



K.K.T.C.

**YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN GERİ DÖNÜŞÜMSÜZ
PULPİTİS VE APİKAL PERİODONTİTİS MODELLERİNDE MELATONİNİN
ANTIENFLAMATUAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Diş Hek. Abdullah SEBAI

**Endodonti Programı
DOKTORA TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Umut AKSOY

EŞ DANIŞMAN

Doç. Dr Ahmet Şehir ÖZERLİ

LEFKOŞA

2021



K.K.T.C.
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN GERİ DÖNÜŞÜMSÜZ
PULPİTİS VE APİKAL PERİODONTİTİS MODELLERİNDE MELATONİNİN
ANTIENFLAMATUAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Diş Hek. Abdullah SEBAI

Endodonti Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Umut AKSOY

EŞ DANIŞMANI

Doç. Dr Ahmet Şehir ÖZERLİ

LEFKOŞA

2021

TEZ ONAYI

YDÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Endodonti Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Yaşar Meriç TUNCA
Doğu Akdeniz Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD.

Danışman: Doç. Dr. Umut AKSOY
Yakın Doğu Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD.

Eş Danışman: Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ
Yakın Doğu Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Farmakoloji AD.

Üye: Prof. Dr. Kaan ORHAN
Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi AD.

Üye: Yrd. Doç. Dr. Fatma KERMEOĞLU
Yakın Doğu Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD.

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mohamad ABDULJALİL
Yakın Doğu Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD.

ONAY:

Bu tez, Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. K. Hüsnu Can BAŞER
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlamasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışma ve yazım aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Abdullah SEBAI

TEŞEKKÜR

Tüm doktora eğitimim boyunca tecrübelerini benden esirgemeyen, her zaman, her konuda ve çalışma sürecinde her türlü yol gösterici olan, olumlu tavrıyla beni cesaretlendiren, bilgi birikimiyle çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan beraber çalışmaktan ve her zaman öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Umut Aksoy'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında vermiş olduğu destekleri, yardımları ve yönlendirmeleriyle bu çalışmanın başarıyla sonuçlanmasındaki katkıları için tez sınav jüresinde bulunan hocalarım tezim eş danışmanı Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ'ye ve değerli hocam Prof. Dr. Kaan ORHAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Yakın bir zamanda fakültemizdeki görevinden ayrılan, doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve tez sınav jürisinde bulunan değerli hocam eski anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Yaşar Meriç TUNCA'ya çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında ümit verdiği, destek olduğu ve tecrübeleri benimle paylaşan, her zaman yardımcı olduğu için tez sınav jürisinde bulunan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fatma KERMEOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Araştırmamın uygulama aşamasında ve bu çalışmanın başarıyla sonuçlanmasındaki katkıları için hocam Doç. Dr. Serkan SAYINER'e çok teşekkür ederim.

Doktora eğitim hayatım boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman yanımda olan, destekleri ve yardımları olan tez jürisinde bulunan hocam Yrd. Doç. Dr. Mohamed ABDULJALIL'e, arkadaşım Dr. Dilan KIRMIZI'ya ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca attığım tüm adımlarda, aldığım tüm kararlarda hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, bana olan güvenlerini her zaman yanımda olan, beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamalarını bilecek şekilde yetiştiren ve bugün bu noktada olmamı sağlayan, aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Sebai, A. Sıçanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Geri Dönüşümsüz Pulpitis ve Apikal Periodontitis Modellerinde Melatoninin Antienflamatuvar Etkilerinin Araştırılması. Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Endodonti Doktora Programı, Doktora Tezi, Lefkoşa, 2021.

Çalışmanın amacı, sıçanlarda hem lipopolisakkarit ile indüklenen semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis modelinde hem de apikal periodontitis modelinde melatoninin enflamasyon parametreleri üzerine olan olası etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılmasıdır. Bunun için iki farklı deney modelinde ağırlıkları her iki cinsiyetten 200-250 gr arasında değişen Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Pulpitis için; Grup 1: negatif kontrol grubu (herhangi bir tedavi uygulanmadı), Grup 2; pozitif kontrol grubu (semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis) ve Grup 3: semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis + melatonin grubu olacak şekilde sıçanlar rastgele üç gruba ayrıldı. Apikal Periodontitis için Grup 1: negatif kontrol grubu (herhangi bir tedavi uygulanmadı), Grup 2; pozitif kontrol grubu (apikal periodontitis) ve grup 3: apikal periodontitis + melatonin grubu olacak şekilde sıçanlar ayrıldı. Deneysel olarak oluşturulmuş semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis gruplarında, sol üst kesici dişlerin kronları yatay olarak kesilerek çıkartıldı. Kanal ağızları geçici dolgu maddesi ile kapatılmadan önce pulpa lipopolisakkarit solüsyonu uygulandı. Apikal periodontitis gruplarında sıçanların mandibular sol birinci molar dişlerinin pulpa odaları, sabit irrigasyon altında yüksek hızlı rotasyonda ¼ boyutlu yuvarlak çelik bir frez ile ekspozite edildi. Her iki modelde Grup 3'teki sıçanlara intraperitoneal olarak 10 mg/kg melatonin uygulandı. Sıçanlar, pulpa yaralanmasından 24 saat sonra ve apikal periodontitis oluşturulduktan 21 gün sonra sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri toplandı. Serum ve pulpa örneklerindeki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 konsantrasyonları ELISA test kitleri ile belirlendi. Pozitif kontrol grubunda serum ve pulpa dokularındaki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 seviyelerinin kontrol grubuna göre oldukça yüksek olduğu tespit edildi (p <0.01-0.001). Semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis + melatonin grubunda serum ve pulpa dokularındaki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 seviyelerinin pozitif kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı (p <0.05-0.001). Apikal periodontitis oluşturulan pozitif kontrol grubundaki grubunda serum TNF- α , IL-1 β , seviyelerinin kontrol grubuna yüksek olduğu tespit edildi (p <0.01-0.001). apikal periodontitis + melatonin grubunda serum TNF- α , IL-1 β , seviyelerinin pozitif kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis ve apikal periodontitis modellerinde melatonin

antiinflamatuvar etki göstermiştir. Bu durum, melatoninin semptomatik geri dönüşsüz pulpitis ve apikal periodontitis vakaları için umut verici bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir.

ABSTRACT

Sebai, A. Investigation of the Anti-Inflammatory Effects of Melatonin in Experimentally Established Models of Irreversible Pulpitis and Apical Periodontitis in Rats. Near East University, Institute of Graduate Studies, PhD Thesis in Endodontics, Lefkoşa, 2021.

The aim of the study was to investigate biochemically and histopathologically the possible effects of melatonin on inflammation parameters in both the lipopolysaccharide-induced irreversible symptomatic pulpitis model and the apical periodontitis model in rats. For this purpose, Wistar albino rats weighing between 200-250 g of both sexes were used in two different experimental models. For pulpitis; rats were randomly divided into three groups as: Group 1: negative control group (no treatment applied), group 2; positive control group (symptomatic irreversible pulpitis) and group 3: symptomatic irreversible pulpitis + melatonin group. For Apical Periodontitis rats were randomly divided into three groups as: Group 1: negative control group (no treatment applied), group 2; positive control group (apical periodontitis) and group 3: apical periodontitis + melatonin group. In experimentally induced symptomatic irreversible pulpitis groups, the crowns of the left upper incisors were removed by cutting horizontally. Before the canal openings were sealed with temporary filling material, lipopolysaccharide solution was applied to the pulp. The pulp chambers of mandibular left first molars of rats in apical periodontitis groups were exposed with a ¼ dimensional round steel bur in high speed rotation under constant irrigation. 10 mg/kg melatonin was administered intraperitoneally to the rats in Group 3 of both models. Rats were sacrificed 24 hours after pulp injury and 21 days after apical periodontitis was created, and blood and tissue samples were collected. TNF- α , IL-1 β , MMP-1 and MMP-2 concentrations in serum and pulp samples were determined by ELISA test kits. TNF- α , IL-1 β , MMP-1 and MMP-2 levels in serum and pulp tissues were found to be quite higher in the positive control group than in the control group ($p < 0.01-0.001$). TNF- α , IL-1 β , MMP-1 and MMP-2 levels in serum and pulp tissues were found to be significantly decreased in the symptomatic irreversible pulpitis + melatonin group compared to the positive control group ($p < 0.05-0.001$). Serum TNF- α , IL-1 β levels in the positive control group with apical periodontitis were found to be higher in the control group ($p < 0.01-0.001$). Serum TNF- α , IL-1 β levels were significantly decreased in the apical periodontitis + melatonin group compared to the positive control group. Melatonin showed an anti-inflammatory effect in experimentally induced symptomatic irreversible pulpitis and apical periodontitis models in rats. This

indicates that melatonin may be a promising treatment option for symptomatic cases of irreversible pulpitis and apical periodontitis.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ ONAYI	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.Pulpitis	4
2.1.1.Pulpitisin Etyolojisi	4
2.1.1.1.Mikrobiyal İrritanlar	4
2.1.1.2. Mekanik İrritanlar	4
2.1.1.3. Kimyasal İrritanlar	5
2.1.2. Pulpitisin Histopatolojisi	5
2.1.3.Semptomatik Geri Dönüşümsüz Pulpitis	6
2.1.4. Apikal Periodontitis	7
2.2. Enflamatuvar Mediyatörler	8
2.2.1.Nöropeptitler	8
2.2.2. Enzimler	9
2.2.3. Sitokinler	10

2.2.4.Matriks Metalloproteinazlar	12
2.3. Melatonin	15
2.3.1. Melatoninin Etki Alanları	18
2.3.1.1. Melatonin Reseptörleri	18
2.3.1.2. Üreme Üzerine Etkileri	19
2.3.1.3. Uyku Döngüsüne Etkisi	19
2.3.1.4. Endokrin Etkisi	19
2.3.1.5. Kardiyak Etkisi	20
2.3.1.6. Yaşlanma Üzerine Etkisi	20
2.3.1.7. Kemik Doku Üzerine Etkisi	20
2.3.1.8. Antioksidan Etkisi	21
2.3.1.9. Antienflamatuar Etkisi	22
2.3.1.10. Onkolojik Etkisi	22
2.3.1.11. İmmün Sistem Üzerine Etkisi	22
2.3.1.12. Anjiyogenez Üzerine Etkisi	23
2.3.1.13. Diş Hekimliği ve Melatonin	23
2.4. Sıçanlar	24
2.5. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT)	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Pulpitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuar Etkilerinin Araştırılması	27
3.1.1. Deney Hayvanları	27
3.1.2. Deney Grupları	28
3.1.3. Deneysel Geri Dönüşümsüz Pulpitis Modelinin Oluşturulması	28
3.1.4. Melatonin Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması	29
3.1.5. Hayvanların Ötenazisi	29
3.1.6. Örneklerin Toplanması	29
3.1.7. Biyokimyasal Analiz	30
3.1.8. Histopatolojik Değerlendirme	30
3.1.9. İstatistiksel Analiz	32

3.2. Apikal Periodontitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuar Etkilerinin Araştırılması	32
3.2.1. Deney Hayvanları	32
3.2.2. Deney Grupları	33
3.2.3. Apikal Periodontitis Modelinin Oluşturulması	34
3.2.4. Hayvanların Ötenazisi	34
3.2.5. Örneklerin Toplanması	34
3.2.6. Mikro-BT Taraması	34
3.2.7. Mikro-BT Görüntü Analizi	34
3.2.8. Histopatolojik Değerlendirme	35
3.2.9. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
4.1. Pulpitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuar Etkilerinin Araştırılması	36
4.2. Apikal Periodontitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuar Etkilerinin Araştırılması	39
5. TARTIşMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	52
EKLER	68

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Değerlendirme için kullanılan parametreler ve skorlar.	31
Tablo 2. Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait serum a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 e) MMP- 3ve MMP-8 değerleri.	36
Tablo 3. Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait pulpa a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 değerleri.	37
Tablo 4. Histomorfolojik Skorlar (%).	38
Tablo 5. Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis modelinde tüm gruplara ait serum TNF- α ve IL-1 β değerleri.	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1. Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait pulpa a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 . 31
- Şekil 2. Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis (AP) modelinde tüm gruplara ait a) a) TNF- α ve b) IL-1 β . 38
- Şekil 3: Kontrol grubundaki (a) sağlıklı periapikal dokuların temsili histolojik görüntüleri; ve pulpitis grubu (b) ve pulpitis + melatonin grubunda (c) periapikal lezyonlar. 40
- Şekil 4: Mandibular birinci molarların (a-c) mesial kök seviyesindeki temsili kesitsel mikro BT görüntüleri. (a) Kontrol grubu (b) Pulpitis grubu (c) Pulpitis + Melatonin grubu. 41
- Şekil 5. Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis modelinde tüm gruplara ait a) Total rezorpsiyon kavite yüzey alanı b) Messial rezorpsiyon kavitesi hacmi. 42

SİMGELER VE KISALTMALAR

TNF	Tümör Nekroz Faktör
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
LPS	Lipopolisakkarit
IL1- β	İnterlökin-1 Beta
MMP	Matriks Metalloproteinaz
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
SP	Substance P
CRP	C-Reaktif Protein
MT 1	Melatonin 1 Reseptörü
MT 2	Melatonin 2 Reseptörü
IP	Intraperitoneal

1. GİRİŞ

Pulpada ve periapikal dokuda bir iltihabın oluşumuna sebep olan etiyolojik etkenler mikrobiyal, mekanik ve kimyasal nitelikte olabilir. Geri dönüşümsüz pulpitis ve apikal periodontitis vakalarında etken ortadan kaldırılrsa bile, pulpanın ve periapikal dokunun iyileşme kapasitesine sahip olmadığı düşünülmektedir. Bu dişlerde genel olarak kabul edilen tedavi yöntemi tüm pulpa dokusunun çıkarılması yani kök kanal tedavisidir (Goodies ve ark., 2002; Ataman, 1994).

