



T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
ENDODONTİ ANABİLİM DALI



# BESİN TAKVİYESİ UYGULAMASIYLA SAĞLANAN KONAK MODÜLASYONU İLE APİKAL PERİODONTİTİS ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Dt. Güzide ÇANKAYA

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt Sinan OCAK

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Komisyonu  
Tarafından DHF..... proje numarası ile desteklenmiştir.

ELAZIĞ

2023

## ONAY SAYFASI

---

Prof. Dr. Filiz acun KAYA

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

---

Dr. Öğr. Üyesi M. Sinan OCAK

Endodonti Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi M. Sinan OCAK

Danışman

---

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sema BELLİ

---

Dr. Öğr. Üyesi M. Sinan OCAK

---

Dr. Öğr. Üyesi Faruk ÖZTEKİN

---



## ETİK BEYAN

Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “Besin Takviyesi Uygulamasıyla Sağlanan Konak Modülasyonu İle Apikal Periodontitis Arasındaki İlişkinin İncelenmesi” başlıklı uzmanlık tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

Güzide ÇANKAYA

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt Sinan OCAK

Danışman

Endodonti Anabilim Dalı

ELAZIĞ

2023

# İTHAF



*Sevgili Babama...*

## TEŞEKKÜR

Öncelikle uzmanlık öğrenimim süresince danışmanlığımı üstlenen ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt Sinan OCAK'a teşekkürü bir borç bilirim. Fırat Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine Fırat Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Serkan DÜNDAR ve Doç. Dr. Alihan BOZOĞLAN'a, desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşım Arş. Gör. Nurgül TEMİZKAN ÇAKAR'a Endodonti Kliniği hemşirelerine ve bölümümüzün sevgili sekreteri Özge DEMİR'e, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN'a, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Hatice ERÖKSÜZ ve Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ'e, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalından Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN'a, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM) sorumlu yöneticisi Öğr. Gör. Ebru GÖKDERE ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitimim süresince her türlü maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren eşim Eren ÇANKAYA'ya ve başta ailem olmak üzere tüm sevdiklerime teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
İTHAF .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLO LİSTESİ .....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
<b>1. ÖZET.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>3. GİRİŞ .....</b>	<b>5</b>
3.1. Genel Bilgiler .....	9
3.1.1. Apikal Periodontitis .....	9
3.1.1.1. Apikal Periodontitisin Etiyolojisi.....	11
3.1.1.2. Klinik Özellikleri .....	14
3.1.1.2.1. Semptomatik Apikal Periodontitis .....	14
3.1.1.2.2. Asemptomatik Apikal Periodontitis .....	14
3.1.2. Enfeksiyon ve inflamatuvar yanıt .....	15
3.1.2.1. Doğal İmmün Yanıt .....	16
3.1.2.2. Kazanılmış İmmün Yanıt .....	17
3.1.2.3. Duyusal İmmün Yanıt .....	19
3.1.3. Bağışıklık Sistemi .....	21
3.1.3.1. Periapikal Hastalığın Oluşmasında Bağışıklık Sisteminin Rolü.....	22
3.1.4. Konak Modülasyonu.....	23
3.1.4.1. Tedaviye Ek Yöntem Olarak Konak Modülasyonu .....	24
3.1.5. Konak Modülasyon Ajanları.....	25
3.1.5.1. Bitkisel Yağ.....	25
3.1.5.1.1. Bitkisel Yağ ve Ağız Sağlığına Etkisi .....	26
3.1.5.2. Probiyotikler.....	27
3.1.5.2.1. Probiyotikler ve Ağız Sağlığına Etkisi .....	28
3.1.5.3. Propolis .....	29

3.1.5.3.1. Propolisin Ağız Sağlığına Etkisi .....	30
3.1.5.4. E Vitamini (dl- $\alpha$ -tokoferol).....	31
3.1.5.4.1. E Vitamini ve Ağız Sağlığına Etkisi .....	32
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>33</b>
4.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Dizaynı .....	33
4.2. Deneysel Periapikal Lezyon Oluşturulması .....	35
4.3. Besin Takviyelerinin Hazırlanması ve Uygulanması .....	36
4.4. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi ve Sakrifikasyon .....	38
4.5. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması .....	38
4.6. Biyokimyasal Analiz .....	39
4.7. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz.....	39
4.8. İstatiksel Analizler.....	41
<b>5. BULGULAR .....</b>	<b>42</b>
5.1. Biyokimyasal Bulgular.....	42
5.2. Histopatolojik Bulgular .....	46
5.3. İmmünohistokimyasal Bulgular .....	60
<b>6. TARTIŞMA .....</b>	<b>66</b>
6.1. Çalışmada Kullanılan Ajanların Seçimi .....	66
6.2. Çalışmada Kullanılan Yöntemlerin Seçimi .....	70
6.3. Biyokimyasal Bulgularının Değerlendirilmesi.....	72
6.4. Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi .....	75
6.5. İmmünohistokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi .....	79
<b>7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>81</b>
<b>8. KAYNAKLAR .....</b>	<b>82</b>
<b>9. EKLER.....</b>	<b>94</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>99</b>

## TABLO LİSTESİ

- Tablo 1.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin osteoblastik aktivite üzerine etkisi.....50
- Tablo 2.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin osteoklastik aktivite üzerine etkisi.....51
- Tablo 3.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTK), propolis (PPS), E vitamini (E VİT) takviyesinin inflamasyon düzeyi üzerine etkisi. ....54
- Tablo 4.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin Fibrozis düzeyi üzerine etkisi.....55
- Tablo 5.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT) takviyesinin Anjiogenez düzeyi üzerine etkisi. ....58
- Tablo 6.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTK), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin Apse düzeyi üzerine etkisi.....59
- Tablo 7.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, Osteoprotogenin (OPG) üzerine etkisi. ....63
- Tablo 8.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTK), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel

yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, Tartrate-dirençli asit fosfataz (TRAP) üzerine etkisi..... 64

**Tablo 9.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTk), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) üzerine etkisi. .... 65



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Apikal periodontitis oluşum döngüsü.....	11
<b>Şekil 2.</b>	Apikal periodontitisin patogenezinde başlıca doğal ve adaptif immün yanıtlar ve nörojenik inflamasyon .....	20
<b>Şekil 3.</b>	Konak inflamatuvar yanıt tedavisinin eylem yollarının sentezi (88) .....	23
<b>Şekil 4.</b>	Modülasyon terapisi için kullanılan ana madde sınıfları .....	24
<b>Şekil 5.</b>	Ayçiçek yağının farmakolojik ve sağlık yararları (96).....	26
<b>Şekil 6.</b>	Diş hekimliğinde propolisin potensiyel kullanımlarının özeti .....	31
<b>Şekil 7.</b>	Apikal periodontitis indüksiyonu ve koronal pulpa açıklığının sağlanması .....	35
<b>Şekil 8.</b>	Bitkisel yağ gavaj .....	36
<b>Şekil 9.</b>	Serum fizyolojik gavaj .....	36
<b>Şekil 10.</b>	Probiyotik gavaj.....	37
<b>Şekil 11.</b>	Propolis gavaj .....	37
<b>Şekil 12.</b>	E vitamini gavaj.....	38
<b>Şekil 13.</b>	Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum alkalen fosfataz değişimi.....	42
<b>Şekil 14.</b>	Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum kalsiyum seviyelerinin değişimi.....	43
<b>Şekil 15.</b>	Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, probiyotik (A), Propolis (B) ve E vitamini (C) besin takviyelerinin serum kalsiyum seviyeleri üzerine etkisi.....	44
<b>Şekil 16.</b>	Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum P seviyelerinin değişimi.....	45
<b>Şekil 17.</b>	Kontrol Grubu (K) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, yeşil ok; osteoklast .....	46
<b>Şekil 18.</b>	Apikal Periodontitis Grubu (AP) H&E Boyama a) 40X Büyütme- Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis .....	46

<b>Şekil 19.</b> Apikal Periodontitis ve Bitkisel Yağ (AP+BY) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis .....	47
<b>Şekil 20.</b> Apikal Periodontitis ve Serum Fizyolojik (AP+SF) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, tutuncu ok; inflamasyon .....	47
<b>Şekil 21.</b> Apikal Periodontitis ve Probiyotik Grubu (AP +PBTk) H&E Boyama a) 40X Büyütme- Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis.....	47
<b>Şekil 22.</b> Apikal Periodontitis ve Propolis Grubu (AP+PPS) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis.....	48
<b>Şekil 23.</b> Apikal Periodontitis ve E Vitamini Grubu (AP+ EVİT) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis.....	48
<b>Şekil 24.</b> a) Hafif yoğunlukta osteoblastik aktivite b) Orta yoğunlukta osteoblastik aktivite, H&E Boyama (200X).....	49
<b>Şekil 25.</b> a) Hafif yoğunlukta osteoklastik aktivite b) Orta yoğunlukta osteoklastik aktivite, H&E Boyama (200X).....	49
<b>Şekil 26.</b> a) Hafif yoğunlukta inflamasyon b) Orta yoğunlukta inflamasyon c) Şiddetli yoğunlukta inflamasyon, H&E Boyama (200X).....	52
<b>Şekil 27.</b> a) Hafif yoğunlukta fibrozis b) Orta yoğunlukta fibrozis c) Şiddetli yoğunlukta fibrozis, H&E Boyama (200X).....	53
<b>Şekil 28.</b> a) Hafif yoğunlukta anjiogenez b) Orta yoğunlukta anjiogenes, H&E Boyama (200X) .....	56
<b>Şekil 29.</b> a) Hafif yoğunlukta apse.....	57
<b>Şekil 30.</b> Kontrol Grubu (K) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X) ....	60
<b>Şekil 32.</b> Apikal Periodontitis ve Bitkisel Yağ Grubu (AP+BY) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X).....	61
<b>Şekil 33.</b> Apikal Periodontitis ve Serum Fizyolojik Grubu (AP+SF) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X) .....	61

<b>Şekil 34.</b> Apikal Periodontitis ve Probiyotik Grubu (AP+PBTK) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X).....	61
<b>Şekil 35.</b> Apikal Periodontitis ve Propolis Grubu (AP+PPS) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X).....	61
<b>Şekil 36.</b> Apikal Periodontitis ve E Vitamini Grubu (AP+ EVİT) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X).....	62



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ALP</b>	: Alkaleen fosfat
<b>APC</b>	: Antijen sunan hücre
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>CGRP</b>	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
<b>ELISA</b>	: Enzim bağlı immunosorbent deney
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen ve Eozin
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>LGG</b>	: Lactobacillus rhamnosus GG
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MMP</b>	: Matris metalloproteinazlar
<b>MUFA</b>	: Tekli doymamış yağ asitleri
<b>NK</b>	: Doğal öldürücü hücre
<b>NPY</b>	: Nöropeptid Y
<b>NSAİİ</b>	: Non Steroidal Antiinflatuar İlaçlar
<b>OPG</b>	: Osteoprotegerin
<b>P</b>	: Fosfor
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PDL</b>	: Periodontal ligament
<b>PGE2</b>	: Prostaglandin E2
<b>PMN</b>	: Polimorfonükleer nötrofiller
<b>PUFA</b>	: Çoklu doymamış yağ asitleri
<b>RANK</b>	: Nükleer faktör kappa B nin reseptör aktivatörü

<b>RANKL</b>	: Nükleer faktör kappa B nin reseptör ligandı
<b>SP</b>	: Supstant P
<b>TGF</b>	: Transforme edici büyüme faktörü
<b>Th</b>	: T helper
<b>Th0</b>	: Farklılaşmamış CD4+ T hücreleri
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktör
<b>TRAP</b>	: Tartrate-direnli asit fosfataz
<b>Treg</b>	: Düzenleyici T hücreleri
<b>VIP</b>	: Vazoaktif bağırsak peptidi
<b>Ω</b>	: Omega

## 1. ÖZET

Bu çalışmanın amacı rutin beslenmeye ek olarak besin takviyesi ile konak modülasyonunun sağlandığı apikal periodontitise bağlı inflamasyon/rezorpsiyon arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

79 adet Sprague-Dawley rat kontrol (n=7), apikal periodontitis (n=12), bitkisel yağ (n=12), serum fizyolojik (n=12), probiyotik (n=12), propolis (n=12) ve E vitamini (n=12) olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Apikal periodontitis induksiyonu için kontrol grubu dışındaki gruplarda alt çene 1. azı dişlerinin pulparları ağız ortamına açık bırakıldı. Besin takviyesi gruplarında sırasıyla 0.5 ml bitkisel yağ, 1 ml serum fizyolojik, 10<sup>9</sup> CFU L.rhamnosus, 100 mg / kg propolis, 60 mg/kg E vitamini uygulandı. 30. gün sonunda kan alınıp ratlar sakrifiye edildi ve kanlar biyokimya analizi için laboratuvara gönderildi. Histopatolojik yöntem ile osteoblastik, osteoklastik, inflamasyon, fibrozis, anjiogenez ve apse oluşumu değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama teknikleri kullanılarak OPG, RANKL ve TRAP düzeyleri incelendi. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik paket programı (IBM SPSS Versiyon 22.0) kullanıldı.

Biyokimyasal değerlendirmelerde tüm gruplarda serum ALP ve P değerlerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığı tespit edildi (p>0.05). Serum Ca düzeyleri apikal periodontitis oluşturulan ratlarda farklılık gösterdi (p<0.01). Histopatolojik değerlendirmede besin takviyelerinin; osteoblastik aktivite (p=0.044), osteoklastik aktivite (p=0.0456), inflamasyon (p<0.0001), fibrozis (p<0.0001) ve anjiogenez (p<0.0148) parametreleri üzerine farklı etkileri olduğu tespit edilirken, apse oluşumu üzerine etkinliğinin olmadığı belirlendi (p>0.05). İmmünohistokimyasal değerlendirmelere göre kontrol ve deney grupları arasında OPG ve TRAP değerleri

açısından istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ). Besin takviyesi uygulanan gruplarda RANKL düzeyi apikal periodontitis grubuna göre anlamlı derecede az bulundu ( $p<0.01$ ).

Besin takviyesi uygulamaları deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitis üzerinde antiinflamatuvar ve antirezorptif etki göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apikal periodontitis, konak modülasyonu, bitkisel yağ, probiyotik, propolis, E vitamini.



## 2. ABSTRACT

### **Investigation of the Relationship Between Apical Periodontitis and Host Modulation Provided by Nutritional Supplement**

The aim of this study was to evaluate the relationship between host modulation provided with nutritional supplementation in addition to routine nutrition and inflammation/resorption due to apical periodontitis.

79 Sprague-Dawley were divided to 7 groups as rats control (n=7), apical periodontitis (n=12), vegetable oil (n=12), physiological saline (n=12), probiotic (n=12), propolis (n=12) and vitamin E (n=12). For apical periodontitis induction, the pulps of the mandibular first molars were left open to the oral environment in experimental groups other than the control group. In nutritional supplement administration groups; 0.5 ml vegetable oil, 1 ml physiological saline,  $10^9$  CFU *L.rhamnosus*, 100 mg / kg propolis, 60 mg/kg vitamin E were administered, respectively. At the end of the 30th day, blood was taken and the rats were sacrificed and the blood was sent to the laboratory for biochemistry analysis. Osteoblastic, osteoclastic, inflammation, fibrosis, angiogenesis and abscess formation were evaluated by histopathological method. OPG, RANKL and TRAP levels were analyzed using immunohistochemical staining techniques. SPSS statistical package program (IBM SPSS Version 22.0) was used to evaluate the data.

Biochemical evaluations revealed no change in serum ALP and P values in all groups ( $p>0.05$ ). Serum Ca levels differed in rats with apical periodontitis ( $p<0.01$ ). In the histopathological evaluation, it was determined that nutritional supplements had different effects on osteoblastic activity ( $p=0.044$ ), osteoclastic activity ( $p=0.0456$ ), inflammation ( $p<0.0001$ ), fibrosis ( $p<0.0001$ ) and angiogenesis ( $p<0.0148$ )

parameters, but had no effect on abscess formation ( $p>0.05$ ). According to the immunohistochemical evaluations, there was no statistical difference between the control and experimental groups in terms of OPG and TRAP values ( $p>0.05$ ). RANKL level was found to be significantly lower in the nutritional supplement group compared to the apical periodontitis group. ( $p<0.01$ ).

Nutritional supplement applications showed anti-inflammatory and antiresorptive effects on experimentally induced apical periodontitis.

**Keywords:** Apical periodontitis, host modulation, vegetable oil, probiotic, propolis, vitamin E.

### 3. GİRİŞ

Diş pulpası, ağız boşluğunda bulunan mikroorganizmalardan mine ve dentin ile korunmasına rağmen; diş çürüğü, kırık veya operatif prosedürler diş pulpasının mikroorganizmalara ve ürünlerine maruz kalmasına sebep olurken aynı zamanda lokal bir inflamatuvar yanıtı da tetikler. Bu enfeksiyon ve İnflamasyonun ilerlemesi pulpanın nekrozu ve bunun sonucunda periapikal dokuların tutulumu ile periapikal lezyon oluşturur. Periapikal lezyonlarda, başlangıçta akut inflamatuvar yanıtta çeşitli yoğunluklarda kısa ağrı, diş yüksekliği ve perküsyona karşı hassasiyet eşlik eder. Doku değişiklikleri hiperemi ve nötrofil göçü ile karakterizedir ve genellikle periodontal ligament ile sınırlıdır. Periapikte iritanların sürekli varlığı ile akut yanıt, kronik inflamatuvar hücreler ve fibroblastlarla granülomatöz bir doku oluşumuna kayar: apikal granülom gibi. Bu durum asemptomatiktir ve periapikal kemik rezorpsiyonu sonucu radyografide radyolüsent alan görülebilir. Bir granülom gizli kalabilir veya iyi anlaşılmamış mekanizmalarla inflamatuvar kistlere dönüşebilir. Kistler, tabakalaşmış skuamöz epitel ile kaplı, değişken kalınlıkta ve fibröz kapsül ile kaplı, tam gelişmiş boşluklar ortaya koyan kistler olarak teşhis edilir. Periapikal dokulardaki bu patolojik değişiklikler, enfekte diş pulpasından apikal foramen yoluyla çıkan bakteriyel ürünlere karşı konakçı savunma reaksiyonunun klinik sonucudur. Bu yanıt, polimorfonükleer lökositlerin, monositlerin, lenfositlerin, plazmanın ve mast hücrelerinin enfekte bölgelere sürekli göçü ile karakterizedir ve periapikal dokulara mikrobiyal invazyonu büyük ölçüde önler. Bu immünolojik yanıt, periapikal kemiğin yıkımı dışında, vücuttaki bakteriyel enfeksiyonlara karşı diğer reaksiyonlara benzer görünmektedir. Bu bağlamda, immün hücrelerin bulunması ve bunun sonucunda inflamatuvar mediatörlerin üretimi konakçıyı patojen invazyonundan korusa da, paradoksal olarak

periapikal kemik rezorpsiyonunun çoğunu açıklayabilir (1). Son yıllarda immün sistem ile kemik metabolizması arasındaki ilişkinin incelenmesine olanak sağlayan osteoklast fonksiyonu ile ilişkili çeşitli kemik hastalıklarının kontrolünde kullanılan tümör nekroz faktör (TNF) ailesine ait üç önemli molekül; nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B)'nin reseptör aktivatörü (RANK), onun ligandı (RANKL) ve RANKL'ı inhibe eden osteoprotegerin (OPG) keşfedildi (2).

Apikal periodontitisin önemli bir özelliği, lezyon oluşumu ve genişlemesi ile sonuçlanan kemik rezorpsiyonudur (3). Kemik rezorpsiyonunun kontrol altına alınmaya çalışıldığı periodontal hastalıklarda, destekleyici konak modülasyon tedavilerinin RANKL/OPG oranını azaltmakta yararlı olacağı düşünülmektedir (4). Osteoklast farklılaşması ve kemik rezorbe edici aktivite, NF- $\kappa$ B ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) reseptör aktivatörünün etkisi ile kontrol edilir. RANKL, osteoklast farklılaşmasını ve olgunlaşmasını desteklemek için osteoklast öncü hücrelerinin yüzeyinde ifade edilen RANK'a bağlanır. OPG, RANKL bağlanması için RANK ile rekabet eder, osteoklast aktivasyonunu ve dolayısıyla kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (3).

Biyolojide 'konak', bir parazitin geçimini veya barınmasını sağlayan canlı bir hayvan veya bitki olarak tanımlanır. İstilacı veya tehdit edici faktör; bir kommensal veya simbiyotik çiftin daha büyük, daha güçlü veya baskın üyesi, bir doku, parça veya embriyonun başka birinden nakledildiği bir birey. Bu nedenle, 'konak yanıtı', istilacı veya tehdit edici faktörlere karşı canlı hayvan veya bitkinin vücudunun tepkisini temsil eder. Bağışıklık tepkisinin manipülasyonu; istenmeyen reaksiyonları bastırmak için, otoimmünite, alerji veya greft reddi gibi durumlarda arzu edilir. Koruyucu süreçleri uyarmak için bulaşıcı hastalık durumunda da gereklidir. Bu hedeflere ulaşmak için

stratejiler topluca 'konak yanıtının modülasyonu' olarak adlandırılır ve tedavide yeni bir kavram sağlar. Bu yaklaşımın amacı, konağın doğal savunma mekanizmalarını destekleyerek inflamatuvar sistemin seyrini, konağın yanıtını değiştirerek konağın bulaşıcı ajanlarla savaşmasına yardımcı olmaktır. Diğer anti-enfektif silahlarla karşılaştırıldığında, konak yanıt modülasyonunun daha az yan etkisi vardır, invaziv değildir ve kompleks uygulama yöntemleri gerektirmez (5).

Osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu inflamatuvar medyatörler aracılığı ile baskılayabilecek bir konak modülasyon ajanının kullanılmasının periapikal dokularda oluşan yıkımı azaltabileceği öngörülmektedir (6). Bazı konak modülatörleri hem antimikrobiyal hem de anti-inflamatuvar özelliklere sahip olabilir ve bu nedenle hastalık patolojisinin birçok yönünü kontrol etmek ve tedavi etmek için yararlı olabilir (7).

Yenilebilir tohumlar ve filizlerden elde edilen bitkisel yağlar, flavonoidler (heliannone, quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin), fenolik asitler (kafeik asit, klorojenik asit, kafeoilkinik asit, gallik asit, protokateşik, kumarik, ferulik asit ve sinapik asitler), eser elementler ve vitaminler gibi iyi bir antioksidan kaynağıdır. Son birkaç yılda, ayçiçeği tohumu ve filizinden flavonoidler, fenolik asitler tanımlanmış ve farmasötik faaliyetlerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (8-12). Ayçiçeği tohumu, antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antihipertansif, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici özelliklere sahip önemli bir besin, mineral, antioksidan ve vitamin kaynağıdır (13).

Probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında konağın sağlığına fayda sağlayan ve sağlık-hastalık sürecine müdahale edebilen mikroorganizmalardır. Probiyotikler insan sağlığını geliştirmeye odaklanmış antiinflamatuvar ajanlar olarak

kullanılmıştır. Yapılan bir çalışmada sistemik probiyotik uygulaması alındığında, rat modelinde apikal periodontitiste önemli ölçüde azalmış inflamasyon ve kemik rezorpsiyonu ortaya çıktığı bildirilmiştir (14).

Propolis, bal arılarının canlı bitkilerden topladığı ve kovanlarının yapımında kullandıkları reçineli bir üründür. Tanenler, flavonoidler ve uçucu yağlar gibi propolisin çeşitli bileşenleri, farmakolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir. Bunların bakteriyel hücre duvarları ve lipopolisakkarit gibi spesifik bileşenleri üzerinde etkili olduğu ve oral biyofilmin protein içeriğini azalttığı bildirilmektedir. Propolisin antimikrobiyal özelliklerine ek olarak, anti-inflamatuar aktivite ve antipsoriatik ve analjezik etkiler bildirilmiştir. Bu nedenle propolis, inflamasyon ve alveoler kemik kaybının inhibisyonunda rol oynayabilir (7).

E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol), lipid peroksidasyonunu ve iltihaplanmasını önleyen, iskemik ve hipoksik dokuları koruyan ve immün sistemi uyarıcı bir serbest radikal temizleyici olarak işlev görür (15). Oksijen radikallerinin varlığının kronik inflamasyon ve periodontal hastalık ile ilişkili doku hasarında merkezi bir rol oynadığı öne sürülmüştür (16). E vitamini antioksidan özelliğinin yanında IL(interlökin)-1, IL-6, TNF-  $\alpha$  ve PGE2 (prostaglandin E2) gibi kemik kaybını artırdığı bildirilen pro-inflamatuar mediatörlerin üretimini yani kemik yıkım sürecini baskılamaktadır (17). Hayvan çalışmaları sonucunda elde edilen bulgular, E vitamininin ( $\alpha$ -tokoferolün) kemiğin kalsiyum miktarını artırdığını ve mekanik özelliklerini geliştirdiğini göstermektedir. Ayrıca E vitamininin ( $\alpha$ -tokoferol) kemik oluşumu üzerine yararlı etkileri olduğunu belirten çalışmalar da literatürde mevcuttur (18, 19).

Bunlardan yola çıkılarak çalışmamızda, normal diyetek ek olarak besin takviyeleri ile apikal periodontitise bağlı inflamasyon/rezorpsiyon süreçleri incelendi

ve konak modölatörü olarak bitkisel yağ, probiyotikler, propolis ve E vitamini kullanıldı.

Bu çalışmanın amacı rutin beslenmeye (ad libitum) ek olarak bitkisel yağ, probiyotik, propolis ve E vitamini takviyesi ile konak modölyasyonunun sağlandığı apikal periodontitise bağı inflamasyon/rezorpsiyon arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Çalışmamızın sıfır hipotezi; konak modölyasyon tedavisinde kullandığımız besin takviyelerinin inflamasyon/rezorpsiyon süreçlerine etkisi olmayacağı şeklinde belirlendi.

### **3.1. Genel Bilgiler**

#### **3.1.1. Apikal Periodontitis**

Apikal periodontitis, dünya çapında yaygın bir enfeksiyöz hastalıktır ve dental pulpadaki mikrobiyal enfeksiyonun neden olduğu periapikal dokularda inflamatuvar bir yanıt ve kemik yıkımı ile karakterizedir (20-22). Apikal periodontitis esasen kök kanal sisteminin enfeksiyonunun neden olduğu mikrobiyal kökenli inflamatuvar bir hastalıktır (23). Kimyasal ve fiziksel faktörler periradiküler inflamasyonu indükleyebilmesine rağmen, çok sayıda bilimsel kanıt, apikal periodontitisin ilerlemesi ve devam etmesi için enfeksiyonun gerekli olduğunu göstermektedir (24). Endodontik enfeksiyon, ya pulpa nekrozunun bir sonucu olarak (çürük, travma, periodontal hastalık veya iyatrojenik cerrahi prosedürlerin bir sonucu olarak) ya da önceki endodontik tedavinin bir sonucu olarak, yalnızca konakçı savunmasından yoksun kök kanallarından gelişir (25). Endodontik mikrobiyoloji çalışmalarında mantarlar, arkeler ve virüsler bulunmasına rağmen bakteriler, apikal periodontitisin patogeneğinde rol oynayan birincil mikroorganizmalardır. Farklı endodontik

enfeksiyon tiplerinde 100 cins ve 9 filuma ait 450'den fazla bakteri türü ve filotipi tespit edilmesine rağmen yüksek verimli sıralama teknolojisi, bu sayıların daha da yüksek olabileceğini ortaya çıkarılmıştır. Bu nedenle, apikal periodontitis, bakteriyel enfeksiyon hastalığı olarak kabul edilir (26, 27). Endodontik enfeksiyon sürecinin ileri aşamalarında, bakterilerin öncelikle biyofilm yapılarında organize olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, apikal periodontitis, biyofilm kaynaklı ağız hastalıkları grubuna dâhil edilmiştir (28). Kök kanal sistemini kolonize eden bakteriler, apikal ve lateral foramenlerin yanı sıra iyatrojenik kök perforasyonları yoluyla periradiküler dokulara erişim sağlar. Bakteri ve konak savunmasının karşılaşması sonucunda periradiküler dokularda inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonlar meydana gelir (Şekil 1). Koruyucu olmasına rağmen, bu savunma mekanizmaları yıkıcı olabilir ve apikal periodontitis gelişimine neden olabilir.

