



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLUŞTURULAN DİYABET VE
PERİODONTİTİSTE PROPOLİSİN ALVEOLAR KEMİK
YIKIMI VE PLAZMA SİTOKİN DÜZEYİNE ETKİSİ**

**Hazırlayan
Cüneyt Asım ARAL**

**Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM**

Doktora Tezi

**Aralık 2012
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLUŞTURULAN DİYABET VE
PERİODONTİTİSTE PROPOLİSİN ALVEOLER KEMİK
YIKIMI VE PLAZMA SİTOKİN DÜZEYİNE ETKİSİ**

**Hazırlayan
Cüneyt Asım ARAL**

**Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM**

Doktora Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TSD-10-3270 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2012
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Cüneyt Asım Aral

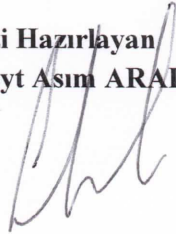
İmza :



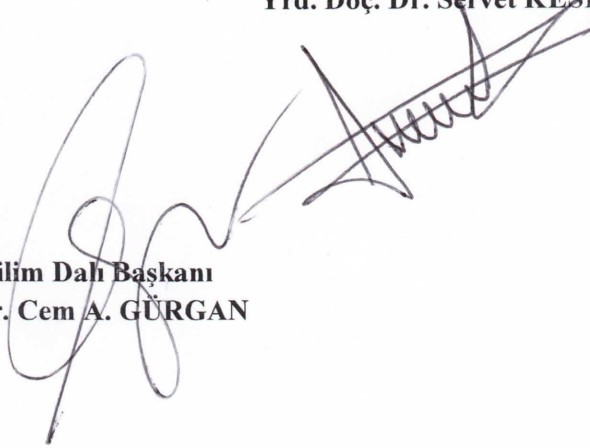
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Deneysel Oluşturulan Diyabet ve Periodontitiste Propolisın Alveolar Kemik Yıkımı ve Plazma Sitokin Düzeyine Etkisi" adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

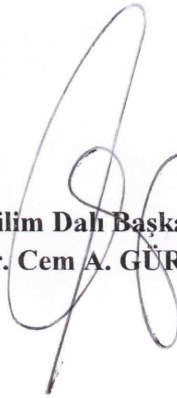
Tezi Hazırlayan
Cüneyt Asım ARAL



Danışman
Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM



Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Cem A. GÜRGAN



Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM danışmanlığında Dt. Cüneyt Asım ARAL tarafından hazırlanan “Deneysel Oluşturulan Diabet ve Periodontitiste Propolisın Alveoler Kemik Yıkımı ve Plazma Sitokin Düzeyine Etkisi ” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

20 / 12 / 2012

JÜRİ:

Üye : Doç. Dr. Esra BALTACIOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM

Üye : Doç. Dr. B. Arzu ALKAN

Üye : Prof. Dr. Cem A. GÜRGAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan Önder GÜMÜŞ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve doktora eğitimim sırasında ve klinik vakalarımnda yardımlarını, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen ve bana yol gösteren değerli danışmanım Sayın Dr. Servet KESİM hocama en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez izleme komitemde bulunan ve hem klinik hem de akademik çalışmalarımnda önderliğini, klinik ve akademik bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Dr. Arzu ALKAN hocama minnet duyar ve teşekkürü borç bilirim. Eğitimimde yakın ilgi ve desteğiyle yanımda olan hocam Sayın Dr. Cem A. GÜRGAN hocama en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deneyssel çalışmalarım sırasında beraber çalıştığım ve manevi desteğini esirgemeyen Sayın Dt. Kübra TARHAN'a ve çalışmalarımnda yardımcı olan Sayın Dt. Ömer ÇAKMAK ve Sayın Dt. Mehmet KARA'ya teşekkür ederim. Tez çalışmamın histolojik kesitlerinin hazırlanmasında ve histomorfometrik ölçümlerde yardımlarından dolayı Sayın Esra BALCIOĞLU'na ve Sayın Dr. Birkan YAKAN'a teşekkür ederim. Tezimin biyokimyasal analizinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Aysun ÇETİN'e ve Sayın Dr. Recep SARAYMEN'e teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmamın istatistiksel analizini yapmama yardımcı olan Sayın Dr. Ferhan ELMALI'ya teşekkür ederim. Tezimde kullandığım Propolis'in temininde yardımcı olan Sayın Dr. Sibel SİLİCİ'ye teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: TSD-10-3270) teşekkür ederim.

Cüneyt Asım ARAL
Kayseri, Aralık 2012

**Deneysel Oluşturulan Diyabet ve Periodontitiste Propolisin Alveoler Kemik Yıkımı
ve Plazma Sitokin Düzeyine Etkisi**

Cüneyt Asım ARAL

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Periodontoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Aralık 2012

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Servet KESİM

KISA ÖZET

Periodontitis ve diabetes mellitusun ikisi de sistemik inflamasyona neden olabilen inflamatuvar hastalıklardır ve karşılıklı olarak birbirlerinin şiddetini etkileyebilirler. Bu çalışmanın amacı ratlarda ligatürle oluşturulmuş periodontitis ve / veya streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetin ve sistemik propolis tedavisinin: 1) plazma IL-1 β , TNF- α ve MMP-8 seviyelerine; 2) ve alveolar kemik kaybı, kilo kaybı ve kan glukoz düzeylerine etkilerini incelemektir.

Hayvanlar eşit sayıda 7 deney grubuna ayrılmıştır: 1) Negatif-Kontrol (NK), 2) Periodontitis (P), 3) Diyabet (D), 4) Diyabet + Periodontitis (DP), 5) Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (P100), 6) Diyabet + Propolis 100 mg/kg (D100), 7) Diyabet + Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (DP100). Periodontitis maksiller 1. molar dişlere ligatür yerleştirilmesiyle, diyabet ise streptozotosin enjeksiyonu ile oluşturuldu. 21. günde plazma elde edilerek sitokin ve MMP-8 seviyelerinin incelenmesi için ELISA analizi yapıldı. Alveolar kemik kaybının ölçümü için histomorfometrik analiz kullanıldı.

NK grubuna kıyasla tüm gruplarda daha fazla alveolar kemik kaybı izlendi ($p < 0.05$). DP grubu D grubuna ($p < 0.05$) ve P grubuna ($p > 0.05$) kıyasla daha fazla kemik kaybı gösterdi. P100 ve DP100 grupları arasında fark bulunmazken ($p > 0.05$), her iki grupta da D100 grubuna göre daha fazla kemik kaybı gözlemlendi ($p < 0.05$). Tedavi olan ve olmayan gruplarda kemik kaybı açısından anlamlı fark sadece P ile P100 grupları arasında izlendi ($p < 0.05$). DP ve D gruplarının kan glukoz düzeyleri P grubuna göre daha yüksekti ($p < 0.05$) ve tedavi grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Plazma IL-1 β , TNF- α ve MMP-8 seviyeleri gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark göstermedi ($p > 0.05$). Deney süresince izlenen kilo kaybı ile plazma TNF- α arasında korelasyon bulundu ($r=-0.275$, $p=0.040$).

Deneyisel oluşturulan periodontitis ve diyabette plazma IL-1 β ve MMP-8 seviyeleri deney grupları arasında istatistiksel anlamlı değişiklik izlenmedi. Plazma TNF- α seviyeleri gruplar arasında anlamlı fark oluşturmazken, streptozotocin ile oluşturulmuş kontrolsüz diyabette görülen kilo kaybı ile ters korelasyon gösterdi. Propolis tedavisi ligatürle oluşturulan periodontitiste görülen alveoler kemik kaybını azalttı, fakat sadece streptozotocin ile oluşturulan diyabette (D grubu) görülen periodontal kemik kaybına etki göstermedi.

Anahtar Kelimeler: Periodontitis; diabetes mellitus; alveolar kemik kaybı; sitokin; matriks metalloproteinaz-8; propolis

The Effects of Propolis on Plasma Proinflammatory Cytokine Levels and Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis and Diabetes Mellitus

Cüneyt Asım ARAL

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Periodontology

Doctorate Thesis, December 2012

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Servet KESİM

ABSTRACT

Periodontitis and diabetes mellitus are both inflammatory diseases that can contribute to systemic inflammation and may reciprocally affect the severity of the other. The aim of this study was to evaluate the effects of ligature-induced periodontitis and / or streptozotocin-induced diabetes and systemic anti-inflammatory propolis treatment on 1) plasma levels of IL-1 β , TNF- α and MMP-8; 2) and alveolar bone loss, weight loss and plasma levels of glucose.

Fifty-six Wistar rats were divided equally into seven groups: 1) Negative-Control (NC), 2) Periodontitis (P), 3) Diabetes (D), 4) Diabetes + Periodontitis (DP), 5) Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (P100), 6) Diabetes + Propolis 100 mg/kg (D100), 7) Diabetes + Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (DP100). Periodontitis was induced by ligature placement and diabetes was induced by streptozotocin injection. On day 21 plasma was obtained for analysis using ELISA. Alveolar bone loss was evaluated using histomorphometric analysis.

All groups showed significantly more alveolar bone loss compared to NC ($p < 0.05$). DP showed greater bone loss compared to D ($p < 0.05$), and P ($p > 0.05$). There was no statistically difference between P100 and DP100 ($p > 0.05$) and they showed significantly more bone loss compared to D100 ($p < 0.05$). A significant difference in bone loss was found only between P100 and P ($p < 0.05$) between treatment and non-treatment groups. DP and D showed greater blood glucose values compared to P ($p < 0.05$) and there were no significant differences between treatment groups ($p > 0.05$). Plasma IL-1 β , TNF- α and MMP-8 levels were not significantly different between groups ($p > 0.05$). A correlation was found between weight change and TNF- α ($r=-0.275$, $p=0.040$).

Plasma IL-1 β and MMP-8 levels showed no statistically significant changes in experimental periodontitis and diabetes. Plasma TNF- α showed no statistically significant changes among groups, however there was a negative correlation between plasma TNF- α levels and weight loss that was seen at the onset of uncontrolled diabetes mellitus. Propolis treatment reduced alveolar bone loss in ligature induced periodontitis, however did not affect alveolar bone loss that was seen in streptozotocin-induced diabetes mellitus.

Key Words: Periodontitis; diabetes mellitus; alveolar bone loss; cytokines; matrix metalloproteinase-8; propolis

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR	xii
TABLolar LİSTESİ	xiv
RESİMLER LİSTESİ	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.PERİODONTAL HASTALIK	3
2.1.1.Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	3
2.1.2.Periodontal Hastalığın Patogenezi	7
2.1.3.Sitokinler ve Mediatörler	10
2.1.3.1.Sitokin ve Mediatörlerin Sınıflandırılması	12
2.1.3.2.Tümör Nekrotizan Faktör ve İnterlökinler	13
2.1.3.3.Matriks Metalloproteinazlar	17
2.1.4.Periodontal Hastalığın Tedavisi ve Konak Modülasyonu	20
2.2. DİABETES MELLİTUS	22
2.2.1. Diabetes Mellitus Sınıflandırılması	22
2.2.2.Diabetes Mellitus Patogenezi	25
2.3. PERİODONTİTİS ve DİABETES MELLİTUS ARASINDAKİ İLİŞKİ	29
2.4.DENEYSEL PERİODONTİTİS ve DİABETES MELLİTUS OLUŞTURMAYÖNTEMLERİ	31

2.4.1.Deneysel Periodontitis Oluşturma Yöntemleri	31
2.4.2.Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturma Yöntemleri	33
2.5. PROPOLİS	35
2.5.1.Propolis Bileşimi	35
2.5.2.Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	37
2.5.3.Propolisin Biyolojik Özellikleri	37
3.GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1.Çalışma Dizaynı	39
3.2.Çalışma Planı	40
3.3.Deneysel Periodontitis Oluşturulması.....	41
3.4.Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	41
3.5.Kan Glukoz Değerlerinin Belirlenmesi.....	41
3.6.Propolisin Hazırlanması ve Oral Gavajla Verilmesi.....	41
3.7.Kan Örneklerinin Alınması	43
3.8.ELISA Kitlerinin Uygulanması ve Plazma Sitokin ve MMP Seviyelerinin Belirlenmesi	50
3.8.Histolojik Örneklerin Hazırlanması ve Histolojik Analiz.....	50
3.9. İstatistiksel Analizler.....	51
4.BULGULAR	52
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	63
6.KAYNAKLAR	71
EKLER.....	101
ÖZGEÇMİŞ	102

KISALTMALAR

A. a	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
ADA	American Diabetes Association
AGE	Advanced Glication End Product
CDC	Centers for Disease Control
COX	Cyclooxygenase
DM	Diabetes Mellitus
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
PEE	Propolisin Etanolik Ekstratı
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
LPS	Lipopolisaccaride
MMP	Matrix Metalloproteinase
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
PGE	Prostaglandin
PMNL	Polymorphonuclear Leukocyte
P. g	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
RAGE	Receptor for Advanced Glycation End Products

T1DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TNF	Tumour Nnecrosis Factor
TNFR	Tumour Necrosis Factor Receptor

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Deneysel Periodontitis İçin Hayvan Modelleri.....	31
Tablo 2.2. Deneysel Periodontitis Oluşturma Modelleri	32
Tablo 2.3. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturma Modelleri.....	33
Tablo 3.1. Propolisin Ethanolik Ekstratı.....	42
Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri.....	58

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3.1. İntraperitoneal anestezi	44
Resim 3.2. Ağız açıklılığının sabitlenmesi	44
Resim 3.3. Ligatürlerin yerleştirilmesi.....	45
Resim 3.4. Ligatürlerin yerleştirilmesi.....	45
Resim 3.5. Kuyruk veninden kan örneği alınması	46
Resim 3.6. Glukometre ile kan glukoz değerinin analizi	46
Resim 3.7. İntragastrik gavaj uygulaması	47
Resim 3.8. Hayvanların bağlanarak sabitlenmesi	47
Resim 3.9. İntrakardiyak kan alınması.....	48
Resim 3.10. Alınan kan örneğinin heparinli tüpe aktarılması.....	48
Resim 3.11. Kan örneğinin santrifüje edilmesi	49
Resim 3.12. Elde edilen plazmanın ependorf tüplerine aktarılması.....	49
Resim 4.1. NK grubu, histolojik kesit örneği	54
Resim 4.2. P grubu, histolojik kesit örneği	55
Resim 4.3. D grubu, histolojik kesit örneği	55
Resim 4.4. DP grubu, histolojik kesit örneği	56
Resim 4.5. P100 grubu, histolojik kesit örneği	56
Resim 4.6. D100 grubu, histolojik kesit örneği	57
Resim 4.7. DP100 grubu, histolojik kesit örneği	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlığı değişimleri.....	59
Şekil 4.2. Grupların plazma glukoz değerleri	60
Şekil 4.3. Grupların alveoler kemik kayıpları.....	61
Şekil 4.4. Grupların Plazma IL-1 β seviyeleri.....	62
Şekil 4.5. Grupların Plazma TNF- α seviyeleri.....	62
Şekil 4.6. Grupların Plazma MMP-8 seviyeleri	62

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontitis; etkilenen bireyde periodontal cep formasyonu, klinik ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterize en yaygın görülen enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklardan birisidir (1). Periodontitiste görülen yumuşak ve sert doku kaybının sebebi, patojen bakteriyel plağa karşı konağın immüno-inflamatuvar yanıtının aşırı aktifleşmesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (2).

Diabetes mellitus insülin salınımında, insülin direncinde veya her ikisinde bozulma sonucu hiperglisemiyle karakterize olan bir sistemik hastalıktır. Tip 1 diyabet, pankreasın β -hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu oluşur. Tip 2 diyabet ise insülin moleküllerindeki defektten veya eksikliğinden ziyade hücre reseptörlerindeki değişikliğe bağlı olarak insülin fonksiyonundaki bozukluklardan kaynaklanır (3). CDC'nin (Centers for Disease Control and Prevention) 2010 veritabanına göre ABD'de toplumun % 8.3 ünü oluşturan yaklaşık 25.8 milyon birey diabetes mellitustan etkilenmiştir ve bunların % 27 si teşhisi konulmamış, kontrolsüz vakalardan oluşmaktadır (4, 5). Periodontal hastalık, diabetes mellitusun, retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar ve yara iyileşmesinde bozulma gibi komplikasyonların ardından 6. komplikasyonu olduğu bilinmektedir (6).

Periodontal hastalık ve diabetes mellitus kronik inflamatuvar hastalıklardır ve inflamasyon her ikisinin de patogeneplerinde önemli rol oynar (7). Diyabete bağlı sitokin dengesizliğin patogenezi hala açıklığa kavuşmamıştır (8). Ayrıca deneysel periodontitis oluşturulmasında farklı modellerin hem lokal, hem de sistemik sitokin üretimine etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (9).

Propolis 300 farklı bileşikten oluşan kompleks bir karışımdır (10). Oldukça zengin biyolojik özelliklerinden dolayı bilimsel araştırmalarda dikkatleri üzerine çeken propolisin anti-inflamatuvar ve immüno-modülatör (11) ve kemik rezorpsiyonunu önleyici (12) etkileri gösterilmiştir. Konak modüle edici ajanların tedaviye ek olarak kullanılması tedavi yanıtının öngörülebilirliğini artırabilir ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatabilir.

Bu çalışmanın amacı ratlarda ligatürle oluşturulmuş periodontitis ve / veya streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetin ve sistemik propolis tedavisinin: 1) plazma IL-1 β , TNF- α ve MMP-8 seviyelerine; 2) ve alveolar kemik kaybı, kilo kaybı ve kan glukoz düzeylerine etkilerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.PERİODONTAL HASTALIK

Periodontitis; etkilenen bireyde periodontal cep formasyonu, klinik ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterize en yaygın görülen enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklardan birisidir (1). Periodontitiste görülen yumuşak ve sert doku kaybının sebebi, patojen bakteriyel plağa karşı konağın immüno-inflamatuvar yanıtının aşırı aktifleşmesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (2).

2.1.1.Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal dokuları ilgilendiren hastalık sınıflandırması 1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından şu şekilde düzenlenmiştir (13, 14)

A. DIŞ ETİ HASTALIKLARI

a. Plağa Bağlı Dişeti Hastalıkları

i. Yalnızca Plağa Bağlı Gingivitisler

ii. Sistemik Faktörlerle Modifiye Edilen Gingivitisler

1. Hormonal Durumla İlgili Olanlar

a. Puberte Gingivitis

b. Menstrasyon Dönemi ile Birlikteki Gingivitis

c. Gebelik

i. Gebelik Döneminde Gözlenen Gingivitis

ii. Gebelik Döneminde Gözlenen Piyojenik Granüloma

d. Diabetes Mellitus ile Birlikteki Gingivitis

2. Kan Hastalıkları ile İlgili Olanlar

a. Lösemi ile Birlikteki Gingivitis

iii. İlaçlarla Modifiye Edilen Gingivitisler

1. İlaça Bağlı Dişeti Hastalıkları

a. İlaça Bağlı Dişeti Büyümeleri

b. İlaça Bağlı Gingivitisler

iv. Yanlış Beslenme ile Modifiye Edilen Gingivitisler

1. Askorbik Asit Eksikliği

b. Plağa Bağlı Olmayan Dişeti Hastalıkları

i. Spesifik Bakteriyel Kaynaklı Dişeti Hastalıkları

1. *Neisseria gonorrhea* ile Birlikteki Lezyonlar
2. *Treponema pallidum* ile Birlikteki Lezyonlar
3. Streptokoklar ile Birlikteki Lezyonlar
4. Diğerleri

ii. Viral Kaynaklı Dişeti Hastalıkları

1. Herpes Virüs Enfeksiyonları
 - a. Primer Herpetik Gingivostomatitis
 - b. Rekürrent Oral Herpes Lezyonları
2. Varicella-Zoster Enfeksiyonları
3. Diğerleri

iii. Fungal Kaynaklı Dişeti Hastalıkları

1. Candida Enfeksiyonları
 - a. Generalize Gingival Candidiasis
2. Linear Gingival Eritem
3. Histoplasmosis
4. Diğerleri

iv. Genetik Kökenli Dişeti Lezyonları

1. Herediter Gingival Fibromatosis
2. Diğerleri

v. Sistemik Hastalıkların Dişeti Yansımaları

1. Müköz Membrandaki Değişiklik Oluşturanlar
 - a. Liken Planus
 - b. Pemfigoidler
 - i. Büllöz Pemfigoid
 - ii. Müköz Membran Pemfigoidi
 - c. Pemfigus Vulgaris
 - d. Eritema Multiforme
 - e. Lupus Eritematosus
 - f. İlaçların Yan Etkileri
 - g. Diğerleri
2. Allerjik Reaksiyonlar

a. Restoratif Diş Hekimliğinde Kullanılan Malzemeler

- i. Civa
- ii. Nikel
- iii. Akrilik
- iv. Diğerleri

b. Reaksiyon Oluşturan Diğer Malzemeler

- i. Diş Macunu
- ii. Ağız Gargarası
- iii. Sakızlarda Kullanılan Malzemeler
- iv. Diğerleri

vi. Travmatik lezyonlar

- 1. Kimyasal
- 2. Fiziksel
- 3. Termal

B. KRONİK PERİODONTİTİS

C. AGRESİF PERİODONTİTİS

- a. Lokalize Agresif Periodontitis
- b. Generalize Agresif Periodontitis

D. SİSTEMİK HASTALIKLARLA BİRLİKTEKİ PERİODONTİTİSLER

- a. Kan Hastalıklarıyla Birlikte Görülen Periodontitisler
 - i. Kazanılmış Nötropeniler
 - ii. Lösemiler
- b. Genetik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitisler
 - i. Ailevi ve Siklik Nötropeniler
 - ii. Down Sendromu
 - iii. Lökosit Adezyon Eksikliği
 - iv. Papillon-Lefevre Sendromu
 - v. Chediak-Higashi Sendromu
 - vi. Histiositozis Sendromları
 - vii. Glikojen Depo Hastalığı
 - viii. İnfanıl Genetik Agranülositozis
 - ix. Cohen Sendromu

x. Ehlers-Danlos Sendromu

xi. Hipofosfatazi

E. NEKROTİZAN PERİODONTAL HASTALIKLAR

a. Nekrotizan Ülseratif Gingivitis

b. Nekrotizan Ülseratif Periodontitis

F. APSELER

a. Dişeti Apsesi

b. Periodontal Apse

c. Perikoronar Apse

G. ENDODONTİK LEZYONLARLA BİRLİKTEKİ PERİODONTİTİSLER

a. Kombine Periodontal - Endodontik Lezyonlar

H. GELİŞİMSEL VEYA KAZANILMIŞ DEFORMİTE VE DURUMLAR

a. Gingival veya Periodontal Hastalığa Karşı Modifiye veya Predispoze Eden Lokalize Dişsel Faktörler

i. Dişlerdeki Anatomik Faktörler

ii. Dental Uygulamalar

iii. Kök Kırıkları

iv. Servikal Kök Rezorpsiyonları ve Sement Yırtılmaları

b. Dişler Çevresindeki Mukogingival Deformite ve Durumlar

i. Dişeti Çekilmesi

ii. Keratinize Dişeti Yetersizliği

iii. Gingival Ataşmanın Azalması

iv. Dil veya Dudak Frenilumunun Anormal Lokalizasyonu

v. Dişeti Büyümesi

1. Pseudo Cep

2. Dişeti Kenarının Düzensizliği

3. Dişeti Hiperplazisi

vi. Anormal Boyanma

c. Dişsiz Bölgelerdeki Mukogingival Deformite ve Durumlar

i. Vertikal ve / veya Horizontal Alveoler Kret Kaybı

ii. Keratinize Dişeti Yetersizliği

iii. Dişeti Büyümeleri

iv. Dil veya Dudak Frenilumunun Anormal Lokalizasyonu

- v. Vestibüler Derinliğin Azalması
- vi. Anormal Boyanma
- d. Okluzal Travma
 - i. Primer Okluzal Travma
 - ii. Sekonder Okluzal Travma

2.1.2.Periodontal Hastalığın Patogenezi

Periodontitis patogenezinin ilk modeli non-spesifik plak hipotezi (15), bakterilerin periodontal hastalığa neden oldukları tezi üzerine kurulmuştur (16). İlk modelin ortaya atılmasından günümüze kadar yapılan araştırmalar yeni modellerin oluşturulmasına yol açmıştır. Son olarak 1997’de ileri sürülen görüşe göre, konağa ait immüno-inflamatuvar mekanizmalar bakteri ürünleri tarafından aktive edilirler. Bu şekilde uyarılan konak cevabı dişeti cebindeki mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyebilmek için polimorfonükleer lökosit ve antikor aktivasyonunu sağlar. Ayrıca, sitokinler, prostanooidler ve matriks metalloproteinazlar da konak savunması tarafından aktive edilerek inflamatuvar sürece katılırlar. Bu aktivasyon sonucunda hastalığın klinik görünümünün ortaya çıkmasına neden olan bağ dokusu ve kemik yıkımı meydana gelir.

Enflamatuvar sürecin başlangıcından itibaren diş etinde görülen histo-patolojik değişiklikler şu şekilde açıklanabilir (17-24) :

Dişler temizlendikten kısa bir süre sonra diş yüzeyi tükürükte bulunan glikoprotein içerikli pelikulla kaplanır. Birkaç saat içinde Gram (+) fakültatif aerob bakterilerin, diş yüzeyindeki pelikulla tutunarak kolonize olduğu görülür.

İlk kolonize olan bakteriler *Streptococcus sanguis* ve *Actinomyces viscosus* 'tur. Bakterilerin sayı ve çeşitliliğinde artışla oluşan biyofilm tabakada zaman içinde Gram (-) flora baskın hale gelir. *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Prevotella intermedia* gibi diğer bakterilere bağlanabilen türlerin de katılmasıyla sekonder kolonizasyon başlar ve plak maturasyonu tamamlanır.

Eğer bu aşamada plak uzaklaştırılmazsa, dişetinde inflamasyonun belirtileri görülmeye başlar. Bazı bireylerde lezyonlar dişeti kenarında sınırlı kalırken, duyarlı bireylerde inflamasyon, periodonsiyumun derinlerine ilerler. Bu durum periodontal hastalığın

yayılım ve şiddetinin, konağın virülans faktörlerine olan cevabıyla ilişkili olduğuna işaret etmektedir.

Gingival dokulara yakın diş yüzeyinde plak formasyonu, oral sulküler ve birleşim epiteli hücrelerini enzimler, metabolik artıklar ve kolonize bakterilerin yüzey komponentleriyle karşı karşıya getirir. Mikrobiyal ürünler tarafından epitel hücrelerinin uyarılması ile proinflamatuvar sitokinler ve inflamasyonun diğer kimyasal mediyatörleri ortama salınır. Bu mediyatörler, gingival dokularda inflamatuvar cevap oluşumunu tetiklemektedir.