Dental pulpada ve periapikal dokuda enflamasyonun başlaması ile birlikte sitokinler, büyüme faktörleri ve diğer enflamatuvar mediyatörler fibroblastlar, endotel hücreleri ve immün hücreler tarafından salgılanmaya başlar (Fouad ve ark., 2011). Konak savunması, sitokinler ve matriks metalloproteinazlar (MMPler) gibi çeşitli öğeleri içeren önemli bir karmaşık süreci tetiklemektedir. Bu süreç boyunca, enflamatuvar ve bağışıklık olayları, bakterileri ve yan ürünlerini yok etmeye yardımcı olur ancak aynı zamanda pulpa ve periapikal dokuya da zarar vermektedir. Çünkü bu süreç, düşman ve konakçı doku arasında ayırım yapamamaktadır. Sonuç olarak, tedavi edilmeyen vakalarda durum, önce semptomatik geri dönüşümsüz pulpitise ve devamında da apikal periodontitise yol açmaktadır. (Zero ve ark., 2011).

Sitokinler; lökositler, nöronlar ve glia hücreleri gibi değişik hücre tipleri tarafından sentezlenen ve salgılanan düzenleyici proteinlerin diğer bir grubudur. Özellikle Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β)'nın hiperaljeziye öncülük eden ve enflamasyonlu dokuları innerve eden nosiseptörlerde meydana gelen nöroplastik değişikliklerde rol oynadığı düşünülmektedir (Keiser ve Byrne, 2011). TNF- α , yaralanmaya karşı konak savunmasının başlamasını sağlayarak enflamasyonun başlangıç ve ileri safhaları arasında merkezi bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, TNF- α genellikle bir pro-enflamatuvar sitokin olarak anılmaktadır (Hehlhans ve Pfeffer, 2005). IL-1 β ise, enflamatuvar yanıtı aracılık eden bir başka proinflamatuvar sitokindir. Enflamatuvar sürecin erken safhasında hücre göçünü ve diğer aracılardan salınmasını düzenlemektedir (Chang ve ark., 2012).

MMP'ler, enflamasyonun çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerinde rol oynayan temel proteolitik enzimlerdendir (Zheng ve ark., 2009). MMP'ler tüm hücre dışı matris bileşenlerini bozabilir ve iltihaplı pulpanın doku tahribatında önemli bir rol oynayabilmektedir. Patolojik pulpa dokusundaki MMP-1 ve MMP-2 düzeylerinin, sağlıklı pulpa dokusuna göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Jain ve Bahuguna, 2015; Shin ve ark., 2002; Wahlgren ve ark., 2002).

Bir nöroendokrin hormon olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) epifiz bezinden ve diğer organlardan sentez edilip salgılanmaktadır. Esas görevi, vücudun biyolojik saatini koruyup ritmini ayarlamak olan melatonin, vücutta birçok biyolojik ve fizyolojik süreçte yer almaktadır. Melatonin üretildikten sonra yüksek lipofilik ve hidrofilik özelliği sayesinde hızlı bir şekilde kana karışarak beyin omurilik sıvısı da dahil olmak üzere bütün vücut sıvıları ve dokularına dağılmaktadır. Melatoninin güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri, üreme, bağışıklık, sirkadiyen ritimlerin ve uykunun düzenlenmesi, anti-viral, anti-kanseröz ve kemik yıkımını azaltıcı etkileri bulunmaktadır. Mikromolar konsantrasyonlarda, insan osteoblastlarından tip 1 kollagen sentezini uyarıp osteoblast farklılaşmasını teşvik etmektedir (Rudra ve ark., 2013; Permy ve ark., 2017). Melatonin ayrıca MMP aktivitesini de inhibe eder. Böylece IL-1 β ve TNF- α ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe etmektedir (Esposito ve ark., 2008; Esposito ve ark., 2008; Kara ve ark., 2013; Li ve ark., 2015).

Diş hekimliğinde az sayıda çalışmada melatoninin, dokuda meydana gelen hasarın ve nekrozun azaltılmasında rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; melatoninin sıçanlarda sistemik uygulanmasının deneysel olarak oluşturulmuş semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis ve apikal periodontitis üzerinde olası etkilerinin araştırılmasıdır. Pulpada ve periapikal dokuda enflamasyonun başlamasını takiben kullanabilecek antiinflamatuvar bir ajanın enflamasyonun şiddetini baskılayarak pulpada ve periapikal dokuda meydana gelebilecek hasarı ve beraberinde ağrı mediyatörlerinin salgılanmasını azaltabileceği düşünülmektedir. Böylelikle, pulpa ve periapikal enflamasyonunun baskılanabilmesi tam olarak

sağlığını kaybetmemiş pulpa ve periapikal dokunun kendini tamir edebilme şansını artıracaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulpitis

2.1.1. Pulpitisin Etyolojisi

Klinik olarak sağlıklı pulpa, vitalite testlerine pozitif cevap verebilen ancak bu cevabın birkaç saniyeden sonra kendiliğinden kaybolduğu; perküsyon, palpasyon ve ısırma testlerinden hiçbir yanıtın alınmadığı ve radyografik görünümün normal olduğu asemptomatik pulpayı tanımlamaktadır (Rechenberg ve ark., 2016). Pulpa dokusu, pulpa için zararlı olan ve pulpa fonksiyonlarını tehlikeye atan canlı ve cansız iritanlara maruz kalabilir. Canlı iritanlar, farklı türdeki mikroorganizmalar ve virüslerin meydana getirdiği mikrobiyal etkenlerdir. Cansız iritanlar ise mekanik ve kimyasal etkenler olarak sınıflandırılmaktadır (Ricucci ve ark., 2014).

2.1.1.1. Mikrobiyal İrritanlar

Mikroorganizmalar pulpa ve periradiküler bölgedeki iritanların en önemlileridir. Mikroorganizmalar; diş çürükleri, dental anomaliler, yan kanallar, abrazyon, erozyon, atrisyon, çatlak, kırık, koronal sızıntı aracılığıyla pulpaya ulaşabilir. Yeterli sayı ve virülansa sahip mikroorganizmalar pulpada iltihabi reaksiyon başlatabilirler. Pulpada pek çok farklı türde bakteri bulunabilse de pulpal inflamasyonun ileri safhalarında anaerobik flora daha baskındır. Pulpa dokusu mikroorganizmalar tarafından kuşatıldığında bölgeye öncelikli olarak polimorfonükleer lökositler gelir ve likefaksiyon nekroz alanı oluşturur. Pulpa dokusu ağız ortamı ile temasa geçtikten sonra mikroorganizmalar oluşan nekroz alanına yerleşir (Sakko ve ark., 2016).

2.1.1.2. Mekanik İrritanlar

Pulpa dokusunun mekanik iritanları; derin kavite preparasyonları, su soğutması kullanılmadan çalışılması, travma, yüksek restorasyonlar, derin

periodontal küretaj ve ortodontik hareketler gibi termal ve fiziksel uyaranlardır. Pulpada mekanik etkenlere bağlı oluşabilecek vazodilatasyon miktarı; iritanların şiddeti ve süresine bağlıdır. Kök gelişimi tamamlanmış dişlerin yer değiştirmesine (lüksasyon veya avülsiyon) neden olan travmalar, apikal kan damarlarının kesilmesine yol açarak pulpada geri dönüşümsüz iltihaba yol açabilmektedir (Yu ve Abbott, 2007; Alaçam, 2000).

2.1.1.3. Kimyasal İrritanlar

Pulpanın kimyasal iritanları; daimi ve geçici dolgu maddeleri, çeşitli dentin temizleyiciler, dezenfektan ve hassasiyet gidericilerin içeriğindeki gümüş nitrat, fenol, ojenol, alkol, kloroform, hidrojen peroksit gibi ajanlar ve asitlerdir (Yu ve Abbott, 2007).

2.1.2. Pulpitisin Histopatolojisi

Çeşitli iritanlar sonucu pulpada oluşan enflamasyonda meydana gelen değişiklikler 5 fazda incelenir. Bunlar latent faz, hiperemik faz, seröz faz, pürülan faz ve tamir fazıdır (Alaçam, 2011; Çalışkan, 2006).

Latent faz, patojenin konak dokuyu etkilemesi ile ilk belirtilerin ortaya çıkması arasında geçen süreyi belirtir. Bağ dokusu hücreleri, kapiller endotelleri ve kan hücrelerini uyararak histamin, kinin ve prostaglandin gibi vazoaktif mediyatörlerin salınmasına neden olur. Bu mediyatörler uyarının doğrudan etki edemediği hücre ve dokuları etkileyerek, daha geniş bir alanda reaksiyon meydana getirirler (Çalışkan, 2006, Torabiejad ve ark., 2014).

Hiperemik fazda ilk belirtiler vazoaktif mediyatörlerin kapiller yatağında vazodilatasyona sebep olması ve bunun sonucunda kapillerlerdeki kan miktarı artışı ile bölgesel sıcaklığın yükselmesi, ağrı ve kızarıklığıdır. Bu fazın sonunda dilate olmuş kapillerlerde kan akımı yavaşlar (staz), hatta durabilir. Hiperemi fazında görülen bütün olaylar geri dönüşümlüdür (Alaçam, 2011).

Seröz fazda kapillerlerden interkapiller bölgeye sıvı akışı meydana gelir ve ödeme neden olur. Sıvının damar dışına çıkışında, damar çeperinin iki tarafındaki basınç farkı ve çeperin geçirgenliği rol oynar. İltihabi durumda, kapillerlerin içerisindeki hidrostatik basınç, damar dışındaki dokuların osmotik basıncından daha fazladır ve kapiller içindeki sıvı damar dışına çıkar. Vazoaktif mediyatörler salgılandığında kapiller çeperin geçirgenliği artar ve büyük moleküllerin, hatta kanın hücresel elemanlarının bile geçtiği gözlenir (Çalışkan, 2006).

Kanın hücresel elemanlarının damar dışına çıkması olan pürülan fazda kapiller dışına çıkan ilk hücreler polimorfonükleer lökositlerdir (PMNL). PMNL damar dışında proteolize uğrar ve kısa sürede ölürlür. Dokuyu etkileyen uyaran ortadan kalkmazsa damar dışına sürekli PMNL çıkışı olacaktır. Bunun sonucunda bir nekroz ve apse odağı meydana gelecektir. Sürekli bir proteoliz ile apse odağı genişleme eğilimindedir (Alaçam, 2011; Çalışkan, 2006).

Tamir fazı, ölü PMNL'lerin ve doku kalıntılarının lenfatik drenajla ortamdan uzaklaştırılmasıyla başlar. Ortama gelen mononükleer lenfositler PMNL ile yer değiştirerek zamanla perihistiyosit, histiyosit, makrofaj ve fibroblastlara dönüşürler. Sonuç olarak apse odağı ve sağlıklı dokular arasında granülasyon dokusu olarak adlandırılan damar ve hücreden zengin bir bağ dokusu meydana gelir (Alaçam, 2011; Çalışkan, 2006; Torabiejad ve ark., 2014).

2.1.3. Semptomatik Geri Dönüşümsüz Pulpitis

Akut pulpitisli dişler aralıklı veya spontan ağrı ile karakterizedir. Belirgin sıcaklık değişiklikleri (özellikle soğuk uyaranlar), termal uyaran ortadan kalktıktan sonra bile artan ve uzun süre devam eden ağrıya neden olur. Akut pulpitis vakalarında ağrı keskin veya künt, lokalize, yaygın veya yansıyan tarzda olabilir. Alınan periapikal radyografide periapikal bölgede minimal değişim görülebilir. İlerlemiş derecedeki akut pulpitisli dişlerde periodontal ligamentte aralanma, pulpa odasında genişleme veya kök kanal kalsifikasyonu izlenebilmektedir. Akut pulpitis derin restorasyonlar, çürükler, pulpanın açığa çıkması, pulpaya doğrudan veya

dolaylı olarak irritasyon nedeniyle ya da geri dönüşümsüz pulpitisin önceden mevcut olduğu asemptomatik ve kronik iltihaplı pulpanın akut alevlenmesi sonucu meydana gelebilir. Tipik olarak semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis tedavi edilmezse pulpa nekrozu gerçekleşir (Von Böhl ve ark., 2012; Mejare ve ark., 2012).

