ACTIVITY OF SPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) EXTRACT IN**  
**EXPERIMENTAL PERIODONTITIS IN RATS**

**Kaan YILDIZ**

**PERIODONTOLOGY DEPARTMENT**

**SPECIALIZATION THESIS / KONYA-2025**

**Introduction:** Spirulina is a microscopic, unicellular alga that thrives in both freshwater and marine environments. Due to its high nutritional value, it has been utilized in various medical fields. Spirulina exhibits numerous biological activities, including antioxidative, antihyperlipidemic, antineurotoxic, antiulcer, anti-inflammatory, and immunomodulatory effects. The aim of this study was to evaluate the protective effects of Spirulina extract (SE) and its impact on inflammatory parameters in a rat model of experimental periodontitis.

**Materials and Methods:** In this study, 32 Wistar albino rats were randomly assigned into four experimental groups: Group 1: control group (C) (n=8); Group 2: experimental periodontitis group (P) (n=8); Group 3: prophylaxis group (PF), in which periodontitis was induced and 400 mg/kg SE was administered via oral gavage to assess its prophylactic effect (n=8); and Group 4: treatment group (T), in which periodontitis was induced and 400 mg/kg SE was administered via oral gavage (n=8). Experimental periodontitis was induced by placing 4/0 silk ligatures around the maxillary second molars. In the PF group, SE dissolved in distilled water was administered orally for 2 weeks starting on the day of ligature placement. In the T group, SE was administered for 2 weeks following the induction of periodontitis. At the end of the fourth week, all rats were sacrificed. Prior to euthanasia, blood samples were collected for biochemical analysis. Serum levels of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), interleukin-17 (IL-17), cyclooxygenase-2 (COX-2), prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>), vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), and runt-related transcription factor 2 (RUNX-2) were measured using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Alveolar bone loss was evaluated histomorphometrically using image analysis. Osteoblasts, osteoclasts, and inflammatory cells were quantitatively assessed.

**Results:** In this study, histopathological, histomorphometric, and biochemical data of the experimental groups were evaluated. Histopathological analysis revealed statistically significant differences among groups in terms of inflammatory score, osteoblast count, and osteoclast count (p<0.001). In the P group, the inflammatory score was significantly increased ( $2.0 \pm 0.76$ ), the osteoblast count was decreased ( $31.75 \pm 2.76$ ), and the osteoclast count was increased ( $14.75 \pm 2.12$ ) (p<0.05). In both the PF and T groups, statistically significant improvements were observed in inflammatory scores, osteoblast and osteoclast counts, and biochemical parameters (p<0.05). According to histomorphometric analysis, alveolar bone loss was highest in all regions (mesial, furcation, distal) in the P group ( $598.9 \pm 78.44$   $\mu$ m,  $545.33 \pm 88.62$   $\mu$ m,  $665.41 \pm 88.86$   $\mu$ m, respectively). Significant reductions were observed in the PF and T groups (p<0.001). Correlation analysis revealed significant positive correlations between IL-1 $\beta$  and IL-6, IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$ , and PGE<sub>2</sub>; as well as between COX-2 and VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$ , and PGE<sub>2</sub> (p<0.05).

**Conclusion:** This study demonstrated that systemic administration of SE at a dose of 400 mg/kg exerted anti-inflammatory and alveolar bone loss-reducing effects in an experimental periodontitis model. Biochemical analyses revealed significant decreases in pro-inflammatory markers such as IL-1 $\beta$ , COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A, and TNF- $\alpha$ , which were supported by histopathological and histomorphometric findings. It was concluded that SE limited periodontal tissue destruction both therapeutically and prophylactically. Therefore, SE may serve as a potential adjunctive agent in the prevention and management of periodontal diseases.

**Keywords:** anti-inflammatory, COX-2, periodontitis, PGE<sub>2</sub>, spirulina, VEGF-A

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodonsiyum, sement, periodontal ligament (PDL), alveol kemiği ve diş etinin diş komşu kısmını içeren destekleyici dokulardan oluşmaktadır (Nanci ve Bosshardt 2006). Bu kompleks yapı, damar ve sinir ağlarıyla çevrili dinamik bir mikroçevre oluşturur (Hassell 1993). Periodontal hastalıklar, bu dokuların mikrobiyal dental plak kaynaklı enfeksiyonlara verdiği inflamatuvar yanıt sonucu gelişmektedir. Genellikle geri döndürülebilir gingivitis ile başlayan bu süreç, tedavi edilmediği takdirde alveolar kemik kaybı (AKK) ve ataşman kaybıyla karakterize periodontitis tablosuna evrilmektedir (Mariotti 1999). Periodontitisin patogenezinde yalnızca mikrobiyal etkenler değil, konağın aşırı inflamatuvar yanıtı da önemli rol oynamaktadır (Kinane ve ark. 2017).

Bu bağlamda, periodontal hastalıkların sınıflandırılmasına yönelik sistemler geliştirilmiştir. 1999 yılında Armitage tarafından önerilen sınıflandırma, 2017 yılında güncellenmiş ve kronik-agresif ayrımı kaldırılarak evre (stage) ve derece (grade) temelli yeni bir sistem benimsenmiştir (Caton ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018). Buna göre hastalık, doku yıkımının şiddetine göre Evre I-IV, ilerleme hızına göre ise Derece A-C olarak sınıflandırılmaktadır. Bu yaklaşım, hastalığın bireysel özelliklerine göre daha etkili tedavi planlaması yapılmasına olanak sağlamaktadır (Tonetti ve ark. 2018).

Periodontitisin gelişiminde mikrobiyal dental plak esas etken olmakla birlikte, hastalığın ilerlemesinde konağın bağışıklık yanıtı belirleyici bir faktördür. Subgingival bölgede biriken gram negatif anaerob bakteriler, bağışıklık hücreleri tarafından tanınarak inflamatuvar kaskadı başlatır (Loesche 1976; Page ve Schroeder 1976). Bu süreçte interlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ), tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6), interlökin-17 (IL-17) ve prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) gibi sitokinlerin aşırı salınımı, osteoklast aktivitesini artırarak AKK'ye yol açar (Graves 2008; Hajishengallis 2014). Periodontitisin histolojik seyri başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyonlar şeklinde evrelendirilmiştir. Başlangıçta belirgin bir klinik bulgu yokken, ilerleyen evrelerde plazma hücre infiltrasyonu, kollajen yıkımı ve periodontal cep oluşumu dikkat çekmektedir (Lang ve Lindhe 2015).

Sitokinler, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde merkezi bir rol üstlenmektedir. Pro-inflamatuvar sitokinler (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-17) doku yıkımına neden olurken (André ve ark. 2009; Nistala ve Wedderburn 2009; Van Dyke

ve Van Winkelhoff 2013); interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-10 (IL-10) gibi anti-inflamatuvar sitokinler bu süreci baskılar (Garlet 2010; Van Dyke 2020). IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL17 ve PGE<sub>2</sub>, nükleer faktör kappa-B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) dengesini, osteoklastogenezi artıracak şekilde değiştirerek kemik rezorpsiyonunu tetiklemektedir (Axmann ve ark. 2009; Bartold ve ark. 2010; Braun ve Zwerina 2011). IL-10 bağışıklık yanıtlarını baskılayarak inflamasyonu sınırlandırır. Periodontal hastalıklarda sitokin profili, hastalığın şiddeti ve prognozuna dair önemli ipuçları sunmaktadır (Garlet 2010).

Periodontal inflamasyonda bir diğer önemli unsur ise araşidonik asit (AA) metabolizmasıdır. Hücrel membranlardan serbestleşen AA, siklooksijenaz (COX) yolu ile prostaglandinlere dönüşürler (Zhang ve ark. 2023). Bu süreçte özellikle COX-2 enzimi, PGE<sub>2</sub> üretimini tetikleyerek inflamasyonu derinleştirir (Holzhausen ve ark. 2005). PGE<sub>2</sub>; damar geçirgenliğini artırır, osteoklastik aktiviteyi destekler ve RANKL ekspresyonunu artırarak kemik rezorpsiyonunu teşvik eder. PGE<sub>2</sub>'nin lokal etkileri aynı zamanda periodontitisin biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Ren ve ark. 2023).

PGE<sub>2</sub>'nin yanı sıra, vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A) da periodontal patolojide önemli bir rol oynar. VEGF-A, anjiyogenez ve damar geçirgenliğini düzenleyen bir büyüme faktörüdür. Periodontal inflamasyon sırasında artan VEGF-A ekspresyonu, vasküler yeniden yapılanmayı uyarır ve dokulardaki inflamatuvar süreci destekler (Herbert ve Stainier 2011; Ferrara ve Adamis 2016). VEGF-A'nın üretimi; TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin yanı sıra PGE<sub>2</sub> ile de indüklenebilir (Butchibabu ve ark. 2014). Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (RUNX-2) ise osteoblast farklılaşmasında görev alan önemli bir transkripsiyon faktörüdür (Komori ve ark. 2018). Periodontitisli bireylerde hem VEGF-A hem de RUNX-2 ekspresyonunun arttığı bildirilmektedir (Afacan ve ark. 2019; Lin ve ark. 2019; Wang ve ark. 2024). PGE<sub>2</sub>'nin bu iki molekül üzerindeki düzenleyici etkisi, periodontitisin ilerleyişinde kilit bir ara mekanizma oluşturmaktadır (Pai ve ark. 2001; Manokawinchoke ve ark. 2014).

Bu bağlamda spirulina (*Arthrospira*), sahip olduğu antioksidan ve immünomodülatör özellikleri ile dikkat çekmektedir (Ravi ve ark. 2010). Yüksek protein içeriği ve zengin fitokimyasal bileşimi sayesinde spirulina, yalnızca bir besin takviyesi değil, aynı zamanda farmakolojik potansiyeli olan bir ajan olarak

değerlendirilmiştir (Ravi ve ark. 2010; Shabana ve ark. 2017). Spirulina'nın ana bileşenlerinden olan C-fikosiyenin, COX-2 enzimini inhibe ederek PGE<sub>2</sub> ve TNF- $\alpha$  gibi mediatörlerin üretimini baskılayabilir (Romay ve ark. 1998). Deneysel periodontitis modellerinde spirulina ekstraktı (SE) verilen gruplarda IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  düzeylerinde azalma; IL-4 ve OPG ekspresyonlarında ise artış tespit edilmiştir (Kang ve ark. 2021; Ngu ve ark. 2022). Klinik olarak spirulina jel uygulamasının ataşman kaybı, sondalama derinliği (SD) ve IL-6 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Elgendy ve ark. 2024). Tüm bu bulgular, spirulinanın periodontitisin önlenmesi ve tedavisinde potansiyel bir adjuvan ajan olabileceğini düşündürmektedir.

SE'nin anti-inflamatuvar etkinliği göz önüne alındığında bu çalışmada ratlar üzerinde oluşturulan deneysel periodontitis modelinde SE'nin anti-inflamatuvar, tedavi edici ve önleyici etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Periodontal Hastalıklar

Periodonsiyum, dişlerin etrafında bulunan ve dişleri destekleyen sement, PDL, alveol kemiği ve diş etinin dişe komşu kısmı olan dentogingival bileşkeden oluşan bir yapı kompleksidir (Nanci ve Bosshardt 2006). Bu dokular, vasküler, lenfatik ve sinirsel ağlarla zenginleştirilmiş dinamik bir mikro çevreye sahiptir (Hassell 1993). Periodonsiyumu etkileyen enfeksiyonlar “periodontal hastalıklar” olarak adlandırılır ve temel nedenlerinden biri diş yüzeyine yapışan mikrobiyal dental plaklardır (Offenbacher 1996). Periodontal hastalık süreci genellikle dişetiyle sınırlı olan gingivitisle başlar. Bu durum geri döndürülebilir nitelikte olup, dünya genelinde yetişkin nüfusun büyük bir kısmını etkileyebilmektedir (Albandar ve Rams 2002; Kinane ve ark. 2017). Ancak, tedavi edilmediğinde inflamasyon derin dokulara ilerleyerek AKK, periodontal cep oluşumu ve ataşman kaybı ile seyreden periodontitis tablosuna dönüşebilir (Mariotti 1999). Bu ilerleyici sürecin arkasında, *Porphyromonas Gingivalis*, *Tannerella Forsythia*, *Prevotella Intermedia*, *Treponema Denticola*, *Fusobacterium Nucleatum*, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* ve *Eikenella Corrodens* gibi gram negatif bakterilerin yanı sıra konak dokuların verdikleri aşırı inflamatuvar yanıtlar da etkili olmaktadır (Tanner ve ark. 1979; Haffajee ve Socransky 1994; Kinane 2001). Bu mikroorganizmaların toksinleri ve enzimatik ürünleri bağ dokusuna zarar vererek periodonsiyumun yıkımına katkı sağlar (Salvi ve Lang 2005).

Periodontal hastalıkların gelişiminde temel rol oynayan dental plak, normal oral mikrobiyota ile konak arasındaki dengeyi bozarak disbiyozise neden olur (Socransky ve Haffajee 2005; Kinane ve ark. 2017). Bu nedenle periodontal hastalıkların önlenmesinde en etkili yaklaşım; mikrobiyal plağın profesyonel olarak uzaklaştırılması ve bireyin düzenli ağız hijyenini sağlamasıdır (Apatzidou ve Kinane 2010).

#### 2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalığın tanınması ve tedavisine yönelik işlemler Antik Mısır ve Çin’e dayanmaktadır. 19. yüzyılda erken sınıflandırma girişimleri, gözlemlenebilir klinik özelliklere dayanıyordu. Kelimenin tam manasıyla “alveolden sızan irin” anlamına gelen “pyorrhea alveolaris” gibi terimler, enfekte kemik kavramını

yansıtmaktaydı ve uzun yıllar boyunca tedavi yaklaşımlarını etkiledi. 1940’larda, patolojik ilkeleri tanıtan Orban’ın sınıflandırma şemasıyla paradigmatal bir değişim yaşandı. Bu sistem periodontal hastalığı “iltihaplı”, “distrofik” ve “travmatik” olarak kategorilere ayırdı (Orban 1942).

1986 yılında Dünya Sağlık Örgütü epidemiyolojik araştırmalar için Toplum Periodontal Tedavi İhtiyaçları Endeksi’ni tanıttı. 1989 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi aracılığıyla düzenlenen Dünya Klinik Periodontoloji Çalıştayı, periodontal hastalıkları etiyolojilerine, klinik sunumlarına ve hastalık ilerlemesine göre kategorize eden yeni bir sınıflandırma sistemini tanıttı. Ana kategoriler şunlardır:

1. Erişkin Periodontitis
2. Erken Başlangıçlı Periodontitis
3. Sistemik Hastalıklarla İlişkili Periodontitis
4. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
5. Refrakter Periodontitis (Wiebe ve Putnins 2000).

1989 yılı sınıflandırmasındaki eksiklikleri ve tutarsızlıkları gidermek amacıyla 1999 yılında düzenlenen Uluslararası Periodontal Hastalıklar ve Durumlar Sınıflandırma Çalıştayı sonucunda yeni bir sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir. Başlıca kategoriler şunlardır:

1. Erişkin Periodontitis
2. Erken Başlangıçlı Periodontitis
3. Sistemik Hastalıklarla İlişkili Periodontitis
4. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
5. Periodonsiyum Apseleri
6. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
7. Gelişimsel veya Edinilmiş Deformiteler ve Durumlar (Armitage 1999).

1999 sınıflamasındaki eksikliklerin giderilmesi amacıyla, 2017 yılında güncellenmiş yeni bir sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir (Tablo 2.1.). Yeni sınıflamada periodontal sağlık ilk defa tanımlanmıştır. Agresif ve kronik periodontitis tanımları kaldırılarak periodontal hastalıkların evrelendirilmesiyle derecelendirilmesi

yapılmıştır. Periodontitis, nekrotizan periodontal hastalıklar ve sistemik hastalıkla ilişkili periodontitis olmak üzere sınıflandırılmıştır. Ayrıca peri-implant hastalıklar ve durumlar sınıflandırmaya eklenmiştir (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018).

**Tablo 2.1.** Periodontal hastalıklar 2017 sınıflandırması (Papapanou ve ark. 2018)

|                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Periodontal ve Gingival Sağlık</b>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bütünlüğü Bozulmamış Periodonsiyumda Sağlık</li> <li>• Azalmış Periodonsiyumda Sağlık <ul style="list-style-type: none"> <li>- Stabil Periodontitis Hastası</li> <li>- Periodontitis Olmayan Hasta</li> </ul> </li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Gingivitis (Dental Biyofilm Kaynaklı)</b>                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sadece Dental Biyofilm Kaynaklı</li> <li>• Sistemik ve Lokal Risk Faktörleriyle Modifiye Edilmiş</li> <li>• İlaça Bağlı Dişeti Büyümeleri</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Dental Biyofilm Kaynaklı Olmayan Gingival Hastalıklar ve Durumlar</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Genetik / Gelişimsel Bozukluklar</li> <li>• Spesifik Enfeksiyonlar</li> <li>• Enflamatuvar ve İmmünite Durumları</li> <li>• Reaktif Süreçler</li> <li>• Neoplazmlar</li> <li>• Endokrin, Beslenme ve Metabolik Bozukluklar</li> <li>• Travmatik Lezyonlar</li> <li>• Gingival Pigmentasyon</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Periodontitis</b>                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nekrotizan Periodontal Hastalıklar</li> <li>• Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olarak Periodontitis</li> <li>• Periodontitis</li> </ul> <p>Evreler:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Evre I: Başlangıç Periodontitis</li> <li>- Evre II: Orta Periodontitis</li> <li>- Evre III: Ek Diş Kaybı İhtimali</li> </ul> <p>Bulunan İlerlemiş Periodontitis</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Evre IV: Dentisyon Kaybı İhtimali</li> </ul> <p>Bulunan İlerlemiş Periodontitis</p> <p>Dereceler:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Derece A: Yavaş İlerleyen</li> <li>- Derece B: Orta Hızda İlerleyen</li> <li>- Derece C: Hızlı İlerleyen</li> </ul> |
| <b>Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar</b>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistemik Hastalık ve Durumların Periodontal Destek Dokulara Etkisi</li> <li>• Diğer Periodontal Durumlar <ul style="list-style-type: none"> <li>- Periodontal Apseler</li> <li>- Endodontik-Periodontal Lezyonlar</li> </ul> </li> <li>• Mukogingival Bozukluklar ve Durumlar</li> <li>• Travmatik Oklüzal Kuvvetler <ul style="list-style-type: none"> <li>- Primer Oklüzal Travma</li> <li>- Sekonder Oklüzal Travma</li> <li>- Ortodontik Kuvvetler</li> </ul> </li> <li>• Diş ve Protez Kaynaklı Faktörler</li> </ul>                                                                                                                                                        |

#### 2.1.1.1. Periodontal Sağlık, Gingival Hastalık ve Durumlar

##### 2.1.1.1.1. Periodontal Sağlık

Periodontal sağlık, bireyin çiğneme, konuşma gibi işlevlerini sorunsuz şekilde sürdürebildiği ve periodontal dokularda herhangi bir inflamatuvar hastalık bulgusunun bulunmadığı durum olarak tanımlanabilir. Klinik açıdan ise bu durum, diş eti iltihabı ya da daha ileri düzeyde bir doku yıkımıyla seyreden periodontitis gibi inflamatuvar süreçlerin bulunmaması anlamına gelir (Mariotti ve Hefti 2015).

Periodontal sağlığın değerlendirilmesi hem klinik muayene bulgularına hem de histolojik incelemelere dayanılarak yapılabilir. Histolojik incelemede periodontal olarak sağlıklı durumda az miktarda lenfosit ve fazla miktarda fibroblast görülür.

Ancak rutin klinik uygulamada histolojik inceleme mümkün olmadığından, periodontal sağlığın değerlendirilmesinde klinik kriterler esas alınır (Brex ve ark. 1987). Bu kriterler şunlardır: SD en fazla 3 mm olması, sondalamada kanamanın (SK) bulunmaması, klinik ataşman kaybının (KAK) olmaması, radyografik kemik kaybının (RKK) bulunmaması ve diş etinde kızarıklıkla ödemin olmamasıdır (Chapple ve ark. 2018; Lang ve Bartold 2018).

Sağlam periodonsiyumda klinik sağlık,  $SD \leq 3$  mm, SK bulunmaması, KAK ve RKK olmaması, diş etinde kızarıklık ve ödemin bulunmaması şeklinde tanımlanır. Azalmış periodonsiyumda klinik sağlık ise  $SD \leq 3$  mm, SK bulunmaması, kızarıklık ve ödemin bulunmaması kriterlerini karşılamakla birlikte KAK ve RKK mevcuttur. Bu durumda periodonsiyumda görülen doku kaybı, sıklıkla periodontitis tedavisi sonrası idame fazına alınmış hastalarda gözlenmekle birlikte, periodontitis dışı nedenlerle de gelişmiş olabilir (Chapple ve ark. 2018; Trombelli ve ark. 2018).

#### **2.1.1.1.2. Biyofilm Tarafından İndüklenen Gingivitis**

Plağa bağlı gingivitis, bakteriyel plağın dişeti marjinlerinin altında ve dişeti marjinlerinde birikmesinin neden olduğu gingival dokuların inflamatuvar bir cevabıdır (Löe ve ark. 1965; Listgarten 1988). Plağa bağlı gingivitisin yaygın görülen klinik belirtileri; hassasiyet, eritem, ödem, SK ve dişeti büyümesidir (Dye 2012; Tonetti ve ark. 2015). Seks steroid hormonları, ergenlik, menstrual siklus, gebelik ve oral kontraseptifler gibi faktörler gingival inflamatuvar yanıtı modifiye etmektedir (Koreeda ve ark. 2005; Figuero ve ark. 2013; Mariotti ve Mawhinney 2013).

#### **2.1.1.1.3. Biyofilm Tarafından İndüklenmeyen Gingival Hastalıklar**

Diş eti ve ağız içi dokularda, sistemik hastalıkların ya da tıbbi durumların bir yansıması olarak ortaya çıkabilen ve dental plakla ilişkili olmayan patolojik lezyonlar gözlemlenebilir. Bu lezyonlar doğrudan plak ile ilişkili olmasa bile plağın varlığı lezyonun seyrini etkilemektedir. Lezyonlar etiyolojisine göre sınıflandırılmıştır (Holmstrup ve ark. 2018).

#### **2.1.1.2. Periodontitis**

Periodontitis, kronik seyirli ve birçok unsurun tesiriyle meydana gelebilen inflamatuvar bir hastalıktır. Bu durum, PDL ve alveol kemiği kapsayan diş çevreleyen destek dokuların ilerleyici tahribatı olarak tanımlanır. Uygun profesyonel tedavi

yaklaşımları ile hastalık kontrol altına alınabilir ve stabil bir duruma getirilebilir (Kwon ve ark. 2021).

Periodontitis tanı kriteri birbirine komşu olmayan en az 2 dişte KAK ile birlikte dişlerdeki cebin  $SD \geq 3$  mm olmasıdır. Bu ataşman kaybı:

- Travma sebebiyle meydana gelen diş eti çekilmesi,
- Semente kadar ilerlemiş diş çürükleri,
- Üçüncü molar dişin pozisyonu veya ekstraksiyonuyla ilgili olarak, ikinci molar dişin distal yüzeyinde KAK görülmesi,
- Dişeti kenarından drene olan endodontik lezyon,
- Vertikal kök kırığının bulunması sebebiyle periodontitis dışında da görülebilir.

KAK'ın bu sebeplere dayanmadığı konusunda dikkatli olunmalıdır (Papapanou ve ark. 2018).

2017 sınıflamasıyla beraber kronik ve agresif periodontitis tanımları ortadan kalkmıştır. Periodontitis patofizyolojik özelliklerine göre üç gruba ayrılmıştır; periodontitis, sistemik hastalıkla ilişkili periodontitis ve nekrotizan periodontitis. Ayrıca bu yeni sınıflandırmada periodontitis için evrelendirme ve derecelendirme sistemi uygulanmıştır (Tonetti ve ark. 2018).

#### **2.1.1.2.1. Periodontitisin Evrelendirilmesi (Stage)**

Periodontitis, KAK, RKK, diş kaybı ve diğer klinik karmaşıklık kriterlerine göre evrelendirilen, ilerleyici bir periodontal hastalıktır. Gingivitisin ilerlemesiyle ortaya çıkan bu durum, tedavi edilmediğinde destek dokuların geri dönüşümsüz yıkımına ve diş kaybına neden olabilir. Evreleme, öncelikle KAK üzerine kurulu olsa bile RKK ve çeşitli kompleksite unsurları da değerlendirme sürecine dâhildir (Tonetti ve ark. 2018).

#### **Evre I – Başlangıç Düzeyinde Periodontitis**

Bu evre, hastalığın erken dönemini temsil eder. İnterdental bölgede 1-2 mm KAK gözlenir. Radyolojik olarak, kemik kaybı kök uzunluğunun %15'inden az olup genellikle koronal bölgede sınırlıdır.  $SD \leq 4$  mm'dir ve diş kaybı bulunmaz. Lezyonlar yüzeysel karakterdedir ve etkili ağız hijyeni ile birlikte profesyonel mekanik tedaviye iyi bir cevap vermektedir. Fakat erken dönemdeki KAK sınırlı olduğundan, geleneksel

periodontal ölçüm yöntemleri bu dönemde yetersiz kalabilir. Bu nedenle, erken tanı için biyobelirteçler ve ileri görüntüleme teknikleri gibi yeni yöntemlere başvurulması önerilmektedir (Caton ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

## **Evre II – Orta Düzey Periodontitis**

Bu evrede hastalık daha belirgin bir hal alır. İnterdental KAK 3–4 mm seviyesindedir. Radyografik bulgular kök uzunluğunun %15–33’ü arasında kemik kaybını gösterir ve genellikle horizontal yönlüdür. SD  $\leq$  5 mm olup henüz diş kaybı yaşanmamıştır. Klinik olarak daha yerleşik bir tablo söz konusudur; ancak düzenli profesyonel bakım ve etkin ağız hijyeni ile kontrol sağlanabilir (Caton ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

## **Evre III – Gelişmiş Periodontitis (Diş Kaybı Riski Olan)**

Bu evre, destek dokularda ciddi düzeyde hasarın olduğu evredir. İnterdental KAK  $\geq$  5 mm olarak belirlenir. Radyografide kemik kaybı kökün orta üçlüsüne veya apikal üçlüsüne kadar uzanabilir. Dişler arası vertikal kemik kayıpları ( $\geq$  3 mm), sınıf II ya da III furkasyon tutulumları ve yer değiştirmiş dişler sıklıkla gözlenir. Periodontal nedenli en fazla dört dişin kaybı mümkündür. Bu evrede çiğneme fonksiyonu hâlâ sürdürülebilir düzeydedir; ancak tedavi süreci daha karmaşık olabilir (Tonetti ve ark. 2018).

## **Evre IV – İleri Düzey Periodontitis (Dentisyon Kaybı Riski Olan)**

Periodontitisin en ileri evresi olan bu dönemde, destek dokular üzerinde ciddi yıkım meydana gelmiştir. İnterdental KAK  $\geq$  5 mm ve RKK kökün apikal üçte birine kadar ilerlemiştir. Diş kaybı periodontal nedenlerle beş ya da daha fazla diş kapsamaktadır. Bu durum, çiğneme fonksiyonunun bozulmasına, posterior bölgelerde kapanış kaybına ve sekonder oklüzal travmaya bağlı olarak artan mobiliteye neden olabilir. Tedavi sürecinde, dişlerin fonksiyonel ve estetik olarak rehabilite edilmesi hedeflenir (Tonetti ve ark. 2018).

## **Evreleme Kriterlerinin Kullanımı ve Değerlendirme Süreci**

Evrelemede öncelikli ölçüt, interdental KAK’tır. Bu veri mevcut değilse, RKK esas alınır. Diş kaybı, hastalığın ciddiyetini belirleyen kritik bir ölçüttür ve doğrudan evreyi yükseltebilir. Aynı zamanda furkasyon tutulumları, mobilité, diş migrasyonu, posterior kapanış kaybı gibi komplekslik faktörleri de dikkate alınır. Bu unsurlardan biri bile

mevcutsa, hastalık daha ileri bir evrede sınıflandırılır (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

**Tablo 2.2.** Periodontitisin Evrelendirilmesi (Stage) (Tonetti ve ark. 2018)

| <b>Evre (stage)</b>                                              | <b>Klinik Ataşman Kaybı (KAK)</b> | <b>Radyografik Kemik Kaybı (RKK)</b>        | <b>Sondalama Derinliği (SD)</b> | <b>Diş Kaybı</b> | <b>Komplekslik Faktörleri</b>                                                                              |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Evre I (Başlangıç Periodontitis)</b>                          | 1–2 mm                            | Kök uzunluğunun %15’inden az (koronal üçlü) | ≤ 4 mm                          | Yok              | Yok                                                                                                        |
| <b>Evre II (Orta Periodontitis)</b>                              | 3–4 mm                            | Kök uzunluğunun %15–33’ü (koronal üçlü)     | ≤ 5 mm                          | Yok              | Yok                                                                                                        |
| <b>Evre III (İlerlemiş Periodontitis – Ek Diş Kaybı Riski)</b>   | ≥ 5 mm                            | Kökün orta/apikal üçlüsüne uzanabilir       | ≥ 6 mm                          | En fazla 4 diş   | Vertikal kemik kaybı ≥ 3 mm, furkasyon tutulumu (sınıf II–III), posterior kapanış stabil, mobilite sınırlı |
| <b>Evre IV (İlerlemiş Periodontitis – Dentisyon Kaybı Riski)</b> | ≥ 5 mm                            | Kökün orta veya apikal üçlüsü               | ≥ 6 mm                          | En az 5 diş      | Ağır mobilite, sekonder oklüzal travma, fonksiyonel kapanış kaybı, kompleks rehabilitasyon gerekliliği     |

#### 2.1.1.2.2. Periodontitisin Derecelendirmesi (Grade)

Periodontitisin derecelendirilmesi, hastalığın ilerleme hızını değerlendirmek, ilerleme riskini belirlemek, tedaviye potansiyel yanıtı analiz etmek ve hastanın genel sağlık durumu üzerine olan tesirleri göz önünde bulundurarak hastalığın biyolojik özellikleri hakkında bilgi sunmak amacıyla kullanılır (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018). Bu sistem; geçmişe dayalı gözlemler, risk

faktörlerinin varlığı ve radyografik analizlere dayanarak, periodontitisin biyolojik davranışını anlamaya yardımcı olur.

### **Derece A (Yavaş İlerleme)**

Bu derecede, hastaların 5 yıllık takibinde radyografik kemik kaybı ve KAK gözlenmez. RKK'nın yaşa oranı ( $RKK\%/yaş$ ) 0,25'ten azdır. Mikrobiyal dental plak birikimi fazla olmasına rağmen, periodontal yıkım düşüktür. Diyabet ve sigara kullanımı gibi sistemik risk faktörleri bulunmamaktadır (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

### **Derece B (Orta Hızda İlerleme)**

Derece B, hastalığın orta hızda ilerlediği durumları tanımlar. Hastaların 5 yıllık takibinde RKK veya KAK 2 mm'den azdır.  $RKK\%/yaş$  oranı 0,25 ile 1 arasındadır. Plak birikimi ile periodontal yıkım arasında bir denge söz konusudur. Diyabet hastalarında Hemogloblin A1c (HbA1c) sonucu %7'nin altındadır ve günde 10 adet sigara kullanımından daha azdır. Biyofilm miktarı ile uyumlu yıkım gözlenir (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

### **Derece C (Hızlı İlerleme)**

Derece C hastalarında, 5 yıl veya daha uzun sürede 2 mm veya daha fazla KAK ya da RKK saptanır.  $RKK\%/yaş$  oranı 1'den fazladır. Mevcut mikrobiyal dental plağa kıyasla daha fazla periodontal yıkım gözlenir. Diyabet hastalarında HbA1c sonucu %7'nin üstündedir ve günde 10 adet sigara kullanımından daha fazladır. Diyabet veya kontrolsüz glisemik durumlar, hastalığın hızlı ilerlemesine neden olabilir ve bu nedenle derecenin C olarak belirlenmesinde önemli rol oynar (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018). Bu derecelendirme sistemi, hastalığın seyrine dair öngörü sağlayarak, kişiye özel tedavi planlarının oluşturulmasına katkıda bulunarak uzun vadeli prognoz açısından önemli bilgiler sunar.

### **Evreleme Kriterlerinin Kullanımı ve Değerlendirme Süreci**

Derece tayininde temel kriterler, doğrudan veya dolaylı ilerleme kanıtlarına dayanır. Doğrudan kanıtlar, yüksek tanısal kaliteye sahip eski radyografilere dayanan uzun süreli gözlemlerdir. Bu tür veriler mevcut değilse dolaylı kanıtlar kullanılır.

Dolaylı değerlendirme, en çok etkilenen dişteki RKK'nin kök uzunluğuna oranı alınarak elde edilen yüzde değerın hastanın yaşına bölünmesiyle (RKK%/yaş) hesaplanır (Caton ve ark. 2018; Tonetti ve ark. 2018).

Klinisyenler, başlangıç olarak hastayı Derece B olarak kabul etmeli ve klinik veriler ışığında Derece A veya C'ye geçmek için yeterli kanıt olup olmadığını değerlendirmelidirler. Ayrıca diyabet ve sigara tüketimi gibi risk faktörlerinin bulunması, elde edilen radyografik bulgulara ek olarak derecenin belirlenmesinde dikkate alınmalı ve gerekliyse derece yukarı yönlü olarak değiştirilmelidir (Tonetti ve ark. 2018; Dietrich ve ark. 2019).

**Tablo 2.3.** Periodontitisin Derecelendirilmesi (Grade) (Tonetti ve ark. 2018)

| Derece          | İlerleme Hızı | Radyog-<br>rafik<br>Kemik<br>Kaybı /<br>Yaş Oranı<br>(RKK/Yaş) | 5<br>Yıllık<br>Kayıp | Biyofilm<br>ile<br>Uyum        | Sigara<br>Kullanımı | HbA1c<br>Düzeyi<br>(Diyabet<br>Varlığında) |
|-----------------|---------------|----------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------------------|
| <b>Derece A</b> | Yavaş         | <0,25                                                          | Kayıp<br>yok         | Biyofilm<br>fazla,<br>yıkım az | Yok                 | Diyabet yok                                |
| <b>Derece B</b> | Orta          | 0,25 – 1,0                                                     | <2<br>mm             | Biyofilm<br>ile<br>uyumlu      | <10<br>adet/gün     | ≤ %7                                       |
| <b>Derece C</b> | Hızlı         | > 1,0                                                          | ≥ 2<br>mm            | Biyofilm<br>den fazla<br>yıkım | ≥ 10<br>adet/gün    | > %7                                       |

### 2.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Mikroorganizmaların oluşturduğu dental plak, periodontitisin başlangıcında temel etiyolojik faktör olarak kabul edilmiştir (Löe ve ark. 1965; Lindhe ve ark. 1973). Bununla birlikte, hastalığın ilerleyişinde konakçı inflamatuvar yanıtının çok belirleyici bir rol oynadığı anlaşılmıştır (Page ve Schroeder 1976). Subgingival mikrobiyal dental plakta bulunan Gram-negatif anaerobik ve fakültatif bakteriler, periodontal hastalığın patogeneğinde kritik öneme sahiptir. Bu bakteriler ve ürünleri, diş eti oluğunda inflamatuvar cevabın başlamasına neden olurken, konak yanıtı da bu sürecin temel ve en önemli bileşenlerinden biri haline gelmiştir (Loesche ve Grossman 2001). İnflamatuvar yanıt, konağın enfekte ajanları uzaklaştırma ve doku tamiri amacıyla başlattığı bir süreçtir, bu süreçte vasküler ve hücrel tepkiler ön plandadır (Larsen ve Henson 1983). Gingival dokularda hastalığın erken evrelerinde inflamatuvar infiltrat

artışı gözlenirken, ilerleyen aşamalarda plazma hücrelerinin baskın hale geldiği ve alveol kemikte yıkımın başladığı histopatolojik olarak saptanabilir (Page ve Schroeder 1976).

Mikrobiyal dental plağın sürekli varlığına rağmen periodontal sağlığın devamı, konak savunma sisteminin immün mekanizmaları sayesinde mümkün olmaktadır. Ancak, artan mikrobiyal yük veya konak yanıtında meydana gelen bozulmalar, bu dengeyi kırarak şiddetli inflamasyona yol açabilir (Dixon ve ark. 2004). Bu süreçte konak savunma hücreleri, bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) gibi antijenleri CD14 ve Toll-benzeri reseptörler (TLR) aracılığıyla tanır ve bunun sonucunda TNF- $\alpha$ , IL'ler, matriks metalloproteinazlar (MMP) ve reaktif oksijen türleri gibi pro-inflamatuvar medyatörlerin aşırı salınımı tetiklenir (Janeway Jr ve Medzhitov 2002). Özellikle polimorfonükleer lökositler (PMNL) gibi hücreler, gingival sulkusta yer alarak ilk savunma hattını oluşturur. Ancak biyofilmin aşırı birikimi durumunda bu hücreler inflamasyonu kontrol edemez ve gingivitis gelişir. Müdahale edilmediği takdirde bu durum, alveol kemik kaybı ile karakterize edilen periodontitise dönüşebilir (Page ve Kornman 1997).

Periodontal patogenezi; başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyonlar olmak üzere ilerleyici aşamalardan oluşur ve bu evrelerde hem histolojik hem de klinik değişiklikler gözlenmektedir (Page ve Schroeder 1976).

### **Başlangıç Lezyonu**

Başlangıç lezyonu, dental plak birikiminin ardından 2-4 gün içerisinde gelişen ve klinik olarak belirti vermeyen, ancak histolojik olarak gözlenebilen ilk inflamatuvar cevaptır (Page ve Schroeder 1976). Bu dönemde biyofilm içeriğindeki streptokokların hücre duvarından salınan lipoteikoik asitler, kompleman sistemini aktive ederek anafilotoksinler (C3a, C5a) üretimine neden olur. Bu bileşenler, mast hücrelerinden histamin gibi vazoaaktif maddelerin salınımını tetikler ve damarsal geçirgenliğin artmasına, dolayısıyla bölgesel ödem ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) artışına yol açar (Lang ve Lindhe 2015).

Kılcal damar geçirgenliğinin artışı ile PMNL ve monositler, bakteriyel ürünlerin kemotaktik etkisiyle sulkusa göç eder. Bu süreçte endotelial hücrelerde endotelial lökosit adezyon molekülü-1 ve hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ifadeleri artar. PMNL'ler tarafından salınan IL-1 ve IL-

17, immün sistemin daha fazla aktive olmasına neden olur. IL-1, PMNL göçünü ve pro-inflamatuvar enzimlerin salınımını uyarırken; IL-17, Interlökin-8 (IL-8) sentezini tetikleyerek immün hücrelerin bölgeye taşınmasını sağlar. Kollajen yapılar henüz sınırlı düzeyde etkilenmiş olup, doku yıkımı minimal düzeydedir (Dibart ve ark. 1998).