Plak birikimini takiben 24 saat içinde birleşim epiteline yakın mikrovasküler pleksusta histopatolojik değişiklikler başlar. Arteriol, kapiller ve venüllerde genişleme sonucu artan basınç, endotel hücreleri arasındaki mesafe artışına yol açar. Vazoaktif aminler ve prostaglandinlerin etkisiyle meydana gelen damar geçirgenliğindeki artış sonucu, dokuya sıvı ve proteinlerin geçişi olur. Lezyon genişledikçe meydana gelen dişeti oluğu sıvısı (DOS) artışıyla, doku ve dişeti oluğunda bulunan mikroorganizma ve ürünlerini uzaklaştırmak amaçlanır. Plak gelişiminden sonra 2-4 gün içinde gelişen başlangıç lezyonunda damarsal değişiklikler ile gingival sulkusa lökosit göçü gözlenir.

Plak birikiminden 4-7 gün sonra görülen erken lezyonda histolojik olarak birleşim epiteline yakın damarlarda genişleme hala vardır. Fakat daha fazla kapiller yatak olaya katılmıştır. Bu aşamada dişeti bağ dokusunda polimorfonükleer lökosit (PMNL) ve lenfositler baskındır, ek olarak çok az sayıda plazma hücresi de bulunur. Lezyonda fibroblast dejenerasyonu ve kollajen yıkımı ile daha fazla lökosit için yer oluşturulur. Bu aşamada, dişetinde kızarıklık, şişlik ve hafif sondalamada kanama gibi gingivitisin klinik belirtileri artık gözle görülebilmektedir.

Plak birikiminden sonra 7-21 gün içinde gelişen yerleşmiş lezyonda, plazma hücreleri baskındır. Bu hücreler, esas olarak bağ dokunun koronalinde ve damarların çevresinde bulunur. Plazma hücrelerinden üretilen antikörlerin, mikroorganizma agregasyonu, bakterilerin epitele adezyonunu önleme, komplemanla birlikte bakteri lizisinde görev alma ve fagositozda opsonizasyonu sağlama gibi fonksiyonları vardır. Antikor cevabının yeterli olması periodontitise direnç açısından büyük önem taşımaktadır.

Dişeti bağ dokusunda %70'e varan kollajen kaybı, lateral ve apikal yönde devam etmektedir. Epitelyal ataşmanın apikale göçü sonucunda cep formasyonu meydana gelir. Yer yer ülserasyonların da görüldüğü cep epitelinin geçirgenliği yüksek oranda artmıştır.

Yerleşmiş lezyon ilerlemeden aylarca hatta yıllarca stabil kalabilir. Bazı bireylerde ise daha aktif hale geçerek ilerlemiş lezyona dönüşür. Bu devrede infiltratın apikale doğru ilerlemesiyle, kemik dokusunda rezorpsiyon başlar. Oluşan boşluk vasküler yapılardan zengin ve yüksek oranda antikör üreten plazma hücrelerini içeren granülasyon dokusuyla işgal edilir. Cep epiteline komşu alanlarda kollajen yıkımı devam ederken uzak alanlarda fibrozis görülür. İnflamatuar hücre infiltratında bulunan birçok hücrenin ürettiği yıkıcı enzimler ve sitokinler direk veya indirekt bağ doku ve kemik yıkımında rol oynamaktadır. Plak uzaklaştırılmazsa, mikroorganizmaların enzim ve metabolitlerine karşı konak cevabı devam eder. Periodontal cepte derinleşme, kemik ve periodontal ligament yıkımında artış sonucu diş destekleyen dokuların ortadan kalkmasıyla diş kaybedilir.

Enflamatuar süreçte diş etinde görülen immünolojik değişiklikler şu şekilde açıklanabilir:

Mikrobiyal ürünler tarafından epitel hücrelerinin uyarılması ile proinflamatuar sitokinler ve inflamasyonun diğer kimyasal mediyatörleri ortama salınır. Bu mediyatörler, gingival dokularda inflammatuar cevap oluşumunu tetiklemektedir.

Gingival sulkustan bağ dokusuna geçen ilk bakteriyel ürünler, aminler, hidrojen sülfür gibi düşük moleküler ağırlıklı olanlardır. Bu moleküller, birleşim epitelinin geçirgenliğini arttırarak, yüksek molekül ağırlıklı bakteriyel antijenler ve lipopolisakkaritlerin (LPS) dokuya girişini sağlarlar.

LPS gibi bakteriyel ürünler ve İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) ve Tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α) gibi proinflamatuar sitokinler damar endotelinden ve dolaşımdaki inflammatuar hücre yüzeylerinden adezyon moleküllerinin salınımını aktive eder. E-selektin ve (Intercellular Adhesion Molecule 1) (ICAM-1) gibi adezyon moleküllerinin yönlendirmesiyle, damarlardan önce nötrofillerin yani PMNL'lerin,

takiben monosit ve lenfositlerin gingival sulkusa ve dişeti bağ dokusuna doğru kemotaktik geçişi artar.

Kemotaktik faktörler, mikrobiyal protein ve peptitlerin yanı sıra, kemokinler (IL-8 vb), PMNL ürünleri (lökotrien B4 vb) ve kompleman sistem komponentleri (C5a vb) gibi konak kaynaklı moleküllerdir. PMNL'ler gingival sulkusta yüksek sayılara ulaştığında ve bakteri fagositozuna başladığında kompleman ve antikorlarca desteklenir.

Makrofajlar bakteri ve ürünlerini ortadan kaldırmanın yanı sıra gingival sulkusta ölen ve ölmekte olan PMNL'leri ve ürünlerini de fagosit ederler. Böylece PMNL degranülasyonu sonucu, enzimlerinin ortama kontrolsüz salınımı engellenmiş olur. Makrofajlar, antijenlerin tanınması, immün cevabın oluşması ve proinflamatuvar sitokinlerin sentezi gibi fonksiyonlara sahiptirler.

B ve T lenfositlerin immün fonksiyonları dişeti bağ dokusunda makrofajların antijen sunumu ile gerçekleşmektedir. Lenfositler, bağ dokuda kalarak fonksiyonlarını sürdürebilmek için CD44 reseptörlerini ve çok sayıda doku adezyon molekülünü eksprese ederler. T lenfositleri tarafından, sitokinler veya hücre-hücre kontağı yoluyla uyarılan B lenfositler, klonal ekspansiyon sonucunda plazma hücrelerine dönüşürler ve antikor üretimine başlarlar. T lenfositler, humoral cevaba yardımcı olur ve mikrobiyal antijene karşı hücresel cevabı oluştururlar.

2.1.3.Sitokinler ve Mediatörler

Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, inflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenlerler. Sitokinlere başlangıçta, sadece lenfositlerin kaynağı olduğu sanıldığından lenfokin adı verilmiştir. Daha sonra monositlerin de bu faktörleri ürettiği anlaşılmış ve monokin ismi kullanılmıştır. Bugün bu mediatörlerin sadece lenfoid hücreler tarafından salgılanmadığı görülmüş ve sitokin ismi daha çok kullanılmaya başlanmıştır.

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin ortak birçok özellikleri vardır (25, 26).

- Sitokinler doğal ve kazanılmış immunitenin efektör fazında üretilirler ve bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar. Doğal bağışıklıkta lipopolisakkarid gibi mikrobik ürünler mononükleer fagositleri direkt olarak uyararak kendi sitokinlerini salgılatırlar. T hücrelerinden salgılanan sitokinler antijenlerin tanınmasıyla üretilirler.
- Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve sitokinler bir kez sentezlendiğinde hızla salınırlar.
- Sitokinler birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe "pleiotropizm" denir.
- Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı bir çok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir (dakikalar, saatler, günler).
- Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkiler; ikinci, üçüncü sitokin, birinci sitokinin biyolojik etkisine ortam hazırlayabilir.
- Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize eder veya destekleyici etki gösterebilir. Ya da bazı durumlarda sinerjistik etki gösterebilirler.
- Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler etkileri vardır ve özel olarak sitokinleri ve büyüme faktörlerini tanır ve bağlarlar.
- Söz konusu hücre sitokini salgılayan hücrenin kendisi (otokrin etki) veya komşu hücre (parakrin etki) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (endokrin etki).
- Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından üretilir.
- Sitokinlere verilen hücresel yanıtların çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir.
- Bir çok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler.

2.1.3.1.Sitokin ve Mediatörlerin Sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler 4 gruba ayrılırlar (25, 26).

- 1) Doğal immüniteye aracılık eden sitokinler, viral enfeksiyonlara ve bakterilere karşı korumayı sağlamak için inflamatuvar reaksiyonları başlatan sitokinlerdir.
 - Tip I interferonlar (IFN)
 - TNF
 - IL-1
 - IL-6
 - Kemokinler
- 2) Lenfosit aktivasyonu, büyüme ve farklılaşma düzenleyen, T lenfositlerin özel antijenleri tanımalarına yardımcı olan sitokinler.
 - IL-2 (T-hücresi büyüme faktörü)
 - IL-4 (IgE sentez düzenleyicisi)
 - TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü- β)
- 3) Bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler. Bu grup sitokinler antijenle uyarılmış CD4 + ve CD8 + T lenfositler tarafından uyarılırlar ve inflamatuvar lökositleri aktive ederler. Bu hücrelerin T hücresi regülasyonuna girmesini sağlarlar.
 - IFN- γ (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)
 - Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
 - IL-10 (Mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)
 - IL-5 (Eosinofil aktivatörü)
 - IL-12 (Naturel Killer (NK) ve T hücre stimülatörü)
- 4) İmmatür lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden mediatörler.
 - c-kit-ligand
 - İnterlökin-3 (Koloni stimüle eden faktör)
 - Granulosit-makrofaj koloni stimülatör faktör (GM-CSF)
 - Monosit-makrofaj koloni stimülatör faktör (M-CSF)
 - Granulosit koloni stimülatör faktör (G-CSF)
 - IL-7
 - IL-9

- IL-11

2.1.3.2. Tumor Nekrotizan Faktör ve İnterlökinler

Tumor Nekrotizan Faktör (TNF), konak hücrelerin gram (-) bakterilere karşı esas mediatörüdür. Diğer infeksiyöz organizmalara karşı yanıtta da rol oynar. TNF'nin hücresel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. T hücreleri, aktif Natural Killer (NK) hücreleri ve aktive mast hücreleri de bu proteini salgılar. İnsan TNF'si nonglikolize bir transmembran protein olup, molekül ağırlığı 17 kD dir. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (Kaşektin) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin) dir (25, 26).

İki tip TNF reseptörü vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNFR Tip I (75-80 kDa) ile T hücre proliferasyonuna neden olan TNFR- Tip II (55-60 kDa) dir. Buna ek olarak TNF reseptörlerinin çözünebilen formları (sTNFR) da mevcuttur ve bunlar hücre yüzeyindeki TNF reseptörlerinin yıkımı sonucu ortaya çıkan proteinlerden kaynaklanırlar. sTNFR'lerin biyolojik önemi TNF ile etkileşip onun etkilerini bloke etmesidir (25, 26).

TNF düşük yoğunluklarda (yaklaşık 10^{-9} M'da) lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Düşük yoğunluklarda biyolojik etkileri şunlardır (25, 26):

- 1) TNF, lökositlere karşı endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri (ICAM-1 gibi) aracılığı ile daha etkileşebilir hale getirerek damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini açığa çıkarmalarına neden olur. TNF aynı zamanda nötrofillere de etki ederek endotel hücrelerinin adezyon özelliklerini artırır.
- 2) TNF, inflamatuvar lökositleri, özellikle de nötrofilleri, bakterileri öldürmesi için aktive eder.
- 3) TNF, IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.
- 4) TNF'nin, virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etkileri vardır.

TNF'nin biyolojik etkileri bakteri ve bakteri ürünlerine karşı verilen inflamatuvar yanıtta önemlidir. TNF'nin enfeksiyonlara karşı temel sistemik etkileri aşağıdaki gibidir (25-28):

TNF;

- 1) Endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Bu etkiyi IL-1 ile yapar. Ateşin TNF ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından arttırılan prostaglandin E2 (PGE2) senteziyle olur. Aspirin gibi prostaglandin sentez inhibitörleri, ateşi TNF ya da IL-1'in bu etkilerini bloke ederek düşürürler.
- 2) Mononükleer fagositler ve vasküler endotel hücrelere etki ederek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınmasını uyarır.
- 3) Hepatositlere etki ederek serum amyloid A ve P proteini, kompleman faktör 3 haptoglobulin, C reaktif protein (CRP) , a1 - asid glikoprotein, Faktör B gibi bazı akut faz proteinlerinin sentezini arttırır.
- 4) Damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder.
- 5) Kemik iliğini baskılayarak ana hücre bölünmesini engeller. Sürekli TNF verilmesi lenfopeni ve immün yetmezliğe neden olur.
- 6) Deney hayvanlarına uzun süre verildiğinde kaşektik metabolik değişikliklere neden olur. Kaşeksi, TNF ile uyarılan iştah azalması sonucu oluşur. TNF lipoprotein lipaz aktivitesini arttırır. TNF nin bizzat kendisi deney hayvanlarında kaşeksiye neden olurken, IL-1 gibi sitokinler tüberküloz ve kanser gibi kronik hastalıklarda kaşektik durumun oluşmasına katkıda bulunurlar. Gram negatif bakteriyel sepsis durumlarında çok yüksek miktarda TNF üretilir ve serum TNF yoğunluğu artar. Bu yoğunluktaki TNF, dolaşımda kollaps ve dissemine intravasküler koagülasyonuna neden olur. Yani TNF, septik ve endotoksik şokun önemli bir mediatörüdür. Yüksek düzeyde infüzyonu ölümcüldür ve şok benzeri bir sendrom oluşturur.

TNF'nin birçok özel etkileri, aşırı yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkan öldürücü etkilerine katkıda bulunmaktadır (25-28). Bunlar;

- 1) TNF, myokard kasılabilirliğini azaltarak doku perfüzyonunu azaltır. Bu etki, kardiyak miyositteki Nitrik Oksit Sentaz adlı enzimin etkisiyle argininin, sitrülün ve Nitrik Oksite dönüştürülmesi ve Nitrik Oksitin myokard kasılabilirliğini azaltmasıyla oluşur.
- 2) TNF, damar düz kaslarını gevşeterek kan basıncını ve doku perfüzyonunu azaltır. TNF bu etkilerini, hem düz kas hücrelerine direkt etki ederek ve hem de damar endotel hücreleri tarafından salgılanan prostasiklin ve NO gibi damar genişleticileri uyararak indirekt yoldan yapar.
- 3) TNF, intravasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır.
- 4) TNF ağır metabolik bozukluklara neden olabilir (örn: yaşamı sonlandıracak düşük kan glukoz düzeyinin oluşması. Bu etki, glukozun kas tarafından aşırı kullanımına ve karaciğer tarafından glukozun yerine koyulamamasına bağlıdır)

İnterlökin-1 (IL-1), timosit yanıtını yükseltgeyen, poliklonal aktivatör olarak mononükleer fagositlerden türeyen bir polipeptittir. IL-1'in temel kaynağı aktive mononükleer fagositlerdir. TNF gibi IL-1 de endokrin hormon gibi etki ederek gram (-) bakteriyel sepsisten sonra dolaşımda görülür. IL-1, mononükleer fagositlerden salgılanan 2 temel polipeptitten oluşur. Bunlardan biri IL-1 α diğeri IL-1 β 'dir. Bu ikisi iki farklı genin ürünüdür. Fakat her ikisi de aynı hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar ve biyolojik etkileri temelde özdeştir. IL-1 ailesinin üçüncü üyesine IL-1 reseptör antagonisti denir. IL-1 moleküllerinin çeşitli şekillerdeki fibroblast büyüme faktörü ile de yapısal ilişkisi vardır. Dolaşımdaki IL-1 aktivitesinin çoğu IL-1 β 'dir. İnterlökin 1 için iki farklı reseptör belirlenmiştir. Bunların her ikisi de immünoglobulin (Ig) üst familyasının üyeleridir (25, 26, 29).

IL-1'in biyolojik etkileri TNF ile benzerdir ve serbestleşen sitokin miktarına bağlıdır. Düşük yoğunlukta bölgesel inflamatuvar olaylara aracılık eder. Özel olarak IL-1, mononükleer fagositler ve damar endoteline etkiyle IL-1'in daha sonraki sentezini artırır ve IL-6'nın sentezini tetikler. IL-1, aynı zamanda TNF nin bir çok inflamatuvar özelliğini de paylaşır. Örneğin; IL-1 endotel hücrelerine etkiyle pıhtılaşmayı artırır. Lökositlerin bir araya yapışmasına aracılık eden yüzey moleküllerinin ekspresyonunu artırır. IL-1 direkt olarak nötrofil gibi inflamatuvar lökositleri aktive etmez. Mononükleer ve endotel hücrelerine etki ederek lökositleri aktive eden kemokinlerin sentezine neden olur (26, 27).

IL-1 daha yüksek miktarlarda salgılandığında, kan dolaşımına girer ve endokrin etkiler gösterir. Sistemik IL-1 ve TNF ile birlikte ateşin oluşumuna neden olur. Karaciğer tarafından akut faz proteinlerinin sentezini artırır ve metabolik zayıflamanın başlatılmasına neden olur (26, 28).

IL-1, kollajen doku üzerine etki ederek osteoklastik aktiviteyi artırır ve böylece kemik turnoverinin artmasına neden olur. Osteoblastlarda ise alkalen fosfataz aktivitesini artırır. Fibroblastların ve sinovial hücrelerin proliferasyonunu sağlar. IL-1, kemik iliğinde hemopoetik hücrelere etki ederek yüksek proliferatif kapasite gösteren kolonilerin oluşumunu sağlar, TNF ile birlikte nötrofiliye neden olur. IL-1 etkileri ile TNF etkileri büyük benzerlik gösterir (25, 26).

IL-1, doğal olarak var olan sitokinler içinde günümüzde bilinen tek sitokindir. Bu sitokinlerin iyi tanımlanmasının nedeni insan mononükleer fagositleri tarafından üretilmeleridir. Doğal olarak var olan sitokinler, yapısal olarak IL-1'e benzerler ve IL-1 reseptörlerine bağlanırlar. Biyolojik olarak inaktiftirler. Bu şekilde IL-1'i kompetitif olarak engelleyici etkileri vardır ve bu nedenle IL-1 reseptör antagonisti (IL-1-ra) olarak adlandırılırlar.

Periodontal alandaki bakterilerin direkt ve / veya indirekt etkileri sonucu konak dokuların savunma hücrelerinin inflame dokuya göçü gerçekleşmekte ve İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve Tümör Nekrotizan Faktör- α (TNF- α) gibi yüksek konsantrasyonlarda pro-inflamatuar sitokin üretimiyle sonuçlanmaktadır (30, 31).

IL-1 β ve TNF- α periodonsiyumdaki nötrofil, lenfosit, makrofaj, epitel hücreler ve fibroblastlar gibi birçok hücre grubundan sentezlenir (32). IL-1 β ve TNF- α öncül osteoklast hücrelerinin farklılaşmasını sağlayarak osteoklastların aktivasyonunu uyarır ve dolayısıyla bağ dokusu ve alveoler kemiğin rezorpsiyonunu başlatır (32, 33). Ayrıca, IL-1 β ve TNF- α kemik yıkımı sürecinde sinerjistik etki gösterirler (34). Bu sitokinlerin periodonsiyumdaki doku yıkımını ve hastalığın şiddetini göstermesindeki rolleri yoğun biçimde çalışılmıştır (35, 36).

Bu sitokinler ayrıca kemokinlerin üretimini de uyararak dolaşımdaki lökositlerin inflamasyonun bulunduğu yere göçünü sağlarlar ve böylece Matriks Metalloproteinaz-8

(MMP-8) gibi diğer inflamatuvar mediatörlerin salgılanmasının artmasına neden olurlar (37).

2.1.3.3.Matriks Metalloproteinazlar

Ekstrasellüler matriks proteinleri ve proteoglikanları içeren, organizmalara sadece yapısal destek sağlamakla kalmayıp aynı zamanda hücre proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonu ile birlikte yapışma, doku morfogenezisi gibi pek çok biyolojik aktivitede etkisi olan karmaşık ve dinamik bir oluşumdur. Bu yapı hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi sinyalleşme yolları ile direkt ya da indirekt olarak etkileşmesini sağlar. Matriks ile hücreler arasında meydana gelen bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynar (38).

Matriks metalloproteinazlar (MMP); ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. Çinko iyonu içermesi nedeniyle şelatlayıcı ajanlarla inhibe olabilirler. Latent formda salgılanırlar ve proteolitik aktivitelerini göstermeleri için aktive olmaları gereklidir. İn vitro olarak bazı bileşenlerle aktive olabilirler (39).

MMP'ler spesifik doku inhibitörleri ile (Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMP) inhibe olurlar. MMP'leri inhibe eden bazı faktörler mevcuttur. MMP'lerin spesifik doku inhibitörleri (TIMP) in vivo koşullarda bu enzimlerin aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar. MMPs ve TIMP arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmekte ve böylece bunlar arasındaki denge değişik patolojik durumların patogeneğinde önemli bir rol oynayabilmektedir (39, 40).

Matriks metalloproteinazlar dokunun yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli bir rol oynadıkları gibi tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar (38, 41-43).

MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi:

MMP'ler vasküler ekstrasellüler matriksin yıkımında esansiyel rol oynarlar. MMP'lerin tümü preproenzim olarak sentezlenir ve bunların çoğu inaktif latent zimojen form olan proenzim formunda salgılanır. Latent zimojenlerin aktivasyonu hücre içinde, MT-MMP'ler aracılığıyla hücre yüzeyinde, diğer proteazların etkisiyle ekstrasellüler aralıkta ya da "aktivasyon kaskadı" olarak adlandırılan şekilde ya da önceden aktive olmuş MMP'lerin diğerlerini aktive etmesiyle meydana gelebilir. MMP'lerin proteolitik aktiviteleri 3 basamakta düzenlenir. Bunlar transkripsiyon, pro-enzimin aktivasyonu ve enzim aktivitesinin inhibisyonudur (44, 45).

Transkripsiyonel Düzenleme:

MMP gen ekspresyonu tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) gibi inflamatuvar sitokinlerle, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi birçok büyüme faktörü ve hormonlar ile stimüle edilir. Transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostaglandin E2 (PGE2) ve diğer eikozanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu inhibe ederler. MMP transkripsiyonunda etkili olan birçok sitokin ve büyüme faktörünün ateroskleroz gibi değişimlerde önemli mediyatörler olarak görev yaptığı gösterilmiştir (46).

Proenzimin Aktivasyonu Aşamasında Düzenleme:

MMP'ler sentez edildikten sonra inaktif proenzim (zimojen) olarak salınırlar. Enzimin pro- bölgesindeki sisteinin sülfidril grubu ile aktif bölgedeki Zn^{++} arasındaki etkileşim latentliğin sürdürülmesinden sorumludur. MMP'lerin temel fizyolojik aktivatörü plazmindir. Çeşitli hücrelerde (endotel hücresi, monosit-makrofaj, düz kas hücresi) eksprese edilen ürokinaz-tip plazminojen aktivatörü (uPA)'nın aktif formunun plazminojeni plazmine dönüştürdüğü ve oluşan plazminin pro-MMP'leri aktive ettiği kabul edilmektedir (46). uPA ekspresyonunun steroid hormonlar, hücrel onkojenler, sitokin ve büyüme faktörleri aracılığıyla düzenlendiği gösterilmiştir (47). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), uPA üzerinde inhibitör etkilidir ve MMP'lerin plazmin aracılı aktivasyon kaskadı ile zıt yönde etkileşir (48).

MMP Enzim Aktivitesinin inhibisyonu:

MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri olan TIMP'ler anahtar rol oynarlar. Bundan başka α 2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alırlar (49).

TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir. Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. İnsanlarda TIMP-1, 2, 3 ve 4 olmak üzere bugüne dek tanımlanmış 4 TIMP türü bulunmaktadır. TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler (50).

TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler. Örneğin; Jelatinaz A (MMP-2) tercihen TIMP- 2 ile Jelatinaz B (MMP-9) ise TIMP-1 ile inhibe edilirler (50).

Son yıllarda özellikle makrofajlar tarafından gerçekleştirilen MMP sentezine PGE₂'ye bağlı bir yolun aracılık ettiği ve buna siklooksijenaz (COX) ve PGE sentaz (PGES) enzimlerinin katıldığı bildirilmiştir (51).

Matriks metalloproteinaz ailesinin önceden tanımlanmış 7 üyesine birçok yeni metalloproteinazların eklenmesi ile bugün 18 den fazla enzim bildirilmektedir. Matriks metalloproteinazların farklı kişiler tarafından keşfi, oldukça karışık bir adlandırma sistemine neden olmuş ve bu nedenle MMPs ailesinin üyelerinin her biri birden fazla isimle adlandırılmıştır (39).

MMP'ler substrat spesifitesine göre 4 ana grupta sınıflandırılabilir.

- 1) Kollajenazlar: MMP1, MMP8, MMP13
- 2) Gelatinazlar: MMP2, MMP9
- 3) Stromelysinler: MMP3, MMP10, MMP11
- 4) Son zamanlarda bunlara eklenen membran tip metalloproteinaz 1-5 (MT-MMP)

Nötrofil kollajenaz, kollejenaz-2, matriks metalloproteinaz 8 (MMP-8):

75 kDa büyüklüğünde proenzimdir ve aktif formu 58 kDa büyüklüğündedir. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar ve diğer interstisyel kollajenazdan farklı bir genden derive edilir. Nötrofil kollajenazda, fibroblast kollajenazda bulunmayan altı glikozilasyon sahası vardır ve bu nedenle nötrofil kollajenaz artmış glikozilasyondan sorumludur. MMP-8 başlıca polimorfonükleer lökositler tarafından sentezlenir (37). Periodontal dokulardaki en yaygın tip kollajen olan tip 1 kollajenin yıkımından sorumludur (52). Aynı zamanda MMP-8 periodontitiste agresif kemik yıkımından sorumludur ve bu enzimin seviyelerindeki artış, şiddetli periodontal inflamasyonla ilişkilendirilmiştir (37, 52).