2.1.4. Apikal Periodontitis

Apikal periodontitis, genellikle pulpa boşluğunun mikrobiyal enfeksiyonunun bir devamı olarak meydana gelen diş kök ucunun etrafındaki dokuların enflamasyonu ve doku yıkımı ile karakterize oldukça yaygın görülebilen bir hastalıktır (Buonavoglia ve ark., 2013). Apikal periodontitis prevalansı yaşla birlikte artmaktadır; 20'li yaşlarda görülme sıklığı %33 iken 50 yaşından sonra bu oran %57'lere yükselmektedir. 60 yaş üstü hastalarda apikal periodontitis prevalansı %62'ye çıkmaktadır (Eriksen, 1998).

Apikal periodontitis oluşumunda iç ve dış faktörler rol oynamaktadır. Ürat, kolesterol kristalleri, sitokinler veya osteoklastları aktive eden enflamatuar mediyatörler iç faktörlerdendir. Bakteriler ve toksinleri, toksik metabolik ürünler, kimyasal ajanlar, mekanik irritasyon, yabancı cisim ve travma ise dış faktörler arasında yer almaktadır. Bu faktörler içerisinde apikal periodontitis oluşumunda en önemli etken bakteriler ve bakteri ürünleridir. Bakteri ürünleri; lipopolisakkarit (LPS), lipoteikoik asit (LTA) ve kök kanalından periapikal dokulara salınan zararlı metabolik ürünler periapikal immunoenflamatuar reaksiyonu başlatabilmektedir. Çeşitli çalışmalar bakteriyel kontaminasyon olmayan nekrotik pulpalı travma geçirmiş dişlerde periapikal kemik yıkımının olmadığını, bunun aksine bakterilerin izole edildiği nekrotik pulpalı dişlerde ise periradiküler kemik yıkımının gözlendiğini saptanışlardır (Ricucci ve ark., 2012; Siqueira ve ark., 2014).

Apikal periodontitis vakalarında ilgili bölgeye ilk olarak PMNL'ler gelerek fagositoz yapmakta, ayrıca lökotrienler ve prostoglandinleri salgılamaktadırlar. Bunun neticesinde daha fazla nötrofil ve makrofaj enflamasyon bölgesine gelmektedir. Aktive makrofajlar TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi pro-enflamatuar

mediatörler salgılayarak vasküler cevabı artırmakta ve osteoklastik kemik yıkımını indüklemektedirler. Doğal immun sistemin non spesifik cevabıyla bu reaksiyonlar meydana gelse de kök kanal sistemindeki bakteri ve ürünlerinin kaynağı yok edilemediği için sürekli enfeksiyonlara karşı daha spesifik olan kazanılmış immun yanıt devreye girmektedir (Gomes ve Herrera, 2018; Martinho ve ark., 2016).

Semptomatik apikal periodontitis, apikal periodonsiyumun enflamasyonuna bağlı olarak meydana gelen perküsyonda hassasiyet, periapikal bölgede palpasyonda ağrı, intrasulküler/intrakanal irin drenajı ile karakterize klinik bir durumdur. Diş vital veya devital olabilmektedir. Radyografik incelemede genellikle periapikal bölgede kemik yıkımı görülmezken periodontal aralıkta genişleme görülmektedir (Khan ve Hargreaves, 2007).

Aseptomatik apikal periodontitis, konak cevabının kalıcı enflamatuar uyarana adaptasyon gösterdiği, radyografik incelemede pulpal enflamasyon neticesinde etkilenen periapikal bölgede radyolüsent alanla karakterize aseptomatik bir klinik durumdur. Aseptomatik apikal periodontitis vakalarında görülen radyolüsent alan histolojik olarak granulom veya kist tanısı almaktadır. Diş vitalite testlerine genellikle negatif cevap vermektedir (Petersen ve ark., 2014).

2.2. Enflamatuar Mediyatörler

2.2.1. Nöropeptitler

Duyusal ve otonomik sinirler uyarıldıkları zaman ortama nöropeptid adı verilen biyolojik olarak aktif peptidler salarlar. Nöropeptitler, en büyük nörotransmitter/nöromodülatör sınıfını temsil eder. Nöropeptitler, insan vücudunun tamamına yayılmıştır; merkezi sinir sisteminden periferik sinir sistemine kadar hem otonomik hem de somatosensör nöronlar dahil olmak üzere sinir sisteminin her dalında bulunurlar. Nöropeptidler nöral aktivitede önemli role sahiptir ve doku yaralanması, kompleman aktivasyonu, antijen-antikor reaksiyonları gibi çeşitli uyaranlarla salgılanmaya başlayabilirler. Uyarıldıklarında histamin ve bradikinine

benzer etki göstererek damarlarda vasodilatasyona sebep olur ve vasküler permeabiliteyi artırır (De Swert ve Joos, 2006; Caviedes-Bucheli ve ark., 2008).

Nöropeptitlerin pulpitis ve diş ağrı mekanizmasında da önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Pulpada periferel duyuşal fibrillerden (A δ ve C fibrilleri) kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), substance P (SP) ve neurokinin A (NKA), sempatik fibrillerden neuropeptide Y (NPY) salgılanmaktadır. Pulpada ilk saptanan nöropeptit SP'dir. SP genelde küçük kan damarları çevresinde ve yüzeye yakın yerlerde epitel altında görülür. Bir klinik çalışmada, akut pulpitis tanısı konan dişlerdeki SP reseptör ekspresyonunun enflamasyon sırasında önemli ölçüde daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Pulpaya zararlı termal, mekanik, kimyasal her türlü uyarıcı, C tipi sinir liflerinin uyarılması, bradikinin, prostaglandinler gibi enflamatuar mediyatörlerin ortamda bulunması SP'nin salınmasına neden olur. SP ve NKA, orta ile şiddetli ağrı sinyallerinin oluşumu ve transferinde ana nörotransmitterlerdir. Çalışmalar pulpal ağrıda CGRP, NKA ve SP'nin arttığını göstermektedir (Caviedes-Bucheli ve ark., 2008; Caviedes-Bucheli ve ark., 2006; El Karim ve ark., 2006).

2.2.2. Enzimler

Enzimler, kimyasal reaksiyonun aktivasyon enerjisini düşürerek tepkime hızını normal şartlardan çok daha yüksek hızda gerçekleşmesini sağlayan özelleşmiş biyomoleküllerdir. Hücrelerde organik maddelerin yapımı ve yıkımı, hücre solunumu, kas kasılması ve sindirim gibi faaliyetler enzimlerin katalitik etkisiyle meydana gelen önemli metabolizma reaksiyonlarıdır (Gürdöl, 2015).

Enzimler yapay katalizörlere göre daha büyük bir katalitik güç ve özgülüğe sahip bileşiklerdir. Enzimlerin adlandırılması katalize ettikleri reaksiyonun türüne göre, etki ettiği substrata "az" ya da "litik" eki getirilerek yapılmaktadır. Enzimler uluslararası sınıflamada altı ana sınıfa ayrılmıştır (Gürdöl, 2015).

1-Oksidoredüktazlar: Yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarını katalizlerler.

2-Transferazlar: Fonksiyonel grupların iki substrat arasında transferini katalizlerler.

3-Hidrolazlar: Molekül içi bağların su girişi ile kopmasını sağlayarak büyük moleküllerin yıkılmasını katalizlerler.

4-Liyazlar: C-C, C-S ve bazı C-N bağlarının kopmasını katalizlerler.

5-İzomerazlar: Molekül içi yapısal ve geometrik değişikliklerle izomer oluşumunu katalizlerler.

6-Ligazlar (Sentetazlar): ATP enerjisi ile iki substrat molekülünün birbirine bağlanmasını katalizlerler.

2.2.3. Sitokinler

Sitokinler; lökositler, nöronlar ve glia hücreleri tarafından sentezlenen ve salınan polipeptit yapıda mediyatörlerdir. Sitokinler, immün ve enflamatuvar cevapta modülatör olarak görev alırlar. Kendisinden salınan hücre ve etraftaki hücreleri etkiler, sistemik dolaşıma nadiren geçerler (Kuralay ve Çavdar, 2006; Elsalhy ve ark., 2013).

Sitokinin sentezi, bakteri ürünleri, toksinler, immün kompleksler, fiziksel yaralanmalar ve çeşitli enflamatuvar olay neticesinde başlar. Lökosit adezyonu, prokoagülan aktivite, kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonunu artırması gibi endotelial ve fibroblastik etkileri bulunmaktadır (Kuralay ve Çavdar, 2006; Elsalhy ve ark., 2013).

Enflamasyonda en önemli sitokinler interlökinler (IL) ve TNF- α 'dır. Enflamatuvar (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ) ve anti-enflamatuvar (IL-4, IL-10 ve IL-13) etkileriyle enflamasyonda modülatör olarak rol alırlar. Makrofajların aktive olmasıyla salınan IL-1 ve TNF- α birçok hematopoetik hücrenin ve akut faz proteinlerinin çoğalmasını sağlayarak iştah kaybı, lökositoz ve ateş oluşumu meydana getirmektedirler (Rechenberg ve ark., 2016).

IL-1 β normal koşullarda organizmada beslenme uyku ve sıcaklığın düzenlenmesi gibi önemli homeostatik işlevlere sahiptir. IL-1 β keratinositlerden, fibroblastlardan, sinoviyositlerden, endotelial, nöronal, makrofajlar ve mast hücreleri

gibi bağımsızlık hücrelerinden ve Schwann hücreleri, mikroglia ve astrositler gibi glial hücrelerden salınabilir. IL-1 β 'nin artışı romatoid artrit, nöropatik ağrı, iltihaplı bağırsak hastalığı, osteoartrit, vasküler hastalık, multiple skleroz ve Alzheimer hastalığı gibi birçok hastalık sırasında meydana gelen patofizyolojik değişikliklere yol açmaktadır. IL-1 β , konakçıda enflamatuvar yanıtta aracılık eden çeşitli eylemlerden sorumludur. Enflamatuvar sürecin erken aşamasında hücre göçünü ve diğer aracılardan salınmasını düzenler. Birçok farklı hücre tipi tarafından üretilip salınabilir ve pulpa dokusunda enflamatuvar sürecin başlamasında rol oynayan en önemli interlökindir. Düşük konsantrasyonlarda lokal iltihap oluşumuna neden olmaktadır. Hastalıklı pulpanın fibroblastları, sağlıklı pulpaya kıyasla daha fazla miktarda IL-1 β içermektedir ve sonuç olarak daha fazla miktarda kolajen matriks sentezlenmektedir (Alaçam, 2011; Yamaguchi ve ark., 2004; Henriques ve ark., 2011; Levin ve ark., 2009).

IL-1 β , kemik rezorpsiyonunun en güçlü stimulatörlerinden biridir ve periodontal hastalıkların patolojisinde önemli bir rol aldığı görülmektedir (Redlich ve Smolen, 2012). IL-1 β kemikte prostaglandin sentezini artırarak kemik rezorpsiyonunu artırır. IL-1 β , IL-6 ve prostaglandin E2 üretimini artırarak apikal periodontitiste inflamatuvar yanıtın başlatılmasında ve düzenlenmesinde rol oynayabilmektedir (Martinho ve ark., 2012). Artan IL-1 β üretiminin inatçı apikal periodontitis duyarlılığının artmasına katkıda bulunabileceğini öne sürülmüştür (Morsani ve ark., 2011).

TNF, *in vitro* olarak tümör nekrozuna neden olan endotoksin ile indüklenebilir monosit türevli bir proteindir. TNF, monositler/makrofajlar tarafından üretilmektedir ancak T ve B lenfositleri, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler, nötrofiller, fibroblastlar ve osteoklastlar gibi diğer hücre tipleri tarafından da daha küçük miktarlarda da olsa TNF salgılanabilmektedir. TNF'nin hastalığın çeşitli safhalarında immün hücrelerin aktivasyonu ve çoğalması gibi yaygın ve derin etkileri olduğu bilinmektedir (Zhang ve ark., 2017; Silva ve ark., 2019).

TNF- α , TNF/TNF reseptörü (ligand/reseptör) süper aile proteinleri ailesine aittir. TNF- α , esas olarak makrofajlar ve doğuştan gelen bağışıklığa ait diğer hücreler tarafından üretilen proinflamatuvar bir madde olarak kabul edilir. TNF- α , immünoenflamatuvar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Aynı zamanda birçok hücre tipinde büyüme ve farklılaşmayı düzenler. TNF- α 'nın aşırı üretilmesi veya hatalı ekspresyonu çeşitli patolojik durumlara yol açabilir. TNF- α prostaglandin üretimini tetikler, ateş indüksiyonunu artırır ve C-reaktif protein (CRP) gibi akut inflamasyon fazı proteinlerinin salınımını, sitokinlerin ve kemokinlerin gen ekspresyonunu ve endotel hücre aktivasyonunu tetikleyerek yaralanma bölgesinde artan kan akışı gibi vasküler değişikliklerin meydana gelmesine önemli ölçüde katkıda bulunur (Silva ve ark., 2019, Millet ve ark., 2016).