### **Erken Lezyon**

4-7 gün süren bu evre, gingivitisin ilk klinik belirtilerinin ortaya çıktığı dönemdir. Damarsal değişiklikler daha da belirginleşir; kılcak damarlarda vazodilatasyon ve postkapiller venül formasyonu meydana gelir. Bu süreçte DOS artık sadece bir filtrat değil, inflamatuvar mediatörlerin baskın olduğu bir eksuda formuna dönüşür (Moughal ve ark. 1992).

PMNL'ler hâlâ baskın hücre popülasyonu olmakla birlikte, lenfositler ve makrofajlar da bu evrede aktif rol oynar (Seymour ve ark. 1983). İnflamatuvar sürecin etkisiyle birleşim epitelinde rete peg oluşumu gözlemlenirken, bağ dokusunda ki kollajen yıkımı %60-70 oranına ulaşır (Page ve Schroeder 1976). Dendritik ve Langerhans hücreleri antijen sunumu yaparak yardımcı T hücresi 1 (Th1) aktivasyonuna katkıda bulunur. Perivasküler bölgede yoğun lenfoid hücre infiltrasyonu ve fibroblast aktivitesinde azalma ile kollajen sentezinde bozulma meydana gelir. Klinik olarak ödem, eritem ve sondalama sırasında kanama gözlemlenebilir (Lang ve Lindhe 2015).

### **Yerleşmiş Lezyon**

Plak birikiminden itibaren 2-3 hafta sonrasında gözlenen bu evrede kronik gingivitis klinik ve histolojik olarak belirgin hale gelir. Yerleşmiş lezyonun en karakteristik özelliği, plazma hücrelerinin bağ dokusunda baskın olmasıdır (Amunulla ve ark. 2008). T hücre yoğunluğu artmakla birlikte, spesifik antijenlere duyarlı B lenfositler bu evrede öne çıkar. *A. Actinomycescomitans* ve *P. Gingivalis* gibi patojenlere karşı gelişen yanıt sonucunda özellikle immünoglobulin G, ardından immünoglobulin M üretimi gözlemlenir (Dibart ve ark. 1998).

Bu evrede B hücrelerinden salınan IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) gibi mediatörlerin salınımı, dokudaki yıkımı artırır (Dibart ve ark. 1998). Aynı zamanda PGE<sub>2</sub> üretimi hem kollajen yıkımını hem de inflamasyonu tetikleyerek sürecin ilerlemesine katkıda bulunur. Birleşim epiteli inflamasyon nedeniyle bağ dokusuna doğru proliferer olur ve apikale göç ederek dişeti sulkusunu derinleştirir. Bu

safhadan itibaren sulkus epiteli, periodontal cep epiteli olarak adlandırılır. Ancak bu evrede hâlen kemik yıkımı mevcut değildir (Page ve Kornman 1997).

### **İlerlemiş Lezyon**

İlerlemiş lezyon, gingivitisten periodontitise geçişi temsil eden, klinik ve histolojik olarak ataşman ve alveol kemik kaybının gözlemlendiği son evredir. Bu aşama, yerleşik lezyondaki hücresel yapıyla benzerlik göstermesine rağmen, geri dönüşümsüz doku yıkımı ile karakterize edilmesi açısından farklılık gösterir (Page 1991).

İnflamatuvar cevabın şiddetiyle birlikte, birleşim epitelinin ülserasyonu ve apikale doğru migrasyonu sonucunda periodontal cep oluşur. Bu cep, bakteriler için besleyici, nemli, sıcak ve anaerobik bir ortam sunarak patojenlerin derin dokulara ilerlemesini kolaylaştırır. Ancak bakterilerin kendileri çoğunlukla doku içine invaze olmadan, konağın yanıtını tetikleyen antijenik ürünler aracılığıyla dokuda şiddetli inflamasyona neden olurlar (Newman ve ark. 2018). Bu süreçte PDL'de kollajen yıkımı belirginleşir. Kollajen liflerin yıkımı, özellikle PDL'nin daha az dirençli perivasküler bölgelerinde yoğunlaşır. İnflamasyonun perivasküler alanlara yoğunlaşarak yayılmasıyla birlikte alveol kemiğe ulaşır (Bartold ve ark. 2010).

Özellikle fibroblastlar ve makrofajlardan salınan IL-1, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> gibi pro-inflamatuvar mediatörlerin aracılığıyla MMP sentezinde artış olur (Nishikawa ve ark. 2002; Cox ve ark. 2006). En çok fibroblastlar tarafından üretilen bu enzimler, ekstrasellüler ortamda kollajen dokuyu parçalayarak ilerleyen lezyonlarda AKK'nin artmasına neden olur.

PDL'deki hasarın artışı ve alveol kemikteki rezorpsiyon, periodontal ceplerin derinleşmesi ile sonuçlanır. Böylece hastalık, yalnızca lokalize bir inflamatuvar süreç olmaktan çıkarak, sistemik bağ dokusu yıkımı ile seyreden kronik bir duruma dönüşür. Bu evrede biyofilmin uzaklaştırılması ve mikroorganizma kontrolü oldukça zorlaşır, dolayısıyla bu yıkım döngüsü geri dönüşümsüz bir hale gelir (Newman ve ark. 2018).

### **2.1.3. Periodontal Doku Yıkımı**

Periodontal patogeneizde, bakteriler tarafından salınan antijenik ürünler özellikle LPS ve peptidoglikanlar konağın bağışıklık hücrelerindeki TLR'ler tarafından tanınarak inflamatuvar yanıtın başlatılmasına neden olur (Mahanonda ve Pichyangkul 2007). Bu tanıma olayı, bir dizi hücresel ve moleküler süreci tetikler;

özellikle mast hücreleri, vazoaktif aminler ve önceden sentezlenmiş TNF- $\alpha$  salınımı için uyarılır. Sonuç olarak, damar geçirgenliğinde artış meydana gelirken, endotelial hücre yüzeylerinde ICAM-1 ve P-selektin gibi proteinlerin ekspresyonu da artar (Madianos ve ark. 2005; Ohlrich ve ark. 2009).

Bu mikroçevre, PMN'nin inflamasyon bölgesine göçünü kolaylaştırır. Dokuya ulaşan PMN'ler, MMP sentezleyerek çevre dokuda yıkıma katkı sağlar. Süreç ilerledikçe, lenfositler ve makrofajlar da dokuda yoğunlaşarak inflamatuvar yanıt sürdürür (Ohlrich ve ark. 2009). Bu aşamada inflamasyon çözünürse dokular kalıcı hasar olmadan kendini onarabilir.

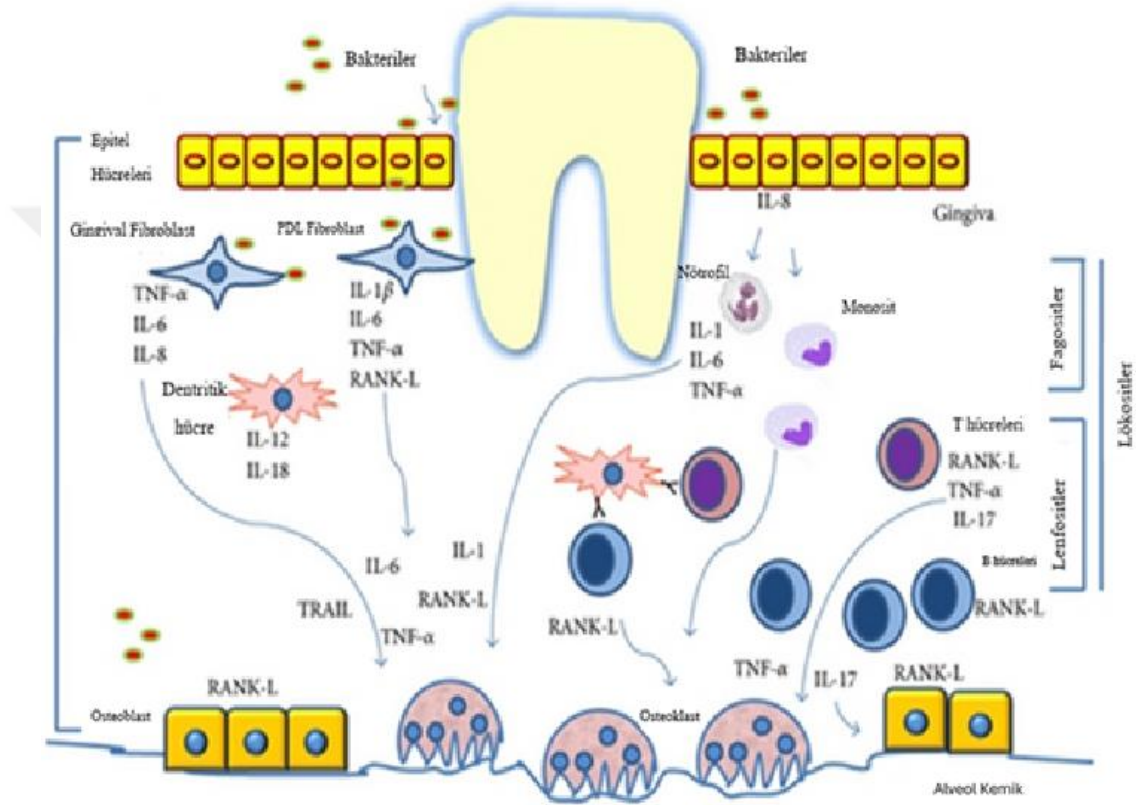
İnflamasyon çözülmeden devam ettiğinde; bakteriyel antijenler, konağın antijen sunan hücreleri olan dentritik hücreler, makrofajlar ve B lenfositlerle etkileşime girer. Bu etkileşim, yardımcı T 0 hücrelerinin farklı sitokin ortamlarına bağlı olarak spesifik alt kümelerle farklılaşmasını tetikler. Bu alt kümeler arasında; yardımcı T hücresi 1, yardımcı T hücresi 2 (Th2), yardımcı T hücresi 17 (Th17) ve düzenleyici T hücreleri (Treg) yer alır.

- Th1 hücreleri, interlökin-12'nin etkisiyle farklılaşır ve IFN- $\gamma$ , interlökin-2 (IL-2), Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- $\beta$ ) ve TNF- $\alpha$  üretir; böylece hücrel bağışıklık yanıtını yönetir.
- Th2 hücreleri, IL-4 aracılığıyla IL-4, interlökin-5, IL-6, IL-10, interlökin-13 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinleri salgılayarak humoral bağışıklığı yönlendirir.
- Th17 hücreleri, TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın varlığında aktive olur ve IL-17, interlökin-22, interlökin-23 (IL-23), TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinleri üretir. Th17 hücrelerinin özellikle IL-17 aracılığıyla, osteoklast aktivasyonunu uyarak kemik rezorpsiyonuna katkı sağladığı bilinmektedir.
- Treg hücreleri ise TGF- $\beta$ 'nin etkisiyle farklılaşır, IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi immünosupresif sitokinleri salgılayarak immün yanıtın kontrolünü sağlar.

Özellikle IL-17, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub>, IL-6 ve IL-1 $\beta$  hem inflamatuvar süreci güçlendirir hem de osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik yıkımını tetikler (André ve ark. 2009; Nistala ve Wedderburn 2009; Van Dyke ve Van Winkelhoff 2013).

Alveol kemik yapımı ve yıkımı dengede sürdürülmektedir. Eğer bu denge osteoklastlar lehine kayarsa kemik yıkımı ortaya çıkar. Kemik yapım ve yıkımı Nükleer faktör kappa-B reseptör aktivatörü (RANK)- RANKL-OPG sistemi

tarafından düzenlenmektedir. Pre-osteoblastların üzerindeki RANK'a RANKL'in bağlanması osteoklast farklılaşmasını sağlar. RANKL'a bağlanan OPG ise RANK-RANKL etkileşimini engeller. Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL17 ve PGE<sub>2</sub> gibi sitokinler RANKL sentezini artırarak osteoklastogenezi indükler (Takayanagi 2005; Axmann ve ark. 2009; Bartold ve ark. 2010; Braun ve Zwerina 2011). Bunun sonucunda kemik yıkımında artış meydana gelir (Bartold ve ark. 2010).



Şekil 2.1. Periodontitiste doku yıkımında hücreler ve sitokinler (Di Benedetto ve ark. 2013)

## 2.2. Periodontal Hastalıklarda Sitokinlerin Rolü

Sitokinler, bağışıklık sistemi hücrelerinin çoğu tarafından salgılanan, ağırlıkları yaklaşık 6–70 kilodalton (kDa) arasında değişen düşük molekül ağırlıklı, çözünür proteinlerdir (O'Shea ve Murray 2008; Kulbe ve ark. 2012). Bu biyolojik aktif moleküller; immün yanıtın düzenlenmesinde, hücreler arası iletişimde, hücre büyümesi ve yara iyileşmesinde etkili olup, konak savunmasının temel araçlarıdır (Noronha ve ark. 1995; Okada ve Murakami 1998). Sitokinler, bağışıklık hücrelerinin olgunlaşması, proliferasyonu ve farklılaşması süreçlerinde aktif rol oynayarak sağlığın önemli belirleyicileri arasında yer alır (Burska ve ark. 2014; Neurath 2014).

Sitokinlerin gen ekspresyonu, normal fizyolojik koşullarda sıkı bir şekilde düzenlenmekte olup yapısal düzeyde ekspresyon genellikle bulunmamaktadır. Ancak çeşitli uyarılar, transkripsiyon ve translasyon oranlarını etkileyerek sitokin üretimini arttırabilir (Taniguchi 1988). Özellikle sitokin haberci RNA'nın (mRNA) transkripsiyon sonrası düzenlenmesi, inflamasyon gibi biyolojik süreçlerin hızlı ve kontrollü bir şekilde yönetilmesini sağlar (Takeuchi 2016). Genetik düzeyde, nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B) transkripsiyon faktörünün aktive edilmesi, pro-inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında kilit bir rol oynamaktadır. NF- $\kappa$ B yolu, genellikle LPS gibi patojenle ilişkili moleküler parçalar TLR aracılığıyla tanınması sonucunda aktif hale gelir (Baldwin Jr 1996; Hanada ve Yoshimura 2002).

Sitokinler, hücresel bağlama bağlı olarak farklı hücre tipleri üzerinde etkili olabilir ve bu da pleyotropik etki mekanizmalarıyla çok sayıda biyolojik aktiviteyi mümkün kılar (Sprague ve Khalil 2009). Ayrıca sitokinlerin; serum, kan, dışkı, tükürük ve ter gibi çeşitli biyolojik sıvılardaki düzeylerinin değişkenliği, bazı hastalıkların tanı, evre ve prognozu hakkında önemli ipuçları sağlayabilir. Hücreler arası sinyal iletiminde görev alan bu moleküller, inflamatuvar yanıtın başlatılması, şiddetinin belirlenmesi ve sonlandırılması gibi aşamaları düzenler (Cekici ve ark. 2014).

Sitokinler, fonksiyonlarına göre pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar olarak iki temel gruba ayrılır. Pro-inflamatuvar sitokinler, inflamatuvar cevabın başlatılması ve devam ettirilmesinde görev alırlar. Anti-inflamatuvar sitokinlerse inflamasyonun ilerleyen durumlarında görev alarak sistemik inflamasyonu sınırlandırır (Dinarello 2000; Garlet 2010). Bu iki grup arasındaki denge, bağışıklık sisteminin işlevselliğini ve birçok hastalığın patogenezi belirleyen önemli bir faktördür. Periodontal hastalıklarda da bu sitokinler hem inflamasyonun düzenlenmesinde hem de doku yıkımının şekillenmesinde etkin bir role sahiptir. Periodontal patogeneizde, patojenlerin tanınması, immün hücrelere sunulması ve konak yanıtının şekillenmesinde sitokinler önemli görevler üstlenmektedir (Garlet 2010).

### **2.2.1. İnterlökin-1 $\beta$**

İnterlökin-1, tanımlanan ilk interlökin olup, interlökin-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  olmak üzere iki farklı polipeptid zincirinden oluşur. Bu iki form, birbirine yakın amino asit dizilimine sahiptir ve 2. kromozomda kodlanırlar. IL-1 $\beta$ , prototipik bir pro-

inflamatuvar sitokin olup hem lokal hem de sistemik cevapların başlatılmasında görev alır (Dinarello 1994; Dinarello 2000).

IL-1 $\beta$ , TLR'ler, aktive kompleman bileşenleri, TNF- $\alpha$  gibi diğer sitokinler ya da interlökin-1'in kendisi gibi çeşitli uyaranlar tarafından aktive edilen monositler ve makrofajlar gibi hematopoietik hücreler tarafından üretilir. Bununla birlikte fibroblastlar, PDL hücreleri, osteoblastlar, keratinositler, endotelial ve epitelyal hücreler gibi bağışıklık dışı hücrelerden de salınımı mümkündür (Miller ve ark. 2006; Liu ve ark. 2010; Dinarello 2011).

Bu süreçte, patojenle ilişkili moleküller (örneğin LPS) ve hasarla ilişkili moleküller tarafından TLR'ler aracılığıyla patern tanıma reseptörlerini aktive ederler. Bunu NF- $\kappa$ B salınımı takip eder ve aktif olmayan bir öncül protein olan pro-IL-1 $\beta$  ekspresyonunu destekler (Bent ve ark. 2018). Bu öncül form, kaspaz-1 tarafından proteolitik olarak kesilerek aktif forma dönüştürülür (Dinarello 2011; Kwak ve ark. 2016).

IL-1 $\beta$  PGE<sub>2</sub>, nitrik oksit, fosfolipaz A2 ve COX-2 gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımını indükler (Cannon ve ark. 1990; Chung ve ark. 2009). Ayrıca trombosit aktive edici faktör gibi mediatörlerle vasküler geçirgenliği artırır. Endotelial hücrelerde ICAM-1 gibi adezyon moleküllerinin ifadesini artırırken, stromal hücrelerden IL-8 gibi kemokinlerin salınımını uyarak nötrofillerin inflamasyon bölgesine göçünü kolaylaştırır (Chen ve ark. 1997). Aynı zamanda IL-2 ve IL-6'nın üretimini artırarak T hücreleri üzerinden adaptif bağışıklık yanıtlarını düzenler. Özellikle Th17 hücrelerinin farklılaşmasını ve IL-17 üretimini teşvik eder (Cannon ve ark. 1990; Stashenko ve ark. 1991; Chung ve ark. 2009). Bu özellikleriyle IL-1 $\beta$ , yalnızca akut inflamasyonun değil, aynı zamanda kronik inflamatuvar hastalıkların da önemli bir aracısıdır (Dinarello 2009; Gabay ve ark. 2010; Sims ve Smith 2010).

IL-1 $\beta$ , salındıktan sonra inflamatuvar yanıtları başlatan güçlü bir araçtır ve periodontitisin patogeneze doğrudan katkıda bulunur. Özellikle kemik rezorpsiyonunu uyarma kapasitesi sayesinde, bu sitokin periodontitis sürecinde belirgin şekilde ön plana çıkar (Faizuddin ve ark. 2003). IL-1 $\beta$ , kolajenolitik aktiviteye sahip olan MMP ekspresyonunu artırarak ekstraselüler matriksin yıkımına neden olur. Bu durum, periodontal bağ dokusu yıkımı ve kemik rezorpsiyonunun ilerlemesiyle sonuçlanır (Kobayashi ve ark. 2005; Schett ve ark. 2016).

Ayrıca IL-1 $\beta$ , osteoklast oluşumunun temel düzenleyicisi olan RANKL/OPG sistemini etkiler. RANKL'ın ekspresyonunu yukarı yönde düzenleyerek osteoklastogenezi doğrudan uyarır ve kemik yıkımına neden olur (Kobayashi ve ark. 2005). Bununla birlikte IL-1 $\beta$ 'nın yalnızca doğrudan değil, dolaylı yollarla da kemik rezorpsiyonuna katkı sağladığı bilinmektedir. Örneğin, periodontal fibroblastlarda PGE<sub>2</sub> üretimini artırır. PGE<sub>2</sub>'nin kendisi de RANKL ekspresyonunu teşvik ederek osteoklastların farklılaşmasını destekler (Murayama ve ark. 2011). Tüm bu mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda, IL-1 $\beta$ 'nın osteoklastogenez üzerinde hem doğrudan hem de dolaylı etkileri aracılığıyla uzun vadeli kemik rezorpsiyonu sürecine önemli katkılar sağladığı söylenebilir.

#### **2.2.2. İnterlökin-4**

IL-4 bağışıklık sisteminde çok yönlü roller üstlenen pleiotropik ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. Temel olarak Th2 hücreleri tarafından salgılanmakla birlikte, makrofajlar, monositler, mast hücreleri, bazofiller, fibroblastlar ve endotel hücreleri de IL-4 üretiminde rol almaktadır (Ohara ve ark. 1987; Fujihashi ve ark. 1993). IL-4, immünoinflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir. Th1 hücre yanıtlarını inhibe ederken Th2 tipi bağışıklık tepkilerini destekler. Bu etkisiyle adaptif bağışıklık sistemini humoral yanıtı doğru yönlendirir. Ayrıca naif yardımcı T 0 hücrelerinden Th2 hücrelerinin farklılaşmasını teşvik ederken, IFN- $\gamma$  üretimi ve Th1 yanıtlarını baskılar (Nelms ve ark. 1999).

IL-4'ün biyolojik etkileri çok çeşitli mekanizmaları kapsar. Makrofaj fonksiyonlarını baskılayarak, monositlerin apoptozunu indükler, LPS'ye karşı konak cevabında anahtar rol oynayan CD14 reseptör ekspresyonunu azaltır, B hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu ve antikor üretimini teşvik eder (Pradeep ve ark. 2008; Bastos ve ark. 2009). Ayrıca pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezini, endotel hücre adezyon moleküllerinin oluşmalarını ve bağışıklık hücrelerinin kemotaksisini inhibe ederler. IL-1 reseptör antagonisti ve IL-10 gibi diğer anti-inflamatuvar moleküllerin üretimini artırır. Bunlarla birlikte, ROS, reaktif nitrojen türleri ve prostaglandinler gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimini inhibe eder (Abramson ve Gallin 1990; Bogdan ve ark. 1994; Pestka ve ark. 2004).

IL-4, yara iyileşmesi ve doku onarımı süreçlerinde de etkili olup, özellikle M2 fenotipindeki anti-inflamatuvar makrofajların aktivasyonunu destekler. Bu

makrofajlar kollajen ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimini teşvik ederek fibrozis ve doku yeniden yapılanmasında rol oynar (Gieseck ve ark. 2018). Ek olarak RANKL ve MMP üretimini baskılamasının yanı sıra, bu yıkıcı süreçleri dengeleyen OPG ve metalloproteinaz doku inhibitörlerinin ekspresyonunu artırır (Saidenberg-Kermanac'h ve ark. 2004).

Periodontal dokular özelinde IL-4'ün düşük düzeyde bulunması, hastalığın ilerleyişiyle ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalar, periodontitis bölgelerinde IL-4'ün azalmış düzeylerde bulunduğunu ve bu durumun aktif makrofaj akümüasyonu ile artmış doku yıkımına zemin hazırladığını göstermiştir. Gingival inflamasyon bölgesinde IL-4 eksikliği, gingivitisin periodontitise ilerlemesiyle ilişkilendirilir (Pradeep ve ark. 2008).

### **2.2.3. İnterlökin-6**

IL-6 hem doğuştan gelen hem de kazanılmış bağışıklık yanıtlarında görev alan, glikoprotein yapıda, çok yönlü bir sitokindir. Makrofajlar, monositler, nötrofiller, fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, aktif T ve B lenfositleri gibi çeşitli hücreler tarafından enfeksiyon, travma ve inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak sentezlenir (Matsuki ve ark. 1992; Kishimoto ve ark. 1995; Mazurek-Mochol ve ark. 2024).

İnflamasyon sürecinde pleiotropik etkiler gösterebilir. Bir yandan nötrofil birikimini ve pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılayarak anti-inflamatuvar etki gösterirken, diğer yandan kronik inflamasyonda akut faz reaktanlarını indükleyerek pro-inflamatuvar etki göstermektedir (Schindler ve ark. 1990; Xing ve ark. 1998; Jones ve ark. 2001).

IL-6; T ve B hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşması, immünoglobulin üretimi, hepatositler aracılığıyla akut faz proteinlerinin sentezi, kemik iliğinde hematopoez, anjiyogenez, vasküler geçirgenlik artışı ve kompleman sisteminin uyarılması gibi geniş biyolojik süreçleri düzenler (Ridker ve ark. 1997).

IL-6, Th17 hücrelerinin aktivasyonunda ve TGF- $\beta$  ile birlikte Treg hücrelerinin uyarılmasında önemli rol oynar. Ayrıca, IL-1 ile birlikte yardımcı T hücreleri üzerinde kostimülatör olarak görev yapar ve TNF üretimini inhibe eden negatif feedback mekanizmalarında yer alır (Kishimoto ve ark. 1995; Mazurek-Mochol ve ark. 2024).

Kemik dokusu üzerindeki etkileri de dikkat çekicidir. Düşük konsantrasyonlarda osteoklast hücrelerinin farklılaşmasını teşvik ederken, yüksek konsantrasyonlarda olgun osteoklastların aktivasyonunu destekler. Ayrıca kemik iliği stromal hücrelerinden salındığında RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenez sürecine katkı sağlar. IL-6, IL-1'in kemik rezorpsiyonuna aracılık eden etkilerini de pekiştirir (Hao ve ark. 2017; Feng ve ark. 2022).

Periodontitis patogeneğinde IL-6, kritik bir rol oynar. Periodontal dokularda artmış IL-6 seviyesi, B lenfositlerin plazma hücrelerine farklılaşmasını uyarır ve bu durum kronik inflamatuvar infiltrasyonun devamına katkı sağlar. Aynı zamanda artmış osteoklast aktivitesi, baskılanmış osteoblast fonksiyonu (alkalen fosfataz aktivitesi ve kollajen sentezinde azalma) ve MMP salınımı ile ilişkilendirilmiştir (Rudick ve ark. 2019; Isola ve ark. 2021). Periodontal hastalıklarda IL-6 düzeyinin artışı, RANKL/OPG dengesini osteoklastogenez lehine bozarak alveolar kemik yıkımına katkıda bulunur (Tsukasaki 2021).

#### **2.2.4. İnterlökin-10**

IL-10, immün sistemin hücrel çoğalmasını ve inflamatuvar süreçleri inhibe eden etkili bir anti-inflamatuvar sitokin olarak görev yapar. İlk olarak, Th2 hücreleri tarafından Th1 hücrelerinde sitokin sentezini inhibe eden bir faktör olarak tanımlanmış, ancak daha sonra makrofajlar, dentritik hücreler, B hücreleri, mast hücreleri, eozinofiller, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri tarafından da üretildiği gösterilmiştir. Aynı zamanda antijenle çalışan Treg hücreleri de IL-10 üretiminde rol oynar (Bedke ve ark. 2019; Rasquinha ve ark. 2021; Carlini ve ark. 2023).

IL-10'un temel etkilerinden biri, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin pro-inflamatuvar mediyatörlerini baskılamasıdır. Monositler ve makrofajlardan interlökin-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, interlökin 12, interlökin 18 ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder; aynı zamanda IL-8 gibi kemokinlerin salınımını sınırlar (Hour-Haddad ve ark. 2007; Mosser ve Zhang 2008). Ayrıca, nitrik oksit, jelatinaz ve kolajenaz gibi doku yıkımında rol oynayan moleküllerin sentezini de aşağı regüle eder. IL-10'un bu etkileri sayesinde inflamatuvar yanıtı sınırlama getirerek dokuların aşırı hasar görmesini önler (Li ve ark. 2014; Carlini ve ark. 2023).

Doğrudan T hücreleri üzerinde de etkili olan IL-10, CD4<sup>+</sup> T hücrelerinden IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, interlökin-5 ve TNF- $\alpha$  üretimini baskılar. Bu sayede hem Th1 hem de Th2 yanıtlarını düzenleyerek T hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasını sınırlayabilir. Bu etkisiyle IL-10, lenf düğümlerinde immün yanıtın kontrol altına alınmasını sağlar ve patojen kontrolü ile immünopatoloji arasında denge kurulmasına katkıda bulunur (Bedke ve ark. 2019; Rasquinha ve ark. 2021).

IL-10, aynı zamanda kemik homeostazı üzerinde de düzenleyici bir rol oynar. Bu sitokin, osteoklastogenezi ve inflamatuvar ortamda kemik yıkımını dolaylı olarak baskılayan bir faktör olarak tanımlanmıştır (Lee ve ark. 2009). Spesifik IL-10 nötralizasyonunun IL-1 ve TNF- $\alpha$  üretimini artırdığı gösterilmiştir. Düşük IL-10 düzeyleri, bu pro-inflamatuvar mediyatörlerin yeterince baskılanamamasına ve kollajenaz aktivitesinin artmasına neden olur (Cohen ve ark. 2004). Yapılan çalışmalar, IL-10 eksikliğinin AKK'ye yol açtığını ve IL-10'un kemik metabolizmasındaki koruyucu etkilerini desteklemiştir (Sun ve ark. 2020).

Periodontal hastalık bağlamında IL-10, inflamatuvar süreçleri düzenleyen ve dokuların korunmasında rol oynayan temel sitokinlerden biridir. Yapılan çalışmalarda, IL-10'un periodontitis modellerinde anti-inflamatuvar etkiler gösterdiğini ve eksikliği durumunda AKK'nın belirgin şekilde arttığını ortaya koymuştur (Bi ve ark. 2019; Chen ve ark. 2022). Bu nedenle IL-10'un inflamatuvar sitokinlere karşı olan dengeleyici etkisi, periodontitis patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır.

#### **2.2.4. İnterlökin-17**

IL-17, 1993 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında tanımlanmıştır (Rouvier ve ark. 1993). IL-17 ailesi, IL-17A'dan IL-17F'ye kadar uzanan çeşitli alt tiplerden oluşmaktadır (Gu ve ark. 2013). Her ne kadar IL-17, Th17 hücrelerinin karakteristik bir sitokini olarak kabul edilse bile günümüzde diğer bağışıklık hücreleri tarafından da üretilbildiği bilinmektedir (Cua ve Tato 2010; Fagundes ve ark. 2023).

IL-17, çok yönlü bir pro-inflamatuvar sitokin olup, inflamatuvar kaskadın başlatılmasında kilit rol oynar. Bu sitokin, granülosit koloni uyarıcı faktörler, nötrofil çekici kemokinler, akut faz yanıtını tetikleyen IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , RANKL ve MMP üretimini uyarak etkili bir inflamatuvar yanıt oluşturur (Moran ve ark. 2009; Onishi ve Gaffen 2010; Zhang ve ark. 2013). Bu etkiler özellikle epitel, endotel, fibroblastlar,

osteoblastlar, kondrositler ve sinovyal hücreler gibi hedef hücrelerde gerçekleşir (Honorati ve ark. 2006; Zenobia ve Hajishengallis 2015).

IL-17'nin tek başına güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşturmada yetersiz kaldığı, buna karşın TNF- $\alpha$  gibi diğer pro-inflamatuvar mediatörlerle birlikte etki göstererek birçok hedef genin ifadesini artırır. Örneğin, IL-17 ve TNF- $\alpha$  birlikte çalışarak endotel hücrelerinde CXC kemokin ligandı üretimini artırmakta, bu da inflamasyon sırasında nötrofillerin sürekli dokuya göçünü kolaylaştırmaktadır (Griffin ve ark. 2012).

IL-1 $\beta$  ile birlikte IL-17'nin, Th17 hücrelerinin toplanmasını sinerjik biçimde uyardığı ve osteoblastlar ile diğer stromal hücreler üzerinden RANKL ekspresyonunu artırdığı için osteoklastogenez üzerinde güçlü etkiler gösterdiği bilinmektedir (Amarasekara ve ark. 2021). Bu özellikleri nedeniyle IL-17; romatoid artrit, osteoporoz ve periodontal hastalıklar gibi kemik kaybının görüldüğü hastalık tablolarında aktif olarak rol almaktadır.

IL-17, fibroblastlar, endotel ve epitel hücrelerinde MMP üretimini artırarak hem bağ dokusu hem de kemik yıkımına katkıda bulunur. Bununla birlikte, insan B lenfositlerinin yaşam sürelerinin uzamasına ve proliferasyonlarına katkıda bulunduğu, ayrıca bu hücrelerin plazma hücrelerine farklılaşmasını teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu durum, özellikle kronik periodontitisin kemik yıkım lezyonlarında B/plazma hücrelerinin RANKL üretiminde önemli rol oynamasıyla ilişkilidir (Doreau ve ark. 2009).

Çok sayıda çalışma, periodontitisli bireylerde IL-17 düzeylerinin, sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde arttığını ortaya koymuştur (Altaca ve ark. 2024; Balu ve ark. 2024; Sobeih ve ark. 2024). Bu da IL-17'nin periodontal hastalıkların patogenezinde etkili bir pro-inflamatuvar faktör olduğunu göstermektedir.

#### **2.2.5. TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$ , bağışıklık ve iskelet sistemleri üzerinde pleiotropik etkiler gösteren, oldukça güçlü bir pro-inflamatuvar sitokindir. TNF geni kromozom 6 üzerinde yer almakta olup (Visentainer 2017), inflamasyon sırasında özellikle aktive olmuş T lenfositler, monositler/makrofajlar ve fibroblastlar tarafından yoğun şekilde sentezlenir. TNF- $\alpha$ , hem 26 kDa'lık transmembran protein formunda hem de 17 kDa'lık çözünür formda ifade edilebilir. Bu sitokin, iki farklı hücre yüzeyi reseptörüne bağlanarak (TNF-R1 – 55 kDa ve TNF-R2 – 75 kDa) hücre içi sinyal yollarını aktive

eder. Sinyal iletiminde c-Jun, NF- $\kappa$ B ve kalsiyum aracılı yollar etkili olur; bu da inflamasyonun biyolojik hücrel yanıtlarını tetikler. Bu yanıtlar arasında (i) ICAM-1 ve E-selektin gibi lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonu, (ii) lökosit göçü, (iii) vasküler geçirgenlik artışı, (iv) MMP ve diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi ile (v) osteoklastların RANKL-bağımlı veya bağımsız farklılaşması yer alır (Idriss ve Naismith 2000; Pietschmann 2016).

Makrofajlar, TNF- $\alpha$ 'nın başlıca kaynağını oluştururken, T ve B lenfositleri de dikkate değer düzeyde TNF- $\alpha$  sentezleyebilir. TNF üretimi, hücrenin aktivasyon düzeyine ve maruz kaldığı stimülasyon tipine bağlı olarak değişir. Özellikle LPS ile uyarılan makrofajlar, TNF transkripsiyonunu yaklaşık üç kat artırır ve bu da TNF sentezini güçlü biçimde tetikler (Baer ve ark. 1998; Poznansky ve ark. 2023).

Ayrıca, TNF- $\alpha$  yalnızca otokrin değil, aynı zamanda güçlü bir parakrin düzenleyici olup IL-1, IL-6, IL-8, granülosit koloni uyarıcı faktör ve M-CSF gibi farklı inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu artırır (Haworth ve ark. 1991; Butler ve ark. 1995). TNF- $\alpha$ , fibroblastlarda ICAM-1 gibi moleküllerin sentezini de uyardığı bilinmektedir (Tilders ve ark. 1994).

TNF- $\alpha$ 'nın biyolojik etkileri reseptörlerine göre farklılaşmaktadır. TNF-R1'in özellikle konak savunmasının başlatılması ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığı bildirilirken, TNF-R2'nin T hücre proliferasyonunu uyarmada ve TNF- $\alpha$  kaynaklı inflamatuvar yanıtları sınırlamada önemli olduğu düşünülmektedir (Yang ve ark. 2018; Papazian ve ark. 2021).

Periodontal hastalıklarda TNF- $\alpha$  düzeyleri artmış olarak saptanmıştır. Bu sitokinin inflamasyon süreci boyunca bağ dokusu yıkımı ve alveolar kemik rezorpsiyonundaki etkileri birçok çalışmada belgelenmiştir (Varghese ve ark. 2015; Martínez-Aguilar ve ark. 2019; Wang ve ark. 2023). TNF- $\alpha$ 'nın bu etkileri, periodontitis patogenezinde merkezi bir rol üstlendiğini açıkça ortaya koymaktadır.

### **2.3. Araşidonik Asit Metabolitleri**

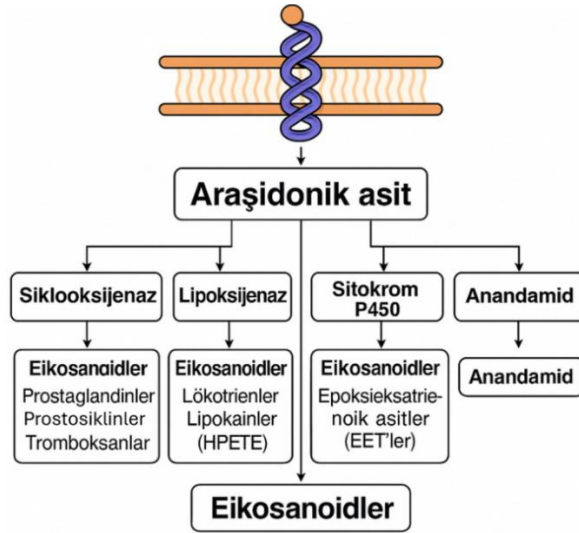
AA, omega-6 ailesine ait bir poliansatüre yağ asidi türü olup, insan ve diğer memelilerin organizmalarında ekzojen kaynaklarla alınabilir. Bu kaynaklar arasında yüksek düzeyde AA içeren yumurtalar, somon, ton balığı gibi besinlerin doğrudan tüketilmeleriyle sağlanabilir (Taber ve ark. 1998). Ayrıca, vücutta linoleik asit (18:2n-

6) metabolizması yoluyla da araşidonik aside dönüşüm gerçekleşebilir (Lee ve ark. 2016).

Vücuttaki AA, hücre zarındaki yapısal fosfolipitlere entegre şekilde veya bağışıklık hücrelerinde yer alan lipit gövdelerinde depo edilmiş olarak bulunur. Özellikle iskelet kası, beyin, karaciğer, dalak ve retinada bulunan fosfolipit membranlarda yüksek miktarda AA tespit edilmiştir (Tallima ve ark. 2015; Weller 2016). Bu asit, düşük sıcaklıklarda dahi hücre zarlarının akışkanlığını korumaya yardımcı olur. Ayrıca, enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalarla moleküler oksijenle etkileşerek, eikozanoidler ve izoprostanlar gibi biyoaktif oksijenli moleküllerin üretimini mümkün kılar (Brash 2001).