2.1.4.Periodontal Hastalığın Tedavisi ve Konak Modülasyonu

Periodontal hastalığın tedavisinde temel prensip, bakteriyel dental plağın mekanik olarak uzaklaştırılması ve plak oluşumunu artıran lokal faktörlerin eliminasyonudur. Böylece periodontal dokuların yıkımına neden olan mikrobiyal etkenler baskılanabilir (53). Mekanik periodontal tedavi tümüyle supra ve subgingival bakteri kütlelerini azaltsa da, patojenlerin büyük bir kısmına, periodontal dokuların içine girebilme yetenekleri veya periodontal aletlerin ulaşamayacağı yerlerde bulunmaları nedeniyle ulaşamayabilir ve bu patojenler, subgingival bölgede kolonize olabilir ve hastalığın tekrarı için risk oluşturabilirler (54). Ayrıca her hastada ileri derecede yıkım görülmemesi ve hastalığın ilerleme hızının bireyden bireye farklılık göstermesi konak cevabındaki farklılara bağlanmaktadır. Konak cevabı birçok genetik, çevresel ve kazanılmış faktör tarafından yönlendirilebilir. Farklı bireylerde aynı uyaranlara karşı birbirinden farklı tepkiler ve dolayısıyla farklı klinik görünümeler ortaya çıkabilmektedir (55). Dolayısıyla 1990 lı yılların başlarında mekanik periodontal tedaviye ek olarak konak yanıtının da düzenlenmesi gündeme gelmiştir (56). Periodontolojide konak

modülasyonu; subgingival dental plak nedeniyle oluşan kronik uyarılara karşı periodontal dokuların inflamatuvar cevabına bağlı olarak gelişen zararlı ve yıkıcı etkilerin modifiye edilmesi veya değiştirilmesi anlamına gelmektedir (57). Williams konak yanıtını düzenlemek için farmakolojik ajanların kullanımının periodontal hastalığın patogeneze etki ederek periodontal yıkımı azaltabileceğini vurgulamıştır (58). Son yıllarda bu amaçla birçok farmakolojik ajanın periodontal hastalığın tedavisinde konak modülasyonu etkileri test edilmiştir (57, 59):

- Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar
- Bifosfonatlar
- Tetrasiklin grubu bileşikler ve onların kimyasal olarak modifiye edilmiş analogları
- Anti-sitokin ilaçlar
- Çözülebilir sitokin blokerleri
- Lipoksinler

Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar bakteriyel lipopolisakkartilere karşı periodontal dokularda bulunan birçok hücre tarafından (nötrofil, makrofaj, fibroblast ve epitel hücreler) sentezlenen prostoglandinlerin üretimini inhibe ederler (57). Bu inhibisyon arasıdonik asit metabolizmasının siklooksijenaz yolunun bloke edilmesiyle gerçekleşir (57). Bifosfonatlar osteoklastik aktiviteye engel olarak ve osteoblast farklılaşmasını artırarak kemik rezorpsiyonunu engellemektedirler (57). Subantimikrobiyal doz doksisisiklin (günlük 20 mg Doksisisiklin BID), aktif MMP'leri direkt olarak inhibe ederek veya latent formdaki MMP'lerin oksidatif aktivasyonunu inhibe ederek periodontal dokuların yıkımını engellemektedir (60). Ayrıca subantimikrobiyal doz doksisisiklinin proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı, nötrofiller tarafından salınan reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığı, fibroblast kollajen üretimini stimüle ettiği ve osteoklast aktivitesini ve kemik rezorpsiyonunu azalttığı gösterilmiştir (60). Özet olarak periodontal hastalıkların tedavisinde konak hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesi gelecek vaat etmektedir ve bu etkileri gösteren yeni doğal ve sentetik farmakolojik ajanlar güncel çalışmalar için önemli malzeme oluşturmaktadırlar.

2.2. DİABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus, insülin salınımında, insülin direncinde veya her ikisinde bozulma sonucu hiperglisemiyle karakterize olan bir sistemik hastalıktır. Tip 1 diyabet, insülin salgılayan pankreasın β -hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu oluşur. Tip 1 diyabetin etyolojisinde, genetik olarak yatkın bireylerde, viral enfeksiyon gibi, yıkıcı otoimmün yanıtı indükleyen bir dizi tetikleyici olayın rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşumu genellikle anidir, stabil değildir ve kontrolü zordur (61-64). Tip 2 diyabet ise insülin moleküllerindeki defektten veya insülin eksikliğinden ziyade insülinin hücre reseptörlerindeki değişikliğe bağlı olarak insülin fonksiyonundaki bozukluklardan kaynaklanır (3). Bu hastalar genellikle glukoz seviyesini kontrol altında tutan ajanlara ihtiyaç duyarlar ve hastalığın ilerleyen safhalarında, insülin üretimi azalabilir ve insülin takviyesi gerekli olabilir (65). Semptomların oluşumu genelde kademelidir ve ketoasidoz oluşumu nadirdir. Tip 2 diyabet hastaları genelde obezdir ve bu hastaların glukoz toleransları diyet ve vücut ağırlığının kontrolü ile düzeltilmektedir (66).

Toplam diyabet vakalarının % 85-90 ı Tip 2 diyabet iken % 5-10 u Tip 1 diyabettir. Diabetes mellitusun üçüncü bir kategorisi ise hamilelikte ortaya çıkan gestasyonel diyabettir. Bu diyabet tipi ise toplam vakaların % 2 ile 5 ini oluşturmaktadır (67).

Gestasyonel diyabet, hamilelik döneminde ortaya çıkan veya ilk kez bu dönemde fark edilen glukoz tolerans bozukluğu olarak tanımlanır. Genellikle üçüncü trimesterde gelişir, prenatal morbidite ve mortaliteyi belirgin bir şekilde arttırır. Tip 2 diyabette olduğu gibi insülin rezistansının artması sonucu gelişir. Birçok kişide doğum sonrası glisemik durum normale dönerken, %30-50'sinde 10 sene içinde tip 2 diyabet gelişme riski vardır. Ailesinde diabetes mellitus geçmişi olan, 25 yaşın üzerinde, şişman ve tip 2 diyabet görülme sıklığı fazla olan etnik gruplara ait kadınlarda gestasyonel diyabete daha çok rastlanır (67).

2.2.1. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

Diabetes mellitus (DM) eski çağlardan günümüze dek etiyolojisi ve patogenezi göz önünde bulundurularak birçok kez sınıflandırılmış, en son sınıflama American Diabetes Association (ADA) tarafından 2001 yılında aşağıdaki şekilde yayınlanmıştır (68-70):

- A. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)
 - a. Otoimmün
 - b. İdiyopatik
- B. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)
- C. Gestasyonel Diabetes Mellitus
- D. Diğer tipler
 - a. β -hücre işlevinin genetik defekti
 - b. İnsülin etkisinde genetik defekt
 - c. Ekzokrin pankreas hastalıkları
 - i. Pankreatit
 - ii. Pankreatektomi
 - iii. Kistik fibrozis
 - iv. Neoplazi
 - v. Hemakromatoz
 - vi. Travma
 - d. Endokrin hastalıklar
 - i. Cushing Sendromu
 - ii. Akromegali
 - iii. Hipertiroidizm
 - e. İlaçlar veya kimyasallar
 - i. Kortikosteroid ve tiroid gibi hormonlar
 - ii. Antiepileptik ilaçlar
 - f. Enfeksiyonlar
 - i. Cytomegalovirus
 - ii. Konjenital rubella
 - g. İmmün aracılıklı diyabetin nadir formları
 - h. Diyabetle ilişkili diğer genetik hastalıklar
 - i. Down Sendromu
 - ii. Klienfelter Sendromu
 - iii. Turner Sendromu

DM tanısının konulmasında venöz kan glukoz seviyesi esas alınmaktadır. Tanı konulurken aşağıda belirtilen testlerden herhangi biri veya birkaçının sonucunun pozitif

ıkması durumunda hastaya diabet teşhisi konur. Ancak test veya testler takip eden günlerde tekrarlanmalıdır.

Diabetes mellitusun tanı kriterleri:

- DM semptomları ile birlikte günün herhangi bir saatinde en son öğünden geçen zamana bakılmaksızın ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması,
- Açlık plazma glukoz seviyesi (en az 8 saatlik tam açlık sonrası) ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olması,
- 75 g glukoz yüklemesi ile yapılan oral glukoz tolerans testi esnasında 2. saat plazma glukoz seviyesi değerinin ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olmasıdır.

DM açısından yüksek risk taşıyan bireylerde belirli aralıklarla oral glukoz tolerans testi yapılmalıdır. Bu test karbonhidratlara karşı tolerans durumunu belirlemek için Tip 2 diabetes (T2DM) ve bozulmuş glukoz toleransı tanısında kullanılır ve 9-16 saatlik açlık sonrası 300 mL suda eritilmiş 75 g glukozun 5 dakikada içirilmesi ve 2 saat boyunca her 30 dakikada bir kan rneği alınması ile yapılır.

DM, oral kavitede dahil olmak üzere vücuttaki tüm dokular üzerinde genel bir etkiye sahiptir. DM'nin klasik belirti ve semptomları genellikle poliüri, polidipsi, polifaji üçlüsünü içerir. Bu indikatörler, T1DM'de daha sık görülür ancak T2DM'de de çeşitli derecelerde olur. Kilo kaybı özellikle T1DM'de meydana gelir. T1DM'de artan ketoasidoza bağlı olarak bulantı ve kusma görülebilir. Uykusuzluk, uyuşukluk ve sinirlilik de görülebilir. Ancak bu belirti ve semptomlar, erken teşhis ve etkili terapi ile geri dönüşümlüdür (71).

CDC'nin (Centers for Disease Control and Prevention) 2010 veritabanına göre ABD'de toplumun % 8.3 n oluşturan yaklaşık 25.8 milyon birey diabetes mellitustan etkilenmiştir ve bunların % 27 si teşhisi konulmamış, kontrolsüz vakalardan oluşmaktadır (4, 5).

2.2.2.Diabetes Mellitusun Patogenezi

DM'nin patogenezinde oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olduğu sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. DM'nin etyolojisinde rol oynayan insülin gibi hormonların sentezlenmesinde rol oynayan pankreas β -hücreleri oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olarak bilinir. Beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı gösterilmiştir (72).

Hiperglisemi aracılı reaktif oksijen bileşikleri üretimi başlıca beş mekanizma ile açıklanmaktadır (73).

- 1) Poliol yolunun aktivasyonu
- 2) Proteinlerin glikasyonu ve ilerlemiş glikasyon son ürünleri (Advanced Glycation End Products) (AGE) oluşumu
- 3) Yüksek konsantrasyonda sitokin oluşumu, TNF- α
- 4) Protein kinaz C aktivasyonunun artması
- 5) Glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit üretimi, artmış oksidatif stres

1) Poliol yolunun aktivasyonu:

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Glukoz, aldoz redüktaz enzimi yardımıyla sorbitole dönüşür. Sorbitol ise sorbitol dehidrogenaz yardımıyla fruktoza dönüşür ve enerji kaynağı olarak kullanılır. Glukoz sorbitole dönüşürken, "Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate" (NADPH) tüketilir. Fazla miktarda glukoz alındığında NADPH fazla miktarda tüketilir. Ayrıca aşırı miktarda sorbitol ortaya çıkar. NADPH'ın aşırı tüketimi ve sorbitol birikimi, sorbitol dehidrogenazı etkisizleştirerek fruktoza dönüşüm engellenir. Bunun sonucunda sorbitol birikimi ve NADPH tüketimi artar. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir. Ayrıca sorbitolun kendisi de bir doku toksini gibi hareket eder.

2) Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu:

Hiperglisemi sonucu diyabetik hastalarda insülin duyarlılığı azalır ve hepatik glukoz çıkışı artar, glukoz karaciğerde glikojen halinde depolanamaz. İnsülin seviyesi normal değerlerin altında olduğu zaman dolaşımdaki glukoz tam olarak hücrelere transfer edilemez. Yüksek glukoz düzeyi pankreastan insülin salgılanmasını bozar ve insülin direnci artar. Beyin hücreleri hariç vücuttaki her hücrenin yüzeyinde insülin reseptörleri vardır. Bu reseptörler glukozun hücre içine alınması için sinyal gönderirler. Enerji gereksinimi arttığında veya kan glukoz seviyesi yükseldiğinde, hücre yüzeyindeki insülin reseptörleri devreye girer. Dolaşımdaki fazla glukoz uzaklaştırılır ve çoğunlukla yağ dokusunda olmak üzere hücre içinde depolanır. Böylece hücreler insüline direnç kazanırlar. Glukozun hücre içine girmesini sağlamak için pankreas insülin üretimini arttırır. İnsülin rezistansından en çok etkilenen hücreler karaciğer, kaslar ve yağ dokusudur. Hiperglisemik durumun devam etmesi ve insülin üretimindeki artışa bağlı olarak uzamış hiperinsülinemi oluşur (74).

Devamlı hiperglisemi nedeniyle proteinler, lipidler ve nükleik asitler glukozile olurlar (75, 76). Glukozillenmiş proteinlerden de çeşitli reaksiyonlar sonucu ileri glukozilasyon son ürünleri oluşur (Advanced Glycation End Products) (AGE) (75). AGE diyabetik olan veya olmayan herkeste görülür fakat diyabetik hastalarda görülme sıklığı ise uzun süreli hiperglisemiye bağlı olarak daha fazladır (75, 76). AGE'lerin kollajen sentezini etkileyerek kollajenin çapraz bağlarında artışa sebep olur ve bunun sonucunda normal enzimatik yıkımlara ve doku turnoverına dayanıklı oldukça stabil kollajen makro molekülleri oluşur. Kan damarlarının duvarında biriken AGE tarafından modifiye edilmiş kollajen, damar duvarını kalınlaştırarak lümeni daraltır. AGE oluşumu hem santral hem de periferel arterlerde görülür ve diyabetin makrovasküler komplikasyonları ile ilişkilidir (77). Damar duvarında bulunan modifiye olmuş kollajen molekülleri dolaşımdaki düşük yoğunluktaki lipoproteinlerle kovalent bağlar oluşturarak aterosklerotik plak oluşumuna sebep olur. Bu kümülatif birikim sonucunda damar lümeni daralır ve etkilenen organlarda kan dolaşımı bozulur (78-80). Glukozile olmuş proteinler kılcal damarları da etkileyerek, retinada ve glomerulusta da birikir. AGE birikimi ile retinanın bazal membran kalınlığı artar ve geçirgenliği bozulur (81), glomerulustaki mezenkimal matriks kalınlaşır (80, 82, 83).

AGE'lerin hücreseel seviyede de birçok etkileri vardır. Endotel hücrelerinin, nöronların, düz kas hücrelerinin, monositlerin ve makrofajların yüzeylerinde reseptör AGE (RAGE) olarak adlandırılan AGE reseptörleri bulunur (84). RAGE'nin tip 2 diyabetik bireylerin periodontal dokularında sağlıklı bireylere oranla %50 oranında daha fazla eksprese olduğu bildirilmiştir (85). Hiperglisemi sonucunda reseptörler ve AGE-RAGE bağlantıları artar. Monosit/makrofaj membranlarında AGE-RAGE bağlantılarının artması hücrelerde oksidatif stresin artmasına neden olur ve oksidatif strese bağlı olarak oluşan serbest radikaller direkt doku yıkımına yol açarlar (86).

3) Yüksek konsantrasyonda sitokin oluşumu:

Diabetes mellitusa bağlı uzayan hiperglisemi, kollajen gibi proteinlerin ve lipidlerin non-enzimatik glikasyon ve oksidasyon ile yıkımı sonrası oluşan ilerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE) monosit/makrofaj reseptörleriyle (RAGE) etkileşir. Monosit yüzeyinde artmış AGE/RAGE etkileşimi zaman içinde hücre içi sinyalizasyonunu değiştirerek (oksidatif stres artışı, transkripsiyon faktör nükleer faktör-kappa B aktivasyonu) monosit/makrofaj tarafından IL-6, IL-1 β ve TNF- α . gibi sitokinlerin üretiminin artmasıyla sonuçlanır. Böylece diabet bireyi hiperinflamatuvar sürece sürükler (87, 88).

Diyabetik hayvan modellerinde RAGE'nin bloke edilmesi ile dişetindeki TNF- α , IL-6 ve matriks metalloproteinaz (MMP) seviyelerinde azalma görülmüştür (89).

Kronik periodontitis patogenezinde katkıda bulunan bu proinflamatuvar sitokinlerin, özellikle metabolik kontrolün kötü olduğu durumlarda, diyabetik hastalardaki periodontal doku hasarından sorumlu temel moleküller olabileceği ileri sürülmektedir (88).

4) Protein Kinaz C aktivasyonunun artması:

Hiperglisemi sonucu oksidatif stresi artıran ve AGE oluşumunu hızlandıran poliol yolu aktivasyonu NADH/NAD⁺ (Nicotinamide adenine phosphate / Nicotinamide adenine dinucleotide) oranı artmakta ve bu da enzimatik olmayan glikasyonu ve diaçilgliserol sentezini artırmaktadır. Diaçilgliserolün artışı da protein kinaz C aktivasyonuna yol

açarak damar duvarında protein kinaz C aktivasyonuna neden olmakta ve diyabetteki damar patolojilerine neden olmaktadır (90).

5) Glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit üretimi:

Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi reaktif oksijen bileşikleri üretim kaynağıdır. Geçiş elementlerinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere dönüşürken reaksiyon sırasında süperoksit anyonu üretilir. Süperoksit radikali hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikaline dönüşür. Hücre içi glukoz oksidasyonu ile açığa çıkan NADH, solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Hücre içi glukoz derişimi yükseldiğinde bu yolla da süperoksit radikal üretimi artar (90).

2.3. PERİODONTİTİS ve DİABETES MELLİTUS ARASINDAKİ İLİŞKİ

Periodontal hastalık, büyüyen global bir sağlık problemi olan diabetes mellitusun, retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar ve yara iyileşmesinde bozulma gibi komplikasyonların ardından 6. komplisyonu olarak bilinmektedir (6).

Hem periodontal hastalık, hem de diabetes mellitus kronik inflamatuvar hastalıklardır ve inflamasyon her ikisinin de patogeneplerinde önemli rol oynar (7). Günümüzde çoğalan bulgular gösteriyor ki periodontal inflamasyon, endokrin benzeri görev yapmaktadır ve periodontal inflamasyonda IL-1 β ve TNF- α gibi lokal üretilen sitokinler, sistemik düşük-düzeş inflamasyonla ilişkilendirilmiştir (91, 92).

Benzer olarak diabetes mellitusa bağıli hiperglisemi de sistemik düşük-düzeş inflamasyon durumuyla ilişkilili bulunmuştur ve bu durum diabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olmaktadır (93). Hem tip 1 hem de tip 2 diyabette sistemik inflamatuvar marker düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (94). Ek olarak, bireyin sahip olduğı inflamatuvar hastalığının diğeri inflamatuvar hastalıkların da insidans ve şiddetini etkilediğı düşünölmektedir (87). Literatürde teşhisi konulmuş diabetes mellitus vakalarının arttığı görölmektedir (87) ve eşlik eden belli bir hastalığın yokluğunda, diyetle tam bağılilik ve ilaç kullanılmasına rağmen diyabet hastaları zayıf glisemik kontrol gösterebilirler (95).

Diyabete bağıli sitokin dengesizliğinin altında yatan patogeneş hala açıklığa kavuşmamıştır ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (8). Ayrıca deneysel periodontitis oluşturulmasında farklı modellerin hem lokal, hem de sistemik sitokin üretimine etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (9).

Diyabetik bireylerde nötrofil, monosit ve makrofaj gibi savunma sistemi hücrelerinde işlev bozuklukları ortaya çıkar. Nötrofillerin adezyon, kemotaksis ve fagositoz işlevleri bozulur. Sonuç olarak; bakterilerin ortadan kaldırılması zorlaşırken periodontal yıkım da artar. Diyabetik bireylerde nötrofil işlevleri bozulurken monosit/makrofaj hücrelerinde bakteri antijenlerine karşı aşırı tepki oluşur. Bu aşırı tepki sonucunda iltihabı tetikleyen sitokin ve mediyatör yapımı artar (96).

Diyabetik hastalarda periodontal yıkımın artmış olması, bağ dokusunun yapım ve yıkım dengesinin bozulmasına da bağlı olabilir. Kollajen sentezi, olgunlaşması ve yapım/yıkım dengesindeki değişimler diyabetik bireylerde ortaktır. Yüksek glukoz ortamında insan fibroblastlarının kollajen ve glukozaminoglikan üretiminde azalmalar olduğu bildirilmiştir (97). Kollajen sentezinin azalmasının yanında, yeni oluşmuş kollajenin diyabetik dokularda arttığı gösterilen kollejenaz gibi MMP'ler tarafından parçalanmaya yatkınlığı bulunmaktadır (98, 99). Periodontal dokuların temel yapıtaşı kollajen olduğu için, diyabetik dokulardaki, kollajen yapımında azalma ve yıkıma olan yatkınlığı, periodontitis patogenezi ve yara iyileşmesinin bozulması ile ilişkili olabilir (98). Diyabetik anjiopati damarlarda anormal gelişim ve rejenerasyonun bozulması anlamını taşır. Diyabetik bireylerin retina ve glomerulus gibi organlarında izlenen bu mikrovasküler değişimler, periodontal damarlarda da etkili olarak doku iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilir (100, 101).

Literatürde kemik dokusunun iyileşme kapasitesinin diyabetten kötü yönde etkilendiği rapor edilmiştir (102). Hiperglisemi, osteoblastların çoğalmasını ve kollajen üretimini bozarak kemik yapımını olumsuz etkiler (103). Ayrıca, hiperglisemi varlığında hücreler arası matriks yapımından sorumlu olan fibroblast ve osteoblast gibi hücrelerin apoptozisi artar (102, 104). Böylece, bir taraftan çoğalma ve farklılaşma işlevleri azalan hücrelerin bir taraftan da ölümlerinin artması diyabetik bireylerde daha fazla periodontal yıkım görülmesini açıklayabilir (105, 106).

2.4.DENEYSEL PERİODONTİTİS ve DİABETES MELLİTUS OLUŞTURMA YÖNTEMLERİ

2.4.1.Deneysel Periodontitis Oluşturma Yöntemleri

Geçmişten günümüze kadar çeşitli hayvanlarda deneysel periodontitis modelleri uygulanmıştır (Tablo 2.1) (107).

Tablo 2.1. Deneysel Periodontitis İçin Hayvan Modelleri		
Hayvan Modeli	Avantajları	Dezavantajları
Maymun	İnsanlara benzer dental yapı, mikroflora ve hastalık. Kendiliğinden veya deneysel periodontitis oluşturulabilir.	Etik açıdan kabul edilebilirliği sorgulanmakta ve elde edilişi ve bakımı ekonomik değildir.
Köpek	Kendiliğinden veya deneysel periodontitis oluşturulabilir.	Göreceli olarak pahalıdır ve günlük bakım gerektirir. Dentisyonları insanlardakinden farklıdır.
Minyatür Domuz	Dental yapı ve periodontitis açısından insanlara kıyasla benzer yönleri var. Kendiliğinden veya deneysel periodontitis oluşturulabilir.	Göreceli olarak pahalıdır, bakımı zordur ve yapılan çalışma azdır.
Yaban Gelinciği	Kendiliğinden veya deneysel periodontitis oluşturulabilir.	Bakımı zordur.

Kemirgenler (Rat ve Fare)	Deneysel olarak periodontitis oluşturulabilir ve molar yapıları insanlara benzerlik gösterir. Ekonomik açıdan uygundur.	Periodontitise doğal olarak dirençlidirler. Mikrobiyotaları insanlardan farklıdır. Analiz için elde edilen örneklerin boyutları küçüktür. Çalışma için daha fazla sayıda hayvan gerekir.
------------------------------	---	--

Günümüzde hayvanlarda deneysel periodontitis incelemeleri genellikle kemirgenler yani ratlarda veya farelerde kullanılmaktadır ve bu periodontitis modelleri başlıca ikiye ayrılabilir. Birincisi bakteri veya lipopolisakkaritler gibi bakteri ürünlerinin oral kaviteye, diş etine veya kafa derisine inokülasyonudur. İkincisi ise, birinci veya ikinci molar dişlere ligatür bağlama yöntemidir, naylon veya ipek, mono veya multifilament suturlar kullanılabilir. Ayrıca suturlara *P. gingivalis* vb. bakterileri solüsyonlarını emdiren çalışmalar da mevcuttur (Tablo 2.2) (9).