Bakteriyel ve konakçı ile ilgili birkaç faktöre bağlı olarak, endodontik enfeksiyonlar, akut veya kronik apikal periodontitis formlarına neden olabilir. Ancak, histopatolojik koşullar her zaman klinik semptomlarla korele olmadığından apikal periodontitis klinik olarak semptomatik veya asemptomatiktir. Bir kez inflamasyon başladıktan sonra, hastalık süreci çevreyi değiştirir ve baskın türlerin seçimi de dahil olmak üzere bakteri ekolojisinin özelliklerini etkiler. Apikal periodontitisin nedeni bakteriyel enfeksiyon olmasına rağmen, hastalığın ilerlemesi, ciddiyeti, tedaviye yanıtı ve konakçının enfeksiyona karşı direncine müdahale eden konakçı ile ilişkili hastalık değiştiriciler tarafından etkilenebilir (Şekil 1) (26, 27).



Şekil 1. Apikal periodontitis oluşum döngüsü (25)

### 3.1.1.1. Apikal Periodontitisin Etiyolojisi

Nekrotik bir kök kanalında bakteri oluşumu ilk olarak 17. yüzyılda Hollandalı amatör mikroskop üreticisi Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) tarafından gözlemlendi ve çürük bir dişin kök kanallarının kendisine canlı gibi görünen “yumuşak bir madde ile doldurulduğunu” bildirmiştir. Bu organizmalara “hayvanlar” adını verdi (29). Bununla birlikte, bakterilerin hastalık nedenselliğinde oynadığı rol o zamanlar şüphe götürmezdi ve özellikle Almanya'da Robert Koch'un ve Fransa'da Louis Pasteur'un çabalarına dayanarak bunun ortaya çıkması yaklaşık 200 yıl aldı. Gerçekten de, bakteri ve apikal periodontitis arasındaki neden-sonuç ilişkisi ilk olarak 1894'te Almanya, Berlin'deki Koch laboratuvarında çalışan Amerikalı diş hekimi Willoughby Dayton Miller tarafından önerildi (30). Kök kanal örneklerinin bakteriyoskopik incelemesi ile Miller, temel bakteriyel morfolojileri (kok, basil ve spirilla veya spiroketler) tanımladı ve endodontik mikrobiyotanın koronal, orta ve apikal kök kanalı kısımlarındaki farklılıkları bildirdi. Apikal apselerde yüksek oranda gözlenen spiroketlerin bu hastalıkta etiyolojik rol oynadığından şüphelenildi. Miller'ın ışık

mikroskobu altında gördüğü bakterilerin çoğu, o zamanlar mevcut olan teknoloji kullanılarak yetiştirilemedi. Muhtemelen anaerobik bakterilerdi ve ancak 50 ila 100 yıl sonra anaerobik kültür tekniklerinin ortaya çıkmasıyla başarılı bir şekilde yetiştirildiler. Bu arada, kök kanalı da dâhil olmak üzere çeşitli ortamlarda yaşayan çok sayıda bakteri türü bugün yetiştirilmeyi beklemektedir (31, 32). Miller, bulgularına dayanarak, bakterilerin apikal periodontitisin nedeni olabileceğini öne sürdü.

Bu klasik çalışmadan yaklaşık 70 yıl sonra, Miller'ın varsayımları 1965'te, geleneksel ve mikropsuz ratların diş pulpalarının ağız boşluğuna maruz kalmaya tepkisini araştıran Kakehashi ve arkadaşlarının bir çalışmasında kesin olarak doğrulandı (33). Histolojik olarak, tüm konvansiyonel ratlarda pulpa nekrozu ve apikal periodontitis lezyonlarının geliştiğini, oysa mikropsuz ratların pulpalarının sadece canlı kalmadığını, aynı zamanda sert doku oluşumu ile kendilerini tamir ettiğini belirlediler. Bakteri yokluğunda, dentin benzeri doku, maruz kalan alanı kapatmış ve canlı pulpaları ağız boşluğundan yeniden izole etmiştir. Bakterilerin apikal periodontitis etiyojisindeki temel rolü, travma sonrası pulpaları nekrotik hale gelen dişlerin kök kanallarında meydana gelen bakterileri değerlendirmek için anaerobik kültür teknikleri uygulayan Sundqvist (1976) tarafından yapılan başka bir klasik çalışmada daha da doğrulanmıştır (34). Bakterilerin sadece apikal periodontitisin radyografik kanıtını gösteren dişlerin kök kanallarında bulunması, bu hastalığın enfeksiyöz etiyojisini doğrulamıştır. Anaerobik bakteriler, izole edilen suşların %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. Sundqvist'in çalışması ayrıca, kök kanalındaki nekrotik pulpa dokusunun ve durgun doku sıvısının, enfeksiyon yokluğunda apikal periodontitis lezyonlarını indükleyemediğini ve sürdürmeyeceğini göstermiştir.

1981'de Möller ve arkadaşları, apikal periodontitisin mikrobiyal nedenselliğine dair daha fazla güçlü kanıt ortaya koymuşlardır (21). Maymunlarda yaptıkları çalışma, apikal periodontitis lezyonlarının sadece pulpalari devitalize ve enfekte olan dişlerde geliştiğini, buna karşın cansız fakat enfekte olmayan pulpalari olan dişlerde periradiküler dokularda önemli patolojik değişiklikler göstermediğini bildirmişlerdir. Apikal periodontitis gelişimi için mikroorganizmaların önemini doğrulamanın yanı sıra, bu çalışma aynı zamanda nekrotik pulpa dokusunun kendi başına apikal periodontitis lezyonlarını indükleyemediğini ve koruyamadığını da doğrulamıştır. Endodontik mikrobiyoloji araştırmacılarının, apikal periodontitisin ana etken maddesi olan bir tür veya türler grubunu bulmaları uzun süredir devam eden bir istek olmuştur. Bununla birlikte, kültür ve moleküler tanımlama yöntemlerinin yanı sıra morfolojik çalışmaların getirdiği bilgiler biriktikçe, apikal periodontitisin esas olarak kök kanal duvarlarına yapışan karışık ve organize bakteri topluluklarından kaynaklandığına dair kanıtlar ortaya çıkmıştır. Bu, Siqueira ve Rôças'ı apikal periodontitis etiyojisine patojen olarak topluluk kavramını uygulamaya sevk etti (35). Bu konsepte dayanarak, hastalık prognozu, topluluğu oluşturan türler arasındaki bileşime, bolluğa, etkileşimlere ve patojeniteye bağlıdır. Kök kanallarının mikrobiyal kolonizasyon paternlerinin morfolojik çalışmaları, günümüzde biyofilm benzeri yapılar olarak kabul edilen bakteriyel yoğunlaşmalar bildirmiştir (36-38). Bununla birlikte, Ricucci ve Siqueira tarafından yapılan bir çalışmada, intraradiküler ve ekstraradiküler biyofilmlerin prevalansı araştırılırken bunların primer ve tedavi sonrası apikal periodontitis ile ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır (28). Bu çalışmada apikal periodontitisli tüm dişlerde bakteriyel enfeksiyon meydana gelmiş ve bu da hastalığın enfeksiyöz etiyojisini doğrulanmıştır. Aynı zamanda bakteriler, tedavi edilmemiş ve

tedavi edilmiş dişlerin apikal segmentindeki biyofilmlerde yüksek prevalansta organize olduğu gözlenmiştir.

### **3.1.1.2. Klinik Özellikleri**

#### **3.1.1.2.1. Semptomatik Apikal Periodontitis (Akut Apikal Periodontitis)**

Akut apikal periodontitis, periodonsiyumun periapikal dokularının, genellikle geri dönüşümsüz pulpitis ve pulpal nekrozdan kaynaklanan inflamatuvar bir durumdur. Kimyasal ve fiziksel faktörler pulpitise neden olabilsede, çoğu vakanın genellikle çürük veya travmaya bağlı mikrobiyal bir nedeni vardır (39). Etkilenen bir dişin periapikal bölgesinde bazı bakterilerin varlığı gösterilmiş olmasına rağmen akut apikal periodontitis; bulaşıcı bir süreç olmaktan çok, ağırlıklı olarak inflamatuvar bir süreçtir (40). Akut apikal periodontitisli hastalar genellikle orta ila şiddetli ağrıya sahiptir ve bu da acil tedavi ihtiyacına neden olur (41). Bu durum, genellikle apikal periodonsiyumda, ısırma, perküsyon veya palpasyona ağırlı bir yanıt da dahil olmak üzere klinik semptomlar üreten bir iltihaplanma olarak tanımlanır. Apikal radyolüsent bir alanla ilişkili olabilir veya olmayabilir. Bu diş, pulpa duyarlılık testlerine yanıt verebilir veya vermeyebilir ve dişin radyografisi veya görüntüsü tipik olarak en azından genişlemiş bir periodontal ligament boşluğu sergileyecektir ve köklerin biri veya tümü ile bağlantılı bir apikal radyolüseni gösterebilir veya göstermeyebilir (42).

#### **3.1.1.2.2. Asemptomatik Apikal Periodontitis (Kronik Apikal Periodontitis)**

Kronik apikal periodontitis pulpa kökenli apikal periodonsiyumun inflamasyonu ve yıkımı olarak tanımlanır; apikal radyolüsent bir alan olarak görünür ve klinik semptomlar üretmez. Bu diş genellikle pulpa duyarlılık testlerine yanıt vermez ve dişin radyografisi veya görüntüsü apikal radyolüseni sergileyecektir. Diş

genellikle ısırma basıncına duyarlı değildir ancak perküsyonda hastaya farklı hissettirebilir. Bazen hasta hafif hassasiyet bildirebilir. Kronik apikal periodontitisin semptomları hastalar arasında farklılık gösterebilir (42).

### **3.1.2. Enfeksiyon ve inflamatuvar yanıt**

Mikrobiyal etkileşimin apikal periodontitisin patogeneğinde önemli bir rol oynadığına dair literatürde kanıtlar bulunmaktadır (43, 44). Mikroorganizmalar doğrudan doku hasarına neden olabilir ve salgılarıyla (enzimler, eksotoksinler, metabolik son ürünler) immünolojik yanıtı başlatabilirler (3, 45).

Apikal periodontitise neden olan immünolojik yanıt farklı virülans faktörlerine göre değişiklikler göstermektedir. Total pulpa nekrozu sonucunda ortaya çıkan apikal periodontitis gelişiminde venüllerin çökmesine ve kan akışının durması ile pulpal interstisyel basınçta genel bir artışa bağlı olarak pulpa boğma teorisine ve kontamine olmayan nekrotik pulpanın kan akışının kesilmesine neden olduğu sonucuna varan hayvan ve insan çalışmalarına dayanmaktadır (46-48). Kasıtlı olarak cansızlaştırılan veya kazara travmatize edilen pulpa genellikle enfekte olmadıkça periapikal inflamasyonu indükleyemezler (21, 34, 49). Vital pulpa çürük veya diğer yollardan dolayı enfekte olursa periapikal inflamasyon gelişebilir, ancak kök kanalının apikal kısmında vital pulpa doku hala mevcuttur (50, 51). Pulpa enfekte olduğunda, birçok doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık hücresi aktive olur ve sitokinler, kemokinler ve nöropeptitler dâhil olmak üzere yüksek miktarlarda çeşitli inflamatuvar aracılara serbest bırakılır. Pulpa iltihabı yayıldıkça, inflamatuvar mediatörler periapikal dokuların patobiyolojisini değiştirmeye başlar, vazodilatasyon, artmış vasküler geçirgenlik, immünoinflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve kemik rezorpsiyonuyla kendini gösterir. Klinik olarak, apikal periodontitisin radyografik muayenesinde

gözlemlenebilir değişiklikler, periodontal ligament (PDL) aralığının genişlemesi veya kemik rezorpsiyonuna bağlı apikal osteolitik lezyonların gelişmesidir. Kemik kaybı esas olarak aktive edilmiş osteoklastlardan kaynaklandığı bilinmektedir. Osteoklast progenitör hücre farklılaşmasını ve aktivasyonunu indükleme kabiliyetine sahip IL-1, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF-a gibi birçok sitokin bulunmuştur (52, 53). Periapikal dokularda inflamasyonun neden olduğu kemik rezorpsiyonuna, kök kanalından mikrobiyal istilanın yayılmasına karşı esasen bir savunma hattı oluşturan immünoinflamatuvar hücrelerin toplanması eşlik eder (54). Apikal periodontitis patogeneğinde, doğal ve kazanılmış immün yanıtların yanı sıra periapikal dokulardaki duyuşal sinir yanıtında içerir. İnsan periradiküler lezyonlarında bulunan immünoinflamatuvar hücreler, lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, plazma hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreleri ve dendritik hücrelerden oluşur ve ilk iki tip çoğunluktadır (55, 56).

### **3.1.2.1. Doğal İmmün Yanıt**

Doğuştan gelen bağışıklık, efektör hücreler (makrofajlar, dendritik hücreler, nötrofiller, monositler, epitel hücreleri ve endotel hücreleri) tarafından üretilen sitokinler, kemokinler ve hücre yüzeyi reseptörlerini içerir. Lipopolisakkarit (LPS), bakteriyel nükleik asitler, fimbrialar ve proteazlar gibi mikropla ilişkili efektör hücreleri aktive eden moleküler modellerdir. Efektör hücreler, model tanıma reseptörleri aracılığıyla moleküler modelleri tanımlar ve bunlara yanıt verir. Konak hücreler tarafından bir kez tanındıklarında, çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive ederler. Doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin erken aktivasyonu, sitokin tepkilerinin ortaya çıkarılması şeklindedir. Sitokinler, periodontal hücrelerdeki değişiklikleri ve ayrıca hücre dışı matrisin bileşenlerinin dönüşümünü ve bozulmasını tetikler (57).

Ekstrasellüler matriks bileşenlerinin parçalanma ürünleri makrofajları aktive eder ve daha fazla kendi kendine yeten sitokin salgılanmasına neden olur (58). Artan regüle sitokin ekspresyonu, vasküler değişiklikler, polimorfonükleer nötrofillerin (PMN'ler) aktivasyonu ve göçü ile sonuçlanır ve sonuçta osteoklastogenez ve osteoklast aktivasyonuna yol açar (59).

Proinflamatuvar sitokinler inflamatuvar yanıtı güçlendirmek için diğer inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu düzenlerler. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , doğuştan gelen immün yanıtta anahtar proinflamatuvar sitokinlerden bazılarıdır. Lökositleri ve endotel hücrelerini aktive ederler, kemokinlerin, prostaglandinlerin ve matris metalloproteinazların (MMP) üretimini uyarırlar. IL-1 $\beta$ , MMP'lerin indüklenmesi yoluyla kemik rezorpsiyonunun ve bağ dokusu bozulmasının güçlü bir indükleyicisi olarak periodontal hastalığın patogenezinde önemli bir role sahiptir (60, 61). TNF- $\alpha$ , aynı zamanda kemik rezorpsiyonunu indükleyen ve PGE2 ve MMP sekresyonunu yukarı regüle eden bir proinflamatuvar sitokindir. Offenbacher ve arkadaşlarına göre LPS gibi bakteriyel ürünler IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunu indükler, inflamasyonu güçlendiren sitokinler, kemokinler ve siklooksijenaz ürünlerinin üretimini yükseltir (62). İnflamatuvar araçların seviyeleri belirli bir eşığe ulaştığında, kemik rezorpsiyon yolları aktive olur (63).

### **3.1.2.2. Kazanılmış İmmün Yanıt**

İlk doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde üretilen sitokinler, spesifik antijen yapılarının T ve B hücresi tarafından tanınması yoluyla adaptif bağışıklık tepkisi yollarını aktive eder. Sitokin ortamı, belirli efektör T hücre alt kümelerinin farklılaşmasını belirler. Antijen sunan hücreler (APC'ler), farklılaşmamış CD4+ T hücreleri (Th0) hücrelerine spesifik antijenler sunar. Th (T helper) 1, Th2, Th17, Treg

(Düzenleyici T) hücreleri gibi CD4+ T hücrelerinin farklı alt kümelerine farklılaşırlar. Her T hücresi alt kümesi, bağışıklık tepkisinin farklı yönlerini düzenleyen ve hastalık ilerlemesinin dinamiklerini etkileyen benzersiz sitokin salgılama profili ile ilişkilidir. Th1 hücreleri, fagositik makrofajlar ve NK hücreleri ve CD8+ T hücreleri gibi sitotoksik hücrelerden oluşan patojenik mikroorganizmalara karşı hücre aracılı bağışıklığın aktivasyonundan sorumlu bir sitokin olan İnterferon (IFN) - $\gamma$  üretir. Th2 hücreleri, sitokinlerin (IL-4, IL-5 ve IL-13) salgılanması yoluyla hümoral (antikor aracılı) bağışıklığı ve mast hücre aktivitesini düzenler ve B hücresi yanıtını koordine eder. Treg hücreleri, transforme edici büyüme faktörü (TGF) - $\beta$  ve IL-10'un salgılanmasının aracılık ettiği bir immünosupresif etkiye sahiptir. Diğer T hücresi alt kümeleri üzerinde düzenleyici bir işlevi vardır. Bu hücreler asemptomatik apikal periodontitis lezyonlarında artar ve bu nedenle hastalık patogenezinde rol oynayabilirler (64). IL-10, ikili rolü olan düzenleyici bir araçtır. Th1 ve Th2 yanıtlarını, makrofaj ve dentritik hücre fonksiyonlarını baskılar ve Th1 hücrelerinden, Th2 hücrelerinden, PMN'lerden ve NK hücrelerinden sitokin üretimini aşağı regüle eder. Bununla birlikte, B hücrelerini de aktive edebilir. IL-10 biyolojisinin bu farklı yönleri muhtemelen yerel sitokin ortamına bağlıdır. Th0 hücreleri ayrıca Th17 hücrelerine farklılaşabilir ve AAP'de proinflamatuvar yanıtları güçlendirdiklerine inanılmaktadır. Hücre dışı bakterilere karşı bağışıklık tepkilerine aracılık eden proinflamatuvar sitokinler IL-17 ve IL-22 üretirler (65). IL-17, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerle ortak birçok aktiviteye sahiptir, onlarla sinerjistik aktiviteye sahiptir ve ekspresyonlarını indükler (66). IL-17, periodontal hastalıkta nötrofil infiltrasyonunu aktive eder ve MMP'leri yukarı regüle eder. Bununla birlikte,

muhtemelen nötrofil fonksiyonu üzerindeki etkileri yoluyla, kemik homeostazında IL-17'nin koruyucu bir rolü de ileri sürülmüştür (67).

### **3.1.2.3. Duyusal İmmun Yanıt**

Bazı birincil afferent duysal sinir lifleri, çeşitli tahriş ediciler tarafından uyarıldıktan sonra, vazodilatasyona, protein ekstravazasyonuna ve bağışıklık hücrelerinin toplanmasına ve düzenlenmesine aracılık eden nöropeptitleri serbest bırakır. Bu durum nörojenik inflamasyon olarak adlandırılır (68, 69). Nörojenik inflamasyonun indüklenmesindeki temel nöropeptidler, vazodilatasyon için kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) ve protein ekstravazasyonunun indüklenmesi için supstant P (SP) 'dir. İnflamasyon varlığında, afferent liflerin filizlenmesini ve nöropeptid salınımını tetikleyen inflamatuvar mediyatörlerde lokal artışlar meydana gelir, bu değişiklikler nörojenik İnflamasyona yol açar (69-72). İnflamasyonun ilk belirtilerinin (vazodilatasyon ve artmış vasküler geçirgenlik) açığa çıkmasına neden olan nöropeptidlerin temel işlevlerinin yanı sıra, bu nöropeptidlerin inflamasyon sürecindeki rolünün artık çok daha karmaşık olduğu bilinmektedir.

Kronik apikal periodontitis lezyonlarının gelişiminde, nöropeptitler ayrıca immün regülasyon, kemik rezorpsiyonu ve yara iyileşmesinde rol oynar. Yeterli konsantrasyonlarda SP varlığı, makrofajlardan IL-1, TNF-a ve IL-6 salgılanmasını artırır. Ayrıca T-lenfosit proliferasyonunu uyarır ve T hücreleri tarafından antijen kaynaklı IFN- $\gamma$  üretimini artırır (73). SP gibi belirli nöropeptitler, immün ve inflamatuvar yanıtları aktive ederlerken, CGRP, vazoaaktif bağırsak peptidi (VIP) ve nöropeptid Y (NPY) gibi diğer nöropeptidler, inflamatuvar yanıtları inhibe eder. CGRP ve diğer inflamatuvar mediyatörler, eikosanoidler ve bradikinin gibi nöropeptidler



### 3.1.3. Bağışıklık Sistemi

Bağışıklık; hastalığa, özellikle enfeksiyöz hastalığa karşı bir dirençtir. Enfeksiyonlara karşı dirence aracılık eden hücre, doku ve moleküllerin toplamına bağışıklık sistemi denir ve bu hücre ve moleküllerin enfeksiyöz mikroplara karşı koordineli reaksiyonu bağışıklık tepkisidir (76). Bununla birlikte, konak savunması; doku homeostazı ve sistem bütünlüğünün korunmasında bağışıklık sisteminin genel işlevinin yalnızca bir tezahürüdür. Aslında, bağışıklık sistemi gelişme, üreme ve yara iyileşmesi gibi temel fizyolojik süreçlerin ayrılmaz bir parçasıdır ve bağışıklık sistemi ile metabolizma, merkezi sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem gibi diğer vücut sistemleri arasında yakın bir etkileşim olduğu açıktır (77). Konak savunma mekanizmaları, enfeksiyonlara karşı ilk korumaya aracılık eden doğal bağışıklıktan ve daha yavaş gelişen ve daha sonra enfeksiyonlara karşı daha etkili savunmaya aracılık eden adaptif bağışıklıktan oluşur (76). Ayrıca, bağışıklık hücrelerinin ve faktörlerinin etkileri konak savunması ile sınırlı değildir, gelişim, doku homeostazisi ve onarımına kadar uzanır. Ek olarak, fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi yaygın olarak bağışıklık sisteminin bir parçası olarak kabul edilmeyen stromal ve mezenkimal hücrelerin oynadığı önemli immünolojik işlevler vardır. Bunun da ötesinde, herhangi bir antijene verilen yanıtın tipini tanımlamada çevrenin inflamatuvar durumunun önemli olduğu ve bağışıklık sisteminin aslında hem steril hem de enfeksiyöz durumda doku homeostazının korunması ve restorasyonu için çok önemli olduğu artık bilinmektedir (77).

### 3.1.3.1. Periapikal Hastalığın Oluşmasında Bağışıklık Sisteminin Rolü

Periapikal lezyonlar, bir dizi immün ve yapısal hücre içeren yumuşak doku lezyonunun (Granülasyon dokusu) gelişimi ile birlikte dinamik bir kemik rezorpsiyonu ve birikimi sürecini temsil eder. Bu periapikal lezyon içindeki bağışıklık hücreleri arasında lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, plazma hücreleri ve mast hücreleri bulunurken yapısal hücreler fibroblastları ve osteoblastları içerir. Bunlara ek olarak, endotel hücreleri ve osteoklastlar, inflamatuvar sürecin ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Bazen bu lezyon oluşum alanında epitel hücreleri bulunur ve daha önce belirtildiği gibi kistik oluşumlaraa yol açabilir (78).

Periapikal hastalıkta bağışıklık sisteminde 2 şekilde yanıt ortaya çıkabilir. Bunlardan birisi olan doğuştan gelen immünolojik hücreler ve faktörlerin, periapikal lezyonların başlangıç gelişiminde kritik bir rol oynadığı görülmektedir. Çalışmalarda, bu hücrelerin baskılanmasının, hayvan modellerinde lezyon oluşumunun önemli ölçüde bozulmasına neden olduğunu gösterilmiştir (79, 80).

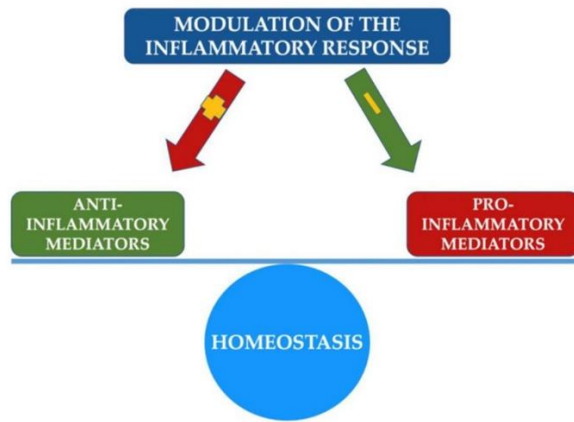
Diğer bir yanıt olarak adaptif bağışıklığın rolü, konakçı, virulent oral bakterilerin önemli bakteriyel yüküne maruz kaldığında ortaya çıkar. Bu nedenle, adaptif bağışıklıkta rol alan T ve B hücrelerinden yoksun hayvanların mo'ya maruz bırakılması sonrası şiddetli şişlikler geliştiği ve yaygın enfeksiyonlar görüldüğü bildirilmiştir (81, 82).

Bununla birlikte, çoğu durumda, bakteriyel tahriş edici maddeler o kadar şiddetli değildir ve immünolojik yanıt, önemli bir morbidite olmaksızın onu kontrol etme yeteneğine sahiptir. Çeşitli immünolojik faktörler ve ilerleyen mikrobiyal tahriş edici maddeler arasındaki denge, periapikal lezyonun tam boyutunu belirler. Çoğu hayvan çalışmasında, lezyonun boyutu 4-6 hafta içinde belirli bir radyografik veya

histolojik düzeye ulaşır ve daha sonra deneyin geri kalanı için stabil olduğu görülmüştür (83-85). Bu denge, ortaya çıkan yanıtı titre etmek için uyum içinde hareket eden proinflamatuvar ve antiinflamatuvar hücreler ve moleküler araçlar tarafından korunmaktadır. İmmünolojik denge, pulpitis ve diğer inflamasyon türlerinde olduğu kadar apikal periodontitis durumunda da kritiktir ve inflamasyonun yan etkilerini sınırlar. Bu süreç, iltihabın koruyucu işlevini sağlar ve yıkıcı etkilerini sınırlar (78).