Hücresel düzeyde, AA'nın serbestleşmesi fosfolipaz ailesinden olan fosfolipaz A2, fosfolipaz C ve fosfolipaz D tarafından fosfolipitler üzerinden gerçekleştirilir. Serbest hale gelen AA, dört farklı enzimatik yoldan biri aracılığıyla metabolize edilebilir: COX, Lipoksijenaz (LOX), Sitokrom P450 ve Anandamid yolları. Bu yollar, yerel hormonlar ve hücresel sinyal molekülleri olarak görev yapan eikozanoidler gibi biyoaktif oksijenli omega-6 grubuna ait poliansatüre lipidlerin ve diğer poliansatüre lipid bileşiklerinin üretimini sağlar (Tallima 2021; Zhang ve ark. 2023).

COX yolunda, COX-1 ve COX-2 enzimleri görev alır ve prostaglandinler, prostasiklinler ve tromboksanlar gibi moleküllerin sentezinde rol oynayan çeşitli enzimlerle birlikte çalışır. LOX yoluysa LOX-5, LOX-8, LOX-12, LOX-15, lökotrienler (LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, LTE4), lipoksinler (LXA4 ve LXB4), ayrıca hidroperoksieikosatetraenoik asitler gibi ürünlerin üretimini sağlar. Anandamid yolunda ise, yağ asidi amid hidrolaz enzimi aracılığıyla endokannabinoid olan anandamid sentezlenir (Denisenko ve ark. 2015; Tallima 2021; Zhang ve ark. 2023).



Şekil 2.2. AA metabolizması

### 2.3.1. Siklooksijenaz Yolu

COX-1, vücut dokularında sürekli olarak bulunan ve LPS gibi uyaranlara kısa süreli maruziyet sonrası akut inflamatuvar yanıtın oluşmasında görev alan bir enzimdir. Bu izoform aynı zamanda hücrede LT'lerin biyosentezini atırıcı veya azaltıcı şekilde yönlendirebilir bir etkiye sahiptir. COX-1, tromboksan sentaz, prostaglandin F sentaz ve iki farklı prostaglandin D sentaz izoformu aracılığıyla sırasıyla tromboksan A2, prostaglandin F2 alfa ve prostaglandin D2 üretimini sağlar (Naraba ve ark. 1998; Brock ve ark. 1999; Hata ve Breyer 2004).

Diğer taraftan COX-2, esas olarak böbrek ve beyin makrofajlarında bulunan ve indüklenabilir özelliğe sahip bir enzimdir. Bu izoform; bakteriyel endotoksinler, sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri gibi inflamasyonun tetikleyicilerine maruziyetten sonraki 3 ila 24 saat içerisinde ekspresyon düzeyinde artış gösterir. COX-2, çoğunlukla prostaglandin I sentaz ile birlikte çalışır ve sırasıyla prostasiklin I2 ile PGE<sub>2</sub>'nin sentezini gerçekleştirir (Naraba ve ark. 1998; Brock ve ark. 1999).

Prostanoidlerin sentezi, bu enzimlerin inflamasyonun meydana geldiği bölgedeki ekspresyon durumuna bağlı olarak şekillenir. Örneğin, trombositler başlıca tromboksan A2 üretirken, endotel hücreleri mevcut enzim profilinin durumuna göre genellikle prostasiklin I2 üretimi yaparlar (Al-Hakeim ve ark. 2021).

#### 2.3.1.1. COX-2

COX-2, araşidonik asidin metabolizmasında görev alan önemli bir izoenzimdir. Normal şartlar altında COX-2'nin ifadesi oldukça düşüktür veya

saptanamayacak düzeylerde. Ancak iltihabi yanıtı aracılık eden sitokinler, hücrel büyüme teşvik eden faktörler ve bakteriyel kaynaklı toksinler gibi çeşitli uyarıcıların etkisiyle başta inflamatuvar yanıtı aracılık eden hücreler olmak üzere hücrelerde hızlı bir şekilde uyarılır (Charlier ve Michaux 2003). Bu enzim, yalnızca uyarı ile değil; beyin, kalp ve böbrek gibi belirli dokularda yapısal düzeyde de mevcuttur. (Yasojima ve ark. 1999; Charlier ve Michaux 2003).

COX-2 enzimi yalnızca inflamasyon süreçlerinde değil, aynı zamanda çeşitli malignite türlerinde (kolon, akciğer ve meme kanserleri), nörodejeneratif hastalıklarda (Alzheimer ve Parkinson) ve kardiyovasküler patolojilerin (ateroskleroz, tromboz, miyokard enfarktüsü ve inme) patofizyolojik süreçleri üzerinde belirleyici bir etkisi bulunmaktadır (Barreca ve ark. 2023; Surguchov ve Surguchev 2024).

COX-2 prostasiklin  $I_2$  ile  $PGE_2$  gibi biyoaktif lipid mediatörlerin sentezini gerçekleştirir (Holzhausen ve ark. 2005). Endotel hücrelerinde üretilen prostasiklin  $I_2$ , vazodilatör etkisi sayesinde vasküler düz kaslarda relaksasyona neden olur; ayrıca trombosit agregasyonunu ve endotel yüzeyine yapışmasını engelleyerek hemostatik dengenin korunmasında rol oynar. Kardiyovasküler sistemde güçlü bir genişletici etki gösterdiği bildirilmektedir (Shinmura ve ark. 2000).

Öte yandan,  $PGE_2$ ; özellikle aktif hale geçmiş makrofaj ile fibroblast hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Periodontal hastalık bağlamında, bu molekül inflamatuvar bu mekanizmaların düzenlenmesine katkı sağlayan temel bir unsur olarak işlev görür ve alveolar kemik yıkımına katkıda bulunur (Ren ve ark. 2023).

#### **2.3.1.2. Prostaglandin $E_2$**

$PGE_2$ , araşidonik asidin COX yoluyla metabolizmasından türeyen önemli bir prostanoiddir. Bu molekül, başta aktive olmuş makrofajlar ve fibroblastlar olmak üzere immün hücreler ile gingival ve PDL fibroblast hücrelerince sentezlenir (Noguchi ve Ishikawa 2007).  $PGE_2$  sentezinde ilk adımda, endoperoksit sentaz kompleksi tarafından AA'dan  $PGG_2$  ve  $PGH_2$  oluşur; bu ara ürünlerden  $PGH_2$ ,  $PGE$  sentaz aracılığıyla  $PGE_2$ 'ye dönüştürülür (Zhang ve ark. 2023).  $PGE_2$ , sentezlendiği bölgelerde kısa yarı ömrü nedeniyle lokal etki gösteren biyoaktif bir lipid mediatördür (Park ve ark. 2006).

İnsan vücudunda en bol bulunan primer prostaglandin olan  $PGE_2$ 'nin etkileri, dört çeşit G-protein bağlı reseptörleri (EP1, EP2, EP3, EP4) aracılığıyla iletilir (Li ve

ark. 2017). Bu reseptörler, nosisepsiyon, hematopoez, kanser, böbrek filtrasyonu, kan basıncının düzenlenmesi, vasküler geçirgenlik, düz kas fonksiyonları gibi birçok fizyolojik süreci modüle eder (Kawabata 2011; Li ve ark. 2017; Finetti ve ark. 2020). Özellikle EP2 ve EP4 reseptörlerinin osteoklastogenezi indüklediği gösterilmiştir; EP4 reseptörüne özgü agonistlerin kemik hacmini artırma potansiyeli diğerlerinden daha fazladır (Sakuma ve ark. 2000).

PGE<sub>2</sub>, periodontitis dahil olmak üzere birçok inflamatuvar durumda merkezi bir görev alır. IL-1 ve TNF- $\alpha$ , AA yolunu aktive ederek PGE<sub>2</sub> üretimini artırır. LPS ile aktive edilen gingival makrofajlar ile fibroblastlar yüksek düzeyde PGE<sub>2</sub> salgılayarak inflamatuvar yanıtı şiddetlendirir. LPS'nin doğrudan etkisine ek olarak, bu süreçte salınan IL-1 $\beta$  gibi sitokinler de mezenkimal hücrelerin ve osteoklastların PGE<sub>2</sub> üretmesini uyarır (Richards ve Rutherford 1988; Noguchi ve Ishikawa 2007).

PGE<sub>2</sub>, vazodilatasyonu indükleyerek, kapiller geçirgenliği artırarak ve diğer inflamatuvar mediatörlerle sinerjik etki göstererek inflamatuvar kaskadın ilerlemesine katkıda bulunur (Williams ve Peck 1977). Ayrıca PGE<sub>2</sub>, MMP'lerin üretimini tetiklerken, RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastik aktiviteyi kuvvetlendirir ve kemik rezorpsiyonunu uyarır. PGE<sub>2</sub>'nin etkisiyle RANKL, osteoklast öncülleri üzerindeki RANK reseptörlerine bağlanarak olgun osteoklast oluşumunu başlatır (Roux ve Orcel 2000; Noguchi ve Ishikawa 2007).

Periodontitisli bireylerde hem gingival doku hem de DOS'ta PGE<sub>2</sub> düzeylerinin anlamlı biçimde arttığı, hastalık şiddetiyle ilişkili olduğu ve hastalığın biyobelirteci olarak değerlendirilebilir (Sánchez ve ark. 2013). Dişeti oluşuna doğrudan uygulanan PGE<sub>2</sub>'nin, krestal alveolar kemikte osteoklast birikimini artırarak kemik yıkımını şiddetlendirdiği rapor edilmiştir (Miyauchi ve ark. 1992).

PGE<sub>2</sub> savunma hücrelerine etki ederek Th1 farklılaşmasını, B hücresi fonksiyonlarını, T hücresi aktivasyonunu ve alerjik inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (Harris ve ark. 2002; Kunikata ve ark. 2005). Ayrıca makrofajlarda MMP-2 ile MMP-9'un sentezini arttırmakta olduğu da gösterilmiştir (Cipollone ve ark. 2001).

Sonuç olarak, PGE<sub>2</sub> yalnızca inflamasyonun lokal belirtileri olan kızarıklık, ödem ve ağrıyı tetiklemekle kalmaz; aynı zamanda kollajen yıkımı, bağ doku yıkımı

ve alveolar kemik rezorpsiyonunu da doğrudan etkileyerek periodontitisin ilerleyişinde kilit bir rol oynar.

## 2.4. VEGF-A

VEGF hem gelişim sürecinde hem de fizyolojik koşullar altında organ fonksiyonlarının sürdürülmesinde çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip, çok işlevli bir büyüme faktörüdür. VEGF, ilk kez 1989 yılında izole edilmiş ve anjiyogenez üzerinde etkili bir faktör olarak tanımlanmıştır (Ferrara ve Adamis 2016). Bu molekül, özellikle endotel hücrelerine yönelik etkileriyle öne çıkmakla birlikte, çeşitli diğer hücre tipleri üzerinde de işlevsel sonuçlar doğurabilen bir büyüme faktörüdür.

VEGF'nin temel etkileri arasında endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü desteklenmesi yer alır (Leung ve ark. 1989). Bu özellikleri sayesinde VEGF, vaskülogenez (mezenkimal hücrelerden endotel hücrelerine farklılaşma yoluyla damar oluşumu) ve anjiyogenez (mevcut damarlardan yeni damarların tomurcuklanması) süreçlerinin kritik bir düzenleyicisidir (Ferrara ve ark. 2003).

VEGF ailesinde en fazla dikkat çeken molekül VEGF-A'dır. Bunun temel nedeni, bu izoformun hem damar geçirgenliğini artırması hem de endotel hücrelerinin çoğalmasını uyararak anjiyogenezin temel bir düzenleyicisi olmasıdır (Ferrara ve Adamis, 2016). VEGF-A, hem normal fizyolojik koşullarda damar homeostazının sürdürülmesinde hem de inflamasyon gibi patolojik durumlarda vasküler yeniden yapılanmanın kontrolünde kilit bir rol oynamaktadır (Herbert ve Stainier 2011).

VEGF-A, çok çeşitli biyolojik işlevlere sahip bir moleküldür. Hücre yapışması, kemotaksi, hücre proliferasyonu, damar gelişimi ve ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi gibi süreçlerde düzenleyici rol oynayabilir (Andrikopoulos ve ark. 2011). VEGF-A'nın üretimi; TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, bakteriyel endotoksinler, PGE<sub>2</sub> ve fibroblast büyüme faktörü gibi farklı pro-inflamatuvar ve anjiyojenik ajanlar tarafından uyarılabilir (Butchibabu ve ark. 2014).

Periodontal inflamasyon süreci, periodonsiyumun damar yapısını doğrudan etkiler. Bu durum, anjiyogenezin uyarılması ile birlikte çeşitli spesifik mediatörlerin ekspresyonunun artmasına neden olur. VEGF-A fizyolojik ve patolojik koşullarda ortaya çıkan neovaskülarizasyon (yeni damar oluşumu) süreçlerinde önemli görevler üstlenir. Özellikle periodontitisli hastalarda VEGF-A ekspresyonunun arttığı bildirilmektedir (Tayman ve ark. 2019).

Yapılan araştırmalarda, periodontal tedavi sonrasında VEGF-A ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir azalma gözleendiğini bildirmektedir (Vasconcelos ve ark. 2016; Afacan ve ark. 2019; Lin ve ark. 2019). Ayrıca, nitrik oksit üretimini artırarak damar geçirgenliğini etkiler ve kemik rezorpsiyon süreçlerinde de aktif rol alır (Lucarini ve ark. 2016). Bu bulgular, VEGF-A'nın periodontal inflamasyonla ilişkili vasküler değişikliklerde merkezi bir role sahip olduğunu desteklemektedir (Padma ve ark. 2014; Lin ve ark. 2019).

#### **2.4. RUNX-2**

RUNX-2, Runx ailesinin bir üyesi olup, RUNX-1, RUNX-2 ve RUNX-3 ile birlikte bu transkripsiyon faktörleri ailesini oluşturur. RUNX-2, çok işlevli bir transkripsiyon faktörü olup özellikle osteoblast farklılaşması ve kondrosit olgunlaşması süreçlerinde kritik rol oynar. Bu faktör, mezenkimal kökenli hücrelerde, osteoblast soyundan gelen hücrelerde ve kondrositlerde yaygın olarak ifade edilir (Komori ve ark. 2018).

RUNX-2 geni, P1 ve P2 olarak iki çeşit promotör bölge tarafından kontrol edilmektedir. Her iki promotör bölgeden transkribe edilen izoformlar da osteoblastik ve kondrojenik hücrelerde işlevseldir (Kawane ve ark. 2014). Yapısal olarak RUNX-2,  $\alpha$  ve  $\beta$  olarak iki alt birimi vardır ve DNA'ya bağlanma özelliği gösteren bir Runt domain içerir (Komori 2006).

RUNX-2'nin ifade düzeyi, kemik ile ilişkili pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Osteoartrit, osteoporoz ve dental gelişim bozuklukları RUNX-2 regülasyonundaki anormalliklerle bağlantılıdır (Pérez-García ve ark. 2019; Shi ve Zhang 2019). Ayrıca bu transkripsiyon faktörü, periodontal dokularda da önemli bir role sahiptir. RUNX-2, PDL, gingival mezenkimal kök hücreler, periodontitisle ilişkili fibroblastlar ve gingival fibroblastlarda da ifade edilmektedir (Kim ve ark. 2017; Yan ve ark. 2021).

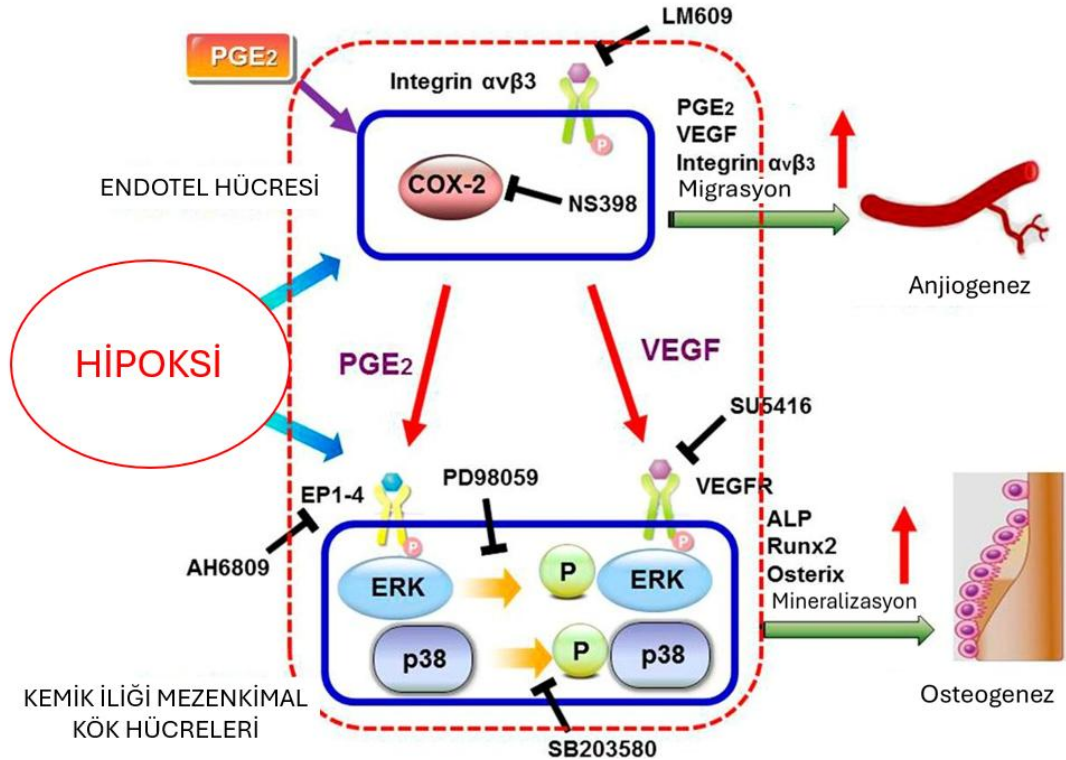
RUNX-2 ekspresyonunun düzenlenmesi, özellikle Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yoluyla ilişkilidir.  $\beta$ -katenin, Wnt yolunun çekirdek faktörü olup RUNX-2'nin gen ekspresyonunu doğrudan modüle eder (Pérez-García ve ark. 2019). Periodontitisli hastalarda  $\beta$ -katenin ekspresyonunun arttığı ve bu artışın KAK ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Chi ve ark. 2018). Benzer şekilde, RUNX-2 ekspresyonunun da periodontitis hastalarında, sağlıklı bireylere oranla daha yüksek düzeylerde

bulunduğu saptanmıştır ve bu artış hem KAK hem de SD parametreleriyle pozitif korelasyon göstermektedir (Wang ve ark. 2024).

## 2.5. PGE<sub>2</sub>, VEGF ve RUNX-2 İlişkisi

PGE<sub>2</sub>, endotel hücrelerinde VEGF'in mRNA ve protein düzeylerini artırır. Bu etki, siklik adenosin monofosfat / protein kinaz A ve ekstrasellüler sinyalle regüle Kinaz 2 / c-Jun N-terminal Kinaz 1 sinyal yolları aracılığıyla gerçekleşir. Bu mekanizma, PGE<sub>2</sub>'nin anjiyogenezi teşvik etme yeteneğini açıklar (Pai ve ark. 2001). Ayrıca PGE<sub>2</sub>, periodontal bağ dokusu hücrelerinde RUNX-2 ekspresyonunu artırabilir. Bu artış, osteojenik farklılaşmayı modüle eder ve kemik dokusunun yeniden yapılanmasında rol oynar (Manokawinchoke ve ark. 2014).

Hipoksiye duyarlı faktör  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) / VEGF, hipoksik bir ortamda PDL kök hücrelerinin osteojenik farklılaşma süreci sırasında RUNX-2 ekspresyonunu artırarak osteojenik farklılaşmayı destekleyebilir (Xu ve ark. 2019). Ayrıca RUNX-2 aşırı ekspresyonu VEGF ve HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunu arttırmaktadır (Kwon ve ark. 2011).



Şekil 2.3. PGE<sub>2</sub>-VEGF-RUNX-2 ilişkisi (Wu ve ark. 2023)

## 2.6. Spirulina (*Arthrospira*)

Spirulina, hem tatlı hem de tuzlu su ortamlarında bulunabilen mikroskobik, spiral şekilli bir siyanobakteridir. Prokaryotik yapıda olan bu fotosentetik

mikroorganizma, özellikle yeterli güneş ışığı alan göller ve göletlerde doğal olarak yetişmektedir. Spirulinanın *Arthrospira Platensis*, *Arthrospira Fusiformis* ve *Arthrospira Maxima* gibi alt grupları bulunmaktadır. *Arthrospira Platensis* ve *Arthrospira Maxima* genellikle filamentöz ve çok hücreli olarak bulunur (Marzieh Hosseini ve ark. 2013).

Bu mikroalg; klorofil-a, fikobiliproteinler (özellikle C-fikosiyanin ve alofikosiyanin), beta-karoten, ksantofil, zeaksantin, miksoksanthofil ve diğer pigmentler sayesinde mavi-yeşil bir renge sahiptir. Söz konusu pigmentler, yalnızca renksel özellikleriyle değil, önemli antioksidan ve immünomodülatör etkileriyle de dikkat çekmektedir (Ravi ve ark. 2010). C-fikosiyanin özellikle, inflamasyon sürecine katılan COX-2 enzimini inhibe ederek PGE<sub>2</sub> ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar mediatörlerin üretimini doza bağımlı şekilde baskılayabilmektedir (Romy ve ark. 1998).

Besin içeriği bakımından spirulina, %55–70 oranında protein, %30 karbonhidrat ve %8 yağ içermektedir. Yağ asidi profili; linoleik,  $\gamma$ -linolenik, oleik, araşidonik, eikosapentaenoik ve dokosaheksaenoik asitler gibi önemli doymamış yağ asitlerini kapsamaktadır. Ayrıca, esansiyel amino asitler (lizin, metiyonin, sistein), vitaminler (B kompleks, D, E, K vitamini ve  $\beta$ -karoten), mineraller (demir, magnezyum, kalsiyum, potasyum, çinko, selenyum, krom, bakır, fosfor, mangan ve sodyum), lif, şeker ve çeşitli fitokimyasallar açısından da zengin bir kaynaktır (Habib ve ark. 2008).

Bu bileşenlerin varlığı, spirulinayı sadece bir besin takviyesi değil, aynı zamanda potansiyel bir farmasötik ajan haline getirmektedir. İn vitro ve in vivo olarak yapılan çalışmalarda, spirulinanın antioksidan, anti-inflamatuvar, antijenotoksik, antidiyabetik, antikanser, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir (Abdel-Daim ve ark. 2015; Aissaoui ve ark. 2017; Shabana ve ark. 2017). Spirulinanın bağışıklık sistemini fagositoz aktivitesini artırarak ve antikor ile sitokin üretimini düzenleyerek desteklediği bildirilmiştir (Ravi ve ark. 2010). Ayrıca spirulina özütlerinin, NF- $\kappa$ B sinyal yolunun nükleer translokasyonunu geciktirerek pro-inflamatuvar sitokin ekspresyonunu baskıladığı ve böylece inflamatuvar bozuklukların yayılımını azalttığı belirtilmiştir (Park ve ark. 2008).

Yapılan bir deneysel periodontitis çalışmasında SE verilen gruplarda birçok pro-inflamatuvar sitokin, MMP 8 ve MMP 13'ün ekspresyonları azalmıştır. IL-4'ü ve OPG /RANKL ekspresyon oranını arttırmıştır (Kang ve ark. 2021). Farklı bir çalışmada SE uygulamasının nitrik oksit, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 sentezi üzerinde inhibe edici bir aktiviteye neden olduğunu gösterdi (Ngu ve ark. 2022). Yapılan bir klinik çalışmada SE lokal olarak spirulina jeli uygulanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla spirulina jeli uygulanan grupta daha az KAK, SD ve IL-6 ekspresyonu görülmüştür (Elgendy ve ark. 2024).

## **2.7. Amaç ve Hipotez**

Literatür verileri doğrultusunda bu çalışmada ortaya konulan hipotez, deneysel periodontitis modeli oluşturulan gruba kıyasla spirulina uygulanan gruplarda; biyokimyasal (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10, IL-17, COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve RUNX-2), histopatolojik (inflamasyon derecesi, osteoklast ve osteoblast hücre sayıları) ve histomorfometrik (alveolar kemik kaybı) parametrelerde anlamlı değişikliklerin gözlemleneceği ve bu değişikliklerin birbiriyle ilişkili olacağı yönündedir.

Periodontitis patogeneğinde plak bakterilerinin ve LPS'lerin uyarılarıyla pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artış görülmektedir. Ayrıca bölgeye gelen hücrelerde RUNX-2, COX-2, VEGF-A ve PGE<sub>2</sub> seviyeleri yükselmektedir. Bu tez çalışmasının amacı, ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde SE uygulamasının anti-inflamatuvar etkilerinin biyokimyasal, histopatolojik ve histomorfometrik parametreler üzerinden değerlendirilerek periodontal doku hasarı üzerindeki potansiyel tedavi edici ve koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.09.2024 tarihli ve 2024-077 numaralı onayı doğrultusunda yürütülmüştür. Çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiş olup, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 24DU24009 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

#### 3.1. Deney hayvanları ve Barınma Koşulları

Çalışmamızda kullanılacak deney hayvan sayısı belirlenirken G Power programı ile gerçekleştirilen (G\*Power 3.1 yazılımı; Heinrich Heine Üniversitesi, Düsseldorf, Almanya) güç analizi sonuçlarına göre;  $\alpha$  değeri 0.05, istatistiki güç  $(1-\beta)$  değeri 0.80 ve etki büyüklüğü katsayısı  $f=0.80$  alınarak yapılan hesaplama göre gruplarda en az 8'er rat olması gerektiği belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında önerilen  $N=32$  örneklem büyüklüğü, çalışmanın amacı için yeterli sayıdadır. Bu doğrultuda çalışmamızda 16-20 haftalık ve 250-300 gram ağırlığında toplam 32 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Çalışmamızdaki deney hayvanları Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Çalışma için herhangi bir sağlık problemi olmayan ve daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış ratlar seçildi. Çalışmada kullanılan ratların bakımı ve beslenmesi yine aynı merkezde gerçekleştirildi. Çalışma süresince ratlar ortalama 21-22 °C, %55±3 bağıl nemli ve her saat 15 defa havalandırılan sessiz bir odada kafesler içinde kaldı. Ayrıca ratlara 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık periyodu uygulandı. Her kafeste 4 rat olacak şekilde toplamda 8 kafeste bakıldı (Şekil 3.1.). Ratlara herhangi bir besin ve su kısıtlaması uygulanmadan standart yemleriyle ve sularıyla beslendi. Hayvan deneyinin tüm süreci tecrübeli bir araştırmacı (K.Y.) tarafından gerçekleştirildi.



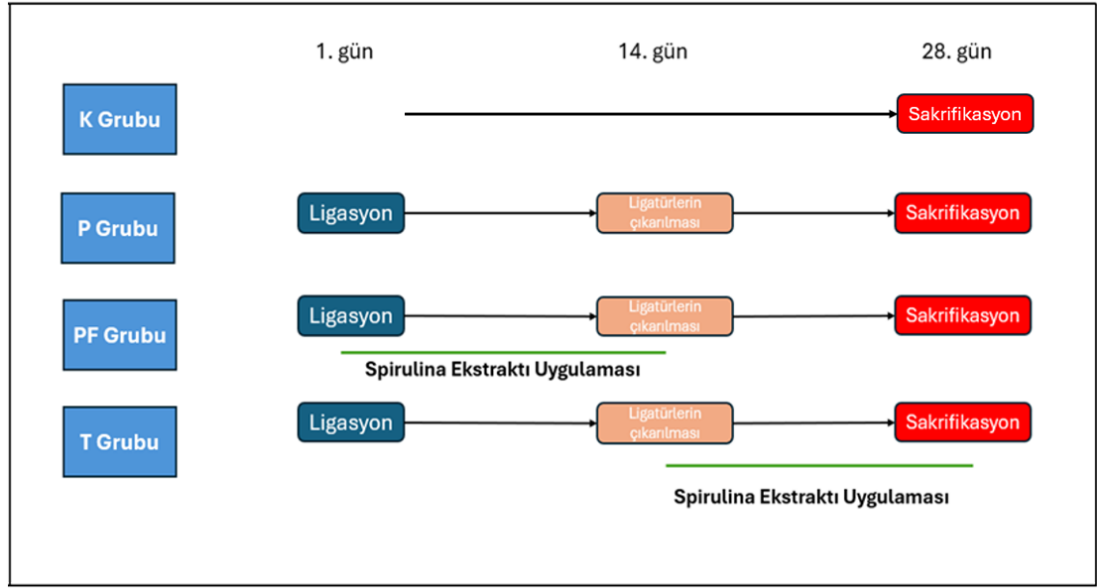
Şekil 3.1. Ratların bakım ortamı

### 3.2.Çalışma Grupları

Ratlar rastgele 4 gruba ayrılmıştır.

- Grup 1: Periodontal olarak sağlıklı grup, kontrol grubu (K) (n:8)
- Grup 2: Sadece deneysel periodontitis indüklenen ve spirulina ekstraktı uygulanmayan grup, deneysel periodontitis grubu (P) (n:8)
- Grup 3: Periodontitis indüklenen ve profilaktik etki için ligatürleme sonrası 14 gün boyunca oral gavajla distile suda çözünen 400 mg/kg spirulina ekstraktı verilen grup (PF) (n:8)
- Grup 4: Deneysel periodontitis indüklenen ve ligatürlerin alınmasından itibaren 14 gün süresince oral gavajla distile suda çözünen 400 mg/kg spirulina ekstraktı verilen tedavi grubu (T) (n:8).

Çalışmamızın deney akış şeması Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

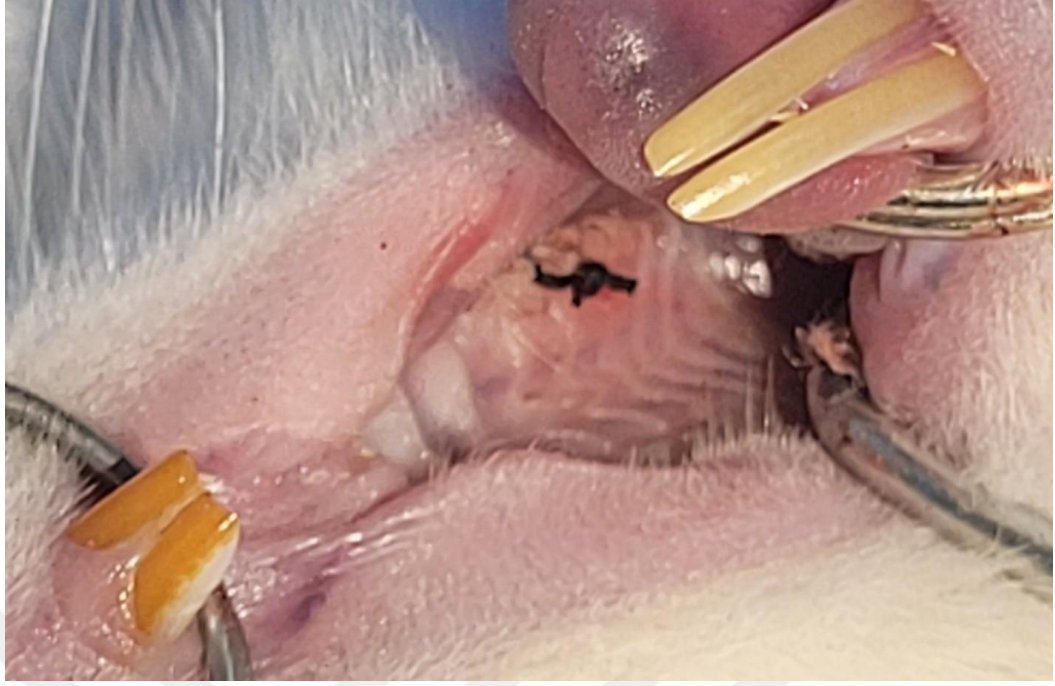


Şekil 3.2. Deney akış şeması

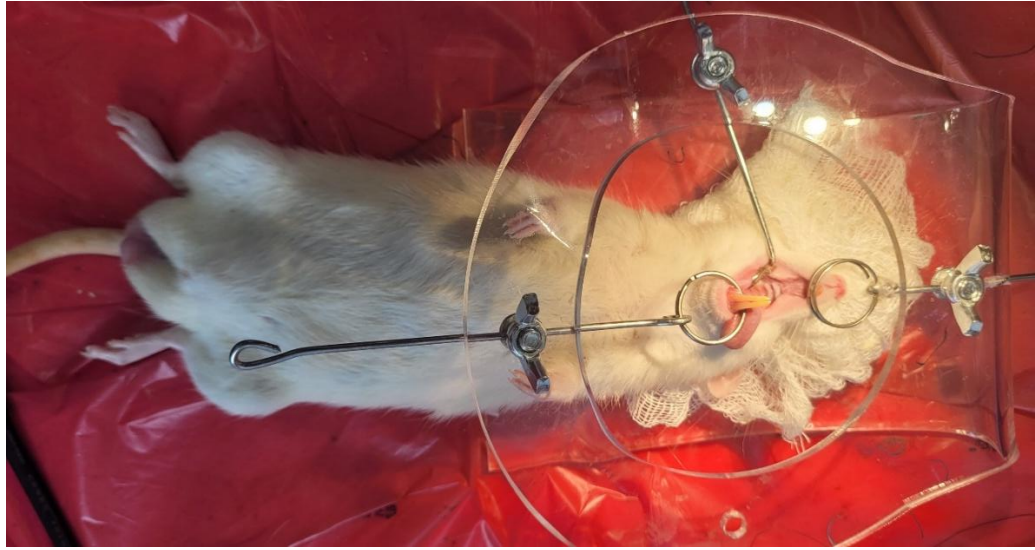
### 3.3. Deneysel Periodontitis Oluşturulması

Gece boyunca aç bırakılan ratlara, genel anestezi sağlamak amacıyla intramüsküler yolla ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür (Eczacıbaşı İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) kombinasyonu uygulandı. Çalışmamızda ilaç dozları ketamin 75 mg/kg ve ksilazin 10 mg/kg olarak ayarlandı. Diş morfolojisi deneysel periodontitis oluşturulmasını engelleyecek düzeyde deforme olan, diş kaybı olan hayvanlar deney dışı bırakıldı. Anestezi sonrası hayvanlar düz bir yüzeye alınarak yaptırdığımız aparat sayesinde ratların başları sabitlendi ve ligatür uygulamasına geçildi.

Deneysel periodontitisi indüklemek amacıyla, maksiller ikinci molar dişlerin etrafına 4/0 kalınlığında steril ipek sütürler (Doğsan İlaç Sanayi, İstanbul) submarjinal olarak bölgeye yerleştirildi. Sütürler, özellikle mezial-bukkal bölgede düğümlenecek şekilde konumlandırıldı ve işlem sırasında ratların daha stabil bir pozisyonda kalmaları için aparat kullanıldı (Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.). Bu uygulama, oral mikroorganizmalar için retansiyon alanı oluşturarak plak birikimini kolaylaştırmaktadır, böylece inflamasyonun ve AKK'nin oluşması hedeflendi. Ligatürler 14 gün yerinde bırakılmış ve bu süre zarfında günlük olarak kontrol edildi. Gerekli durumlarda gevşeyen veya yer değiştiren sütürler yeniden yerleştirildi. Tüm hayvanlar kafeslerde barındırıldı ve temel ihtiyaçları karşılandı.



**Şekil 3.3.** Maksiller 2. Molar dişe 4/0 ipek suture uygulaması

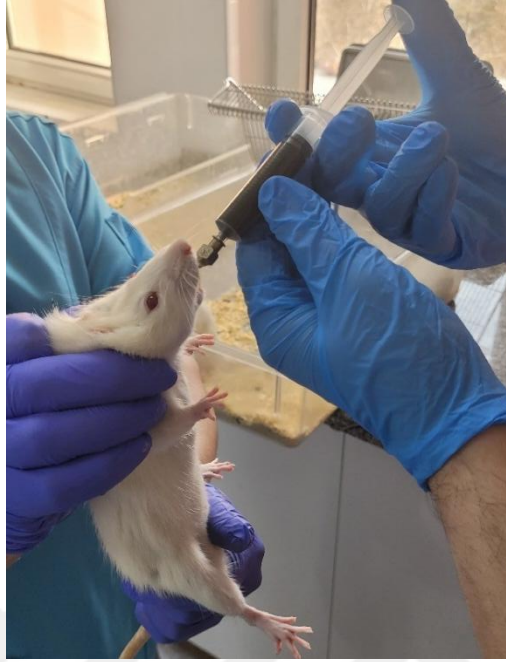


**Şekil 3.4.** Rat'ı sabit tutmak için kullanılan aparat

### **3.4. Spirulina Ekstraktının Oral Gavaj Yoluyla Uygulanması**

Ticari olarak temin edilen spirulina tozu (Organic Herb Inc., P.R. CHINA, S029.S60000.G0361.180518) 2 ml distile suda çözündürüldü. Ligatür uygulamasının ardından ratların ağırlıkları ölçüldü. Ratların ölçülen ortalama ağırlıklarına göre PF ve T deney gruplarına 400 mg/kg olacak şekilde kullanılacak spirulina ekstraktı mg olarak hesaplandı. Deney gruplarına verilecek ekstre miktarı hassas tartıda ölçüldü. Ratların ağırlıkları her hafta ölçüldü, güncel ağırlıklarına göre dozlar yeniden

hesaplandı. Ayarlanan doz, gruplara 14 gün boyunca 2 ml distile suda çözüldürüldü ve her gün aynı saatte oral gavajla ratlara verildi (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. SE'nin oral gavaj yoluyla uygulanması

### 3.5. Ratların Sakrifikasyonu, Doku ve Serum Örneklerinin Alınması

Çalışma süresince herhangi bir hayvan kaybı yaşanmadı, tüm ratlar belirtilen protokole uygun olarak deneyin sonuna kadar izlendi. Deneyin son gününde 32 adet ratın beslenmeleri durduruldu. Ratlara ketamin-ksilazin (50 mg/kg–10 mg/kg) (Ketalar, Pfizer, Türkiye–Rompun, Bayer, Türkiye) anestezisi uygulandı ve kanları kardiyak ponksiyon işlemiyle alındı (Şekil 3.6.). Ardından ratların sakrifikasyonu gerçekleştirildi.