Tablo 2.2. Deneysel Periodontitis Oluşturma Modelleri			
Metod	Bölge	Bakteri Varlığı	Değişkenler
İnokülasyon	Oral Kavite	Patojen Bakterilerin İnokülasyonu	Değişik Bakteri Tür ve Ürünleri
	Gingival Dokular		Bakteri Miktarı
	Kafa derisi	Bakteri Ürünlerinin (Lipopolisakkarit) İnokülasyonu	Kolonizasyon
Ligatür	Birinci Molar	Ek Patojenlerin Eklenmesi	Ligatürlerin Çözülmesi
	İkinci Molar	Ek Patojenlerin Kullanılmaması	Ligatürlerin Fiziksel Özellikleri

2.4.2.Deneysel Diabetes Mellitusun Oluşturma Yöntemleri

Literatürde kullanılan deneysel diabet modelleri ikiye ayrılabilir. Birincisi genetik olarak diabetes mellitus gelişimi gösteren fare veya ratlardır. Tip 1 diyabet modelleri "ratlarda bio breeding rat" ve obez olmayan diyabetik farelerdir. Tip 2 diyabet modelleri ise "Zucker fatty rat", Zucker diabetic fatty rat", "Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat" ve "Goto-Kakizaki rat" ayrıca "ob/ob mouse" ve "db/db mouse" kullanılabilir (9). Bunların dezavantajları pahalı olmaları, özel bakım gerektirmeleri ve bazı modellerin obez olmalarıdır. Avantajları ise diabet oluşturmak için ek ilaca gereksinim duymamaları ve mortalite oranlarının yüksek olmalarıdır. İkincisi ise ilaçla (alloksan veya streptozotosin) oluşturulan diabet modelleridir. Eğer doğumda ratlara 65 mg/kg enjekte edilirse tip 2 diyabet, erişkin ratlarda 40-65 mg/kg tek doz veya tekrarlanan dozlarda uygulanırsa tip 1 diyabet modeli oluşturulabilir (9). Bu tip modellerde periodontal sağlıklı modeller oluşturulabilir ve diabetin başlangıç aşaması incelenebilir. Ayrıca ucuz yöntemlerdir fakat hayvanların ölüm oranları yüksektir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturma Modelleri		
Model	Tip 1 Diyabet	Tip 2 Diyabet
Genetiği Ayarlanmış Rat	Bio Breeding rat	Zucker fatty rat Zucker diabetic fatty rat Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat Goto-Kakizaki rat
Genetiği Ayarlanmış Fare	Obez olmayan diyabetik fare	ob/ob fare db/db fare
Normal Genetik	Tek doz streptozotosin/alloksan	Doğumda tek doz

Yapıdaki Rat	Tekrar eden dozlarda streptozotosin/alloksan	streptozotosin
Normal Genetik Yapıdaki Fare	Tek doz streptozotosin/alloksan	
	Tekrar eden dozlarda streptozotosin/alloksan	

Streptozotosin; toprakta bulunan streptomyces achromogenes isimli bir mikroorganizmanın metabolitidir. 1960'da izole edilmiştir. Başlangıçta antibiyotik, antitümöral ve karsinolojik özellikleriyle bilinen bu ajan, 1963' te köpek, kedi ve ratlarda diyabetojenik etkili bir madde olarak tanımlanmıştır. N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki streptozotosin, oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını seçici olarak tahrip ederek diyabeti başlatmaktadır. İlaç 2-deoksi-D-glukozun C-2 pozisyonuna bağlı bir metilnitrozoüre yan zinciri içermektedir. Katı halde yapısındaki glukoz molekülünün konumuna göre α ve β izomerlerinin karışımı şeklindedir. Katı halde stabil değildir ve dondurulmuş olarak saklanması gerekir, ışıktan korunmalıdır. Optimum stabilitesi için pH 4-4.5 olmalıdır. Streptozotosin pankreas β hücrelerine direk etkisiyle toksiktir. Yapısında bulunan bir glukoz molekülü sayesinde plazma membranındaki glukoz taşıyıcılarına bağlanır, molekül; nitrozoüre bölümünden ayrılır ve hücre içine girerek toksisite gösterir, glukozla uyarılan insülin salıverilmesini bloke eder. Ancak pankreas β hücrelerine etkisi, daha çok intrasellülerdir. Streptozotosinin hücre içindeki temel etki yeri nükleer DNA'dır. Hücre içinde streptozotosin dekompozisyona uğrar, bu sırada oldukça reaktif karbonyum iyonları oluşur ve bu iyonlar DNA bazlarının alkilasyonuna neden olduğu için, olayı DNA tamir dönemi izler. Bu sırada çekirdek enzimi olan poli (ADPriboz) sentetaz aşırı miktarda aktive olur. Bu enzimin hücresel aktivitesi sırasında, NAD⁺ fazla kullanıldığından, hücredeki NAD⁺ depoları boşalır, NAD⁺ tükenmesi hücre ölümüne neden olur (108, 109).

2.5.PROPOLİS

Propolis, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından çam, meşe, huş, okaliptüs, kavak, kayın, kestane, gibi ağaçlar ve bazı bitki tomurcuk ve filizlerinden topladığı ve mumlayıp diğer ürünlerle karıştırdığı, rengi koyu sarıdan kahverengiye doğru değişen yapışkan reçinemsi materyaldir (110). Arı bu maddeyi bacağı ile toraksı arasında bulunan bezlerden salgılamış olduğu aktif enzimlerle karıştırıp pelet haline getirir. Pelet ön ve orta bacakların yardımıyla ve bacak hareketleri ile arka bacaklardaki polen sepetçisinde paketlenir. Polen sepetçisi yeteri kadar propolis ile doldurulduğunda kovana taşınır (111).

Propolis kovanda çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Arılar, kovanda bulunan petekleri ve kovanda bulunan çatlak ve yarıkları ince bir tabaka halinde cilalayarak kapatırlar. Kovan girişinde bulunan propolis arıların ayaklarının temizlenmesinde bir çeşit dezenfektan olarak, kovan tahtalarının aralarında bulunan propolis ise kovanın ısisının korunmasında rol oynar. Ayrıca kovana giren yabancı canlıların öldürüldükten sonra bozulmasını önlemek için kaplanması amacıyla da kullanılmaktadır (110, 112).

Propolis sahip olduğu farmakolojik özellikleri ile çok eski çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmıştır. Propolis ismi yunanca savunma anlamına gelmekte olup, Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmış, ayrıca Mısırlılar tarafından ölülerinin mumyalanmasında, Romalılar tarafından da deri apselerinin iyileştirilmesinde yüzyıllarca ilaç olarak kullanılmıştır. Günümüzde doğal bir arı ürünü olan propolis, oldukça zengin biyolojik özelliklerinin olmasından dolayı dikkatleri üzerine çekmiş ve tıpta, gıda sektöründe ve kozmetik sanayi gibi çeşitli alanlarda oldukça yaygın kullanım alanı bulmuştur.

2.5.1. Propolis Bileşimi

Propolis 300 farklı bileşikten oluşan kompleks bir karışımdır (10). Propolisin en önemli bileşenleri arasında aromatik asitler, fenolik maddeler, pinosembrin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirsetin, kuarsetin gibi flavonoidler (flavonlar, flavonoller, flavononlar) ve kafeik asit ve sinamik asit gibi fenolik asit bileşenleri bulunmaktadır. Ayrıca, miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, kafeik asit, vanilin, sinamik asit, acacetin, kamferide ve izovanilin gibi kimyasal bileşiklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler ve süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenosin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içermektedir (112). Ayrıca insan sağlığı açısından da oldukça önemli ve gerekli olan Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B1, B2 , B6, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır (112).

Propolisin kimyasal kompozisyonu toplandığı bölgenin fitocoğrafik özelliğine göre değişkenlik gösterir (10, 113). Örneğin sıcak bölgelerde flavonoidler ve sinamik asit türevleri gibi temel fenolik bileşenler içerirken, tropikal bölgelerde propolisin daha çok diterpenler ve prenilat bileşenlerini içerdiği bildirilmiştir (113, 114). Karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca kaynağının kavak bitkisi tomurcukları olduğu belirlenirken, bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (115-118). Kavak ağacı karasal bölgelerde yaygın olarak gözlenirken, tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır. Örneğin Brezilya propolisinin ana kaynağı *Baccaris dracunculifolia* (Cyote brush) 'dır ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşik sınıfı prenillenmiş p-kumarik asit ve asetofenon türevleri olup kavak tipi propolisten tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiği belirlenmiştir (119-125). Küba propolisinin ana bileşeni ise poliizoprenillenmiş benzofenonlardır ve bu yapı Küba propolisini Avrupa ve Brezilya propolislerinden farklı kılmaktadır (126, 127).

2.5.2.Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolisin rengi kaynağına ve depolama süresine bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengine kadar değişim göstermektedir. Toplandığı yöreye ve kaynağına bağlı olarak sarı yeşilden koyu kahverengine kadar değişen zamksı madde olan propolis 10 derecenin altında sert ve kırılgan, 15-25 °C arasında mum kıvamında, 30-40 °C de yumuşayıp yapışkan bir hal almakta, 80 °C de kısmen erimektedir (110).

Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde büyük ölçüde çözünmekte, suda çok az çözünmekte veya hiç çözünmemektedir. Propolis, genellikle tıbbi alanda %70'lik alkolde çözünmüş çözelti olarak kullanılmaktadır (128).

Ham propolisin yapısı, kaynağına bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte; %45-50 reçine, %20-35 bitkisel kaynaklı balmumu, %5-10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen, %5-15 organik bileşiklerden oluşur (129).

2.5.3.Propolisin Biyolojik Özellikleri

Propolisin biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı geniş çaplı biyolojik ve farmakolojik aktivite sergilemektedir. Propolis; anti-bakteriyel (130-135), anti-fungal (136-140), anti-protozoal (141, 142), anti-viral (143-148) özellikler sergilemektedir. Ayrıca anti-inflamatuar (149-153), immunomodülatör (11, 154, 155), anti-oksidan (156-160), anti-allerjik (161, 162), anti-hiperaljezik (163), analjezik (164, 165), lokal anestezik (166), osteoklastik kemik rezorpsiyonunu engelleyici (12, 167), osteoklast olgunlaşmasını inhibe edici (168) ve yara iyileşmesini hızlandırıcı ve rejeneratif (169-173) etkileriyle dikkat çekmektedir.

Tıp alanında ayrıca anti-anksiyetik (174), anti-apoptotik (175, 176), anti-aritmik (177), anti-aterosklerotik (178, 179), anti-artritis (180), anti-genotoksik (181, 182), anti-hepatotoksik (183-187), anti-hiperglisemik ve anti-diabetik (188-196), anti-hiperlipidemik (197), anti-hipertansif (198-202), anti-iskemik (203-207), anti-mutajenik (208-211), anti-nörotoksik (212-216), anti-obezitik (217), anti-nefrotoksik (218-222), anti-tromboembolitik (223), anti-tümör (224-228), serbest radikalleri temizleyici (229, 230), radyoaktif ışınlar karşı koruyucu (231-235), radyasyon mukositisini (236-238) ve ülseratif lezyonları iyileştirici (239-243) özellikleriyle araştırmalara konu olmuştur.

Periodontoloji alanında oral periodontopatojenlere karşı etkinliği gösterilmiştir (244, 245). Diş hekimliğinde daha birçok alanda; anti-karyojenik (246-250), dentin hassasiyetini azaltıcı (251-253), kök kanalını dezenfekte edici (254-261), dentin tübüllerini dezenfekte edici (262), dental pulpayı koruyucu (263-268), avulse dişlerin saklama solüsyonu olarak kullanımında periodontal ligament hücrelerinin canlılığını koruyucu (269-274) etkileri gösterilmiştir. Ayrıca diş macunlarında (275, 276) ve ağız gargaralarında (277-285) kullanımının etkileri araştırılmıştır.

Literatürde propolise veya içerdiği bileşenlere karşı özellikle kontakt dermatit olmak üzere çeşitli allerjik reaksiyonlardan da bahsedilmiştir (286-290).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Ağırlıkları 300 - 400 g arasında değişen toplan 56 tane erkek Wistar albino türü rat, su ve yiyeceğe serbestçe ulaşabilecekleri metal kapaklı kafeslerde, normal oda sıcaklığında 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüyle deney boyunca izlenmiştir. Araştırma prosedürü öncesinde 1 hafta önceden hayvanların laboratuvar ortamına uyum sağlamalarına izin verilmiştir.

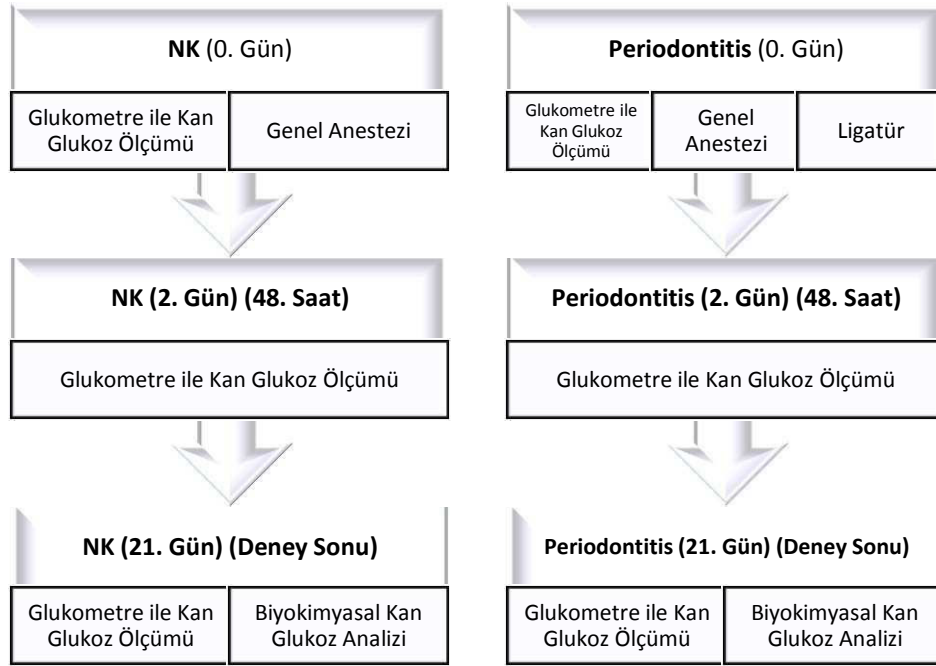
Bu proje Erciyes Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu'nda onaylanmıştır. (09.06.2010.TS.06.KN.10/51) ve Helsinki Hayvan ve İnsan Araştırmaları Uygulama Prensipleri'ne uyumlu olarak yürütülmüştür.

3.1.Çalışma Dizaynı

Hayvanlar rastgele aşağıda gösterildiği gibi 7 deney grubuna ayrılmıştır:

- 1) Negatif-Kontrol (NK),
- 2) Periodontitis (P),
- 3) Diyabet (D),
- 4) Diyabet + Periodontitis (DP),
- 5) Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (P100),
- 6) Diyabet + Propolis 100 mg/kg (D100),
- 7) Diyabet + Periodontitis + Propolis 100 mg/kg (DP100)

3.2.Çalışma Planı



3.2.Deneysel Periodontitis Oluşturulması

Gece boyu aç bırakılan hayvanlar Ketamine (Ketalar, Pfizer) (1 ml/kg i.p.) ve Xylazine Chloride (Rompun, Bayer) (0.1 ml/kg i.p.) enjeksiyonu ile genel anestezi altına alındı (Resim 3.1). Hayvanlar, ağızlarını açık tutacak ve aynı zamanda başlarının sabit durmasını sağlayacak metal mekanizmaya yerleştirildikten sonra (Resim 3.2) oral bakterilere retansiyon sağlaması için, üst 1. molar dişlerinin etrafına 4.0 ipek suturlar resimde gösterildiği gibi subgingival konumda yerleştirildi ve düğüm mezialde kalacak şekilde bağlandı (Resim 3.3 ve 3.4) (291). Ligatürler oral gavaj sırasında deney periyodu boyunca her gün kontrol edildi ve gevşek veya eksik ligatürler aynı gün yenilendi. Periodontitis oluşturulmayan hayvanlara sadece intraperitoneal genel anestetik enjekte edildi.

3.3.Deneysel Diabet Oluşturulması

Streptozotosin (STZ) (Sigma, MO, USA) taze hazırlanan 0.1 M sitrat tampon (pH 4.5) içerisinde çözüldükten sonra deneysel diyabet oluşturmak amacıyla tek doz (60 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı (Resim 3.1) (292). Diyabet oluşturulmayan gruplara sadece tampon solüsyonu enjekte edildi.

3.4.Kan Glukoz Değerlerinin Belirlenmesi

Deney başlamadan, streptozotocin enjekte edildikten 48 saat sonra ve deney bitiminde, 21. günde gece boyu aç bırakılan hayvanların kuyruk venlerinden insülin şırıngası (1 ml) ile alınan kan örnekleri (5 µl) (Resim 3.5), glukometre cihazı (AccuChek, Roche, Germany) kullanılarak analiz edildi (Resim 3.6). Açlık glukoz değeri 300 mg/dL den fazla olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Deney sonunda elde edilen plazma örneklerinde ayrıca laboratuvar testleri yapılarak kan glukoz değerleri kontrol edildi.

3.5.Propolisin Hazırlanması ve Oral Gavajla Verilmesi

Türkiye'nin Kayseri bölgesinden elde edilen katı haldeki propolis kaynayan etanolün içerisinde ekstraktör yardımıyla çözüldükten sonra soğumaya bırakıldı ve filtrasyondan geçirilerek mumundan ayrıştırıldı. Ardından bu filre edilmiş ürün, evaporator kullanılarak oda sıcaklığında kalın pasta formunu alana kadar karıştırıldı. Bu ekstrata %10 konsantrasyondaki etanol eklenerek ayrışması sağlandı ve propolisin etanolik ekstratı elde (PEE) edildi. PEE'nin kompozisyonu yüksek-performanslı sıvı

kromatografisi (high-performance liquid chromatography) (HPLC) kullanılarak analiz edildi. PEE nin kompozisyonu tabloda görüldüğü gibi açıklanmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Propolisin Ethanolik Ekstratı		
Bileşikler	RT	%TIC
Aromatik ve yağ asitleri ve onların esterleri		
4-pentenoic acid	13.31	1.74
3-methoxy-cinnamic acid	20.30	0.29
2-propenoic acid	16.74	2.70
9-octadecanoic acid	25.12	2.05
Cinnamic acid	20.30	0.29
3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid	20.73	1.82
Decanoic acid	9.03	0.23
3,4-dimethoxycinnamic acid	20.91	3.40
Coumaric acid	22.93	0.19
9-Octadecanoic acid	25.12	2.05
Octadecanoic acid	25.49	0.21
Fenolik bileşikler		
Pinocembrin	31.06	14.75
4,5 dimethoxy-(2-propenyl) 2-phenol	27.93	1.25
Chrysin	34.12	7.67
Galangin	34.84	4.90
Alkol, keton ve terpenler		
5-3,3-dimethyl-cyclohexanone	34.38	1.36

Alpha-eudesmol	32.22	0.80
2-Nonadecanone	24.49	0.66
Gamma-eudesmol	15.22	0.37
Beta-eudesmol	15.66	0.38
Alpha-eudesmol	15.71	0.59
Alpha-bisabolol	16.26	0.17
2-propen-1-one	29.72	15.30
2-propen-1-ol	8.02	0.21

RT: Retansiyon Zamanı TIC: Total iyon akımı

PEE gliserin içerisinde arzulanen konsantrasyona göre çözüldü. Deney sırasında propolis tedavisi alan hayvanlara 100 mg/kg günde bir ve 21 gün boyunca oral gavaj ile enjekte edildi (Resim 3.7). Propolis tedavisi almayan hayvanlara ise sadece gliserin enjekte edildi (167).

3.6.Kan Örneklerinin Alınması

Deney bitiminde, 21. günde gece boyu aç bırakılan hayvanlar yukarıda tarif edildiği gibi genel anesteziye alındıktan sonra resimde gösterildiği gibi tahtanın üzerine sabitlendi (Resim 3.8) 10 ml şırıngaya heparin çekilip bırakıldıktan sonra abdominal kavite açılmadan direkt metodla hayvanın kalbine ulaşılarak yaklaşık 8 ml kan elde edildi (Resim 3.9). Ardından genel anestezinin dozu artırıldıktan sonra servikal dislokasyon metodu ile hayvanlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri heparin kaplı tüplere (10 ml) konulduktan sonra (Resim 3.10), yavaşça bilek hareketiyle karıştırılarak santrifüj cihazına alındı (Resim 3.11). 3000×g devirde 10 dakika santrifüje edilen tüplerdeki ayrılmış plazma resimde görüldüğü gibi 1.5 ml'lik ependorf tüplerine taşındı (Resim 3.12) ve sonraki laboratuvar incelemelerinde kullanılmak üzere -80 °C derin dondurucuya kaldırıldı.



Resim 3.1: İnteraperitoneal anestezi



Resim 3.2: Ağız açıklılığının sabitlenmesi



Resim 3.3: Ligatürlerin yerleştirilmesi



Resim 3.4: Ligatürlerin yerleştirilmesi



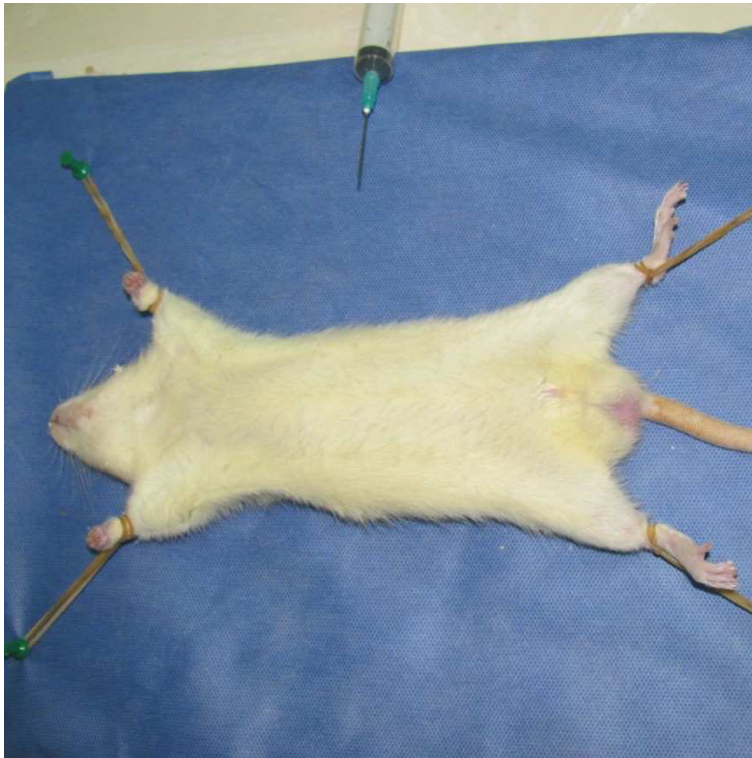
Resim 3.5: Kuyruk veninden kan örneği alınması



Resim 3.6: Glukometre ile kan glukoz değeri nin analizi



Resim 3.7: İntragastrik gavaj uygulaması



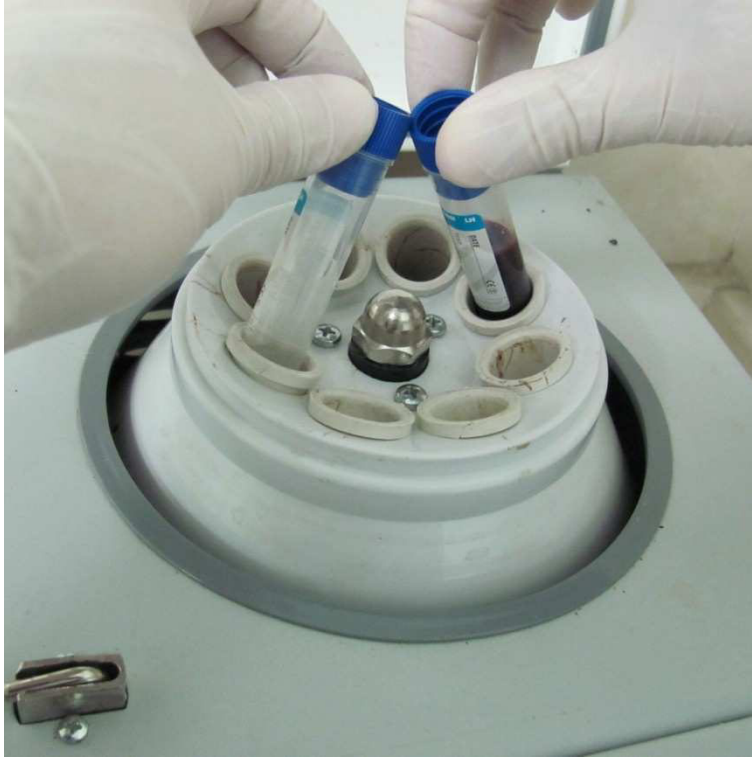
Resim 3.8: Hayvanların bağlanarak sabitlenmesi



Resim 3.9: İnttrakardiyak kan alınması



Resim 3.10: Alınan kan örneğinin heparinli tüpe aktarılması



Resim 3.11: Kan örneğinin santrifüje edilmesi



Resim 3.12: Elde edilen plazmanın ependorf tüplerine aktarılması

3.7.ELISA Kitlerinin Uygulanması ve Plazma Sitokin ve MMP Seviyelerinin Belirlenmesi

Plazma IL-1 β (Boster, CA, USA), TNF- α (Boster, CA, USA) ve MMP-8 (RayBiotech, GA, USA) seviyeleri ELISA kitleri kullanılarak üretici firmanın tarif ettiği şekilde analiz edildi. Elde edilen konsantrasyon değerleri, her örneğin ml değerlerine göre yeniden hesaplanarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye hazır hale getirildi.

3.8.Histolojik Örneklerin Hazırlanması ve Histolojik Analiz

Kemirgen deney hayvanlarında mikroskobik morfometri, histomorfometri veya mikro-bilgisayarlı tomografi kullanılarak yapılan alveoler kemik kaybı analizlerinin sonuçlarının farklı olmadığı rapor edilmiştir (293). Bu yüzden çalışmamızda alveoler kemik kaybının analizinde histomorfometrik analiz metodu kullanılmıştır.

Sakrifiye edilen hayvanların maksillaları diseke edildi. %10 luk formalin solüsyonunda (pH 7.2) 48 saat bekletildikten sonra diseke edilen maksillalar akan suda 1 gün boyunca yıkandılar ve %10 glasiyal asetik asitte 3 ay boyunca demineralize edildiler. Demineralizasyon sürecinin sonunda maksillar orta suturdan geçecek şekilde ayrıldıktan sonra akan suda 1 gün boyunca yıkandılar. Ardından bir seri alkol solüsyonlarında dehidrate edildiler ve temizleme işleminden sonra parafin bloklara alındılar. Parafin bloklar içerisindeki örnekler meziodistal yönde 4 μ m kalınlığında seri kesitler alındıktan sonra hematoxylin-eosin veya Masson's trichrome ile boyandı.

Histolojik kesitler üzerinde, 1. ve 2. molar dişler arasındaki belirlenen mine sement sınırı - alveoler kret tepesi arasındaki mesafe, ışık mikroskobu ve mikroskoba bağlı kamera ile alınan görüntü üzerinde mesafe ölçümü yapabildiğimiz AnalySIS programı kullanarak (4x, 10x veya 20x) yapılmıştır. Ölçümleri gruplara maskeli bir araştırmacı, her yarım bölgede en az 10 ayrı kesitlerde yapmıştır.

Hayvanlarda kendiliğinden periodontitis oluşmaması için, büyüme aşamasında ve deney boyunca literatürde tarif edilen besleme ve barındırma koşullarına uyuldu (294). Negatif-kontrol grubunda yapılan histolojik örneklemede görüldüğü gibi hayvanlarda alveoler kemik kaybı görülmediği izlenmektedir. Negatif kontrol grubunda ölçülen mine sement birleşimi - alveoler kret tepesi arasındaki mesafe biyolojik genişlik olarak kabul edildi. Ortalama biyolojik genişlik hesaplandıktan sonra diğer gruplardan

ıkartılarak alveoler kemik kaybı belirlendi, negatif kontrol grubunda alveoler kemik kaybına "0" değeri verildi.