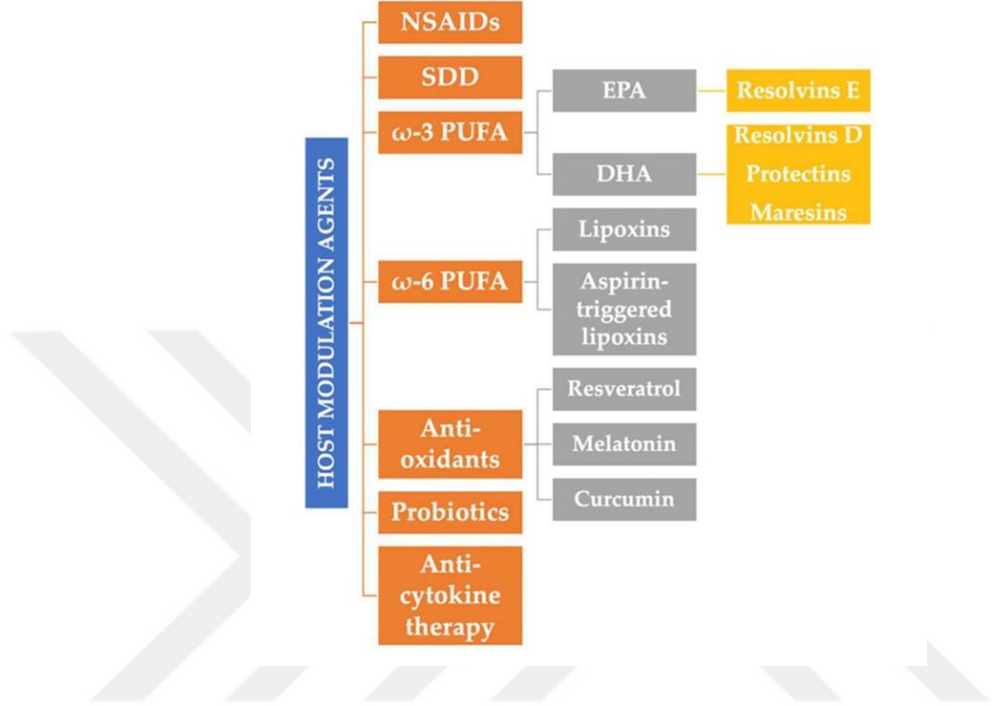
#### 3.1.4. Konak Modülasyonu

Konak modülasyonu, bir hastalığı tedavi etmek için konak olan insan vücudunun durumunu veya işlevini değiştirmeyi amaçlayan terapötik bir kavramı içermektedir. Hastalıkta konağın inflamatuvar yanıtının modülasyonu, anti-inflamatuvar, anti-oksidan, modülatör maddelerin yardımıyla yıkımı önleyen veya iyileştiren bağışıklık yanıtını değiştirmeyi önermektedir (86). Temelde modülasyon tedavisi, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar faktörler arasındaki dengeyi yeniden kurmayı, hastalığın gelişimini durdurmayı ve iyileşmeye elverişli bir ortam yaratmayı amaçlamaktadır. (Şekil 3) (87).



Şekil 3. Konak inflamatuvar yanıt tedavisinin eylem yollarının sentezi (88)

Elbette bu terapi, tedaviye ek olarak gelir, altın standart, enfeksiyon kaynaklarının uzaklaştırılmasıdır. Konağın inflamatuvar immün yanıtının modülasyon terapisinde kullanılan temel ajan sınıflamaları (88) (Şekil 4).



NSAID'ler: steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar; SDD: alt antimikrobiyal dozlarda doksisisiklin; ω-3/6 PUFA: omega 3/6 çoklu doymamış yağ asitleri; EPA: eikosapentaenoik asit; DHA: dokosaheksaenoik asit (88).

Şekil 4. Modülasyon terapisinde kullanılan ana madde sınıfları.

### 3.1.4.1. Tedaviye Ek Yöntem Olarak Konak Modülasyonu

İstenmeyen reaksiyonları bastırmak için bağışıklık tepkisinin manipülasyonu, otoimmünite, alerji veya greft reddi gibi durumlarda arzu edilir. Koruyucu süreçleri uyarmak için bulaşıcı hastalık durumunda da gereklidir. Bu hedeflere ulaşmak için stratejiler topluca konak yanıtının modülasyonu olarak adlandırılır ve tedavide yeni bir kavram sağlar (89, 90). Bu yaklaşımın arkasındaki mantık, konağa doğal savunma mekanizmalarını destekleyerek bulaşıcı ajanlara karşı mücadelesinde yardımcı olmak veya inflamatuvar sistemlerin seyrini değiştirerek yanıtını değiştirmektir. Enfeksiyona

karşı diğler silahlarla karşılaştırıldığında, konak yanıt modülasyonu potansiyel olarak daha az yan etkiye sahiptir, invaziv değildir ve karmaşık uygulama yöntemleri gerektirmez (91, 92).

Hastalık durumunda konak sistemin kendisi, hasar almadan dengeye gelmek için belki de en iyi sistemdir; ilaç veya benzeri şeyler alarak değilde, konakçı bağışıklık tepkisini doğal yollarla güçlendirerek, yani sağlıklı bir yaşam tarzı ile (ör. sigara içmemek, yeterli diyet öncülleri, antioksidan vitaminler, uygun vücut ağırlığını korumak vb.) bağışıklık sistemini geliştirerek mümkün olabileceği düşünülmektedir (93).

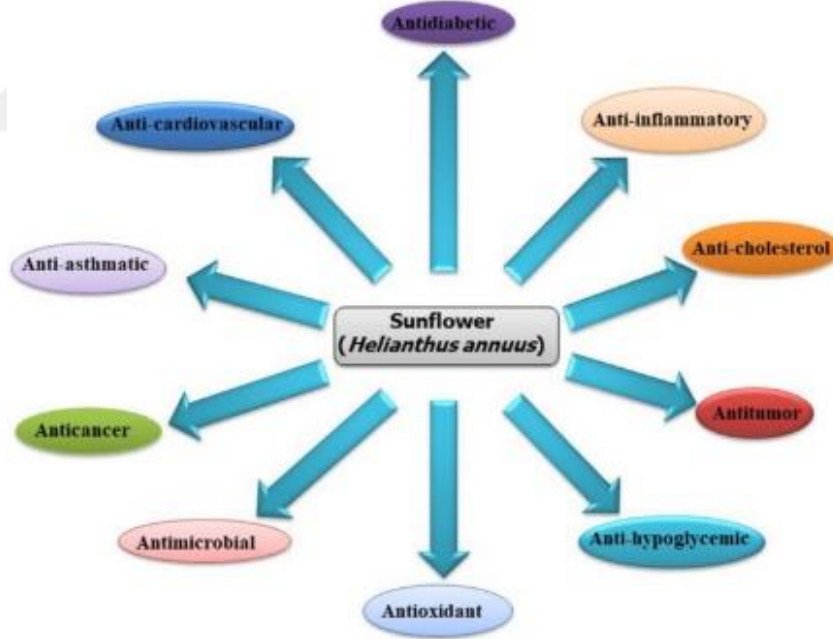
### **3.1.5. Konak Modülasyon Ajanları**

#### **3.1.5.1. Bitkisel Yağ**

Bitkisel yağlar, çeşitli doymuş ve doymamış yağ asitleri, fosfatidler, pigmentler, steroller ve tokoferollerin karmaşık bir karışımıdır. Doymuş ila doymamış yağ asitlerinin oranı insan beslenmesi için zorunludur. Katı ve sıvı yağlar normal günlük tüketimin bir parçasıdır. Bitkisel yağlar önemli bir enerji kaynağıdır ve insan beslenmesinde önemli yere sahiptirler. Geleneksel tıpta; bronşit, ödem, soğuk algınlığı, öksürük ve yanıkların tedavisinde kullanılan yenilebilir yağlar, vücutta sentezlenmeyen esansiyel yağ asitlerinin taşıyıcısı olarak önemli bir rol oynar ancak hücre zarlarının bütünlüğünü koruyabilmek amacıyla sentez için de gereklidirler (94).

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) yağı, dünyanın en önemli beş bitkisel yağ ürünü arasındadır.  $\Omega$  (omega) -3'ün  $\Omega$ -6 yağ asidine oranı, kardiyovasküler, kalp ve diğler sağlık avantajları için kritik öneme sahiptir (94, 95). Ayçiçek yağı, tohumlardan fiziksel veya kimyasal ekstraksiyon ile elde edilir. Ayçiçek yağı PUFA (Çoklu

doymamış yağ asitleri), linoleik asit (C18:2) (%48,3–74,0) bakımından ve MUFA (tekli doymamış yağ asitleri), oleik asit (C18:1) (%14,0–39,4) bakımından yüksektir. Ayçiçek yağı, yüksek konsantrasyonda PUFA'ların yanı sıra nispeten yüksek E vitamini ve fitosterol seviyelerinin varlığı nedeniyle çok değerlidir. Biyoaktif seskiterpen laktonlar (en büyük bitki sekonder metabolit sınıflarından birisidir) bunların varlığı ayçiçek yağında da gösterilmektedir ve antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal özelliklerine ek olarak, antiprotozoal etkisi ile özel ilgi çekmişlerdir (95). Ayçiçeği, olumlu sağlık etkilerinden dolayı fonksiyonel bir gıda veya nutrasötik olarak kabul edilmiştir, ancak tam potansiyeli henüz bilinmemektedir. Ayçiçeğinin farmakolojik çalışmalarda çeşitli hastalıklar için iyileştirici özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (Şekil: 5) (96).



Şekil 5. Ayçiçek yağının farmakolojik ve sağlık yararları (96).

### 3.1.5.1.1. Bitkisel Yağ ve Ağız Sağlığına Etkisi

Genel sağlık yapısı üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra, diş çürümesini, diş eti kanamasını ve ağız kokusunu önlemek için geleneksel bir yöntem olan yağ ile

çalkalama önerilmektedir (97-102). Hastalar tekrar tekrar ağız dokuları üzerinde olumlu bir etki tanımladılar ve bu fenomen için henüz net bir bilimsel açıklama olmamasına rağmen, birçok popüler bilimsel kaynak, prosedürü ağız hijyeninin günlük bir takviyesi olarak tanıtıyor. Yemeklik yağların koruyucu diş hekimliğinde etkileri konusunda çok sayıda araştırma bulgusu olması beklenebilirdi, ancak yalnızca birkaç bilimsel çalışma var. Ağırlıklı olarak doğal kozmetikler alanındaki bazı ağız bakım müstahzarları, içerik olarak "ağız yağından" diş macununa veya tükürük ikamelerine kadar değişen bitkisel yağlar içerir (103). Bitkisel yağların etkinliğine ilişkin önceki bulgular ve literatür tartışmalı olduğundan ve daha fazla araştırma gerektirdiğinden, dağılımlarının daha çok ampirik bir uygulamaya dayandığını belirtmek önemlidir. Bununla birlikte, birkaç çalışma, bitkisel yağların oral biyofilm birikimini engelleme ve alveol kemiği ve yumuşak doku üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olma potansiyelini bilimsel olarak kanıtlamaya çalışmaktadır (100, 101, 104, 105).

### **3.1.5.2. Probiyotikler**

Probiyotik terimi, "yaşam için" anlamına gelen Latince'den türetilmiştir. Probiyotikler patojenik olmayan, faydalı, canlı bakteri ve mayalardır. En yaygın kullanılan probiyotikler *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Saccharomyces boulardii*'dir. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* zorunlu fakültatif anaeroblar olan Gram pozitif çubuklardır ve *S. boulardii* bir mayadır (106).

Probiyotikler, yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanır ve tarihi, insanların sağlıkları için fermente süt içtikleri yüzyıllar öncesine dayanmaktadır. 1899'da Paris'teki Pauster Enstitüsü'nden Henry Tessler tarafından, emzirilen bebeklerin bağırsaklarında bebeklerin daha az ishal atakları geçirmesine sebep olan probiyotiklerden birisi olan

bifidobakterileri keşfetmiştir. 1907'de probiyotiklerin sağlık yararı için kullanılması fikrini ilk öneren Eli Metchnikoff çalışmalarında ağız yoluyla alınan laktobasil'lerin, patojen bakterilerin yerini aldığını ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösterip, yaşam süresini uzattığını belirtmiştir (107-109).

Lactobacillusların, en dikkat çekenleri *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *L. reuteri* ve *L. casei* içeren birkaç ayrı tür içerir. Benzer şekilde probiyotiklerde en yaygın olarak kullanılan *Bifidobacterium* türleri arasında *B. Animalis*, *B. infantis*, *B. lactis* ve *B. longum* bulunur (108).

#### **3.1.5.2.1. Probiyotikler ve Ağız Sağlığına Etkisi**

Probiyotikler, uygun dozlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizma kültürleri olarak tanımlanır ve periodontal tedaviye ek olarak kullanımları da araştırılmıştır; henüz tam olarak aydınlatılmayan mekanizmalar yoluyla hem antimikrobiyal hem de immünomodülatör etkileri kanıtlandığı bildirilmiştir (106, 110).

Farklı probiyotik kültürlerin, oral mikrobiyomun sağlıklı bir durumla uyumlu, ancak yalnızca tedavi sırasında etkili olacak şekilde homeostazını geri kazandırdığı gösterilmiştir (111). Probiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi, değiştirilmiş mikrobiyal sinyalleşmeyi ve konağın müteakip bağışıklık tepkisini içerir. Laktobasillerin periodontopatojenlere karşı inflamatuvar yanıtı modüle ettiği gösterilmiştir (112). Bir dizi çalışmada, *Lactobacillus* türlerinin *P. gingivalis*'e karşı inflamatuvar yanıtı aracılık ederek IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir (113).

Probiyotiklerin, deneysel olarak indüklenmiş periodontitisli farelerde alveolar kemik kaybını azalttığı bildirilmiştir (114). Spesifik olarak, *B. subtilis* (CH201) ile

probiyotik takviyesi sadece kemik kaybını değil, aynı zamanda ataşman kaybını da azalttığı bildirilmiştir (115).

### **3.1.5.3. Propolis**

Propolis genel olarak “arı tutkalı” olarak bilinir ve arıların farklı bitki türlerinden biriktirdiği reçineli maddeye verilen genel bir isimdir. “Propolis” kelimesi Yunanca “pro” savunma ve “polis” şehir veya topluluk anlamına gelir (116). Propolis hücre duvarını sertleştirir ve aseptik bir iç ortama katkıda bulunur (117). Propolis ve özleri, antiseptik, antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antimikotik, antifungal, antiülser, antikanser ve immünomodülatör özellikleri nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisinde çok sayıda uygulamaya sahiptir. Esas olarak reçine (%50), mum (%30), uçucu yağlar (%10), polen (%5) ve diğer organik bileşiklerden (%5) oluşur (118). Fenolik bileşikler, esterler, flavonoidler, terpenler, beta-steroidler, aromatik aldehytler ve alkoller propoliste bulunan önemli organik bileşiklerdir (119). İçerisinde on iki farklı flavonoid (pinocembrin, acacetin, chrysin, rutin, luteolin, kaempferol, apigenin, mirisetin, kateşin, naringenin, galangin ve kersetin), iki fenolik asit (kafeik asit ve sinamik asit) ve stilben türevi (resveratrol) bulunmaktadır (120). Propolis ayrıca B1, B2, B6, C ve E vitaminleri gibi önemli vitaminleri ve magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), potasyum (K), sodyum (Na), bakır (Cu), çinko gibi faydalı mineralleri de içerir. (Zn), manganez (Mn) ve demir (Fe). Süksinik dehidrojenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz gibi birkaç enzim de propoliste mevcuttur (121).

Birçok çalışmada gastrointestinal bozukluklar, jinokolojik rahatsızlıklar, ağız sağlığı, onkolojik rahatsızlıklar ve dermatolojik rahatsızlıklarda propolisin sağlığa faydaları olduğu bildirilmiştir (122).

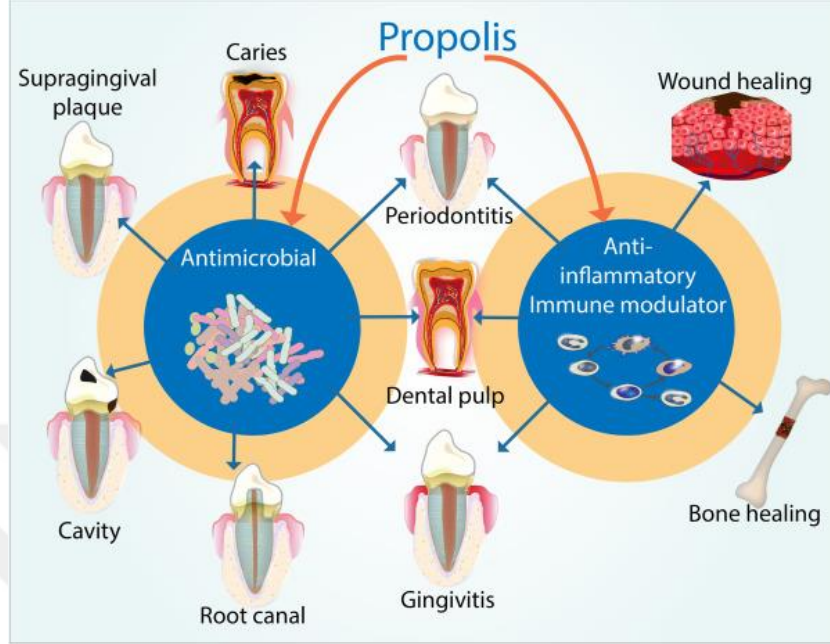
### 3.1.5.3.1. Propolisin Ağız Sağlığına Etkisi

Çalışmalar, propolisin antibakteriyel özelliklerinden dolayı bakteriyel plak gelişimini ve periodontitise neden olan patojenleri kısıtlayabileceğini göstermiştir (123). Propolis solüsyonları, klorheksidine kıyasla insan dişeti fibroblastları üzerinde seçici olarak daha düşük sitotoksik etki gösterir. Bunun yanı sıra propolis içeren gargaraların cerrahi yaraların iyileşmesinde etkili olduğu görülmüştür. Bu, gargara olarak kullanılan solüsyonlarda propolis kullanımını teşvik etmektedir (124). Propolis solüsyonu diş fırçalarını dezenfekte etmek için de kullanılabilir (125). Ayrıca, diş macunu jelinin %3'lük etanolik özü, bir grup hastada diş plağının neden olduğu diş eti iltihabına karşı daha fazla etki göstermiştir (126).

Bretz ve arkadaşları propolis ve kalsiyum hidroksitin ratlarda diş pulpasının yara iyileşmesi üzerindeki etkisini karşılaştırmıştır ve çalışmanın sonucunda propolisin, inflamatuvar reaksiyonlar, bakteriyel kontaminasyon, fibroblast varlığı ve onarıcı dentin oluşumu açısından üstün olduğunu bildirmişlerdir (127). Propolisin, kollajen miktarını, türünü ve yoğunluğunu artırarak oral ülserlerde ve diş pulpasında yara iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir (128, 129). Propolis ayrıca iyileşmenin inflamatuvar fazında mast hücrelerinin üretimini de azaltmıştır (130).

Propolis, ratlarda periodontitis ile ilişkili alveolar kemik kaybını önemli ölçüde azaltmıştır (131, 132). Ek olarak, propolis ve propolis türevli bileşiklerin, travmatik diş yaralanmaları ile ilişkili kemik rezorpsiyonunun tedavisinde potansiyel olarak yararlı olan RANKL ile ilgili sinyal yollarının reseptör aktivatörünü düzenleyerek osteoklastogenezi ve kemik emilimini engellediği gösterilmiştir (133, 134). Propolis ve ilişkili fenolikleri, çeşitli mekanizmalar yoluyla kemik emilimini azaltmıştır.

Propolis, yeni osteoklastların oluşumunu ve olgunlaşmasını (aktin halkalarının oluşumu) doğrudan engelleyerek osteoklastogenezi azaltmıştır (131, 132, 135).



Şekil 6. Diş hekimliğinde propolisin potensiyel kullanımının özeti

Propolisin çürük, supragingival plak, diş eti iltihabı ve periodontitis tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Propolis ayrıca kavite, kanal içi, kök kanalı ve pulpa medikamenti olarak da etkilidir. Propolis, yara iyileşmesini hızlandırmada ve kemik erimesini önlemede de faydalıdır (136).

#### 3.1.5.4. E Vitamini (dl- $\alpha$ -tokoferol)

Vitaminler vücutta üretimi sağlanamayan dışarıdan takviye olarak aldığımız ve organizmanın canlılığını sürdürmesi için gerekli olan besinler aracılığı ile vücuda alınır. 1925 yılında Bishop ve Evans adlı çalışmacılar farelerin üremelerine destek olan farklı bir maddeden bahsetmişlerdir. Bahsedilen bu madde vitamin D'den sonra bulunduğu için alfabetik sıraya göre vitamin E olarak adlandırılmıştır (137).

E vitamininin iki ana türdeşi vardır, her biri dört farklı analoge (alfa, beta, gama ve delta) sahip tokoferoller ve tokotrienollerdir (138). E vitamini türdeşlerinden  $\alpha$ -tokoferol, memeli dokusunda ve serumunda en yaygın türdeştir ve en yüksek

biyoaktiviteye sahiptir. E vitamini (esas olarak  $\alpha$ -tokoferol), hastalıkların önlenmesi için bir takviye olarak yaygın kullanılmaktadır ve çeşitli çalışmalar, insan sağlığını iyileştirmede E vitamini takviyesinin faydalı etkisini göstermiştir (139). E vitamini, lipid peroksidasyonunu ve inflamasyonu inhibe eder, iskemik ve hipoksik dokuları korur ve immüno-uyarıcı olan bir serbest radikal temizleyici olarak işlev görür (133).

#### **3.1.5.4.1. E Vitamini ve Ağız Sağlığına Etkisi**

E vitamininin gingivektomi yapılan dişlerde yara alanının iyileşmesi üzerindeki incelendiği bir çalışmada E vitamininin yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir. Yara iyileşmesi özellikle 2 ila 7 gün arasında kayda değer bulunmuştur ve klinik olarak olduğu kadar mikroskopik olarak da gözlemlenmiştir. E vitamininin yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizması bilinmemesine rağmen, son araştırmalara dayanarak bağışıklık sisteminin güçlendirdiği varsayılmaktadır (140-144).

Besin takviyesi olarak E vitamininin sistemik uygulamasının, pulpa dokusunun iyileşme tepkisini araştırmak için planlanan bir çalışmada kontrol grubu ve E vitamini verilen deney grubunda pulpa reaksiyonları, 1 ve 3 gün sonra nispeten benzer bulunmuştur. 1, 2 ve 4 haftalık takiplerde ise E vitamini takviyesi yapılan hayvanların pulpa reaksiyonları, pulpa dokularının düzenli görünümü ve operasyon bölgelerine bitişik onarıcı dentin oluşum alanları ile iyileşme gösterdiği bildirilmiştir. E vitamini takviyesi yapılan hayvanların ayrıca daha az şiddetli pulpitis varlığı daha az şekilde ortaya çıkarken periapikal lezyon görülmemiştir (145).

## 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmanın tüm deneyleri Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 08.01.2021 tarihli ve 123 karar numaralı etik kurul izni ile yürütüldü. Deneysel aşamalar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde, analiz aşamaları Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

### 4.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Dizaynı

Bu çalışmada 79 adet 0.5-1 yaş aralığında Spraque Dawley cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi. Deney hayvanlarının tümü deney süresince 22-24 °C ortam koşullarında yem ve su kısıtlamasının olmadığı polietilen kafeslerde özel havalandırma sistemi bulunan odalarda barındırıldı. Denekler rastgele 7 gruba ayrıldı.

**1. Kontrol Grubu (K) (n=7):** Bu gruptaki denklere 30 gün boyunca ad libitum dışında hiçbir işlem yapılmadı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**2. Apikal Periodontitis Grubu (AP) (n=12):** Bu gruptaki denklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu (pulpa ekspozu yolu ile) sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında hiçbir işlem yapılmadı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**3. Apikal Periodontitis ve Bitkisel Yağ Grubu (AP + BY) (n=12):** Bu gruptaki denklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında bitkisel yağ gavaj

şeklinde uygulandı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**4. Apikal Periodontitis ve Probiyotik Grubu (AP + PBTK) (n=12):** Bu gruptaki deneklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında probiyotik gavaj şeklinde uygulandı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**5. Apikal Periodontitis ve Propolis Grubu (AP + PPS)(n=12):** Bu gruptaki deneklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında propolis gavaj şeklinde uygulandı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**6. Apikal Periodontitis ve E Vitamini Grubu (AP + E VİT) (n=12):** Bu gruptaki deneklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında E vitamini gavaj şeklinde uygulandı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı.

**7. Apikal Periodontitis ve Serum Fizyolojik Grubu (AP + SF) (n=12):** Bu gruptaki deneklere çalışmanın 0. günü sağ mandibular birinci azı dişine apikal periodontitis indüksiyonu sonrası 30 gün boyunca ad libitum dışında serum fizyolojik gavaj şeklinde uygulandı. 30 günlük düzenek sonunda deneklerden kan örnekleri alındı sonrasında sakrifiye edildi ve sağ mandibular kemiği alındı. 30 gün boyunca deney hayvanlarının sağlık durumları (davranış, vücut ağırlığı, deri ve saç değişiklikleri, yiyecek ve su tüketimi, idrar ve dışkılama) günlük olarak kontrol edildi.

#### 4.2. Deneysel Periapikal Lezyon Oluşturulması

Negatif kontrol grubu hariç diğer gruplardaki 72 ratın anestezi dozu hesaplarının yapılması için canlı ağırlıkları ölçüldü. Deneklere 0. günde ketamin (5 mg/kg, Ketamol % 10, Richter pharma, Avusturya) ve ksilazin (45 mg/kg, Rompun %2 BAYER, Brezilya) ile kas içinden anestezi uygulandı. Anestezinin derinliği parmak sıkıştırma testi ile kontrol edildi. Çalışmadaki negatif kontrol grubu dışındaki tüm deneklerin sağ mandibular birinci azı dişlerinde, taşınabilir bir düzenek yardımı ile 0.5 mm çapında rond karbür frez (Jet Karbür ¼; Kavo Kerr Grubu, Orange, CA, ABD) ile oklüzal yüzeyinde kavite hazırlandı. Hazırlanan kavite ile koronal pulpa açığa çıkarıldı, 10 numaralı K (Dega-Videya, Guangdong, Çin) eğe ile düzensiz hale getirildi ve 30 gün boyunca ağız boşluğuna açık tutuldu.



Şekil 7. Apikal periodontitis indüksiyonu ve koronal pulpa açıklığının sağlanması

### 4.3. Besin Takviyelerinin Hazırlanması ve Uygulanması

#### Bitkisel Yağ

Ayçiçek yağı (SOLE Ayçiçek yağı- Tekirdağ/ Türkiye) 0.5 ml olacak şekilde günlük olarak oral gavaj yapıldı. İlk 1 ml olarak düşünülmesine rağmen ishal yapıcı etki ile karşılaşmamak adına 0.5 ml olarak uygulama yapılmıştır.



Şekil 8. Bitkisel yağ gavaj

#### Serum Fizyolojik

Serum fizyolojik (Pro-fleks % 0.9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisi) 1 ml olacak şekilde günlük olarak gavaj yapıldı.



Şekil 9. Serum fizyolojik gavaj

### **Probiyotik**

Probiyotik olarak,  $10^9$  CFU L.rhamnosus (MAFLOR Damla, Mamsel, Danimarka) 1 ml olacak şekilde oral gavaj ile günlük olarak (30 gün boyunca) hayvanlara uygulandı.