TNF- α 'nın, kemik kaybı görülen apikal periodontitisin patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Kist kapsüllerindeki makrofaj sayısı ve TNF- α düzeylerinin kapsül kalınlığı ile pozitif bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Kisti çevreleyen dokulardaki makrofajların miktarı ile yüksek TNF- α ekspresyonu arasındaki ilişki, bu sitokinin üretimi ile kistlerde doku vaskülarizasyonu, anjiyogenez ve inflamasyon arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Jurisic ve ark., 2008).

TNF- α ve IL-1 β 'nin iltihaplı dokuları innerve eden nosiseptörlerde meydana gelen ve hiperaljeziye neden olan nöroplastik değişikliklerde de rol oynadığı düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2017).

2.2.4. Matriks Metalloproteinazlar (MMP'ler)

MMP'ler çinko ve kalsiyuma bağlı olarak kollajen doku ve tüm bağ dokusu içinde bulunan endopeptidazlardır. 28 adet salgı ya da transmembran enziminden oluşan, çeşitli hücre dışı matriks proteinleri ve bazal membran bileşenlerini parçalayabilen MMP'lerin insan dokularında tanımlanmış kollajenaz, jelatinaz, sitromelisin, matrilisin, membran tip ve diğerleri olmak üzere 23 farklı çeşidi vardır.

Çeşidine göre endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri, mezenşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi hücre tipleri tarafından salınırlar. MMP'ler sağlıklı dokularda düşük düzeyde salınırlar ve dokuların yeniden yapılanması, morfogenezis, ovülasyon, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynarlar (Visse ve Nagase, 2003; Egeblad ve Werb, 2002). MMP'ler ayrıca ateroskleroz, tümör yayılımı, anjiyogenezis, artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, kornea ülseri, deri ülseri, multipl skleroz, nörolojik hastalıklar, Alzheimer hastalığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizem, kan beyin bariyerinin yıkılması ve metastaz gibi pek çok patolojik süreçte de yer alırlar (Jain ve Bahuguna, 2015; Le ve ark., 2007). Nötral pH'da fonksiyon yapan ve aktivite göstermeleri için kalsiyuma gereksinim duyan MMP'lerin, latent formda salgılanıp proteolitik aktivitelerini göstermeleri için aktive olmaları gereklidir. MMP'ler dış morfogenezi esnasında hücre matris etkileşiminin düzenlenmesi ve dokuların yeniden şekillenmesi işleminde rol alırlar. MMP'lerin bazılarının dış çürüğü, pulpal ve periapikal lezyonlar, periodontal hastalıklar ve yumuşak doku lezyonlarının oluşumunda önemli etkileri vardır (Jain ve Bahuguna, 2015).

Geri dönüşümlü ve dönüşümsüz pulpitiste görülen enflamasyona bağlı pulpa dokusu yıkımı, MMP'ler ve MMP'lerin doku inhibitörleri tarafından kısmen düzenlenmektedir. Akut pulpitiste MMP-3 konsantrasyonunun normal pulpa dokusundan önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. MMP-3, MMP-1, 7 ve 9 gibi diğer MMP'leri aktive ederek çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerin başlamasıyla ilişkilendirilmiştir. Pulpitiste üretilen MMP-3, anjiyogenez, fibroblast yara iyileşmesi ve onarıcı dentin oluşumunu beraberinde getirmektedir. MMP-3'ün, antiinflamatuvar ve rejeneratif bir faktör olarak pulpanın iyileşmesine aracılık ettiği bulunmuştur. Pulpal enflamasyon sırasında MMP-3 üretimi, çevreleyen kollajenin yıkımını uyararak hücre dışı matris yapısında değişikliklere, iltihaplanmaya ve anjiyogeneze yol açmaktadır. MMP-13 (kolajenaz-3), interstisyel kolajenazlar içinde en geniş substrat seçimine sahiptir ve çeşitli bazal membran bileşenlerini parçalayabilmektedir. MMP-13, tip II kollajeni tip I ve III'ten daha verimli bir

şekilde ayırır ve interstisyel kolajenlerden en çok jelatini parçalamada etkilidir. MMP-13'ün salınım seviyesinin, diğer tüm MMP'lere kıyasla pulpa dokusunda son derece yüksek olduğu bulunmuştur. Bu nedenle MMP-13'ün MMP-1 ile birlikte pulpa dokusundaki ana kollajenaz olduğu bilinmektedir (Lee ve ark., 2013).

MMP-1 normal dokuların yeniden şekillendirilmesi ile en sık ilişkili kollajenazdır. MMP-1 fibroblastlar, endotel hücreleri, makrofajlar, hepatositler, kondrositler, osteoblastlar, odontositler, tümör hücreleri ve göç eden epidermal keratinositler tarafından salınmaktadır ve salınımı bazı enflamatuvar hastalıklarda ve kanserlerde indüklenebilmektedir. Normal fizyolojik koşullarda düşük seviyelerde bulunurken; patolojik durumlarda salınımı belirgin şekilde artabilmektedir. Diş gelişiminde önemli rol üstlenen mine formasyonu ile ilgili diğer bir enzim jelatinaz A yani MMP-2'dir. Amelogenini parçalayabilen MMP-2 ve onun aktivatörü olan membrantip-1 MMP (MT-1MMP); ameloblastlar, odontoblastlar ve pulpa tarafından üretilir. İnsan dentininde MMP-2 mevcudiyeti mineralizasyon sonrası matriksin yeniden şekillenmesini sağlamaktadır (Zamolo ve ark., 2020).

Endojen ve eksojen faktörler, kollajen yıkımını aktive etmektedir. İlki, membran kalınlığında yerel varyasyonu ve kolajen içeriğinde azalmayı içermektedir. İkincisi, bakteriyel metabolizmanın etkilerini ve konakçı enflamatuvar tepkiyi içermektedir. MMP'lerin enfeksiyonla indüklenebilen aktivasyonunun, doku harabiyetine yol açan aşırı kollajen yıkımı ve membran zayıflaması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Jain ve Bahuguna, 2015).

Diş çürükleri pulpanın iltihaplanmasına yol açarak iltihaplı hücrelerin bir araya gelmesine ve dolayısıyla iltihaplı sitokinlerin salgılanmasına neden olabilmektedir. MMP ailesi proteinleri, enflamasyonun patogeneğinde koruyucu doğuştan gelen ve/veya uyarlanabilir immün fonksiyonları ve ayrıca doku yıkımını uyarmaktadır (Jain ve Bahuguna, 2015).

Enfekte pulpadaki bakteriyel antijenler ve lipopolisakkaritler (LPS), immünoglobulinlerin, prostaglandinlerin ve diğer proinflamatuvar araçlarının

seviyelerini artırmaktadırlar. Pulpa reaksiyonunda, bakteriyel bileşikler ve enflamatuar faktörler nötrofil degranülasyonunu ve monositler/makrofajlar tarafından salgılanmasını uyarabilmektedir. IL-1 ve TNF'nin salınması, pulpa hücrelerinde MMP-1, MMP-2 ve metaloproteinazlar-1'in doku inhibitörünü indükleyebilmektedir. Bakterilerle uyarılma MMP-2 üretimini artırır ve anaerobik bakteri artıkları pulpa hücrelerini uyararak MMP-1 ve MMP-22 salgılamasına neden olmaktadır. Akut pulpitiste normal pulpa dokusundan önemli ölçüde daha yüksek MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 seviyeleri bulunmaktadır (Jain ve Bahuguna, 2015; Zamolo ve ark., 2020).

Çeşitli çalışmalar, bakteri ve ürünlerinin pulpa hücrelerinde MMP-1 ve MMP-2 seviyelerini düzenlediğini göstermiştir. Esas olarak monositler/makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salınan MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 seviyeleri, akut pulpitis dokusunda sağlıklı pulpa dokusundan önemli ölçüde daha yüksektir. Bakteriyel ürünler, PMN'leri MMP-8 salgılamak için uyarmaktadır ve proinflamatuar sitokinler, pulpa dokusunda MMP-1 ve MMP-2 seviyelerinin artmasını sağlamaktadır. Bakteri ve ürünleri, sitokin üretimini düzenleyerek pulpal enflamasyonda MMP salınımını artırma ve MMP üretmek için hücreleri doğrudan uyarma eğilimindedir. PMN hücreleri, pulpitisin meydana gelmesinde rol oynamaktadır ve aktive olan MMP-8'lerin pulpa nekrozunda görülen doku yıkımına katılmasına yol açmaktadır. PMN'ler dentin tübüllerine nüfuz edebilen hücreleri göç ettirdiğinden ve topladığından, MMP'ler bu amaca hizmet etmektedir (Jain ve Bahuguna, 2015; Sulkala ve ark., 2007).

2.3. Melatonin

Melatonin (N-Asetil-5-Metoksitriptamin) ilk olarak 1917 yılında tanımlanmış ancak 1958 yılında Lerner ve ark. tarafından izole edilmiştir. Bulunan bu moleküle melanofor ve seratonin moleküllerinin birleşimi olan melatonin ismini vermişlerdir. Melatonin, insanda %80 oranında pineal bez yapısında bulunan pinealositler tarafından salgılanan uyku, immunité, üreme, kalp ritmi, vücut ısısı gibi birçok

biyolojik fonksiyonun ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesi gibi önemli süreçlerde yer alan bir indolamin nörohormondur (Reiter ve ark., 2014).

Doğal bir nörotransmitterdir ve sentezlenmesi için esansiyel bir aminoasit olan, dışardan besinlerle alınan ve dolaşımında serbest halde bulunan triptofana ihtiyaç duymaktadır. Triptofan kan dolaşımıyla pinealosit hücrelerine alınarak önce 5-hidroksitriptofan'a hidrosile olup daha sonra 5 hidroksitriptamine (serotonin) dekarboksile olur. Oluşan serotonin ise hidroksiindol-o-metil transferaz enzimi aracılığıyla melatonine dönüştürülmektedir. Hidroksiindol-o-metil transferaz enzimi pineal bez dışında retina, gastrointestinal sistem hücreleri, ovaryum, lens, renal korteks, lenfosit, platelet, akciğerler, dalak, kalın bağırsak, kemik iliği, plasenta, monositler, timus gibi periferel doku ve hücrelerde bulunur ve bu durum melatoninin bu organlardan da sentezlendiğini kanıtlamaktadır. Pineal bezdeki dolaşımın zenginliği ve lipofilik yapısı sayesinde melatonin değişmemiş bir şekilde pasif diffüzyonla dolaşıma geçer ve vücut sıvılarına hızlı bir şekilde dağılır. Dolaşımla vücuda dağılan melatonin kan, beyin omurilik sıvısı, idrar, tükürük, lenf, amniyotik sıvı, sperm ve anne sütünden izole edilmiştir (Reiter ve ark., 2013; Guerrero-Gironés ve ark., 2020).

Melatonin üretimi karanlıkta artarken, ışık mevcudiyetinde azalmaktadır. Melatonin hormonu karanlıkta daha fazla salgılanması sebebiyle karanlık hormonu olarak da anılmaktadır. Melatoninin gündüz/gece dalgalanması doğrudan göz retinasından gelen noradrenerjik sinirsel uyarılara bağlı olarak değişmektedir. Gündüz saatlerinde norepinefrin salınımını azaltan retina fotoreseptör hücreleri hiperpolarizedir ve melatonin üretimi azalmaktadır. Karanlığın başlaması ile birlikte retinada oluşan uyarılar fotoreseptör hücrelerde nöral bir iletiye dönüştürülerek retinohipotalamik yol ile hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeklerine iletilmektedirler. Suprakiazmatik çekirdeklerden gelen bu sinirsel mesaj merkezi ve periferik sempatik sinir sistemi aracılığı ile pineal beze ulaşmaktadır ve pineal bez içindeki β 1- ve α 1- adrenerjik reseptörler artmaktadır. Sonuç olarak pineal bezin hücreleri uyarılarak melatonin sentezini başlatmaktadır. Melatonin sentezinin % 85'i

β 1- ve % 15' i ise α 1- reseptörlerinin uyarılmasıyla gerçekleşmektedir (Guerrero-Gironés ve ark., 2020; Claustrat ve Leston, 2015).

Vücudumuzdaki biyolojik mekanizmalar, zamana bağlı olarak hücrelerle başlayıp organizmanın tamamına yayılırlar. Bu değişimler 'biyolojik ritimler' olarak adlandırılmaktadır. Melatonin sentezi bilinen en önemli biyolojik ritimlerdenidir. Yetişkin bir bireydeki serum melatonin düzeyinde 24 saatlik zaman dilimi içerisinde düzenli iniş çıkışlar görülmektedir. Melatonin serumda gündüz saatlerinde 0-20 pg/ml gibi düşük bir oranda seyrederken gece saatlerinde bu değer artarak 20-200 pg/ml düzeyine yükselmekte ve ortalama 60-70 pg/ml olarak seyretmektedir. Melatonin seviyesi 20:00 ile 23:00 saatleri arasında artarak 01.00-05.00 arasında maksimum seviyeye ulaşır ve sabah 7:00 ile 9:00 saatleri arasında giderek azalmaya başlamaktadır. Bu üretim periyodunda % 80' i gece olmak üzere günde yaklaşık 30 mg melatonin sentezlenmektedir. Gün ışığının yanı sıra belirli şiddetteki yapay ışık da melatonin sentezini baskılamaktadır (Xie ve ark., 2017).