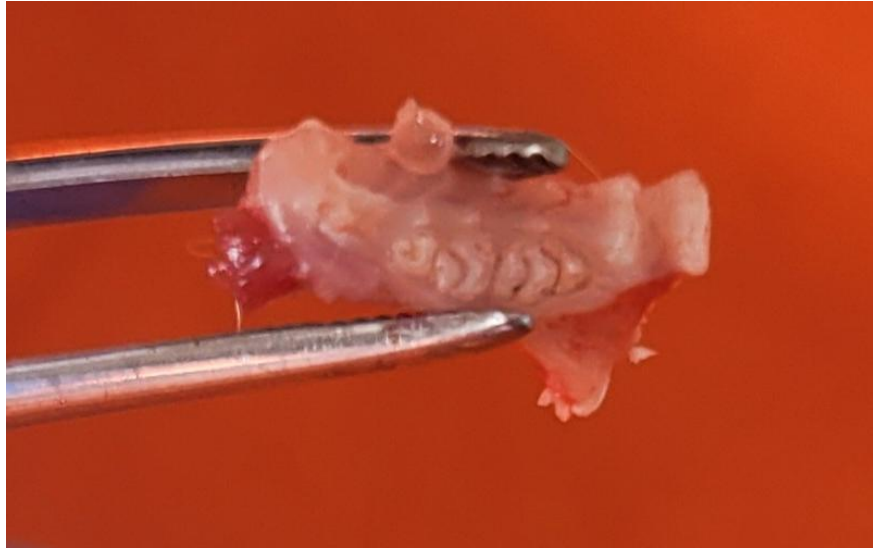
Sistemik biyokimyasal analizler için hayvanlardan kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındı. Kanlar, jel ve pıhtı aktivatörü içeren biyokimya tüplerine transfer edildi ve 30 dakika süresince oda sıcaklığında pıhtılaşmaları beklendi. Sonrasında, pıhtılaşan örnekler 10 dakika boyunca 2000 G'de soğuk santrifüj edildi (NÜVE NF-800R), elde edilen serumlar steril eppendorf tüplerine alındı. Tüm serum örnekleri, analiz yapılana kadar -80°C'de (Sanyo MDF U5386S) saklandı.

Sakrifikasyonun hemen ardından, ligatür uygulanmış diş ile çevresindeki alveolar kemikle beraber diş eti dokularının dolaşımını ve yapısal bütünlüğünü korumak amacıyla ilgili bölge eksize edilerek çıkarıldı (Şekil 3.7.). Alınan sert doku

örnekleri, her biri sızdırmaz kapaklı ayrı kaplara yerleştirildi ve fiksasyon amacıyla %10'luk formalin solüsyonuna alındı.



Şekil 3.6. Kardiyak ponksiyonla kan örneklerin alınması



Şekil 3.7. Sakrifikasyon sonrası sol maksillanın çıkarılması

Örneklerin preanalitik faktörlerden etkilenmesini önlemek amacıyla, tüm toplama, taşıma, işleme ve saklama işlemleri standardize edilmiş protokollere uygun

olarak gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler ise örnekler arasındaki zamansal farklılıkları en aza indirebilmek için eş zamanlı yürütüldü. Histolojik ve biyokimyasal analizler, değerlendiricilerin grup bilgisine erişimi olmadan kör (blinded) şekilde gerçekleştirildi.

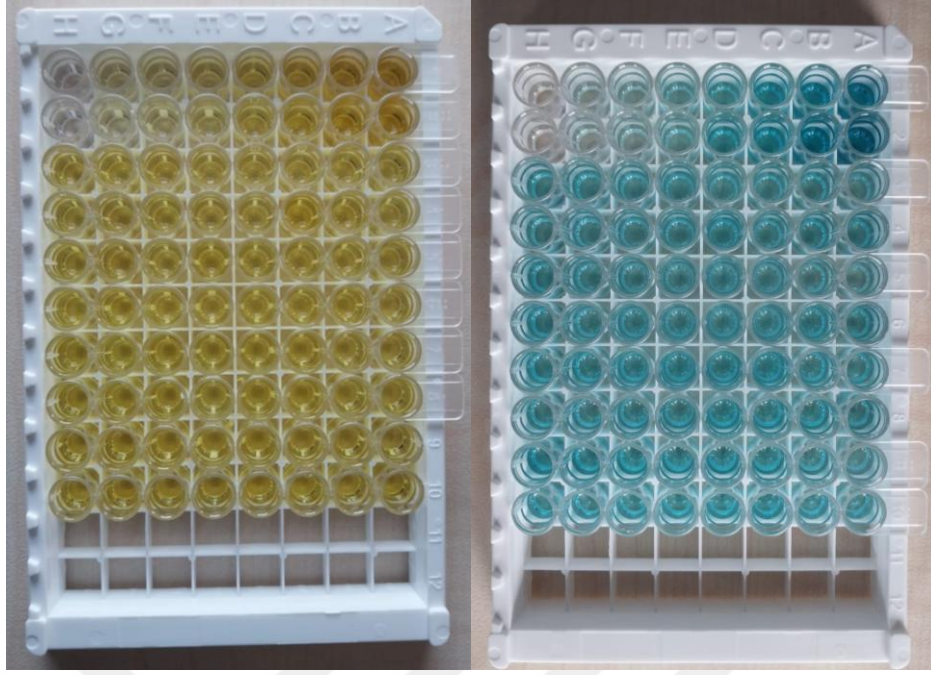
Rat IL-1 $\beta$  (BT LAB, Cat No: E0119Ra), Rat IL-6 (BT LAB, Cat No: E0135Ra), Rat TNF- $\alpha$  (BT LAB, Cat No: E0764Ra), Rat IL-4 (BT LAB, Cat No: E0133Ra), Rat IL-10 (BT LAB, Cat No: E0108Ra), Rat IL-17 (BT LAB, Cat No: E0115Ra), Rat COX-2 (BT LAB, Cat No: E1680Ra), Rat PGE<sub>2</sub> (BT LAB, Cat No: E0504Ra), Rat VEGF A (BT LAB, Cat No: BPE348) ve Rat RUNX2 (BT LAB, Cat No: E2244Ra) ELISA test kitleriyle üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde ELISA protokolü uygulanarak ELISA analizi yapıldı (Şekil 3.8.).

### **3.5.1. ELISA Analizinde Uygulanan Prosedür**

Analizler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. İlk olarak, ihtiyaç duyulan mikrotitre şerit sayısı hesaplanarak ilgili çerçeveye yerleştirildi; kullanılmayan şeritler 2–8°C’de muhafaza edildi. Standart ölçümleri için her ilgili kuyucuğa 50  $\mu$ L standart çözeltisi eklendi. Örnek analizi yapılacak kuyucuklara önce 40  $\mu$ L serum örneği, ardından 10  $\mu$ L spesifik antikor çözeltisi eklendi. Takiben, tüm kuyucuklara (hem örnek hem standart) 50  $\mu$ L streptavidin konjugatlı HRP çözeltisi ilave edildi ve içeriklerin homojen karışımı sağlandı.

Plaka, bu aşamadan sonra hava geçirmez bir kapakla örtülerek 37°C’de 1 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kapak çıkarıldı ve plakalar yıkama tamponu ile toplam 5 kez yıkandı. Her yıkamada kuyucuklara yaklaşık 300  $\mu$ L yıkama tamponu ilave edildi ve 30-60 saniye süresince bekletildi. Yıkama işlemi, manuel veya otomatik aspirasyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Yıkama sonrasında plaka, emici kağıt yardımıyla kurutuldu.

Renk gelişimi için her kuyucuğa sırasıyla 50  $\mu$ L Substrat A ve sonrasında 50  $\mu$ L Substrat B çözeltisi eklendi. Plaka tekrar ışık geçirmeyen bir kapakla örtülerek 37°C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Reaksiyon, her kuyucuğa 50  $\mu$ L durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırıldı. Renk değişiminin mavi renkten sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Durdurma işleminin ardından 10 dakika içinde, 450 nm dalga boyunda ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak optik yoğunluk değerleri ölçüldü.



Şekil 3.8. ELISA örnekleri

### 3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmanın sonunda ötenazi uygulanan hayvanlardan elde edilen sert doku örnekleri, laboratuvara taşınmadan önce %10'luk nötral buffered formalin çözeltisinde 24–48 saat boyunca fiksasyona tabi tutuldu. Fiksasyon sürecinin ardından dekalsifikasyon amacıyla örnekler %10'luk formik asit çözeltisine aktarıldı. Bu aşamada, dokuların yumuşama düzeyi haftalık olarak bistüri ucu ile manuel şekilde kontrol edildi ve her hafta formik asit çözeltisi yenilendi. Ortalama 4–6 haftalık süreç sonunda dekalsifikasyon tamamlandı.

Dekalsifiye edilen örneklerde diş, gingiva ve alveolar kemiği içeren bölgelerden kesitler alındı. Bu örnekler, otomatik doku takip cihazında (Sakura Tissue-Tek, Japan) rutin işlemlere alınarak parafine gömüldü. Parafinle gömülü dokulardan, mikrotom cihazı (Leica RM2245, Almanya) kullanılarak 4–5 mikrometre kalınlığında ardışık kesitler alınmış ve bu kesitler mikroskop lamalarına transfer edildi. Hazırlanan doku kesitlerine rutin Hematoksilen-Eozin boyama protokolü uygulandı.

Işık mikroskobuna entegre dijital kamera (Olympus SC50, Tokyo, Japan) ile donatılmış mikroskop (Olympus BX53, Tokyo, Japan) kullanılarak histolojik incelemeler gerçekleştirildi. Bu kapsamda periodontal yumuşak dokular, alveolar kemik, osteoklastlar, osteoblastlar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu düzeyi değerlendirildi.

Mikroskopik değerlendirmede:

- Osteoblastlar, alveolar kemik yüzeyinde yer alan küboidal hücreler olarak tanımlandı.
- Osteoklastlar, kıvrımlı kenarlı, çok çekirdekli hücreler olarak kabul edildi (Karatas ve ark. 2020).
- İnflamatuvar hücreler nötrofiller, lenfositler, eozinofiller ve plazmositler olarak tanımlandı. Bu hücrelerin sayımı, her kesitten seçilen 10 büyük büyütme alanında manuel olarak yapıldı.

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu için kantitatif bir skor sistemi uygulandı (Zekonis ve ark. 2014):

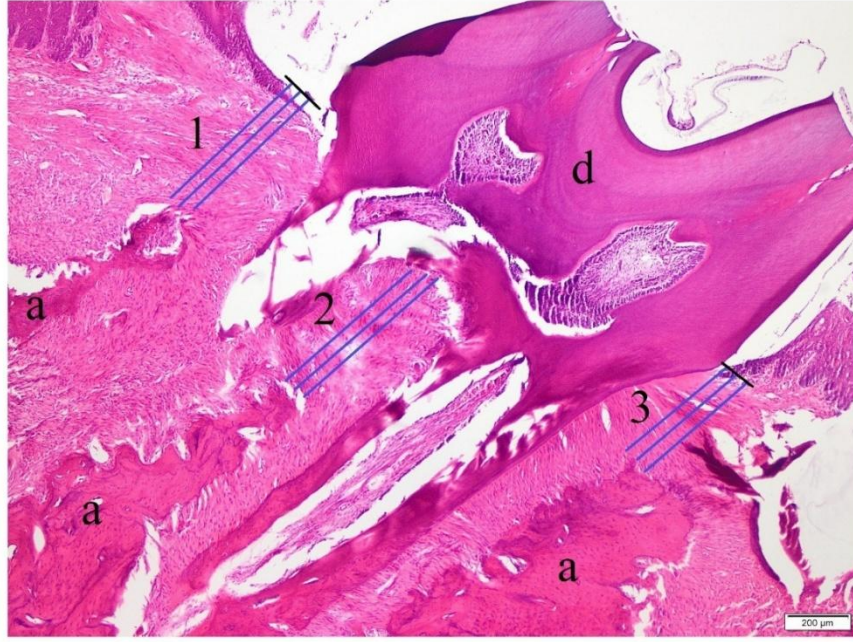
- Skor 0: İnflamatuvar hücre görülmedi.
- Skor 1: Düşük düzeyde infiltrasyon.
- Skor 2: Orta düzeyde infiltrasyon.
- Skor 3: Yüksek düzeyde infiltrasyon.

Bu değerlendirme hem inflamatuvar sürecin şiddetini belirlemek hem de tedavi grupları arasında karşılaştırma yapılmasına olanak tanıdı.

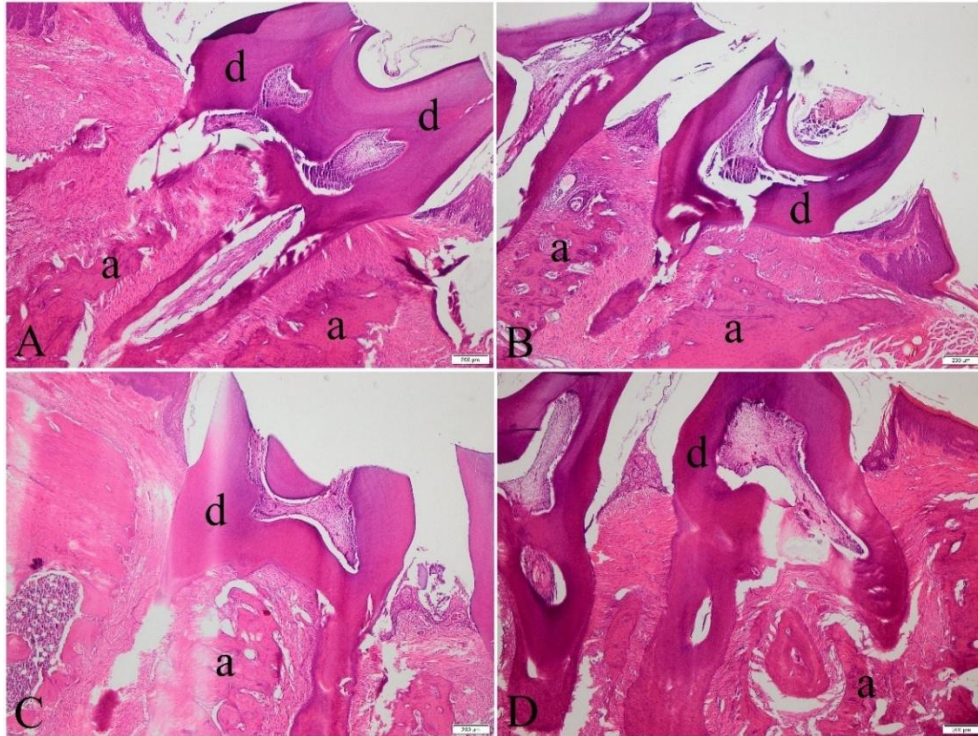
### 3.7. Histomorfometrik Değerlendirme

Histomorfometrik analiz kapsamında, AKK, mine-sement sınırı (MSS) ile alveolar kemik kret tepesi arasındaki dik mesafe ölçülerek belirlendi. Ölçümler, maksiller ikinci molar dişin mezial, furkasyon ve distal bölgelerinden, her bölge için üç farklı noktadan gerçekleştirildi (şekil 3.9.). Bu üç ölçümün aritmetik ortalaması alınarak her bölge için ortalama AKK değeri hesaplandı. Elde edilen değerler, ayrı ayrı mezial, furkasyon ve distal AKK olarak kaydedildi (Grauballe ve ark. 2005).

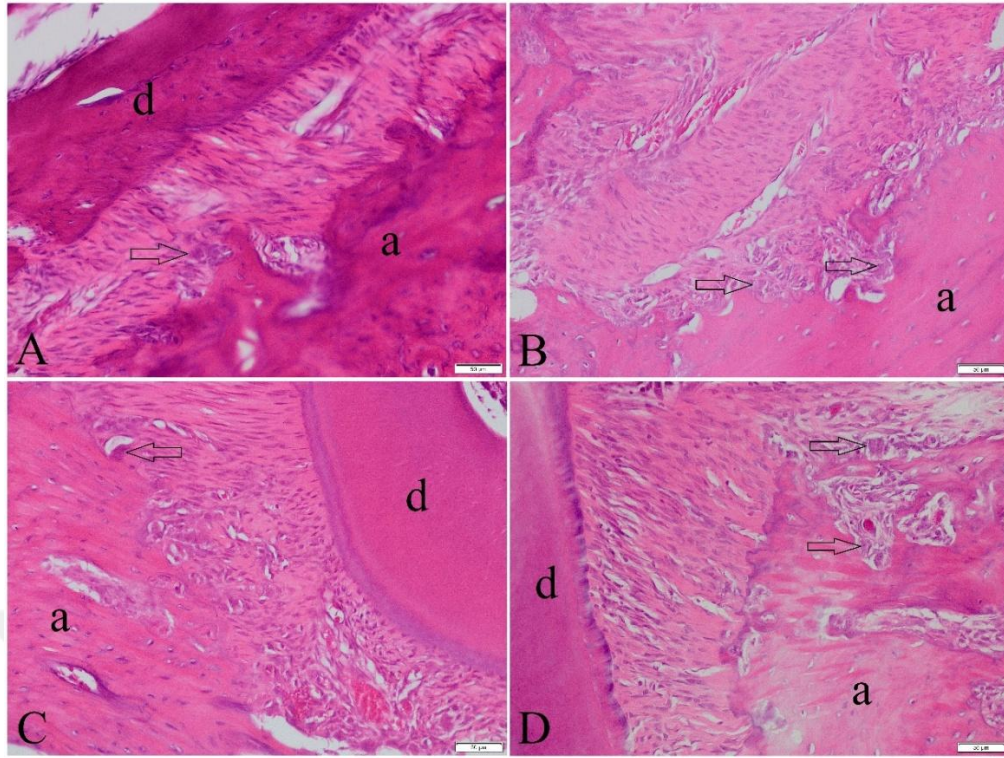
Analize, yalnızca yeterli kalitede elde edilen, yapısal bütünlüğü korunmuş ve artefakt içermeyen Hematoksilen/Eozin ile boyanmış histolojik kesitler dâhil edildi. Katlanmış, doku kaybı bulunan veya ölçüm yapılmasına elverişli olmayan preparatlar değerlendirme dışında bırakıldı. Mikroskopik incelemeler sırasında diğital kamera ile görüntüler kaydedildi (şekil 3.10. ve şekil 3.11.) ve bu görüntüler, Olympus cellSens Standard 1.18 yazılımı kullanılarak imaj analiz sistemi üzerinden sayısal olarak analiz edildi (şekil 3.12.).



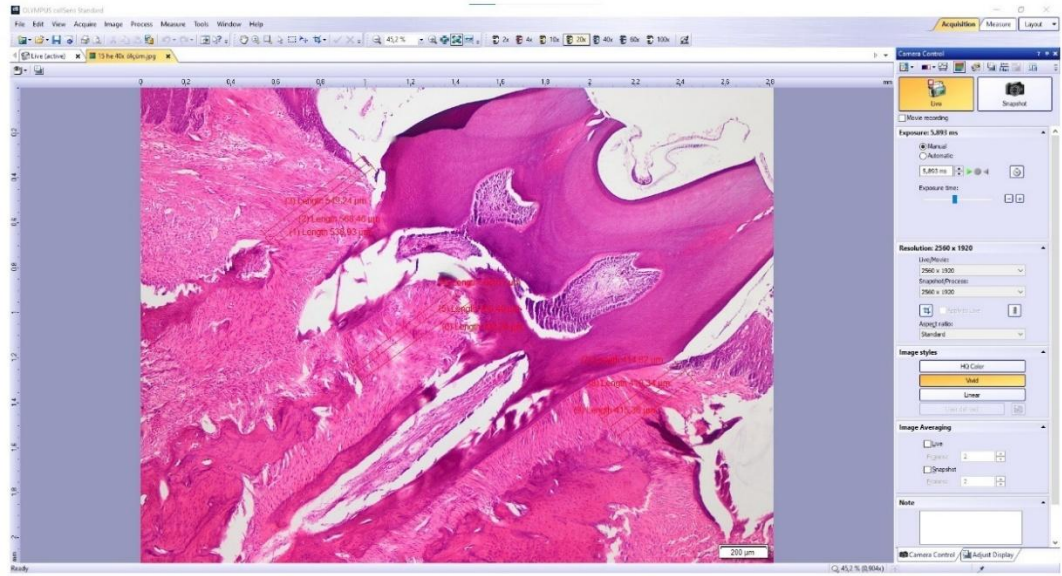
**Şekil 3.9.** AKK için belirlenen bölgelerin görüntüsü. AKK ölçümü için belirlenen bölgeler izlenmekte. Mine sement sınırı seviyesindeki hayali çizgiler (siyah çizgiler)den alveolar kemik (a) kreti tepesi arasında mezial (1), furkasyon (2) ve distal (3) bölgelerin her birinde birbirine paralel düzlemde 3'er hat boyunca belirlenen ölçüm traseleri (mavi çizgiler) izlenmekte. Azı dişin dentini "d" harfi ile gösterilmekte (Hematoksilen/Eozin, 40x).



**Şekil 3.10.** Gruplara ait diş, diş eti, alveolar kemik alanlarını içeren görüntüler. Gruplara ait diş, diş eti, alveolar kemik alanlarını içeren görüntüleri izlenmekte. A. Grup K, B. Grup P, C. Grup PF, D. Grup T. Alveolar kemik kreti "a" ile, dentin "d" ile işaretli (Hematoksilen/Eozin, 40x).



**Şekil 3.11.** Grupların daha büyük büyütmedeki görüntüsü. Grupların yüksek büyütme düzeyindeki mikroskopik incelemelerinde, osteoklastik hücreler çok çekirdekli yapılarıyla birlikte ok ile gösterilmiştir. B’de, C’de ve D’de ise alveolar kemik ile diş arasındaki bölgelerde farklı yoğunluklarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve genişlemiş damar yapıları gözlemlenmiştir. A. Grup K, B. Grup P, C. Grup PF, D. Grup T. Alveolar kemik kreti “a” ile, dentin “d” ile işaretli (Hematoksilen/Eozin, 200x).



**Şekil 3.12.** İmaj analiz programı. Belirlenen ölçüm hatlarına ait veriler, imaj analiz yazılımı aracılığıyla µm cinsinden kaydedilmiştir.

### 3.8. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri ortalama, standart sapma, medyan (ortanca), minimum ve maksimum değerleri ile sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım şartı sağlandığı için grupların karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar (Post-Hoc analizi) ise Tukey Testi ile incelendi. Değişkenlerin birbirleriyle korelasyonu Pearson korelasyon testi ile yapıldı. Korelasyon katsayısı yorumlanırken 0-0,29 zayıf, 0,30-0,70 orta, 0,71-1,0 güçlü olarak alındı. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri  $p<0,05$  olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışma, toplam 32 erkek Albino Wistar rat ile yürütüldü ve deney süresi boyunca herhangi bir hayvan kaybı yaşanmadı. Tüm ratlar, belirlenen protokole uygun şekilde deneyin sonuna kadar izlendi. Çalışma kapsamında, 24 ratta deneysel periodontitis modeli oluşturulmak üzere üst çenedeki ikinci büyük azı dişlerinin submarjinal bölgelerine ligatür yerleştirildi. Uygulamanın ardından, ligatürlerin çıkarıldığı 14. güne kadar ilgili bölgede sabit kaldıkları gözlemlendi.

##### 4.1. Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Çalışmaya dâhil edilen dört gruba ait serum örneklerinde; IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de özetlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Deney gruplarının IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10 ve IL-17 değerlerinin karşılaştırılması.

|                        |                            | K                       | P                                  | PF                                  | T                                   | p       |
|------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------|
| IL-1 $\beta$<br>(ng/L) | Ort $\pm$ SS               | 8,25 $\pm$ 0,45         | 9,91 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>       | 9,19 $\pm$ 0,41 <sup>ab</sup>       | 9,22 $\pm$ 0,44 <sup>ab</sup>       | <0,001* |
|                        | Medyan<br>(Min.–<br>Maks.) | 8,23 (7,52–<br>9,0)     | 9,95 (9,11–<br>10,76)              | 9,15 (8,52–<br>9,88)                | 9,14 (8,74–<br>9,86)                |         |
| IL-4<br>(ng/L)         | Ort $\pm$ SS               | 34,7 $\pm$ 6,87         | 29,26 $\pm$ 4,35                   | 38,92 $\pm$ 3,82 <sup>b</sup>       | 46,51 $\pm$ 8,58 <sup>ab</sup>      | <0,001* |
|                        | Medyan<br>(Min.–<br>Maks.) | 33,5 (27,5–<br>45,16)   | 29,51 (24,16–<br>38,34)            | 39,77 (31,66–<br>42,66)             | 45,51 (35,58–<br>64,78)             |         |
| IL-6<br>(ng/L)         | Ort $\pm$ SS               | 2,99 $\pm$ 0,29         | 4,79 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>       | 3,72 $\pm$ 0,23 <sup>ab</sup>       | 3,93 $\pm$ 0,39 <sup>ab</sup>       | <0,001* |
|                        | Medyan<br>(Min.–<br>Maks.) | 3,09 (2,48–<br>3,29)    | 4,75 (4,37–<br>5,41)               | 3,74 (3,35–<br>4,14)                | 3,94 (3,42–<br>4,53)                |         |
| IL-10<br>(pg/ml)       | Ort $\pm$ SS               | 98,3 $\pm$ 12,64        | 85,02 $\pm$ 11,39                  | 122,09 $\pm$<br>13,47 <sup>ab</sup> | 133,43 $\pm$<br>12,57 <sup>ab</sup> | <0,001* |
|                        | Medyan<br>(Min.–<br>Maks.) | 96,27 (84,86–<br>122,4) | 86,6 (67,56–<br>98,22)             | 121,25<br>(103,1–146,4)             | 133,15<br>(112,53–<br>156,4)        |         |
| IL-17<br>(pg/ml)       | Ort $\pm$ SS               | 116,74 $\pm$<br>10,76   | 173,26 $\pm$<br>13,85 <sup>a</sup> | 138,34 $\pm$<br>14,37 <sup>ab</sup> | 157,15 $\pm$<br>11,07 <sup>ac</sup> | <0,001* |
|                        | Medyan<br>(Min.–<br>Maks.) | 115,5 (103,7–<br>138,1) | 170,15<br>(156,1–192,9)            | 141,9 (117,4–<br>159,7)             | 154,65<br>(141,6–173,6)             |         |

Ort: Ortalama, SS: standart sapma, Min-Maks: minimum-maksimum, mm: milimetre

\* p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir,

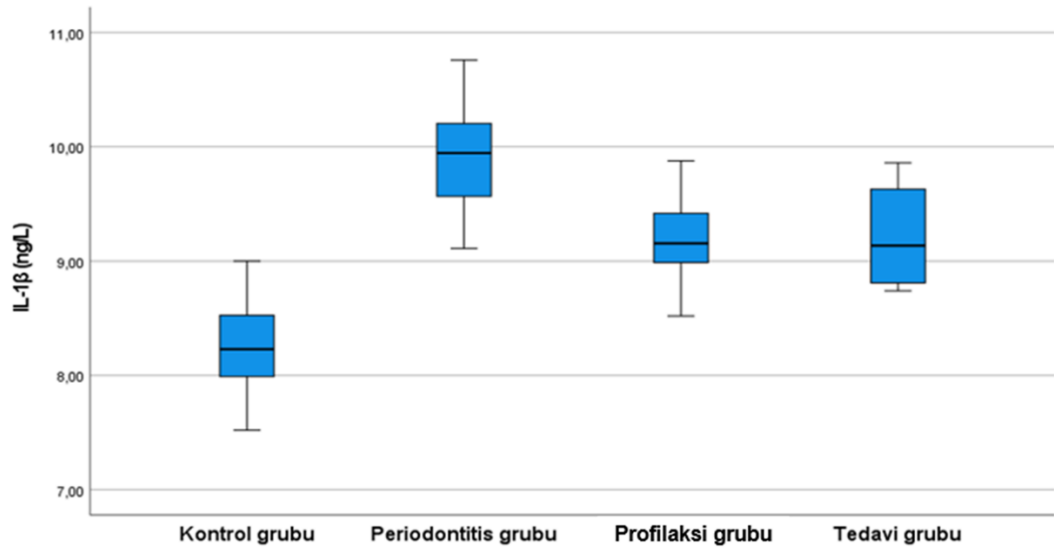
<sup>a</sup> p<0,05 Kontrol Grubuna kıyasla,

<sup>b</sup> p<0,05 Periodontitisli Gruba kıyasla

<sup>c</sup> p<0,05 Profilaksi Grubuna kıyasla anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

IL-1 $\beta$  düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0,001$ ). Kontrol grubu, P, PF ve T gruplarına kıyasla anlamlı şekilde daha düşük IL-1 $\beta$  düzeylerine sahipti ( $p<0,05$ ). Ayrıca, P grubunun IL-1 $\beta$  düzeyleri PF ve T gruplarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

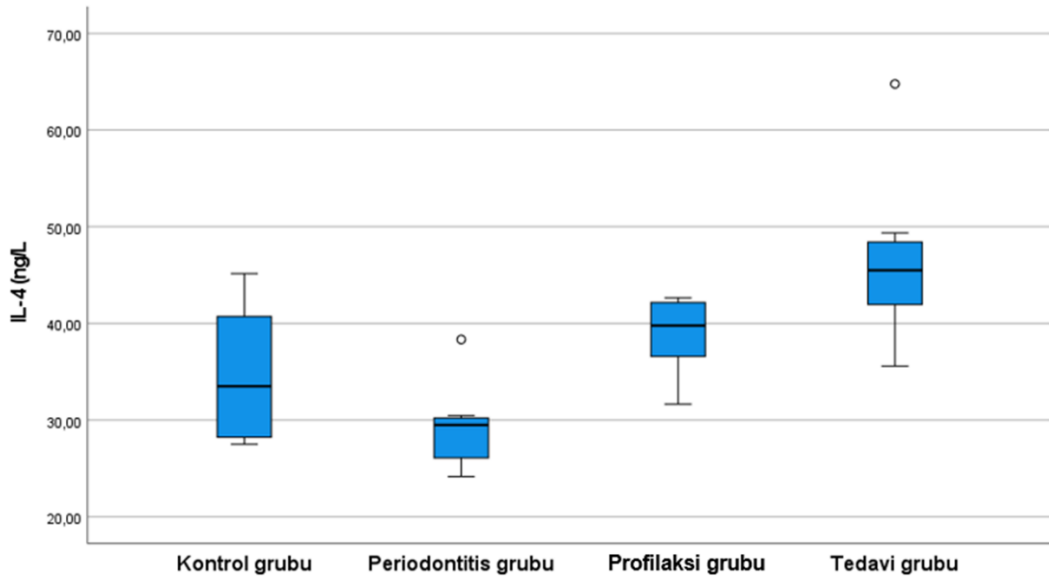
En az IL-1 $\beta$  değeri K grubunda, en fazla IL-1 $\beta$  değeri ise P grubunda izlendi (Grafik 4.1.). PF ve T gruplarının IL-1 $\beta$  seviyelerinde ise anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.1.** Deney gruplarındaki IL-1 $\beta$  sonuçları

IL-4 düzeyleri açısından K grubu ile T grubu arasında anlamlı fark saptandı, K grubundaki değerler daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Ayrıca P grubu ile hem PF grubu hem de T grubu arasında anlamlı farklılık gözlemlendi, bu farklarda P grubunun IL-4 düzeylerinin daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ).

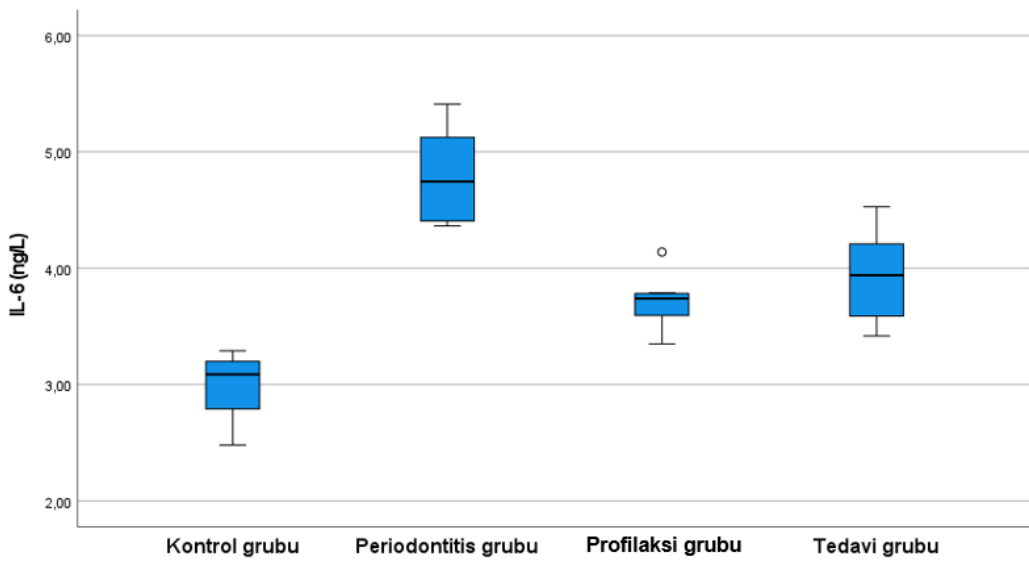
En az IL-4 değeri P grubunda, en fazla IL-4 değeri ise K grubunda izlendi (Grafik 4.2.). PF ve T gruplarında bulunan ratlar arasındaki ölçülen IL-4 seviyelerine bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Ayrıca K grubu ve PF grubu arasında da anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.2.** Deney gruplarındaki IL-4 sonuçları

IL-6 düzeylerinde, K grubu ile P, PF ve T grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı; K grubunun değerleri daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Ayrıca, P grubu ile PF ve T grupları arasında da anlamlı farklar belirlendi; bu farklarda P grubunun IL-6 düzeyleri daha yüksek tespit edildi ( $p<0,05$ ).

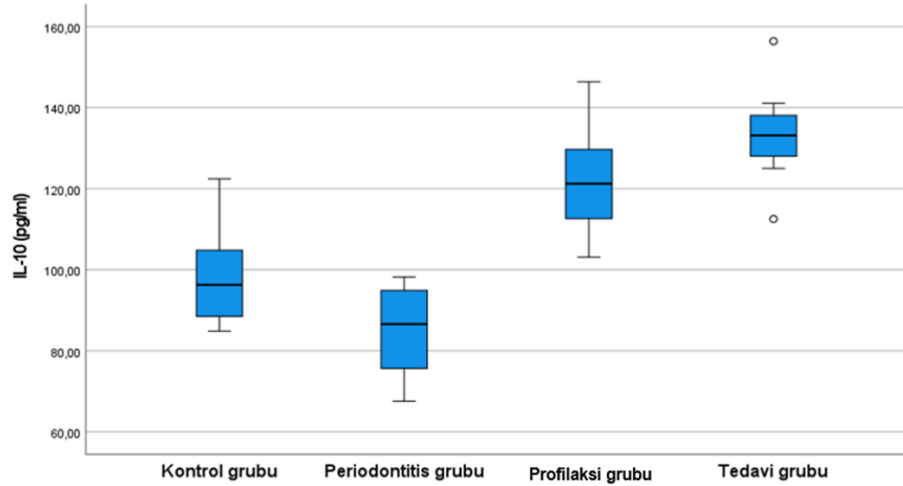
En az IL-6 değeri K grubunda, en fazla IL-6 değeriye P grubunda bulundu (Grafik 4.3.). PF ve T gruplarında bulunan ratlar arasındaki ölçülen IL-6 seviyelerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.3.** Deney gruplarındaki IL-6 sonuçları

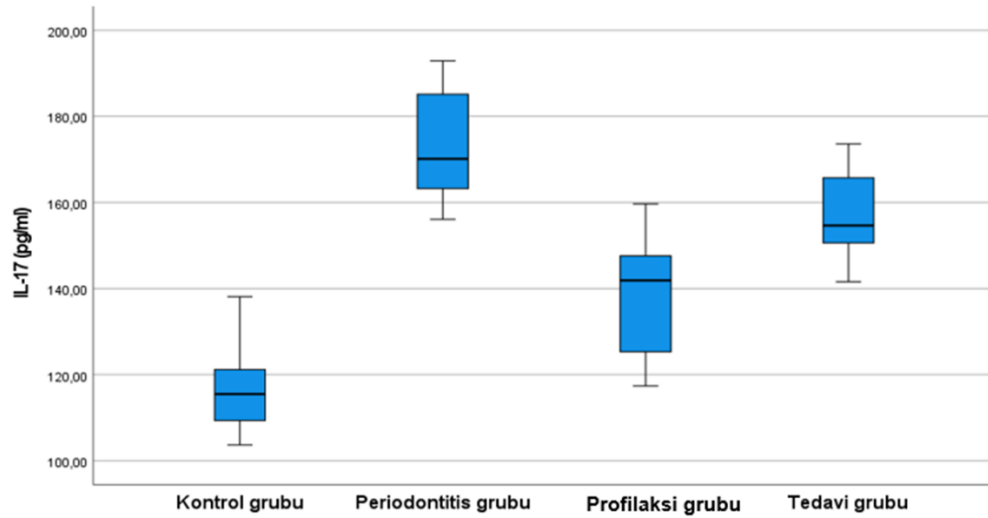
IL-10 düzeyleri açısından K grubu ile PF grubu ve T grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı; PF ve T gruplarında değerler daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). P grubu ile PF ve T grupları arasında da anlamlı farklar belirlendi ve P grubunda IL-10 düzeyleri daha düşük ölçüldü ( $p<0,05$ ).

En düşük IL-10 düzeyi P grubunda, en yüksek değer ise T grubunda bulundu (Grafik 4.4). PF ve T grupları ile K ve PF grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.4.** Deney gruplarındaki IL-10 sonuçları

IL-17 düzeyleri açısından K grubu ile P grubu, PF grubu ve T grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı; K grubunda IL-17 düzeyleri daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). P grubu ile PF grubu ve T grubu ile PF grubu arasında da anlamlı farklar gözlemlendi; bu karşılaştırmalarda ise PF grubunun IL-17 düzeyleri daha düşük ölçüldü ( $p<0,05$ ). En düşük IL-17 düzeyi K grubunda, en yüksek değer ise P grubunda belirlendi (Grafik 4.5).