**Şekil 10.** Probiyotik gavaj

### **Propolis**

100 mg / kg propolis (Fanus Organik Su Bazlı Propolis / Trabzon-Türkiye) 1 ml olacak şekilde hazırlandı ardından homojenlik elde etmek için vortekslendi ve günlük olarak oral gavaj yapıldı.



**Şekil 11.** Propolis gavaj

## **E Vitamini**

Toz halde bulunan 60 mg/kg dl-a-tokoferol asetat (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) hassas terazide tartıldı serum fizyolojik eklenerek vorteks cihazında çözdürüldü. Çözdürülmüş E vitaminden 1 ml olacak şekilde ve günde 1 kez oral gavaj olarak verildi.



**Şekil 12.** E vitamini gavaj

### **4.4. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi ve Sakrifikasyon**

Deneyin son günü 45 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazinin kas içi verilmesi ile anestezi sağlandıktan sonra 10 cc'lik enjektörler ile intrakardiyak kan alma işlemi yapıldı. Alınan kan örnekleri pıhtı aktivatörü bulunan vakumlu tüplere aktarıldı daha sonra 10 dk boyunca 3000 devirde santrifüj (NF 200, Nüve, Türkiye) işlemi yapıldı. Santrifüj edilen kan örneklerinin serumları eppendorflara alındı ve analiz gününe kadar -80 °C de saklandı.

### **4.5. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Deneklerin histokimyasal ve immünohistokimyasal analizlerinin yapılması için kafatasının yumşak doku diseksiyonu yapılarak sağ alt mandibular kemikleri

alındı. Daha sonrasında analizler yapılana kadar örnekler % 10'luk formaldehit içeren steril kaplara yerleştirildi.

#### **4.6 Biyokimyasal Analiz**

Deneklerden alınan serum örneklerinden fosfor (P), kalsiyum (Ca), alkalen fosfotaz (ALP) değerlerine otoanalizör cihazında (Advia 2400 Siemens) bakıldı ve biyokimyasal analizler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapıldı.

#### **4.7. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz**

Alınan dokular %10'luk formaldehitte fikse edildikten sonra %10'luk formik asit (OSTEOFASST 1, BIOGNOST® Zagreb, Hırvatistan) içinde 72 saat bekletilerek dekalsifikasyonları sağlandı. Örnekler rutin takip işleminden sonra parafin bloklara gömülüp sagittal düzlemde 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler etüvde 65°C de deparafinize edildikten sonra ksilol ve alkolde bekletildi, ardından suda yıkanarak boyama işlemine geçildi. Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama tekniği kullanılarak boyanan kesitler ışık mikroskobu (DM 4000 B; Leica, Wetzlar, Almanya) altında incelenerek fotoğraflandı. Sağ birinci mandibular moların periapikal bölgesinin durumunu kontrol etmek için hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde, inflamasyon, osteoklastik ve osteoblastik aktivite, fibrozis, anjiogenez ve apse yoğunlukları 0-3 arasında semikantitatif olarak skorlandı ve değerlendirildi (146-149).

**Osteoblast hücrelerinin skorlaması:**

skor=0 (osteoblast hücresi yok)  
skor=1 (osteoblastlar hafif yoğunlukta)  
skor=2 (osteoblastlar orta yoğunlukta)  
skor=3 (osteoblastlar yoğun olarak görülmekte)

**Osteoklast hücrelerinin skorlaması:**

skor=0 (osteoklast hücresi yok)  
skor=1 (osteoklastlar hafif yoğunlukta)  
skor=2 (osteoklastlar orta yoğunlukta)  
skor=3 (osteoklastlar yoğun olarak görülmekte).

**İnflamasyon skorlaması:**

skor=0 (inflamatuar hücre, yok)  
skor=1 (hafif yoğunlukta inflamatuar hücre)

skor=2 (orta yoğunlukta inflamatuar hücre)

skor=3 (şiddetli yoğunlukta inflamatuar hücre).

**Fibrozis skorlaması:**

skor=0 (yok)  
skor=1 (hafif yoğunlukta)  
skor=2 (orta yoğunlukta)  
skor=3 (şiddetli yoğunlukta)

**Anjiogenez skorlaması:**

Skor=0 (yok)  
skor=1 (hafif yoğunlukta)  
skor=2 (orta yoğunlukta)  
skor=3 (şiddetli yoğunlukta).

**Apse skorlaması:**

skor=0 (yok)  
skor=1 (hafif yoğunlukta)  
skor=2 (orta yoğunlukta)  
skor=3 (şiddetli yoğunlukta)

Parafinden arındırılmış doku kesitleri Ventana XT otomatik boyama cihazında 1/200 seyreltilmiş primer antikolar OPG (Anti-OPG/Osteoprotegerin Antibody sc-390518, Santa Cruz Biotechnology, Oregon, USA), RANKL (RANKL (G-1): sc-377079, Santa Cruz Biotechnology, Oregon, USA) ve TRAP (Tartrate-direnli asit fosfataz)(201r-5205,Sunredbio(SRB) Technology, Şanghay, Çin) ile boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (Olympus, BX53-Japonya) ile incelendi. İncelemede görülen osteoblast ve osteoklast yoğunluğu esas alınarak skorlama yapıldı.

Yoğunluk 0: yok, +1: hafif, +2: orta, +3: şiddetli yoğunlukta olacak şekilde semi-kantitatif olarak skorlandı (14).

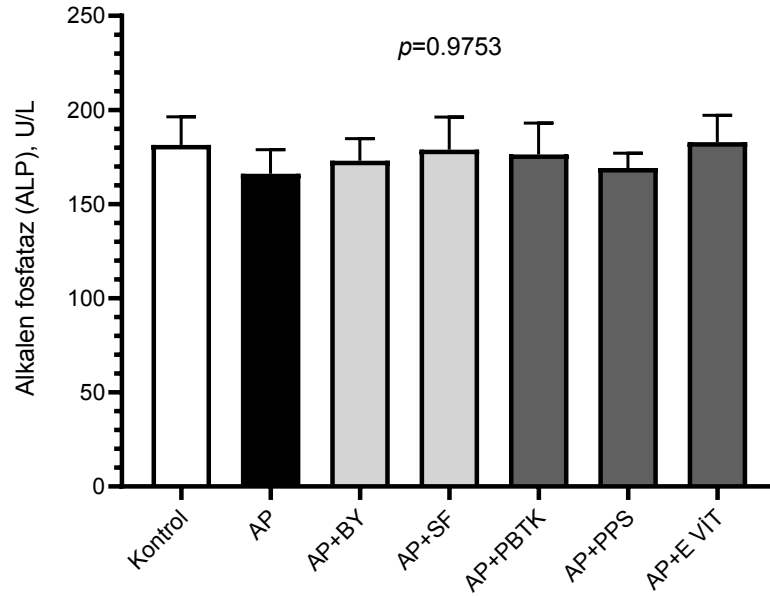
#### 4.8. İstatiksel Analizler

Çalışmada örneklem sayısı, alfa hata 0.05 ve %95 güçte G\*Power paket programı yardımı ile kontrol grubunda 7 (n=7) ve uygulama gruplarında 72 (n=12) toplamda 79 adet rat olacak şekilde belirlendi (150). Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik paket programı (IBM SPSS Versiyon 22.0) kullanıldı (151). Çalışmada, kan parametrelerinin analizinde veriler için parametrik testlerin ön şartlarından normallik varsayımına uygunluk “Shapiro-Wilk” testi ile varyansların homojenliği ise “Levene” testi ile kontrol edildi. Gruplar arası farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve grupların ikili karşılaştırmalarında *post-hoc* analizi olarak “Tukey” testi kullanıldı. Veriler gruplar için ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Histo-patolojik ve immuno-histokimyasal olarak skorlanan parametrelerin yüzde karşılaştırılmasında Pearson ki-kare ve/veya Fisher Exact ki-kare testleri kullanıldı. Veriler frekans ve yüzde olarak sunuldu. Skorlamaların rakamsal karşılaştırmaları için Kruskal Wallis ve Dunn testi kullanıldı İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak kabul edildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Biyokimyasal Bulgular

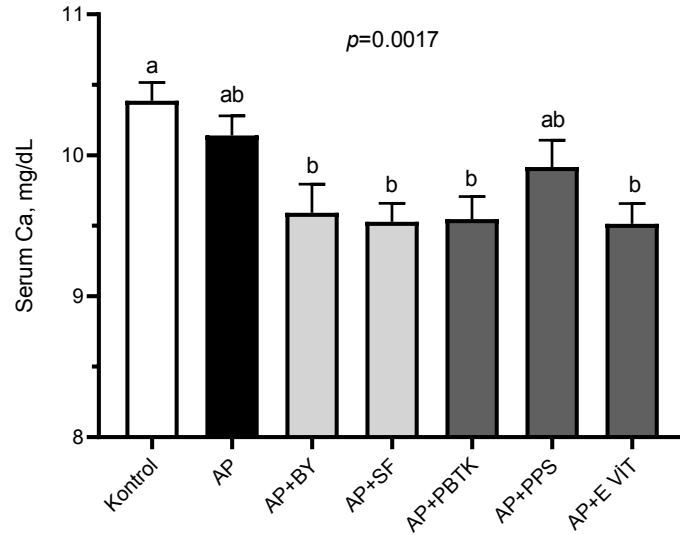
Deneyisel apikal periodontitis oluşturulan ratlarda bitkisel yağ, propolis, probiyotik (*Laktobasillus rhamnosus*) ve E vitamini (dl- $\alpha$ -tokoferol) besin takviyelerinin serum alkale fosfat (ALP), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) düzeyleri incelendi. Apikal periodontitis oluşturulan ratlarda uygulanan besin takviyelerinin serum ALP üzerine herhangi bir değişiklik oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 13;  $p>0.05$ ). Ratlarda ortalama serum ALP düzeyleri  $175,2\pm 41,3$  U/L olarak belirlendi. En düşük serum ALP düzeyi besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubu ratlarda  $166,1\pm 42,6$  U/L olarak ölçülürken, en yüksek değer  $182,9\pm 45,3$  U/L ile E vitamini uygulanan ratlarda tespit edilmesine karşın istatistiksel bir fark belirlenmedi (Şekil 13;  $p>0.05$ ).



Veriler her bir grup için bar grafiklerde ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arası farklılık Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmıştır ( $p<0.05$ ). AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

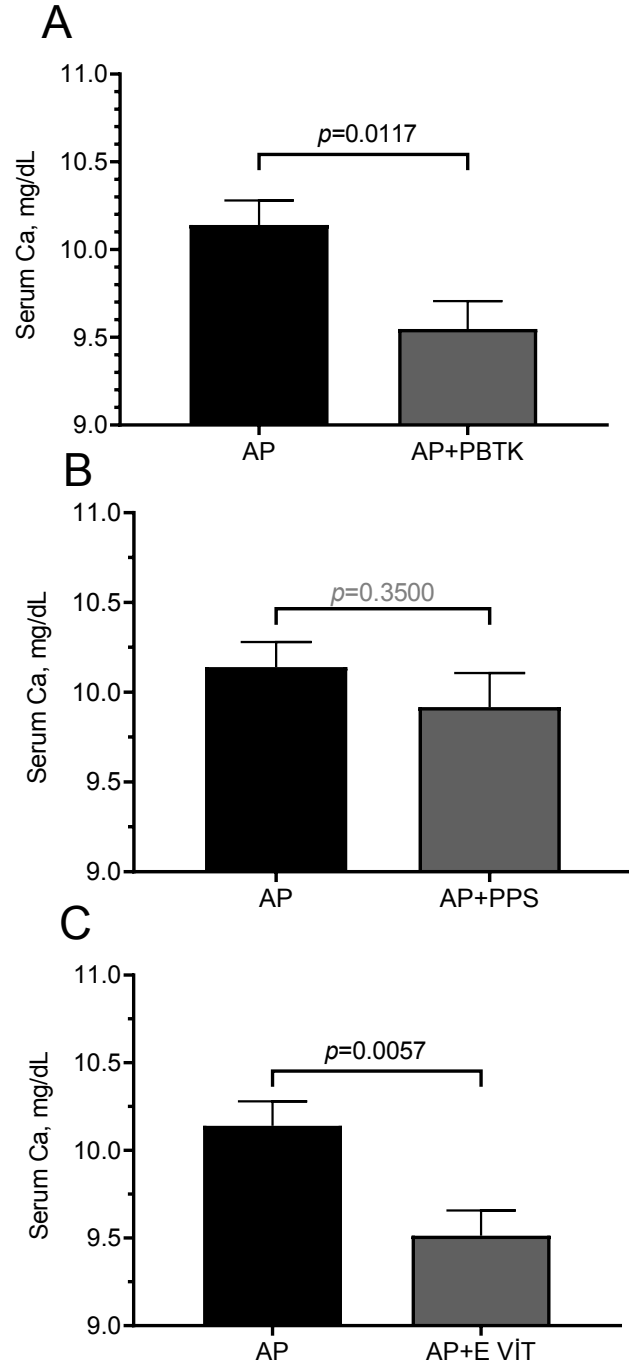
**Şekil 13.** Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum alkale fosfat değişimi.

Serum Ca düzeyleri deneysel apikal periodontitis oluşturulan ratlarda farklılık gösterdi (Şekil 14;  $p=0.0017$ ). Kontrol grubu, apikal periodontitis grubu, bitkisel yağ, serum fizyolojik, probiyotik, propolis ve E vitamini gruplarında serum Ca düzeyleri sırasıyla; 10.39, 10.14, 9.59, 9.53, 9.55, 9.92 ve 9.51, mg/dl olarak tespit edildi. Gruplar arası yapılan çoklu karşılaştırmalarda serum Ca düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitkisel yağ ( $p=0.031$ ), serum fizyolojik ( $p=0.022$ ), probiyotik ( $p=0.028$ ) ve E vitamini ( $p=0.015$ ) gruplarında daha düşük bulundu (Şekil 14). Apikal periodontitis grubu ile diğer gruplar arasında çoklu karşılaştırmalarda istatistiki bir fark tespit edilmezken ( $p>0.05$ ), apikal periodontitis grubu ile probiyotik ve E vitamini gruplarının yapılan ikili karşılaştırmalarda farklılık belirlendi (Şekil 15). Probiyotik uygulanan ratlarda serum Ca düzeyleri besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubuna kıyasla %5.8 oranında düşük bulundu (Şekil 15 Panel A;  $p=0.0117$ ). Serum Ca düzeyleri ratlarda, besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubuna göre propolis tedavisi ile değişmezken (Şekil 15 Panel B;  $p>0.05$ ), E vitamini tedavisi ile %6.2 oranında azaldı (Şekil 15 Panel C;  $p=0.0057$ ).



Veriler her bir grup için bar grafiklerde ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. <sup>a, b</sup> Farklı barlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası farklılık istatistiki olarak anlamlıdır. Gruplar arası farklılık Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve post hoc Tukey testi ile karşılaştırılmıştır ( $p<0.05$ ). AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus GG*; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

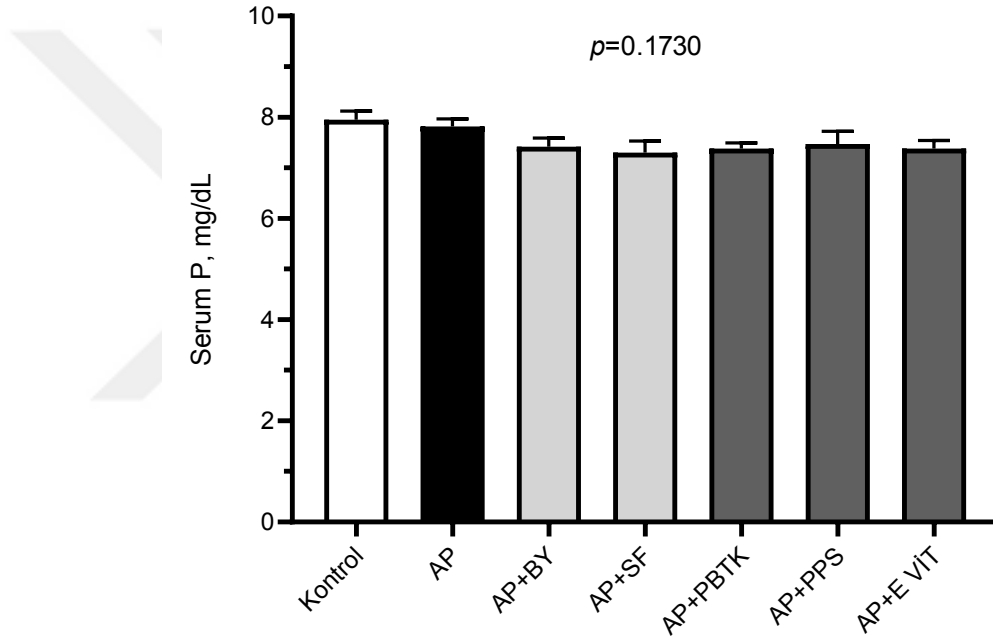
**Şekil 14.** Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum kalsiyum seviyelerinin değişimi.



Veriler her bir grup için bar grafiklerde ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arası farklılık bağımsız örneklerde T Testi (Student t test) ile karşılaştırılmıştır ( $p<0.05$ ). AP: Apikal Periodontitis; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus GG*; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

**Şekil 15.** Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, probiyotik (A), Propolis (B) ve E vitamini (C) besin takviyelerinin serum kalsiyum seviyeleri üzerine etkisi.

Deneysel apikal periodontitis oluşturulan ratlarda bitkisel yağ, propolis, probiyotik (*Laktobasillus rhamnosus*) ve E vitamini (dl- $\alpha$ -tokoferol) besin takviyelerinin serum P düzeyleri kontrol, apikal periodontitis grubu, bitkisel yağ, serum fizyolojik, probiyotik, propolis ve E vitamini gruplarında sırasıyla; 7.95, 7.82, 7.42, 7.30, 7.38, 7.47 ve 7.38 mg/dL olarak belirlendi. Apikal periodontitis oluşturulan ratlarda uygulanan besin takviyelerinin serum P düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi olmadığı görüldü (Şekil 16;  $p>0.05$ ).

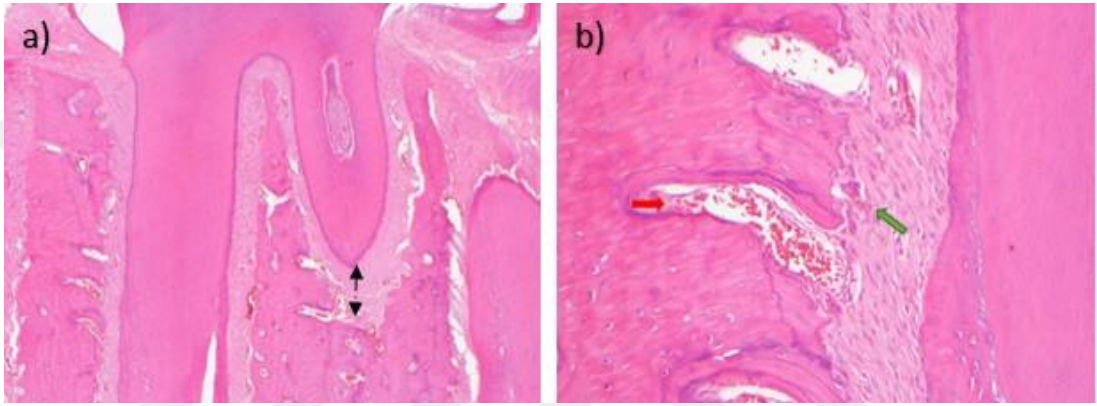


Veriler her bir grup için bar grafiklerde ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arası farklılık Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve post hoc Tukey testi ile karşılaştırılmıştır ( $p<0.05$ ). AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Laktobasillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

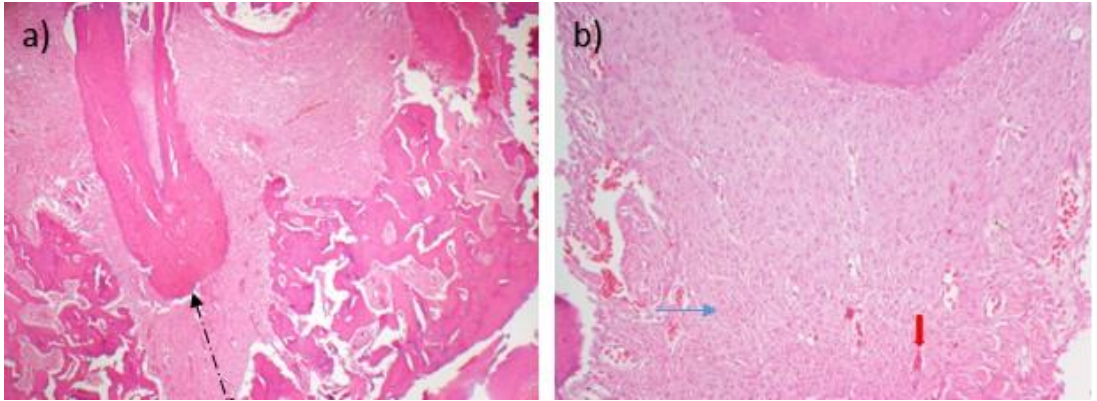
**Şekil 16.** Apikal periodontitis modeli oluşturulan ratlarda, serum P seviyelerinin değişimi.

## 5.2. Histopatolojik Bulgular

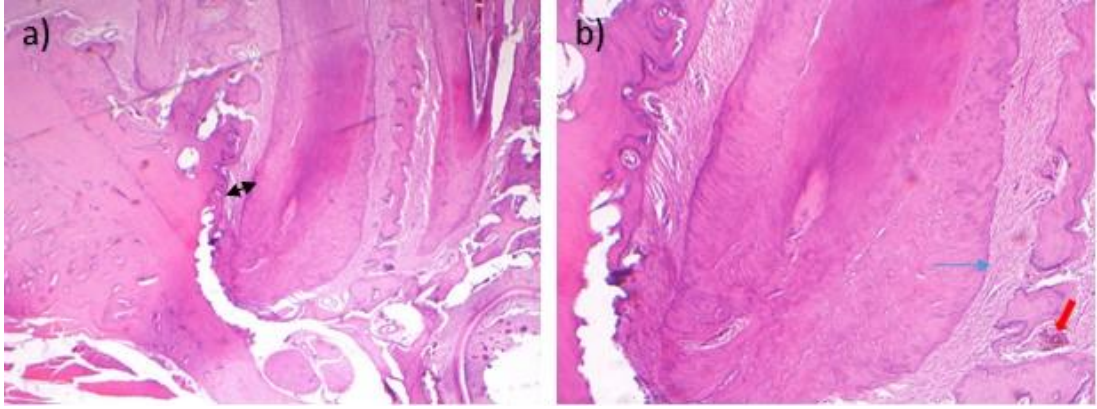
Ratlarda deneysel apikal periodonditis tedavisinde bitkisel yağ probiyotik, propolis ve E vitamini takviyelerinin histopatolojik olarak; osteoblastik aktivite ( $p=0.044$ ), osteoklastik aktivite ( $p=0.0456$ ), inflamasyon ( $p<0.0001$ ), fibrozis ( $p<0.0001$ ) ve anjiogenez ( $p<0.0148$ ) parametreleri üzerine farklı etkileri olduğu tespit edilirken, apse oluşumu üzerine bir etkinliği olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ).