3.9. İstatistiksel Analizler

Deney gruplarının sayısı, literatürdeki benzer çalışmaların incelenmesiyle elde edilen verilerden güç analizi (power analysis) yapılarak belirlendi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz SPSS 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Veriler arası korelasyonda Pearson Korelasyon analiz testi kullanıldı. Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak verilerin normal dağılıma uygunluğu belirlendi. Normal dağılım kurallarına uyan verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farkın bulunması durumunda post-hoc gruplar arası karşılaştırmalar için verilerin homojenite testi sonucuna göre Dunnett T3 testi kullanıldı. Normal dağılım kurallarına uymayan verilerin analizi için Kruskal-Wallis testi kullanılarak post-hoc gruplar arası kıyaslamalar yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık derecesi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Vücut Ağırlıkları:

Deneyin başlangıcında gruplar arasında vücut ağırlıkları açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.288$) (Tablo 4.1). Fakat deney sonunda NK grubuna kıyasla P ($p > 0.05$) ve P100 ($p > 0.05$) grubu hariç diğer gruplardaki kilo kaybı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.1).

Propolis tedavisi almayan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; P grubunda görülen kilo kaybı D ($p = 0.003$) ve DP ($p = 0.009$) ye göre anlamlı derecede az bulunmuştur. Fakat D ile DP grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.1).

Propolis tedavisi alan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; P100 grubunda görülen kilo kaybı D100 ($p = 0.694$) ve DP100 ($p > 0.05$) e göre anlamlı derecede az bulunmuştur. Ek olarak, D100 ile DP100 grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.1).

Propolis tedavisi alan ve almayan gruplar arasında kıyaslama yapıldığında; P ve P100 arasında ($p > 0.05$), D ve D100 arasında ($p > 0.05$) ve DP ve DP100 ($p > 0.05$) arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Şekil 4.1).

Kan Glukoz Düzeyi:

Deneyin başlangıcında yapılan kan glukoz düzeyi analizine göre gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.472$) (Tablo 4.1). Deney bitiminde ise gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.2).

NK grubuna kıyasla; P ($p > 0.05$), P100 ($p > 0.05$) ve D100 ($p > 0.05$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmazken, D ($p = 0.002$), DP ($p = 0.0001$) ve DP100 ($p = 0.019$) gruplarının kan glukoz seviyeleri anlamlı derecede yüksek olduğu analiz edilmiştir (Şekil 4.2).

Propolis tedavisi almayan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; DP ($p = 0.001$) ve D ($p = 0.005$) gruplarında rapor edilen kan glukoz düzeyi P ye göre anlamlı derecede yüksek

bulunmuştur. DP grubunun kan glukoz düzeyi D grubuna göre daha fazla çıkmasına rağmen bu fark istatistiksel anlamlılık derecesine ulaşmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.2).

Propolis tedavisi alan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; DP100 grubunda görülen kan glukoz seviyeleri; P100 ($p = 0.130$) ve D100 ($p > 0.05$) e kıyasla daha fazla çıkmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca P100 ve D100 arasındaki fark da anlamlı değildir ($p = 0.298$) (Şekil 4.2).

Propolis tedavisi alan ve almayan gruplar arasında kıyaslama yapıldığında; P ve P100 arasında ($p > 0.05$), D ve D100 arasında ($p > 0.05$) ve DP ve DP100 ($p > 0.05$) arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Şekil 4.2).

Alveoler Kemik Kaybı:

Gruplardan alınan histolojik kesitler örnek fotoğraflarda gösterilmiştir (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7)

Negatif-kontrol (NK) grubunda yapılan histolojik analiz hayvanların periodontal açıdan sağlıklı olduğunu ve alveoler kemik kaybının olmadığını göstermiştir. Tek yönlü ANOVA testi sonrası deney sonunda gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.3).

NK grubuna kıyasla; tüm gruplardaki alveoler kemik kaybı anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$) (Şekil 4.3).

Propolis tedavisi almayan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; en fazla alveoler kemik kaybı DP grubunda görülmüştür, ve DP grubundaki kemik kaybı D ye göre anlamlı derecede fazlayken ($p = 0.0003$), P ye göre anlamlı bulunmamıştır ($p = 0.953$). P grubundaki kemik kaybı ise D ye göre anlamlı derecede fazladır ($p = 0.00001$) (Şekil 4.3).

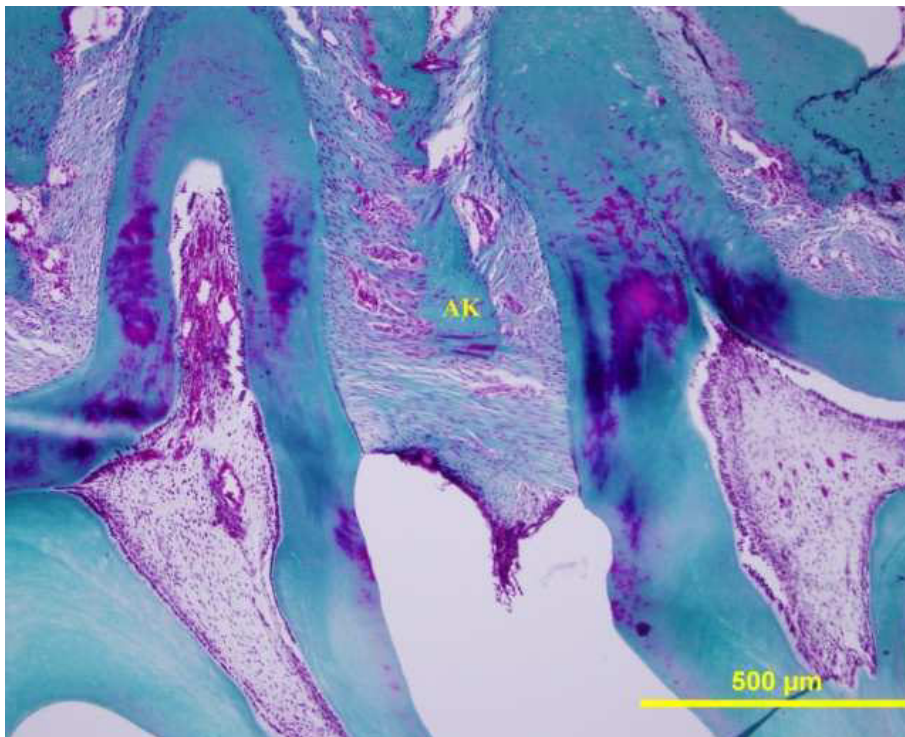
Propolis tedavisi alan gruplar arasında yapılan kıyaslamada; D100 grubuna kıyasla P100 ($p = 0.0003$) ve DP100 ($p = 0.001$) gruplarındaki kemik kayıpları anlamlı derecede fazladır. Ek olarak P100 ve DP100 grupları arasında fark bulunmamıştır ($p = 0.152$) (Şekil 4.3).

Propolis tedavisi alan ve almayan gruplar arasında kıyaslama yapıldığında; DP grubundaki kemik kaybı DP100 e göre fazla olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p = 0.219$). P100 grubundaki alveoler kemik kaybı P ye göre anlamlı derecede az bulunmuştur ($p = 0.001$). D ile D100 arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.3).

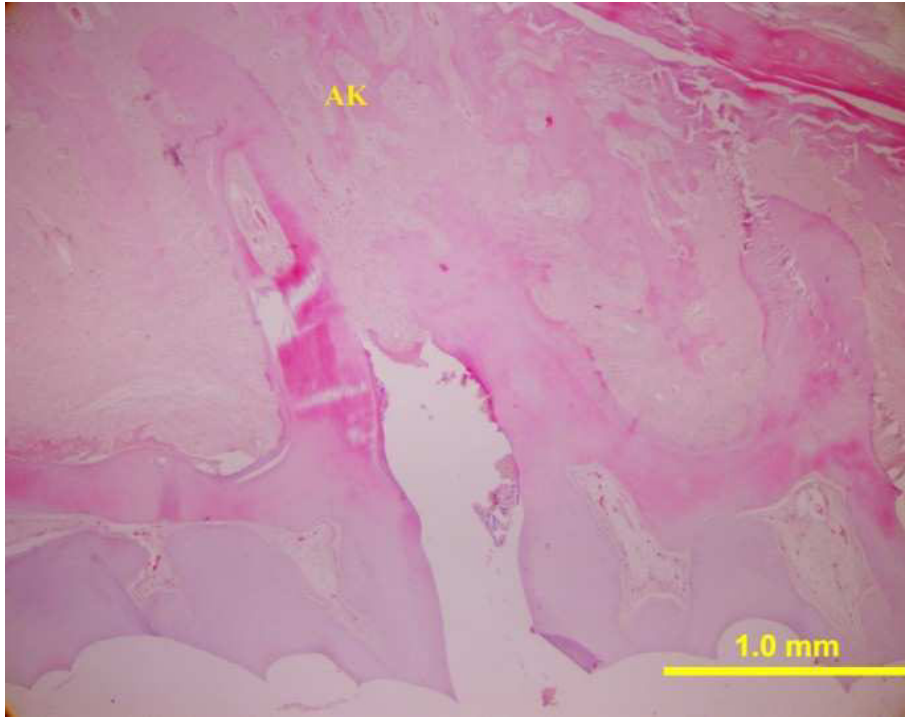
Plazma IL-1 β , TNF- α ve MMP-8:

Yapılan istatistiksel analiz, plazma IL-1 β ($p = 0.066$), TNF- α ($p = 0.431$) ve MMP-8 ($p = 0.274$) grupları arasında deney sonunda istatistiksel anlamlı fark olmadığını göstermiştir (Şekil 4.4, 4.5, 4.6).

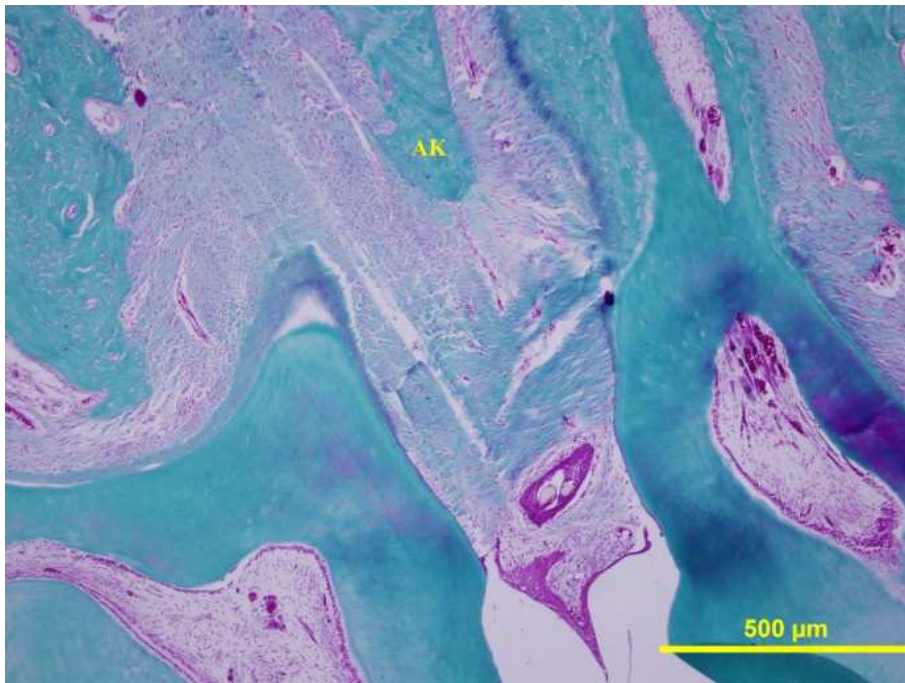
Ek olarak parametreler arasında yapılan korelasyon analizinde kilo kaybı ile plazma TNF- α arasında negatif yönlü ve istatistiksel anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir ($r = -0.275$, $p = 0.040$). Diğer parametreler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.



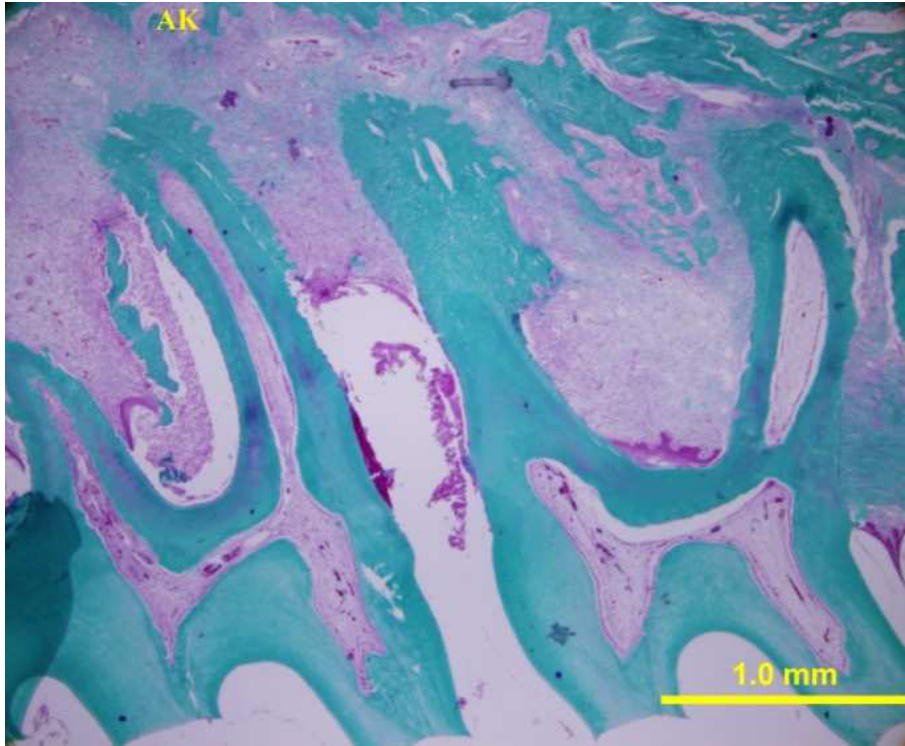
Resim 4.1: NK grubu. Alveoler kemik (AK). (Masson's trichrome).



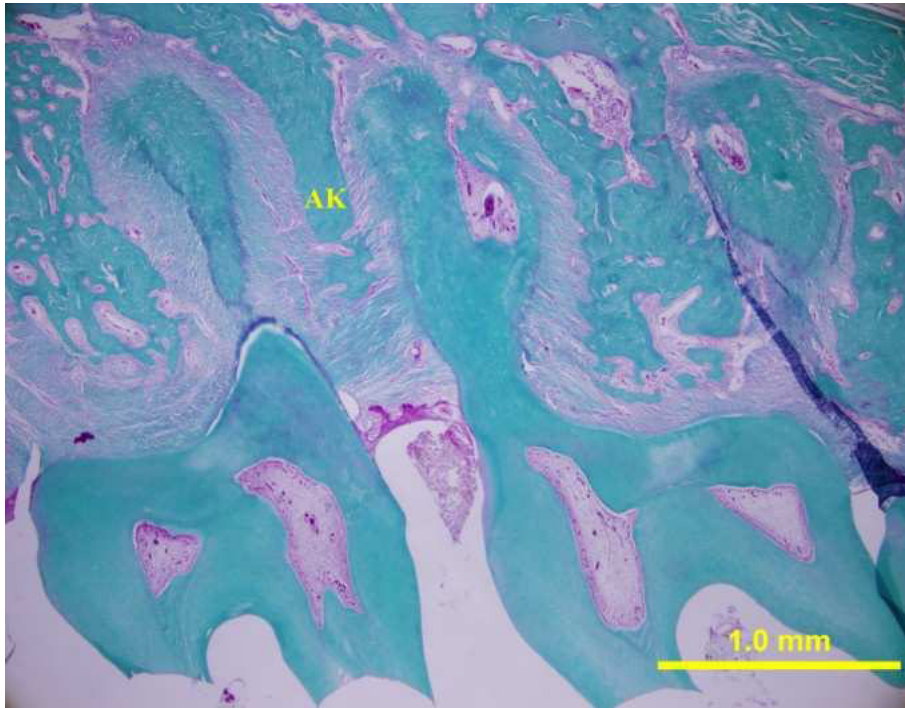
Resim 4.2: P grubu. Alveoler kemik (AK). (Hematoxylin-Eosin).



Resim 4.3: D Grubu. Alveoler kemik (AK). (Masson's trichrome).



Resim 4.4: DP Grubu. Alveoler Kemik (AK). (Masson's trichrome).



Resim 4.5: P100 Grubu. Alveoler kemik (AK). (Masson's trichrome).



Resim 4.6: D100 Grubu. Alveoler kemik (AK). (Hematoxylin-Eosin).



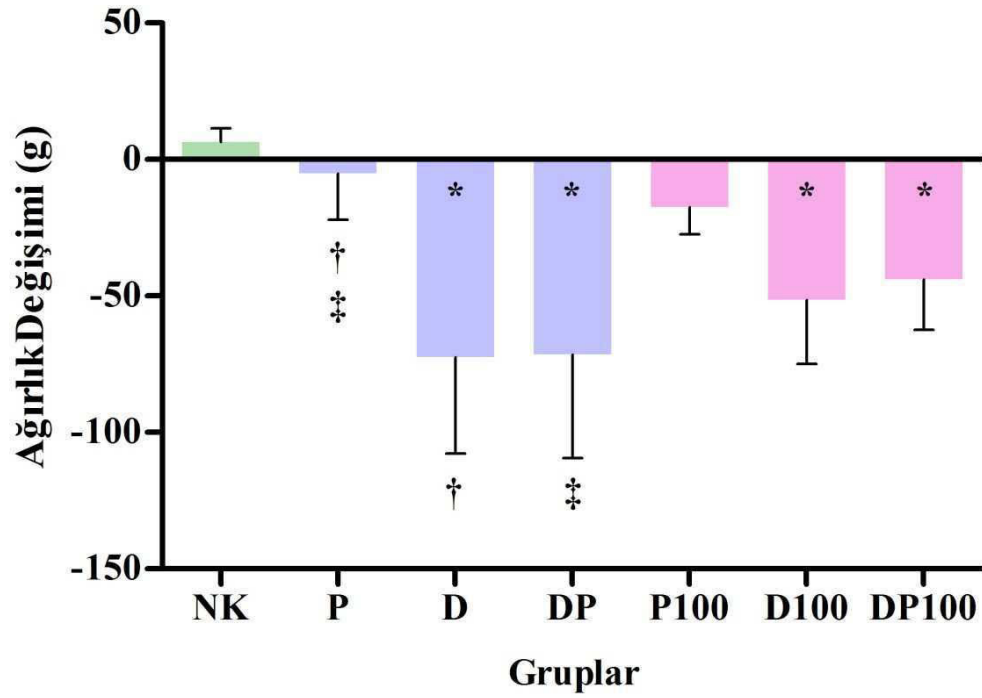
Resim 4.7: DP100 Grubu. Alveoler kemik (AK). (Hematoxylin-Eosin).

Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri

	Kontrol Grubu	Tedavi Edilmeyen Gruplar			Tedavi Edilen Gruplar			P Değeri
	NK	P	D	DP	P100	D100	DP100	
Başlangıç Ağırlıkları (g)	339.9 ± 42.2	330.1 ± 52.9	361.8 ± 45.8	340.5 ± 24.1	327.9 ± 39.5	304.8 ± 57.9	321.1 ± 42.3	p = 0.288
Kilo Kaybı (g)	6.4 ± 5.0	-5.1 ± 17.0	-72.4 ± 35.3	-71.5 ± 37.9	-17.5 ± 9.9	-51.5 ± 23.5	-43.9 ± 18.5	p < 0.05
Başlangıç Kan Glukoz (mg/dl)	110.6 ± 17.1	111.0 ± 15.5	109.0 ± 4.7	117.4 ± 10.0	109.3 ± 6.1	115.4 ± 9.7	110.9 ± 10.1	p = 0.472
21.Gün Kan Glukoz (mg/dl)	122.8 ± 14.1	128.8 ± 8.9	413.3 ± 78.7	450.9 ± 94.6	132.0 ± 24.4	319.4 ± 129.0	365.1 ± 59.6	p < 0.05
Alveoler Kemik Kaybı (mm)	0.0 ± 0.0	1.39 ± 0.03	0.31 ± 0.12	1.62 ± 0.41	0.78 ± 0.16	0.33 ± 0.09	0.72 ± 0.28	p < 0.05
IL-1β (pg/ml)	45.3 ± 12.8	46.4 ± 11.0	48.7 ± 7.3	44.4 ± 14.6	38.7 ± 4.2	40.5 ± 8.1	35.2 ± 4.1	p = 0.066
TNF-α (pg/ml)	31.2 ± 1.3	31.8 ± 1.1	33.7 ± 4.1	33.6 ± 4.3	33.0 ± 1.4	36.3 ± 8.9	33.2 ± 4.9	p = 0.431
MMP-8 (pg/ml)	3.5 ± 0.8	3.2 ± 1.1	3.0 ± 0.8	2.4 ± 0.7	3.4 ± 0.8	3.1 ± 1.2	3.4 ± 0.9	p = 0.274

Veriler ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir.

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında one-way ANOVA veya Kruskal-Wallis testleri kullanılarak yapılmıştır.



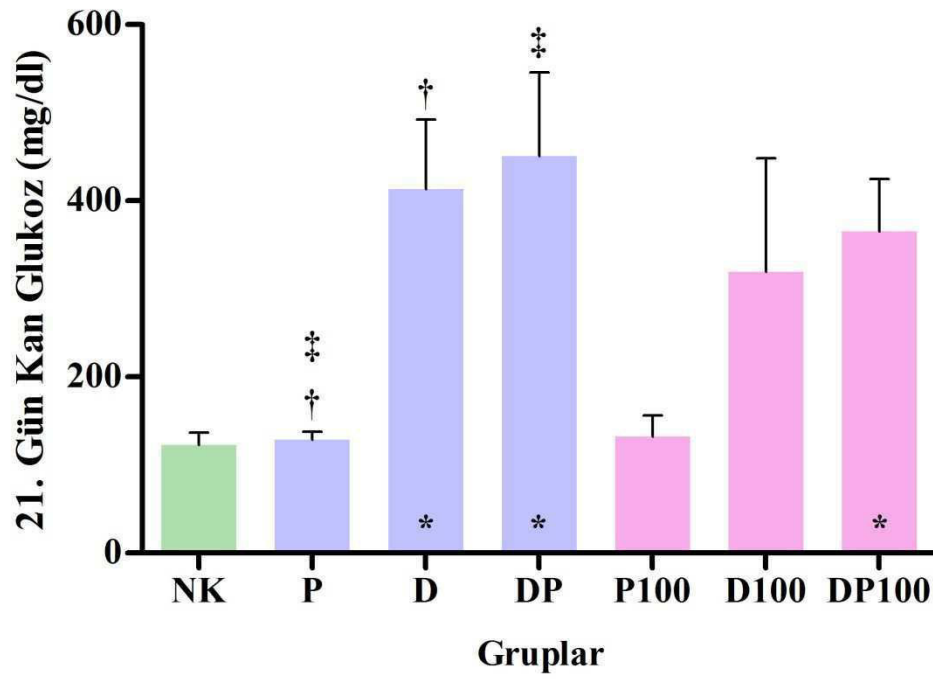
Şekil 4.1: Grupların Vücut Ağırlığı Değişimleri

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

* Kıyaslamalar NK grubuna göre diğer gruplarla yapılmıştır. Diyabetik gruplar (D, DP, D100 and DP100) NK grubundan istatistiksel olarak anlamlı değerlerde farklıdır ($p < 0.05$).

† Propolis tedavisi almayan gruplar arasında kıyaslamalar yapılmıştır. P grubu D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

‡ Propolis tedavisi almayan gruplar arasında kıyaslamalar yapılmıştır, P grubu DP grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak değerde farklıdır ($p < 0.05$).



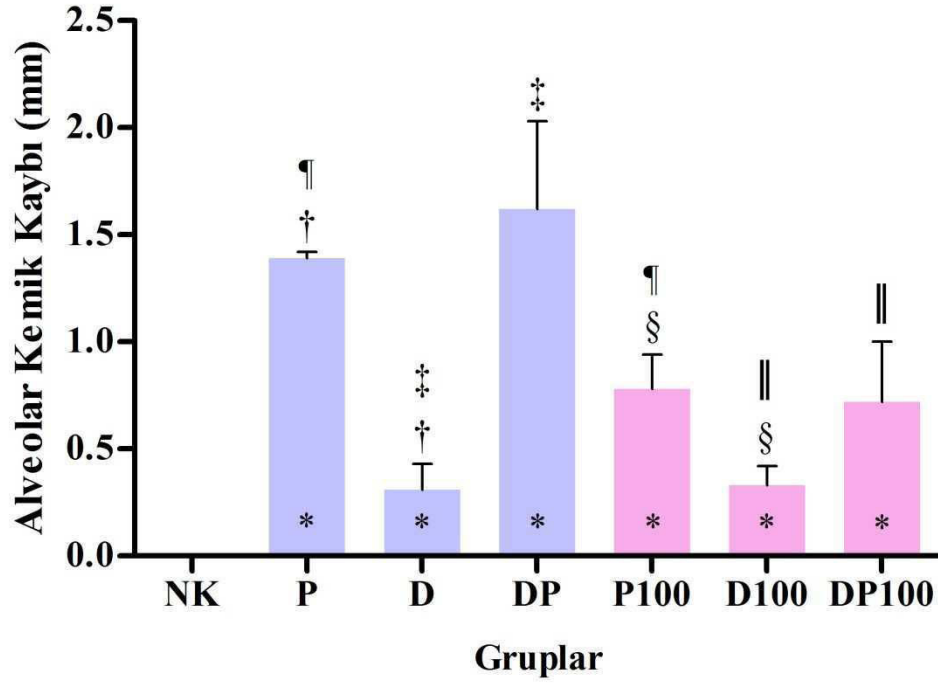
Şekil 4.2: Grupların Plazma Glukoz Değerleri (Final)

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

* Kıyaslamalar NK grubuna göre diğer gruplarla yapılmıştır. D, DP and DP100 grupları NK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerlerde farklıdır ($p < 0.05$).

† DP grubu P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

‡ D grubu P grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).



Şekil 4.3: Grupların Alveoler Kemik Kayıpları

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

* Kıyaslamalar NK grubuna göre diğer gruplarla yapılmıştır. Tüm gruplar NK grubundan istatistiksel anlamlı değerlerde farklıdır ($p < 0.05$).

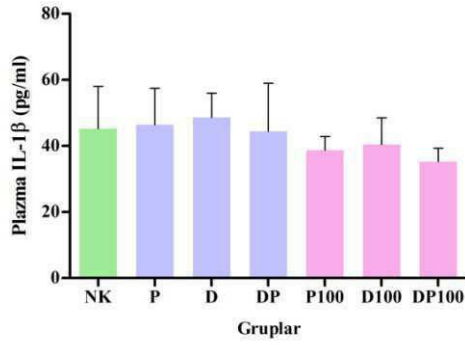
† P grubu D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

‡ DP grubu D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

§ P100 grubu D100 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

|| DP100 grubu D100 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).