**Grafik 4.5.** Deney gruplarındaki IL-17 sonuçları

**Tablo 4.2.** Deney gruplarının COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF-  $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> değerlerinin karşılaştırılması.

|                            |                        | K                       | P                               | PF                               | T                                 | p       |
|----------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------|
| COX-2<br>(ng/L)            | Ort $\pm$ SS           | 245,24 $\pm$ 13,2       | 300,19 $\pm$ 14,16 <sup>a</sup> | 267,09 $\pm$ 11,81 <sup>ab</sup> | 278,29 $\pm$ 13,55 <sup>ab</sup>  | <0,001* |
|                            | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 250,55<br>(225,2–259,2) | 296,75 (280,1–319,2)            | 269,65 (250,5–280,5)             | 280,75 (253,3–295)                |         |
| VEGF-A<br>(ng/L)           | Ort $\pm$ SS           | 72,55 $\pm$ 6,69        | 101,99 $\pm$ 9,06 <sup>a</sup>  | 81,95 $\pm$ 8,08 <sup>b</sup>    | 83,17 $\pm$ 8,21 <sup>b</sup>     | <0,001* |
|                            | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 72,94 (59,51–81,4)      | 101,34 (90,63–115,43)           | 81,43 (71,3–94,3)                | 84,56 (72,13–92,6)                |         |
| RUNX-2<br>(ng/mL)          | Ort $\pm$ SS           | 50,17 $\pm$ 10,58       | 61,66 $\pm$ 8,04                | 64,5 $\pm$ 8,08 <sup>a</sup>     | 76,79 $\pm$ 9,66 <sup>ab</sup>    | <0,001* |
|                            | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 50,59 (30,04–63,05)     | 62,11 (46,3–70,84)              | 67,44 (52,07–75,65)              | 76,88 (65,69–90,66)               |         |
| TNF- $\alpha$<br>(ng/L)    | Ort $\pm$ SS           | 128,78 $\pm$ 11,09      | 198,59 $\pm$ 11,13 <sup>a</sup> | 140,66 $\pm$ 12,71 <sup>b</sup>  | 168,09 $\pm$ 13,61 <sup>abc</sup> | <0,001* |
|                            | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 128,95<br>(115,5–146)   | 196,95 (185,8–218,9)            | 138,25 (123,8–157,2)             | 170,9 (143,9–181,9)               |         |
| PGE <sub>2</sub><br>(ng/L) | Ort $\pm$ SS           | 42,94 $\pm$ 6,13        | 78,46 $\pm$ 14,28 <sup>a</sup>  | 46,97 $\pm$ 8,39 <sup>b</sup>    | 53,95 $\pm$ 14,41 <sup>b</sup>    | <0,001* |
|                            | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 44,8 (34,36–50,62)      | 74,57 (65,57–99,49)             | 47,41 (36,92–57,81)              | 51,99 (36,85–83,01)               |         |

Ort: Ortalama, SS: standart sapma, Min-Maks: minimum-maksimum, mm: milimetre

\* p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir,

<sup>a</sup> p<0,05 kontrol grubuna kıyasla,

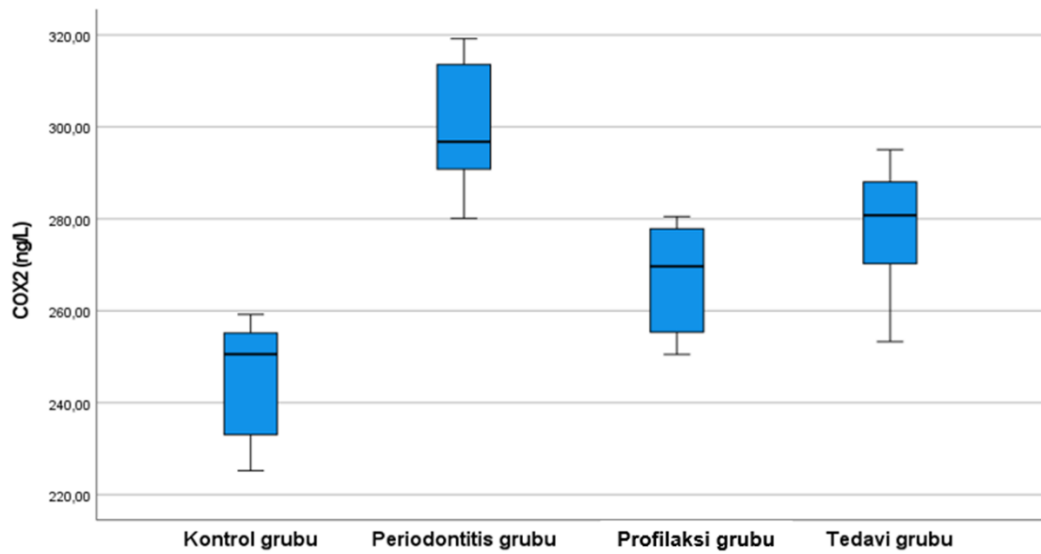
<sup>b</sup> p<0,05 periodontitisli gruba kıyasla

<sup>c</sup> p<0,05 profilaksi grubuna kıyasla anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması Tablo 4.2’de gösterilmektedir. COX-2 düzeyleri açısından K grubu ile

P grubu, K grubu ile PF grubu ve K grubu ile T grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ve K grubunda COX-2 düzeyleri daha düşük izlendi ( $p<0,05$ ). Ayrıca P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında da anlamlı farklılık gözlemlendi; P grubunun değerleri diğer gruplara göre daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).

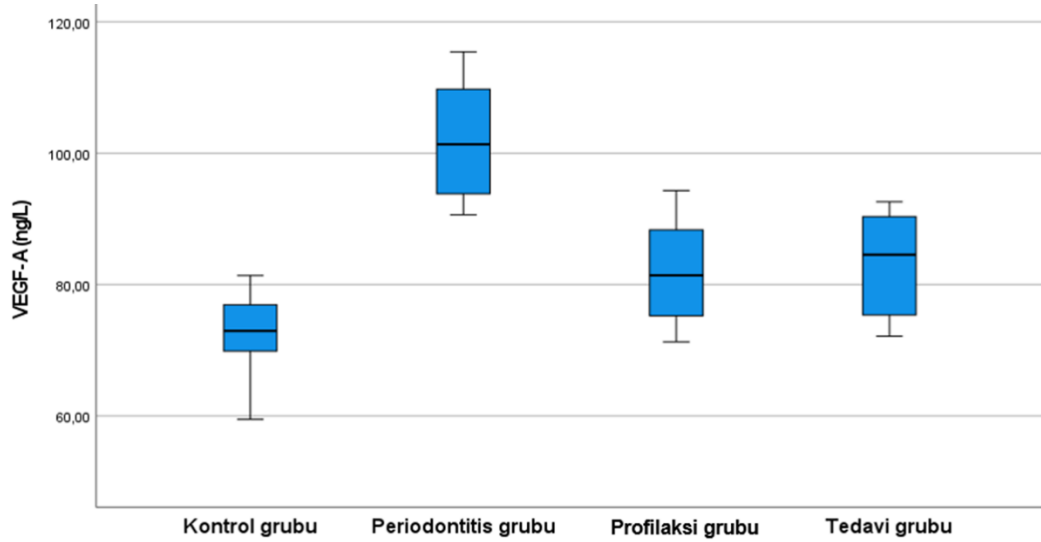
En az COX-2 değeri K grubunda, en fazla COX-2 değeri ise P grubunda görüldü (Grafik 4.6.). PF ve T gruplarında bulunan ratlar arasındaki ölçülen COX-2 seviyelerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.6.** Deney gruplarındaki COX-2 sonuçları

VEGF-A düzeyi, K grubu ile P grubu arasında anlamlı düzeyde farklılık gösterdi; K grubunda değerler daha düşüktü ( $p<0,05$ ). Benzer şekilde, P grubu ile PF ve T grupları arasında da anlamlı fark saptandı; P grubunda değerler daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

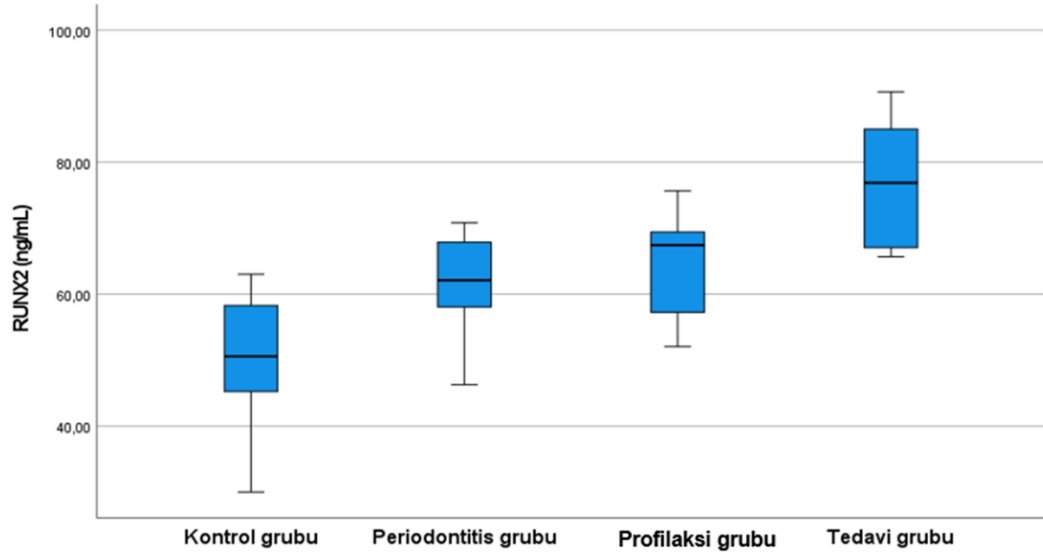
En düşük VEGF-A değeri K grubunda, en yüksek ise P grubunda gözlemlendi (Grafik 4.7.). PF ve T grupları ile K grubu arasında ve PF ile T grubu arasında anlamlı fark izlenmedi ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.7.** Deney gruplarındaki VEGF-A sonuçları

RUNX-2 düzeyinde, K grubu ile PF ve T grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi; K grubunda değerler daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ) (Grafik 4.8.). Ayrıca P grubu ile T grubu arasında da anlamlı fark saptandı; P grubunda değerler daha düşüktü ( $p < 0,05$ ).

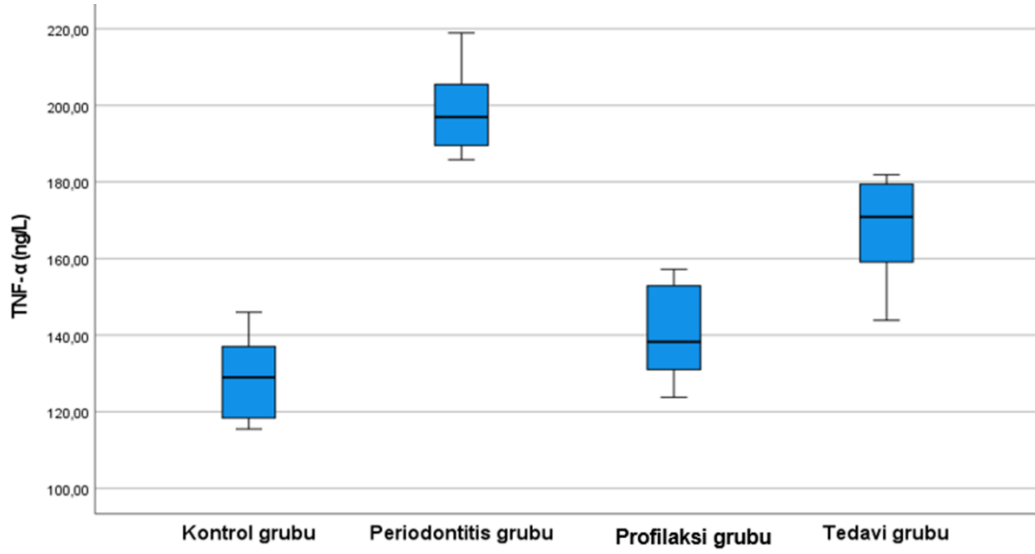
En düşük RUNX-2 düzeyi K grubunda, en yüksek ise T grubunda tespit edildi. PF ve T grupları ile P ve PF grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p > 0,05$ ).



**Grafik 4.8.** Deney gruplarındaki RUNX-2 sonuçları

TNF- $\alpha$  düzeyinde, K grubu ile P ve T grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi; K grubunda değerler daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ). P grubu ile PF ve T grubu arasında da anlamlı fark saptandı; P grubunda değerler daha yüksekti ( $p < 0,05$ ). PF ile T grubu arasında da anlamlı fark bulunup, PF grubunda değerler daha düşüktü ( $p < 0,05$ ).

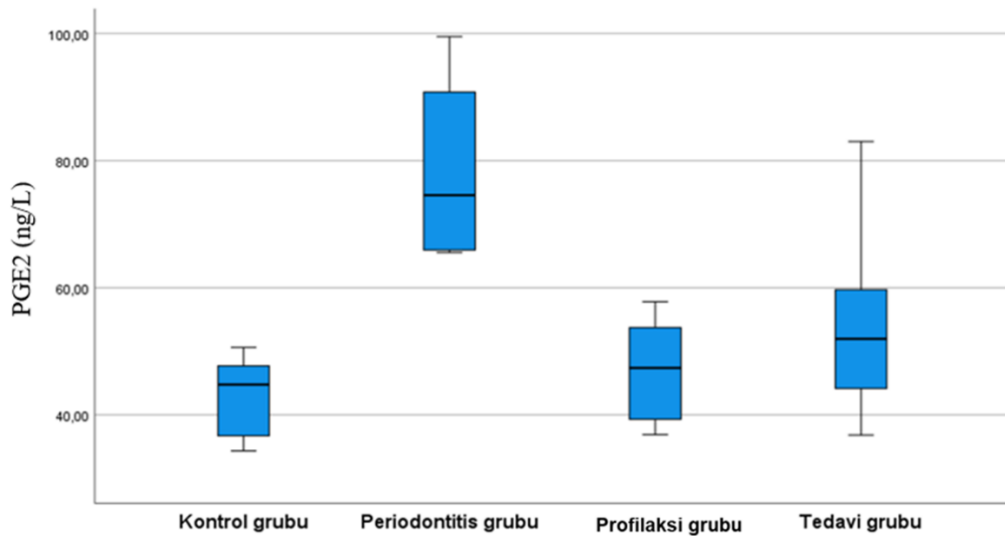
En düşük TNF- $\alpha$  değeri K grubunda, en yüksek değer ise T grubunda tespit edildi (Grafik 4.9). K ve PF grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.9.** Deney gruplarındaki TNF- $\alpha$  sonuçları

PGE<sub>2</sub> düzeyinde, K grubu ile P grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlendi; K grubunda değerler daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandı; P grubunda değerler daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

En düşük PGE<sub>2</sub> değeri K grubunda, en fazla PGE<sub>2</sub> değeri ise P grubunda tespit edildi (Grafik 4.10.). Ayrıca K grubu ile PF ve T grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.10.** Deney gruplarındaki PGE<sub>2</sub> sonuçları

## 4.2. Histolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

### 4.2.1. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmamız kapsamında elde edilen inflamatuvar skorlar ile osteoblast ve osteoklast hücre sayılarına ilişkin bulgular, dört deney grubuna ait örnekler üzerinden değerlendirilmiş olup, sonuçlar Tablo 4.3'te özetlenmiştir.

**Tablo 4.3.** Deney gruplarının inflamatuvar skorlarının, osteoblast ve osteoklast sayılarının karşılaştırılması

|                          |                     | K            | P                         | PF                          | T                         | p                 |
|--------------------------|---------------------|--------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------|
| <b>İnflamatuvar Skor</b> | Ort ± SS            | 0,38 ± 0,52  | 2,0 ± 0,76 <sup>a</sup>   | 0,88 ± 0,35 <sup>ab</sup>   | 0,5 ± 0,53 <sup>ab</sup>  | <b>&lt;0,001*</b> |
|                          | Medyan (Min.–Maks.) | 0 (0–1)      | 2 (1–3)                   | 1 (0–1)                     | 0.5 (0–1)                 |                   |
| <b>Osteoblast</b>        | Ort ± SS            | 82,38 ± 5,34 | 31,75 ± 2,76 <sup>a</sup> | 56,38 ± 10,35 <sup>ab</sup> | 56,5 ± 9,61 <sup>ab</sup> | <b>&lt;0,001*</b> |
|                          | Medyan (Min.–Maks.) | 84 (75–90)   | 30 (30–37)                | 57,5 (42–70)                | 55 (44–68)                |                   |
| <b>Osteoklast</b>        | Ort ± SS            | 4,63 ± 1,51  | 14,75 ± 2,12 <sup>a</sup> | 8,5 ± 1,41 <sup>ab</sup>    | 6,0 ± 2,45 <sup>b</sup>   | <b>&lt;0,001*</b> |
|                          | Medyan (Min.–Maks.) | 5 (3–7)      | 14,5 (12–18)              | 8 (7–11)                    | 5,5 (3–10)                |                   |

Ort: Ortalama, SS: standart sapma, Min-Maks: minimum-maksimum, mm: milimetre

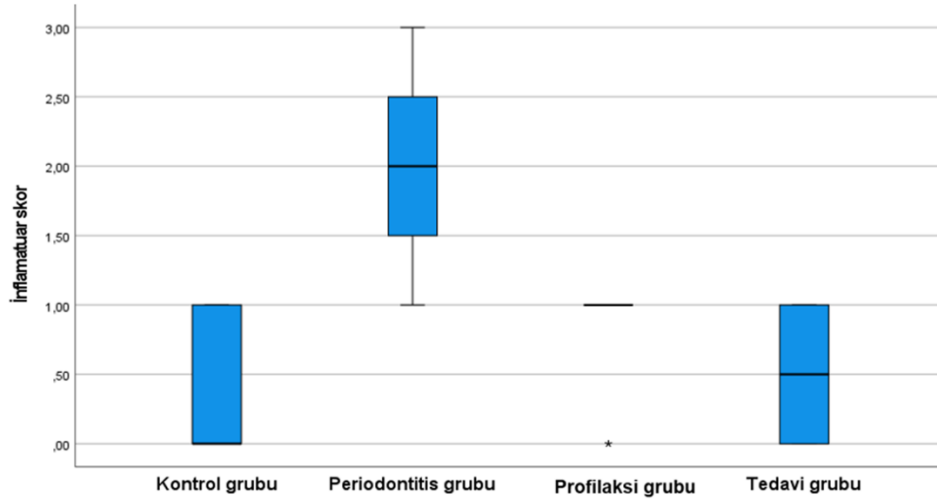
\* p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir,

<sup>a</sup> p<0,05 kontrol grubuna kıyasla,

<sup>b</sup> p<0,05 periodontitisli gruba kıyasla anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Tablo'da değişkenlerin gruplara göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0,001). Çoklu karşılaştırmalar incelendiğinde inflamatuvar skor K grubu ile P grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmış olup K grubu değerleri daha düşük (p<0,05). P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmış olup P grubu değerleri yüksekti (p<0,05).

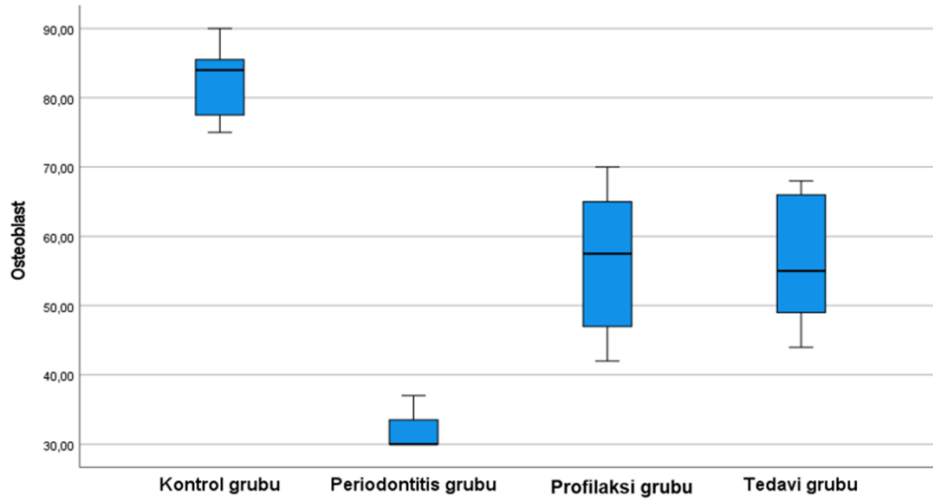
En az inflamatuvar skor değeri K grubunda, en fazla inflamatuvar skor değeriye P grubunda bulundu (Grafik 4.11.). PF ve T gruplarında bulunan ratlar arasındaki ölçülen inflamatuvar skor değerlerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05). Ayrıca K grubu ile PF ve T grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık izlendi (p>0,05).



**Grafik 4.11.** Deney gruplarındaki inflamatuvar skorlar

Osteoblast sayısında K grubu ile P, PF ve T grupları arasında anlamlı fark saptandı; K grubunda değerler daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ) (Grafik 4.12.). P grubu ile PF ve T grupları arasında da anlamlı fark tespit edildi; P grubunda değerler daha düşüktü ( $p<0,05$ ).

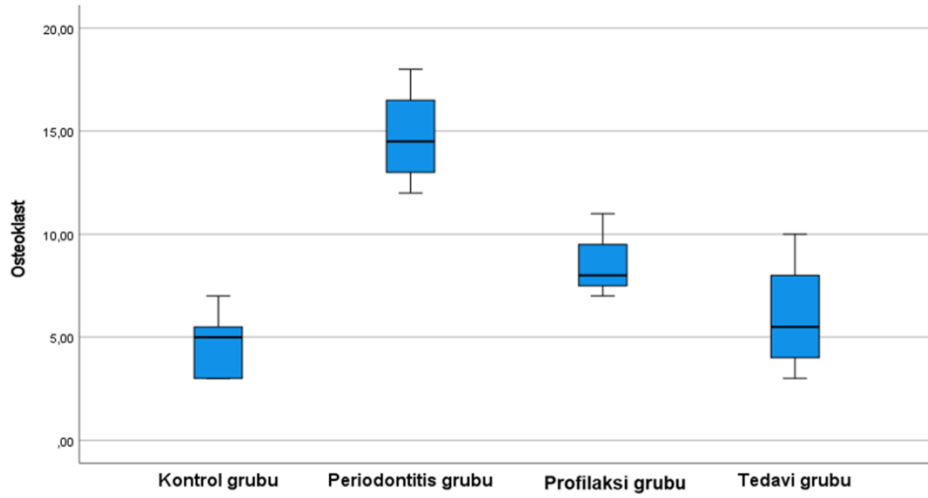
En düşük osteoblast sayısı P grubunda, en yüksek ise K grubunda gözlemlendi. PF ve T grupları arasında osteoblast sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.12.** Deney gruplarındaki osteoblast sayıları

Osteoklast sayısı açısından, K grubu ile P grubu ve K grubu ile PF grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı; K grubu daha düşük değerlere sahipti ( $p<0,05$ ). P grubu ile PF ve T grupları arasında da anlamlı fark gözlemlendi; P grubu daha yüksek osteoklast sayısına sahipti ( $p<0,05$ ) (Grafik 4.13.). Osteoklast

sayısı en düşük K grubunda, en yüksek ise P grubunda bulundu. PF ve T grupları ile K ve T grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Grafik 4.13.** Deney gruplarındaki osteoklast sayıları

#### 4.2.2. Histomorfometrik Değerlendirme

Deney gruplarına ait AKK düzeyleri değerlendirilmiş olup, elde edilen bulgular Tablo 4.4'te sunulmuştur.

**Tablo 4.4.** Çalışma gruplarının histomorfometrik değerlerinin karşılaştırılması

|                   |                        | K                         | P                           | PF                           | T                            | p       |
|-------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------|
| Mezial<br>(µm)    | Ort ± SS               | 293,58 ± 44,86            | 598,9 ± 78,44 <sup>a</sup>  | 380,6 ± 57,79 <sup>ab</sup>  | 354,01 ± 60,15 <sup>ab</sup> | <0,001* |
|                   | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 306,62<br>(210,73–344,05) | 565,17 (530,26–731,72)      | 365,56 (310,56–448,8)        | 342,68<br>(283,88–446,34)    |         |
|                   |                        |                           |                             |                              |                              |         |
| Furkasyon<br>(µm) | Ort ± SS               | 232,98 ± 30,01            | 545,33 ± 88,62 <sup>a</sup> | 342,41 ± 58,62 <sup>ab</sup> | 324,2 ± 35,76 <sup>ab</sup>  | <0,001* |
|                   | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 232,72<br>(179,32–268,63) | 513,79 (461,37–709,22)      | 321,58 (281,52–415,9)        | 312,56<br>(290,23–382,4)     |         |
|                   |                        |                           |                             |                              |                              |         |
| Distal (µm)       | Ort ± SS               | 352,4 ± 53,45             | 665,41 ± 88,86 <sup>a</sup> | 456,44 ± 62,78 <sup>ab</sup> | 430,1 ± 37,89 <sup>ab</sup>  | <0,001* |
|                   | Medyan<br>(Min.–Maks.) | 349,68<br>(269,72–420,91) | 651,11 (568,27–795,73)      | 450,75 (332,92–526,24)       | 431,31<br>(371,16–476,82)    |         |
|                   |                        |                           |                             |                              |                              |         |

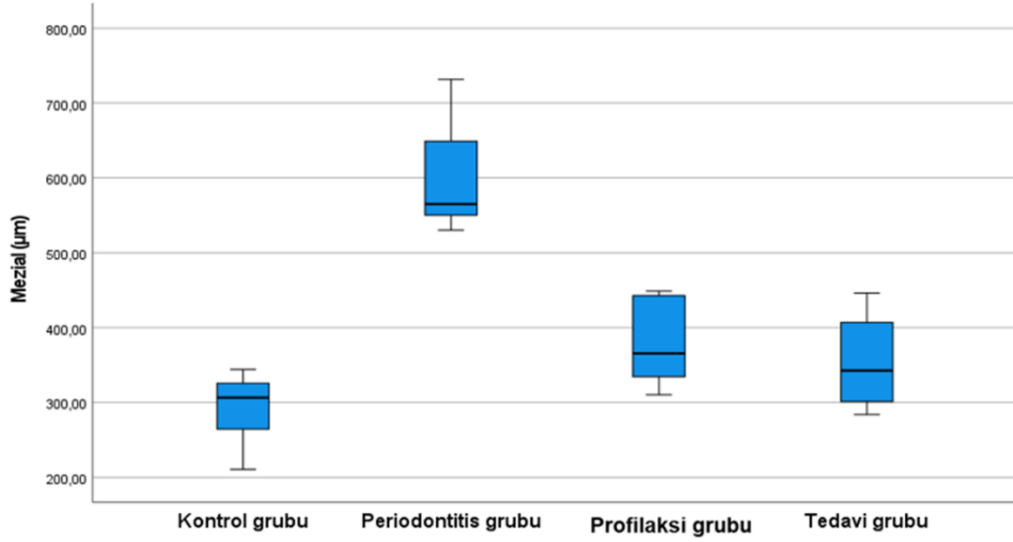
Ort: Ortalama, SS: standart sapma, Min-Maks: minimum-maksimum, mm: milimetre

\*  $p<0,05$  istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir,

<sup>a</sup>  $p<0,05$  kontrol grubuna kıyasla,

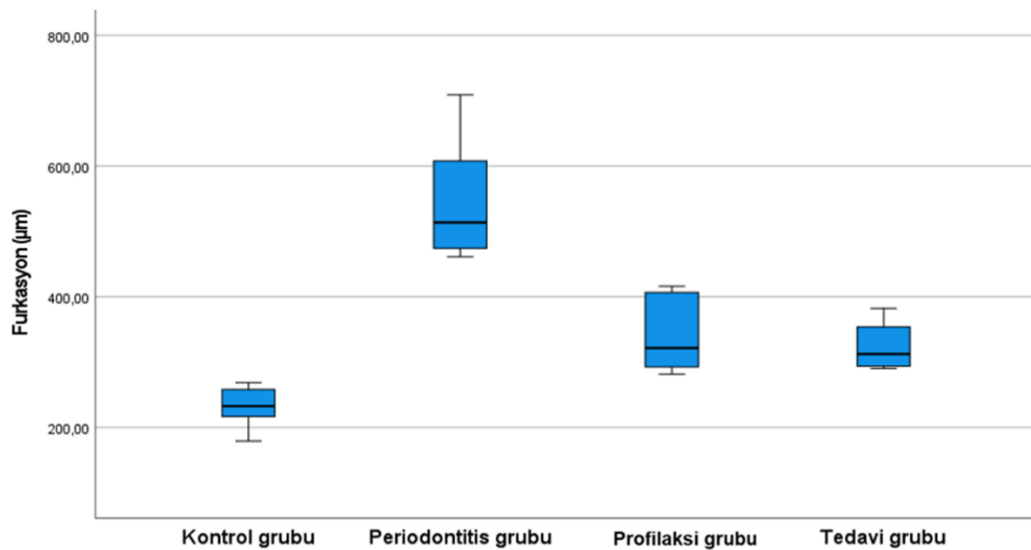
<sup>b</sup>  $p<0,05$  periodontitisli gruba kıyasla anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Mezial bölgedeki kemik kaybı açısından, K grubu ile P grubu ve K grubu ile PF grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı; K grubu daha düşük değerlere sahipti ( $p<0,05$ ) (Grafik 4.14). P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında da anlamlı fark bulundu; P grubunun değerleri daha yüksekti ( $p<0,05$ ).



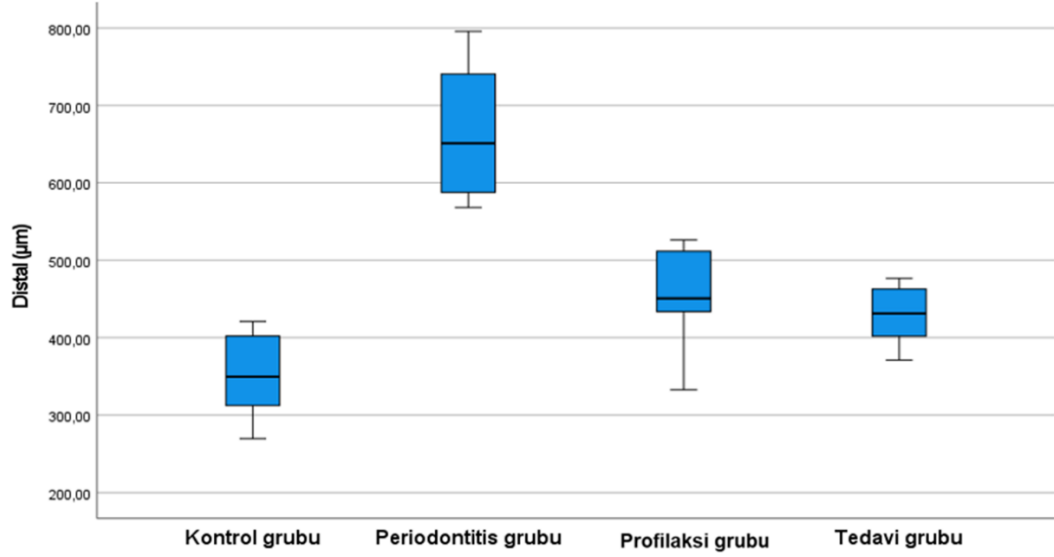
**Grafik 4.14.** Deney gruplarının mezial bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları

Furkasyon bölgesindeki kemik kaybı açısından, K grubu ile P grubu, K grubu ile PF grubu ve K grubu ile T grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandı; K grubu daha düşük değerlere sahipti ( $p<0,05$ ) (Grafik 4.15.). P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulundu; P grubu değerleri daha yüksekti ( $p<0,05$ ).



**Grafik 4.15.** Deney gruplarının furkasyon bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları

Distal bölgesindeki kemik kaybı açısından, K grubu ile P grubu ve K grubu ile PF grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandı; K grubu değerleri daha düşüktü ( $p<0,05$ ) (Grafik 4.16.). P grubu ile PF grubu ve P grubu ile T grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulundu; P grubu değerleri daha yüksekti ( $p<0,05$ ).



**Grafik 4.16.** Deney gruplarının distal bölgelerindeki alveolar kemik kaybı sonuçları

### 4.3. Verilerin Korelasyonu

Gruplardaki değişkenler ile ilgili korelasyon analizinin sonuçları Tablo 4.5'te yer almaktadır.

**Tablo 4.5.** Gruplar arasındaki değişkenler

|                                 | IL-1 $\beta$<br>(ng/L) | IL-4<br>(ng/L) | IL-6<br>(ng/L) | IL-10<br>(pg/ml) | IL-17<br>(pg/ml) | COX2<br>(ng/L) | VEGF-A<br>(ng/L) | RUNX-2<br>(ng/mL) | TNF- $\alpha$<br>(ng/L) | PGE2<br>(ng/L) | Mezıl<br>( $\mu$ m) | Furkasyon(<br>$\mu$ m) | Distal<br>( $\mu$ m) | İnflamatuvar<br>skor | Osteoblast  | Osteoklast |
|---------------------------------|------------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|----------------|------------------|-------------------|-------------------------|----------------|---------------------|------------------------|----------------------|----------------------|-------------|------------|
| IL-1 $\beta$ (ng/L)             | r<br>1                 |                |                |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br>-                 |                |                |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| IL-4 (ng/L)                     | r<br>-0.092            | r<br>1         |                |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br>0.615             | p<br>-         |                |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| IL-6 (ng/L)                     | r<br>0.842             | r<br>-0.165    | r<br>1         |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.366     | p<br>-         |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| IL-10 (pg/ml)                   | r<br>-0.107            | r<br>0.731     | r<br>-0.175    | r<br>1           |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br>0.561             | p<br><0.001    | p<br>0.338     | p<br>-           |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| IL-17 (pg/ml)                   | r<br>0.649             | r<br>-0.041    | r<br>0.744     | r<br>-0.067      | r<br>1           |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.822     | p<br><0.001    | p<br>0.718       | p<br>-           |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| COX2 (ng/L)                     | r<br>0.678             | r<br>-0.099    | r<br>0.789     | r<br>-0.169      | r<br>0.734**     | r<br>1         |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.591     | p<br><0.001    | p<br>0.355       | p<br><0.001      | p<br>-         |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| VEGF-A (ng/L)                   | r<br>0.564             | r<br>-0.153    | r<br>0.695     | r<br>-0.197      | r<br>0.710**     | r<br>0.611     | r<br>1           |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br>0.001             | p<br>0.404     | p<br><0.001    | p<br>0.281       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br>-           |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| RUNX-2 (ng/mL)                  | r<br>0.231             | r<br>0.514     | r<br>0.191     | r<br>0.468       | r<br>0.388*      | r<br>0.389     | r<br>0.307       | r<br>1            |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br>0.203             | p<br>0.003     | p<br>0.295     | p<br>0.007       | p<br>0.028       | p<br>0.028     | p<br>0.088       | p<br>-            |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| TNF- $\alpha$ (ng/L)            | r<br>0.771             | r<br>-0.117    | r<br>0.814     | r<br>-0.236      | r<br>0.763**     | r<br>0.807     | r<br>0.720       | r<br>0.248        | r<br>1                  |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.523     | p<br><0.001    | p<br>0.194       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.171        | p<br>-                  |                |                     |                        |                      |                      |             |            |
| PGE2 (ng/L)                     | r<br>0.596             | r<br>-0.409    | r<br>0.744     | r<br>-0.354      | r<br>0.556**     | r<br>0.705     | r<br>0.431       | r<br>-0.02        | r<br>0.701              | r<br>1         |                     |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.020     | p<br><0.001    | p<br>0.047       | p<br>0.001       | p<br><0.001    | p<br>0.014       | p<br>0.915        | p<br><0.001             | p<br>-         |                     |                        |                      |                      |             |            |
| Mezıl ( $\mu$ m)                | r<br>0.591             | r<br>-0.517    | r<br>0.704     | r<br>-0.492      | r<br>0.654**     | r<br>0.709     | r<br>0.718       | r<br>0.134        | r<br>0.709              | r<br>0.646     | r<br>1              |                        |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.002     | p<br><0.001    | p<br>0.004       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.465        | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br>-              |                        |                      |                      |             |            |
| Furkasyon ( $\mu$ m)            | r<br>0.677             | r<br>-0.417    | r<br>0.749     | r<br>-0.457      | r<br>0.703**     | r<br>0.771     | r<br>0.704       | r<br>0.201        | r<br>0.748              | r<br>0.645     | r<br>0.970          | r<br>1                 |                      |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.018     | p<br><0.001    | p<br>0.009       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.27         | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br><0.001         | p<br>-                 |                      |                      |             |            |
| Distal ( $\mu$ m)               | r<br>0.638             | r<br>-0.481    | r<br>0.705     | r<br>-0.455      | r<br>0.643**     | r<br>0.760     | r<br>0.694       | r<br>0.226        | r<br>0.722              | r<br>0.648     | r<br>0.968          | r<br>0.955             | r<br>1               |                      |             |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.005     | p<br><0.001    | p<br>0.009       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.215        | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br><0.001         | p<br><0.001            | p<br>-               |                      |             |            |
| İnflamatuvar skor               | r<br>0.557             | r<br>-0.390    | r<br>0.635     | r<br>-0.428      | r<br>0.566**     | r<br>0.613     | r<br>0.584       | r<br>0.033        | r<br>0.612              | r<br>0.738     | r<br>0.701          | r<br>0.698             | r<br>0.702           | r<br>1               |             |            |
|                                 | p<br>0.001             | p<br>0.027     | p<br><0.001    | p<br>0.015       | p<br>0.001       | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.858        | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br><0.001         | p<br><0.001            | p<br><0.001          | p<br>-               |             |            |
| Osteoblast                      | r<br>-0.771            | r<br>0.18      | r<br>-0.839    | r<br>0.243       | r<br>-0.695**    | r<br>-0.845    | r<br>-0.673      | r<br>-0.268       | r<br>-0.818             | r<br>-0.732    | r<br>-0.771         | r<br>-0.815            | r<br>-0.775          | r<br>-0.636          | r<br>1      |            |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.326     | p<br><0.001    | p<br>0.180       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.138        | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br><0.001         | p<br><0.001            | p<br><0.001          | p<br><0.001          | p<br>-      |            |
| Osteoklast                      | r<br>0.668             | r<br>-0.314    | r<br>0.747     | r<br>-0.454      | r<br>0.664**     | r<br>0.657     | r<br>0.749       | r<br>0.031        | r<br>0.719              | r<br>0.601     | r<br>0.797          | r<br>0.816             | r<br>0.806           | r<br>0.777           | r<br>-0.760 | r<br>1     |
|                                 | p<br><0.001            | p<br>0.081     | p<br><0.001    | p<br>0.009       | p<br><0.001      | p<br><0.001    | p<br><0.001      | p<br>0.867        | p<br><0.001             | p<br><0.001    | p<br><0.001         | p<br><0.001            | p<br><0.001          | p<br><0.001          | p<br><0.001 | p<br>-     |
| r: Pearson korelasyon katsayısı |                        |                |                |                  |                  |                |                  |                   |                         |                |                     |                        |                      |                      |             |            |

IL-1 $\beta$ ; IL-6, IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile anlamlı düzeyde pozitif korelasyon gösterdi. IL-6'nın IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif yönde anlamlı korelasyonları bulundu. Ayrıca IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif ilişki gösterdi. COX-2; VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile; VEGF-A ise TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif yönde anlamlı korelasyon gösterdi. Son olarak, TNF- $\alpha$  ile PGE<sub>2</sub> arasında da pozitif anlamlı bir ilişki tespit edildi.



## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde, oral gavaj yoluyla uygulanan SE'nin; pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler ile birlikte COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve RUNX-2 düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve aynı zamanda SE'nin potansiyel profilaktik etkisi araştırılmıştır. Spirulinanın periodontal dokular üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı olup, özellikle COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve RUNX-2 biyobelirteçlerine yönelik veriler oldukça yetersizdir. Bu çalışmadaki deneysel model, söz konusu biyobelirteçler açısından literatürdeki boşluğu doldurmayı amaçlamaktadır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; SE uygulanan gruplarda COX-2 ve PGE<sub>2</sub> düzeylerinin anlamlı şekilde azalırken, VEGF-A ve RUNX-2 seviyelerinde ise artış gözlenmiştir. Özellikle K ve P grupları arasında tüm parametrelerde anlamlı farklılıklar saptanmış ( $p<0,05$ ), SE'nin uygulandığı PF ve T gruplarında ise bu düzeylerin ara değerlerde seyrettiği görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar, SE'nin periodontal inflamasyonu azaltıcı ve dokusal yeniden yapılanmayı destekleyici etkileri olabileceğini göstermektedir. Çalışmamız bu biyobelirteçlere bakan öncü bir çalışmadır.

Periodontitis, kronik inflamasyonla karakterize, dişleri destekleyen dokularda yıkıma yol açan multifaktöriyel bir hastalıktır ve sistemik sağlıkla da ilişkilidir. Periodontal hastalığın gelişiminde, bakteriyel biyofilm, çevresel ve genetik risk faktörleri ile konağın inflamatuvar yanıtı, hastalığın gelişiminde belirleyici rol oynamaktadır. Bu süreçte IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu artarken, IL-4 ve IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerde azalma gözlenmektedir (Sanz ve ark. 2017; Cardoso ve ark. 2018; Ramadan ve ark. 2020). Ayrıca, PGE<sub>2</sub>, COX-2, VEGF-A ve RUNX-2 gibi mediatörlerin düzeylerinde de artış bildirilmiştir (Tayman ve ark. 2019; Wang ve ark. 2024; Nieboga ve ark. 2025).

Hayvan modelleri, insan hastalıklarını taklit edebilme özellikleri, deneysel tedavilerin etkinliğini değerlendirme ve histolojik analiz imkanı sunmaları nedeniyle, diğer biyolojik bilimlerde olduğu gibi periodontolojide de sıkça kullanılan önemli araçlardır (Klausen 1991; Pavlica ve ark. 2004; Oz ve Ebersole 2010).

Periodontitisin patogenezi incelemek ve hastalığa karşı terapötik yaklaşımları değerlendirmek amacıyla farklı hayvan türlerinden yararlanılmıştır (Oz ve Puleo 2011). Özellikle ratlarda geliştirilen deneysel periodontitis modellerinin histolojik ve moleküler analizleri, periodontal hastalığın klinik, radyografik ve

histolojik özelliklerini özetleyerek hastalığın patogenezi için önemli bilgiler sunmuştur (de Molon ve ark. 2016; Hiyari ve ark. 2018). Ratlar, molar bölgelerindeki periodontal anatomilerinin insanlarla belirli benzerlikler taşıması ve etik açıdan uygunlukları nedeniyle periodontal araştırmalarda sıkça tercih edilmektedir. (Yamasaki ve ark. 1979; Struillou ve ark. 2010). Ayrıca, ratlar küçük boyutları, düşük bakım maliyetleri, bilinen yaş ve genetik geçmişleri, kontrollü mikrobiyotaları ve kullanım kolaylıkları nedeniyle periodontal hastalıkların deneysel modellenmesinde önemli avantajlar sunar. Periodonsiyumda yüksek oranda tekrarlanabilir inflamatuvar süreçlerin gelişimi bu modellerin etkinliğini arttırmaktadır (Listgarten 1975). Dişeti bölgesinin yapısı, sık bir dişeti sulkusu ve birleşim epitelinin diş yüzeyine bağlantısı gibi özellikleriyle insanlardaki anatomik yapıya oldukça benzerlik göstermektedir (Yamasaki ve ark. 1979). Bununla birlikte, ratların periodontal anatomisinde insanlara kıyasla bazı ayırt edici özellikleri de mevcuttur. Özellikle, ratlarda sulkus epitelinin keratinizasyonu ve dişeti epitelinin yüzeyel hücreleri ile birleşim epitelinin keratinize olmayan hücreleri arasındaki desmozomal temas, diş eti ve birleşim epitel arasındaki ilişkide insanlardakinden farklı bir yapı sergilemektedir (Listgarten 1975). Birleşim epiteli, bakteriyel endotoksinler ve inflamatuvar eksüdaların geçişine aracılık eden bir yol görevi görür. Bu durum insanlardaki patolojiye benzer şekilde gerçekleşir (Ionel ve ark. 2015). Menstrual siklustaki hormonal dalgalanmanın periodontitis üzerine olan etkileri bilinmektedir (Khosravisamani ve ark. 2014; Man ve ark. 2025). Bundan dolayı genellikle ratlarda deneysel periodontitis oluşturulan modellerde daha kararlı hormon seviyelerine sahip olan erkek ratların kullanılmaları tercih edilmektedir (Man ve ark. 2025). Literatürdeki bulgular doğrultusunda, yapmış olduğumuz çalışmada deney hayvanı olarak 32 adet erkek albino Wistar ratların kullanılması tercih edildi.

Ratlar, doğal şartlar altında değerlendirildiğinde, insanlara kıyasla periodontal hastalıklara karşı oldukça dirençli bir profil sergilemektedir. Bundan dolayı farklı periodontitis geliştirme yöntemleri bulunmaktadır. Rat ligatür modeli, Rat *A. actinomycetemcomitans* enfeksiyon modeli, oral gavaj modeli, LPS enjeksiyon modeli, kalvaryal model ve rat mandibular kemik defekti modeli gibi birçok modelle deneysel periodontitis oluşturulabilmektedir (Dahlin ve ark. 1988; Bakthavatchalu ve ark. 2010; Nakamura ve ark. 2010; Graves ve ark. 2011; Marchesan ve ark. 2018; Kang ve ark. 2021).

Dişlerin çevresine ligatür yerleştirilerek periodontal hastalığın başlatılması, ratlardan insan olmayan primatlara kadar birçok farklı hayvan türünde başarıyla uygulanmış bir yöntemdir. Özellikle son yıllarda, rat ligatür modeline olan ilgi artmıştır (Tomina ve ark. 2022; Wichienrat ve ark. 2024). Ligatürlerin diş etrafına yerleştirilmesi, dental plağın hızlı bir şekilde birikmesine ve sulküler epitelyumda mikroülserasyonların oluşmasına yol açarak periodontal patojenlerin bağ dokusuna invazyonunu kolaylaştırır. Mikrobiyal yükteki artış, konak dokularında yoğun bir inflamatuvar yanıt oluşturarak kısa sürede belirgin periodontal doku yıkımına neden olur (Kuhr ve ark. 2004). Alternatif deneysel modeller arasında, ratlarda cerrahi olarak oluşturulan periodontal defektler yer alsa da bu yöntemler teknik açıdan oldukça hassastır ve yüksek mortalite oranları ile ilişkilidir. Ayrıca, bu modelde bakteri kaynaklı enfeksiyonun katkısı çok az olduğundan, insanlarda görülen periodontitisin doğal patogenezi tam olarak yansıtmayabilir (Takeuchi ve ark. 2016).

Bakteriyel etkenlerin kullanıldığı modeller kapsamında, de Molon ve arkadaşları farelerde oral gavaj ve ligatür bazlı olmak üzere iki farklı deneysel periodontitis modelini değerlendirmiştir (de Molon ve ark. 2016). Çalışmada, *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* kullanılarak yapılan oral gavaj uygulamasının, enfeksiyon sonrası 45 ila 60 gün içerisinde *P. gingivalis* kolonizasyonu sağladığı gözlemlenmiştir. Ancak oral gavaj yöntemi, plak birikimi, periodontal inflamasyonun başlatılması ve AKK oluşturma açısından ligatür modeline göre daha düşük bir etkinlik sergilemiştir. Oral gavaj ile hastalık gelişimi aylar sürebilirken, ligatür yöntemi ile periodontitis birkaç hafta içerisinde gelişebilmektedir. Bunun yanı sıra, ligatür modeli, insanlarda ki periodontitis patogenezi daha yakın bir hastalık süreci oluşturduğu için tercih edilmektedir (Abe ve Hajishengallis 2013; Marchesan ve ark. 2018; Lee ve ark. 2019). Literatürdeki bu bilgiler ışığında çalışmamızda periodontitisin indüksiyonu için ligatür modeli kullanılmıştır.

Ligasyon modeli ile deneysel periodontitis oluşturulurken farklı türde ligatür materyalleri kullanılabilir. Bunlar arasında en yaygın tercih edilenler ipek ligatürlerdir (Marchesan ve ark. 2018; Lee ve ark. 2019). Chatzaki ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (Chatzaki ve ark. 2024), üç farklı ligatür tipi karşılaştırılmış ve hepsinin benzer düzeyde kemik yıkımını indüklediği; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Literatürde ipek ligatürlerin kalınlıklarının da (3/0, 4/0 ve 5/0) deneysel periodontitisin şiddetini

etkileyebileceği öne sürülmüştür. Wichienrat ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (Wichienrat ve ark. 2024), farklı kalınlıktaki ipek ligatürlerle (3/0, 4/0 ve 5/0) yapılan ligasyon işlemleri sonrası, 14 gün sonunda elde edilen kemik kaybı değerlendirildiğinde, 3/0 ve 4/0 ipek ligatür uygulanan gruplarda kemik kaybı düzeylerinin benzer olduğu ancak 5/0 ipek ligatür grubuna kıyasla daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Bu doğrultuda, çalışmamızda periodontitis modelini oluşturmak amacıyla 4/0 ipek ligatür kullanılmıştır.

Ligasyon modeliyle periodontitis mandibulada ve maksillada oluşturulabilmektedir. Ligasyon kesici dişlere yapılabileceği gibi molar dişlerde yapılabilir. Ancak molar dişlerde ligasyon modeliyle periodontitis oluşturmak daha uygundur. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ratlarda keser ve molar dişe ligatür uygulaması karşılaştırılmıştır (Tomina ve ark. 2022). Keser dişlere ligatür uygulanan ratlarda daha az inflamasyon görülürken molar dişlerine ligasyon yapılan ratlarda daha belirgin bir inflamasyon izlenmiştir. Molar dişlerine ligasyon yapılan ratlarda diğer gruba göre SK skorları 5 kat, dişlerin mobilite skorları 3 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca TNF- $\alpha$  seviyesinde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda bu bilgiler doğrultusunda 2. molar dişlere ligasyon işlemi uygulanmıştır.

Ligasyon modelinde periodontitisin farklı zamanlarda oluştuğuna yönelik çalışmalar mevcuttur. Marchesan ve arkadaşlarının ligatürleme yöntemiyle yapmış olduğu deneysel periodontitis modelinde farklı zaman aralığındaki (3.,6.,9.,12.,15. ve 18. günler) kemik kaybı ve osteoklast miktarları ölçülmüştür (Marchesan ve ark. 2018). İlk belirgin kemik kaybı 6. günde görülmüştür. 9. güne kadar kemik kaybının hızı ve osteoklast miktarı artarken, 9.-18. günler arasında kemik kaybının hızı ve osteoklast miktarı azalmış ama yıkım devam etmiştir. Kuhr ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada deneysel periodontitis oluşturularak 15., 30. ve 60. Günlerde ki kemik kayıp miktarlarına bakılmıştır (Kuhr ve ark. 2004). Çalışmanın sonuçlarına göre en yüksek kemik kaybı 1-15 günler arasında görülmüştür. 15. günden sonra 60. güne kadar kemik kaybı izlense bile bu kaybın çok az miktarlarda olduğu bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada 7. ve 14. günler arasındaki kemik kaybı miktarları karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre 14. gündeki kemik kaybı biraz daha fazla bulunmuştur. Ayrıca ligasyondan 7 gün sonra önemli kemik rezorpsiyonu kaydedilebilse de, artan kemik rezorpsiyonunun büyük kısmı hala 7 ila 14 gün arasında gözlenmiştir (Wichienrat ve ark. 2024). Bu konu üzerine de Molon ve arkadaşlarının yaptığı

deneysel periodontitis modelinde 1., 3., 5., 7., 14. ve 21. günlerdeki kemik kayıpları ve pro-inflamatuvar sitokin miktarları değerlendirilmiştir (De Molon ve ark. 2018). İlk 14 gün önemli miktarda kemik kaybı olduğu ve pro-inflamatuvar sitokinlerde artış olduğu görülmüştür. Sonraki dönemde (14. ve 21. günler arası) kemik yıkımı ve sitokin genlerinin ifadesi açısından belirgin bir değişiklik kaydedilmemiştir. Ligatür uygulamasıyla oluşturulan periodontal hastalık modeli, alveolar kemik rezorpsiyonunun iki ayrı evrede ilerlediğini ortaya koymuştur. İlk olarak 0–14 gün arasında inflamasyonun yoğun olduğu ve hızlı kemik yıkımıyla karakterize edilen akut faz; ardından ise 14.–21. günler arasında kemik kaybının belirgin şekilde artmadığı daha stabil seyreden kronik faz izlenmiştir. Bu da bağ dokusu ve kemik kaybının tahmin edilebilir bir şekilde 7 ila 15 günlük süre zarfında meydana geldiğini ve periodontal hastalığın daha sonraki dönemlerde stabilize olma eğiliminde olduğunu düşündürmektedir. Literatürdeki bulgular ve önceki çalışmalar doğrultusunda, çalışmamızda deneysel periodontitis modeli 14 gün içerisinde oluşturulmuştur.

Periodontitisin genellikle tedavisinde iyi bir oral hijyenle beraber supragingival diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesidir. Bu şekilde dişlerin etrafında bulunan mikrobiyal dental plak ve diş taşlarının mekanik olarak eliminasyonu sağlanmaktadır. Mekanik tedaviye ek olarak konak yanıtını modüle etmek için kemoterapötik ajanlar da kullanılabilmektedir (Kwon ve ark. 2021). Kullanılan terapötik ajanlardan dolayı yan etkiler oluşabilmektedir. Son yıllarda ki sağlıklı yaşam konseptinin yaygınlaşmasıyla, yan etkileri olmayan doğal bitkisel ürünlerin bu terapötik ajanlar yerine periodontitis tedavisinde kullanılmalarıyla ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Rani ve ark. 2022; Spahr ve Divnic-Resnik 2022; Papathanasiou ve ark. 2023). Yapılan araştırmalarda birçok çeşitte bitkisel ürün kullanılmıştır. Kullanılan bu ürünlerden anti-inflamatuvar, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olan bitkisel ürünlerin periodontitis tedavisine yönelik faydalar sağlayabilecekleri kanısına varılmıştır (Kaur ve Chandrul 2017; Sánchez ve ark. 2020; Kang ve ark. 2021; Spahr ve Divnic-Resnik 2022; Papathanasiou ve ark. 2023).

Spirulina, hem tatlı hem de tuzlu su ortamlarında bulunabilen mikroskobik bir siyanobakteri olup, antioksidan, anti-inflamatuvar ve immünomodülatör özellikleriyle öne çıkmaktadır (Alves ve ark. 2025). Literatürde *S. platensis* takviyesinin çeşitli sistemik hastalık modellerinde pro-inflamatuvar sitokin düzeylerini azalttığı ve bağışıklık yanıtını düzenlediği gösterilmiştir (Abdel-Daim ve ark. 2015; Ngo-Matip

ve ark. 2015; Yu ve ark. 2020; Tamtaji ve ark. 2023). Ayrıca SE'nin oral yolla uygulanmasının deneysel periodontitis üzerindeki olumlu etkilerine dair çalışmalar da mevcuttur (Ravi ve ark. 2010; Cytokines 2020; Kang ve ark. 2021). Bu etkiler doğrultusunda, çalışmamızda *S. platensis* ekstraktı kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan spirulina bitkisinin dozunun ayarlaması için daha önceden yapılmış olan çalışmalardaki spirulina dozlarına ve toksik doza bakılmıştır. Spirulina kullanımının güvenliğini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, ratlar 13 hafta boyunca ağırlık/ağırlık oranı %0'dan %30'a kadar değişen Spirulina içeren diyetlerle beslenmiştir. Bu süreçte Spirulina tüketiminin davranış, besin ve su alımı, büyüme oranları ve hayatta kalım üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi saptanmamıştır. Ayrıca hematolojik ve klinik biyokimya analizlerinde herhangi bir anormallik gözlemlenmemiş, histopatolojik değerlendirmelerde ise mikroskopik veya makroskopik düzeyde değişiklikler tespit edilmemiştir (Salazar ve ark. 1998). Benzer şekilde bir başka çalışmada, ratlara 7 gün süreyle yüksek dozlarda Spirulina verilmiş (taze Spirulina için 30 g/kg, kurutulmuş Spirulina için 10 g/kg vücut ağırlığı) ve bu uygulama sonucunda toksisite belirtisine rastlanmamıştır. Uzun dönem uygulamalarda da ratlara 12 hafta boyunca farklı dozlarda Spirulina verilmiş ve bu süre boyunca davranış, besin ve su tüketimi, büyüme, genel sağlık durumu ve klinik biyokimya parametrelerinde herhangi bir değişiklik kaydedilmemiştir (Hutadilok-Towatana ve ark. 2008). Ratlarda akut toksisiteyi değerlendiren bir başka çalışmada ise, tek doz uygulamadan sonraki 7 günlük izlem sürecinde hiçbir toksik belirti veya ölüm meydana gelmemiştir. Ayrıca, deney sonunda yapılan iç organ muayenesinde herhangi bir patolojik anormallik bulunmamıştır. *S. platensis*'in özütünün oral yolla verilen LD<sub>50</sub> değerinin ratlarda 6 g/kg vücut ağırlığından daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Hutadilok-Towatana ve ark. 2010). Yapılan başka bir çalışmada deneysel periodontitisin oluşturulduğu ratlara 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg dozlarında SE uygulanmıştır. 400 mg/kg dozu uygulanan grupta pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu, inflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu, kollejenaz ekspresyonu ve kemik kaybı daha düşük seviyede olduğu bulunmuştur (Kang ve ark. 2021). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada gastrik ülserli ratlara 400 mg/kg spirulina ekstraktı uygulamasının antioksidan aktiviteye, anti-inflamatuvar etkilere ve yara iyileşme sürecinin hızlanmasını sağladığı görülmüştür (Guzmán-Gómez ve ark. 2023). Bu veriler ışığında çalışmamızda 400 mg/kg SE oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

Periodontal dokuların yıkımında inflamasyonun rolünü ortaya koymak amacıyla çeşitli biyolojik örnekler kullanılmaktadır. Deney hayvanlarında DOS ve tükürük örneklerinin toplanmasındaki teknik zorluklar ve analiz için yeterli hacimde örnek elde edilememesi gibi kısıtlılıklar nedeniyle, bu çalışmada inflamasyon düzeylerinin belirlenmesi amacıyla ratlardan yalnızca serum örnekleri alınmıştır. Elde edilen bu serum örneklerinde IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve RUNX-2 düzeyleri analiz edilmiştir.

Periodontitis patogenezinde birçok pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin rol oynadığı bilinmektedir (Cardoso ve ark. 2018; Ramadan ve ark. 2020). IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-17 periodontitiste başlıca üretimi artan pro-inflamatuvar sitokinlerdir (Cardoso ve ark. 2009; Garlet 2010; Graves ve ark. 2011). IL-1 $\beta$ , periodontal dokularda mikrobiyal ürünlerin konak hücrelerde TLR üzerinden tanınmasıyla aktive olan inflamatuvar sinyaller sonucu sentezlenir ve güçlü bir şekilde inflamatuvar yanıtı başlatır (Graves ve ark. 2011). Damar endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, RANKL ekspresyonunu, PGE<sub>2</sub> ve MMP üretimini artırır (Suda ve ark. 1999; Garlet 2010; Bartold ve Van Dyke 2019). IL-6, akut faz yanıtının başlatılmasında merkezi rol oynar. Özellikle hepatositleri uyararak akut faz proteinleri gibi inflamasyon belirteçlerinin üretimini artırır. Bu durum, periodontitisin sistemik etkilerini açıklayan mekanizmalardan biridir (Genco ve Sanz 2020). IL-6, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ile sinerjik çalışarak inflamatuvar hücre infiltrasyonunu artırır. Aynı zamanda endotelial hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu tetikler ve nötrofil kemotaksisini kolaylaştırır (Huang ve ark. 2023). IL-6, RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastların olgunlaşmalarının ve aktivitelerinin artmasına teşvik eder (Wu ve ark. 2017). Ayrıca MMP-1, MMP-3 gibi MMP ekspresyonunu artırarak kollajen yıkımına katkıda bulunur (Garlet 2010). TNF- $\alpha$ , nötrofil kemotaksisi, endotelial hücre aktivasyonu ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artışı tetikleyerek inflamatuvar hücrelerin periodontal lezyona göçünü kolaylaştırır. IL-1 $\beta$  ve IL-6 ile sinerjistik etki göstererek inflamasyonun şiddetini ve süresini uzatır (Graves 2008). RANKL ve MMP ekspresyonunu artırırken, OPG ve IL-10 ekspresyonunu baskılar (Sorsa ve ark. 2004; Bartold ve ark. 2010; Garlet 2010). Periodontal patojenler (özellikle *Porphyromonas gingivalis*) tarafından aktive edilen antijen sunucu hücreler, IL-6, IL-1 $\beta$  ve TGF- $\beta$  salgılayarak Th17 farklılaşmasını indükler. Th17 hücrelerinden de IL-17 salgılanır (Kaymaz ve Beikler 2019). IL-17,

nötrofillerin kemotaksisini arttıran kemokinlerin ekspresyonlarını artırır. Ayrıca RANKL ve MMP ekspresyonunu artırırken OPG ekspresyonunu azaltır (Cardoso ve ark. 2009; Cheng ve ark. 2014).

SE'nin anti-inflamatuvar etkilerini değerlendiren farklı hayvan çalışmaları, çeşitli hastalık modellerinde pro-inflamatuvar sitokinlerin düzeylerini anlamlı şekilde azalttığını göstermektedir. Okuyama ve arkadaşlarının, meme tümörü aşılmasından 22 gün sonra ratlara spirulina uyguladıkları çalışmalarında, spirulina uygulanan gruplarda IL-17 ve IL-23 azaldığı tespit edilmiştir (Okuyama ve ark. 2017). Yapılan başka bir çalışmada romatoid artrit oluşturulan ratlara 28 gün süresince 400 mg/kg SE verilmiş, deneyin sonucunda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-17 miktarlarının kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Ghallab ve ark. 2024). Abdel-Daim ve arkadaşlarının, spirulinanın erkek Wistar albino ratlarının kanında, kalbinde, karaciğerinde ve böbreklerinde diazinon kaynaklı subakut toksisiteye karşı antioksidan ve organoprotektif etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, ratlara 500 mg/kg ve 1000 mg/kg spirulina uygulanmıştır. Diazinon uygulamasından 1 saat önce spirulina ile ön tedavi yapılan ratlarda serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonu azaldığı tespit edilmiştir (Abdel-Daim ve ark. 2018). SE'nin ülseratif kolite karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise ratlara 15 gün boyunca 200 mg/kg SE uygulanmış ve SE verilen grupta TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinin azaldığı izlenmiştir (Morsy ve ark. 2019). Yu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, ratlar 100 gram yemde 3 gram spirulina olacak şekilde besleyerek, yüksek yağlı diyet kaynaklı metabolik inflamasyona karşı koruyucu etkisine bakılmıştır. Spirulina verilen grupta serum IL-6, TNF- $\alpha$  ve LPS seviyeleri önemli ölçüde azaldığı, IL-1 $\beta$  seviyesinin ise hafif düzeyde düştüğü raporlanmıştır (Yu ve ark. 2020). Kang ve arkadaşlarının ratlarda oluşturulan deneysel periodontitiste SE'nin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, ratlara 14 gün boyunca oral yoldan 100, 200, 400 mg/kg SE verilmiştir. SE verilen gruplarda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve NF- $\kappa$ B seviyelerinin azaldığı, en fazla azalmanın ise 400 mg/kg SE verilen grupta olduğu görülmüştür (Kang ve ark. 2021). Çalışmamızda da literatüre paralel olarak SE uygulanan gruplara da pro-inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini büyük ölçüde azaltmıştır.

Periodontitis patogenezinde başlıca rol alan anti-inflamatuvar sitokinler IL-4 ve IL-10 dur. IL-4, makrofajların ve Th1 hücrelerinin pro-inflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak inflamasyonun şiddetini azaltır (Nelms ve ark. 1999).

Monositlerden PGE<sub>2</sub> sekresyonunda inhibe etmektedir (Corcoran ve ark. 1992). Ayrıca osteoblastlarda RANKL ekspresyonunu azaltırken, OPG üretimini artırır (Teixeira ve ark. 2023). IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder (Mosser ve Zhang 2008; Sun ve ark. 2020). RANKL ve M-CSF üretimini azaltarak osteoklast oluşumunu engeller ve OPG ekspresyonunu artırır (Xu ve ark. 2023). Ayrıca makrofajların M2 (anti-inflamatuvar) fenotipe yönelmesini teşvik eder (Uttamani ve ark. 2024).

SE'nin anti-inflamatuvar yanıtı destekleyici etkileri, IL-4 ve IL-10 gibi sitokinler üzerinden de değerlendirilen çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. Mao ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, spirulinanın mononükleer hücrelerden IL-4 salınımını arttırdığını tespit edilmiştir (Mao ve ark. 2000). Yapılan başka bir çalışmada deneysel periodontitis oluşturulan ratlara farklı dozlarda SE uygulaması yapılmış ve SE verilen gruplarda IL-4 seviyesinin arttığı bulunmuştur (Kang ve ark. 2021). Hepatotoksisite oluşturulan ratlara 28 gün süresince 400 mg/kg SE uygulanan bir çalışmada, SE uygulanan grupta serum IL-10 seviyelerinin yükseldiği görülmüştür (Joseph Martin ve Evan Prince 2017). Paramita ve arkadaşlarının 200 mg/kg SE verilen ratlarda inflamatuvar mediatörlerin seviyelerini araştırdıkları çalışmada, SE verilen grupta IL-10 seviyesi arttığı rapor edilmiştir (Paramita ve ark. 2024). Bu çalışmalara karşın SE uygulamasının IL-4 seviyelerini düşürdüğüne yönelik çalışmalar da literatürde mevcuttur (El-Sheikh ve ark. 2014; Nourollahian ve ark. 2020; Seyidoğlu ve ark. 2021). Çalışmamızda, SE uygulanan gruplarda serum IL-10 ve IL-4 düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlendi. Elde edilen bulgular, SE'nin IL-10 ve IL-4 düzeylerini artırarak anti-inflamatuvar yanıtı destekleyebileceğini düşündürmektedir.

Periodontitiste COX-2, PGE<sub>2</sub>, VEGF-A ve RUNX-2 seviyelerinde de değişiklikler görülmektedir. COX-2, AA'dan prostaglandinlerin üretimini sağlayan indüklenebilir bir enzimdir. İnflamatuvar uyaranlar (örneğin LPS, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) bu enzimin ekspresyonunu artırır. COX-2 tarafından da en önemli pro-inflamatuvar prostaglandinlerden olan PGE<sub>2</sub> sentezlenir (Noguchi ve Ishikawa 2007; Zhang ve ark. 2023). PGE<sub>2</sub>, damar geçirgenliğini artırarak inflamatuvar hücrelerin periodontal dokulara göçünü kolaylaştırır. RANKL ve MMP ekspresyonunu artırır (Offenbacher 1996; Kumar ve ark. 2013). Periodontitiste COX-2 ve PGE<sub>2</sub> seviyeleri artmaktadır

(Kumar ve ark. 2013; Liao ve ark. 2014; Latorre Uriza ve ark. 2018; Moro ve ark. 2019).

Yapılan bir çalışmada, spirulinanın antioksidan ve immünomodülatör etkisi ile rat modelinde tam Freund adjuvan kaynaklı artrite karşı anti-anjiyojenik etkisi test edilmiştir. Ratlara 28 gün süresince 200 ve 400 mg/kg spirulina verilmiştir. Slitapirulina uygulamasının serum COX-2 seviyesini düşürdüğü bulunmuştur (Ali ve ark. 2015). Yapılan başka bir çalışmada SE'nin ratlarda inflamatuvar mediatörler üzerine etkisini incelemiştir. Ratlara 200 mg/kg SE verilmiştir. SE verilen grupta TNF- $\alpha$  ve COX-2 seviyeleri azalmıştır (Paramita ve ark. 2024). Rezaei ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlarda asetik asit kaynaklı kolit üzerinde bal ve SE'nin anti-inflamatuvar etkilerini araştırmışlardır. SE grubuna 1 gr/kg dozu kolit indüksiyonundan 2 saat sonra, ilk günden itibaren, sabahları günde bir kez oral gavaj yoluyla yedi ardışık gün boyunca verilmiştir. SE'nin TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve PGE<sub>2</sub> seviyelerini azaltmıştır (Rezaei ve ark. 2019). Bu bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda SE ekstraktı uygulanan gruplarda COX-2 ve PGE<sub>2</sub> seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Periodontitiste inflamatuvar stimülasyon (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , LPS) sonrası hücrelerden VEGF-A sentezlenir (Vasconcelos ve ark. 2016). Yeni damar oluşumunu ve damar geçirgenliğinde artış sağlayarak, inflamatuvar hücrelerin, sitokinlerin ve plazma proteinlerinin periodontal dokulara ulaşmasına neden olur (Andrikopoulos ve ark. 2011). Yapılan çalışmalarda periodontitiste VEGF-A seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (Tsumori ve ark. 2016; Vasconcelos ve ark. 2016; Lin ve ark. 2019).

Literatür incelendiğinde spirulinanın VEGF seviyelerini azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ghallab ve ark. ratlarda deneysel olarak oluşturulan romatoid artrit modelinde spirulinanın etkilerini araştırdıkları çalışmada, SE uygulanan grupta (28 gün, günde 1 kez, 400 mg/kg) tedavi almayan artritli ratlarla karşılaştırıldığında %28 oranında VEGF seviyelerinin azaldığı görülmüştür (Ghallab ve ark. 2024). Yapılan başka bir çalışmada benzer şekilde, artrit oluşturulan ratlarda SE (200 ve 400 mg/kg) uygulamasının, serum VEGF seviyelerini azalttığı izlenmiştir (Ali ve ark. 2015). Mahmoud ve arkadaşlarının ratlarda hepatosit karsinomunu indükleyerek yaptıkları çalışmada, 28 gün boyunca 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozunda SE verilmiştir ve SE uygulanan gruplarda VEGF seviyesi önemli derecede düşük bulunmuştur (Mahmoud

ve ark. 2021). Çalışmamızda da benzer şekilde SE uygulamasının VEGF-A seviyesini azalttığı görülmüştür.

RUNX-2, kemik dokusunun gelişiminde kilit rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Özellikle osteoblast farklılaşması ve kondrosit olgunlaşması süreçlerinde temel bir düzenleyici olarak görev yapmaktadır (Komori ve biology 2018). Pro-inflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin RUNX-2 ekspresyonunu baskılamaktadır (Ding ve ark. 2009). Periodontitis bölgesinde oluşan hipoksik mikroçevre, HIF-1 $\alpha$  ve VEGF düzeylerinin artmasına neden olmakta; bu artışın, periodontal ligament kök hücrelerinin osteojenik farklılaşma sürecinde RUNX-2 ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir (Xu ve ark. 2019). Literatürde, bitkisel kaynaklı bazı bileşiklerin RUNX-2 ekspresyonunu artırıcı etkileri ortaya konmuştur. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, Sambucus Williamsii Hance bitkisinin kök kabuğundan elde edilen özütün, kırık oluşturulan ratlarda 340 ve 680 mg/kg dozlarında uygulandığında RUNX-2 protein düzeylerini artırdığı saptanmıştır (Yang ve ark. 2016). Benzer şekilde, Achyranthes bidentata bitki ekstresinin farklı dozlarda uygulandığı hücre kültürü çalışmalarında da RUNX-2 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Hua ve Zhang 2019). Ayrıca, siyatik siniri zedelenmiş ratlarda kurkumin uygulamasının RUNX-2 düzeylerini yükselttiği rapor edilmiştir (Wang ve ark. 2022).

Literatürde SE'nin RUNX-2 ekspresyonuna olan etkisini doğrudan inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda ise SE uygulanan gruplarda, diğer bitkisel kaynaklı bileşiklerde olduğu gibi, RUNX-2 düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. Bu bulgu, SE'nin osteojenik süreçlerde potansiyel düzenleyici rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

DeneySEL periodontitisin oluşturulduğu ligatürleme yönteminde AKK görülür. Görülen bu AKK iki ya da üç boyutlu çeşitli yöntemlerle belirlenebilir (Toker ve ark. 2019; Paksoy ve ark. 2023). Bu çeşitli yöntemlerden biri histomorfometrik incelemedir. Histomorfometrik ölçümde alveolar kret tepesiyle MSS arasındaki mesafe ölçülerek kemik kaybı belirlenir (Li ve Amar 2007). Yaptığımız çalışmamızda da AKK miktarının belirlenmesinde histomorfometrik yöntem kullanılmıştır.

DeneySEL periodontitis, AKK ile birlikte osteoblast ve osteoklast dengesinin bozulmasıyla karakterizedir. Bu süreçte osteoblast aktivitesinde azalma olurken,

osteoklast sayısında artış gözlenmektedir (Kim ve ark. 2019). Bakteriye kolonizasyonu taklit eden ligatür uygulamasının ardından artan pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinin, periodontal dokularda osteoklast sayısının artışıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Kim ve ark. 2012; Kim ve ark. 2019). Literatürde, anti-inflamatuvar özelliklere sahip çeşitli bitki ekstraktlarının AKK'yi azalttığı ve osteoblast/osteoklast dengesine olumlu yönde etki ettiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada *Calendula officinalis* ve *Hypericum perforatum* ekstraktlarının AKK'yi azalttığı bulunmuştur (Tanideh ve ark. 2020). Özden ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeği ekstresi uygulanan gruplarda osteoklast sayısının ve kemik kaybının azaldığı görülmüştür (Özden ve ark. 2017). Yapılan başka bir çalışmada kanroin ekstresi verilen grupta osteoklast sayısı ve kemik kaybının daha düşük olduğu raporlanmıştır (Inagaki ve ark. 2021). Sağlam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sumak ekstresi uygulamasının osteoblast sayısını artırırken osteoklast sayısını ve kemik kaybını azalttığı bulunmuştur (Sağlam ve ark. 2015). Yapılan bir çalışmada ise kurkumin uygulanan ratlarda osteoblast sayısında artışa karşılık osteoklast sayısında ve AKK'de azalma olduğu bildirilmiştir (Akpınar ve ark. 2018). SE yönelik literatür verileri ise oldukça sınırlıdır. Kang ve arkadaşları SE uygulanan ratlarda osteoklast sayısı ve AKK'de azalma olduğunu raporlamıştır (Kang ve ark. 2021).

Mevcut çalışmamızda, literatürle uyumlu şekilde, SE uygulanan gruplarda osteoblast sayısı artarken AKK ve osteoklast sayısı anlamlı düzeyde azalmıştır. Bu bulgu, SE'nin osteoimmünolojik süreçler üzerinde koruyucu bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

IL-1 $\beta$  ve COX-2 arasındaki ilişki, inflamatuvar araştırmaların önemli bir odak noktasıdır. Çeşitli sinyal yolları üzerinden kurulan bu etkileşim, pek çok patolojik durumda pozitif korelasyonla açıklanmıştır (Jung ve ark. 2003; Hou ve ark. 2011; Alvarez ve ark. 2020). IL-1 $\beta$  ile VEGF-A arasındaki ilişki, inflamasyon ve kanser biyolojisinde başta olmak üzere çeşitli patolojik bağlamlarda önemlidir. Literatürde, IL-1 $\beta$ 'nin VEGF-A ekspresyonunu düzenleyen sinyal yollarını aktive ettiği ve bu iki biyobelirteç arasında pozitif bir korelasyon bulunduğu bildirilmektedir (Jung ve ark. 2003; Mantsounga ve ark. 2022). IL-1 $\beta$  ile PGE<sub>2</sub> ilişkisi de benzer şekilde inflamatuvar süreçlerde önemli rol oynar ve bu ikili arasındaki pozitif korelasyon çeşitli hastalık modellerinde gösterilmiştir (Watanabe ve ark. 1994; Cardoso ve ark. 2024). IL-1 $\beta$  ile TNF- $\alpha$  arasındaki korelasyon, otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların

patogenezinde merkezi bir rol oynamakta olup, bu ilişkiyi destekleyen birçok çalışma mevcuttur (Nadler ve ark. 2000; Lin ve ark. 2017; Florescu ve ark. 2023; Cardoso ve ark. 2024). Benzer şekilde, IL-1 $\beta$  ile IL-6 arasında da pozitif korelasyon olduğu; IL-1 $\beta$ 'nın çeşitli hücrelerden IL-6 salınımını uyararak bu yanıtı tetiklediği gösterilmiştir (Uludag ve ark. 2015; Kulesh ve ark. 2016; Florescu ve ark. 2023). IL-1 $\beta$  ile IL-17 arasındaki ilişki, kronik inflamasyon ve otoimmünite açısından önemlidir. Çeşitli çalışmalarda IL-1 $\beta$ 'nın IL-17 üretimini desteklediği ve pozitif bir geri bildirim döngüsü oluşturduğu gösterilmiştir (Kostulas ve ark. 1999; Zou ve ark. 2017; Le Jan ve ark. 2019). Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde, IL-1 $\beta$ ; IL-6, IL-17, COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır.

IL-6 ile PGE<sub>2</sub> arasındaki ilişki, inflamasyon ve bağışıklık yanıtlarında karmaşık etkileşimler sergilemektedir. Bazı çalışmalar, IL-6'nın PGE<sub>2</sub> üretimini uyarabileceğini göstermektedir. Örneğin, Bouffi ve arkadaşları, IL-6'nın mezenkimal kök hücrelerden PGE<sub>2</sub> salınımını artırarak artrit modellerinde immünosupresif etki gösterebileceğini bildirmiştir (Bouffi ve ark. 2010). Literatürde IL-6 ile PGE<sub>2</sub> arasında pozitif korelasyon varlığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Bertolini ve ark. 1994; Bouffi ve ark. 2010; Pandey ve ark. 2024). IL-6 ile TNF- $\alpha$  arasındaki korelasyon, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu iki sitokin, çeşitli uyaranlara yanıt olarak genellikle birlikte artmakta ve inflamatuvar süreci karşılıklı olarak güçlendirmektedir (Popko ve ark. 2010; Wilms ve ark. 2010; Umare ve ark. 2014). IL-6 ile VEGF-A arasındaki ilişki, özellikle kanser, diyabet ve retina hastalıklarında inflamasyonla ilişkili anjiyogenezde öne çıkmaktadır. IL-6'nın VEGF-A ekspresyonunu artırarak bu sürece katkı sağladığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Krzystek-Korpaczka ve ark. 2007; Schoenberger ve ark. 2012; Dalal ve ark. 2018; Li ve ark. 2023; Liang ve ark. 2024). IL-6 ile COX-2 arasındaki pozitif ilişki, IL-6'nın COX-2 ekspresyonunu artırması yoluyla PGE<sub>2</sub> üretimini tetiklemesi şeklinde tanımlanmakta, bu etkileşim başta kanser ve otoimmün hastalıklar olmak üzere çeşitli patolojik durumlarla ilişkilendirilmektedir (Maihöfner ve ark. 2003; Rummel ve ark. 2006; Li ve ark. 2019). IL-6 ve IL-17 arasındaki korelasyon ise inflamatuvar ve otoimmün yanıtların sinerjik düzenlenmesini yansıtmaktadır. IL-17'nin IL-6 üretimini artırdığı ve böylece inflamasyonu pekiştirdiği gösterilmiştir (Nakae ve ark. 2003). Aralarındaki pozitif korelasyonu gösteren çalışmalar vardır (Hashmi ve Zeng 2006; Galil ve ark. 2015). Çalışmamızda, IL-6 ile IL-17, COX-2,

VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyonlar saptanmıştır; bu bulgular, literatürde bildirilen ilişkileri desteklemektedir.