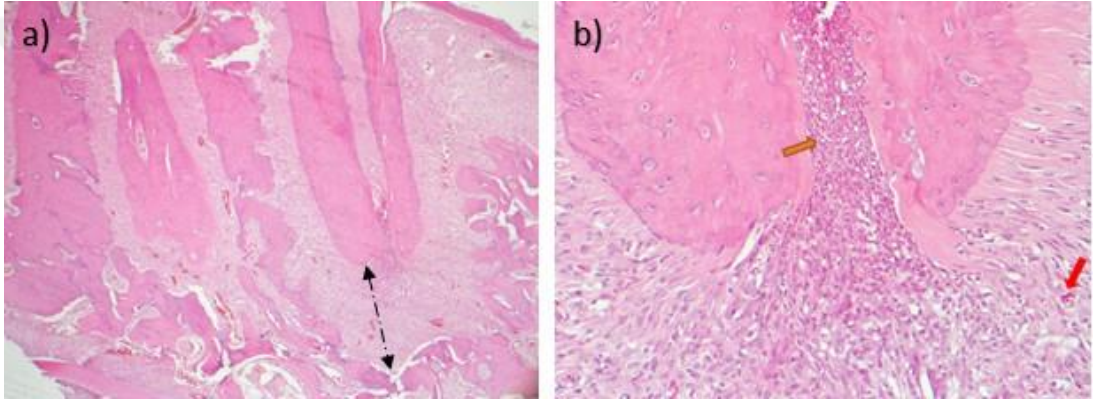
**Şekil 17.** Kontrol Grubu (K) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, yeşil ok; osteoklast



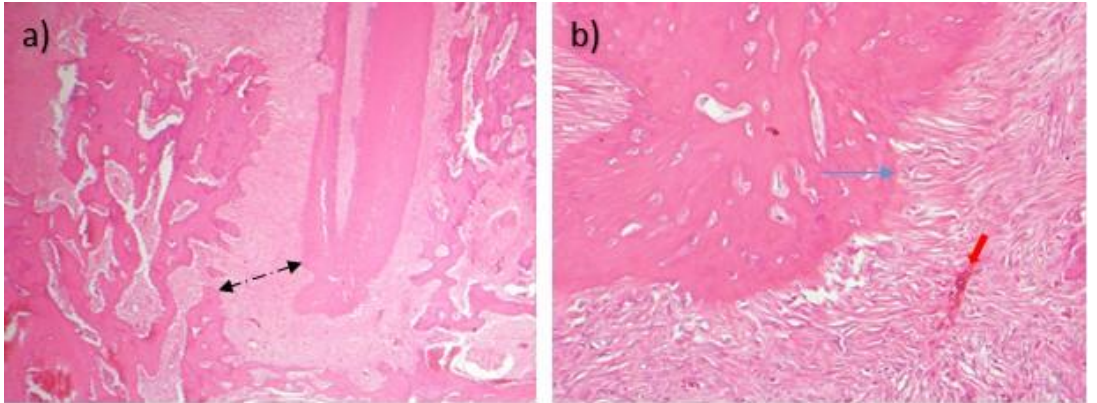
**Şekil 18.** Apikal Periodontitis Grubu (AP) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis



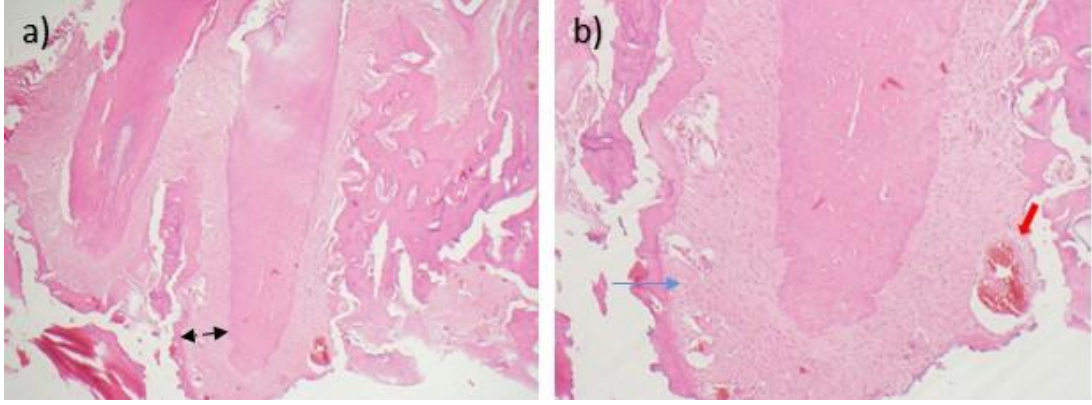
**Şekil 19.** Apikal Periodontitis ve Bitkisel Yağ (AP+BY) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis



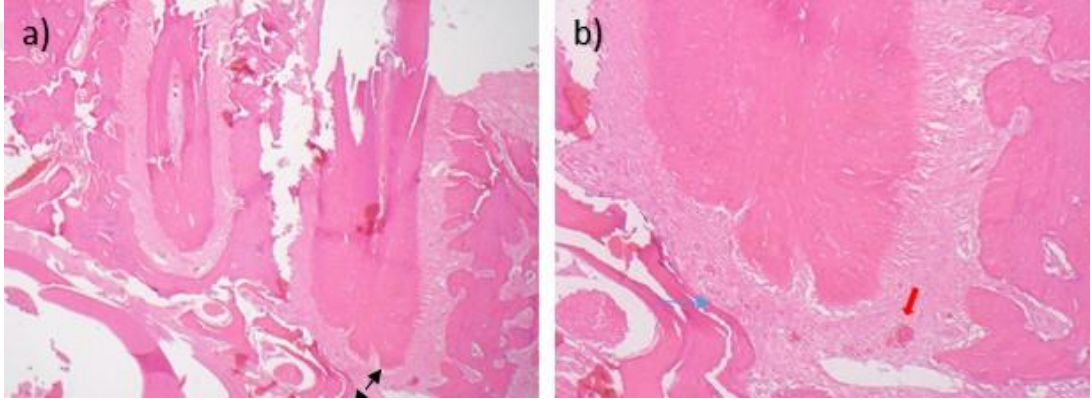
**Şekil 20.** Apikal Periodontitis ve Serum Fizyolojik (AP+SF) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, tutuncu ok; inflamasyon



**Şekil 21.** Apikal Periodontitis ve Probiyotik Grubu (AP+PBTk) H&E Boyama a) 40X Büyütme- Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülerizasyon, mavi ok; fibrozis



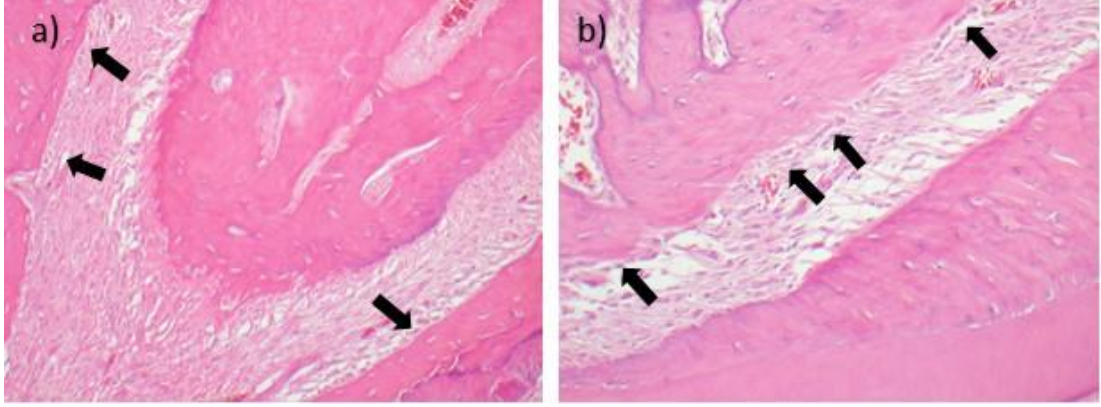
**Şekil 22.** Apikal Periodontitis ve Propolis Grubu (AP+PPS) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülarizasyon, mavi ok; fibrozis



**Şekil 23.** Apikal Periodontitis ve E Vitamini Grubu (AP+ EVİT) H&E Boyama a) 40X Büyütme-Siyah ok; fibrotik alan genişliği b) 200X Büyütme-Kırmızı ok; vaskülarizasyon, mavi ok; fibrozis

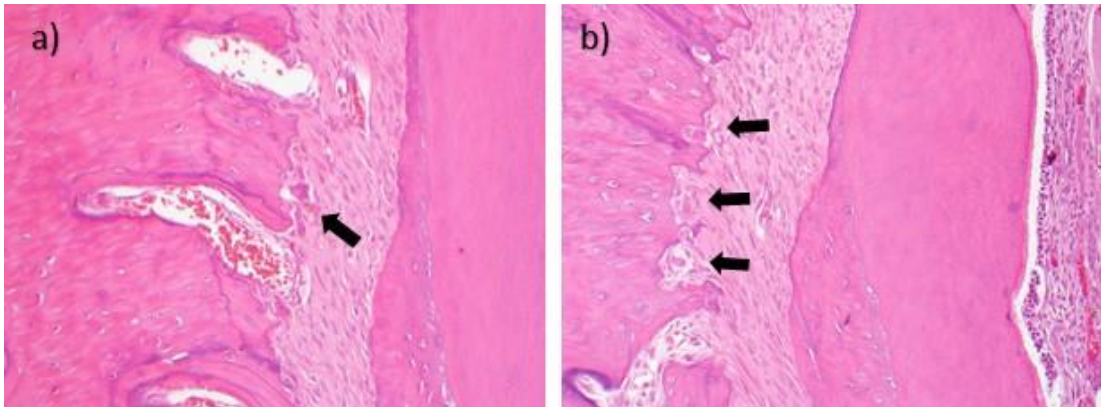
Histopatolojik olarak apikal periodontitis oluşturulan ratlarda osteoblastik aktivite gruplara göre farklılık gösterdi (**Tablo 1**;  $p=0.0440$ ;  $X^2=16.605$ ). Kontrol, apikal periodontitis grubu, bitkisel yağ, serum fizyolojik, probiyotik, propolis ve E vitamini gruplarında hafif ve orta osteoblastik aktivite oranları %85.7-%14.3, %66.7-%33.3, %91.7-%0.0, %100-%0.0, %91.7-%8.3, %100-%0.0 ve %75.0-%25.0 olarak belirlendi. Kontrol grubu, apikal periodontitis grubu ve E vitamini gruplarında orta düzey osteoblastik aktivite kısmen daha yüksek bulunurken, diğer gruplarda hafif osteoblastik aktivite tespit edildi. Ortalama osteoblastik aktivite en yüksek apikal periodontitis grubunda (1.33) tespit edilirken, bitkisel yağ (0.92), serum fizyolojik

(1.00) ve propolis grubu(1.00) ile istatistiki bir fark tespit edildi (Tablo 1;  $p=0.0366$ ). Sonraki en yüksek osteoblastik aktivite E vitamini (1.25) grubunda tespit edildi.



**Şekil 24.** a) Hafif yoğunlukta osteoblastik aktivite b) Orta yoğunlukta osteoblastik aktivite, H&E Boyama (200X)

Diş apikal bölümünde osteoklastik aktivite apikal periodontitis grubu ratlarda %75 hafif-%25 orta düzeyde belirlenirken, propolis ve E vitamini uygulanan ratlarda %100 hafif ve probiyotik uygulanan ratlarda ise %91.7 hafif - %8.3 orta şiddetli olarak skorlandı (Tablo 2;  $p=0.0456$ ;  $X^2=13.088$ ). Apikal periodonditisli ratlarda osteoklastik aktivitede sağlıklı kontrol grubundaki ratlara kıyasla %45.3 oranında bir artış tespit edilirken, bu artışın propolis ve E vitamini uygulaması ile azaldığı belirlendi (Tablo 2;  $p=0.0389$ ).



**Şekil 25.** a) Hafif yoğunlukta osteoklastik aktivite b) Orta yoğunlukta osteoklastik aktivite, H&E Boyama (200X)

**Tablo 1.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTk), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin osteoblastik aktivite üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
Osteoblastik aktivite	Yok	0/7 (%0.0)	0/12 (%0.0)	1/12 (%8.3)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	p=0.0440* X <sup>2</sup> =16.605
	Hafif	6/7 (%85.7)	8/12 (%66.7)	11/12 (%91.7)	12/12 (%100.0)	11/12 (%91.7)	12/12 (%100.0)	9/12 (%75.0)	
	Orta	1/7 (%14.3)	4/12 (%33.3)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	1/12 (%8.3)	0/12 (%0.0)	3/12 (%25.0)	
	Şiddetli	0/7 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	
	Medyan	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	p=0.0366**
	Ortalama	1.14 <sup>abc</sup>	1.33 <sup>a</sup>	0.92 <sup>c</sup>	1.00 <sup>bc</sup>	1.08 <sup>abc</sup>	1.00 <sup>bc</sup>	1.25 <sup>ab</sup>	

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır (p<0.05).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b,c</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır (p<0.05).

AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; EVİT: E vitamini.

**Tablo 2.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTK), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin osteoklastik aktivite üzerine etkisi.

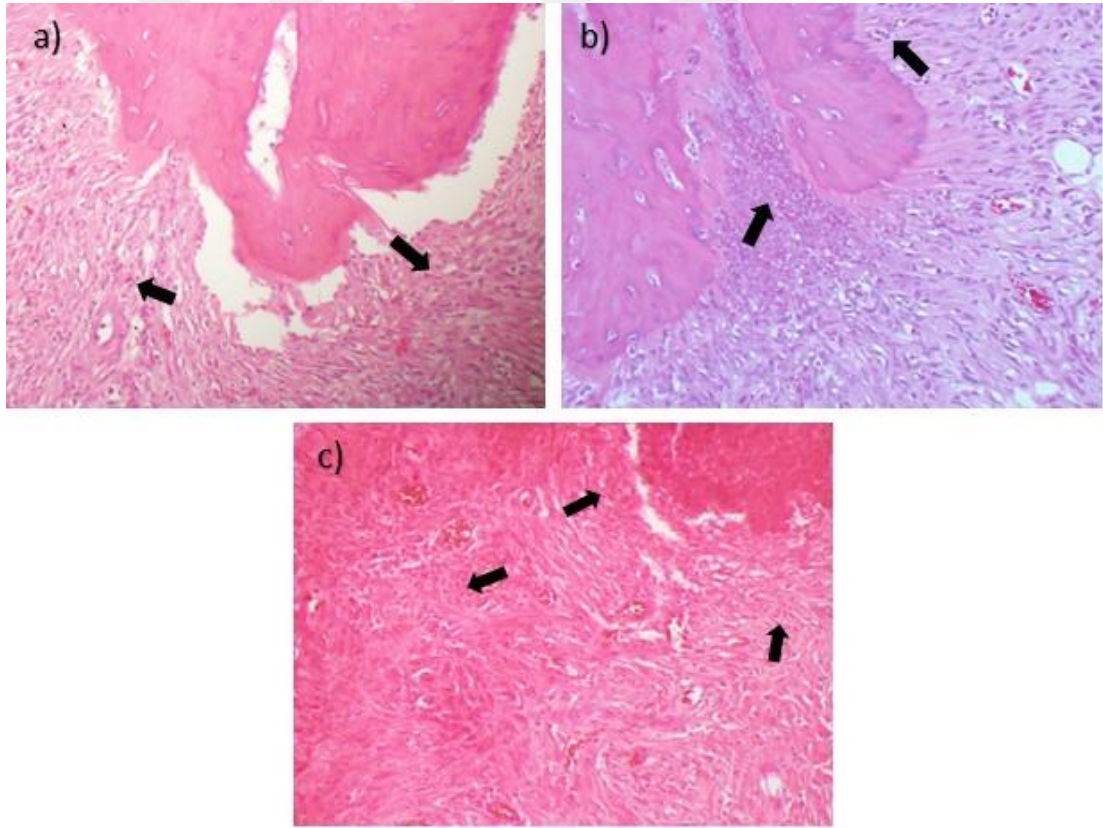
Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTK	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
Osteoklastik aktivite	Yok	1/7	0/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	$p=0.0456^*$ $X^2=13.088$
		(%14.3)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	6/7	9/12	11/12	12/12	11/12	12/12	12/12	
		(%85.7)	(%75.0)	(%91.7)	(%100.0)	(%91.7)	(%100.0)	(%100.0)	
	Orta	0/7	3/12	0/12	0/12	1/12	0/12	0/12	
		(%0.0)	(%25.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	
Şiddetli	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12		
		(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
	Medyan	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	$p=0.0389^{**}$
	Ortalama	0.86 <sup>b</sup>	1.25 <sup>a</sup>	0.92 <sup>b</sup>	1.00 <sup>b</sup>	1.08 <sup>ab</sup>	1.00 <sup>b</sup>	1.00 <sup>b</sup>	

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

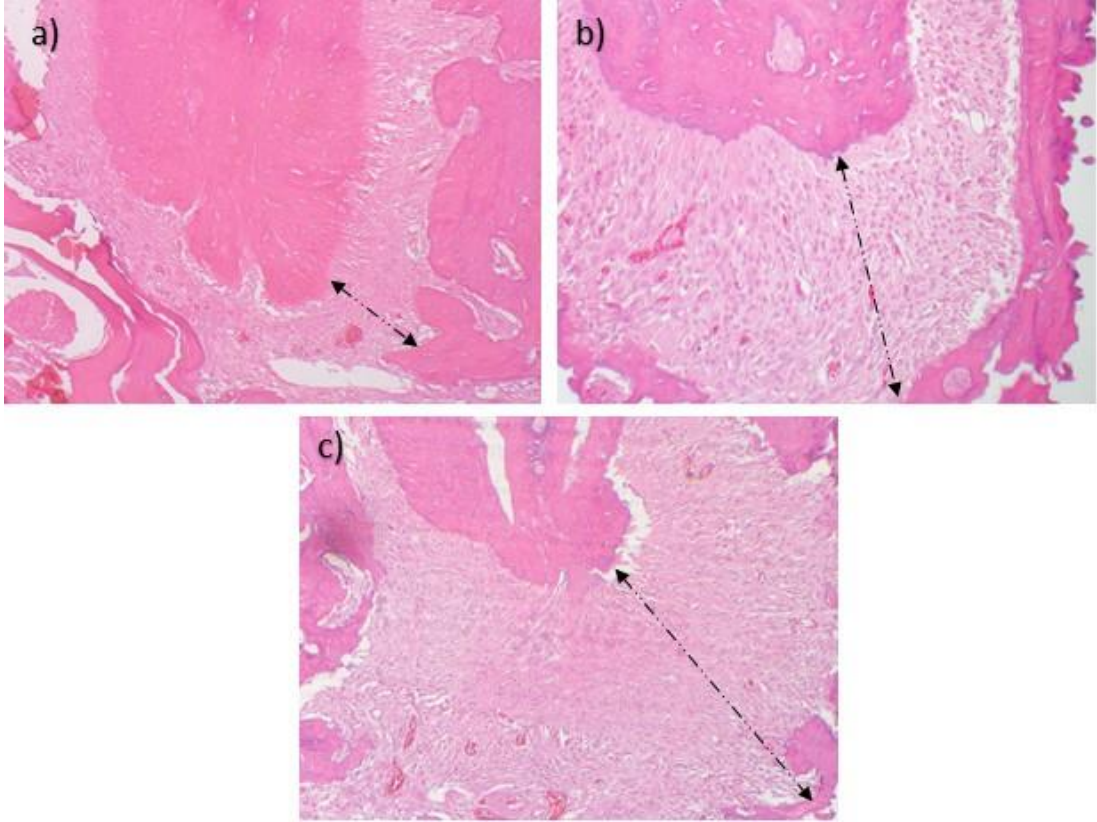
AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTK: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; EVİT: E vitamini.

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ, probiyotik, propolis ve E vitamini takviyelerinin inflamasyon düzeyi üzerine etkileri Tablo 3’de sunulmuştur. Kontrol grubu ratlarda hafif inflamasyon (%14.3) bulunurken, apikal peridontitisli ratlarda (%50 orta-%50 şiddetli) inflamasyonda artış tespit edildi (Tablo 3;  $p<0.0001$   $X^2=44.590$ ). E vitamini katkısı apikal periodontitisli ratlarda inflamasyon düzeyini azalttı ( $p<0.0001$ ). İnflamasyon düzeyi kontrol grubu ratlara göre apikal periodontitis grubu ratlarda yaklaşık 10.7 kat artış gösterirken, bitkisel yağ ve E vitamini uygulaması ile apikal periodontitis grubuna kıyasla sırasıyla %28 ve %33.3 inflamasyonda azalma tespit edildi ( $p<0.0001$ ). Probiyotik ve propolis uygulamaları inflamasyonu apikal periodontitis grubuna göre etkilemedi ( $p>0.05$ ).



**Şekil 26.** a) Hafif yoğunlukta inflamasyon b) Orta yoğunlukta inflamasyon c) Şiddetli yoğunlukta inflamasyon, H&E Boyama (200X)

Sağlıklı kontrol grubu ratlarda fibrozis düzeyi %14.3 hafif olarak tespit edilirken, apikal periodontitis oluşturulan ratlarda fibrozis düzeyi %41.7 hafif, %33.3 orta ve %25.0 şiddetli olarak belirlendi (Tablo 4;  $p<0.0001$ ;  $X^2=39.109$ ). Bitkisel yağ, propolis ve E vitamini grupları apikal periodontitis grubuna oranla probiyotik grubu hariç etkili bulunmadı. Fibrozis düzeyleri apikal periodontitisli ratlarda artış gösterirken, uygulamalar ile arasında oransal olarak bir fark belirlendi ( $p<0.0001$ ;  $X^2=39.109$ ). Özellikle propiyotik grubu ratlarda fibrozis oranı %36.1 oranında azaldı (Tablo4;  $p=0.0002$ ). Bitkisel yağ, serum fizyolojik, propolis ve E vitamini gruplarında, fibrozis düzeyi istatistiki olarak etkilenmedi ( $p>0.05$ ).



**Şekil 27.** a) Hafif yoğunlukta fibrozis b) Orta yoğunlukta fibrozis c) Şiddetli yoğunlukta fibrozis, H&E Boyama (200X)

**Tablo 3.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTk), propolis (PPS), E vitamini (E VİT) takviyesinin inflamasyon düzeyi üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
İnflamasyon	Yok	6/7	0/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	$p < 0.0001^*$ $X^2 = 44.590$
		(%85.7)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	1/7	6/12	10/12	7/12	11/12	9/12	12/12	
		(%14.3)	(%50.0)	(%83.3)	(%58.3)	(%91.7)	(%75.0)	(%100.0)	
	Orta	0/7	6/12	0/12	2/12	0/12	1/12	0/12	
		(%0.0)	(%50.0)	(%0.0)	(%16.7)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	
	Şiddetli	0/7	0/12	1/12	3/12	1/12	2/12	0/12	
(%0.0)		(%0.0)	(%8.3)	(%25.0)	(%8.3)	(%16.7)	(%0.0)		
Medyan	0.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	$p < 0.0001^{**}$	
Ortalama	0.14 <sup>c</sup>	1.50 <sup>a</sup>	1.08 <sup>b</sup>	1.67 <sup>a</sup>	1.17 <sup>ab</sup>	1.42 <sup>ab</sup>	1.00 <sup>b</sup>		

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b,c</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ).

AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

**Tablo 4.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTk), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT), takviyesinin Fibrozis düzeyi üzerine etkisi.

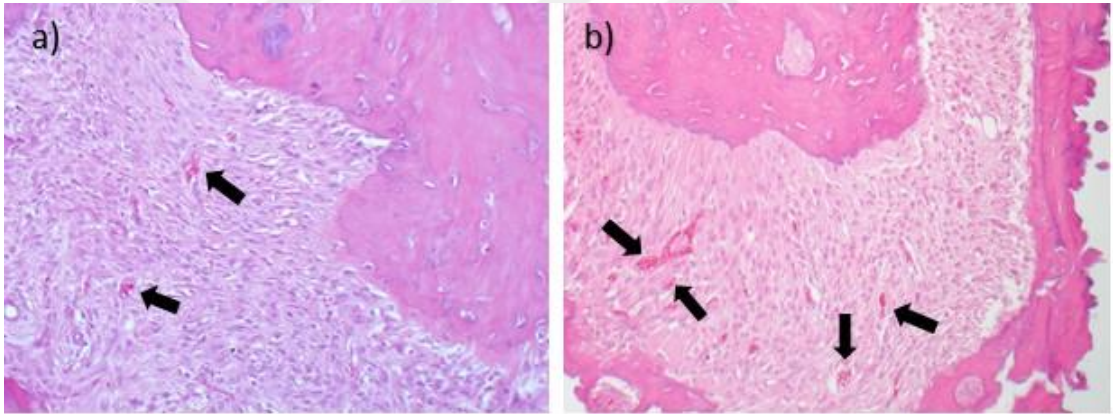
Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	<i>p</i> - değeri ki-kare
Fibrozis	Yok	6/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	<i>p</i> <0.0001* <i>X</i> <sup>2</sup> =39.109
		(%85.7)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	1/7	5/12	8/12	5/12	10/12	8/12	8/12	
		(%14.3)	(%41.7)	(%66.7)	(%41.7)	(%83.3)	(%66.7)	(%66.7)	
	Orta	0/7	4/12	4/12	7/12	2/12	4/12	4/12	
		(%0.0)	(%33.3)	(%33.3)	(%58.3)	(%16.7)	(%33.3)	(%33.3)	
Şiddetli	0/7	3/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12		
	(%0.0)	(%25.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
	Medyan	0.0	2.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	
	Ortalama	0.14 <sup>c</sup>	1.83 <sup>a</sup>	1.33 <sup>ab</sup>	1.58 <sup>ab</sup>	1.17 <sup>b</sup>	1.33 <sup>ab</sup>	1.33 <sup>ab</sup>	<i>p</i> =0.0002**

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır (*p*<0.05).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b,c</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır (*p*<0.05).

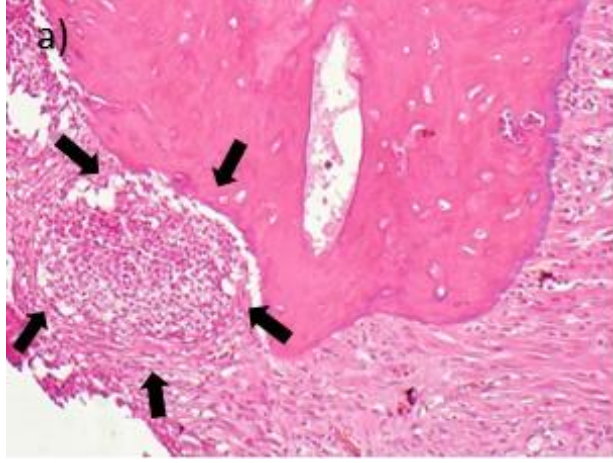
AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; EVİT: E vitamini.

Ratlarda, diş apikal bölümünde anjiogenez oluşumu periodontitis ile artış göstermiştir (Tablo 5;  $p=0.0148$ ;  $X^2=18.350$ ). Sağlıklı ratlarda anjiogenez ortalama skoru tüm gruplar içinde en düşük değer olan 0.71 olarak tespit edildi. Bitkisel yağ ve serum fizyolojik gruplarında anjiogenez düzeyi etkilenmezken ( $p>0.05$ ), en yüksek anjiogenez düzeyi serum fizyolojik grubu grubu ratlarda tespit edildi. Probiyotik ve E vitamini gruplarında anjiogenez durumu apikal periodontitis grubuna kıyasla yaklaşık %18.8 oranında azalma gösterirken bu azalış istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). En yüksek anjiogenez oranı serum fizyolojik uygulanan ratlarda belirlenirken, bu guruba kıyasla PPS uygulanan ratlarda anjiogenez düzeyini anlamlı şekilde azalttı (AP+SF vs. AP+PPS;  $p=0.0232$ ).



**Şekil 28.** a) Hafif yoğunlukta anjiogenez b) Orta yoğunlukta anjiogenez, H&E Boyama (200X)

Bu çalışmada, ratlarda deneysel apikal periodonditis tedavisinde bitkisel yağ, serum fizyolojik, probiyotik, propolis ve E vitamini takviyelerinin histolojik olarak apse oluşumu üzerine herhangi bir etkisi tespit edilmedi (Tablo 6,  $p>0.05$ ).



Şekil 29. a) Hafif yoğunlukta apse

**Tablo 5.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF), probiyotik (PBTk), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT) takviyesinin Anjiogenez düzeyi üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
Anjiogenez	Yok	2/7	0/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	p=0.0148* X <sup>2</sup> =18.350
		(%28.6)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	5/7	8/12	8/12	7/12	11/12	12/12	11/12	
		(%71.4)	(%66.7)	(%66.7)	(%58.3)	(%91.7)	(%100.0)	(%91.7)	
	Orta	0/7	4/12	3/12	5/12	1/12	0/12	1/12	
		(%0.0)	(%33.3)	(%25.0)	(%41.7)	(%8.3)	(%0.0)	(%8.3)	
	Şiddetli	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
(%0.0)		(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
Medyan	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	p=0.0232**	
Ortalama	0.71 <sup>c</sup>	1.33 <sup>ab</sup>	1.17 <sup>abc</sup>	1.42 <sup>a</sup>	1.08 <sup>abc</sup>	1.00 <sup>bc</sup>	1.08 <sup>abc</sup>		

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır (p<0.05).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b,c</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır (p<0.05).

AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

**Tablo 6.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTk), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin Apse düzeyi üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
Apse	Yok	7/7	12/12	11/12	9/12	11/12	10/12	12/12	$p=0.333^*$ $X^2=6.054$
		(%100.0)	(%100.0)	(%91.7)	(%75.0)	(%91.7)	(%83.3)	(%100.0)	
	Hafif	0/7	0/12	1/12	3/12	1/12	2/12	0/12	
		(%0.0)	(%0.0)	(%8.3)	(%25.0)	(%8.3)	(%16.7)	(%0.0)	
	Orta	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
		(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Şiddetli	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
(%0.0)		(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
Medyan	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	$p=0.2610^{**}$	
Ortalama	0.0	0.0	0.08	0.25	0.08	0.17	0.0		

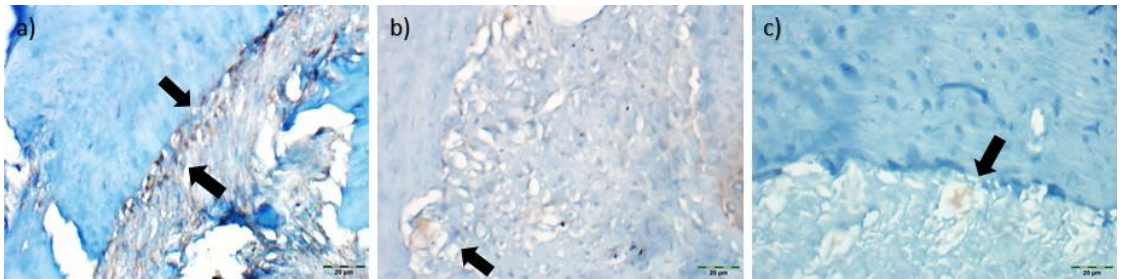
\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ).

\*\* Kruskal Wallis Analizi yapılmıştır ( $p<0.05$ ).