Melatonin konsantrasyonu ve kandaki maksimum değeri yaş, menstrual siklus, ergenlik, gelişim dönemi ve hastalık (çeşitli enfeksiyonlar, bağışıklık sistemi hastalıkları ve kanser) gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Melatonin sekresyonu yeni doğanda oldukça az miktardadır ve 6-8. haftalarda artarak 1-3 yaşlarında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (325 pikogram). Bu dönemden sonra melatonin seviyesinde %80 azalma (özellikle ergenlik dönemi öncesinde) meydana gelmekte ve çocukluk döneminin sonlarından 40'lı yaşlara doğru ortalama bir değere ulaşmaktadır. Son olarak ise 40-45 yaşından sonra melatonin üretiminde azalma olmaktadır ve bu azalma yaş ilerledikçe devam etmektedir (Hardelan, 2019).

Melatoninin yarı ömrü 3-45 dk arasında olup %60-70' i kanda albümin ve glikoproteinlere bağlı halde bulunmaktadır. Sentezlenip dolaşıma katılan melatoninin büyük bir kısmı (% 90'ından fazlası) karaciğerde geriye kalan kısım ise böbrekte metabolize edilmektedir. Melatonin karaciğerde hidroksilasyon ile 6-hidroksimelatoninine metabolize olduktan sonra sülfatla birleşerek 6-sulfatoksimeletonini meydana getirmektedir. Meydana gelen 6-sulfatoksimeletonin

melatoninin idrardaki temel metabolitidir. %1 den daha az bir kısmı ise değişmeden idrarla atılmaktadır. Dışkıda melatonin metabolitlerinin % 20'lik kısmı bulunurken, idrarda bu oran % 70'tir (Claustrat ve Leston, 2015; Xie ve ark., 2017).

2.3.1. Melatoninin Etki Alanları

2.3.1.1. Melatonin Reseptörleri

Melatoninin tüm etkinliğini, belirli hücrelerin zarlarına bağlı olan reseptörler üzerinden gerçekleştirdiği kabul edilmiştir. Melatonin reseptörleri hücre membranı ve çekirdekte bulunmaktadır. Hücre membranına bağlı bulunan melatonin reseptörleri MT1 (melatonin 1 reseptörü) ve MT2 (melatonin 2 reseptörü) olarak ikiye ayrılmıştır. Hücre çekirdeğinde ise retinoid Z ve O reseptörleri bulunmaktadır. MT1 reseptörleri hipofiz, cilt, hipotalamus, preoptik bölge, ovaryum, plasenta, testis, ince bağırsak, meme, karaciğer ve dalaktan ağığa çıkarılmaktadır. MT2 reseptörleri ise retinada yoğun olmak üzere, immün sistem, adipoz dokular ve meme bezlerinde bulunmaktadır. Ayrıca retinal yollar, serebellum ve ganglion hücreleri MT1 ve MT2 reseptörlerinin her ikisini birden bulundurmaktadırlar. Son zamanlarda keşfedilen MT3 reseptörü ise az sayıda hücrenin sitozolünde bulunmaktadır. Melatonin reseptörleri santral sinir sistemi, lenfosit, dalak, prostat hücreleri, lakrimal bez, preovuluar folikül, sperm, kolon mukozası, gastrointestinal sistem, kemik iliği, platelet, eritrosit ve lökosit gibi pek çok doku ve organda bulunmaktadır. MT1 reseptörleri sirkadiyen ritim, uyku, üreme, arteriyal vazokonstruksiyon, renal fonksiyon, hücre proliferasyonu, termoreğülasyon gibi metabolik mekanizmlarda rol alırken, MT2 reseptörleri sirkadiyen ritim, nöral termoreğülasyon, retinadan dopamin salınımı, arteriyal vazodilatasyon ve immün cevapta rol almaktadır. Melatonin aynı zamanda hücre içi alanlarda da etki göstermektedir. Sitozolik kalmoduline bağlanma sayesinde, yapısal proteinler gibi adenilat siklaz ve fosfodiesteraz gibi hedef enzimlerle etkileşime girerek kalsiyum sinyalizasyonunu doğrudan etkileyebilmektedir (Hardeland, 2009; Reiter ve ark., 2009).

2.3.1.2. Üreme Üzerine Etkileri

Melatonin salgılaması ile birçok türün üreme performansının etkilendiğine yönelik çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Gün içinde karanlık saat sayısı ve buna bağlı melatonin salgılanma saatlerindeki değişim üreme faaliyeti ve üreme dönemleri arasındaki bağlantıya aracılık etmektedir. Örneğin farelerde uzun karanlık dönemde fazla melatonin salgılanması erkeklerde testis ile ilgili gerilemeye ve dişilerde anöstrusa yol açmaktadır (Reiter, 1980).

2.3.1.3. Uyku Döngüsüne Etkisi

Uykunun düzenlenmesinde ışığa veya karanlığa maruz kalmak ana etkindir. Melatonin, uykunun gelmesini sağlayan ve belirli bir zamanda da uyanmayı sağlayan günlük bir ritmi bulunmaktadır. Ağız yolu ile alınan melatonin toplam uyku süresinden çok uyku isteği, uykunun başlaması ve kalitesine etki etmektedir, aynı zamanda melatonin kullanımının hipnotik etkileri vardır. Melatoninin insanlarda yatıştırıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. Uykusuzluk sorunu olan yaşlı bireylerde serum melatonin seviyeleri aynı yaştaki uykusuzluk sorunu olmayan bireylere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Xie ve ark., 2017; Garfinkel ve ark., 1995).

2.3.1.4. Endokrin Etkisi

Melatonin salınımının, gonadal hormonları etkilediği bilinmektedir. Hipotalamustaki gonadotropin salgılatıcı hormon üretimini ve lüteinleştirici hormon salgılanmasını inhibe etmektedir. Gonadotropin salgılatıcı hormon salgılanmasını azaltan opioid maddelerin salınımını da arttırarak dolaylı olarak etkilemektedir. Ayrıca melatonin prolaktin salınımını artırma, melanosit uyarıcı hormon salınımının inhibisyonu, vazopressinin günlük salınımını artırma, tiroid ve böbrek üstü bezi fonksiyonlarının inhibisyonu ve erkeklerde büyüme hormonu salınımını artırma gibi etkileri de vardır (Dollins ve ark., 1994).

2.3.1.5. Kardiyak Etkisi

Melatonin MT1 reseptörleri ile vazokonstriksiyona, MT2 reseptörleri ile vazodilatasyona aracılık etmektedir. Miyokard infarktüs ve ani ölüm riski bulunan koroner kalp hastalarında melatonin seviyeleri düşüktür. Bu hastalara melatonin hormonunun verilmesi kan basıncını normal aralığa düşürmekte ve kolesterol seviyesini de azaltarak aterosklerozis riskini azaltmaktadır. Böylece melatoninin kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir (Jiang ve ark., 2021).

2.3.1.6. Yaşlanma Üzerine Etkisi

Yaşlanma ile serum melatonin seviyelerindeki azalışa bağlı olarak melatoninin sirkadiyen ritmi bozulmaktadır. Yapılan rat ve fare çalışmalarında hayvan yaşlandıkça sirkadiyen ritmin bozulduğu, gündüz ve gece salınan serum melatonin miktarının eşit düzeye geldiği saptanmıştır. Yaş artışıyla melatonin üretiminin kademeli olarak azalması sağlık açısından son derece önemlidir. Serbest radikalleri etkisiz hale getirebilme özelliğinden dolayı melatonin çeşitli organlarda yaşlanma ile ortaya çıkan işlev bozukluklarını geciktirmektedir. Melatonin, serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının etkilerinin azaltarak veya bağışıklık sistemini güçlendirerek yaşlılığa karşı koruyucu bir etki sağlamaktadır (Rosales-Corral ve ark., 2012).

2.3.1.7. Kemik Doku Üzerine Etkisi

Melatonin kemik oluşumunu ve osteoblast farklılaşmasını arttırmakta ayrıca osteoklastlara da etki ederek kemiğin yeniden yapılandırılmasında önemli rol oynamaktadır. Melatoninin *in vitro* şartlarda kemiğin organik yapıtaşı olan tip I kollajen sentezinde artış sağladığı gösterilmiştir. Melatoninin kemik siyaloprotein yapımının artırılması ayrıca preosteoblast, osteoblast ve osteoblast-benzeri hücreler gibi kemiğe ait diğer protein belirteçlerinin çoğalması ve farklılaşması üzerinde önemli etkileri mevcuttur. Kemik dokuda melatoninin bir diğer etkisi ise dolaylı

antioksidan etkisi ve direkt serbest radikal temizleme etkisi yoluyla osteoklastlar üzerinde inhibisyona neden olarak kemik rezorpsiyonunu engellemesidir. Melatoninin osteoklast aktivitesini inhibe etme özelliği osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçlara ek olarak kullanılmasını sağlamıştır. Melatoninin kemik gelişimi ve metabolizması üzerindeki etkisini hem büyüme hormonu salınımı artırarak hem de paratiroid, kalsitonin ve östrojen gibi sistemik hormonlarla etkileşime geçerek gösterdiğini savunan çalışmalar bulunmaktadır (Cardinalio ve ark., 2003).

2.3.1.8. Antioksidan Etkisi

Melatonin direkt ve antioksidan enzimler aracılığı ile indirekt olarak antioksidan etki gösterebilen çok güçlü bir antioksidandır. Melatonin serbest radikalleri detoksifiye ederek bu ajanların oksidatif strese bağlı olarak dokularda oluşturduğu hasarı önlemektedir. Yapılan çalışmalarda melatoninin glutatyondan 5 kat, mannitolden 14 kat, E vitamininden 2 kat ve dimetil sülfoksitten ise 500 kat daha etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. Melatonin antioksidan enzim aracılı etkisini glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glutamil sistein sentetaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin uyarılmasıyla sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca melatoninin serbest radikal oluşumunu prooksidan etkilere sahip molekül yapılara dönüşmeyerek inhibe etmekte ve antioksidan sisteme katkı sağlamaktadır. Melatonin lipofilik özelliği sayesinde hücre organellerine kolaylıkla ulaşmakta ve bu sayede hücre zarı, organeller ve çekirdeği serbest radikallerin hasarından koruyarak antioksidan özelliğini organizmada geniş alanda gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalar melatoninin iskemi-reperfüzyon veya ilaç kullanımına bağlı intestinal veya gastrik hasarın, kemoterapik ajanların oluşturduğu multipl organ hasarının, ultraviole ışınlarıyla oluşan doku hasarının, kemoterapi veya radyoterapiye bağlı oluşan lezyonların gerilemesinde etkili bir rol oynadığını göstermektedir. Melatoninin diğer antioksidanlardan ayıran bir diğer özelliği ise yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süreli kullanımlarında toksik etki göstermemesi ve oksidan maddelerle etkileşimi sırasında oluşan ürünlerin de tamamen antioksidan özellik göstermesidir (Bhattacharya ve ark., 2019; Chitimus ve ark., 2020).

2.3.1.9. Antienflamatuar Etkisi

Melatoninin antienflamatuar özelliği antioksidan özelliğinden ileri gelmektedir. Melatonin nükleer faktör kappa ile stimüle edilen adezyon moleküllerini inhibe etmektedir. Bunun sonucda lökositlerin endotelden migrasyonu ve adezyonu azalmakta ve polimorfnükleer lökositlerin enflamasyon alanına göçü önlenmektedir. Ayrıca melatoninin proteolitik enzimler ve IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin oluşumunu engelleyerek doku hasarını önlediği saptanmıştır (Chitimus ve ark., 2020).

2.3.1.10. Onkolojik Etkisi

Melatonin akciğer, böbrek, prostat, mide ve bağırsak gibi belirli kanserlerin tedavisinde kemoterapinin etkinliğini arttırmak ve normal hücreler üzerindeki yan etkilerini azaltmak için kullanılan anti-neoplastik bir ajan olarak bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda melatoninin kanser hücrelerinin gelişiminde ihtiyaç duyulan faktörlerden linoleik asidin hücre içine girmesini engelleyerek ve kanser hücre aktivitesinin önemli belirtilerinden biri olan telomeraz enziminin aktivitesini azaltarak anti-kanser etki gösterdiği bildirilmiştir (Gil-Martin ve ark., 2019).