IL-17 ile COX-2 arasındaki ilişki, özellikle inflamatuvar hastalıklar bağlamında önemli bir araştırma alanıdır. Öncelikle Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17'nin, çeşitli hücre tiplerinde COX-2 ekspresyonunu indüklediği ve bunun da inflamatuvar yanıt ve doku yeniden şekillenmesi mekanizmalarına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark. 2005). Bu iki biyobelirteç arasında pozitif korelasyon bildiren çalışmalar mevcuttur (Esmaceli ve ark. 2011; Prayitno 2019). IL-17 ile VEGF-A arasındaki ilişki, anjiyogenez ve inflamasyonun kesiştiği patolojik durumlarda önemli rol oynamaktadır. IL-17'nin VEGF-A ekspresyonunu artırarak yeni damar oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir (Amara ve ark. 2016). Yapılan çalışmalarda aralarında pozitif korelasyon bulunmuştur (Tachibana ve ark. 2017; Xu ve ark. 2022). IL-17 ile TNF- $\alpha$  arasındaki korelasyon, inflamatuvar yanıtların şiddetlenmesinde öne çıkmaktadır. IL-17'nin TNF- $\alpha$  üretimini artırdığı ve özellikle hepatik yıldız hücrelerinde pozitif geri bildirim döngüsü oluşturduğu gösterilmiştir (Beringer ve ark. 2018). Bu etkileşim, başka çalışmalarla da desteklenmiştir (Al-Saadany ve ark. 2016; Liu ve ark. 2016; Kubysheva ve ark. 2020). IL-17 ile PGE<sub>2</sub> arasındaki ilişki, bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde dikkat çeken bir diğer bağlantıdır. IL-17'nin, özellikle makrofajlarda PGE<sub>2</sub> üretimini artırdığı, böylece inflamatuvar sürece katkı sağladığı bildirilmiştir (Liu ve ark. 2020). Yapılan çalışmalarda aralarındaki korelasyon gösterilmiştir (Rozenberg ve ark. 2016; Bilal ve ark. 2021). Çalışmamızda da literatürle paralel olarak IL-17 düzeylerinin COX-2, VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile anlamlı düzeyde pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

COX-2 ile VEGF-A arasındaki korelasyon, özellikle kanser ve diğer inflamatuvar hastalıklar bağlamında önemli bir araştırma alanıdır. Bu iki molekül arasındaki etkileşimin tümör büyümesi, inflamasyon ve doku onarımında etkileri vardır. Araştırmalar, COX-2'nin çeşitli hücre tiplerinde, özellikle de inflamatuvar koşullar altında VEGF-A ekspresyonunu artırabileceğini göstermiştir. Örneğin İnsan meme kanserinde COX-2 mRNA ekspresyonu ile VEGF-A mRNA ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Timoshenko ve ark. 2006). Literatürde aralarındaki korelasyonu gösteren farklı çalışmalar vardır (von Rahden ve ark. 2005; Erdem ve ark. 2011; Lee ve ark. 2014). COX-2, inflamatuvar uyaranlara

yanıt olarak PGE<sub>2</sub> sentezinden sorumlu başlıca enzim olarak kabul edilir. Du ve arkadaşları, inflamatuvar yanıtlar sırasında COX-2'nin yukarı düzenlendiğini ve bunun ateşe ve diğer inflamatuvar semptomlara katkıda bulunan PGE<sub>2</sub> üretiminin artmasına yol açtığını göstermiştir (Du ve ark. 2021). Dahası, COX-2 indüksiyonu, PGE<sub>2</sub>'nin anjiyogenez ve ağrı gibi süreçleri desteklediği romatoid artrit ve kanser gibi durumlarda önemli bir faktördür (Chen ve ark. 2016). Literatüre bakıldığında aralarındaki pozitif korelasyonu gösteren farklı çalışmalar vardır (Yuan ve ark. 2014; Xu ve ark. 2022; Kulesza ve ark. 2023). Çalışmamızda da literatürle paralel olarak COX-2, VEGF-A ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif ilişki göstermektedir.

VEGF-A ile TNF- $\alpha$  arasındaki korelasyon, inflamasyon ve anjiyogenez bağlamında çok önemlidir. TNF- $\alpha$ 'nın çeşitli hücre tiplerinde VEGF-A ekspresyonunun güçlü bir indükleyicisi olduğunu göstermiştir. Örneğin, Bottomley ve arkadaşları, TNF- $\alpha$ 'nın romatoid artritli hastalardan alınan periferik kan mononükleer hücrelerinde VEGF-A salgılanmasını doğrudan yukarı düzenleyebileceğini göstermiştir. Bu bulgu, TNF- $\alpha$ 'nın inflamatuvar bağlamlarda VEGF-A yoluyla anjiyogenezin temel düzenleyicisi olarak rolünü vurgulamaktadır (Bottomley ve ark. 1999). Literatüre bakıldığında aralarındaki pozitif korelasyonu gösteren farklı çalışmalar vardır (Schoenberger ve ark. 2012; Xu ve ark. 2022). VEGF-A ile PGE<sub>2</sub> arasındaki korelasyon, inflamasyon, anjiyogenez ve tümör biyolojisi bağlamında önemli bir araştırma alanıdır. PGE<sub>2</sub>'nin VEGF-A ekspresyonunu desteklediğini göstermektedir. Huang ve arkadaşları, ekzojen PGE<sub>2</sub>'nin VEGF üretimini teşvik ettiğini ve gastrik karsinom hücrelerinde HIF-1 $\alpha$  seviyelerini artırdığını bildirmiştir; bu da PGE<sub>2</sub>'nin güçlü bir pro-anjiyojenik faktör olarak görev yaptığını göstermektedir (Huang ve ark. 2005). Yapılan çalışmalarda aralarında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür (Bianchi ve ark. 2012; Schoenberger ve ark. 2012). Çalışmamızda da literatürle paralel olarak VEGF-A, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif ilişki bulunmuştur.

TNF- $\alpha$  ile PGE<sub>2</sub> arasındaki korelasyon, inflamatuvar yanıtları düzenlemede ve çeşitli patolojik durumların etkilerini aracılık etmede kritik öneme sahiptir. TNF- $\alpha$ 'nın makrofajlar ve fibroblastlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde PGE<sub>2</sub> üretimini uyardığı bilinmektedir. Örneğin, Ohira ve arkadaşları, TNF- $\alpha$ 'nın COX-2 ekspresyonunu yukarı düzenlediğini ve bunun da inflamatuvar uyarılardan etkilenen hücrelerde artan PGE<sub>2</sub> üretimine yol açtığını bildirmiştir (Ohira ve ark. 2016). Bu, TNF- $\alpha$ 'nın COX-2 aktivasyonu yoluyla PGE<sub>2</sub> seviyelerini nasıl artırabileceğini ve

böylece inflamasyonu nasıl teşvik edebileceğini göstermektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$  ile PGE<sub>2</sub> arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir (Perunovic ve ark. 2016; Cardoso ve ark. 2024). Çalışmamızda da literatürle paralel olarak TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> ile pozitif ilişki göstermektedir.

Bu çalışmanın önemli bir güçlü yönü, SE, deneysel periodontitis modelinde VEGF-A, PGE<sub>2</sub>, COX-2 ve RUNX-2 gibi biyobelirteçler üzerindeki etkilerini değerlendiren literatürdeki ilk çalışmalardan biri olmasıdır. Bu yönüyle çalışma, periodontal hastalığın immünolojik ve rejeneratif süreçlerine ilişkin literatüre özgün katkılar sunmaktadır. SE'nin bu biyobelirteçler üzerindeki etkilerini doğrudan inceleyen çalışma sayısının sınırlı olması ise, elde edilen bulguların literatürle kapsamlı biçimde karşılaştırılmasını zorlaştırmıştır. Bu durum, çalışmanın özgünlüğünü artırmakla birlikte tartışma derinliğini sınırlayan bir unsur olarak değerlendirilebilir.

Öte yandan, çalışmanın bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Çalışmada yalnızca serum düzeyleri analiz edilmiş olup, ilgili sitokin ve mediatörlerin doku düzeyindeki ekspresyonlarının da değerlendirilmesi, elde edilen bulguların biyolojik anlamını daha net ortaya koyabilirdi.

Ayrıca, SE'nin alveoler kemik üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı biçimde değerlendirilebilmesi için üç boyutlu görüntüleme tekniklerinin (örneğin mikro-BT) kullanıldığı, daha geniş örneklem büyüklüğüne sahip ve uzun dönemli ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda yalnızca erkek ratların kullanılmış olması nedeniyle, dişi ratlarda görülen hormonal dalgalanmaların SE'nin potansiyel etkileri üzerindeki olası rolü değerlendirilememiştir.

## 6. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında, SE uygulamasının anti-inflamatuvar etkileri biyokimyasal, histopatolojik ve histomorfometrik parametreler aracılığıyla değerlendirilmiş; bu doğrultuda periodontal doku hasarı üzerindeki olası koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma SE'nin sistemik inflamatuvar yanıtı modüle ederek periodontitisin ilerlemesini baskılayabileceğini ve osteoimmün dengeyi destekleyebileceğini göstermektedir. Özellikle VEGF-A, PGE<sub>2</sub> ve RUNX-2 üzerindeki etkileri açısından literatüre katkı sunan öncü bir çalışmadır. Bu bulgular, SE'nin periodontal hastalıkların tedavisinde potansiyel destekleyici bir ajan olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Ancak bu etkinin mekanizmalarının daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Çalışma grupları K, P, PF ve T olmak üzere dört gruptan oluşmuştur. Serum örneklerinde IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri ELISA tekniğiyle analiz edilmiştir. Doku örnekleri üzerinden inflamatuvar skorlama, osteoblast ve osteoklast hücre sayımı gibi histopatolojik değerlendirmeler ile AKK'ye ilişkin histomorfometrik analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen biyokimyasal ve histolojik veriler doğrultusunda, çalışmanın kapsamı çerçevesinde belirli sonuçlara ulaşılmıştır.

1. 400 mg/kg dozda sistemik SE uygulamasının serum IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, COX-2, VEGF-A, RUNX-2, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> etki göstererek anti-inflamatuvar etkisi olduğu,
2. 400 mg/kg dozda sistemik SE uygulamasının periodontitisin önlenmesi için profilaktik ve tedavi edici olarak olumlu etkisi olduğu,
3. 400 mg/kg dozda sistemik SE uygulamasının alveolar kemik rezorpsiyonunu önleyebileceği, aynı zamanda histomorfometrik analiz sonuçlarının bu durumu desteklediği tespit edildi.

Mevcut bilgilerimiz doğrultusunda, bu çalışma deneysel olarak periodontitis oluşturulan rat modellerinde SE uygulamasının RUNX-2, VEGF-A, PGE<sub>2</sub> ve COX-2 gibi parametreler üzerindeki etkilerini ve olası profilaktik rolünü değerlendiren literatürdeki ilk araştırmadır. Sistemik olarak uygulanan 400 mg/kg dozundaki SE'nin periodontal inflamasyonu ve alveolar kemik yıkımını azaltabileceği yönündeki hipotez, biyokimyasal, histopatolojik ve histomorfometrik verilerle desteklenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, SE'nin periodontitis sürecinde inflamasyonun kontrol

altına alınması ve AKK'nin önlenmesinde potansiyel yarar sağlayabileceği öngörülmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

- Abdel-Daim MM, Abushouk AI, Alkhalf MI, Toraih EA, Fawzy MS, Ijaz H, et al. Antagonistic effects of *Spirulina platensis* on diazinon-induced hemato-biochemical alterations and oxidative stress in rats. *Environ Sci Pollut Res*. 2018;25:27463-70.
- Abdel-Daim MM, Farouk SM, Madkour FF, Azab SS. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* in comparison to *Dunaliella salina* in acetic acid-induced rat experimental colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2015;37:126-39.
- Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol. Methods*. 2013;394:49-54.
- Abramson SL, Gallin J. IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes. *J Immunol*. 1990;144:625-30.
- Afacan B, Öztürk VÖ, Paşalı Ç, Bozkurt E, Köse T, Emingil G. Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 $\alpha$ , VEGF, and TNF- $\alpha$  levels in periodontal health and disease. *J Periodontol*. 2019;90:788-97.
- Aissaoui O, Amiali M, Bouzid N, Belkacemi K, Bitam A. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharm Biol*. 2017;55:1304-12.
- Akpınar A, Calisir M, Karakan NC, Alpan AL, Goze F, Poyraz O. Effects of curcumin on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats: A morphometric and histopathologic study. *Int J Vitam Nutr Res*. 2018.
- Al-Hakeim HK, Al-Hamami SA, Almulla AF, Maes M. Increased serum thromboxane A2 and prostacyclin but lower complement C3 and C4 levels in COVID-19: associations with chest CT scan anomalies and lowered peripheral oxygen saturation. *COVID*. 2021;1:489-502.
- Al-Saadany HM, Hussein MS, Gaber RA, Zaytoun HA. Th-17 cells and serum IL-17 in rheumatoid arthritis patients: Correlation with disease activity and severity. *Egypt Rheumatol*. 2016;38:1-7.
- Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol* 2000. 2002;29.
- Ali EA, Barakat BM, Hassan R. Antioxidant and angiostatic effect of *Spirulina platensis* suspension in complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. *PLoS One*. 2015;10:e0121523.
- Altaca M, Cebesoy EI, Kocak-Oztug NA, Bingöl I, Cifcibasi E. Interleukin-6,-17, and-35 levels in association with clinical status in stage III and stage IV periodontitis: a cross-sectional study. *BMC Oral Health*. 2024;24:1015.
- Alvarez AM, DeOcesano-Pereira C, Teixeira C, Moreira V. IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  modulation of proliferated and committed myoblasts: IL-6 and COX-2-derived prostaglandins as key actors in the mechanisms involved. *Cells*. 2020;9:2005.
- Alves JLD, Costa PCT, Sales LCS, Silva Luis CC, Bezerra TPT, Souza MLA, et al. Shedding light on the impacts of *Spirulina platensis* on gut microbiota and related health benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2025;65:2062-75.
- Amara S, Alotaibi D, Tiriveedhi V. NFAT5/STAT3 interaction mediates synergism of high salt with IL-17 towards induction of VEGF-A expression in breast cancer cells. *Oncol Lett*. 2016;12:933-43.
- Amarasekara DS, Kim S, Rho J. Regulation of osteoblast differentiation by cytokine networks. *Int. J. Mol Sci*. 2021;22:2851.
- Amunulla A, Venkatesan R, Ramakrishnan H, Arun K, Sudarshan S, Talwar A. Lymphocyte subpopulation in healthy and diseased gingival tissue. *J Indian Soc Periodontol*. 2008;12:45-50.
- André S, Tough DF, Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Bayry J. Surveillance of antigen-presenting cells by CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in autoimmunity: immunopathogenesis and therapeutic implications. *Am J Pathol*. 2009;174:1575-87.

- Andrikopoulos P, Fraser SP, Patterson L, Ahmad Z, Burcu H, Ottaviani D, et al. Angiogenic functions of voltage-gated Na<sup>+</sup> Channels in human endothelial cells: modulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling. *J Biol Chem*. 2011;286:16846-60.
- Apatzidou DA, Kinane DF. Nonsurgical mechanical treatment strategies for periodontal disease. *Dental Clinics*. 2010;54:1-12.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4:1-6.
- Axmann R, Böhm C, Krönke G, Zwerina J, Smolen J, Schett G. Inhibition of interleukin-6 receptor directly blocks osteoclast formation in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum*. 2009;60:2747-56.
- Baer M, Dillner A, Schwartz RC, Sedon C, Nedospasov S, Johnson PF. Tumor necrosis factor alpha transcription in macrophages is attenuated by an autocrine factor that preferentially induces NF-κB p50. *Mol Cell Biol*. 1998;18:5678-89.
- Bakthavatchalu V, Meka A, Sathishkumar S, Lopez M, Bhattacharyya I, Boyce B, et al. Tannerella forsythia infection-induced calvarial bone and soft tissue transcriptional profiles. *Mol Oral Microbiol*. 2010;25:317-30.
- Baldwin Jr AS. The NF-κB and IκB proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:649-81.
- Balu P, Pillai AKB, Mariappan V, Ramalingam S. Cytokine levels in gingival tissues as an indicator to understand periodontal disease severity. *Curr Res Immunol*. 2024;5:100080.
- Barreca MM, Alessandro R, Corrado C. Effects of flavonoids on cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases: role of NF-κB signaling pathway. *Int J Mol. Sci*. 2023;24:9236.
- Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010;53.
- Bartold PM, Van Dyke TE. An appraisal of the role of specific bacteria in the initial pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2019;46:6-11.
- Bastos M, Lima J, Vieira P, Mestnik M, Faveri M, Duarte P. TNF-α and IL-4 levels in generalized aggressive periodontitis subjects. *Oral Dis*. 2009;15:82-7.
- Bedke T, Muscate F, Soukou S, Gagliani N, Huber S. IL-10-producing T cells and their dual functions. in *Semin. Immunol*. 2019. Elsevier.
- Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? *Int J Mol Sci*. 2018;19:2155.
- Beringer A, Thiam N, Molle J, Bartosch B, Miossec P. Synergistic effect of interleukin-17 and tumour necrosis factor-α on inflammatory response in hepatocytes through interleukin-6-dependent and independent pathways. *Clin Exp Immunol*. 2018;193:221-33.
- Bertolini DR, Votta B, Hoffman S, Strassmann G. Interleukin 6 production in fetal rat long bone cultures is correlated with PGE2 release and does not correlate with the extent of bone resorption. *Cytokine*. 1994;6:368-75.
- Bi CS, Wang J, Qu HL, Li X, Tian BM, Ge S, et al. Calcitriol suppresses lipopolysaccharide-induced alveolar bone damage in rats by regulating T helper cell subset polarization. *J Periodontal Res*. 2019;54:612-23.
- Bianchi E, Taurone S, Leopizzi M, Bardella L, Di Liddo R, Nucci F, et al. Immunohistochemical profile of VEGF, PGE2 and TGF-β in inflammatory tenosynovitis of carpal tunnel syndrome. *Eur J Inflamm*. 2012;10:491-9.
- Bilal M, Al-Saleh J, Fakher FA. Serum levels of prostaglandin E2 (PGE2) and interleukin 17 (IL-17) are associated with angiogenesis and metastasis in breast cancer patients. *Res J Pharm Technol*. 2021;14:317-20.
- Bogdan C, Vodovotz Y, Paik J, Xie Qw, Nathan C. Mechanism of suppression of nitric oxide synthase expression by interleukin-4 in primary mouse macrophages. *J Leukoc Biol*. 1994;55:227-33.
- Bottomley, Webb, Watson, Holt, Freemont, Brenchley. Peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis spontaneously secrete vascular endothelial growth factor

- (VEGF): specific up-regulation by tumour necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in synovial fluid. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:171-6.
- Bouffi C, Bony C, Courties G, Jorgensen C, Noel D. IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS One.* 2010;5:e14247.
- Brash AR. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *J Clin Invest.* 2001;107:1339-45.
- Braun T, Zwerina J. Positive regulators of osteoclastogenesis and bone resorption in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:1-11.
- Brecx M, Schlegel K, Gehr P, Lang N. Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. *J Periodontal Res.* 1987;22:50-7.
- Brock TG, McNish RW, Peters-Golden M. Arachidonic acid is preferentially metabolized by cyclooxygenase-2 to prostacyclin and prostaglandin E2. *J Biol Chem.* 1999;274:11660-6.
- Burska A, Boissinot M, Ponchel F. Cytokines as biomarkers in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:545493.
- Butchibabu K, Koppolu P, Mishra A, Pandey R, Swapna LA, Uppada UK. Evaluation of patient perceptions after labial frenectomy procedure: A comparison of diode laser and scalpel techniques. *European J Gen Dent.* 2014;3:129-33.
- Butler D, Maini R, Feldmann M, Brennan F. Modulation of proinflammatory cytokine release in rheumatoid synovial membrane cell cultures. Comparison of monoclonal anti TNF-alpha antibody with the interleukin-1 receptor antagonist. *Eur Cytokine Netw.* 1995;6:225-30.
- Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, Michie HR, Stanford GG, Van Der Meer JW, et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis.* 1990;161:79-84.
- Cardoso C, Garlet GP, Crippa G, Rosa AL, Junior W, Rossi MA, et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24:1-6.
- Cardoso EM, Reis C, Manzanares-Céspedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgrad Med.* 2018;130:98-104.
- Cardoso JM, Ribeiro AC, Botelho J, Proença L, Noronha S, Alves RC. The Influence of Genetic Polymorphisms on the Expression of Interleukin-1beta, Prostaglandin E2 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Peri-Implant Crevicular Fluid: A Cross-Sectional Study. *Int J Mol Sci.* 2024;25:651.
- Carlini V, Noonan DM, Abdalalem E, Goletti D, Sansone C, Calabrone L, et al. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. *Front Immunol.* 2023;14:1161067.
- Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol.* 2018;89:S1-S8.
- Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2014;64:57-80.
- Chapple IL, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89:S74-S84.
- Charlier C, Michaux C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem.* 2003;38:645-59.
- Chatzaki N, Stavropoulos A, Denes B, Cancela J, Kiliaridis S, Giannopoulou C. Induced Periodontitis in Rats With Three Ligature Types: An Exploratory Study. *Clin Exp Dent Res.* 2024;10:e946.
- Chen C-C, Chang K-L, Huang J-F, Huang J-S, Tsai C-C. Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci.* 1997;13:609-17.

- Chen X, Wan Z, Yang L, Song S, Fu Z, Tang K, et al. Exosomes derived from reparative M2-like macrophages prevent bone loss in murine periodontitis models via IL-10 mRNA. *J Nanobiotechnology*. 2022;20:110.
- Chen X, Wang Q, Zhan L, Shu A. Effects and mechanisms of docosahexaenoic acid on the generation of angiopoietin-2 by rat brain microvascular endothelial cells under an oxygen-and glucose-deprivation environment. *SpringerPlus*. 2016;5:1-11.
- Cheng WC, Hughes FJ, Taams LS. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014;41:541-9.
- Chi Y-T, Xu C-J, Sun X-J, Li D-M, Wang H-F, Wang M-M, et al. Expression and significance of secreted frizzled-related protein 1 and  $\beta$ -catenin in gingival tissue of patients with chronic periodontitis. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2018;36:257-61.
- Chung Y, Chang SH, Martinez GJ, Yang XO, Nurieva R, Kang HS, et al. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity*. 2009;30:576-87.
- Cipollone F, Prontera C, Pini B, Marini M, Fazia M, De Cesare D, et al. Overexpression of functionally coupled cyclooxygenase-2 and prostaglandin E synthase in symptomatic atherosclerotic plaques as a basis of prostaglandin E2-dependent plaque instability. *Circulation*. 2001;104:921-7.
- Cohen SL, Moore AM, Ward WE. Interleukin-10 knockout mouse: a model for studying bone metabolism during intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis*. 2004;10:557-63.
- Corcoran M, Stetler-Stevenson W, Brown P, Wahl L. Interleukin 4 inhibition of prostaglandin E2 synthesis blocks interstitial collagenase and 92-kDa type IV collagenase/gelatinase production by human monocytes. *J Biol Chem*. 1992;267:515-9.
- Cox S, Eley B, Kiili M, Asikainen A, Tervahartiala T, Sorsa T. Collagen degradation by interleukin-1 $\beta$ -stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Dis*. 2006;12:34-40.
- Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:479-89.
- Cytokines P-i. *Arthrospira (Spirulina) platensis* Attenuates Dextran Sulfate Sodium-induced Colitis in Mice by Suppressing Key. *Korean J Gastroenterol*. 2020;76:150-8.
- Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81:672-6.
- Dalal V, Kumar R, Kumar S, Sharma A, Kumar L, Sharma JB, et al. Biomarker potential of IL-6 and VEGF-A in ascitic fluid of epithelial ovarian cancer patients. *Clin Chim Acta*. 2018;482:27-32.
- De Molon RS, Mascarenhas VI, de Avila ED, Finoti LS, Toffoli GB, Spolidorio DMP, et al. Long-term evaluation of oral gavage with periodontopathogens or ligature induction of experimental periodontal disease in mice. *Clin Oral Investig*. 2016;20:1203-16.
- De Molon RS, Park CH, Jin Q, Sugai J, Cirelli JA. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microsc Res Tech*. 2018;81:1412-21.
- Denisenko YK, Lobanova EG, Novgorodtseva TP, Gvozdenko TA, Nazarenko AV. The role of arachidonic acid metabolites (endocannabinoids and eicosanoids) in the immune processes: a review. *Int J Chem Biomed Sci Technol*. 2015;1:70-8.
- Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *J Immunol Res*. 2013;2013:503754.
- Dibart S, Eftimiadi C, Socransky S, Taubman M, Van Dyke T. Rapid evaluation of serum and gingival crevicular fluid immunoglobulin G subclass antibody levels in patients with early-onset periodontitis using checkerboard immunoblotting. *J Microbiol Immunol Infect*. 1998;13:166-72.
- Dietrich T, Ower P, Tank M, West N, Walter C, Needleman I, et al. Periodontal diagnosis in the context of the 2017 classification system of periodontal diseases and conditions—implementation in clinical practice. *Br Dent J*. 2019;226:16-22.

- Dinarello CA. The interleukin-1 family: 10 years of discovery 1. *The FASEB Journal*. 1994;8:1314-25.
- Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118:503-8.
- Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50.
- Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117:3720-32.
- Ding J, Ghali O, Lencel P, Broux O, Chauveau C, Devedjian J, et al. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  inhibit RUNX2 and collagen expression but increase alkaline phosphatase activity and mineralization in human mesenchymal stem cells. *Life Sci*. 2009;84:499-504.
- Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontol 2000*. 2004;35:53-74.
- Doreau A, Belot A, Bastid J, Riche B, Trescol-Biemont M-C, Ranchin B, et al. Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. *Nat Immunol*. 2009;10:778-85.
- Du L, Wang H, Liu F, Wei Z, Weng C, Tang J, et al. NSP2 is important for highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus to trigger high fever-related COX-2-PGE2 pathway in pigs. *Front Immunol*. 2021;12:657071.
- Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000*. 2012;58:10-25.
- El-Sheikh SM, Shalaby MA, Hafez RA, Metwally WS, El-Ayoty YM. The immunomodulatory effects of probiotic bacteria on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of allergic patients. *Am J Immunol*. 2014.
- Elgendy AA, Elgendy EA, Saaddoun MmM. Effect of Locally Delivered Spirulina Gel on the Treatment of Stage II, Grade B Periodontitis: A Randomized Control Clinical Study. *Egypt Dent J*. 2024;70:323-31.
- Erdem H, Gündoğdu C, Şipal S. Correlation of E-cadherin, VEGF, COX-2 expression to prognostic parameters in papillary thyroid carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2011;90:312-7.
- Esmacili B, Rezaee S, Layegh P, Tavakkol Afshari J, Dye P, Ghayoor Karimiani E, et al. Expression of IL-17 and COX2 gene in peripheral blood leukocytes of vitiligo patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2011;10:81-9.
- Fagundes BO, de-Sousa TR, Victor JR. Gamma-delta ( $\gamma\delta$ ) T cell-derived cytokines (IL-4, IL-17, IFN- $\gamma$  and IL-10) and their possible implications for atopic dermatitis development. *Int J Dermatol*. 2023;62:443-8.
- Faizuddin M, Bharathi S, Rohini N. Estimation of interleukin-1 $\beta$  levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2003;38:111-4.
- Feng W, Yang P, Liu H, Zhang F, Li M. IL-6 promotes low concentration of RANKL-induced osteoclastic differentiation by mouse BMMs through trans-signaling pathway. *J Mol Histol*. 2022;53:599-610.
- Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15:385-403.
- Ferrara N, Gerber H-P, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9:669-76.
- Figuero E, Carrillo-de-Albornoz A, Martín C, Tobías A, Herrera D. Effect of pregnancy on gingival inflammation in systemically healthy women: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2013;40:457-73.
- Finetti F, Travelli C, Ercoli J, Colombo G, Buoso E, Trabalzini L. Prostaglandin E2 and cancer: insight into tumor progression and immunity. *Biology*. 2020;9:434.
- Florescu DN, Boldeanu M-V, Şerban R-E, Florescu LM, Serbanescu M-S, Ionescu M, et al. Correlation of the pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$ , inflammatory markers, and tumor markers with the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Life*. 2023;13:2261.

- Fujihashi K, Kono Y, Beagley K, Yamamoto M, McGhee J, Mestecky J, et al. Cytokines and periodontal disease: immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. *J Periodontol*. 1993;64:400-6.
- Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6:232-41.
- Galil SMA, Ezzeldin N, El-Boshy ME. The role of serum IL-17 and IL-6 as biomarkers of disease activity and predictors of remission in patients with lupus nephritis. *Cytokine*. 2015;76:280-7.
- Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*. 2010;89:1349-63.
- Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol 2000*. 2020;83:7-13.
- Ghallab DS, Shawky E, Khalifa AA, Ibrahim RS. Insights into the molecular mechanisms of *Spirulina platensis* against rheumatoid arthritis through integrative serum pharmacochemistry and network pharmacology analysis. *Food Bioscience*. 2024;59:103902.
- Gieseck RL, Wilson MS, Wynn TA. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. *Nat Rev Immunol*. 2018;18:62-76.
- Grauballe MCB, Bentzen B, Björnsson M, Moe D, Jonassen TEN, Bendtzen K, et al. The effect of spironolactone on experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2005;40:212-7.
- Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2008;79:1585-91.
- Graves DT, Kang J, Andriankaja O, Wada K, Rossa Jr C. Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. *Front Oral Biol*. 2011;15:117.
- Griffin GK, Newton G, Tarrio ML, Bu D-x, Maganto-Garcia E, Azcutia V, et al. IL-17 and TNF- $\alpha$  sustain neutrophil recruitment during inflammation through synergistic effects on endothelial activation. *J Immunol*. 2012;188:6287-99.
- Gu C, Wu L, Li X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine*. 2013;64:477-85.
- Guzmán-Gómez O, García-Rodríguez RV, Pérez-Gutierrez S, Rivero-Ramírez NL, García-Martínez Y, Pablo-Pérez SS, et al. Protective effect of the phycobiliproteins from *arthrospira maxima* on indomethacin-induced gastric ulcer in a rat model. *Plants*. 2023;12:1586.
- Habib MAB, Parvin M, Huntington TC, Hasan MR. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2008.
- Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994;5:78-111.
- Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol Oral Microbiol*. 2014;29:248-57.
- Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13:413-21.
- Hao Z, Ma Y, Wu J, Li X, Chen H, Shen J, et al. Osteocytes regulate osteoblast differentiation and osteoclast activity through Interleukin-6 under mechanical loading. *RSC Advances*. 2017;7:50200-9.
- Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP. Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol*. 2002;23:144-50.
- Hashmi S, Zeng QT. Role of interleukin-17 and interleukin-17-induced cytokines interleukin-6 and interleukin-8 in unstable coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2006;17:699-706.
- Hassell T. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol 2000*. 1993;3:9-38.
- Hata AN, Breyer RM. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacol Ther*. 2004;103:147-66.

- Haworth C, Brennan FM, Chantry D, Turner M, Maini RN, Feldmann M. Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis: regulation by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Eur J Immunol*. 1991;21:2575-9.
- Herbert SP, Stainier DY. Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12:551-64.
- Hiyari S, Wong RL, Yaghseizian A, Naghibi A, Tetradis S, Camargo PM, et al. Ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in mice. *J Clin Periodontol*. 2018;45:89-99.
- Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Clin Periodontol*. 2018;45:S28-S43.
- Holzhausen M, Spolidorio DMP, Muscará MN, Hebling J, Spolidorio LC. Protective effects of etoricoxib, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2, in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol Res*. 2005;40:208-11.
- Honorati MC, Neri S, Cattini L, Facchini A. Interleukin-17, a regulator of angiogenic factor release by synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14:345-52.
- Hou Z, Falcone DJ, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Macrophages induce COX-2 expression in breast cancer cells: role of IL-1 $\beta$  autoamplification. *Carcinogenesis*. 2011;32:695-702.
- Houri-Haddad Y, Soskolne W, Halabi A, Shapira L. IL-10 gene transfer attenuates P. gingivalis-induced inflammation. *J Dent Res*. 2007;86:560-4.
- Hua S, Zhang X. Effects of Achyranthes bidentata alcohol on proliferation capacity of osteoblasts and miRNA in Runx2. *Exp Ther Med*. 2019;18:1545-50.
- Huang S-P, Wu M-S, Shun C-T, Wang H-P, Hsieh C-Y, Kuo M-L, et al. Cyclooxygenase-2 increases hypoxia-inducible factor-1 and vascular endothelial growth factor to promote angiogenesis in gastric carcinoma. *J Biomed Sci*. 2005;12:229-41.
- Huang X, Xie M, Lu X, Mei F, Song W, Liu Y, et al. The roles of periodontal Bacteria in atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2023;24:12861.
- Hutadilok-Towatana N, Reanmongkol W, Panichayupakaranant P. Evaluation of the toxicity of Arthrospira (Spirulina) platensis extract. *J Appl Phycol*. 2010;22:599-605.
- Hutadilok-Towatana N, Reanmongkol W, Satitit S, Panichayupakaranant P, Ritthisunthorn P. A subchronic toxicity study of Spirulina platensis. *Food Sci Technol Res*. 2008;14:351-.
- Idriss HT, Naismith JH. TNF $\alpha$  and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship (s). *Microsc Res Tech*. 2000;50:184-95.
- Inagaki Y, Kido J-i, Nishikawa Y, Kido R, Sakamoto E, Bando M, et al. Gan-Lu-Yin (kanroin), traditional Chinese herbal extracts, reduces osteoclast differentiation in vitro and prevents alveolar bone resorption in rat experimental periodontitis. *J Clin Med*. 2021;10:386.
- Ionel A, Lucaci O, Moga M, Buhatel D, Ilea A, Tabaran F, et al. Periodontal disease induced in Wistar rats-experimental study. *Human Vet Med*. 2015;7:90-5.
- Isola G, Giudice AL, Polizzi A, Alibrandi A, Murabito P, Indelicato F. Identification of the different salivary Interleukin-6 profiles in patients with periodontitis: a cross-sectional study. *Arch Oral Biol*. 2021;122:104997.
- Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:197-216.
- Jones KG, Brull D, Brown L, Sian M, Greenhalgh R, Humphries S, et al. Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 2001;103:2260-5.
- Joseph Martin S, Evan Prince S. Comparative modulation of levels of oxidative stress in the liver of anti-tuberculosis drug treated Wistar rats by vitamin B12, beta-carotene, and Spirulina fusiformis: role of NF- $\kappa$ B, iNOS, IL-6, and IL-10. *J Cell Biochem*. 2017;118:3825-33.
- Jung Y-J, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, Neckers L. IL-1 $\beta$  mediated up-regulation of HIF-1 $\alpha$  via an NF $\kappa$ B/COX-2 pathway identifies HIF-1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. *FASEB J*. 2003;17:1-22.

- Kang MS, Moon J-H, Park SC, Jang YP, Choung SY. *Spirulina maxima* reduces inflammation and alveolar bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Phytomedicine*. 2021;81:153420.
- Karatas O, Balci Yuce H, Taskan MM, Gevrek F, Alkan C, Isiker Kara G, et al. Cinnamic acid decreases periodontal inflammation and alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontal Res*. 2020;55:676-85.
- Kaur D, Chandrul KK. *Syzygium aromaticum* L.(Clove): A vital herbal drug used in periodontal disease. *Indian j pharm biol res*. 2017;5:45-51.
- Kawabata A. Prostaglandin E2 and pain an update. *Biol Pharm Bull*. 2011;34:1170-3.
- Kawane T, Komori H, Liu W, Moriishi T, Miyazaki T, Mori M, et al. *Dlx5* and *mef2* regulate a novel *runx2* enhancer for osteoblast-specific expression. *J Bone Miner Res*. 2014;29:1960-9.
- Kaymaz K, Beikler T. Th17 cells and the IL-23/IL-17 axis in the pathogenesis of periodontitis and immune-mediated inflammatory diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20:3394.
- Khosravisamani M, Maliji G, Seyfi S, Azadmehr A, Abd Nikfarjam B, Madadi S, et al. Effect of the menstrual cycle on inflammatory cytokines in the periodontium. *J Periodontal Res*. 2014;49:770-6.
- Kim B-B, Kim M, Park Y-H, Ko Y, Park J-B. Short-term application of dexamethasone on stem cells derived from human gingiva reduces the expression of RUNX2 and  $\beta$ -catenin. *J Int Med Res*. 2017;45:993-1006.
- Kim S, Choi S-I, Kim G-H, Imm J-Y. Anti-inflammatory effect of *Ecklonia cava* extract on *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-stimulated macrophages and a periodontitis rat model. *Nutrients*. 2019;11:1143.
- Kim Y, Kang S, Kim J, Cho H, Moon S, Kim K, et al. Effects of Polycan, a  $\beta$ -glucan, on experimental periodontitis and alveolar bone loss in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res*. 2012;47:800-10.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2001;25:8-20.
- Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:1-14.
- Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. 1995;86:1243-54.
- Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*. 1991;62:59-73.
- Kobayashi M, Squires GR, Mousa A, Tanzer M, Zukor DJ, Antoniou J, et al. Role of interleukin-1 and tumor necrosis factor  $\alpha$  in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*. 2005;52:128-35.
- Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *J Cell Biochem*. 2006;99:1233-9.
- Komori T, biology c. Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation. *Histochem*. 2018;149:313-23.
- Koreeda N, Iwano Y, Kishida M, Otsuka A, Kawamoto A, Sugano N, et al. Periodic exacerbation of gingival inflammation during the menstrual cycle. *J Oral Sci*. 2005;47:159-64.
- Kostulas N, Pelidou SH, Kivisäkk P, Kostulas V, Link H. Increased IL-1 $\beta$ , IL-8, and IL-17 mRNA expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. *Stroke*. 1999;30:2174-9.
- Krzystek-Korpacka M, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Blachut K, Kustrzeba-Wojcicka I, et al. Impact of weight loss on circulating IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , VEGF-A, VEGF-C and midkine in gastroesophageal cancer patients. *Clin Biochem*. 2007;40:1353-60.
- Kubysheva N, Boldina M, Eliseeva T, Soodaeva S, Klimanov I, Khaletskaya A, et al. Relationship of Serum Levels of IL-17, IL-18, TNF- $\alpha$ , and Lung Function Parameters in Patients with COPD, Asthma-COPD Overlap, and Bronchial Asthma. *Mediators Inflamm*. 2020;2020:4652898.

- Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004;39:101-6.
- Kulbe H, Chakravarty P, Leinster DA, Charles KA, Kwong J, Thompson RG, et al. A dynamic inflammatory cytokine network in the human ovarian cancer microenvironment. *Cancer Res.* 2012;72:66-75.
- Kulesh A, Kuklina E, Shestakov V. The relationship between serum and liquor IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IL-10 levels and clinical, cognitive and functional characteristics in acute ischemic stroke. *Klin Med (Mosk).* 2016;94:657-62.
- Kulesza A, Paczek L, Burdzinska A. The role of COX-2 and PGE2 in the regulation of immunomodulation and other functions of mesenchymal stromal cells. *Biomedicines.* 2023;11:445.
- Kumar AK, Reddy NR, Babu M, Kumar PM, Reddy VS, Chavan CV. Estimation of prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid in periodontal health, disease and after treatment. *Contemp Clin Dent.* 2013;4:303-6.
- Kunikata T, Yamane H, Segi E, Matsuoka T, Sugimoto Y, Tanaka S, et al. Suppression of allergic inflammation by the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nat Immunol.* 2005;6:524-31.
- Kwak A, Lee Y, Kim H, Kim S. Intracellular interleukin (IL)-1 family cytokine processing enzyme. *Arch Pharm Res.* 2016;39:1556-64.
- Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis. *Int Dent J.* 2021;71:462-76.
- Kwon TG, Zhao X, Yang Q, Li Y, Ge C, Zhao G, et al. Physical and functional interactions between Runx2 and HIF-1 $\alpha$  induce vascular endothelial growth factor gene expression. *J Cell Biochem.* 2011;112:3582-93.
- Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol.* 2018;89:S9-S16.
- Lang NP, Lindhe J. Clinical periodontology and implant dentistry, 2 Volume Set. West Sussex: John Wiley & Sons; 2015. 323-32 p.
- Larsen GL, Henson PM. Mediators of inflammation. *Annu Rev Immunol.* 1983;1:335-59.
- Latorre Uriza C, Velosa-Porras J, Roa NS, Quiñones Lara SM, Silva J, Ruiz AJ, et al. Periodontal disease, inflammatory cytokines, and PGE2 in pregnant patients at risk of preterm delivery: a pilot study. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2018;2018:7027683.
- Le Jan S, Muller C, Plee J, Durlach A, Bernard P, Antonicelli F. IL-23/IL-17 axis activates IL-1 $\beta$ -associated inflammasome in macrophages and generates an auto-inflammatory response in a subgroup of patients with bullous pemphigoid. *Front Immunol.* 2019;10:1972.
- Lee HJ, Lee D-R, Choi B-K, Yang SH. Antiperiodontitis effects of magnolia biondii extract on ligature-induced periodontitis in Rats. *Nutrients.* 2019;11:934.
- Lee JM, Lee H, Kang S, Park WJ. Fatty acid desaturases, polyunsaturated fatty acid regulation, and biotechnological advances. *Nutrients.* 2016;8:23.
- Lee SF, Andrian E, Rowland E, Marquez IC, immunity. Immune response and alveolar bone resorption in a mouse model of *Treponema denticola* infection. *Infection.* 2009;77:694-8.
- Lee SH, Lee YS, Hong YG, Kang CS. Significance of COX-2 and VEGF expression in histopathologic grading and invasiveness of meningiomas. *APMIS.* 2014;122:16-24.
- Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989;246:1306-9.
- Li B, Alli R, Vogel P, Geiger TL. IL-10 modulates DSS-induced colitis through a macrophage-ROS-NO axis. *Mucosal Immunol.* 2014;7:869-78.
- Li C, Chen R, Jiang C, Chen L, Cheng Z. Correlation of LOX-5 and COX-2 expression with inflammatory pathology and clinical features of adenomyosis. *Mol Med Report.* 2019;19:727-33.

- Li CH, Amar S. Morphometric, histomorphometric, and microcomputed tomographic analysis of periodontal inflammatory lesions in a murine model. *J Periodontol*. 2007;78:1120-8.
- Li X, Huang Y, Liu Y, Yan S, Li L, Cheng L, et al. Circulating VEGF-A, TNF- $\alpha$ , CCL2, IL-6, and IFN- $\gamma$  as biomarkers of cancer in cancer-associated anti-TIF1- $\gamma$  antibody-positive dermatomyositis. *Clin Rheumatol*. 2023;42:817-30.
- Li Y, Wei Y, Zheng F, Guan Y, Zhang X. Prostaglandin E2 in the regulation of water transport in renal collecting ducts. *Int J Mol Sci*. 2017;18:2539.
- Liang Y, Zhang H, Li J, Wang X, Xie J, Li Y, et al. GLUT1 regulates the release of VEGF-A in the alveolar epithelium of lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Cell Biol Int*. 2024;48:510-20.
- Liao C-H, Fei W, Shen Z-H, Yin M-P, Lu C. Expression and distribution of TNF- $\alpha$  and PGE2 of periodontal tissues in rat periodontitis model. *Asian Pac J Trop Med*. 2014;7:412-6.
- Lin X, Fan Y, Wang X, Chi M, Li X, Zhang X, et al. Correlation between tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$  in exhaled breath condensate and pulmonary function. *Am J Med Sci*. 2017;354:388-94.
- Lin Z-J, Luo R-H, Xie L-L, Wu X-Y. Effects of basic periodontal treatment on endothelin, vascular endothelial growth factor-A and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in gingival crevicular fluid and serum. *Shanghai kou Qiang yi xue*. 2019;28:504-8.
- Lindhe J, Hamp SE, Löe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res*. 1973;8:1-10.
- Listgarten M. The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1988;15:485-7.
- Listgarten MA. Similarity of epithelial relationships in the gingiva of rat and man. *J Periodontol*. 1975;46:677-80.
- Liu H, Xiong X, Zhai W, Zhu T, Zhu X, Zhu Y, et al. Upregulation of cytokines and differentiation of Th17 and Treg by dendritic cells: central role of prostaglandin E2 induced by *Mycobacterium bovis*. *Microorganisms*. 2020;8:195.
- Liu X-G, Hou H-W, Liu Y-L. Expression levels of IL-17 and TNF- $\alpha$  in degenerated lumbar intervertebral discs and their correlation. *Exp Ther Med*. 2016;11:2333-40.
- Liu Y-CG, Lerner UH, Teng Y-TA. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*. 2010;52.
- Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*. 1976;9:65-107.
- Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:727-52.
- Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965;36:177-87.
- Lucarini G, Tirabassi G, Zizzi A, Balercia G, Quaranta A, Rubini C, et al. Uncoupling of vascular endothelial growth factor (VEGF) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in gingival tissue of type 2 diabetic patients. *Inflammation*. 2016;39:632-42.
- Madianos P, Bobetsis Y, Kinane D. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol*. 2005;32:57-71.
- Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*. 2007;43.
- Mahmoud YI, Shehata AM, Fares NH, Mahmoud AA. Spirulina inhibits hepatocellular carcinoma through activating p53 and apoptosis and suppressing oxidative stress and angiogenesis. *Life Sci*. 2021;265:118827.
- Maihöfner C, Charalambous MP, Bhambra U, Lightfoot T, Geisslinger G, Gooderham NJ. Expression of cyclooxygenase-2 parallels expression of interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 and NF-kappaB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2003;24:665-71.

- Man Y, Zhang X-y, Wang X-z, Liu S-y, Niu F-f, Yang P-s. Progesterone affects periodontitis in perimenopausal women and in an experimental rat model. *J Dent Sci.* 2025;20:452-61.
- Manokawinchoke J, Pimkhaokhum A, Everts V, Pavasant P. Prostaglandin E2 inhibits in-vitro mineral deposition by human periodontal ligament cells via modulating the expression of TWIST 1 and RUNX 2. *J Periodontal Res.* 2014;49:777-84.
- Mantsounga CS, Lee C, Neverson J, Sharma S, Healy A, Berus JM, et al. Macrophage IL-1 $\beta$  promotes arteriogenesis by autocrine STAT3-and NF- $\kappa$ B-mediated transcription of pro-angiogenic VEGF-A. *Cell Rep.* 2022;38.
- Mao T, Van de Water J, Gershwin M. Effect of Spirulina on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. *J Med Food.* 2000;3:135-40.
- Marchesan J, Girnary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. *Nat Protoc.* 2018;13:2247-67.
- Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol.* 1999;4:7-17.
- Mariotti A, Hefti AF. Defining periodontal health. *BMC Oral Health.* 2015;15:1-18.
- Mariotti A, Mawhinney M. Endocrinology of sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Periodontol 2000.* 2013;61:69-88.
- Martínez-Aguilar VM, Carrillo-Ávila BA, Sauri-Esquivel EA, Guzmán-Marín E, Jiménez-Coello M, Escobar-García DM, et al. Quantification of TNF- $\alpha$  in Patients with Periodontitis and Type 2 Diabetes. *Biomed Res Int.* 2019;2019:7984891.
- Marzieh Hosseini S, Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Reza Mozafari M. Spirulina paltensis: Food and function. *Curr Nutr Food Sci Biotechnol.* 2013;9:189-93.
- Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K. Detection of inflammatory cytokine messenger RNA (mRNA)-expressing cells in human inflamed gingiva by combined in situ hybridization and immunohistochemistry. *Immunology.* 1992;76:42.
- Mazurek-Mochol M, Bonsmann T, Mochol M, Poniewierska-Baran A, Pawlik A. The role of interleukin 6 in periodontitis and its complications. *Int J Mol Sci.* 2024;25:2146.
- Miller LS, O'Connell RM, Gutierrez MA, Pietras EM, Shahangian A, Gross CE, et al. MyD88 mediates neutrophil recruitment initiated by IL-1R but not TLR2 activation in immunity against *Staphylococcus aureus*. *Immunity.* 2006;24:79-91.
- Miyauchi M, Ijuhin N, Nikai H, Takata T, Ito H, Ogawa I. Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss—histometric analysis. *J Periodontol.* 1992;63:405-11.
- Moran EM, Mullan R, McCormick J, Connolly M, Sullivan O, FitzGerald O, et al. Human rheumatoid arthritis tissue production of IL-17A drives matrix and cartilage degradation: synergy with tumour necrosis factor- $\alpha$ , Oncostatin M and response to biologic therapies. *Arthritis Res.* 2009;11:1-12.
- Moro MG, Oliveira MDdS, Oliveira LRd, Teixeira SA, Muscará MN, Spolidorio LC, et al. Effects of selective versus non-selective COX-2 inhibition on experimental periodontitis. *Braz Dent J.* 2019;30:133-8.
- Morsy MA, Gupta S, Nair AB, Venugopala KN, Greish K, El-Daly M. Protective effect of Spirulina platensis extract against dextran-sulfate-sodium-induced ulcerative colitis in rats. *Nutrients.* 2019;11:2309.
- Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev.* 2008;226:205-18.
- Moughal N, Adonogianaki E, Thornhill M, Kinane D. Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally-induced gingivitis. *J Periodontal Res.* 1992;27:623-30.
- Murayama R, Kobayashi M, Takeshita A, Yasui T, Yamamoto M. MAPKs, activator protein-1 and nuclear factor- $\kappa$ B mediate production of interleukin-1 $\beta$ -stimulated cytokines, prostaglandin E2 and MMP-1 in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2011;46:568-75.

- Nadler RB, Koch AE, Calhoun EA, Campbell PL, Pruden DL, Bennett CL, et al. IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in prostatic secretions are indicators in the evaluation of men with chronic prostatitis. *J Urol*. 2000;164:214-8.
- Nakae S, Saijo S, Horai R, Sudo K, Mori S, Iwakura Y. IL-17 production from activated T cells is required for the spontaneous development of destructive arthritis in mice deficient in IL-1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:5986-90.
- Nakamura H, Ukai T, Yoshimura A, Kozuka Y, Yoshioka H, Yoshinaga Y, et al. Green tea catechin inhibits lipopolysaccharide-induced bone resorption in vivo. *J Periodontal Res*. 2010;45:23-30.
- Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol* 2000. 2006;40:11.
- Naraba H, Murakami M, Matsumoto H, Shimbara S, Ueno A, Kudo I, et al. Segregated coupling of phospholipases A2, cyclooxygenases, and terminal prostanoid synthases in different phases of prostanoid biosynthesis in rat peritoneal macrophages. *J Immunol*. 1998;160:2974-82.
- Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:701-38.
- Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:329-42.
- Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2018. 243-56 p.
- Ngo-Matip M-E, Pieme CA, Azabji-Kenfack M, Moukette BM, Korosky E, Stefanini P, et al. Impact of daily supplementation of *Spirulina platensis* on the immune system of naïve HIV-1 patients in Cameroon: a 12-months single blind, randomized, multicenter trial. *Nutr J*. 2015;14:1-7.
- Ngu E-L, Tan C-Y, Lai NJ-Y, Wong K-H, Lim S-H, Ming LC, et al. *Spirulina platensis* suppressed iNOS and proinflammatory cytokines in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia. *Metabolites*. 2022;12:1147.
- Nieboga E, Schuster A, Drapala DM, Melnykova M, Gut A, Lipska W, et al. Synergistic induction of PGE2 by oral pathogens and TNF promotes gingival fibroblast-driven stromal-immune cross-talk in periodontitis. *mBio*. 2025:e00046-25.
- Nishikawa M, Yamaguchi Y, Yoshitake K, Saeki Y. Effects of TNF $\alpha$  and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontal Res*. 2002;37:167-76.
- Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro-and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatology*. 2009;48:602-6.
- Noguchi K, Ishikawa I. The roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E 2 in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2007;43.
- Noronha I, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10:775-86.
- Nourollahian M, Rasoulzadeh B, Gafari A, Anoushiravani M, Jabari F, Bakhshaei M. Clinical comparison of the efficacy of spirulina platensis and cetirizine for treatment of allergic rhinitis. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2020;40:224.
- O'Shea JJ, Murray PJ. Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity*. 2008;28:477-87.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996;1:821-78.
- Ohara J, Coligan J, Zoon K, Maloy W, Paul W. High-efficiency purification and chemical characterization of B cell stimulatory factor-1/interleukin 4. *J Immunol*. 1987;139:1127-34.
- Ohira H, Tsutsui W, Mamoto R, Yamaguchi S, Nishida M, Ito M, et al. Butyrate attenuates lipolysis in adipocytes co-cultured with macrophages through non-prostaglandin E2-mediated and prostaglandin E2-mediated pathways. *Lipids Health Dis Manag Advisor*. 2016;15:1-17.
- Ohlrich E, Cullinan M, Seymour G. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009;54:S2-S10.

- Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9:248-66.
- Okuyama H, Tominaga A, Fukuoka S, Taguchi T, Kusumoto Y, Ono S. Spirulina lipopolysaccharides inhibit tumor growth in a Toll-like receptor 4-dependent manner by altering the cytokine milieu from interleukin-17/interleukin-23 to interferon- $\gamma$ . *Oncol Rep*. 2017;37:684-94.
- Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*. 2010;129:311-21.
- Orban B. Classification and nomenclature of periodontal diseases (1)(based on pathology, etiology, and clinical picture). *J Periodontol*. 1942;13:88-91.
- Oz HS, Ebersole JL. A novel murine model for chronic inflammatory alveolar bone loss. *J Periodontal Res*. 2010;45:94-9.
- Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *Biomed Res Int*. 2011;2011:754857.
- Özden FO, Sakallioğlu EE, Sakallioğlu U, Ayas B, Erişgin Z. Effects of grape seed extract on periodontal disease: An experimental study in rats. *J Appl Oral Sci*. 2017;25:121-9.
- Padma R, Sreedhara A, Indeevar P, Sarkar I, Kumar CS. Vascular endothelial growth factor levels in gingival crevicular fluid before and after periodontal therapy. *JCDR*. 2014;8:ZC75.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1991;26:230-42.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997;14:9-11.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34:235-49.
- Pai R, Szabo IL, Soreghan BA, Atay S, Kawanaka H, Tarnawski AS. PGE2 stimulates VEGF expression in endothelial cells via ERK2/JNK1 signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;286:923-8.
- Paksoy T, Ustaoglu G, Şehirli AÖ, Ünsal RBK, Sayiner S, Orhan K, et al. Effect of bromelain on periodontal destruction and alveolar bone in rats with experimental periodontitis. *Int Immunopharmacol*. 2023;121:110446.
- Pandey VK, Premkumar K, Kundu P, Shankar BS. PGE2 induced miR365/IL-6/STAT3 signaling mediates dendritic cell dysfunction in cancer. *Life Sci*. 2024;350:122751.
- Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89:S173-S82.
- Papathanasiou E, Alreshaid R, Araujo de Godoi M. Anti-inflammatory benefits of food ingredients in periodontal diseases. *Pathogens*. 2023;12:520.
- Papazian I, Tsoukala E, Boutou A, Karamita M, Kambas K, Iliopoulou L, et al. Fundamentally different roles of neuronal TNF receptors in CNS pathology: TNFR1 and IKK $\beta$  promote microglial responses and tissue injury in demyelination while TNFR2 protects against excitotoxicity in mice. *J Neuroinflammation*. 2021;18:1-21.
- Paramita R, Purba HHS, Prijanti AR, Iswanti FC. Supplementation Impact of Spirulina platensis Ethanol Extract on Inflammatory Homeostasis Modulation of Rat Spleen at Different Ages. *J Biosci*. 2024;31:1231-42.
- Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clin Immunol*. 2006;119:229-40.
- Park Y-K, Rasmussen HE, Ehlers SJ, Blobaum KR, Lu F, Schlegel VL, et al. Repression of proinflammatory gene expression by lipid extract of Nostoc commune var sphaeroides Kützinger, a blue-green alga, via inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B in RAW 264.7 macrophages. *Nutr Res*. 2008;28:83-91.

- Pavlica Z, Petelin M, Nemec A, Erzen D, Skaleric U. Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res*. 2004;65:1584-8.
- Pérez-García S, Carrión M, Villanueva-Romero R, Hermida-Gómez T, Fernández-Moreno M, Mellado M, et al. Wnt and RUNX2 mediate cartilage breakdown by osteoarthritis synovial fibroblast-derived ADAMTS-7 and-12. *J Cell Mol Med*. 2019;23:3974-83.
- Perunovic ND, Rakic MM, Nikolic LI, Jankovic SM, Aleksic ZM, Plecas DV, et al. The association between periodontal inflammation and labor triggers (elevated cytokine levels) in preterm birth: A cross-sectional study. *J Periodontol*. 2016;87:248-56.
- Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:929-79.
- Pietschmann P. Principles of Osteoimmunology. P. Pietschmann, editor: Springer; 2016. 181-217 p.
- Popko K, Gorska E, Stelmaszczyk-Emmel A, Plywaczewski R, Stoklosa A, Gorecka D, et al. Proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- $\alpha$  and the development of inflammation in obese subjects. *Eur J Med Res*. 2010;15:1-3.
- Poznansky SA, Yu M, Deng K, Fu Q, Markmann JF, LeGuern C. Leveraging the tolerogenic potential of TNF- $\alpha$  and regulatory B cells in organ transplantation. *Front Immunol*. 2023;14:1173672.
- Pradeep A, Roopa Y, Swati P. Interleukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2008;43:712-6.
- Prayitno A. The role of COX-2, caspase-1 and IL-17 in pericoronitis-related inflammation due to lower third molar impaction. *Maj Kedokter Gigi*. 2019;52:105-9.
- Ramadan DE, Hariyani N, Indrawati R, Ridwan RD, Diyatri I. Cytokines and chemokines in periodontitis. *Eur J Dent*. 2020;14:483-95.
- Rani N, Singla RK, Narwal S, Tanushree, Kumar N, Rahman MM. Evid Based Complement Alternat Med. *Evid Based Complement Altern Med*. 2022;2022:2327641.
- Rasquinha MT, Sur M, Lasrado N, Reddy J. IL-10 as a Th2 cytokine: differences between mice and humans. *J Immunol*. 2021;207:2205-15.
- Ravi M, De SL, Azharuddin S, D Paul SF. The beneficial effects of Spirulina focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. *Nutr Diet Suppl*. 2010:73-83.
- Ren J, Fok MR, Zhang Y, Han B, Lin Y. The role of non-steroidal anti-inflammatory drugs as adjuncts to periodontal treatment and in periodontal regeneration. *J Transl Med*. 2023;21:149.
- Rezaei N, Eftekhari MH, Tanideh N, Mokhtari M, Bagheri Z. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory effects of honey and spirulina platensis with sulfasalazine and mesalazine on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Galen Med J*. 2019;8:e1095.
- Richards D, Rutherford R. The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol*. 1988;33:237-43.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-9.
- Romay C, Armesto J, Remirez D, González R, Ledon N, García I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae. *Inflamm Res*. 1998;47:36-41.
- Rouvier E, Luciani M, Mattei M, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol*. 1993;150:5445-56.
- Roux S, Orcel P. Bone loss: Factors that regulate osteoclast differentiation-an update. *Arthritis Res Ther*. 2000;2:1-6.
- Rozenberg A, Rezk A, Boivin M-N, Darlington PJ, Nyirenda M, Li R, et al. Human mesenchymal stem cells impact Th17 and Th1 responses through a prostaglandin E2 and myeloid-dependent mechanism. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5:1506-14.

- Rudick CP, Lang MS, Miyamoto T. Understanding the pathophysiology behind chairside diagnostics and genetic testing for IL-1 and IL-6. *Oral Dis.* 2019;25:1879-85.
- Rummel C, Sachot C, Poole S, Luheshi GN. Circulating interleukin-6 induces fever through a STAT3-linked activation of COX-2 in the brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006;291:R1316-R26.
- Sağlam M, Köseoğlu S, Hatipoğlu M, Esen HH, Köksal E. Effect of sumac extract on serum oxidative status, RANKL/OPG system and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Appl Oral Sci.* 2015;23:33-41.
- Saidenberg-Kermanac'h N, Bessis N, Lemeiter D, Vernejoul M-Cd, Boissier M-C, Cohen-Solal M. Interleukin-4 cellular gene therapy and osteoprotegerin decrease inflammation-associated bone resorption in collagen-induced arthritis. *J Clin Immunol.* 2004;24:370-8.
- Sakuma Y, Tanaka K, Suda M, Yasoda A, Natsui K, Tanaka I, et al. Crucial involvement of the EP4 subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *J Bone Miner Res.* 2000;15:218-27.
- Salazar M, Martinez E, Madrigal E, Ruiz L, Chamorro G. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. *J Ethnopharmacol.* 1998;62:235-41.
- Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2005;32:108-29.
- Sánchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1 $\beta$  and PGE 2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2013;40:1112-7.
- Sánchez MC, Ribeiro-Vidal H, Bartolomé B, Figuero E, Moreno-Arribas MV, Sanz M, et al. New evidences of antibacterial effects of cranberry against periodontal pathogens. *Foods.* 2020;9:246.
- Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury JA, Dige I, Dommisch H, et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2017;44:S5-S11.
- Schett G, Dayer J-M, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:14-24.
- Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood.* 1990.
- Schoenberger SD, Kim SJ, Sheng J, Rezaei KA, Lalezary M, Cherney E. Increased prostaglandin E2 (PGE2) levels in proliferative diabetic retinopathy, and correlation with VEGF and inflammatory cytokines. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:5906-11.
- Seyidoğlu N, Köşeli E, Gurbanlı R, Aydın C. The preventive role of *Spirulina platensis* (Arthrospira platensis) in immune and oxidative insults in a stress-induced rat model. *J Vet Res.* 2021;65:193.
- Seymour G, Powell R, Aitken J. Experimental gingivitis in humans: A clinical and histologic investigation. *J Periodontol.* 1983;54:522-8.
- Shabana EF, Gabr MA, Moussa HR, El-Shaer EA, Ismaiel MM. Biochemical composition and antioxidant activities of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* in response to gamma irradiation. *Food Chem.* 2017;214:550-5.
- Shi X, Zhang Z. MicroRNA-135a-5p is involved in osteoporosis progression through regulation of osteogenic differentiation by targeting RUNX2. *Exp Ther Med.* 2019;18:2393-400.
- Shinmura K, Tang X-L, Wang Y, Xuan Y-T, Liu S-Q, Takano H, et al. Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:10197-202.
- Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol.* 2010;10:89-102.

- Sobeih ES, Al-Qaisi SK, Al-Akabi SAH. A study of IL-35 and IL-17 Levels for People with Periodontal Disease. *Basrah J Sci.* 2024;42:520-35.
- Socransky S, Haffajee A. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38.
- Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004;10:311-8.
- Spahr A, Divnic-Resnik T. Impact of health and lifestyle food supplements on periodontal tissues and health. *Periodontol* 2000. 2022;90:146-75.
- Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol.* 2009;78:539-52.
- Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser M, Probst L, Haffajee A, Socransky S. Levels of interleukin 1 $\beta$  in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1991;18:548-54.
- Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J.* 2010;4:37.
- Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev.* 1999;20:345-57.
- Sun L, Girnary M, Wang L, Jiao Y, Zeng E, Mercer K, et al. IL-10 dampens an IL-17-mediated periodontitis-associated inflammatory network. *J Immunol.* 2020;204:2177-91.
- Surguchov A, Surguchev AA. Association between Parkinson's disease and cancer: new findings and possible mediators. *Int J Mol Sci.* 2024;25:3899.
- Taber L, Chiu CH, Whelan J. Assessment of the arachidonic acid content in foods commonly consumed in the American diet. *Lipids.* 1998;33:1151-7.
- Tachibana K, Shibata M, Gonda K, Matsumoto Y, Nakajima T, Abe N, et al. IL-17 and VEGF are increased and correlated to systemic inflammation, immune suppression, and malnutrition in patients with breast cancer. *Eur J Inflamm.* 2017;15:219-28.
- Takayanagi H. Mechanistic insight into osteoclast differentiation in osteoimmunology. *J Mol Med.* 2005;83:170-9.
- Takeuchi O, Posttranscriptional regulation of cytokine mRNA controls the initiation and resolution of inflammation, in *Chronic Inflammation: Mechanisms and Regulation*, M. Masayuki and T. Kiyoshi, Editors. 2016, Springer: Tokyo. p. 319-32.
- Takeuchi T, Bizenjima T, Ishii Y, Imamura K, Suzuki E, Seshima F, et al. Enhanced healing of surgical periodontal defects in rats following application of a self-assembling peptide nanofibre hydrogel. *J Clin Periodontol.* 2016;43:279-88.
- Tallima H. Clarification of arachidonic acid metabolic pathway intricacies. *ACS omega.* 2021;6:15559-63.
- Tallima H, Hadley K, El Ridi R, Praziquantel and arachidonic acid combination—An Innovative Approach to the Treatment of Schistosomiasis, in *An overview of tropical diseases*, A. Samie, Editor. 2015, IntechOpen. p. 145-58.
- Tamtaji OR, Heidari-soureshjani R, Asemi Z, Kouchaki E. The effects of spirulina intake on clinical and metabolic parameters in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, controlled trial. *Phytother Res.* 2023;37:2957-64.
- Tanideh N, Ghafari V, Ebrahimi R, Habibagahi R, Koohi-Hosseinabadi O, Iraj A. Effects of *Calendula officinalis* and *Hypericum perforatum* on antioxidant, anti-inflammatory, and histopathology indices of induced periodontitis in male rats. *J Dent.* 2020;21:314.
- Taniguchi T. Regulation of cytokine gene expression. *Annu Rev Immunol.* 1988;6:439-64.
- Tanner ACR, Haffer C, Bratthall G, Visconti R, Socransky S. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol.* 1979;6:278-307.
- Tayman MA, Kurgan Ş, Önder C, Güney Z, Serdar MA, Kantarcı A, et al. A disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin-1 (ADAMTS-1) levels in gingival crevicular fluid

- correlate with vascular endothelial growth factor-A, hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , and clinical parameters in patients with advanced periodontitis. *J Periodontol.* 2019;90:1182-9.
- Teixeira JFL, Henning P, Magalhães FAC, Coletto-Nunes G, Floriano-Marcelino T, Westerlund A, et al. Osteoprotective effect by interleukin-4 (IL-4) on lipoprotein-induced periodontitis. *Cytokine.* 2023;172:156399.
- Tilders FJ, DeRuk RH, Van Dam A-M, Vincent VA, Schotanus K, Persoons JH. Activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis by bacterial endotoxins: routes and intermediate signals. *Psychoneuroendocrinology.* 1994;19:209-32.
- Timoshenko A, Chakraborty C, Wagner G, Lala P. COX-2-mediated stimulation of the lymphangiogenic factor VEGF-C in human breast cancer. *Br J Cancer.* 2006;94:1154-63.
- Toker H, Yuce HB, Yildirim A, Tekin MB, Gevrek F. The effect of colchicine on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis. *Braz Oral Res.* 2019;33:e001.
- Tomina DC, Petruțiu ȘA, Dinu CM, Crișan B, Cighi VS, Rațiu IA. Comparative testing of two ligature-induced periodontitis models in rats: a clinical, histological and biochemical study. *Biology.* 2022;11:634.
- Tonetti MS, Chapple IL, Jepsen S, Sanz M. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *J Clin Periodontol.* 2015;42:S1-S4.
- Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol.* 2018;89:S159-S72.
- Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol.* 2018;45:S44-S67.
- Tsukasaki M. RANKL and osteoimmunology in periodontitis. *J Bone Miner Metab.* 2021;39:82-90.
- Tsumori N, Kono T, Shigematsu N, Morita H, Umeda M. VEGF expression in diabetic rats promotes alveolar bone resorption by *Porphyromonas gingivalis* LPS. *J Hard Tissue Biol.* 2016;25:41-8.
- Uludag IF, Duksal T, Tiftikcioglu BI, Zorlu Y, Ozkaya F, Kirkali G. IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL1Ra levels in temporal lobe epilepsy. *Seizure.* 2015;26:22-5.
- Umare V, Pradhan V, Nadkar M, Rajadhyaksha A, Patwardhan M, Ghosh KK, et al. Effect of proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$ ) on clinical manifestations in Indian SLE patients. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:385297.
- Uttamani JR, Kulkarni V, Valverde A, Naqvi RA, Van Dyke T, Nares S, et al. Dynamic changes in macrophage polarization during the resolution phase of periodontal disease. *Immun Inflamm Dis Manag Advisor.* 2024;12:e70044.
- Van Dyke TE. Shifting the paradigm from inhibitors of inflammation to resolvers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol.* 2020;91:S19-S25.
- Van Dyke TE, Van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol.* 2013;40:S1-S7.
- Varghese SS, Thomas H, Jayakumar N, Sankari M, Lakshmanan R. Estimation of salivary tumor necrosis factor-alpha in chronic and aggressive periodontitis patients. *Contemp Clin Dent.* 2015;6:S152-S6.
- Vasconcelos RC, Costa AdLL, Freitas RdA, Bezerra BAdA, Santos BRMd, Pinto LP, et al. Immunoexpression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in periodontal disease and healthy gingival tissues. *Braz. Dent. J.* 2016;27:117-22.
- Visentainer JELJPAUR. Immunopathogenesis of chronic periodontitis. *InTech.* 2017:143.
- von Rahden BH, Stein HJ, Pühringer F, Koch I, Langer R, Piontek G, et al. Coexpression of cyclooxygenases (COX-1, COX-2) and vascular endothelial growth factors (VEGF-A, VEGF-C) in esophageal adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2005;65:5038-44.
- Wang G, Wang Z, Gao S, Wang Y, Li Q. Curcumin enhances the proliferation and myelination of Schwann cells through Runx2 to repair sciatic nerve injury. *Neurosci Lett.* 2022;770:136391.

- Wang M, Xu C, Wu X, He X, Guo Y, Zhang W, et al. The expression of Runx2 in the pathogenesis of periodontitis. *Oral Dis.* 2024;30:1525-32.
- Wang RP-H, Huang J, Chan KWY, Leung WK, Goto T, Ho Y-S, et al. IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  play an important role in modulating the risk of periodontitis and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2023;20:71.
- Watanabe H, Nagai K, Yamaguchi M, Ikenoue T, Mori N. Concentration of interleukin-1 $\beta$  correlates with prostaglandin E2 and F2 $\alpha$  in human pre-ovulatory follicular fluid. *Hum Reprod.* 1994;9:9-12.
- Weller PF. Leukocyte lipid bodies—structure and function as “eicosasomes”. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2016;127:328.
- Wichienrat W, Surisaeng T, Sa-Ard-Iam N, Chanamuangkun T, Mahanonda R, Wisitrasameewong W. Alveolar bone loss in a ligature-induced periodontitis model in rat using different ligature sizes. *Eur J Dent.* 2024;18:933-41.
- Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology--an update. *J Can Dent Assoc.* 2000;66:594-9.
- Williams T, Peck M. Role of prostaglandin-mediated vasodilatation in inflammation. *Nature.* 1977;270:530-2.
- Wilms H, Sievers J, Rickert U, Rostami-Yazdi M, Mrowietz U, Lucius R. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. *J Neuroinflammation.* 2010;7:1-8.
- Wu Q, Zhou X, Huang D, Ji Y, Kang F. IL-6 enhances osteocyte-mediated osteoclastogenesis by promoting JAK2 and RANKL activity in vitro. *Cell Physiol Biochem.* 2017;41:1360-9.
- Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei X-F, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.* 1998;101:311-20.
- Xu J, Yu L, Liu F, Wan L, Deng Z. The effect of cytokines on osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling in osteoporosis: a review. *Front Immunol.* 2023;14:1222129.
- Xu P, Zhang S, Kan X, Shen X, Mao J, Fang C, et al. Changes and roles of IL-17A, VEGF-A and TNF- $\alpha$  in patients with cerebral infarction during the acute phase and early stage of recovery. *Clin Biochem.* 2022;107:67-72.
- Xu Q, Liu Z, Guo L, Liu R, Li R, Chu X, et al. Hypoxia mediates runt-related transcription factor 2 expression via induction of vascular endothelial growth factor in periodontal ligament stem cells. *Mol Cells Tissues Organs.* 2019;42:763-72.
- Xu Y, Liu Y, Li K, Yuan D, Yang S, Zhou L, et al. COX-2/PGE2 pathway inhibits the ferroptosis induced by cerebral ischemia reperfusion. *Mol Neurobiol.* 2022;59:1619-31.
- Yamasaki A, Nikai H, Niitani K, Ijuhin N. Ultrastructure of the junctional epithelium of germfree rat gingiva. *J Periodontol.* 1979;50:641-8.
- Yan Y, Liu Y, Lu R. PELP1 promotes the expression of RUNX2 via the ERK pathway during the osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Arch Oral Biol.* 2021;124:105078.
- Yang B, Lin X, Tan J, She X, Liu Y, Kuang H. Root bark of *Sambucus Williamsii* Hance promotes rat femoral fracture healing by the BMP-2/Runx2 signaling pathway. *J Ethnopharmacol.* 2016;191:107-14.
- Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG. Role of TNF–TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. *Front Immunol.* 2018;9:784.
- Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Distribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNAs and proteins in human brain and peripheral organs. *Brain Res.* 1999;830:226-36.

- Yu T, Wang Y, Chen X, Xiong W, Tang Y, Lin L. *Spirulina platensis* alleviates chronic inflammation with modulation of gut microbiota and intestinal permeability in rats fed a high-fat diet. *J Cell Mol Med Rep*. 2020;24:8603-13.
- Yuan Z, Liu X, Deng W, Lai X, Yan Z, Zheng R. Correlation study of chronic nonbacterial prostatitis with the levels of COX-2 and PGE2 in prostatic secretion. *Int Urol Nephrol*. 2014;46:1871-5.
- Zekonis G, Barzdukiute I, Zekonis J, Sadzeviciene R, Simonyte S, Zilinskas J. Local and systemic immune responses in gingivitis and periodontitis. *Cent Eur J Med*. 2014;9:694-703.
- Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol 2000*. 2015;69:142-59.
- Zhang Y, Liu Y, Sun J, Zhang W, Guo Z, Ma Q. Arachidonic acid metabolism in health and disease. *MedComm*. 2023;4:e363.
- Zhang Y, Ren G, Guo M, Ye X, Zhao J, Xu L, et al. Synergistic effects of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-17A antibodies on collagen-induced arthritis mouse model. *Int Immunopharmacol*. 2013;15:199-205.
- Zhang Z, Andoh A, Inatomi O, Bamba S, Takayanagi A, Shimizu N, et al. Interleukin-17 and lipopolysaccharides synergistically induce cyclooxygenase-2 expression in human intestinal myofibroblasts. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005;20:619-27.
- Zou Y, Chen X, Liu J, Zhou DB, Kuang X, Xiao J, et al. Serum IL-1 $\beta$  and IL-17 levels in patients with COPD: associations with clinical parameters. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017:1247-54.

## 8. EKLER

### EK-A: Etik Kurul Onay Belgesi

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                       |                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>T.C.</b><br><b>NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ</b><br><b>KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve</b><br><b>Araştırma Merkezi Müdürlüğü</b> |  |
| Karar Sayısı: 2024 – 077                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                       | Karar Tarihi: 25.09.2024                                                            |
| <b>Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                       |                                                                                     |
| <p>Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji ABD'den Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TAŞTAN EROĞLU, Arş. Gör. Kaan YILDIZ, Tıp Fakültesi Patoloji ABD'den Dr. Öğr. Üyesi Fahriye KILINÇ, Tıbbi Biyoloji ABD'den Doç. Dr. Canan EROĞLU GÜNEŞ'in sunduğu <b>"Ratlarda Deneysel Periodontitiste Spirulina (Arthrospira platensis) Ekstraktının Antiinflatuar ve Koruyucu Aktivitesinin Araştırılması"</b> başlıklı tez projesi 7 üyenin katılımı ile değerlendirildi.</p> <p>Projede 4 grupta 32 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.</p> <p>Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından <b>"Uygun"</b> olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.</p> |                                                                                                                                       |                                                                                     |
| <hr/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                       |                                                                                     |
| <b>Adres</b> : Meram Tıp Fakültesi Eski Yerleşkesi 42080 Akçokuş — Meram / KONYA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                       |                                                                                     |
| <b>Tel</b> : +90 332 223 71 11                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>e-posta</b> : konudam@konya.edu.tr                                                                                                 |                                                                                     |
| <b>Faks</b> : +90 332 223 71 24                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>Elektronik Ağı</b> : <a href="https://www.konya.edu.tr/deneysettıp">https://www.konya.edu.tr/deneysettıp</a>                       |                                                                                     |