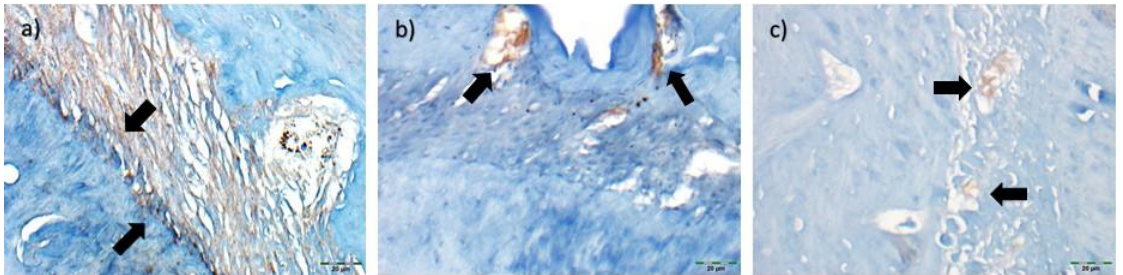
AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

### 5.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

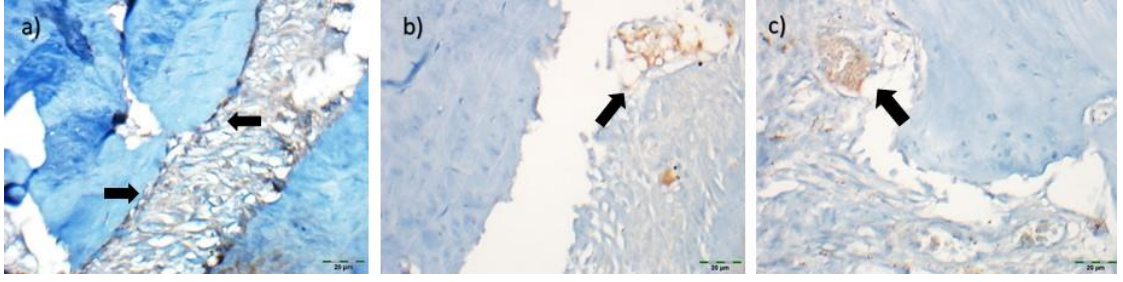
Deneyisel apikal periodontitis oluşturulan ratlarda bitkisel yağ, probiyotik, propolis ve E vitamini besin takviyelerinin immünohistokimyasal boyama ile tespit edilen osteoprotegenin (OPG), Tartrate-dirençli asit fosfataz (TRAP) ve receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) parametreleri üzerine etkileri incelendiğinde; apikal periodontitisli ratlar ile tedavi uygulanan ratlar arasında OPG (Tablo 7) ve TRAP (Tablo 8) değerleri bakımından benzerlik gösterdiği tespit edildi ( $p>0.05$ ). RANKL düzeyi ratlarda apikal periodontitisli ratlarda %50 hafif ve %50 orta düzeyde bulunurken, uygulanan tedaviler ile bu düzey farklılık gösterdi (Tablo 9;  $p=0.024$ ,  $X^2=18.452$ ). Ortalama RANKL skoru apikal periodontitis grubunda 1.50 bulunurken, bu skor bitkisel yağ, serum fizyolojik probiyotik, propolis ve E vitamini, tedavileri ile sırasıyla 0.83, 1.00, 0.83, 1.08 ve 0.75, olarak daha düşük tespit edildi (Tablo 9;  $p=0.0036$  ya da  $p<0.01$ ). TRAP değeri RANKL düzeyine benzer şekilde tedavi gruplarında matematiksel olarak azalmasına karşın bu azalış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.1354$  ya da  $p>0.05$ ).



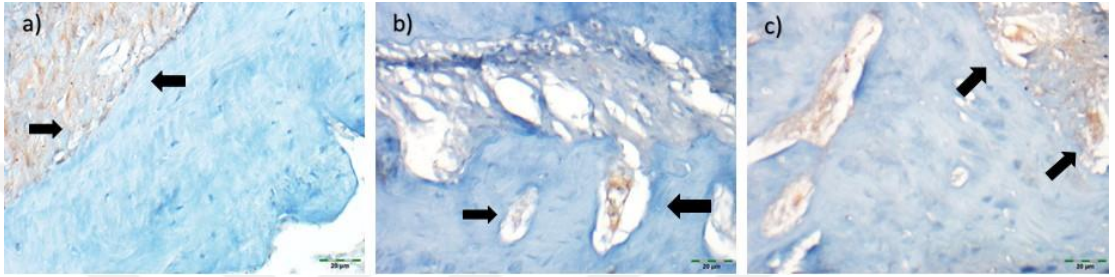
Şekil 30. Kontrol Grubu (K) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



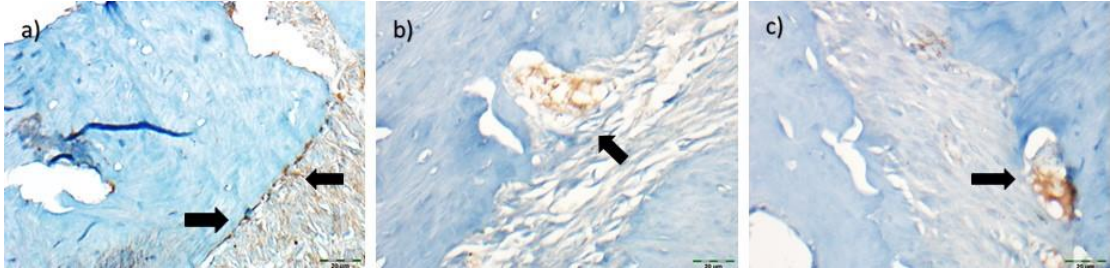
Şekil 31. Apikal Periodontitis Grubu (AP) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



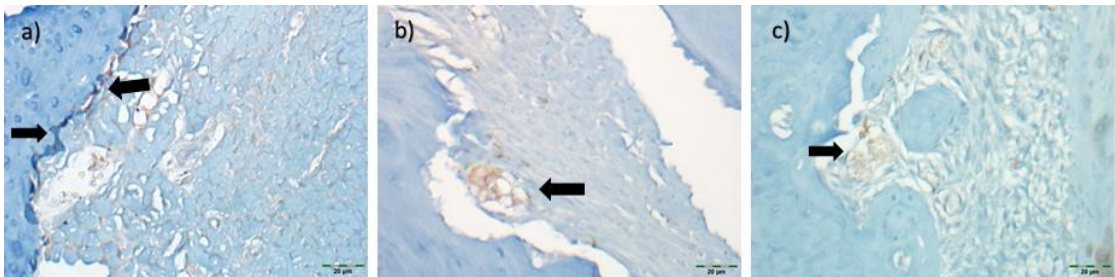
**Şekil 32.** Apikal Periodontitis ve Bitkisel Yağ Grubu (AP+BY) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



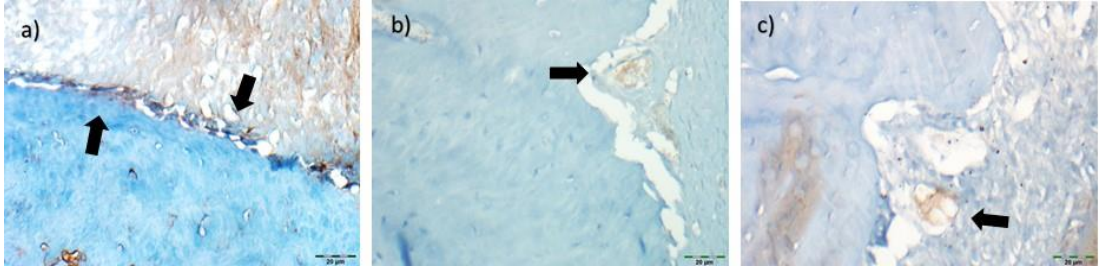
**Şekil 33.** Apikal Periodontitis ve Serum Fizyolojik Grubu (AP+SF) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



**Şekil 34.** Apikal Periodontitis ve Probiyotik Grubu (AP+PBTk) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



**Şekil 35.** Apikal Periodontitis ve Propolis Grubu (AP+PPS) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



**Şekil 36.** Apikal Periodontitis ve E Vitamini Grubu (AP+ EVİT) a) OPG (+) b) RANKL (+) c) TRAP (+), (400X)



**Tablo 7.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde bitkisel yağ (BY), serum fizyolojik (SF) probiyotik (PBTk), propolis (PPS) ve E vitamini (E VİT) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, Osteoprotogenin (OPG) üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
OPG	Yok	0/7	0/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	$p=0.0617^*$ $X^2=17.147$
		(%0.0)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	5/7	7/12	10/12	12/12	11/12	11/12	8/12	
		(%71.4)	(%58.3)	(%83.3)	(%100.0)	(%91.7)	(%91.7)	(%66.7)	
	Orta	2/7	5/12	1/12	0/12	1/12	1/12	4/12	
		(%28.6)	(%41.7)	(%8.3)	(%0.0)	(%8.3)	(%8.3)	(%33.3)	
Şiddetli	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12		
	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
	Medyan	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	$p=0.0567^{**}$
	Ortalama	1.29	1.42	1.00	1.00	1.08	1.08	1.33	

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ).

\*\* Kruskal Wallis Analizi yapılmıştır ( $p<0.05$ ).

AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; E VİT: E vitamini.

**Tablo 8.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTk), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, Tartrate-dirençli asit fosfataz (TRAP) üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
TRAP	Yok	1/7	0/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	$p=0.110^*$ $X^2=13.471$
		(%14.3)	(%0.0)	(%8.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	
	Hafif	5/7	8/12	11/12	12/12	10/12	11/12	11/12	
		(%71.4)	(%66.7)	(%91.7)	(%100.0)	(%83.3)	(%91.7)	(%91.7)	
	Orta	1/7	4/12	0/12	0/12	2/12	1/12	1/12	
		(%14.3)	(%33.3)	(%0.0)	(%0.0)	(%16.7)	(%8.3)	(%8.3)	
Şiddetli	0/7	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12		
	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)	(%0.0)		
	Medyan	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	$p=0.1354^{**}$	
	Ortalama	1.00	1.33	0.92	1.00	1.17	1.08		

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ).

\*\* Kruskal Wallis Analizi yapılmıştır ( $p<0.05$ ).

AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; EVİT: E vitamini.

**Tablo 9.** Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal peridontitis modelinde, probiyotik (PBTk), propolis (PPS), E vitamini (E VİT), bitkisel yağ (BY) ve serum fizyolojik (SF) takviyesinin, immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen, receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) üzerine etkisi.

Parametre	Skor (0-3)	Kontrol	AP	AP+BY	AP+SF	AP+PBTk	AP+PPS	AP+E VİT	p- değeri ki-kare
RANKL	Yok	2/7 (%28.6)	0/12 (%0.0)	2/12 (%16.7)	1/12 (%8.3)	2/12 (%16.7)	1/12 (%8.3)	3/12 (%25.0)	p=0.024* X <sup>2</sup> =18.452
	Hafif	5/7 (%71.4)	6/12 (%50.0)	10/12 (%83.3)	10/12 (%83.3)	10/12 (%83.3)	9/12 (%75.0)	9/12 (%75.0)	
	Orta	0/7 (%0.0)	6/12 (%50.0)	0/12 (%0.0)	1/12 (%8.3)	0/12 (%0.0)	2/12 (%16.7)	0/12 (%0.0)	
	Şiddetli	0/7 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	0/12 (%0.0)	
	Medyan	1.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	Ortalama	0.71 <sup>b</sup>	1.50 <sup>a</sup>	0.83 <sup>b</sup>	1.00 <sup>b</sup>	0.83 <sup>b</sup>	1.08 <sup>b</sup>	0.75 <sup>b</sup>	

\* Fisher exact ki-kare testi kullanılmıştır (p<0.05).

\*\* Kruskal Wallis Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır, <sup>a,b</sup> aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır (p<0.05). AP: Apikal Periodontitis; BY: Bitkisel Yağ; SF: Serum Fizyolojik; PBTk: Probiyotik, *Lactobacillus rhamnosus* GG; PPS: Propolis; EVİT: E vitamini.

## 6. TARTIŞMA

Apikal periodontitis, sık görülen enfeksiyöz bir hastalıktır ve periapikal dokularda inflamatuvar yanıt ve kemik yıkımı ile karakterizedir (20, 22, 152). Dişlerin varlığı kemik iliğine doğrudan bir yol oluşturduğundan dolayı pulpa nekrotik veya enfekte olursa inflamatuvar ajanlara karşı epitel bariyerleri olmadığı için çeneler vücuttaki diğer kemiklere kıyasla benzersizdir. Alveol kemiğinde epitel bariyer olmadığı için doku ve immünolojik tepkiler, enfeksiyöz ajanların çevre dokulara yayılmasından korunmak için esastır. Apikal periodontitisde kemik yıkımına hem mikrobiyal enfeksiyon hem de savunma reaksiyonunun bir parçası olarak immün yanıt neden olur (20, 22, 152). İmmün yanıt modülasyonu sağlayan bir ajanın kullanılmasının periapikal dokularda meydana gelebilecek yıkımı ve İnflamasyonu azaltabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada konak modülasyon ajanlarının (probiyotik, propolis, E vitamini, bitkisel yağ ve serum fizyolojik) sistemik uygulanmasının deneysel olarak oluşturulmuş periapikal lezyon üzerine etkileri değerlendirilmiştir ve bu ajanların periapikal dokuda kemik yıkımı ile İnflamasyonu azalttığı histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerle tespit edilmiştir.

### 6.1. Çalışmada Kullanılan Ajanların Seçimi

Periapikal iyileşme süreci, inflamatuvar yanıt sonrasında doku tepkisini indükleyen antijenin temizlenmesi ile başlar. Bununla birlikte, apikal periodontitis sırasında kemik homeostazı bozulur ve bu da kemik rezorpsiyon oranlarında artışa yol açar (153).

Endodontik tedavi görmüş dişlerde apikal periodontitis onarımı farklı terapötik faktörlere ve klinik koşullara bağlıdır (153). Seltzer (1988), endodontik onarım

sürecini etkileyen lokal ve sistemik faktörleri ilişkilendirir ve endodontik tedavinin başarısızlığının diş hekiminin kontrolünün ötesinde olabileceğini öne sürer (154). Lokal faktörler şunları içerir: enfeksiyon; kanama, doku yaralanması, kan akışının bozulması ve yabancı cisimlerin varlığı. Sistemik faktörler şunları içerir: beslenme, stres, kronik zayıflama durumu, hormonlar, vitamin alımı, dehidrasyon ve yaş (153).

Literatürde konak modülasyon ajanı uygulamaları ile periapikal lezyonlarda kemik yıkımının durdurulması ve inflamasyonun azaltılması amacıyla, Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ) (155), metformin (156), doksisisiklin (157), resveratrol (158), curcumin (159), probiyotikler (14), rezolvinler (160), propolis (161) ve  $\Omega$ -3 yağ asitleri (162) gibi ajanların kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda bitkisel yağ, probiyotik, propolis ve E vitamini kullandık.

Bitkisel yağlar; çeşitli doymuş ve doymamış yağ asitleri, fosfatidler, pigmentler, steroller ve tokoferollerin değişik oranlardaki bir karışımıdır. Bitkisel yağlar içerisinde yer alan ayçiçek yağı genel olarak ayçiçeği tohumlarının yağ üretimi için işlenmesi sırasında elde edilen uçucu olmayan yağ olarak sınıflandırılmıştır. Ayçiçek yağının ana bileşimi linoleik asit (çoklu doymamış yağ=PUFA) ve oleik asittir (tekli doymamış yağ=MUFA); bu iki asit, ayçiçek yağının toplam yağ asidi içeriğinin yaklaşık %90'ını oluşturur. Kalan %8-10' unu yağ asitleri ve palmitik asitleri içerir (sırasıyla C-18: 0 ve C-16: 0). Ayçiçek yağı, yüksek konsantrasyonda PUFA'ların yanı sıra nispeten yüksek E vitamini ve fitosterol seviyelerinin varlığı nedeniyle çok değerlidir (94-96).

Bitki kaynaklı diyet yağları, inflamatuvar sürece aracılık ettiği ve gelecekteki morbiditeleri tahmin ettiği görülen bağışıklık hücrelerinin yağ asidi içeriğini değiştirebildiğinden, bağışıklık hücresi işlevinin modülasyonundan sorumlu olan diyet

yağı türüdür. Bitkisel yağlarda bulunan PUFA'ların kullanımı inflamasyona aracılık etmede önemlidir (163). Diyet yağ asitleri, enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklarda ki Gram-negatif bakterilerin epitel astarlarını etkileyerek konak modülasyonuna aracılık edebilir. Total yağların düşürülmesiyle birlikte doymuş yağ asitlerinin tekli doymamış yağ asitlerine (MUFA) oranının düşürülmesi, kronik inflamatuvar hastalıkları azaltmak için tipik bir diyet müdahale yöntemidir (164).

Bu özelliklerinden dolayı çalışmamızda Ayçiçek yağı kullandık. Çalışmamız, Ayçiçek yağının sistemik uygulanması ile apikal periodontitis üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışma niteliğini taşımaktadır. Çalışmamızda Ayçiçek yağı günlük olarak 0.5 ml olacak şekilde uygulanmıştır ve doza bağımlı bir inceleme söz konusu değildir (165).

Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, probiyotikler "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır" (166). Laktik asit bakterilerinin çeşitli suşları, özellikle *Lactobacillus* cinsinin üyeleri, şu anda en yaygın şekilde gıda muhafazası için probiyotik ve terapötik ajanlar olarak kullanılmaktadır (167-170). Bazı Laktik asit bakterileri ayrıca belirli metabolik sendromları, kanseri ve obeziteyi kontrol etmeye yardımcı olmak için kullanılmıştır (171). Probiyotiklerin bir biyofilm matrisi içindeki endodontik patojenlerin çoğalmasına ve patojenik süreçlerine karşı koymada ve olumlu anti-inflamatuvar etkiler göstermede ve kemik rezorpsiyonunu azaltmada yararlı bir rolü olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur (14, 172-174). Probiyotikler, yerleşik oral mikrobiyomu doğrudan değiştirmek için kullanılmış ve bağışıklık tepkilerini modüle etmek için önerilmiştir (111). Tüm probiyotik türlerinin normal insan bağırsak florasının bir parçası olmadığı ve 1 suşa atfedilen faydalı

etkilerin diğer suşlara genellenmesi uygun bulunmamakla birlikte etkilerden bazılarının türe özgü olduğu düşünülmektedir (106). *L. casei* alt türü olan *rhamnosus*'un bir varyantı olan *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), en kapsamlı olarak araştırılmış olan probiyotiktir (109). LGG' nin geriye dönük 30 yıllık takibleri mevcuttur ve 2008 yılında yapılan probiyotik kullanımı için öneriler adlı panelde spesifik probiyotiklerin, özellikle LGG ve *Bifidobacterium lactis* suşlarının, "A" grubu içinde yer aldığını belirtmişlerdir (175, 176). Bu sebepler ile çalışmamızda LGG türünü kullandık. Çalışmamızda LGG günlük olarak  $10^9$ - $10^{10}$  CFU olacak şekilde uygulanmıştır ve doza bağımlı bir inceleme söz konusu değildir (109).

Ham propolisin kesin bileşimi kaynağa göre değişmekle birlikte genellikle reçine ve balzamlardan (%50-70); uçucu yağlar, aromatik yağlar ve mum (%30-50); polen (%5-10); amino asitler, mineraller, vitaminler, fenolikler ve flavonoidler gibi diğer biyoaktif bileşiklerden oluşur (136). Antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiproliferatif özellikleri nedeniyle propolis diş hekimliği, ağız sağlığı yönetimi ve tıpta muazzam bir potansiyele sahiptir (177). Propolisin; çürük, supragingival plak, gingivitis, periodontitis ve vital pulpa tedavilerinde etkili olduğu ve kök kanal medikamenti olarak kullanılabildiği bildirilmiştir. Ayrıca, propolisin yara iyileşmesini hızlandırmada ve kemik erimesini önlemede de faydalı olduğu gösterilmiştir (136). Çalışmamız, bu özelliklerine dayanak kullandığımız propolisin, sistemik uygulanması ile apikal periodontitis üzerindeki etkilerini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda günlük 100 mg/kg propolis gavaj olarak uygulanmış olup doza bağlı etkisi hakkında bir incelemede bulunulmamıştır (7).

E vitamini, tokoferol ve tokotrienol türevlerinin bir grup yağda çözünen, zincir kırıcı ve güçlü antioksidanlarını kapsayan genel bir isim olarak kabul edilmektedir. E

vitamininin antioksidan özellikleri, birçok bilim insanının, özellikle kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve kanser gibi oksidatif stres bileşenine sahip olduğuna inanılan kronik hastalıkları önleme yeteneğini incelemeye olan ilgisini teşvik etmiştir. Bunun dışında tokotrienoller ayrıca antikolesterol, antiplatelet ve antiosteoporotik özellikler de göstermiştir. E vitamininin, lipid peroksidasyonunu baskılayarak genç ratlarda kemik büyümesini teşvik edebildiği bildirilmiştir (178). E vitamini, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir ve hümorale bağışıklık tepkisinin etkili bir uyarıcısıdır. Aşırı E vitamini uygulandığında deney hayvanlarında oral yara iyileşmesinin hızlandığı da bildirilmiştir (145). Bu özelliklerinden dolayı çalışmada E vitamini (dl- $\alpha$ -tokoferol) kullandık. Çalışmamız, E vitamininin sistemik uygulanması ile apikal periodontitis üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışma niteliğini taşımaktadır. Çalışmamızda E vitamini günlük olarak 60 mg/kg olacak şekilde uygulanmıştır ve doza bağımlı bir inceleme söz konusu değildir (178).

## **6.2. Çalışmada Kullanılan Yöntemlerin Seçimi**

Bilimsel çalışmalarda yeni bir madde veya cerrahi tekniğin geliştirilmesinde, var olan hastalıklar ile ilgili bilgi edinilmesinde bilim insanlarına yardımcı olmak amacıyla hayvanlar kullanılmaktadır. Hayvan deneyleri materyallerin biyouyumluluklarının incelenmesi ve prosedürlerin uygulanması için endodontide önemli bir yer tutmaktadır. Bu deneyler sırasında birçok zorluklarla karşılaşmış ve deneyin evrim düzeyi daha düşük deney hayvanları kullanılarak yapılabileceği anlaşılmıştır. Endodontik çalışmalarda fare, rat, tavşan, dağ gelinciği, köpek, kedi ve maymun gibi deney hayvanları kullanılmıştır (179).

Araştırmalarda farelerden sonra en çok kullanılan memeli hayvanlar ratlardır ve diş hekimliği çalışmalarında iyi bir deney modeli oluşturduğundan önemli bir yer

tutmaktadır. Ratlar, evrimsel olarak farelere yakınlıklarıyla bilinmektedir ancak farelerden hacimsel olarak büyük olmaları nedeniyle hayvan deneyleri için oldukça çok tercih edilen modellerdendir (179). Rat modellerindeki oral mikroflora ile periodontal ve pulpal dokuları insanlarınkine daha yakındır ve deney modellerinde kullanım ve bakım kolaylığı, kolay üreyebilmeleri, diğer memeli hayvanlara göre yüksek metabolizma hızı varlığı, ekonomik olması gibi sebepler ile kısa dönemli çalışmalar için oldukça uygun modellerdir (180-184). Çalışmamızda bu gibi sebeplerden dolayı apikal periodontitis indüksiyon modelinin oluşturulmasında ratlar tercih edildi.

Literatürde apikal periodontitis indüksiyon modelinin oluşturulmasında azı dişlerin pulparı ağız ortamına açılmış, kavitelere herhangi bir işlem yapılmadan deney süresince ağız ortamına açık halde bırakılmıştır (185-187). Bazı çalışmalarda ise açılan kavitelere çeşitli bakteri endotoksini yerleştirildikten sonra kaviteler ağız ortamına açık bırakılmıştır (188, 189). Yapılan birçok çalışmada apikal periodontitis indüksiyon süresi ve oluşan lezyon boyutları 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 gün gibi farklı zamanlarda incelenmiş ve karşılaştırılmıştır (190-192). 2014 de yapılan bir çalışmada Zhang ve arkadaşları, ilk 21 günde lezyon boyutlarında artış olduğunu, 21-28 günler arasında lezyon büyüklüğü arasında anlamlı bir fark görülmediğini bildirmiştir (192). Yine aynı yıl içinde yapılan başka bir çalışmada Liu ve arkadaşları, 0. ve 28. günler arasında periapikal lezyon boyutunun arttığını ve bu süreden sonra sabit kaldığını belirtmişlerdir (193). Çalışmamızda apikal periodontitis oluşum tekniği ve süresi ile ilgili bir değerlendirme yapılması amaçlanmadığı için deney süresi L. Cosme-Silva ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmalarındaki gibi herhangi bir uyaran olmadan kaviteler 30 gün boyunca ağız ortamına açık bırakılarak yapıldı (14).

Ratlarda bir yarım çene arkında 1 keser diş ile 3 azı dişi mevcuttur. Keser dişlerin devamlı olarak sürme özelliği taşıması ve açık apikal yapıya sahip olması gibi sebeplerle periapikal dokuların ve lezyon boyutunun incelendiği çalışmalarda alt birinci büyük azı dişler genellikle tercih edilmektedir (157, 192, 193). Çalışmamızda alt birinci büyükazı dişler; histolojik kesitlerde inceleme kolaylığı ve bu dişlerin apikal periodontitis modeline uygun olması, gibi nedenlerle kullanımı tercih edildi.

Ratlara ek olarak verilecek besin ve vitamin türevi takviyeler içme sularına veya yemlerine eklenerek verilebilir. Ancak bu durumda tüketilen besin ve vitamin miktarının standardize edilemeyeceği düşünülmektedir. Verilecek takviyenin kokusu ve tadı kötü ise tüketim miktarı azalacaktır. Bu gibi durumlar ile karşılaşmamak için gavaj yöntemi tercih edilir. Gavaj; deney hayvanlarına verilecek olan maddenin uygun bir plastik veya metal sonda ile direkt olarak mideye verilmesidir. Deney hayvanı uygun pozisyonda tutulur baş arkaya ve düz pozisyona getirilir diğer elle gavaj sondası deney hayvanının midesine kadar sokulur. Eğer gavaj sondası kolaylıkla ilerliyorsa işlem doğru kabul edilir. Mideye erişim ve uygulama için gavaj sondasının 10 cm' lik bölümünün ilerlemesi yeterlidir (194). Bu gibi sebeplerden dolayı çalışmamızda besin takviyelerinin ratlara gavaj yolu ile verilmesi tercih edildi.

### **6.3. Biyokimyasal Bulgularının Değerlendirilmesi**

Kemik dokusu, amorf kalsiyum fosfat  $Ca_3(PO_4)_2$  ve osteoblastlar tarafından sentezlenen kalsiyum hidroksiapatit kristalleri ile sentezlenmiş organik bir matristir (195). Metabolik olarak aktif bir doku olan kemik, kemik rezorpsiyonu ve oluşumunu içeren sürekli yeniden şekillenmeye uğrar. Biyokimyasal belirteçler, yeniden şekillenme ile ilgili süreci yansıtır ve bu nedenle metabolik kemik hastalıklarının yönetiminde faydalıdır. Biyokimyasal belirteçler noninvazivdir ve kemik

döngüsündeki akut değişiklikleri ortaya çıkarabilir. Yararlı olması için, kemik döngüsünün ideal bir biyokimyasal belirtecinin kemikteki metabolik süreçlerden birine özgü olması gerekir (196).