2.3.1.11. İmmün Sistem Üzerine Etkisi

Melatoninin immün sistem üzerinde lenfoid dokuların proliferasyonlarının, farklılaşmalarının ve fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler doğrudan reseptör aracılığıyla ya da steroid hormonları salınımındaki değişiklik üzerinden indirekt olarak gerçekleşmektedir. Melatonin sentezinin azalmasına bağlı olarak immün fonksiyonlarda bir azalma görüldüğü ve eksojen olarak uygulanan melatonin hormonunun ise immün cevabı tekrardan uyardığı gösterilmiştir. Melatonin monositlerden IL 1-2-6-12, Interferon- γ ve opioid peptidlerin salınımı artırmaktadır ve böylece CD4+ lenfositleri de aktifleştirmektedir. Doğal katil hücrelerinin etkinliğini arttıran IL-2 üretimini artması kanser ile mücadelede oldukça önemli etki sağlamaktadır (Mortezaee ve ark., 2019).

2.3.1.12. Anjiyogenez Üzerine Etkisi

Anjiyogenez önceden mevcut olan damarlardan yeni damarların gelişmesi anlamına gelmektedir. Bu süreçte öncelikle mezodermal kökenli hücrelerden farklılaşan endotel hücrelerinden damar oluşumu gerçekleşmektedir. Endotel hücrelerinden salınan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) anjiyogenezin ana düzenleyicilerinden biridir ve bilinen en güçlü pro-anjiyogenik faktördür. VEGF endotel hücrelerinin proliferasyonunu, migrasyonunu ve differensiasyonunu sağlamaktadır. Bu hücrelerin yaşam süresini uzatır ve yara iyileşmesi gibi doku onarımı süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Melatonin hem endotel hücrelerinin progenitör hücreleri olarak bilinen fibroblast proliferasyonunu uyararak hem de anjiyogenezde önemli rol oynayan VEGF gibi büyüme faktörlerinin salınımını artırarak proanjiyogenik aktiviteyi desteklemektedir. Melatoninin sadece fibroblastların proliferasyonunu uyarmakla kalmaz anjiyogenezde önemli faktörlerden biri olduğu bilinen TGF- β 'yı da artırmaktadır (Ma ve ark., 2020).

2.3.1.13. Diş Hekimliği ve Melatonin

Melatoninin diş germlerindeki odontojenik hücrelerin düzenlenmesi ile fizyolojik diş gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir. Diş gelişimi sırasında çeşitli insan ve fare diş germlerinde ve çevresindeki osteoblastlarda melatoninin en güçlü transmembran reseptörü olan Mel1aR'nin eksprese edildiğini saptamışlardır. Ayrıca, melatoninin in vitro olarak insan osteoblastlarındaki differansiasyonu arttırdığı ve in vivo olarak farelerde kemik formasyonunu uyardığı gösterilmiştir. Melatoninin gelişen diş morfolojisini korumak için diş germlerindeki odontojenik hücrelerin proliferasyon, differansiasyon ve/veya fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol aldığı düşünülebilir. Ayrıca, ameloblastların sirkadyen ritmi düzenleyerek yavaş bir şekilde mine prizmalarını oluşturduğu da bilinmektedir (Vaseenon ve ark., 2021).

Melatonin, enflamasyonla mücadelede ve ağız boşluğundaki ülserlerin iyileşmesini hızlandırmak amacıyla protezle indüklenen stomatit, gingivitis, diş çekimi nedeniyle ortaya çıkan lezyon ve ülserasyonların iyileşmesi, oral kavitedeki

cerrahi sonrası travma ve lazer kullanılarak yapılan vestibular plastik operasyonları da kapsayan çeşitli oksidatif stres hastalıklarında doğrudan oral mukozaya uygulanabilmektedir. Melatoninin sağlıklı veya diabetik ratlarda oksidatif stresi, osteoklastik aktiviteyi ve alveoler kemik kaybını azalttığı bildirilmiştir. Melatoninin, osteoblastları klorheksidin hasarına karşı koruyarak periodontitis ve peri-implantitis tedavisinde kullanılabilceği bildirilmiştir. Kemik iliği ve periodontal ligament mezenşim hücrelerinde zoledronik asite karşı koruyucu etkisi *in-vitro* olarak kanıtlanmıştır. İmmediate dental implantlarda lokal melatonin uygulamasının minimal kemik yıkımına yol açtığı ve implant stabilitesini arttırdığı savunulmuştur. Lokal olarak uygulanmış melatoninin diş çekimine bağlı oksidatif stres artışını geri çevirdiği bildirilmiştir. Melatoninin sıçan dental papilla hücrelerinin farklılaşmasını uyardığı ve çoğalmasını baskıladığı ayrıca dentin oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Sistemik olarak verilen melatoninin histolojik olarak pulpada meydana gelen hasarı düzelttiğini ve nekrozu azalttığını bulunmuştur (Kose ve ark., 2016; Arabacı ve ark., 2015).

2.4. Sıçanlar

Sıçanlar pek çok fizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda kullanılmış deney hayvanlarıdır. Kolay üreyebilmeleri, kullanımını ve bakımının kolay olması, ekonomik olması, kısa sürede genetik açıdan benzer özellikte gruplar oluşturulabilmesi ve genetik haritası çıkarılmış olması açısından çalışmalarda tercih edilmektedirler (Soylu, 2012; Gibbs ve ark., 2004; Dammaschke, 2010).

Sıçanların pulpa ve periodontal dokuları insanların pulpa ve periodontal dokularına benzerlik göstermektedir. Oral mikroflorası diğer deney hayvanlarına göre insan oral mikroflorasına daha yakındır. Endodontik çalışmalara yanında ortodontik, periodontal, dişlerin embriyogenezis safhalarının incelenmesi ve diş pulpasının koruyucu tedavisini içeren çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır (Oikawa ve ark., 2011; Duarte ve ark., 2010).

Sıçanlar genellikle gece ve sabaha doğru daha aktiftirler. Soylar arasında farklılık göstermekle birlikte saldırgan davranışlarda bulunmazlar. Meraklı hayvanlardır ve eğitilebilirler. Yeni ortamlara uyum sağlayabilirler ancak 3-7 günlük alışma süresine ihtiyaç duyulabilir. Koku alma duyuları gelişmiştir. Albino ratların görme duyuları çok gelişmemiştir ve hareket eden cisimleri iyi algılayamazlar (Soylu, 2012).

Sıçanlar kemirgendir ve keser dişleri iyi gelişmiştir. Alt dudakları tamdır ve üst dudaklarında yarık bulunur. Premolar ve kanin dişleri bulunmaz. Her yarım çenede üç adet molar dişi vardır. Diş formülü 1003 (1 adet keser, kanin ve premolar dişleri yok, 3 adet molar; her yarım çene için) şeklindedir ve toplam 16 dişe sahiptir. Keser ve molarlar arasında diastema bulunur. Bu boşluk yanak tarafından doldurulur ve arkadaki yanak boşluğunu kapatarak kemirme mekanizmasında sınır oluşturur. Sıçanlar omnivordur (hem etle hem de otlarla beslenen), yemlerinde bu duruma dikkat edilmelidir. İyi gelişmiş enzimsel sindirimi ve sekumu sebebiyle etkili fermentatif sindirim yapabilirler (Soylu, 2012).

2.5. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT)

Mikro-BT ilk olarak 1982 yılında Elliott ve Dover tarafından kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yıllardan günümüze kadar gelen süreçte Mikro-BT sistem ve teknolojisi çok gelişmiştir ve diş hekimliği araştırmalarında sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Mikro-BT cihazında değerlendirilecek obje genellikle sabit bir x-ışını kaynağı ve x-ışını görüntüleme dizisi içeren bir sistem içinde vertikal eksen etrafında döndürülerek farklı açılardan taranmaktadır. Görüntüleme işleminin yıkıcı olmaması, noninvaziv olması, aynı örneğin iç özelliklerinin birçok kez taranabilir olması ve taramadan sonra örneğe ilave biyolojik ve mekanik testler de uygulanabilmesi bu sistemin avantajlarından. Elde edilen veriler, üç veya iki boyutlu olarak kaydedilebilmekte ayrıca nitel veya nicel analizler için kullanılabilirler (Swain ve Xue, 2009).

Mikro-BT ile dişler ve kemikler gibi mineralleşmiş dokular, biyomateryaller, seramik ve polimerler gibi materyaller incelenebilmektedir. Kontrast madde kullanılarak akciğer gibi yumuşak dokular da görüntülenebilmektedir. Mikro-BT sistemlerinin geliştirilmesiyle, küçük canlı hayvanların *in-vivo* görüntülenmesi de mümkün hale gelmiştir. Diş hekimliğinde Mikro-BT kullanım alanları; mine kalınlığının ölçülmesi, oluşmuş rğn yerinin ve miktarının belirlenmesi, rğn pulpayla ilişkisinin değerlendirilmesi, kök kanal morfolojisi ve kök kanal şekillendirmesinin değerlendirilmesi, kronofasial iskeletsel yapılar ve gelişimi, biyomekanik çalışmaları, doku mühendisliği, dişlerin mineral yoğunluğu, sonlu elemanlar analiz çalışmaları, implant ve implant çevresindeki kemiğin incelenmesinde kullanılmaktadır. Kök kanal preperasyonu işlemi sonucu kanal morfolojisindeki değişimler, kanalın yüzey alanı ve hacmi, uzaklaştırılan dentin hacminin miktarı, kök kanalının çapı, şekillendirilmiş yüzey, kök kurvatürü, kanal transportasyonu, yapı modeli indeksi, kütle merkezinin transportasyonu, kanal düzleştirme oranı, dentin mikro çatlağı oluşumu, tekrarlayan kök kanal tedavileri için kullanılan eğelerin verimliliği değerlendirilebilmektedir. Ancak Mikro-BT ile örneklerin görüntülenmesi uzun süren bir işlemdir ve maliyeti yüksektir (Landis ve Keane, 2010; Irie ve ark., 2018).

Mikro-BT sisteminde, mikrofokal X-işını kaynakları ve yüksek çözünürlüklü dedektörler kullanılmaktadır. Çözünürlük, voksel (hacim elemanı) ile ifade edilmektedir. Mikro-BT, uzaysal çözünürlük ile 1×10^{-6} mm³ voksel boyutuna denk gelen, 10 μ m'den daha küçük bir uzaysal çözünürlüğe ulaşmaya izin vermektedir . Mikro-BT taramasında taranan nesne kendi etrafında belirli bir dar açıyla toplamda 180° ya da 360° dönerken örnekten alınan seri kesitsel görüntülerin birleştirilerek rekonstrükte edilmesi ile 3 boyutlu modeller oluşturulmaktadır. Nesnenin dönüşü sırasında gönderilen X-işını demetlerinden oluşan gölge görüntüler TIF (Tagged Image File) formatında kaydedilmektedir . Elde edilen 16 bitlik gölge görüntülerin sayısı, nesnenin her dönüşünde kaç derecelik açı ile hareket ettiği ile ters orantılıdır. Elde edilen gölge görüntü sayısı arttıka oluşan üç boyutlu görüntünün kalitesi de artmaktadır (Sousa-Neto ve ark., 2018; Elashiry ve ark., 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Sıçanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Geri Dönüşümsüz Pulpitis ve Apikal Periodontitis Modellerinde Melatoninin Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmasını gerçekleştirmek için gerekli olan “Deney Hayvanları Uygulama Sertifikası” programına katılım sonrası bu alanda uygulama yeterlilik belgesi temin edildi (Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deneyleri Hayvanları Kuulanım Sertifikası No:5062)

Bu çalışma Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışma protokolleri için onaylar Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan alındı (No: 2016/2/3; 2019/02/59).

3.1. Pulpitis Modelinde Melatoninin Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 24 adet 200-250 gr ağırlığında erişkin Wistar albino cinsi dişi ve erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney hayvanları 22-24 °C sıcaklık ve %55-60 nem sağlanan ortamda, 12 saatlik bir aydınlık/karanlık döngüsüyle, yiyecek ve su kısıtlamasının olmadığı, her kafeste 8 hayvan olacak şekilde, kafesler içerisinde Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda barındırıldı. Deney hayvanları %21 protein içeren hazır standart pelet yem ile bazal miktarda beslendi (ad libitum) ve içme suyu olarak şehir şebeke suyu verildi.

24 adet yetişkin dişi ve erkek sıçanın üst çene sol orta kesici dişi seçildi, hayvanların canlı ağırlıkları ölçülerek numaralandırıldı ve anestezi dozları hesaplandı. Deney hayvanlarına anestezi için periton içine (intraperitoneal:IP) enjekte edilen 100 mg/kg Ketamin (Ketamin %10, Bremer Pharma GmbH, Almanya)

ve 10 mg/kg Xylazin (Xylazinbio 2%, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) uygulandı ve anestezi derinliği parmak sıkıştırma testi ile kontrol edildi. Anesteziyi takiben sıçanların ağız içleri ile üst kesici dişleri iyodin solüsyonu ile dezenfekte edildi. Çalışmada kullanılacak aletler daha önceden otoklavda steril edildi.