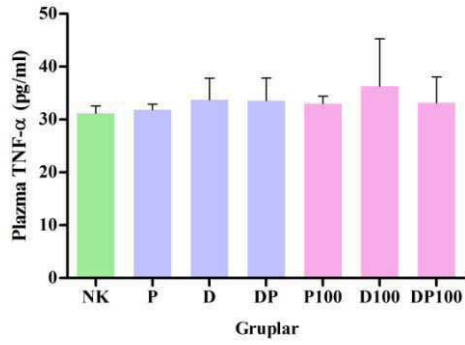
¶ P grubu P100 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değerde farklıdır ($p < 0.05$).



Şekil 4.4: Grupların Plazma IL-1β Seviyeleri

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

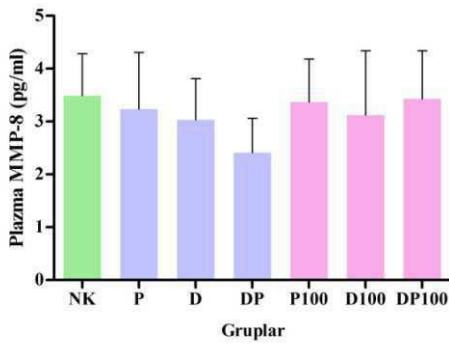
Kıyaslamalar tüm gruplar arasında yapılmıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.5: Grupların Plazma TNF-α Seviyeleri

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında yapılmıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.6: Grupların Plazma MMP-8 Seviyeleri

Grafik çubukları "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Kıyaslamalar tüm gruplar arasında yapılmıştır ($p > 0.05$).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Periodontitis; periodontal cep formasyonu, klinik ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterize en yaygın inflamatuvar hastalıklardan birisidir (1). Periodontitiste görülen yumuşak ve sert doku kaybının sebebi, patojen bakteriyel plağa karşı konağın immüno-inflamatuvar yanıtının aşırı aktifleşmesinden kaynaklandığı açıkça ifade edilmektedir (2). Böylece konağın savunma hücrelerinin inflame dokuya göçü gerçekleşmekte ve IL-1 β ve TNF- α gibi yüksek konsantrasyonlarda pro-inflamatuvar sitokin üretimiyle sonuçlanmaktadır (30, 31).

IL-1 β ve TNF- α periodonsiyumdaki nötrofil, lenfosit, makrofaj, epitel hücreler ve fibroblastlar gibi birçok hücre grubundan sentezlenir (32). IL-1 β ve TNF- α öncül osteoklast hücrelerinin farklılaşmasını sağlayarak osteoklastların aktivasyonunu uyarır ve dolayısıyla osteoklastlar direkt ve indirekt yollarla bağ dokusu ve alveoler kemiğin rezorpsiyonunu başlatır (32, 33). Ayrıca, IL-1 β ve TNF- α kemik yıkımı sürecinde sinerjistik etki gösterirler (34). Bu sitokinlerin periodonsiyumdaki doku yıkımını ve hastalığın şiddetini göstermesindeki rolleri çokça çalışılmıştır (35, 36). IL-1 β ve TNF- α kemokinlerin üretimini de uyararak dolaşımdaki lökositlerin inflamasyonun bulunduğu yere göçünü sağlayarak MMP-8 gibi diğer inflamatuvar mediatörlerin de ortama salgılanmasına yardımcı olurlar (37).

Kollejenaz-2 veya nötrofil kollejenaz olarak da bilinen MMP-8 başlıca polimorfonükleer lökositler tarafından sentezlenir (37). MMP-8, periodontal dokulardaki en yaygın kollajen olan tip 1 kollajenin yıkımından sorumludur (52). Aynı zamanda MMP-8 periodontitiste agresif kemik yıkımından sorumludur ve bu enzimin seviyelerindeki artış, şiddetli periodontal inflamasyonla ilişkilendirilmiştir (37, 52).

Diabetes mellitus, insülin salınımında, insülin direncinde veya her ikisinde bozulma sonucu hiperglisemiyle karakterize olan sistemik hastalıktır. Tip 1 diyabet, insülin salgılayan pankreasın β -hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu oluşur. Tip 2 diyabet ise insülin üretiminin tamamen yok olmasından ziyade insüline karşı dokuların direncinden kaynaklanır. Periodontal hastalık, büyüyen global bir sağlık problemi olan diabetes mellitusun, retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar ve yara

iyileşmesinde değişiklik gibi komplikasyonların ardından 6. komplikasyonu olarak bilinmektedir (6).

Hem periodontal hastalık, hem de diabetes mellitus kronik inflamatuvar hastalıklardır ve inflamasyon patogeneizlerinde önemli rol oynar (7). Çoğalan bulgular gösteriyor ki periodontal inflamasyon, endokrin benzeri görev yapmaktadır ve periodontal inflamasyonda IL-1 β ve TNF- α gibi lokal üretilen sitokinler, sistemik düşük-düzey inflamasyonla ilişkilendirilmiştir (91, 92). Benzer olarak diabetes mellitusa bağlı hiperglisemi de sistemik düşük-düzey inflamasyon durumuyla ilişkili bulunmuştur ve bu durum diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olmaktadır (93). Hem tip 1 hem de tip 2 diyabette sistemik inflamatuvar marker düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (94). Ek olarak, bireyin sahip olduğu inflamatuvar hastalığının diğer inflamatuvar hastalıkların da insidans ve şiddetini etkilediği düşünülmektedir (87). Literatürde teşhisi konulmuş diabetes mellitus vakalarının arttığı görülmektedir (87) ve eşlik eden belli bir hastalığın yokluğunda, diyetle tam bağlı olmalarına ve ilaç kullanmalarına rağmen diyabet hastaları zayıf glisemik kontrol gösterebilirler (95).

Diyabete bağlı sitokin dengesizliğinin patogenezi hala açıklanamadığından, periodontitisin diyabet üzerine potansiyel etkilerini inceleyen klinik ve deneysel çalışmalar geniş bir alan oluşturmaktadır. Ayrıca deneysel periodontitis oluşturulmasında farklı modellerin hem lokal, hem de sistemik sitokin üretimine etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (9). Pro-inflamatuvar sitokin ve mediatörlerin serum seviyelerinin çalışılması, onların sadece konak savunmasındaki rollerini değil aynı zamanda diyabet ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi de belirlemek açısından önem taşımaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, yeni periodontal tedavi stratejilerinde konak yanıtına ve konak yanıtını düzenleyici ajanların kullanımına yoğunlaşmıştır. Tedavi protokolüne konak yanıtını düzenleyici ajanların da eklenmesi, tedavi yanıtını artırarak hastalığın ilerlemesini azaltabilir ve hastalığa yatkın bireylerde iyileşme potansiyelini daha öngörülebilir hale getirebilir (295).

Propolis, bal arılarının çeşitli bitkilerden toplayıp mumsu bileşiklerle karıştırarak oluşturduğu reçinemsi materyaldir ve içerisinde 300 den fazla bileşik bulundurur (10,

11). Propolisin kimyasal kompozisyonu toplandığı bölgenin fitocoğrafik özelliğine ve araştırmalarda kullanılan çözücülere göre değişkenlik gösterir (10, 113). Bu yüzden bilimsel araştırmalarda standart bir propolis kompozisyonu kullanmak zordur ve günümüzde henüz gerçekleştirilememiştir (10, 11). Propolis biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Literatürde propolisin anti-inflamatuar (11), immüno-modülatör (11) ve kemik rezorpsiyonu üzerine etkileri (12, 167) gösterilmiştir. Biz de bu etkilerin kronik inflamatuvar hastalıklar olan diabetes mellitus ve periodontitiste de görülebileceği hipotezinden yola çıkarak; ligatürle oluşturulan periodontitis ve/veya streptozotosin ile oluşturulan diyabetin; 1) IL-1 β , TNF- α ve MMP-8 plazma düzeyi, 2) alveoler kemik kaybı, kan glukoz seviyesi, kilo kaybı parametreleri üzerine etkilerini 3) ve sistemik propolis tedavisinin bu parametrelerde oluşturduğu değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

İnsanlarda görülen her hastalığın deneysel olarak oluşturulan hayvan modellerinde bazı farklılıklar ve kısıtlamalar olmasına rağmen, ratlarda molar dişlere ligatür bağlanarak oluşturulan periodontitis ve streptozotosin enjekte edilerek oluşturulan diyabet modelleri literatürde sıklıkla kullanılmaktadır (9). Ayrıca hayvan modellerinin kullanılması, bir hastalığın başlama evresini izleyebilmemize ve sebep-sonuç ilişkisini belirleyebilmemize olanak sağlayacaktır. Bununla birlikte hayvan modelini tercih ederek iki ayrı hastalık arasındaki ilişkiyi başlangıç aşamasında araştırabilmekteyiz. Periodontal tedaviye ek olarak propolis gibi konak modülasyonu potansiyeline sahip ajanların klinik kullanımı öncesinde deneysel çalışmalarla incelenmesi gerekliliği kaçınılmazdır (296).

Literatürde deneysel periodontitis çalışmalarında farklı hayvan modelleri kullanılmıştır (9). Çalışmamızda kullandığımız wistar albino ratlarda literatürde tarif edilen beslenme ve barındırma koşullarına uyulmuştur (294).

Çalışmanın sonuçları ortalama plazma IL-1 β seviyelerinin tedavi olmayan gruplarda arttığını, ve propolis tedavisi alan gruplarda azaldığını göstermiştir, fakat bu değişimler istatistiksel anlamlılık değerine ulaşmamıştır ($p > 0.05$). Ek olarak, plazma TNF- α gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılıkta değildir ($p > 0.05$). Nishihara ve ark. (297) diyabetik KKAY farelerde ve onların diyabetik olmayan kontrollerinde, kafatası derisine *P. gingivalis* inokülasyonunun serum TNF- α seviyeleri üzerine etkilerini

incelemişlerdir. *P. gingivalis* inokülasyonunun, özellikle diyabetik grupta daha fazla olmak üzere, serum TNF- α seviyelerinde artışa sebep olduğunu vurgulamışlardır. KKAy diyabetik ratlarda maksimum TNF- α seviyesinin 5. günde görüldüğünü ve sonra düzenli bir şekilde azaldığını göstermişlerdir. Takano ve ark. (298) benzer dizayn kullanarak yaptıkları çalışmalarında *P. gingivalis* inokülasyonundan sonra 3. günde serum TNF- α seviyesinin diyabetik ve kontrol gruplarda anlamlı bir şekilde arttığını göstermişlerdir. Ugochukwu ve ark. (299) normal besinle beslenen ve streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetik ratlarda, ikinci haftadaki plazma TNF- α seviyelerini karşılaştırmışlardır. İki grup arasında plazma TNF- α seviyeleri arasında fark bulunmazken, diyabetik ratlarda plazma IL-1 β seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Literatür incelendiğinde çalışmaların sonuçları arasındaki farklılığın deneysel periodontitis oluşturma yöntemlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Periodontitisli hastalarda serum IL-1 β ve/veya TNF- α seviyelerini inceleyen çalışmaların bir kısmı sağlıklı kontrollere göre değerlerin arttığını gösterirken (300, 301), diğerleri fark bulmamışlardır (302-304). Ek olarak, Bretz ve ark. yaptıkları çalışmalarında, periodontitisin ağız içerisinde yaygınlığının plazma TNF- α seviyelerini etkilediği gösterilmişlerdir (305). Periodontal tedavinin serum IL-1 β ve/veya TNF- α seviyeleri üzerindeki etkilerini inceleyen kısa dönem insan çalışmalarında, sitokin seviyelerinin tedaviden hemen sonra yükseldiğini ve ilerleyen zamanlarda başlangıç değerlerine döndüklerini rapor etmişlerdir (306, 307). Periodontal tedavinin uzun dönem etkilerini inceleyen çalışmaların çoğu ise bu sitokinlerin tedavinin başındaki ve sonrasındaki değerlerinin farklı olmadığını göstermiştir (308-311). Diğerleri ise serum TNF- α seviyelerinin periodontal tedavi sonrası uzun dönem incelemelerde düştüğü rapor edilmiştir (312, 313).

Periodontitisin de eşlik ettiği diyabetik hastaların serum IL-1 β ve/veya TNF- α seviyelerini inceleyen klinik çalışmalar da mevcuttur. Periodontitis teşhisi konulmuş tip 2 diyabetik hastalardaki serum IL-1 β ve/veya TNF- α seviyelerini sadece diyabetik hastalarla (314) veya sadece periodontitisi olan sistemik sağlıklı hastalarla (315) karşılaştıran çalışmalar gruplar arasında anlamlı fark bulmamıştır. Ancak, bir çalışma periodontitisin şiddetinin tip 2 diyabetik hastalarda plazma TNF- α seviyelerini etkilediğini göstermiştir (316). Yeni yapılan bir araştırmada periodontitisi olan diyabetik hastalarda periodontal tedavinin ardından 3 ay sonra serum TNF- α

seviyelerinin anlamlı biçimde düştüğü belirtilmiş (317), ancak diğer bir çalışmada fark gösterilmemiştir (315). Literatürdeki klinik çalışmaların sonuçları arasındaki farklılık çalışmaların dizaynlarından ve çevresel faktörlerden kaynaklı olabilir.

Tip 1 ve/veya tip 2 diyabetli hastaların serum IL-1 β ve TNF- α seviyelerini sistemik sağlıklı kontrollerle karşılaştıran çalışmalar farklı sonuçlar bulmuşlardır (318-320). Ayrıca Spranger ve ark. (320) tip 2 diyabetik hastalarda serum TNF- α seviyelerinin arttığını fakat vücut kütle indeksine göre gruplar tekrar düzenlendiğinde bu farkın ve bireyde ileriki zamanlarda tip 2 diyabet gelişme olasılığının artık istatistiksel anlamlı olmadığını göstermişlerdir. Obez hastaların adipoz dokuları diğer faktörlerden bağımsız olarak TNF- α sitokini daha fazla sentezlemektedir ve bu hastaların serum TNF- α seviyeleri kilo kaybı ile düşmektedir (87). İnsan çalışmalarında tip 2 diyabetik hastaların çoğunun vücut kütle indekslerinin yüksek olması serum TNF- α seviyelerini de etkileyebilmektedir (87). Bu çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda görülen vücut ağırlığındaki değişim ile plazma TNF- α seviyeleri arasında korelasyon bulunması ($r = -0.275$, $p = 0.040$), diyabet başlangıcında görülen kilo kaybının sonucu olarak vücut yağ miktarındaki azalmanın plazma TNF- α seviyesini etkileyebileceğini düşündürmektedir. Fakat literatürde kontrolsüz diyabetle birlikte görülen kilo kaybının dolaşımdaki TNF- α seviyeleri üzerine etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Literatürde propolisin sitokin salınımına etkisini inceleyen hücre kültürü çalışmaları mevcuttur. Blonska ve ark. (321) PEE nin içerisindeki bazı flavonoid türlerinin (chrysin, galangin, kaempferol ve quercetin) lipopolisakkaritle uyarılan J774A.1 makrofaj hücre kültürlerinde IL-1 β gen salınımı üzerinde baskılayıcı etkileri olduğunu rapor etmişlerdir. Ha ve ark. (322) chrisinin IL-1 β ve TNF- α salınımını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca Rossi ve ark. (323) PEE ve CAPE nin ve onların bazı komponentlerinin J774 makrofaj kültürlerinde COX-1 ve COX-2 yollarını inhibe ederek PGE-2 salınımını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada gruplar arasında plazma MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Fakat ortalama plazma MMP-8 seviyeleri propolis tedavisi almayan gruplarda azaldığı, propolis tedavisi verilen gruplarda ise artarak NK grubunun değerlerine yaklaştığı görülmektedir (Tablo 4.1, Şekil 4.6). Marcaccini ve ark. (324)

periodontitis hastalarının plazma MMP-8 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğunu ve periodontal tedaviden sonra 3. haftada yapılan ölçümlerde düştüğünü göstermişlerdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MMP-8 in doku yıkımındaki rolüne ek olarak, deneysel deri kanseri ve inflamatuvar akciğer hastalığının yayılmasına karşı koruyucu ve defansif anti-inflamatuvar özellikleri de gösterilmiştir (37, 325-327). Fakat diyabetin de eşlik ettiği periodontitis hastalarının serum MMP-8 seviyelerini inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada DP grubunda görülen kemik kaybının P grubuna kıyasla daha fazla bulunması ($p = 0.953$), streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetin deneysel periodontitisin şiddetini artırdığını düşündürmektedir. Holzhausen ve ark. da (328) kısa dönem deneysel diyabette görülen kemik kaybının radyografik analizlerini yaparak çalışmamıza benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Andersen ve ark. (291) tip 2 diyabetik Goto-Kakizaki ratlarıyla yaptıkları çalışmalarında uzun dönem kemik kayıplarını incelemişler ve ligatür ile oluşturulan periodontitis sonrası 6. haftada diyabetik gruplarda daha fazla kemik kaybı olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda propolis tedavisi periodontitis grubunda alveoler kemik kaybını azaltmıştır ($p < 0.05$). Çalışmamıza benzer şekilde, Toker ve ark. (167) da 11 günlük deney periyodu sonrası propolis tedavisinin deneysel periodontitiste görülen kemik kaybını azalttığını göstermişlerdir. Çalışmamızda ayrıca propolisin DP grubunda da alveoler kemik kaybını azalttığı belirlenmiştir ($p = 0.219$). Propolis tedavisi alan tüm gruplar arasında alveolar kemik kaybı açısından fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu bulgular diyabetin de eşlik ettiği periodontitisin tedavisinde propolisin etkilerini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda propolis tedavisi alan ve almayan diyabetik gruplar arasında (D ile D100) fark bulunmamıştır ($p > 0.05$, Tablo 4.1, Şekil 4.3). Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında propolisin aktif bir komponenti olan kafeik asit fenitil esterinin (CAPE) hücreler arasındaki sinyalizasyon yollarından RANKL nin NF-kappaB ve NFAT aktivitesini engelleyerek osteoklastik kemik rezorpsiyonunu önlediğini göstermişlerdir (12, 329, 330). Bununla birlikte literatürde diyabete bağlı görülen alveoler kemik kaybına neden olabilecek ek mekanizmalardan da söz edilmektedir. Diyabetin inflamatuvar yanıtı uzatarak şiddetini artırdığı (102) ve monosit ve makrofajlarının fonksiyonlarını değiştirerek periodontal patojenlere karşı daha fazla sitokin sentezine sebep olduğu (73) gösterilmiştir. Ayrıca diyabetin kemiğin turnoverını

etkilediği (331) ve kemik formasyonunda azalmaya sebep olduğu (102) rapor edilmiştir. Ek olarak diyabetin hücre apoptozisini artırdığı ve periodontal ligament fibroblastlarının ve osteoblastların sayısını azalttığı belirtilmiştir (102). *P. gingivalis* inokülasyonunu takiben diyabetik farelerin bağ dokularında sitokin denetiminin bozulmasına bağlı olarak TNF- α salınımının uzadığı da rapor edilmiştir (332). Özet olarak diyabette görülen tüm bu ek mekanizmalar diyabetin varlığında görülen alveoler kemik kaybında artışa neden olmaktadır.

Çalışmamızda, literatürdeki farklı deneysel diyabet (291, 328) modeli kullanan diğer çalışmalarla benzer olarak DP grubunda final kan glukoz düzeyi D grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p > 0.05$, Şekil 4.2). Diyabetik farelerde kafa derisine *P. gingivalis* inokülasyonu sonrası 3. ve 5. günlerde kan glukoz seviyesinin yükseldiği rapor edilmiştir (297). Ayrıca çalışmamızda final kan glukoz düzeylerinin propolis tedavisi alan gruplar arasında ve tedavi alan ile almayan gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$, Tablo 4.1, Şekil 4.2). Fuliang ve ark. (333) alloksan ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde PEE nin kan glukoz düzeyi üzerine etkileri araştırmışlar ve PEE alan diyabetik gruplarda kan glukoz düzeylerinin PEE almayan hayvanlara göre 3. haftada azalmaya başladığını ve 8. haftada bu azalmanın istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaştığını göstermişlerdir. Ek olarak Li ve ark. (334) propolisin streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetik hayvanlarda kan glukoz düzeyini düşürdüğünü rapor etmişlerdir.

Diyabete bağlı hiperglisemi sonucu dokulara yeterli miktarda glukoz geçişi olmadığından, enerji kaynağı olarak lipidlerin ve kollajen gibi proteinlerin enzimatik olmayan yollarla glikasyonu ve oksidasyonu ile kullanılmasına sebep olur. Sonuç olarak AGE'lerdeki artış, reseptörleri (RAGE) aracılığıyla monosit/makrofajlarla etkileşime geçerek onların aktivasyonuna ve IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin üretiminde artışa neden olarak bireyin hiperinflamatuvar duruma geçmesine sebep olur (73, 87). Hiperglisemi hücre içi yolları uyararak direkt hücre hasarına da sebep olabilmektedir (9). Ek olarak, hiperglisemi insan pankreatik β hücrelerinde IL-1 β üretimini artırmak suretiyle hücre proliferasyonunu azaltıp apoptozisi artırarak insülin sekresyonunda azalmaya yol açmaktadır (73). Çalışmamızda propolis, tedavi gruplarında görüldüğü üzere diyabetik grupların kan glukoz düzeyini düşürmüştür (Şekil 4.2). Sistemik propolis verilmesi aynı zamanda pankreasın β hücrelerinin yıkımını önlemiş olabilir.

Ayrıca, propolisin diyabet üzerine diğer bir etkisi de AGE lerin düzenlenmesi ve plazma IL-1 β seviyelerinin azaltılması yoluyla olabileceği hipotezi ilerki çalışmalarda açıklığa kavuşturulabilir.

Günümüzde yapılan yeni çalışmalarda propolis taşıyıcı sistemleri geliştirilmiş ve geleneksel periodontal tedaviye ek olarak kullanılmaya başlanmıştır (335-338). Yeni yapılan güncel bir çalışma, periodontal tedaviye ek olarak propolis ile subgingival irrigasyonun 6 aylık etkilerini incelemiş ve propolisin ek olarak kullanımı geleneksel tedaviye göre klinik ve mikrobiyolojik parametreler açısından daha etkin bulunmuştur (339). İleriki çalışmalarda diyabetin de eşlik ettiği periodontitisin tedavisinde ek olarak propolisin irrigasyon solüsyonu veya salım sistemlerinin veya sistemik kullanımının araştırılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Özet olarak,

- Plazma IL-1 β ve MMP-8 seviyeleri deney grupları arasında istatistiksel anlamlı değişiklik göstermemektedir ($p > 0.05$).
- Plazma TNF- α seviyeleri gruplar arasında anlamlı fark oluşturmazken ($p > 0.05$), streptozotocin ile oluşturulmuş kontrolsüz diyabette görülen kilo kaybı ile ters korelasyon göstermiştir ($r = -0.275$, $p = 0.040$).
- Streptozotocin ile oluşturulan diyabet, ligatürle oluşturulan periodontitisin şiddetini göreceli olarak artırmıştır ($p > 0.05$).
- Propolis tedavisi ligatürle oluşturulan periodontitiste görülen alveoler kemik kaybını azaltmıştır ($p < 0.05$), fakat sadece streptozotocin ile oluşturulan diyabette (D grubu) görülen periodontal kemik kaybına etki göstermemiştir ($p > 0.05$).
- Ligatürle oluşturulan periodontitis diyabetli grupta kan glukoz seviyesini sınırlı şekilde artırmıştır ($p > 0.05$) ve propolis tedavisi diyabetik gruplarda kan glukoz düzeyini göreceli olarak düşürmüştür ($p > 0.05$).

6. KAYNAKLAR

1. Page RC, Engel LD, Narayanan AS, Clagett JA. Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. JAMA. 1978; 240: 545-550.
2. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. Ann Periodontol. 1996; 1: 821-878.
3. Atkinson MA, Maclaren NK. What causes diabetes? Sci Am. 1990; 263: 62-63, 66-71.
4. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States. Centers for Disease Control and Prevention; (2011). <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/estimates11.htm> (23.09.2012)
5. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. Nat Rev Endocrinol. 2011; 7: 738-748.
6. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care. 1993; 16: 329-334.
7. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. Diabetologia. 2012; 55: 21-31.
8. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. Diabetes Care. 2004; 27: 813-823.
9. Pontes Andersen CC, Flyvbjerg A, Buschard K, Holmstrup P. Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies. J Periodontol. 2007; 78: 1264-1275.
10. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. J Ethnopharmacol. 2005; 100: 114-117.
11. Sforcin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? J Ethnopharmacol. 2011; 133: 253-260.
12. Ang ES, Pavlos NJ, Chai LY, et al. Caffeic acid phenethyl ester, an active component of honeybee propolis attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via the suppression of RANKL-induced NF-kappaB and NFAT activity. J Cell Physiol. 2009; 221: 642-649.

13. 1999 International International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30-November 2, 1999. *Ann Periodontol.* 1999; 4: 1-112.
14. Eley BM, Soory M, Manson JD. *Periodontics* (6th ed), 2009.
15. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 905-911.
16. Lindhe J, Hamp S, Loe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res.* 1973; 8: 1-10.
17. Carranza FA, Rapley JW, Haake SK. *Gingival Inflammation. Carranza's Clinical Periodontology* (10th ed). p. 263-268.
18. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 216-248.
19. Carranza FA, Jr. Histometric evaluation of periodontal pathology. A review of recent studies. *J Periodontol.* 1967; 38: 741-750.
20. Lindhe J, Socransky SS. Chemotaxis and vascular permeability produced by human periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res.* 1979; 14: 138-146.
21. Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3: 9-16.
22. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 33-53.
23. Flemmig TF. [Immunological aspects of periodontal diseases. Prospects for diagnosis and therapy]. *Parodontol.* 1990; 1: 203-222.
24. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001; 25: 8-20.
25. Fridman WH, Michon J. Pathophysiology of cytokines. *Leuk Res.* 1990; 14: 675-677.
26. Oppenheim JJ, Neta R. Pathophysiological roles of cytokines in development, immunity, and inflammation. *FASEB J.* 1994; 8: 158-162.
27. Joseph L, Fink LM, Hauer-Jensen M. Cytokines in coagulation and thrombosis: a preclinical and clinical review. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2002; 13: 105-116.