Yeniden şekillenmeyi yansıtan kanda veya idrarda ölçülebilen biyokimyasal belirteçler arasında, kemik rezorpsiyon belirteçleri (örneğin, kalsiyum ve fosfor) ve kemik oluşumunun belirteçleri (örneğin, alkalın fosfataz) yer almaktadır (197). Kemik belirteçleri, günün saati, adet döngüsünün aşaması ve yılın mevsiminin yanı sıra diyet, egzersiz ve kemiğin yeniden şekillenmesini değiştiren diğer her şeyle ilgili önemli kısa ve uzun vadeli dalgalanmalar sergiler. Bu biyolojik faktörler, tahlil belirsizliğine ek olarak, belirteçlerde önemli birey içi ve bireyler arası değişkenlik üretir. Bu nedenlerden dolayı, klinik durumlar hakkında bilgi sağlayan çalışmaların çoğu, birincil olarak bu belirteçlere dayanmamalıdır (197).

Kalsiyum ve fosfor, kemik büyümesinin ve mineralizasyonun düzenleyicileridir (14). Bu belirteçlerden olan fosforun bir kısmı kalsiyum ile birleşik oluşturarak hidroksiapatit kristali şeklinde, geri kalanı ise kalsiyum fosfat şeklinde bulunur (198). ALP ise, en çok kemik, karaciğer ve böbreklerde olmak üzere yaygın olarak eksprese edilir. Dolaşımdaki ALP, yetişkinlerde çoğunlukla kemik ve karaciğerden ve doğumdan ergenliğe kadarki dönemde ağırlıklı olarak kemikten kaynaklanır. ALP tipik olarak, diğer reaksiyonların yanı sıra çeşitli fosfat içeren moleküllerden fosfat grubunun çıkarılmasını katalize eder. Fizyolojik olarak, ALP'nin ana rollerinden biri, gerekli fosfor havuzunu sağladığı için hidroksiapatitin hücre dışı matriste biriktirildiği süreç olan sert dokuların mineralizasyonuna yardımcı olmaktır (199). ALP, kemik metabolizması için en yaygın kullanılan belirteçtir ve kemik oluşumu ve osteoblast aktivitesinin boyutunu yansıtabilir (14).

Çalışmamızda, besin takviyelerinin kemik değişiklikleri mekanizmasındaki rollerini vurgulamak için apikal periodontitisli bir rat modelinde serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz düzeylerindeki değişiklikleri değerlendirdik.

L. Cosme-Silva ve arkadaşları deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitisli ratlarda probiyotik diyet takviyesinin, biyokimyasal parametrelere olan etkilerine bakmışlardır. Çalışmanın sonucunda, gruplar arasında plazma kalsiyum ve fosfor düzeylerinde fark yokken alkalen fosfataz düzeylerinin, probiyotik tüketen gruplardan daha yüksek olduğu bulunmuştur (14).

Renan Dal-Fabbro ve arkadaşları deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitisli ratlarda kronik alkol tüketiminin biyokimyasal parametrelere etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında serum kalsiyum seviyesinin tüm gruplarda sabit kaldığını ancak alkol verilen gruplarda ise serum fosfor ve alkalen fosfataz düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (200).

Çalışmamızda, besin takviyesi uygulanan tüm gruplarda serum ALP ve serum P değerlerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığı tespit edildi. Serum Ca düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında propolis grubu hariç oluşturulan diğer besin takviyesi uygulanmış olan apikal periodontitis gruplarında farklılık gösterdi (Şekil 14). Serum Ca düzeyleri için besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubu ile besin takviyesi uygulanmış olan diğer gruplar arasında çoklu karşılaştırmalarda istatistiksel bir fark tespit edilmezken ( $p>0.05$ ), besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubu ile probiyotik ve E vitamini uygulanmış grupların yapılan ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 15). Serum Ca düzeyleri Probiyotik ve E Vitamini uygulanan ratlarda, besin takviyesi uygulanmamış olan apikal periodontitis grubuna kıyasla sırasıyla %5.8 ve %6.2

oranında daha düşük olduğu bulundu ( $p=0.0117$ ,  $p=0.0057$ ). İkili karşılaştırmalarda, Propolis grubunda serum Ca düzeyleri diğer tüm gruplarla istatistiksel olarak farklılık göstermezken matematiksel olarak besin takviyesi uygulanmış diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

Çalışmamızda probiyotik grubundaki serum Ca düzeyindeki azalışın parathormon azalmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan bir çalışmada, vücut mikrobiyomu ile kemik arasındaki iletişimin endokrin sisteme veya hormon benzeri maddelere bağlı olabileceği öne sürülmüş ve Lactobacillus suşlarının uygulanmasından sonra parathormonun azaldığını gösteren bazı klinik kanıtlar elde edilmiştir (201).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre E vitamini grubundaki serum Ca düzeyindeki azalışın trombosit-kalsiyum mekanizmalarından etkilendiğini varsaymaktayız. Trombositlerin hücre içi kalsiyum akışı üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada E vitamininin membran vezikülleri tarafından kalsiyum alımı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı ancak dolaylı yollardan konsantrasyona bağlı olarak kalsiyum salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (202).

Çalışmamızda bulunan propolis grubunda serum Ca düzeyinin besin takviyesi uygulanmış diğer gruplara göre yüksek olmasının propolis içeriğindeki Ca varlığının sebep olduğunu tahmin etmekteyiz (121).

#### **6.4. Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi**

Apikal periodontitis lezyonlarında kemik yapım-yıkımı ve İnflamasyon ile ilişkili hücreler, medyatörler, bakterilerin varlığı ve yerleşimi farklı yöntemler kullanılarak incelenebilmektedir. Bu yöntemler; H&E boyama (203) ile histolojik

inceleme ve histomorfometri (204), immünohistokimya (205), Brown-Brenn boyama (206), enzim bağı immunosorbent deney (ELISA) (207) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (208) gibi yöntemlerdir.

Kantitatif sonuçlar ELISA ve PCR yöntemleri ile elde edilebilse de incelenecek parametrelerin hücreler ile ilişkisini ve konumunu değerlendirmek mümkün olmamaktadır. Histopatolojide kantitatif sonuçlar elde etmek zor olsa da skorlama yöntemi kullanılmakta ve sonuçlar semi-kantitatif olarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, bağ dokusu, hücreler, kemik yıkım alanları, ödem, hiperemi veya apse varlığı histolojik kesit yerinde semi-kantitatif olarak incelenebilmektedir (6). Bu sebeplerden dolayı çalışmamızda H&E boyama kullanılarak histopatolojik yöntem ile osteoblastik, osteoklastik, inflamasyon, fibrozis, angiogenez ve apse oluşumu değerlendirildi.

Çalışmamızda sistemik besin takviyesi uygulaması yapılmış olan gruplardan bitkisel yağ ve E vitamini gruplarında inflamasyonda azalma mevcut olduğu görüldü ( $p < 0.0001$ ). Probiyotik ve propolis gruplarında ise inflamasyonun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilenmediği ancak orta şiddetliden hafif şiddetli inflamasyona doğru bir geçiş gösterdiği tespit edildi ( $p > 0.05$ ).

Literatürde bizim çalışma tasarımıya benzer şekilde yapılmış bazı çalışmalarda sistemik olarak  $\omega$ -3 PUFA (209), probiyotik (14), melatonin (210) ve selenyum (211) verilmesi sonucunda ratlarda inflamatuvar reaksiyon ve kemik yıkımının azaldığı gösterilmiştir. Çalışmamızın sonucunda ortaya çıkan inflamasyon ve kemik yıkımındaki azalmanın kullandığımız besin takviyelerinin antioksidan türevde olması sebebiyle olduğunu düşünmekteyiz. Ancak yapılan bir başka çalışmada ise aşırı kafeine maruz kalmanın kemikte kalsiyum birikimi ve kemik mineral

yoğunluğu azaltarak inflamatur reaksiyon ve kemik yıkımını arttırdığı bildirilmiştir (212).

Çalışmamızda, inflamasyon düzeylerinin azalmasının yanı sıra fibrozis düzeyinin apikal periodontitisli ratlarda artış gösterdiği, özellikle propiyotik grubu ratlarda fibrozisin %36.1 oranında azaldığı görüldü ( $p=0.0002$ ). Bitkisel yağ, serum fizyolojik, propolis ve E vitamini gruplarında, fibrozis düzeylerinin istatistiki olarak etkilenmediği ancak fibrozisde şiddetli düzeyden hafif ve orta düzeylere doğru geçiş izlendiği tespit edildi ( $p>0.05$ ).

Fibrozis düzeylerindeki bu değişim kemik ve bağ doku iyileşme dönemlerindeki yapısal değişikliklerden kaynaklı olduğu ve bu iyileşme dönemlerinin konak modülasyonu ile değişiklikler gösterebildiği bildirilmiştir (213, 214). Fibrozis düzeylerindeki değişimin granülasyon dokusunun içerisinde yer alan kollajen liflerin artmasıyla lezyon alanının giderek küçülmesi şeklinde açıklanabilir (213, 215). Andrada ve arkadaşlarının deneysel periapikal inflamasyonda azitromisin ve amoksisilin immünomodülasyon üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmanın sonucuna göre hem azitromisin hem de amoksisilin enfeksiyon kaynaklı periapikal inflamasyonları etkili bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (214). Bu sonuca göre kemik ve bağ doku iyileşme dönemlerinin konak modülasyonu ile değişiklikler gösterebildiği açıklanabilir.

Çalışmamızda kullandığımız tüm ratlarda anjiogenez oluşumu apikal periodontitis ile artış gösterdi ( $p=0.0148$ ). Gruplar arasında en yüksek anjiogenez düzeyinin serum fizyolojik grubunda olduğu tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Probiyotik, E vitamini, propolis ve bitkisel yağ gruplarında anjiogenez durumu tedavi uygulanmayan apikal periodontitis grubuna kıyasla azalma

gösterdi ancak bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ). Çalışmamızın sonuçlarına göre vasküleritedeki azalışın Hassumi JS ve arkadaşlarının belirttiği gibi alveolar kemik iyileşmesinin başlangıcındaki irritanların ve irritan kaynaklı iltihabi yanıtın gerilemeye başlamasıyla olgun kollajen içeren granülasyon dokusu oluşumuna ve bu dokuda kapiller lümenlerin kapanması ve zamanla ortadan kalkmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz (213, 215).

Çalışmamızda apikal periodontitis oluşturulan ratlarda osteoblastik aktivite düzeylerinin gruplara göre farklılık gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu, apikal periodontitis grubu ve E vitamini gruplarında orta düzey osteoblastik aktivite matematiksel olarak daha yüksek bulunurken, diğer gruplarda hafif osteoblastik aktivite tespit edildi. Ortalama osteoblastik aktivitenin en yüksek düzeyde apikal periodontitis grubunda olduğu (1.33) ve sonraki en yüksek düzeyde osteoblastik aktivitenin E vitamini (1.25) grubunda olduğu bulundu. Apikal periodontitisli ratlarda osteoklastik aktivite de sağlıklı kontrol grubundaki ratlara kıyasla %45.3 oranında bir artış tespit edilirken, bu artışın propolis ve E vitamini uygulaması ile azaldığı belirlendi. Ayrıca osteoklastik aktivitede diğer besin takviyeleri için istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma görüldü ( $p<0.05$ ). Çalışmamızdaki osteoklastik aktivitedeki genel azalışın ek olarak verilen besin takviyelerinin var olan antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinden kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz (216-219). Besin takviyelerinin antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin ortaya çıkışı, kronik inflamasyon ve oksidatif stres ile kemik yapım-yıkım hızı arasındaki dengesizliğe ve ardından kemik yıkımına yol açan iki ana mekanizma ile açıklanabilir (218).

Çalışmamızda, ratlarda deneysel apikal periodonditis tedavisinde bitkisel yağ, serum fizyolojik, probiyotik, propolis ve E vitamini takviyelerinin histolojik olarak apse oluşumu üzerine herhangi bir etkisi tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

### **6.5. İmmünohistokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi**

İmmünohistokimya, hücre veya doku antijenlerinin (amino asitler, proteinler ve bulaşıcı ajanlar) tespiti amacıyla kullanılmaktadır. Bu yöntemde spesifik antikorlar boyama yoluyla görselleştirilebilen doku bileşenlerini (antijenler) doğrulamak için kullanılır. İnflamasyon ve kemik yapım-yıkımında yer alan bir çok aracı ve ilgili hücre veya medyatör, immünohistokimya ile semi-kantitatif olarak tespit edilebilir ve hangi hücrelerle ilişkili olduğu incelenebilmektedir (210, 220, 221). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda OPG, RANKL ve TRAP immünohistokimyasal boyama teknikleri kullanılarak osteoblast ve osteoklastlar semikantitatif olarak 400X büyütme ile incelendi.

Çalışmamızda Apikal periodontitisli ratlar ile tedavi uygulanan ratlar arasında OPG ve TRAP değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ). Çalışmamızın sonucuna benzer şekilde Gomes-Filho J.H. ve arkadaşları, Raloksifenin osteoklastogenez ve anjiyogenez düzenleyicilerinin modülasyonunu araştırdığı çalışmada gruplar arasında OPG immünoaktivitesinde anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir (205).

Bitkisel yağ, serum fizyolojik probiyotik, propolis ve E vitamini takviyesi yapılmış gruplarda RANKL düzeyi apikal periodontitisli gruplara göre anlamlı derecede daha az bulundu ( $p<0.01$ ) ancak kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadı. TRAP değeri RANKL düzeyine benzer şekilde tedavi gruplarında matematiksel olarak azalmasına karşın bu azalış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

( $p>0.05$ ). Metforminin ratlarda RANKL/OPG oranı üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, Metformin ile tedavi edilen gruplarda RANKL ve TRAP düzeylerinin azaldığı, OPG düzeyinin arttığı tespit edilmiştir. Yazarlar, RANKL/OPG oranının düşmesinin osteoklast sayısını ve kemik rezorpsiyon alanlarını azaltarak periapikal lezyonları inhibe ettiğini bildirmiştir (156). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise araştırmacılar, probiyotiklerle diyet takviyesi yapılan apikal periodontitisli ratlarda RANKL'ın belirgin bir şekilde azaltılmış ekspresyonunu, önemli ölçüde daha fazla OPG ekspresyonunun yanı sıra daha az osteoklastik hücrenin (TRAP) ortaya çıktığını ve böylece probiyotik tüketen hayvanlarda periapikal kemik kaybının boyutunu azaltarak probiyotiklerin osteoklastogenezi modüle etme yeteneğiyle desteklediğini bildirmişlerdir (14).

## 7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan apikal periodontitis ile besin takviyesi uygulamasıyla sağlanan konak modülasyonu arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bu tez çalışmasının sınırlamaları dâhilinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Ratlarda oluşturulan apikal periodontitis modelinde serum alkalin fosfat (ALP), fosfor (P) düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığı ancak serum Ca düzeylerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında propolis grubu hariç oluşturulan diğer besin takviyesi uygulanmış olan apikal periodontitis gruplarında farklılık gösterdiği tespit edildi.
2. Bu tez çalışmasının sonuçları, deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitis modelinde besin takviyesi uygulamasıyla sağlanan konak modülasyonu ile histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak İnflamasyonda ve kemik yıkımında azalma olduğunu göstermektedir.
3. Uygulanan besin takviyelerinden E vitamini ve bitkisel yağın diğer besin takviyelerine göre daha anlamlı sonuçlar verdiği görüldü.
4. Histopatolojik ve immünohistokimyasal verilerin haftalar içindeki değişimleri ve lezyon büyüklüğünün stabil hale geldiği haftalardaki miktarlarının değerlendirildiği daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.
5. Bu çalışmada besin takviyesi uygulamasıyla sağlanan konak modülasyonu ile apikal periodontitis arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Besin takviyelerinin apikal periodontitiste lokal uygulama yöntemlerinin ve etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

## 8. KAYNAKLAR

1. Queiroz-Junior CM, Silva MJ, Corrêa JD, et al. A controversial role for IL-12 in immune response and bone resorption at apical periodontal sites. *Clinical Developmental Immunology*. 2010;2010:327417.
2. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2008;79(8 Suppl):1569-76.
3. Takahama A, Rôças IN, Faustino ISP, et al. Association between bacteria occurring in the apical canal system and expression of bone-resorbing mediators and matrix metalloproteinases in apical periodontitis. *International Endodontic Journal*. 2018;51(7):738-46.
4. Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32:108-29.
5. Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Host-mediated resolution of inflammation in periodontal diseases. *Periodontology* 2006;40:144-63.
6. Saritekin E. Melatoninin deneysel olarak oluşturulan periapikal lezyonlar üzerine etkisi. *SDÜ, Sosyal Bilimler Dergisi*, <https://acikerisim.sdu.edu.tr/handle/123456789/24250>
7. Toker H, Ozan F, Ozer H, et al. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*. 2008;79(6):1089-94.
8. Paško P, Bartoń H, Zagrodzki P, et al. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. 2009;115(3):994-8.
9. Kamal JJ. Quantification of alkaloids, phenols and flavonoids in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *African Journal of Biotechnology* 2011;10(16):3149-51.
10. Pająk P, Socha R, Gałkowska D, et al. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chem*. 2014;143:300-6.
11. Weisz GM, Kammerer DR, Carle R. Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn. *Euro PMC*, 2009;115(2):758-65.
12. Amakura Y, Yoshimura M, Yamakami S. et al. Isolation of phenolic constituents and characterization of antioxidant markers from sunflower (*Helianthus annuus*) seed extract. *AGRIS*, 2013;6(2):302-5.
13. Guo S, Ge Y, Na Jom K. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.). *Chemistry Central Journal*. 2017;11(1):95.
14. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, et al. Reduced bone resorption and inflammation in apical periodontitis evoked by dietary supplementation with probiotics in rats. *International Endodontic Journal*. 2020;53(8):1084-92.
15. Crary EJ, McCarty MF. Potential Clinical applications for high-dose nutritional antioxidants. *Medical hypotheses*. 1984;13(1):77-98.
16. Hoffeld JJ. *American Society for Microbiology*. Oxygen radicals in inflammation and immunity. *ASM Microbiology Society* 1982:343-53.
17. van Tits LJ, Demacker PN, de Graaf J, et al. Alpha-tocopherol supplementation decreases production of superoxide and cytokines by leukocytes ex vivo in both normolipidemic and hypertriglyceridemic individuals. *The American Journal of Clinical nutrition*. 2000;71(2):458-64.

18. Borhanuddin B, Mohd Fozi NF, Naina Mohamed I. Vitamin e and the healing of bone fracture: the current state of evidence. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2012;2012:684510.
19. Turan B, Can B, Delilbasi E. Selenium combined with vitamin E and vitamin C restores structural alterations of bones in heparin-induced osteoporosis. *Clinical rheumatology*. 2003;22(6):432-6.
20. Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, et al. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *International Endodontic Journal*. 2014;47(7):615-21.
21. Möller ÅJ, Fabricius L, Dahlen G, Öhman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*. 1981;89(6):475-84.
22. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects Of Surgical Exposures Of Dental Pulp In Germ-Free And Conventional Laboratory Rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, And Oral Pathology*. 1965;20:340-9.
23. Siqueira JF, Rôças IN. Periodontitis T. *Microbiology of Apical Periodontitis*. Log in to Wiley Online Library 2019:91-142.
24. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*. 1981;89 6:475-84.
25. Siqueira JF, Rôças IN. *Treatment of Endodontic infections*: Quintessenz Verlag; 2022.
26. Zandi H, Kristoffersen AK, Ørstavik D, et al. Microbial analysis of Endodontic infections in root-filled teeth with apical periodontitis before and after irrigation using pyrosequencing. *Journal of endodontics*.2018;44(3):372-8.
27. Siqueira JF, Antunes HS, Rôças IN, Rachid CT, Alves FR. Microbiome in the Apical Root Canalsystem of teeth with post-treatment apical periodontitis. *PLoS One*. 2016;11(9):e0162887.
28. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with Clinical and histopathologic findings. *Journal of endodontics*. 2010;36(8):1277-88.
29. Dobell C, Protozoology AV. *Bacteriology, his Multifarious Discoveries in these Disciplines*. Collected T, (Edited),. Antony van Leeuwenhoek and his" Little Animals." Being Some Account of the Father of Protozoology and Bacteriology and his Multifarious Discoveries in these Disciplines. Anniversary of his Birth. 1932.
30. Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dental Coos* 1894;36:505-28.
31. Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995;59(1):143-69.
32. Rappé MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. *Annu Rev Microbiol*. 2003; 57: 369-94.
33. Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R, oral medicine, oral pathology. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965;20(3):340-9.
34. Sundqvist G. *Bacteriological studies of necrotic dental pulps*: Umeå University; 1976.
35. Siqueira JF, Rôças IN, Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontology*. 2009;107(6):870-8.
36. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Lopes HP, Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. 2002;93(2):174-178.

37. Sen B, Piskin B, Demirci TJ. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontology*. 1995;11(1):6-9.
38. Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*. 1991;7(5):226-9.
39. Siqueira JF. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontology*. 2002;94(3):281-293.
40. Debelian GJ, Olsen I, Tronstad LJ. Anaerobic bacteremia and fungemia in patients undergoing Endodontic therapy: an overview. *Ann Periodontol*. 1998;3(1):281-27.
41. Walton R, Hunter J, Saunders PW. Endodontic Emergencies. *J Oral Implantol* 2002;28:74-81.
42. Berman LH, Hargreaves KM. *Cohen's pathways of the pulp-e-book*: Elsevier Health Sciences; 2020.
43. Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP, Sjögren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infection and Immunity*. 1979;25(2):685-93.
44. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *International Endodontic Journal*. 2006;39(4):249-81.
45. Siqueira JF. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2002;94(3):281-93.
46. Abou-Rass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. *International Endodontic Journal*. 1998 Jan;31(1):39-47
47. Levin LG. Root resorption In: Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR (Eds.) *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Chicago. 2012:397-419.
48. Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Cellular and molecular immunology*. Edisi internasional. Philadelphia: WB Saunders Company; 2007.
49. Lin LM, Di Fiore PM, Lin J, Rosenberg PA. Histological study of periradicular tissue responses to uninfected and infected devitalized pulps in dogs. *Journal of endodontics*. 2006;32(1):34-8.
50. Ricucci D, Loghin S, Siqueira JF. Exuberant Biofilm infection in a lateral canal as the cause of short-term endodontic treatment failure: report of a case. *Journal of endodontics*. 2013;39(5):712-8.
51. Lin L, Langeland K. Light and electron microscopic study of teeth with carious pulp exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1981;51(3):292-316.
52. Stashenko P. Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*. 1990 Jun;6(3):89-96.
53. Bezerra M, Carvalho J, Prokopowitsch A, Pereira R, Research B. RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38:161-70.
54. Márton IJ, Kiss CJ. Overlapping protective and destructive regulatory pathways in apical periodontitis. *Journal of endodontics*. 2014;40(2):155-63.
55. Marton I, Kiss C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. *International Endodontic Journal*. 1993;26(2):131-6.
56. Liapatas S, Nakou M, Rontogianni DJ. Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *International Endodontic Journal*. 2003;36(7):464-71.
57. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontology* 2000. 2010;52(1):163-206.
58. Jiang D, Liang J, Fan J, et al. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nature Medicine*. 2005;11(11):1173-9.

59. Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontology* 2000. 2010;53:55-69.
60. Nakamura I, Jimi E. Regulation of osteoclast differentiation and function by interleukin-1. *Vitam Hormon*. 2006;74:357-70.
61. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993;64(5 Suppl):474-84.
62. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):821-78.
63. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*. 2003;74(3):391-401.
64. Nakajima T, Ueki-Maruyama K, Oda T, et al. Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *Journal of Dental Research*. 2005;84(7):639-43.
65. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Ann Rev Immunol*. 2009;27:485-517.
66. Gaffen SL, Hajishengallis G. A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *Journal of Dental Research*. 2008;87(9):817-28.
67. Yu JJ, Ruddy MJ, Wong GC, et al. An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. *Blood*. 2007;109(9):3794-802.
68. Brain SD. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacol*. 1997;37(2-3):133-52.
69. Birklein F, Schmelz M. Neuropeptides, neurogenic inflammation and complex regional pain syndrome (CRPS). *Neuroscience Letters*. 2008;437(3):199-202.
70. Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Holguín MM, Ulate E. Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *Journal of Endodontics*. 2008;34(7):773-88.
71. Byers MR, Taylor PE, Khayat BG, Kimberly CL. Effects of injury and inflammation on pulpal and periapical nerves. *Journal of Endodontics*. 1990;16(2):78-84.
72. Byers MR, Närhi MV. Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 1999;10(1):4-39.
73. Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 1998;9(4):498-521.
74. Reinke E, Fabry Z. Breaking or making immunological privilege in the central nervous system: the regulation of immunity by neuropeptides. *Immunology Letters*. 2006;104(1-2):102-9.
75. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Regulation of immune tolerance by anti-inflammatory neuropeptides. *Nature reviews Immunology*. 2007;7(1):52-63.
76. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic immunology e-book: functions and disorders of the immune system*: Elsevier Health Sciences; 2019.
77. Sattler S. *The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection*. *Adv Exper Med Biol*. 2017;1003:3-14.
78. Orstavik D. *Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis*: John Wiley & Sons; 2020.
79. Yamasaki M, Kumazawa M, Kohsaka T, Nakamura H. Effect of methotrexate-induced neutropenia on rat periapical lesion. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1994; 77(6): 655-61.