3.1.2. Deney Grupları

Deney hayvanları (n=24) her grupta 8 adet olmak üzere rastgele 3 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu: Sıçan dişlerine herhangi bir işlem uygulanmadı ve bir doz IP etanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) uygulandı.

Pulpitis grubu: Sıçan üst sol orta kesici dişlerinde pulpa ekspozu oluşturularak semptomatik pulpitis oluşumu indüklendi ve bir doz IP etanol uygulandı.

Pulpitis + Melatonin grubu: Sıçan üst sol orta kesici dişlerinde pulpa ekspozu oluşturularak semptomatik pulpitis oluşumu indüklendi ve bir doz IP melatonin (10 mg/kg, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) uygulandı.

3.1.3. Deneysel Geri Dönüşümsüz Pulpitis Modelinin Oluşturulması

“Pulpitis” ve “Pulpitis + Melatonin” gruplarındaki 16 adet sıçanın üst sol orta kesici dişlerinin kronları, serum fizyolojik soğutmalı düşük devirli döner alete (35.000 devir/dk) takılan ISO 010 (NTI-Kahla GmbH, Almanya) çelik rond frezler ile uzaklaştırılarak pulparları ekspoz edildi. Kök kanallarının açıklığı 10 numaralı K tipi eğe (Thomas, Bourges Cedex, France) ile kontrol edildi.

Escherichia coli O111: B4'ten (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) elde edilen beş mikrolitre LPS, 10 mg/ml nihai konsantrasyonda fosfat tamponlu salin içinde seyreltildi. LPS çözeltisi, kanal açıklıkları geçici bir dolgu malzemesi ile kapatılmadan önce ekspoz pulpa dokusuna uygulandı.

3.1.4. Melatonin Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması

Toz halindeki saf melatoninden hassas terazide (GR-200, A&D Company, Tokyo, Japonya) 35 mg tartılarak deney tüpüne aktarıldı. Tüpün içerisine mikro pipet (ISOLAB Laborgeräte GmbH, Wertheim, Almanya) ile ölçülen 0.35 ml saf etanol (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) eklendi ve vorteks cihazında (Zx3 Velp Scientifica, Usmate (MI), Italy) melatonin etanol içerisinde çözünene kadar karıştırıldı. Tüpün içine 3,15 ml distile su ilave edildi ve tekrar vorteks cihazına alınarak karıştırılarak 1 ml hacimde 10 mg melatonin içeren 3,5 ml solüsyon elde edildi. Hazırlanan bu solüsyon melatonin grubundaki sıçanların ağırlıklarına göre (10mg/kg) bekletilmeden tek doz IP olarak verildi. IP uygulamalar 0.45x13 mm iğneye sahip insülin enjektörleri (Hayat Tıbbi Aletler, İstanbul, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Pozitif kontrol gruplarındaki sıçanlara ise deney grubundaki hayvanlara verilen melatonin ile eşdeğer hacimde % 10'luk IP etanol uygulandı.

3.1.5. Hayvanların Ötenazisi

Hayvanlar 24 saat sonunda %10'luk Ketamin ve %2'lik Xylazin anestezisini takiben sakrifiye edildi ve gövde kanı örnekleri toplandı. Ötanazi yöntemi olarak anestezi altında dekapitasyon yöntemi uygulandı.

3.1.6. Örneklerin Toplanması

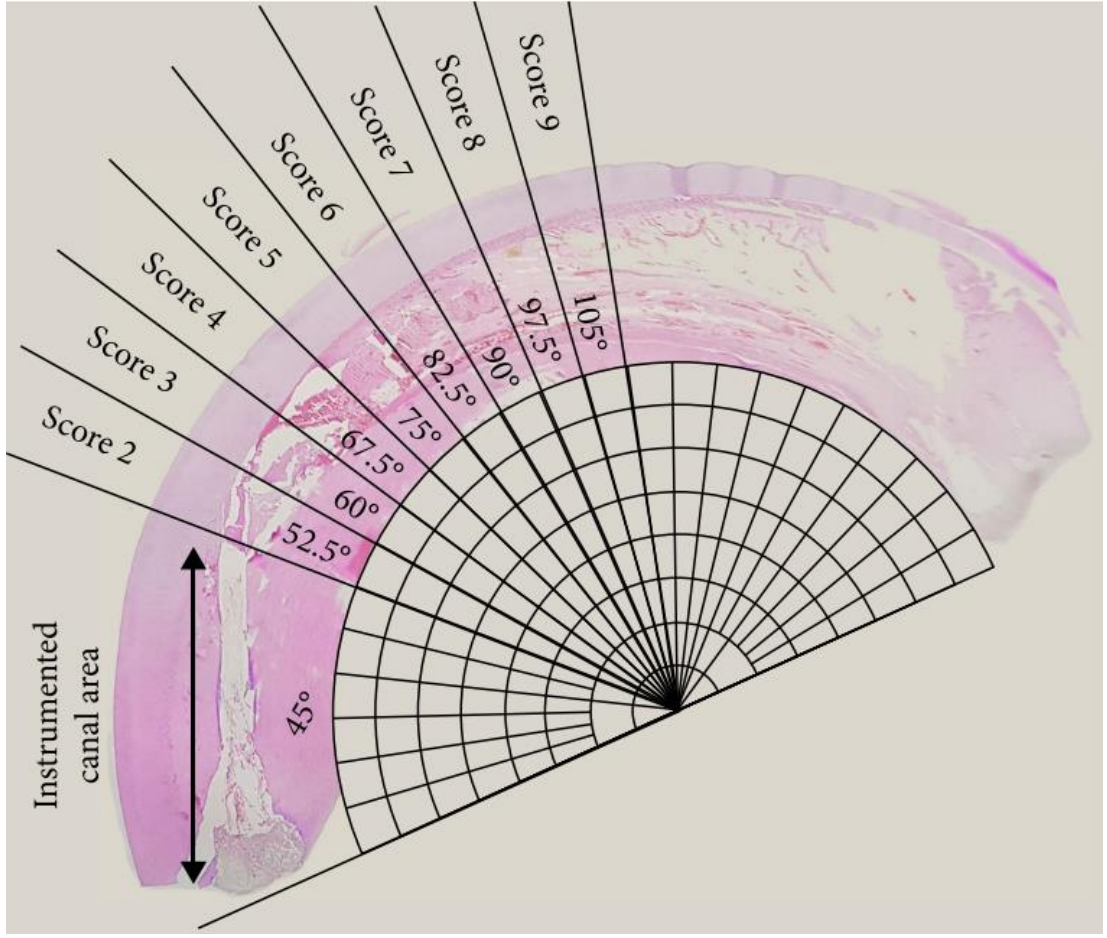
Kontrol grubundaki sağlam kesici dişler ve pozitif kontrol grubundaki semptomatik pulpitisli dişler çekildi ve pulpa örnekleri toplandı. Kan örnekleri serum ayırıcı tüplere alındı. 1500 g'da 10 dakika santrifüjlendikten sonra serumlar ayrıldı ve analize kadar -20 °C'de saklandı. Çekilmiş kesici dişlerin açık olan kök uçlarından gelen kan, steril bir pamuk pelet ile toplandı. Pulpa kanının emilmesini sağlamak için pamuk pelet kök ucunda 45 saniye tutuldu. Pamuk peletler, 1 ml steril salin içeren heparin kaplı tüplere konuldu. Numuneler, analize kadar 20 °C'lik sıcaklıkta tutuldu. Numuneler çözülerek 4 °C sıcaklıkta 10 dakika 12000 g'de iki kez santrifüjlendi.

3.1.7. Biyokimyasal Analiz

Serum ve pulpa örneklerindeki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 konsantrasyonları, ticari olarak temin edilebilen ratlara özgü ELISA test kitleri ile belirlendi. Deneyler, Yakın Doğu Üniversitesi'nin Hayvan Hastanesi Teşhis Laboratuvarında yapıldı. Üreticinin talimatları izlenerek analizler yapıldı. Testler için otomatik bir mikrotitre yıkayıcı (MW-12A Mikroplaka yıkayıcı, Mindray, Shenzhen, Çin) ve bir mikrotitre plaka okuyucu (MR-96A Mikroplak okuyucu, Mindray, Shenzhen, Çin) kullanıldı. Kan örneklerinde TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonları pg/mL, MMP-1 ve MMP-2 konsantrasyonları ng/mL olarak ifade edildi. Pulpa numunelerindeki TNF-a ve IL-1 β konsantrasyonları pg/mg toplam protein olarak ifade edildi ve MMP-1 ve MMP-2 konsantrasyonları ng/mg toplam protein olarak ifade edildi. Pulpa örneklerinde protein miktar tayini için Bradford protein tayini yöntemi kullanıldı.

3.1.8. Histopatolojik Değerlendirme

Cerrahi olarak çıkarılan dişler diseke edildi ve %10 nötr tamponlu formalin solüsyonunda sabitlenerek Yakın Doğu Üniversitesi'nin Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'na götürüldü. Örnekler %5 nitrik asit (pH 7.4) kullanılarak demineralize edildi ve parafine gömüldü. Örnekleri içeren parafin bloklar, ortalama 4-5 mikrometre kalınlığında seri olarak kesitlere alındı. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan örnekler histopatolojik değerlendirmeler için ışık mikroskobu (Zeiss-Axio Scope A1, Carl Zeiss, Göttingen, Almanya) altında incelendi. Her diş için her biri 4 alan içeren iki adet histolojik slayt değerlendirildi. Histomorfolojik parametreler; enflamatuar reaksiyonun uzantısı, enflamatuar infiltratın yoğunluğu ve pulpa nekrozunun uzantısı şeklinde standart bir skorlama sistemine göre sınıflandırıldı. Diş arkının iç eğrisine teğet olacak şekilde yarım daire yerleştirildi. Şekillendirilmemiş kök kanalı Şekil 1'de görüldüğü gibi skorlama sistemini oluşturan eşit açısız bölgelere (45-105 derece) bölündü. Histopatolojik değerlendirmeler kör ve kalibre edilmiş deneyimli bir patolog tarafından yapıldı.



Şekil 1. Sıçanların üst keser dişlerinde histopatolojik incelemede kullanılan skorlama sistemini oluşturan eşit açısız bölgeler

Tablo 1.

Değerlendirme için kullanılan parametreler ve skorlar

Parametre	Skor
İnflamatuar reaksiyonun konumu	Skor 1- Yok Skor 2- Pulpa boşluğunun 45 ila 52,5 derecesiyle sınırlıdır Skor 3- Pulpa kavitesinin 52,5 ila 60 derece arasında yer alır Skor 4- Pulpa boşluğunun 60 ila 67.5 derecesine dahil Skor 5- Pulpa kavitesinin 67.5 ila 75 derece arasında yer alır Skor 6- Pulpa boşluğunun 75 ila 82,5 derecesine dahil Skor 7- Pulpa kavitesinin 82.5 ila 90 derecesine dahil Skor 8- Pulpa boşluğunun 90 ila 97.5 derecesine dahil Skor 9- Pulpa boşluğunun 97.5 ila 105 derece arasında yer alır
İnflamatuar infiltratın yoğunluğu	Skor 1- 0 ila 20 inflammatuar hücre Skor 2- 20 ila 40 inflammatuar hücre Skor 3- 40 ila 60 inflammatuar hücre Skor 4- 60'tan fazla inflammatuar hücre
İnflamatuvar ödem	Skor 1- Yok Skor 2- Mevcut
Pulpa nekrozunun konumu [45 ila 105 derece aralığı]	Skor 1- Yok Skor 2- %1-%20 nekrotik alan Skor 3- %20-%30 nekrotik alan Skor 4- %30'dan fazla nekrotik alan

3.1.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego; CA; ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Serum ve pulpa dokularındaki TNF- α ve IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 seviyelerinin karşılaştırılması, tekrarlanan ölçümlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapıldı. Grup ortalamaları arasındaki farklılığın belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Tukey testi kullanıldı. 0.05'in altındaki P değerleri anlamlı kabul edildi.

3.2. Apikal Periodontitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

3.2.1. Deney Hayvanları

Apikal periodontitis modelinde melatoninin antienflamatuvar etkilerinin araştırılması için 24 adet 200-250 gr ağırlığında erişkin Wistar albino cinsi dişi ve erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney hayvanları 22-24 °C sıcaklık ve %55-60 nem sağlanan ortamda, 12 saatlik bir aydınlık/karanlık döngüsüyle, yiyecek ve su kısıtlamasının olmadığı, her kafeste 8 hayvan olacak şekilde, kafesler içerisinde Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda barındırıldı. Deney hayvanları %21 protein içeren hazır standart pelet yem ile bazal miktarda beslendi (ad libitum) ve içme suyu olarak şehir şebeke suyu verildi.