28. Shapiro L, Gelfand JA. Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy. *New Horiz.* 1993; 1: 13-22.
29. Dinarello CA. The role of interleukin-1 in host responses to infectious diseases. *Infect Agents Dis.* 1992; 1: 227-236.
30. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000.* 2010; 52: 163-206.
31. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol.* 2011; 38: 60-84.
32. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003; 74: 391-401.
33. Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1989; 4: 113-118.
34. Stashenko P, Dewhirst FE, Peros WJ, Kent RL, Ago JM. Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol.* 1987; 138: 1464-1468.
35. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2007; 43: 294-315.
36. Sakai A, Ohshima M, Sugano N, Otsuka K, Ito K. Profiling the cytokines in gingival crevicular fluid using a cytokine antibody array. *J Periodontol.* 2006; 77: 856-864.
37. Sorsa T, Tjaderhane L, Kontinen YT, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med.* 2006; 38: 306-321.
38. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J.* 1998; 12: 1075-1095.
39. Vargova V, Pytliak M, Mechirova V. Matrix metalloproteinases. *EXS.* 2012; 103: 1-33.
40. Gupta SP. Matrix metalloproteinase inhibitors: specificity of binding and structure-activity relationships. *EXS.* 2012; 103: 6-7.

41. Martins VL, Caley M, O'Toole EA. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair. *Cell Tissue Res.* 2012.
42. Decock J, Thirkettle S, Wagstaff L, Edwards DR. Matrix metalloproteinases: protective roles in cancer. *J Cell Mol Med.* 2011; 15: 1254-1265.
43. Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J.* 2011; 278: 16-27.
44. Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res.* 2003; 59: 812-823.
45. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem.* 1997; 378: 151-160.
46. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res.* 1995; 77: 863-868.
47. McCawley LJ, Li S, Benavidez M, et al. Elevation of intracellular cAMP inhibits growth factor-mediated matrix metalloproteinase-9 induction and keratinocyte migration. *Mol Pharmacol.* 2000; 58: 145-151.
48. Ray JM, Stetler-Stevenson WG. The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumour invasion, metastasis and angiogenesis. *Eur Respir J.* 1994; 7: 2062-2072.
49. Nagase H, Suzuki K, Itoh Y, et al. Involvement of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPS) during matrix metalloproteinase activation. *Adv Exp Med Biol.* 1996; 389: 23-31.
50. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004; 49: 187-198.
51. Cipollone F, Fazia M, Iezzi A, et al. Suppression of the functionally coupled cyclooxygenase-2/prostaglandin E synthase as a basis of simvastatin-dependent plaque stabilization in humans. *Circulation.* 2003; 107: 1479-1485.
52. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004; 10: 311-318.
53. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994; 5: 78-111.

54. Christersson LA, Wikesjo UM, Albin B, Zambon JJ, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. II. Correlation between immunofluorescence and culture techniques. *J Periodontol*. 1987; 58: 540-545.
55. Page RC. The etiology and pathogenesis of periodontitis. *Compend Contin Educ Dent*. 2002; 23: 11-14.
56. Golub LM, Suomalainen K, Sorsa T. Host modulation with tetracyclines and their chemically modified analogues. *Curr Opin Dent*. 1992; 2: 80-90.
57. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*. 2008; 48: 92-110.
58. Williams RC. Periodontal disease. *N Engl J Med*. 1990; 322: 373-382.
59. Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003; 8: 12-37.
60. Golub LM, Ryan ME, Williams RC. Modulation of the host response in the treatment of periodontitis. *Dent Today*. 1998; 17: 102-106, 108-109.
61. Yoon JW. Role of viruses in the pathogenesis of IDDM. *Ann Med*. 1991; 23: 437-445.
62. Casqueiro J, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012; 16: 27-36.
63. Jaidane H, Sane F, Hiar R, et al. Immunology in the clinic review series; focus on type 1 diabetes and viruses: enterovirus, thymus and type 1 diabetes pathogenesis. *Clin Exp Immunol*. 2012; 168: 39-46.
64. Aida K, Kobayashi T. [Role of virus infections in the pathogenesis of type 1 diabetes]. *Nihon Rinsho*. 2012; 70: 346-352.
65. Liu D, Wettergren M, Lins PE, Adamson U. Combined insulin-glibenclamide therapy of NIDDM patients in primary health care. A follow-up study of its compliance and efficacy and a review of the literature. *Scand J Prim Health Care*. 1990; 8: 213-217.
66. Anderson JW, Kendall CW, Jenkins DJ. Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. *J Am Coll Nutr*. 2003; 22: 331-339.

67. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*. 2002; 25: 1862-1868.
68. Borch-Johnsen K. The new classification of diabetes mellitus and IGT: a critical approach. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2001; 109: 86-93.
69. Kazi AA, Blonde L. Classification of diabetes mellitus. *Clin Lab Med*. 2001; 21: 1-13.
70. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012; 35: 64-71.
71. Teuscher A, Egger M, Herman JB. Diabetes and hypertension. Blood pressure in clinical diabetic patients and a control population. *Arch Intern Med*. 1989; 149: 1942-1945.
72. Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem*. 2004; 279: 42351-42354.
73. Graves DT, Liu R, Alikhani M, Al-Mashat H, Trackman PC. Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis--impact on periodontal pathology. *J Dent Res*. 2006; 85: 15-21.
74. Ismail-Beigi F. Pathogenesis and glycemic management of type 2 diabetes mellitus: a physiological approach. *Arch Iran Med*. 2012; 15: 239-246.
75. Yamagishi S, Maeda S, Matsui T, et al. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1820: 663-671.
76. Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Exp Gerontol*. 2011; 46: 217-224.
77. Titov VN, Shiriaeva Iu K. [The glucose, glycotoxins and glycation products: the involvement into pathogenesis of microangiopathies, arteriolosclerosis and atherosclerosis]. *Klin Lab Diagn*. 2011: 3-13.
78. Jandeleit-Dahm K, Watson A, Soro-Paavonen A. The AGE/RAGE axis in diabetes-accelerated atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008; 35: 329-334.

79. Blagosklonnaia Ia V. [Certain relationships between diabetes and atherosclerosis (coronary insufficiency) and peculiarities of its course as a function of age]. *Ter Arkh.* 1969; 41: 103-106.
80. Yamagishi S, Nakamura K, Imaizumi T. Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic vascular complications. *Curr Diabetes Rev.* 2005; 1: 93-106.
81. Warboys CM, Fraser PA. Hyperglycemia attenuates acute permeability response to advanced glycation end products in retinal microvasculature. *Microvasc Res.* 2010; 80: 174-176.
82. Westberg NG. [Biochemical and morphological changes in the glomerulus in diabetes mellitus]. *Lakartidningen.* 1979; 76: 2878-2881.
83. Milne R, Brownstein S. Advanced glycation end products and diabetic retinopathy. *Amino Acids.* 2011.
84. Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab.* 2001; 27: 535-542.
85. Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, et al. Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontal Res.* 1996; 31: 508-515.
86. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* 2000; 26: 163-176.
87. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol.* 2005; 76: 2075-2084.
88. Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontol 2000.* 2000; 23: 50-62.
89. Lalla E, Lamster IB, Feit M, et al. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest.* 2000; 105: 1117-1124.
90. Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2001; 15: 203-210.

91. Grossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *Ann Periodontol*. 2001; 6: 138-145.
92. Preshaw PM, Foster N, Taylor JJ. Cross-susceptibility between periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: an immunobiological perspective. *Periodontol 2000*. 2007; 45: 138-157.
93. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003; 52: 1799-1805.
94. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol*. 2004; 25: 4-7.
95. Prando R, Cheli V, Melga P, et al. Is type 2 diabetes a different disease in obese and nonobese patients? *Diabetes Care*. 1998; 21: 1680-1685.
96. Salvi GE, Collins JG, Yalda B, et al. Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1997; 24: 8-16.
97. Willershausen-Zonnchen B, Lemmen C, Hamm G. Influence of high glucose concentrations on glycosaminoglycan and collagen synthesis in cultured human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol*. 1991; 18: 190-195.
98. Ryan ME, Ramamurthy NS, Sorsa T, Golub LM. MMP-mediated events in diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 878: 311-334.
99. Sorsa T, Golub LM. Is the excessive inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) by potent synthetic MMP inhibitors (MMPIs) desirable in periodontitis and other inflammatory diseases? That is: 'Leaky' MMPIs vs excessively efficient drugs. *Oral Dis*. 2005; 11: 408-409.
100. Frantzis TG, Reeve CM, Brown AL, Jr. The ultrastructure of capillary basement membranes in the attached gingiva of diabetic and nondiabetic patients with periodontal disease. *J Periodontol*. 1971; 42: 406-411.
101. Seppala B, Sorsa T, Ainamo J. Morphometric analysis of cellular and vascular changes in gingival connective tissue in long-term insulin-dependent diabetes. *J Periodontol*. 1997; 68: 1237-1245.
102. Liu R, Bal HS, Desta T, et al. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res*. 2006; 85: 510-514.

103. Beam HA, Parsons JR, Lin SS. The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus. *J Orthop Res.* 2002; 20: 1210-1216.
104. He H, Liu R, Desta T, et al. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology.* 2004; 145: 447-452.
105. Mealey BL. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137: 6-31.
106. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006; 77: 1289-1303.
107. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 754-857.
108. Elsner M, Tiedge M, Lenzen S. Mechanism underlying resistance of human pancreatic beta cells against toxicity of streptozotocin and alloxan. *Diabetologia.* 2003; 46: 1713-1714.
109. Bell RH, Jr., Hye RJ. Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *J Surg Res.* 1983; 35: 433-460.
110. Ghisalberti. Propolis: a review 1979; 59-84..
111. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia.* 2002; 73: 1-6.
112. Marucci M. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 1995; 26: 83-99.
113. Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2005; 2: 29-32.
114. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, et al. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol.* 1999; 64: 235-240.
115. Alencar SM, Oldoni TL, Castro ML, et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *J Ethnopharmacol.* 2007; 113: 278-283.
116. Christov R, Trusheva B, Popova M, Bankova V, Bertrand M. Chemical composition of propolis from Canada, its antiradical activity and plant origin. *Nat Prod Res.* 2006; 20: 531-536.

117. Salatino A, Teixeira EW, Negri G, Message D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2005; 2: 33-38.
118. Sorkun K, Suer B, Salih B. Determination of chemical composition of Turkish propolis. *Z Naturforsch C.* 2001; 56: 666-668.
119. Kumazawa S, Ahn MR, Fujimoto T, Kato M. Radical-scavenging activity and phenolic constituents of propolis from different regions of Argentina. *Nat Prod Res.* 2010; 24: 804-812.
120. Castro ML, do Nascimento AM, Ikegaki M, et al. Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian propolis type 6. *Bioorg Med Chem.* 2009; 17: 5332-5335.
121. Silva BB, Rosalen PL, Cury JA, et al. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2008; 5: 313-316.
122. Dausch A, Moraes CS, Fort P, Park YK. Brazilian red propolis--chemical composition and botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2008; 5: 435-441.
123. Trusheva B, Popova M, Bankova V, et al. Bioactive constituents of brazilian red propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2006; 3: 249-254.
124. Park YK, Paredes-Guzman JF, Aguiar CL, Alencar SM, Fujiwara FY. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. *J Agric Food Chem.* 2004; 52: 1100-1103.
125. Kusumoto T, Miyamoto TR, Doi S, Sugimoto H, Yamada H. Isolation and structures of two new compounds from the essential oil of Brazilian propolis. *Chem Pharm Bull.* 2001; 49: 1207-1209.
126. Cuesta-Rubio O, Piccinelli AL, Fernandez MC, et al. Chemical characterization of Cuban propolis by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR: the brown, red, and yellow Cuban varieties of propolis. *J Agric Food Chem.* 2007; 55: 7502-7509.
127. Cuesta-Rubio O, Frontana-Uribe BA, Ramirez-Apan T, Cardenas J. Polyisoprenylated benzophenones in cuban propolis; biological activity of nemorosone. *Z Naturforsch C.* 2002; 57: 372-378.
128. Popravko SA. Chemical composition of propolis, its origin and standardization. *A Remarkable Hive Product: PROPOLIS Harnaj, V (ed) Bucharest: Apimondia Publishing House.* 1978: 15-18.

129. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol.* 1998; 36: 347-363.
130. Silva JC, Rodrigues S, Feas X, Estevinho LM. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50: 1790-1795.
131. Elbaz GA, Elsayad, II. Comparison of the Antimicrobial Effect of Egyptian Propolis vs New Zealand Propolis on *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in Saliva. *Oral Health Prev Dent.* 2012; 10: 155-160.
132. Vera N, Solorzano E, Ordonez R, et al. Chemical composition of Argentinean propolis collected in extreme regions and its relation with antimicrobial and antioxidant activities. *Nat Prod Commun.* 2011; 6: 823-827.
133. Bertolini PF, Biondi Filho O, Pomilio A, Pinheiro SL, de Carvalho MS. Antimicrobial capacity of Aloe vera and propolis dentifrice against *Streptococcus mutans* strains in toothbrushes: an in vitro study. *J Appl Oral Sci.* 2012; 20: 32-37.
134. Koru O, Toksoy F, Acikel CH, et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe.* 2007;13:140-145.
135. Kartal M, Yildiz S, Kaya S, Kurucu S, Topcu G. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *J Ethnopharmacol.* 2003; 86: 69-73.
136. Ota C, Unterkircher C, Fantinato V, Shimizu MT. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses.* 2001; 44: 375-378.
137. Silici S, Koc NA, Ayangil D, Cankaya S. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *J Pharmacol Sci.* 2005; 99: 39-44.
138. Dalben-Dota KF, Faria MG, Bruschi ML, et al. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. *J Altern Complement Med.* 2010; 16: 285-290.
139. Koc AN, Silici S, Kasap F, et al. Antifungal activity of the honeybee products against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp. *J Med Food.* 2011; 14: 128-134.

140. Dota KF, Consolaro ME, Svidzinski TI, Bruschi ML. Antifungal Activity of Brazilian Propolis Microparticles against Yeasts Isolated from Vulvovaginal Candidiasis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011: 201953.
141. Ayres DC, Marcucci MC, Giorgio S. Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007; 102: 215-220.
142. Duran G, Duran N, Culha G, et al. In vitro antileishmanial activity of Adana propolis samples on *Leishmania tropica*: a preliminary study. *Parasitol Res*. 2008; 102: 1217-1225.
143. Schnitzler P, Neuner A, Nolkemper S, et al. Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res*. 2010; 24: 20-28.
144. Urushisaki T, Takemura T, Tazawa S, et al. Caffeoylquinic acids are major constituents with potent anti-influenza effects in brazilian green propolis water extract. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011: 1-7.
145. Shvarzbeyn J, Huleihel M. Effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on NFkappaB activation by HTLV-1 Tax. *Antiviral Res*. 2011; 90: 108-115.
146. Shimizu T, Takeshita Y, Takamori Y, et al. Efficacy of Brazilian Propolis against Herpes Simplex Virus Type 1 Infection in Mice and Their Modes of Antiherpetic Efficacies. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011: 976196.
147. Nolkemper S, Reichling J, Sensch KH, Schnitzler P. Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytomedicine*. 2010; 17: 132-138.
148. Gekker G, Hu S, Spivak M, Lokensgard JR, Peterson PK. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures. *J Ethnopharmacol*. 2005; 102: 158-163.
149. Chirumbolo S. Propolis as anti-inflammatory and anti-allergic compounds: which role for flavonoids? *Int Immunopharmacol*. 2011; 11: 1386-1387.
150. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. 2002; 73: 53-63.

151. Hu F, Hepburn HR, Li Y, et al. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *J Ethnopharmacol.* 2005; 100: 276-283.
152. Bachiega TF, Orsatti CL, Pagliarone AC, Sforcin JM. The Effects of Propolis and its Isolated Compounds on Cytokine Production by Murine Macrophages. *Phytother Res.* 2012.
153. Jin UH, Chung TW, Kang SK, et al. Caffeic acid phenyl ester in propolis is a strong inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and invasion inhibitor: isolation and identification. *Clin Chim Acta.* 2005; 362: 57-64.
154. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol.* 2007; 113: 1-14.
155. Chan GC, Cheung KW, Sze DM. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2012.
156. Gocer H, Gulcin I. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): correlation of structure and antioxidant properties. *Int J Food Sci Nutr.* 2011; 62: 821-825.
157. Yang H, Dong Y, Du H, et al. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules.* 2011; 16: 3444-3455.
158. Guo X, Chen B, Luo L, et al. Chemical compositions and antioxidant activities of water extracts of Chinese propolis. *J Agric Food Chem.* 2011; 59: 12610-12616.
159. Teixeira EW, Message D, Negri G, Salatino A, Stringheta PC. Seasonal Variation, Chemical Composition and Antioxidant activity of Brazilian Propolis Samples. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2010; 7: 307-315.
160. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complement Altern Med.* 2009; 9: 4.
161. Park SG, Lee DY, Seo SK, et al. Evaluation of anti-allergic properties of caffeic acid phenethyl ester in a murine model of systemic anaphylaxis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008; 226: 22-29.
162. Bae Y, Lee S, Kim SH. Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-kappaB. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011; 254: 56-64.

163. de Campos RO, Paulino N, da Silva CH, Scremin A, Calixto JB. Anti-hyperalgesic effect of an ethanolic extract of propolis in mice and rats. *J Pharm Pharmacol.* 1998; 50: 1187-1193.
164. Ledon N, Casaco A, Gonzalez R, et al. Antipsoriatic, anti-inflammatory, and analgesic effects of an extract of red propolis. *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* 1997; 18: 274-276.
165. Paulino N, Teixeira C, Martins R, et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis. *Planta Med.* 2006; 72: 899-906.
166. Paintz M, Metzner J. On the local anaesthetic action of propolis and some of its constituents. *Pharmazie.* 1979; 34: 839-841.
167. 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. *J Periodontol.* 2008; 79: 1089-1094.
168. Pileggi R, Antony K, Johnson K, Zuo J, Shannon Holliday L. Propolis inhibits osteoclast maturation. *Dent Traumatol.* 2009; 25: 584-588.
169. Chirumbolo S. Flavonoids in propolis acting on mast cell-mediated wound healing. *Inflammopharmacology.* 2012; 20: 99-101.
170. Barroso PR, Lopes-Rocha R, Pereira EM, et al. Effect of propolis on mast cells in wound healing. *Inflammopharmacology.* 2011.
171. McLennan SV, Bonner J, Milne S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Repair Regen.* 2008; 16: 706-713.
172. Majtan J. [Apitherapy--the role of honey in the chronic wound healing process]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2009; 58: 137-140.
173. Berretta AA, Nascimento AP, Bueno PC, Vaz MM, Marchetti JM. Propolis standardized extract (EPP-AF(R)), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *Int J Biol Sci.* 2012; 8: 512-521.
174. Li YJ, Xuan HZ, Shou QY, et al. Therapeutic effects of propolis essential oil on anxiety of restraint-stressed mice. *Hum Exp Toxicol.* 2012; 31: 157-165.

175. Claus R, Kinscherf R, Gehrke C, et al. Antiapoptotic effects of propolis extract and propol on human macrophages exposed to minimally modified low density lipoprotein. *Arzneimittelforschung*. 2000; 50: 373-379.
176. Nadia BH, Wided K, Kheira B, et al. Disruption of mitochondrial membrane potential by ferulenol and restoration by propolis extract: antiapoptotic role of propolis. *Acta Biol Hung*. 2009; 60: 385-398.
177. Huang SS, Liu SM, Lin SM, et al. Antiarrhythmic effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Clin Biochem*. 2005; 38: 943-947.
178. Daleprane JB, Freitas Vda S, Pacheco A, et al. Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphenols from propolis. *J Nutr Biochem*. 2012; 23: 557-566.
179. Nader MA, el-Agamy DS, Suddek GM. Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arch Pharm Res*. 2010; 33: 637-643.
180. Park EH, Kahng JH. Suppressive effects of propolis in rat adjuvant arthritis. *Arch Pharm Res*. 1999; 22: 554-558.
181. Heo MY, Sohn SJ, Au WW. Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutat Res*. 2001; 488: 135-150.
182. de Azevedo Bentes Monteiro Neto M, de Souza Lima IM, Furtado RA, et al. Antigenotoxicity of artemillin C in vivo evaluated by the micronucleus and comet assays. *J Appl Toxicol*. 2011; 31: 714-719.
183. Turkez H, Yousef MI, Geyikoglu F. Propolis protects against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity in rat hepatocytes. *Food Chem Toxicol*. 2012; 50: 2142-2148.
184. Sathiavelu J, Senapathy GJ, Devaraj R, Namasivayam N. Hepatoprotective effect of chrysin on prooxidant-antioxidant status during ethanol-induced toxicity in female albino rats. *J Pharm Pharmacol*. 2009; 61: 809-817.
185. Albukhari AA, Gashlan HM, El-Beshbishy HA, Nagy AA, Abdel-Naim AB. Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen-induced hepatotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*. 2009; 47: 1689-1695.

186. Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *J Ethnopharmacol.* 2000; 72: 239-246.
187. Lin SC, Lin YH, Chen CF, Chung CY, Hsu SH. The hepatoprotective and therapeutic effects of propolis ethanol extract on chronic alcohol-induced liver injuries. *Am J Chin Med.* 1997; 25: 325-332.
188. Murata K, Yatsunami K, Fukuda E, et al. Antihyperglycemic effects of propolis mixed with mulberry leaf extract on patients with type 2 diabetes. *Altern Ther Health Med.* 2004; 10: 78-79.
189. Al-Hariri M, Eldin TG, Abu-Hozafa B, Elnour A. Glycemic control and anti-osteopathic effect of propolis in diabetic rats. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2011; 4: 377-384.
190. Zamami Y, Takatori S, Koyama T, et al. [Effect of propolis on insulin resistance in fructose-drinking rats]. *Yakugaku Zasshi.* 2007; 127: 2065-2073.
191. Matsui T, Ebuchi S, Fujise T, et al. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. *Biol Pharm Bull.* 2004; 27: 1797-1803.
192. Choi SS, Cha BY, Iida K, et al. Artepillin C, as a PPARgamma ligand, enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells. *Biochem Pharmacol.* 2011; 81: 925-933.
193. El-Sayed el SM, Abo-Salem OM, Aly HA, Mansour AM. Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci.* 2009; 22: 168-174.
194. Kang LJ, Lee HB, Bae HJ, Lee SG. Antidiabetic effect of propolis: reduction of expression of glucose-6-phosphatase through inhibition of Y279 and Y216 autophosphorylation of GSK-3alpha/beta in HepG2 cells. *Phytother Res.* 2010; 24: 1554-1561.
195. Zhu W, Chen M, Shou Q, Li Y, Hu F. Biological activities of chinese propolis and brazilian propolis on streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 468529.
196. Zamami Y, Fujiwara H, Hosoda M, et al. [Ameliorative effect of propolis on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats]. *Yakugaku Zasshi.* 2010; 130: 833-840.

197. Koya-Miyata S, Arai N, Mizote A, et al. Propolis prevents diet-induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. *Biol Pharm Bull.* 2009; 32: 2022-2028.
198. Gogebakan A, Talas ZS, Ozdemir I, Sahna E. Role of Propolis on Tyrosine Hydroxylase Activity and Blood Pressure in Nitric Oxide Synthase-Inhibited Hypertensive Rats. *Clin Exp Hypertens.* 2012.
199. Iraz M, Fadillioglu E, Tasdemir S, Erdogan S. Role of vagal activity on bradycardic and hypotensive effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Cardiovasc Toxicol.* 2005; 5: 391-396.
200. Kubota Y, Umegaki K, Kobayashi K, et al. Anti-hypertensive effects of Brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004; 31: 29-30.
201. Maruyama H, Sumitou Y, Sakamoto T, Araki Y, Hara H. Antihypertensive effects of flavonoids isolated from brazilian green propolis in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull.* 2009; 32: 1244-1250.
202. Mishima S, Yoshida C, Akino S, Sakamoto T. Antihypertensive effects of Brazilian propolis: identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28: 1909-1914.
203. Tsai SK, Lin MJ, Liao PH, et al. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates cerebral infarction in rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sci.* 2006; 78: 2758-2762.
204. Ozyurt B, Iraz M, Koca K, Ozyurt H, Sahin S. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in rats. *Mol Cell Biochem.* 2006; 292: 197-203.
205. Cagli K, Bagci C, Gulec M, et al. In vivo effects of caffeic acid phenethyl ester on myocardial ischemia-reperfusion injury and apoptotic changes in rats. *Ann Clin Lab Sci.* 2005; 35: 440-448.
206. Wei X, Zhao L, Ma Z, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents neonatal hypoxic-ischaemic brain injury. *Brain.* 2004; 127: 2629-2635.
207. Ozer MK, Parlakpinar H, Acet A. Reduction of ischemia--reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem.* 2004; 37: 702-705.

208. Cizmarik J, Lahitova N. Antimutagenicity of propolis. *Pharmazie*. 1998; 53: 883-884.
209. Fu JY, Xia Y, Zheng YY. Antimutagenicity of propolis against some mutagens in vivo and in vitro. *Biomed Environ Sci*. 2004; 17: 469-475.
210. Jeng SN, Shih MK, Kao CM, Liu TZ, Chen SC. Antimutagenicity of ethanol extracts of bee glue against environmental mutagens. *Food Chem Toxicol*. 2000; 38: 893-897.
211. Pereira AD, de Andrade SF, de Oliveira Swerts MS, Maistro EL. First in vivo evaluation of the mutagenic effect of Brazilian green propolis by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46: 2580-2584.
212. Shimazawa M, Chikamatsu S, Morimoto N, et al. Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against In vitro and In vivo Ischemic Neuronal Damage. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2005; 2: 201-207.
213. Wei X, Ma Z, Fontanilla CV, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents cerebellar granule neurons (CGNs) against glutamate-induced neurotoxicity. *Neuroscience*. 2008; 155: 1098-1105.
214. Cardoso SM, Ribeiro M, Ferreira IL, Cristina Rego A. Northeast Portuguese propolis protects against staurosporine and hydrogen peroxide-induced neurotoxicity in primary cortical neurons. *Food Chem Toxicol*. 2011; 49: 2862-2868.
215. Fontanilla CV, Ma Z, Wei X, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurodegeneration. *Neuroscience*. 2011; 188: 135-141.
216. Farooqui T, Farooqui AA. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012; 4: 779-793.
217. Ichi I, Hori H, Takashima Y, et al. The beneficial effect of propolis on fat accumulation and lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. *J Food Sci*. 2009; 74: 127-131.
218. Boutabet K, Kebsa W, Alyane M, Lahouel M. Polyphenolic fraction of Algerian propolis protects rat kidney against acute oxidative stress induced by doxorubicin. *Indian J Nephrol*. 2011; 21: 101-106.
219. Garoui EM, Troudi A, Fetoui H, et al. Propolis attenuates cobalt induced-nephrotoxicity in adult rats and their progeny. *Exp Toxicol Pathol*. 2011.