80. Nakamura K, Yamasaki M, Nishigaki N, et al. Effect of methotrexate-induced neutropenia on pulpal inflammation in rats. *Journal of Endodontics*. 2002;28(4):287-90.
81. Teles R, Wang CY, Stashenko P. Increased susceptibility of RAG-2 SCID mice to dissemination of Endodontic infections. *Infection and Immunity*. 1997;65(9):3781-7.
82. Foschi F, Izard J, Sasaki H, et al. *Treponema denticola* in disseminating Endodontic infections. *Journal of Dental Research*. 2006;85(8):761-5.
83. Fouad AF, Acosta AW. Periapical lesion progression and cytokine expression in an LPS hyporesponsive model. *International Endodontic Journal*. 2001;34(7):506-13.
84. Fouad AF. IL-1 alpha and TNF-alpha expression in early periapical lesions of normal and immunodeficient mice. *Journal of Dental Research*. 1997;76(9):1548-54.
85. Balto K, White R, Mueller R, Stashenko P. A mouse model of inflammatory root resorption induced by pulpal infection. *Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2002;93(4):461-8.
86. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontology 2000*. 2020;84(1):14-34.
87. Golub LM, Lee HM. Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions. *Periodontology 2000*. 2020;82(1):186-204.
88. Sufaru IG, Teslaru S, Pasarin L, et al. Host Response Modulation Therapy in the Diabetes Mellitus-Periodontitis Conjunction: A Narrative Review. *Pharmaceutics*. 2022;14(8).
89. Serhan CN, Chiang N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: entrée for resoleomics. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. 2004;30(1):69-95.
90. Gilroy DW, Lawrence T, Perretti M, Rossi AG. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*. 2004;3(5):401-16.
91. Lawrence T, Willoughby DA, Gilroy DW. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nature reviews Immunology*. 2002;2(10):787-95.
92. Serhan CN. A search for endogenous mechanisms of anti-inflammation uncovers novel chemical mediators: missing links to resolution. *Histochemistry and cell biology*. 2004;122(4):305-21.
93. Sulijaya B, Takahashi N, Yamazaki K. Host modulation therapy using anti-inflammatory and antioxidant agents in periodontitis: A review to a Clinical translation. *Archives of Oral Biology*. 2019;105:72-80.
94. Aly AA, Zaky EA, Elhabeby BS, et al. Effect of thyme addition on some chemical and biological properties of sunflower oil. *Arabian Journal of Chemistry* 2021;14(11):103411.
95. Spring O. Sesquiterpene lactones in sunflower oil. *World Journal Hepatology* 2021;142:111047.
96. Adeleke BS, Babalola OO. Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science & Nutrition*. 2020;8(9):4666-84.
97. Saekel R. China's oral care system in transition: lessons to be learned from Germany. *International Journal of Oral Science*. 2010;2(3):158-76.
98. Singh A, Purohit B. Tooth brushing, oil pulling and tissue regeneration: A review of holistic approaches to oral health. *J Ayurveda Integrative Med*. 2011;2(2):64-8.
99. Asokan S, Kumar RS, Emmadi P, Raghuraman R, Sivakumar N. Effect of oil pulling on halitosis and microorganisms causing halitosis: a randomized controlled pilot trial. *J Ind Society Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2011;29(2):90-4.
100. Anand TD, Pothiraj C, Gopinath R, Kayalvizhi B. Effect of oil-pulling on dental caries causing bacteria. *Academic Journal* 2008;2(3):63-6.
101. Asokan S, Rathan J, Muthu MS, Rathna PV, Emmadi P. Effect of oil pulling on *Streptococcus mutans* count in plaque and saliva using Dentocult SM Strip mutans test: a randomized,

- controlled, triple-blind study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2008;26(1):12-7.
102. Asokan S, Rathinasamy TK, Inbamani N, et al. Mechanism of oil-pulling therapy - in vitro study. *Indian Journal of dental research* 2011;22(1):34-7.
  103. Kelly HM, Deasy PB, Busquet M, Torrance AA. Bioadhesive, rheological, lubricant and other aspects of an oral gel formulation intended for the treatment of xerostomia. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;278(2):391-406.
  104. Hannig C, Wagenschwanz C, Pötschke S, Kümmerer K, Kensche A, Hoth-Hannig W, et al. Effect of safflower oil on the protective properties of the in situ formed salivary pellicle. *Caries Research*. 2012;46(5):496-506.
  105. Hannig C, Kirsch J, Al-Ahmad A, et al. Do edible oils reduce bacterial colonization of enamel in situ? *Clin Oral Investig*. 2013;17(2):649-58.
  106. Gatej S, Gully N, Gibson R, Bartold PM. Probiotics and Periodontitis - A Literature Review. *Journal of the International Academy of Periodontology*. 2017;19(2):42-50.
  107. Agriculture Organization of the United Nations. Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. 2006;85:2.
  108. Islam SU. Clinical Uses of Probiotics. *Medicine*. 2016;95(5):e2658.
  109. Coşkun T. Propreve sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2006;49(2):128-48.
  110. Nguyen T, Brody H, Radaic A, Kapila Y. Probiotics for periodontal health-Current molecular findings. *Periodontology 2000*. 2021;87(1):254-67.
  111. Allaker RP, Stephen AS. Use of Probiotics and Oral Health. *Curr Oral Health Rep*. 2017; 4(4): 309-318.
  112. Albuquerque-Souza E, Balzarini D, Ando-Sugimoto ES, Ishikawa KH, Simionato MRL, Holzhausen M, et al. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Periodontal Research*. 2019;54(2):115-27.
  113. Stathopoulou PG, Benakanakere MR, Galicia JC, Kinane DF. Epithelial cell pro-inflammatory cytokine response differs across dental plaque bacterial species. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010;37(1):24-9.
  114. Messori MR, Pereira LJ, Foureaux R, et al. Favourable effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on experimental periodontitis in rats. *Archives of Oral Biology*. 2016;66:108-19.
  115. Messori MR, Oliveira LF, Foureaux RC, et al. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2013;84(12):1818-26.
  116. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 2002;73:1-6.
  117. Shehu A, Ismail S, Rohin MAK, et al. Antifungal properties of Malaysian Tualang honey and stingless bee propolis against *Candida albicans* and *Cryptococcus Neoformans*. 2016;6(2):044-50.
  118. Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical And Biomedical Analysis*. 2006;41(4):1220-34.
  119. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2014;19(12):19610-32.
  120. Volpi N. Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*. 2004;25(12):1872-1888.
  121. Khalil ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of cancer prevention* : 2006;7(1):22-31.

122. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*. 2017;2017:1259510.
123. Pereira EM, da Silva JL, Silva FF, et al. Clinical Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis: A Phase II Study. *eCAM*. 2011;2011:750249.
124. Jain S, Rai R, Sharma V, Batra M. Propolis in oral health: a natural remedy. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;90-4.
125. Bertolini PF, Biondi Filho O, Pomilio A, et al. Antimicrobial capacity of Aloe vera and propolis dentifrice against *Streptococcus mutans* strains in toothbrushes: an in vitro study. *Journal of Applied Oral Science*. 2012;20(1):32-7.
126. Skaba D, Morawiec T, Tanasiewicz M, et al. Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine* 2013;2013:215391.
127. Bretz WA, Chiego D, Marcucci M, et al. Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp. *Z Naturforsch C J Biosci*. 1998;53(11-12):1045-8.
128. Sabir A, Mooduto L, Kaelan C, Horax S. Impact of the use of ethanolic extract of propolis, flavonoid and non-flavonoid propolis for direct pulp capping in collagen type i density. *Brazilian Journal of Oral Sciences* 2016;15(4):264-8.
129. Moraes LT, Trevilatto PC, Grégio AMT, et al. Quantitative Analysis of Mature and Immature Collagens During Oral Wound Healing in Rats Treated by Brazilian Propolis. *Journal Of International Dental And Medical Research*. 2011; 4(3): 106-11
130. Barroso PR, Lopes-Rocha R, Pereira EMF, et al. Effect of propolis on mast cells in wound healing. *Inflammopharmacology* 2012;20(5):289-94.
131. Wimolsantirungsri N, Makeudom A, Louwakul P, et al. Inhibitory effect of Thai propolis on human osteoclastogenesis. *Dent Traumatol*. 2018;34(4):237-44.
132. Duan W, Wang Q, Li F, et al. Anti-catabolic effect of caffeic acid phenethyl ester, an active component of honeybee propolis on bone loss in ovariectomized mice: a micro-computed tomography study and histological analysis. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(22):3932-6.
133. Freires IA, Santaella GM, Sardi J, Rosalen PL. The alveolar bone protective effects of natural products: A systematic review. *Arch Oral Biol*. 2018;87:196-203.
134. An J, Hao D, Zhang Q, Chen B, et al. Natural products for treatment of bone erosive diseases: The effects and mechanisms on inhibiting osteoclastogenesis and bone resorption. *Int Immunopharmacol*. 2016;36:118-31.
135. Pileggi R, Antony K, Johnson K, Zuo J, Holliday LS. Propolis inhibits osteoclast maturation. *Dent Traumatol*. 2009;25(6):584-8.
136. Zulhendri F, Felitti R, Fearnley J, Ravalía M. The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. *Journal of Oral Biosciences*. 2021;63(1):23-34.
137. Rucker RB, Zempleni J, Suttie JW, McCormick DB. *Handbook of vitamins*: Crc Press; 2007.
138. Mocchegiani E, Costarelli L, Giacconi R, et al. Vitamin E–gene interactions in aging and inflammatory age-related diseases: Implications for treatment. A systematic review. *Ageing Res Rev*. 2014;14:81-101.
139. Ochi H, Takeda SJG. The two sides of vitamin E supplementation. 2015;61(4):319-26.
140. Tanaka J, Fujiwara H, Torisu M. Vitamin E and immune response. I. Enhancement of helper T cell activity by dietary supplementation of vitamin E in mice. *Immunology*. 1979;38(4):727-34.
141. Sheffy BE, Schultz RD. Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms. *Federation Proceedings*. 1979;38(7):2139-43.

142. Tengerdy RP, Henzerling RH, Brown GL, Mathias MM. Enhancement of the humoral immune response by vitamin E. *Inter Arc Allergy Applied Immunol.* 1973;44(2):221-32.
143. Tengerdy RP, Henzerling RH, Nockels CF. Effect of vitamin E on the immune response of hypoxic and normal chickens. *Infection and Immunity.* 1972;5(6):987-9.
144. Campbell PA, Cooper HR, Henzerling RH, Tengerdy RP. Vitamin E enhances in vitro immune response by normal and nonadherent spleen cells. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY).* 1974;146(2):465-9.
145. Niamonitos C, Shklar G, Krakow AA. Effects of vitamin E dietary supplements on the exposed dental pulp in rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, And Oral Pathology.* 1985;59(6):627-36.
146. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers in surgery and Medicine.* 2007;39(10):788-96.
147. Günay A, Arpağ OF, Atilgan S, et al. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Design, Development And Therapy.* 2014;8:2069-74.
148. Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. A comparative evaluation of the systemic and local alendronate treatment in synthetic bone graft: a histologic and histomorphometric study in a rat calvarial defect model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology And Oral Radiology.* 2012;114(5 Suppl):S146-52.
149. Hapa O, Cakıcı H, Kükner A, et al. Effect of platelet-rich plasma on tendon-to-bone healing after rotator cuff repair in rats: an in vivo experimental study. *Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcica.* 2012;46(4):301-7.
150. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G\*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods.* 2007;39(2):175-91.
151. Statistics I. IBM Corp. Released 2013. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0.* Armonk, NY: IBM Corp. 2013.
152. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research.* 1981;89(6):475-84.
153. Holland R, Gomes JEF, Cintra LTA, Queiroz Í OA, Estrela C. Factors affecting the periapical healing process of Endodontically treated teeth. *Journal of Applied Oral Science. FOB.* 2017;25(5):465-76.
154. Seltzer S. Endodontology. *Journal of Dental Research,* 1988;281.
155. Ribeiro-Santos FR, Arnez MFM, de Carvalho MS, et al. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on pulpal and periapical inflammation induced by lipopolysaccharide. *Clinical Oral Investigations.* 2021;25(11):6201-9.
156. Liu L, Zhang C, Hu Y, Peng B. Protective effect of metformin on periapical lesions in rats by decreasing the ratio of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin. *Journal of Endodontics.* 2012;38(7):943-7.
157. Metzger Z, Belkin D, Kariv N, Dotan M, Kfir A. Low-dose doxycycline inhibits bone resorption associated with apical periodontitis. *International Endodontic Journal.* 2008;41(4):303-9.
158. Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Rezende Silva Martins de Oliveira F, et al. Effect of red wine or its polyphenols on induced apical periodontitis in rats. *International Endodontic Journal.* 2021;54(12):2276-89.
159. Justo MP, Cardoso CBM, Cantiga-Silva C, et al. Curcumin reduces inflammation in rat apical periodontitis. *International Endodontic Journal.* 2022;55(11):1241-51.
160. Corazza BJM, Martinho FC, Khoury RD, et al. Clinical influence of calcium hydroxide and N-acetylcysteine on the levels of resolvins E1 and D2 in apical periodontitis. *International Endodontic Journal.* 2021;54(1):61-73.

161. Hussein H, Kishen A. Local Immunomodulatory Effects of Intracanal Medications in Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*. 2022;48(4):430-56.
162. Azuma MM, Cardoso CBM, Samuel RO, et al. Omega-3 Fatty Acids Alter Systemic Inflammatory Mediators Caused by Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*. 2021;47(2):272-7.
163. Al-Khalaifah H. Modulatory effect of dietary polyunsaturated fatty acids on immunity, represented by phagocytic activity. *Front Vet Sci*. 2020;7:569939.
164. Onishi J, Häggblom M, Shapses SJM. Can dietary fatty acids affect the COVID-19 infection outcome in vulnerable populations? *Medical Bio* 2020;11(4):e01723-20.
165. Rezvani M, Ross GA. Modification of radiation-induced acute oral mucositis in the rat. *International Journal of Radiation Biology*. 2004;80(2):177-82.
166. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2014;11(8):506-14.
167. Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Vilchez-Padial LM, Gil A. Evidence of the Anti-Inflammatory Effects of Probiotics and Synbiotics in Intestinal Chronic Diseases. *Nutrients*. 2017;9(6).
168. Gupta A, Tiwari SK. Probiotic potential of bacteriocin-producing *Enterococcus hirae* strain LD3 isolated from dosa batter. *Annals of Microbiology* 2015;65(4):2333-42.
169. Giraffa G, Chanishvili N, Widyastuti Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research Microbiology*. 2010;161(6):480-7.
170. de Melo Pereira GV, de Oliveira Coelho B, Magalhães Júnior AI, et al. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnol Adv*. 2018;36(8):2060-76.
171. Ferrarese R, Ceresola ER, Preti A, Canducci F. Probiotics, prebiotics and synbiotics for weight loss and metabolic syndrome in the microbiome era. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018 Nov;22(21):7588-7605.
172. Bohora A, Kokate S. Evaluation of the Role of Probiotics in Endodontic Treatment: A Preliminary Study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017;7(1):46-51.
173. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, et al. Dietary supplementation with multi-strain formula of probiotics modulates inflammatory and immunological markers in apical periodontitis. *J Appl Oral Sci*. 2021;29:e20210483.
174. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, et al. Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis. *International Endodontic Journal*. 2019;52(12):1738-49.
175. Capurso L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Review. *Journal of Clinical Gastroenterol*. 2019;53:1-41.
176. Floch MH, Walker WA, Guandalini S, et al. Recommendations for probiotic use-2008. *J Clinical Gastroenterology*. 2008;42:104-108.
177. Khurshid Z, Naseem M, Zafar MS, Najeeb S, Zohaib S, dental clinics, dental prospects. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2017;11(4):265-274.
178. Mehat MZ, Shuid AN, Mohamed N, Muhammad N, Soelaiman IN. Beneficial effects of vitamin E isomer supplementation on static and dynamic bone histomorphometry parameters in normal male rats. *J Bone Mineral Metabolism*. 2010;28(5):503-9.
179. Ertuğrul İ, Maden M, Orhan E. Endodontik çalışmalarda deney hayvanlarının kullanımı ve seçim kriterleri. *S.D.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2013;4(2):81-90.
180. Dammaschke T. Rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry. *Laboratory Animals*. 2010;44(1):1-6.

181. Garcia Lda F, Marques AA, Roselino Lde M, Pires-de-Souza Fde C, Consani S. Biocompatibility evaluation of Epiphany/Resilon root canal filling system in subcutaneous tissue of rats. *Journal of Endodontics*. 2010;36(1):110-4.
182. Muruzábal M, Erausquin J. Discussion of: methods and criteria in evaluation of periapical response. *International Dental Journal*. 1970;20(3):539-54.
183. Stashenko P, Wang CY, Tani-Ishii N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1994;78(4):494-502.
184. Huxley HG. The histology of rat molar tooth fissure plaque. *Archives of Oral Biology*. 1971;16(11):1311-28.
185. Cintra LT, Samuel RO, Facundo AC, et al. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *International Endodontic Journal*. 2014;47(3):228-37.
186. Minhoto GB, Khoury RD, Orozco EIF, et al. Effect of chronic unpredictable stress on the progression of experimental apical periodontitis in rats. *International Endodontic Journal*. 2021;54(8):1342-52.
187. Bolat N, Kaya BU, İlhan İ, ve ark. Deneysel Hayvanlarında Oluşturulan Periapikal Lezyon Modelinde Selenyumun Kandaki Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkileri. *S.D.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2021;12(3):309-18.
188. Wang HW, Lai EH, Yang CN, et al. Intracanal Metformin Promotes Healing of Apical Periodontitis via Suppressing Inducible Nitric Oxide Synthase Expression and Monocyte Recruitment. *Journal of Endodontics*. 2020;46(1):65-73.
189. Zhang H, Liu L, Jiang C, et al. MMP9 protects against LPS-induced inflammation in osteoblasts. *Innate Immunity*. 2020;26(4):259-69.
190. Xiong H, Wei L, Peng B. Immunohistochemical localization of IL-17 in induced rat periapical lesions. *Journal of Endodontics*. 2009;35(2):216-20.
191. Zhang R, Wang L, Peng B. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in rat periapical lesions. *Journal of Endodontics*. 2008;34(10):1207-10.
192. Zhang R, Huang S, Wang L, Peng B. Histochemical localization of Dickkopf-1 in induced rat periapical lesions. *Journal of Endodontics*. 2014;40(9):1394-9.
193. Liu L, Wang L, Wu Y, Peng B. The expression of MCP-1 and CCR2 in induced rats periapical lesions. *Archives of oral biology*. 2014;59(5):492-9.
194. Küçük M, Çevik A, Kalaycı R. Deneysel Hayvanlarında Temel Uygulamalar. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2013;2(4):39-47.
195. Petrakov AV, Yarygin VN, Lychkov AE, Golubev YY, Puzikov AM, Golubeva GY, et al. Experimental osteoporosis and its correction. *Bull Exper Biol Med*. 2014;157(1):99-102.
196. Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clinica chimica acta; international Journal of Clinical Chemistry*. 2001;313(1-2):95-105.
197. Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clinical Chemistry*. 1999;45:1359-68.
198. Hasan Ö. Fosfat Metabolizması. *Çocuk Dergisi* 2019;19(3):105-15.
199. Xargay-Torrent S, Espuña-Capote N, Montesinos-Costa M, et al. Serum alkaline phosphatase relates to cardiovascular risk markers in children with high calcium-phosphorus product. *Scientific Reports*. 2018;8(1):17864.
200. Dal-Fabbro R, Marques de Almeida M, Cosme-Silva L, et al. Chronic alcohol consumption changes blood marker profile and bone density in rats with apical periodontitis. *Journal of Investigative and Clinical dentistry*. 2019;10(3):e12418.

201. Montazeri-Najafabady N, Ghasemi Y, Dabbaghmanesh MH, et al. Supportive Role of Probiotic Strains in Protecting Rats from Ovariectomy-Induced Cortical Bone Loss. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2019;11(4):1145-54.
202. Butler AM, Gerrard JM, Peller J, et al. Vitamin E inhibits the release of calcium from a platelet fraction in vitro. *Prostaglandins and Medicine*. 1979;2(3):203-16.
203. Farhad AR, Razavi S, Jahadi S, Saatchi M. Use of aminoguanidine, a selective inducible nitric oxide synthase inhibitor, to evaluate the role of nitric oxide in periapical inflammation. *Journal of Oral Science*. 2011;53(2):225-30.
204. Garlet TP, Fukada SY, Saconato IF, et al. CCR2 deficiency results in increased osteolysis in experimental periapical lesions in mice. *Journal of Endodontics*. 2010;36(2):244-50.
205. Gomes-Filho JE, Wayama MT, Dornelles RC, et al. Raloxifene modulates regulators of osteoclastogenesis and angiogenesis in an oestrogen deficiency periapical lesion model. *International Endodontic Journal*. 2015;48(11):1059-68.
206. da Silva RA, Ferreira PD, De Rossi A, Nelson-Filho P, Silva LA. Toll-like receptor 2 knockout mice showed increased periapical lesion size and osteoclast number. *Journal of Endodontics*. 2012;38(6):803-13.
207. Hao L, Chen W, McConnell M, et al. A small molecule, odanacatib, inhibits inflammation and bone loss caused by Endodontic disease. *Infection and Immunity*. 2015;83(4):1235-45.
208. Kawashima N, Suzuki N, Yang G, et al. Kinetics of RANKL, RANK and OPG expressions in experimentally induced rat periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2007;103(5):707-11.
209. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, et al. Omega 3 Fatty Acids Reduce Bone Resorption While Promoting Bone Generation in Rat Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*. 2017;43(6):970-6.
210. Sarıtekin E, Üreyen Kaya B, Aşçı H, Özmen Ö. Anti-inflammatory and antiresorptive functions of melatonin on experimentally induced periapical lesions. *International Endodontic Journal*. 2019;52(10):1466-78.
211. Bolat N, Erzurumlu Y, Aşçı H, et al. Selenium ameliorates inflammation by decreasing autophagic flux and mitogen-activated protein kinase signalling on experimentally induced rat periapical lesions. *International Endodontic Journal*. 2022.
212. Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Capalbo LC, et al. Excessive caffeine intake increases bone resorption associated with periapical periodontitis in rats. *International Endodontic Journal*. 2021;54(10):1861-70.
213. Hassumi JS, Mulinari-Santos G, Fabris A, et al. Alveolar bone healing in rats: micro-CT, immunohistochemical and molecular analysis. *Journal of Applied Oral Science*. 2018; 26: e20170326.
214. Andrada AC, Azuma MM, Furusho H, et al. Immunomodulation Mediated by Azithromycin in Experimental Periapical Inflammation. *Journal of Endodontics*. 2020;46(11):1648-54.
215. Tahsinoğlu M, Çöloğlu A, Erseven G, İstanbul. *Diş Hekimleri için Genel Patoloji*. İstanbul Üni. Diş Hekimliği Fak. Yay., 1981.
216. Dhavamani S, Poorna Chandra Rao Y, Lokesh BR. Total antioxidant activity of selected vegetable oils and their influence on total antioxidant values in vivo: a photochemiluminescence based analysis. *Food Chemistry*. 2014;164:551-5.
217. Wang Y, Wu Y, Wang Y, et al. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*. 2017;9(5).
218. Ekeuku SO, Chin KY. Application of Propolis in Protecting Skeletal and Periodontal Health-A Systematic Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2021;26(11).

219. Alund AW, Mercer KE, Pulliam CF, et al. Partial Protection by Dietary Antioxidants Against Ethanol-Induced Osteopenia and Changes in Bone Morphology in Female Mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 2017;41(1):46-56.
220. Kose O, Arabaci T, Kara A, et al. Effects of Melatonin on Oxidative Stress Index and Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats With Periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2016;87(5):e82-90.
221. Silva MJ, Sousa LM, Lara VP, et al. The role of iNOS and PHOX in periapical bone resorption. *Journal of Dental Research*. 2011;90(4):495-500.



## 9. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Kararı



Evrak Tarih ve Sayısı: 11.01.2021-2741

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-97132852-050.99-2741  
Konu : Doç. Dr. Mevlüt Sinan OCAK

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi MEVLÜT SİNAN OCAK

İlgi : 30.12.2020 tarih ve 433117 sayılı yazı

"Besin takviyesi uygulaması ile konak modülasyonu sağlanarak apikal periodontitise bağlı inflamasyon/rezorpsiyon arasındaki ilişkinin incelenmesi" başlıklı araştırma projeniz Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup Etik Kurulu Kararı örneği ekte gönderilmiştir.  
Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Kurul Başkanı

Ek: Etik Kurul kararı

*Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.*

Belge Doğrulama Kodu :0E159E13798M Pın Kodu :98032  
Adres: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
Telefon:0 (424) 237 00 00 Faks:0 424 2122717  
Elektronik A&B: <http://www.firat.edu.tr>

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/firat-universitesi-eyk>

Bilgi için: İrfan COŞKUN  
Ünvan: Teknikyen Yardımcısı



Tel No: 4639

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
KARARLARI

Oturum Tarihi  
06.01.2021

Oturum Saati  
14:00

Oturum Sayısı  
2021/01

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06.01.2021 tarihinde saat 14:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Doç. Dr. Mevlüt Sinan OCAK tarafından yürütülecek olan "Besin takviyesi uygulaması ile konak modülasyonu sağlanarak apikal periodontitise bağlı inflamasyon/rezorpsiyon arasındaki ilişkinin incelenmesi" başlıklı araştırma projenizde 79 Adet Erkek Sprague-Dawley Rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafımızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait projenin "Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" gereği altı ay aralıklarla Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna bilgi verilmesi şartıyla uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

1. Doç. Dr. Mevlüt Sinan OCAK
2. Arş. Gör. Dt. Güzide AKSOY
3. Doç. Dr. Serkan DÜNDAR

**Kurul Üyeleri:**

Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Prof. Dr. Gülşüm ÖKSÜZTEPE  
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT  
Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA  
Doç. Dr. Serkan DÜNDAR (Katılmadı)  
Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIK (Bulunmadı)  
Dr. Öğr. Üyesi Esef BOLAT (Bulunmadı)  
Vet. Hek. Ebru GÖKDERE  
Onur UYGUR  
Murat DAĞHAN (Bulunmadı)

Başkan  
E-İmzalıdır  
Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Gülşüm ÖKSÜZTEPE

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA

Ebru GÖKDERE

Onur UYGUR



Evrak Tarih ve Sayısı: 02.02.2021-10886

T.C.  
FIRAT UNIVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-97132852-604.01.02-10886  
Konu : Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt Sinan OCAK

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi MEVLÜT SINAN OCAK

İlgi : 12.01.2021 tarih ve 3503 sayılı yazı

İlgili yazınız Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda görüşülmüş ve Etik Kurul kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Kurul Başkanı

Ek: Etik Kurul kararı

**Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.**

Belge Doğrulama Kodu :HELMKNYK3 Pin Kodu :90222  
Adres:Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
Telefon:0 (424) 237 00 00 Faks:0 424 2122717  
Elektronik Ağı:<http://www.firat.edu.tr>

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/firat-universitesi-ebys>

İlgi İçin: İbrahim COŞKUN  
Ünvanı: Teknikyen Yardımcısı



Tel No: 4639

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
KARARLARI

Oturum Tarihi  
27.01.2021

Oturum Saati  
14:00

Oturum Sayısı  
2021/02

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 27.01.2021 tarihinde saat 14:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt Sinan OCAK tarafından yürütülecek olan "Besin Takviyesi Uygulaması İle Konak Modülasyonu Sağlanarak Apikal Periodontitise Bağlı İnflamasyon / Rezorpsiyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" başlıklı araştırma projesinin başlığının "Besin Takviyesi Uygulamasıyla Sağlanan Konak Modülasyonu İle Apikal Periodontitis Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" şeklinde değiştirilmesi talebiniz görüşülmüş ve uygun olduğuna oybirliğiyle karar verilmiştir.

**Kurul Üyeleri:**

Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Prof. Dr. Gülşem ÖKSÜZTEPE  
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT  
Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA  
Doç. Dr. Serkan DÜNDAR (Katılmadı)  
Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR  
Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT  
Vet. Hek. Ebru GÖKDERE  
Onur UYGUR (Bulunmadı)  
Murat DAĞHAN (Bulunmadı)

Başkan  
E-İmzalıdır  
Prof. Dr. Mustafa İSSİ  
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Gülşem ÖKSÜZTEPE

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA

Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR

Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT

Ebru GÖKDERE

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

## Ek 2. Orjinallik Raporu

### BESİN TAKVİYESİ UYGULAMASIYLA SAĞLANAN KONAK MODÜLASYONU İLE APİKAL PERİODONTİTİS ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

#### ORJİNALLIK RAPORU

% <b>12</b>	% <b>11</b>	% <b>3</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> İnternet Kaynağı	% <b>4</b>
<b>2</b>	Submitted to Fırat Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>3</b>	<a href="http://www.koruoba.com">www.koruoba.com</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<a href="http://veteriner.fusabil.org">veteriner.fusabil.org</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	Dehao Li, Zilin Lin, Qingyi Meng, Kun Wang, Jiajia Wu, Hongda Yan. "Cannabidiol administration reduces sublesional cancellous bone loss in rats with severe spinal cord injury", European Journal of Pharmacology, 2017 Yayın	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080">acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

[dergipark.org.tr](http://dergipark.org.tr)