220. Gong P, Chen F, Liu X, et al. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against cadmium-induced renal damage in mice. *J Toxicol Sci.* 2012; 37: 415-425.
221. Ogeturk M, Kus I, Colakoglu N, et al. Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97: 273-280.
222. Liu CF, Lin CH, Lin CC, et al. Protective effect of propolis ethanol extract on ethanol-induced renal toxicity: an in-vivo study. *Am J Chin Med.* 2005; 33: 779-786.
223. Hsiao G, Lee JJ, Lin KH, et al. Characterization of a novel and potent collagen antagonist, caffeic acid phenethyl ester, in human platelets: in vitro and in vivo studies. *Cardiovasc Res.* 2007; 75: 782-792.
224. Avci CB, Gunduz C, Baran Y, et al. Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2011; 137: 41-47.
225. Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, et al. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *J Ethnopharmacol.* 2002; 80: 67-73.
226. Bufalo MC, Candeias JM, Sforcin JM. In vitro cytotoxic effect of Brazilian green propolis on human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009; 6: 483-487.
227. Chen CN, Weng MS, Wu CL, Lin JK. Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2004; 1: 175-185.
228. Chen YJ, Shiao MS, Hsu ML, Tsai TH, Wang SY. Effect of caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, on inducing apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 5615-5619.
229. Erdogan S, Ates B, Durmaz G, Yilmaz I, Seckin T. Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Anatolia propolis and their radical scavenging capacities. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1592-1597.

230. Nakanishi I, Uto Y, Ohkubo K, et al. Efficient radical scavenging ability of artemillin C, a major component of Brazilian propolis, and the mechanism. *Org Biomol Chem*. 2003; 1: 1452-1454.
231. Benkovic V, Knezevic AH, Dikic D, et al. Radioprotective effects of propolis and quercetin in gamma-irradiated mice evaluated by the alkaline comet assay. *Phytomedicine*. 2008; 15: 851-858.
232. Benkovic V, Knezevic AH, Orsolic N, et al. Evaluation of radioprotective effects of propolis and its flavonoid constituents: in vitro study on human white blood cells. *Phytother Res*. 2009; 23: 1159-1168.
233. Benkovic V, Kopjar N, Horvat Knezevic A, et al. Evaluation of radioprotective effects of propolis and quercetin on human white blood cells in vitro. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31: 1778-1785.
234. Cole N, Sou PW, Ngo A, et al. Topical 'Sydney' propolis protects against UV-radiation-induced inflammation, lipid peroxidation and immune suppression in mouse skin. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 152: 87-97.
235. Montoro A, Barquinero JF, Almonacid M, et al. Concentration-Dependent Protection by Ethanol Extract of Propolis against gamma-Ray-Induced Chromosome Damage in Human Blood Lymphocytes. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011: 174853.
236. Benderli Cihan Y, Deniz K. [Effect of propolis against radiation-induced oral mucositis in rats]. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2011; 21: 32-41.
237. Abdulrhman M, El Barbary NS, Ahmed Amin D, Saeid Ebrahim R. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil-propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. *Pediatr Hematol Oncol*. 2012; 29: 285-292.
238. Motalebnejad M, Ghassemi L, Zabihi E, et al. Dose-dependent profile of ethanolic extracts of Iranian propolis on radiation-induced mucositis in rats. *Saudi Med J*. 2011; 32: 1196-1198.
239. Shen SL. [Ulcerative lesions of the oral mucosa treated by propolis]. *Zhonghua Kou Qiang Ke Za Zhi*. 1986; 21: 209-211.
240. Massignani JJ, Lemos M, Maistro EL, et al. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. *Phytother Res*. 2009; 23: 1355-1360.

241. Belostotskii NI, Kas'ianenko VI, Dubtsova EA, Lazebnik LB. [Influence of honey, royal jelly and propolis on accelerating acetate healing of experimental gastric ulcers in rats]. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2009; 46-50.
242. Barros MP, Lemos M, Maistro EL, et al. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *J Ethnopharmacol*. 2008; 120: 372-377.
243. Lemos M, de Barros MP, Sousa JP, et al. *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. *J Pharm Pharmacol*. 2007; 59: 603-608.
244. Santos FA, Bastos EM, Maia AB, et al. Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytother Res*. 2003; 17: 285-289.
245. Santos FA, Bastos EM, Uzeda M, et al. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J Ethnopharmacol*. 2002; 80: 1-7.
246. Basic N, Basic F, Konjhodzic H. [The effects of propolis on microflora of carious lesion]. *Stomatol Vjesn*. 1986; 15: 149-152.
247. Leitao DP, Filho AA, Polizello AC, Bastos JK, Spadaro AC. Comparative evaluation of in-vitro effects of Brazilian green propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. *Biol Pharm Bull*. 2004; 27: 1834-1839.
248. Duarte S, Rosalen PL, Hayacibara MF, et al. The influence of a novel propolis on *mutans streptococci* biofilms and caries development in rats. *Arch Oral Biol*. 2006; 51: 15-22.
249. Kouidhi B, Zmantar T, Bakhrouf A. Anti-cariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation. *Anaerobe*. 2010; 16: 566-571.
250. Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL, et al. In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *J Ethnopharmacol*. 2005; 101: 110-115.
251. Almas K, Mahmoud A, Dahlan A. A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. *Indian J Dent Res*. 2001; 12: 21-27.

252. Mahmoud AS, Almas K, Dahlan AA. The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a university hospital Riyadh, Saudi Arabia. *Indian J Dent Res.* 1999; 10: 130-137.
253. Sales-Peres SH, Carvalho FN, Marsicano JA, et al. Effect of propolis gel on the in vitro reduction of dentin permeability. *J Appl Oral Sci.* 2011; 19: 318-323.
254. Awawdeh L, Al-Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: a laboratory study. *Aust Endod J.* 2009; 35: 52-58.
255. de Rezende GP, da Costa LR, Pimenta FC, Baroni DA. In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: a preliminary study. *Braz Dent J.* 2008; 19: 301-305.
256. Ferreira FB, Torres SA, Rosa OP, et al. Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 709-716.
257. Kayaoglu G, Omurlu H, Akca G, et al. Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *J Endod.* 2011; 37: 376-381.
258. Khalikova NV, Grankina NV, Frolova TA. [Use of a propolis-containing paste for filling root canals in the treatment of pulpitis]. *Stomatologiya (Mosk).* 1988; 67: 52-53.
259. Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *Gen Dent.* 2006; 54: 319-322.
260. Silva FB, Almeida JM, Sousa SM. Natural medicaments in endodontics -- a comparative study of the anti-inflammatory action. *Braz Oral Res.* 2004; 18: 174-179.
261. Valera MC, da Rosa JA, Maekawa LE, et al. Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 110: 70-74.
262. Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Gogulnath D, Kindo AJ. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morinda citrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2010; 43: 419-423.

263. Ilewicz L, Szczurek Z, Szenowski H, et al. [Healing of injured dental pulp covered by an ethanol extract of propolis (EEP) in light of morphological studies]. *Czas Stomatol.* 1986; 39: 632-642.
264. Parolia A, Kundabala M, Rao NN, et al. A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Aust Dent J.* 2010; 55: 59-64.
265. Sabir A, Tabbu CR, Agustiono P, Sosroseno W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *J Oral Sci.* 2005; 47: 135-138.
266. Fabri FV, Cupertino RR, Hidalgo MM, de Oliveira RM, Bruschi ML. Preparation and characterization of bioadhesive systems containing propolis or sildenafil for dental pulp protection. *Drug Dev Ind Pharm.* 2011; 37: 1446-1454.
267. Hajdaragic-Ibricevic H. [The effects of propolis on the reparative processes of the pulp and histological analysis of the pulp 28 days after artificial exposure and covering with propolis]. *Stomatol Vjesn.* 1983; 12: 111-114.
268. Lima RV, Esmeraldo MR, de Carvalho MG, et al. Pulp repair after pulpotomy using different pulp capping agents: a comparative histologic analysis. *Pediatr Dent.* 2011; 33: 14-18.
269. Casaroto AR, Hidalgo MM, Sell AM, et al. Study of the effectiveness of propolis extract as a storage medium for avulsed teeth. *Dent Traumatol.* 2010; 26: 323-331.
270. Martin MP, Pileggi R. A quantitative analysis of Propolis: a promising new storage media following avulsion. *Dent Traumatol.* 2004; 20: 85-89.
271. Mori GG, Nunes DC, Castilho LR, de Moraes IG, Poi WR. Propolis as storage media for avulsed teeth: microscopic and morphometric analysis in rats. *Dent Traumatol.* 2010; 26: 80-85.
272. Saxena P, Pant VA, Wadhwani KK, et al. Potential of the propolis as storage medium to preserve the viability of cultured human periodontal ligament cells: an in vitro study. *Dent Traumatol.* 2011; 27: 102-108.
273. Gjertsen AW, Stothz KA, Neiva KG, Pileggi R. Effect of propolis on proliferation and apoptosis of periodontal ligament fibroblasts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; 112: 843-848.

274. Gulinelli JL, Panzarini SR, Fattah CM, et al. Effect of root surface treatment with propolis and fluoride in delayed tooth replantation in rats. *Dent Traumatol.* 2008; 24: 651-657.
275. Botushanov PI, Grigorov GI, Aleksandrov GA. A clinical study of a silicate toothpaste with extract from propolis. *Folia Med (Plovdiv).* 2001; 43: 28-30.
276. Poppe B, Michaelis H. [Results of a twice-yearly controlled oral hygiene activity using a propolis-containing toothpaste (double-blind study)]. *Stomatol DDR.* 1986; 36: 195-203.
277. Dodwad V, Kukreja BJ. Propolis mouthwash: A new beginning. *J Indian Soc Periodontol.* 2011; 15: 121-125.
278. Koo H, Cury JA, Rosalen PL, et al. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Res.* 2002; 36: 445-448.
279. Malhotra N, Rao SP, Acharya S, Vasudev B. Comparative in vitro evaluation of efficacy of mouthrinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* and *Candida albicans*. *Oral Health Prev Dent.* 2011; 9: 261-268.
280. Murray MC, Worthington HV, Blinkhorn AS. A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 796-798.
281. Neumann D, Gotze G, Binus W. [Clinical study of a test of the plaque- and gingivitis-inhibiting effects of propolis]. *Stomatol DDR.* 1986; 36: 677-681.
282. Ozan F, Sumer Z, Polat ZA, et al. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. *Eur J Dent.* 2007; 1: 195-201.
283. 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. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 750249.
284. Schmidt H, Hampel CM, Schmidt G, Riess E, Rodel C. [Double-blind trial of the effect of a propolis-containing mouthwash on inflamed and healthy gingiva]. *Stomatol DDR.* 1980; 30: 491-497.
285. Watanabe E, Tanomaru JM, Nascimento AP, et al. Determination of the maximum inhibitory dilution of cetylpyridinium chloride-based mouthwashes

- against *Staphylococcus aureus*: an in vitro study. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16: 275-279.
286. Rodriguez-Jimenez B, Dominguez-Ortega J, Gonzalez-Garcia JM, Kindelan-Recarte C. [Contact dermatitis induced by propolis]. *Med Clin (Barc).* 2010; 135: 722-723.
 287. Langan SM, English JS. Occupational contact dermatitis from propolis in a dental technician. *Contact Dermatitis.* 2007; 56: 43.
 288. Jensen CD, Andersen KE. Allergic contact dermatitis from *cera alba* (purified propolis) in a lip balm and candy. *Contact Dermatitis.* 2006; 55: 312-313.
 289. Giusti F, Miglietta R, Pepe P, Seidenari S. Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Dermatitis.* 2004; 51: 255-258.
 290. Garrido Fernandez S, Lasa Luaces E, Echechipia Modaz S, et al. Allergic contact stomatitis due to therapeutic propolis. *Contact Dermatitis.* 2004; 50: 321.
 291. Pontes Andersen CC, Buschard K, Flyvbjerg A, Stoltze K, Holmstrup P. Periodontitis deteriorates metabolic control in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Periodontol.* 2006; 77: 350-356.
 292. Striffler JS, Nadler JL. Lisofylline, a novel anti-inflammatory agent, enhances glucose-stimulated insulin secretion in vivo and in vitro: studies in prediabetic and normal rats. *Metabolism.* 2004; 53: 290-296.
 293. Li CH, Amar S. Morphometric, histomorphometric, and microcomputed tomographic analysis of periodontal inflammatory lesions in a murine model. *J Periodontol.* 2007; 78: 1120-1128.
 294. Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, et al. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res.* 2003; 38: 543-550.
 295. Bhatavadekar NB, Williams RC. New directions in host modulation for the management of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2009; 36: 124-126.
 296. Graves DT, Fine D, Teng YT, Van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 89-105.
 297. Nishihara R, Sugano N, Takano M, et al. The effect of *Porphyromonas gingivalis* infection on cytokine levels in type 2 diabetic mice. *J Periodontal Res.* 2009; 44: 305-310.

298. Takano M, Nishihara R, Sugano N, et al. The effect of systemic anti-tumor necrosis factor-alpha treatment on *Porphyromonas gingivalis* infection in type 2 diabetic mice. *Arch Oral Biol.* 2010; 55: 379-384.
299. Ugochukwu NH, Figgers CL. Caloric restriction inhibits up-regulation of inflammatory cytokines and TNF-alpha, and activates IL-10 and haptoglobin in the plasma of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr Biochem.* 2007; 18: 120-126.
300. Passoja A, Puijola I, Knuuttila M, et al. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010; 37: 881-887.
301. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, et al. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 1046-1052.
302. Ikezawa I, Tai H, Shimada Y, et al. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 1047-1054.
303. Furugen R, Hayashida H, Yamaguchi N, et al. The relationship between periodontal condition and serum levels of resistin and adiponectin in elderly Japanese. *J Periodontal Res.* 2008; 43: 556-562.
304. Mengel R, Bacher M, Flores-De-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-1beta, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 1012-1022.
305. Bretz WA, Weyant RJ, Corby PM, et al. Systemic inflammatory markers, periodontal diseases, and periodontal infections in an elderly population. *J Am Geriatr Soc.* 2005; 53: 1532-1537.
306. D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Acute effects of periodontal therapy on biomarkers of vascular health. *J Clin Periodontol.* 2007; 34: 124-129.
307. Ide M, Jagdev D, Coward PY, et al. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol.* 2004; 75: 420-428.

308. Nakajima T, Honda T, Domon H, et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res.* 2010; 45: 116-122.
309. Yamazaki K, Honda T, Oda T, et al. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2005; 40: 53-58.
310. Ide M, McPartlin D, Coward PY, et al. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 334-340.
311. Behle JH, Sedaghatfar MH, Demmer RT, et al. Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2009; 36: 287-294.
312. Iwamoto Y, Nishimura F, Soga Y, et al. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2003; 74: 1231-1236.
313. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol.* 2010; 81: 1056-1063.
314. Takeda M, Ojima M, Yoshioka H, et al. Relationship of serum advanced glycation end products with deterioration of periodontitis in type 2 diabetes patients. *J Periodontol.* 2006; 77: 15-20.
315. Kardesler L, Buduneli N, Cetinkalp S, Kinane DF. Adipokines and inflammatory mediators after initial periodontal treatment in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2010; 81: 24-33.
316. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, et al. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2007; 34: 18-24.
317. Correa FO, Goncalves D, Figueredo CM, et al. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010; 37: 53-58.

318. Alexandraki KI, Piperi C, Ziakas PD, et al. Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. *J Clin Immunol*. 2008; 28: 314-321.
319. Desfaits AC, Serri O, Renier G. Normalization of plasma lipid peroxides, monocyte adhesion, and tumor necrosis factor-alpha production in NIDDM patients after gliclazide treatment. *Diabetes Care*. 1998; 21: 487-493.
320. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*. 2003; 52: 812-817.
321. Blonska M, Bronikowska J, Pietsz G, et al. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and its flavones on inducible gene expression in J774A.1 macrophages. *J Ethnopharmacol*. 2004; 91: 25-30.
322. Ha SK, Moon E, Kim SY. Chrysin suppresses LPS-stimulated proinflammatory responses by blocking NF-kappaB and JNK activations in microglia cells. *Neurosci Lett*. 2010; 485: 143-147.
323. Rossi A, Ligresti A, Longo R, et al. The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine*. 2002; 9: 530-535.
324. Marcaccini AM, Novaes AB, Jr., Meschiari CA, et al. Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clin Chim Acta*. 2009; 409: 117-122.
325. Balbin M, Fueyo A, Tester AM, et al. Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice. *Nat Genet*. 2003; 35: 252-257.
326. Owen CA, Hu Z, Lopez-Otin C, Shapiro SD. Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol*. 2004; 172: 7791-7803.
327. Gueders MM, Balbin M, Rocks N, et al. Matrix metalloproteinase-8 deficiency promotes granulocytic allergen-induced airway inflammation. *J Immunol*. 2005; 175: 2589-2597.

328. Holzhausen M, Garcia DF, Pepato MT, Marcantonio E, Jr. The influence of short-term diabetes mellitus and insulin therapy on alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res.* 2004; 39: 188-193.
329. Natarajan K, Singh S, Burke TR, Jr., Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93: 9090-9095.
330. Ha J, Choi HS, Lee Y, Lee ZH, Kim HH. Caffeic acid phenethyl ester inhibits osteoclastogenesis by suppressing NF kappaB and downregulating NFATc1 and c-Fos. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9: 774-780.
331. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Arch Oral Biol.* 2002; 47: 843-849.
332. Naguib G, Al-Mashat H, Desta T, Graves DT. Diabetes prolongs the inflammatory response to a bacterial stimulus through cytokine dysregulation. *J Invest Dermatol.* 2004; 123: 87-92.
333. Fuliang HU, Hepburn HR, Xuan H, et al. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacol Res.* 2005; 51: 147-152.
334. Li Y, Chen M, Xuan H, Hu F. Effects of encapsulated propolis on blood glycemic control, lipid metabolism, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 981896.
335. Bruschi ML, de Freitas O, Lara EH, et al. Precursor system of liquid crystalline phase containing propolis microparticles for the treatment of periodontal disease: development and characterization. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008; 34: 267-278.
336. Bruschi ML, Jones DS, Panzeri H, et al. Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: in vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. *J Pharm Sci.* 2007; 96: 2074-2089.
337. Bruschi ML, Lara EH, Martins CH, et al. Preparation and antimicrobial activity of gelatin microparticles containing propolis against oral pathogens. *Drug Dev Ind Pharm.* 2006; 32: 229-238.

338. Duran N, Marcato PD, Buffo CM, De Azevedo MM, Esposito E. Poly (epsilon-caprolactone)/propolis extract: microencapsulation and antibacterial activity evaluation. *Pharmazie*. 2007; 62: 287-290.
339. Gebaraa EC, Pustiglioni AN, de Lima LA, Mayer MP. Propolis extract as an adjuvant to periodontal treatment. *Oral Health Prev Dent*. 2003; 1: 29-35.

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 09/06/2010

Toplantı Sayısı: 06

Karar No: 10/51

Etik kurul toplantısı

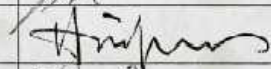
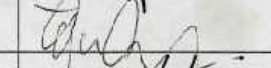
09/06/2010

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr. Zübeyde GÜNDÜZ

başkanlığında gerçekleştirilmiştir

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Doç. Dr	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç. Dr	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr	Veteriner Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr	Fen Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr	Tıp Fakültesi Biyoistatistik	
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		
Halil Tekiner	Eczacı		KATILMADI

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç.Dr.Servet Kesim'in "Deneyel Oluşturulan Diabet ve Periodonditiste Propolis'in Alveolar Kemik Yıkımı ve Plazma Sitokin Düzeyine Etkisi" adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Cüneyt Asım ARAL

Doğum Tarihi: 07.21.1983

E-mail: cuneytasimaral@gmail.com

Yabancı Dil: İngilizce (KPDS: 77,5)

Öğrenim Durumu:

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Lisans/Y.Lisans	Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi.	2001-2006
Doktora	Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji A. D.	2007-2012
Y.Lisans	Sağlık Kurumları İşletmeciliği, Anadolu Üniversitesi.	2012-....

Görevler:

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Diş Hekimi	Silivri Onur Hastanesi, İstanbul.	2006-2007
Doktora	Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji A. D.	2007-2012

Doktora Tez Çalışması:

Deneysel Oluşturulan Diabetes Mellitus ve Periodontitiste Propolis Alveolar Kemik Yıkımı ve Plazma Sitokin Düzeyine Etkisi. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD-10-3270 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Yurtdışı Eğitimleri:

Clinical Externship and Research Follower, University of Louisville, School of Dentistry, Graduate Periodontics, Kentucky, USA. (01.05.2012 - 31.07.2012)

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

Türk Periodontoloji Derneği

Türk Diş Hekimleri Birliği

ITI Membership

ITI Study Club, Kayseri

Bilimsel Sertifikalar:

Erciyes Ortodonti Günleri, Dr. Luc Dermaut, 2008, Kayseri, Türkiye.

ITI Section Türkiye, İmplant Destekli Overdenture İleri Protetik Uygulama, 2008, Kayseri, Türkiye.

Araştırmacılar İçin Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2009, Kayseri, Türkiye.

Biomet 3i Dental İmplant Kursu, 2010, Antalya, Türkiye.

Acil Tıp Anabilim Dalı Rotasyonu, 2011, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, Türkiye.

Periodontal Non Surgical Instruments Sharpening, Hu-Friedy Training Event Certificate of Attendance, Hands-on Workshop. 2012, Kayseri, Türkiye.

Externship Scholar, University of Louisville, Kentucky, USA. 2012.

ITI Section Türkiye & Azerbaycan, ITI Antalya 2012 Bilimsel Toplantısı, 2012, Antalya, Türkiye.

Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sempozyumlar:

Implant Direct 1st International Implant Symposium, 2010, Istanbul, Turkey.

Biohorizons Asia Pacific Symposium Series, 2011, Macao, PRC.

Ulusal Bilimsel Kongre ve Sempozyumlar:

Türk Periodontoloji Derneği 19. Bilimsel Sempozyumu, 2009, Ankara, Türkiye.

Türk Periodontoloji Derneği 39. Bilimsel Kongresi, 2009, Ankara, Türkiye.

Türk Periodontoloji Derneği 40. Bilimsel Kongresi, 2010, İzmir, Türkiye.

Türk Periodontoloji Derneği 41. Bilimsel Kongresi, 2011, İstanbul, Türkiye.

Türk Periodontoloji Derneği 22. Bilimsel Sempozyumu, 2012, Ankara, Türkiye.

Türk Periodontoloji Derneği 42. Bilimsel Kongresi, 2012, Ankara, Türkiye.

ESERLER

Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:

Kısa Dental İmplantların Klinik ve Radyolojik Takibi: Retrospektif Çalışma. Kılıç E, Kılıç K, Er N, Aral CA, Yağan AE, Alkan A. Cumhuriyet Dent J 2011;14(3):57-64.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

Laser Applications in Periodontology. Kesim S, Aral CA. 2nd Congress of World Federation for Laser Dentistry, 2009, Istanbul, Turkey.

The Prevalence of Anxiety for Dental Procedures and Its Related Factors. Kesim S, Aral CA, Mazıcıoğlu MM, Öztürk A, Kurtoğlu S. 1st Conference of AGPFMSEE, 2009, Ohrid, Makedonia.

The Oral Health Status of 5 to 18 Year Old Children in Cappadocia Region. Kesim S, Öztürk A, Mazıcıoğlu M, Kurtoğlu S, Aral CA. 6th Congress of the European Federation of Periodontology, 2009, Stockholm, Sweden.

Unusual Complicated Crown Fracture: Case Report. Pala K, Aral CA, ER Ö. 10th International Congress of The Turkish Endodontic Society, 2010, Istanbul, Turkey.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

Periodontoloji Kliniğine Başvuran Hastaların Durumluluk ve Süreklilik Kaygı Düzeyi (STAI-I ve STAI-II Skorları). Kesim S, Esen Ç, Aral CA, Elmalı F, Öztürk A, Kolay M. Türk Periodontoloji Derneği 39. Bilimsel Kongresi ve 19. Bilimsel Sempozyumu, 2009, Ankara, Türkiye.

Trombositten Zengin Fibrinin Periodontal Kemik Defektlerinin Rejeneratif Tedavisinde Kullanımı. Aral CA, Kolay M, Çakmak Ö, Keskinrüzgar A, Alkan A. Türk Periodontoloji Derneği 40. Bilimsel Kongresi, 2010, İzmir, Türkiye.

6-17 Yaş Arası Çocukların Oral Sağlık Durumu ve Risk İndikatörleri. Kesim S, Aral CA , Öztürk A, Mazıcıoğlu M, Kurtoğlu S. Türk Periodontoloji Derneği 40. Bilimsel Kongresi, 2010, İzmir, Türkiye.

Periodontoloji'de Acil Rotasyonu. Aral CA, Yağan AE, Enhos S, Alkan A. Türk Periodontoloji Derneği 41. Bilimsel Kongresi, 2011, İstanbul, Türkiye.

Çocuklarda Vücut Kütle İndeksi, Bel Çevresi ve Beslenme Değişkenlerinin Oral Sağlıkla İlişkisi. Kesim S, Aral CA, Çiçek B, Öztürk A, Mazıcıoğlu MM, Kurtoğlu S. Türk Periodontoloji Derneği 42. Bilimsel Kongresi, 2012, Ankara, Türkiye. (Sözlü Bildiri)

Bilimsel Araştırma Projeleri:

The Effects of Systemic Propolis Treatment on Plasma Proinflammatory Cytokines, Matrix Metalloproteinase-8 Levels and Alveolar Bone Loss in Periodontitis and Diabetes Mellitus : A Comparative Experimental Study in Rats. Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Çetin A, Yakan B.

Effect of Grape Seed Extract upon Plasma Oxidative Status and Alveolar Bones, in Ligature Induced Periodontitis. Kara M, Kesim S, Aral CA, Elmalı F.

Prognostic Evaluation of CRP and Cytokines Levels of Gingival Crevicular Fluid, Saliva and Serum of Oncologic Patients Treated with Bone Marrow Transplant and Effects of Periodontal Treatment. Enhos S, Aral CA.

Evaluation of Rankl and Osteoprotegerin Levels of Gingival Crevicular Fluid, Saliva and Serum of Patients Diagnosed with Multiple Myeloma and Effects of Periodontal Treatment. Enhos S, Aral CA.

Reliability of Different Estimating Methods on Cone-Beam Computerized Tomography, Digital Panoramic Radiography and Digital Photography for Determination of Periodontal Bone Loss and Extraction Socket Dimensions (in progress)