24 adet yetişkin dişi ve erkek sıçanın mandibular sol birinci molar dişi seçildi, hayvanların canlı ağırlıkları ölçülerek numaralandırıldı ve anestezi dozları hesaplandı. Deney hayvanlarına anestezi için periton içine (intraperitoneal:IP) enjekte edilen 100 mg/kg Ketamin (Ketamin %10, Bremer Pharma GmbH, Almanya) ve 10 mg/kg Xylazin (XylazinBio 2%, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) uygulandı ve anestezi derinliği parmak sıkıştırma testi ile kontrol edildi. Anesteziyi takiben sıçanların ağız içleri ile mandibular sol birinci molar dişleri iyodin solüsyonu ile dezenfekte edildi. Çalışmada kullanılacak aletler daha önceden otoklavda steril edildi.

3.2.2. Deney Grupları

Deney hayvanları (n=24) her grupta 8 adet olmak üzere rastgele 3 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu: Sıçan dişlerine herhangi bir işlem uygulanmadı ve bir doz IP etanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) uygulandı.

Apikal periodontitis grubu: Sıçan alt sol birinci molar dişlerinde pulpa ekspozu oluşturularak üç hafta süresince ağız ortamına açık bırakıldı ve apikal periodontitis oluşumu indüklendi. Deney süresince her gün bir doz IP etanol uygulandı.

Apikal periodontitis + Melatonin grubu: Sıçan alt sol birinci molar dişlerinde pulpa ekspozu oluşturularak üç hafta süresince ağız ortamına açık bırakıldı ve apikal periodontitis oluşumu indüklendi. Deney süresince her gün bir doz IP melatonin (10 mg/kg, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) uygulandı.

3.2.3. Apikal Periodontitis Modelinin Oluşturulması

“Apikal periodontitis” ve “Apikal periodontitis + Melatonin” gruplarındaki 16 adet sıçanın mandibular sol birinci molar dişlerinin pulpa odaları, sabit irrigasyon altında yüksek hızlı rotasyonda ¼ boyutlu yuvarlak çelik bir frez ile ekspoz edildi. Pulpa odaları, periapikal lezyonların oluşmasına izin vermek için 3 hafta (21 gün) herhangi bir restorasyon yapılmadan ağız ortamına açık bırakıldı.

3.2.4. Hayvanların Ötenazisi

Hayvanlar 21 günün sonunda %10'luk Ketamin ve %2'lik Xylazin anestesisini takiben sakrifiye edildi ve gövde kanı örnekleri toplandı. Ötanazi yöntemi olarak anestezi altında dekapitasyon yöntemi uygulandı.

3.2.5. Örneklerin Toplanması

Son melatonin dozundan 24 saat sonra hayvanlar dekapite edildi. TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonları, ticari olarak temin edilebilen sıçanlara özgü ELISA test kiti ile belirlendi. Toplanan kan örnekleri, alındıktan sonra 1 saat içinde 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Serumlar analizlere kadar 20°C'de saklandı. Mandibulalar cerrahi olarak çıkarıldı, diseke edildi ve mikro-CT analizi için %10 nötr tamponlu formalin solüsyonunda sabitlendi.

3.2.6. Mikro-BT Taraması

Sıçan mandibula örneklerini taramak için yüksek çözünürlüklü, masaüstü Mikro-CT sistemi (Bruker Skyscan 1275, Kontich, Belçika) kullanıldı. Tarama

koşulları şunlardı: 100 kVp, 100-mA, 0,5-mm Al/Cu filtresi, 9,1 lm piksel boyutu ve 0,2 adımda dönüş. Ring artefaktlarını en aza indirmek için, her taramadan önce dedektörün hava kalibrasyonu yapıldı. Her numune, 5 dakikalık bir entegrasyon süresi içinde 360° döndürüldü. Ortalama tarama süresi 2 saat civarındaydı. Diğer ayarlar, açıklandığı gibi ışın sertleştirme düzeltmesini ve önceki taramaya ve dişlerin rekonstrüksiyonuna dayalı olarak üreticinin talimatlarına göre optimum kontrast limitlerinin girilmesini içeriyordu.

3.2.7. Mikro-BT Görüntü Analizi

NRecon yazılımı (ver. 1.6.10.4, SkyScan) ve CTAn (ver. 1.8.0.4, SkyScan) örneklerin görselleştirilmesi ve nicel ölçümleri için kullanıldı. Yeniden yapılandırma parametreleri için, halka artefakt düzeltmesi ve yumuşatma sifıra sabitlendi ve ışın artefaktı düzeltmesi %40'a ayarlandı. NRecon yazılımı (Skyscan) kullanılarak, tarayıcı tarafından elde edilen görüntüler, numunenin 2 boyutlu kesitlerini gösterecek şekilde yeniden yapılandırıldı. Toplam 1023 adet kesitsel görüntü micro-BT'de tüm hacimden yeniden oluşturuldu. Ayrıca, micro-BT ölçümünün 3 boyutlu hacimsel görselleştirmesi, analizi ve alan/hacim için The CTAn (Skyscan, Aartselaar, Belçika) yazılımı kullanıldı. Tüm rekonstrüksiyonlar, 75 Hz'de 2048-2560 çözünürlüğe ve 11.9 bitte çalıştırılan 0.17 mm nokta aralığına sahip 21,3 inç düz panel renkli aktif matris TFT tıbbi ekranda (NEC MultiSync MD215MG, Münih, Almanya) yapıldı. Yeniden yapılandırmadan sonra, CTAn yazılımı kullanılarak enterpolasyonlu region of interest (ROI) bölgesi, sıçan örneğinin birinci molar dişlerinin altındaki tüm örnekten kemik rezorpsiyon boşluklarını içerecek şekilde çizildi. Molar dişlerin kökleri ve mandibular kanallar ROI bölgesinden çıkarıldı (Şekil 1). Her numunenin 2D ve 3-D mikro mimarisini analiz etmek için CTAn yazılımının tüm özellikleri kullanıldı.

Kemik rezorpsiyon boşluklarını ayırt etmek için tüm numune için uygun bir eşik değeri gerekli olduğu için 0 ile 255 değerleri arasındaki (gri değerlerde) en uygun alt ve üst sınırlar belirlendi. İki boyutta alanların ve üç boyutta hacimlerde hesaplanması için orijinal gri tonlamalı görüntülerde gürültü azaltma için Gauss alçak geçiren filtre ile işlendi ve otomatik segmentasyon eşiği kullanıldı. Yalnızca

siyah/beyaz piksellerde oluşan bir görüntüsünü elde etmek için gri seviyeleri aralığının işlenmesini gerektiren global bir eşikleme (ikilileştirme) işlemi kullanıldı. Ardından, her kesit için ayrı ayrı, hacimlerin hesaplanmasına izin vermek için tamamen tek bir nesne içerecek şekilde bir ROI seçildi.

Her numunede, numunenin tüm hacmi boyunca üç yapısal parametre ölçüldü: rezorpsiyon boşluğunun toplam yüzey alanı, toplam rezorpsiyon boşluğu hacmi ve kemikteki maksimum demineralizasyon derinliği hesaplandı. Demineralizasyon derinliği, kök apekslerinin çevresinden kemikte görülen en uzak yoğunluk farkı noktasına dik olan mesafe ölçülerek belirlendi. Tüm rekonstrüksiyon ve ölçüm görüntüleri 18 yıllık deneyime sahip bir dentomaksillofasiyal radyolog tarafından yapıldı.

3.2.8. Histopatolojik Değerlendirme

Örneklerin histopatolojik değerlendirmesi Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. Örnekler %5 nitrik asit (pH 7.4) ile demineralize edildi, parafine gömüldü ve daha sonra meziodistal yönde 4 µm kalınlığında seri kesitler kesildi ve histolojik analizler için kullanıldı. Mezial kök dentinini, apikal foramenleri ve birinci mandibular molarların periapikal dokularını içeren bölümler seçildi. Seçilen kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı ve ışık mikroskobu altında incelendi (Zeiss-Axio Scope A1, Carl Zeiss, Göttingen, Almanya).

3.2.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego; CA; ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm sonuçlar ortalama ± standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Veri grupları, iki yönlü bir varyans analizi (iki yönlü ANOVA) ve ardından Sidak'ın çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Pulpitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

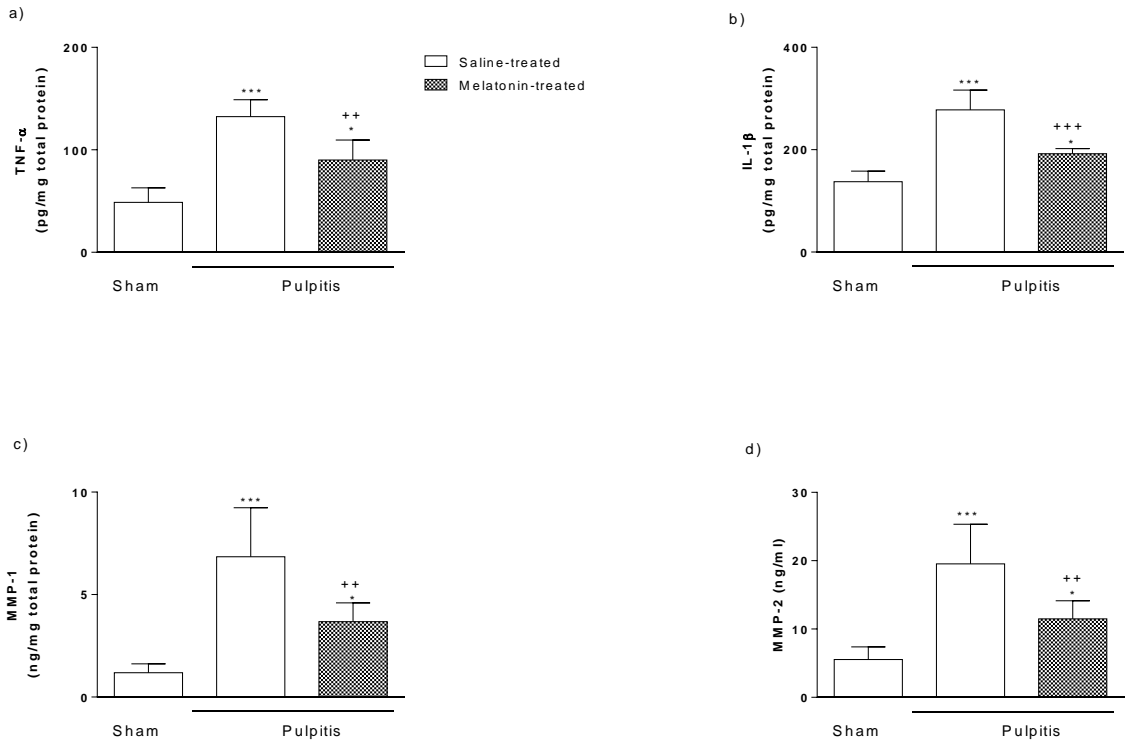
Serum ve pulpa dokularındaki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 seviyeleri pulpitis grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulundu (p <0.01-0.001) (Tablo 1, Tablo 2 ve Şekil 2). Bununla birlikte, pulpitis + melatonin grubunda bu seviyeler, pulpitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldı (p <0:05-0:001).

Tablo 2: Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait serum a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 e) MMP- 3ve MMP-8 değerleri. (Ortalama değer \pm standart hata, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 Kontrol grubuna göre, + p<0.05 ++ p<0.01 +++ p<0.001 pulpitis grubuna göre karşılaştırmalar.)

	Sham	Pulpitis	Pulpitis-Melatonin
TNF- α (pg/ml)	7.66 \pm 1.57	19.63 \pm 1.41 ***	14.08 \pm 1.17 *, +
IL-1 β (pg/ml)	17.85 \pm 1.81	56.15 \pm 6.25 ***	32.34 \pm 1.89 *, ***
MMP-1 (ng/ml)	6.65 \pm 0.58	16.89 \pm 1.84 ***	11.80 \pm 0.78 *, +
MMP-2 (ng/ml)	12.20 \pm 0.92	25.75 \pm 2.74 ***	17.99 \pm 0.74 *, **

Tablo 3: Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait pulpa a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 değerleri. (Ortalama değer \pm standart hata, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 Kontrol grubuna göre, + p<0.05 ++ p<0.01 +++ p<0.001 pulpitis grubuna göre karşılaştırmalar.)

	Sham	Pulpitis	Pulpitis-Melatonin
TNF- α (pg/ml)	48.70 \pm 5.79	132.40 \pm 7.38 ***	90.08 \pm 7.98 **, +
IL-1 β (pg/ml)	137.5 \pm 9.3	277.8 \pm 17.3 ***	192.2 \pm 4.5 *, ***
MMP-1 (ng/ml)	1.19 \pm 0.19	6.85 \pm 1.07 ***	3.68 \pm 0.37 *, **
MMP-2 (ng/ml)	5.53 \pm 0.76	19.54 \pm 2.59 ***	11.49 \pm 1.09 *, **



Şekil 2: Sıçanlarda deneysel pulpitis modelinde tüm gruplara ait pulpa a) TNF- α ve b) IL-1 β c) MMP-1, d) MMP-2 . (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 Kontrol grubuna göre, + p<0.05 ++ p<0.01 +++ p<0.001 Pulpitis grubuna göre karşılaştırmalar.)

Histopatolojik bulguların ölçümü Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.

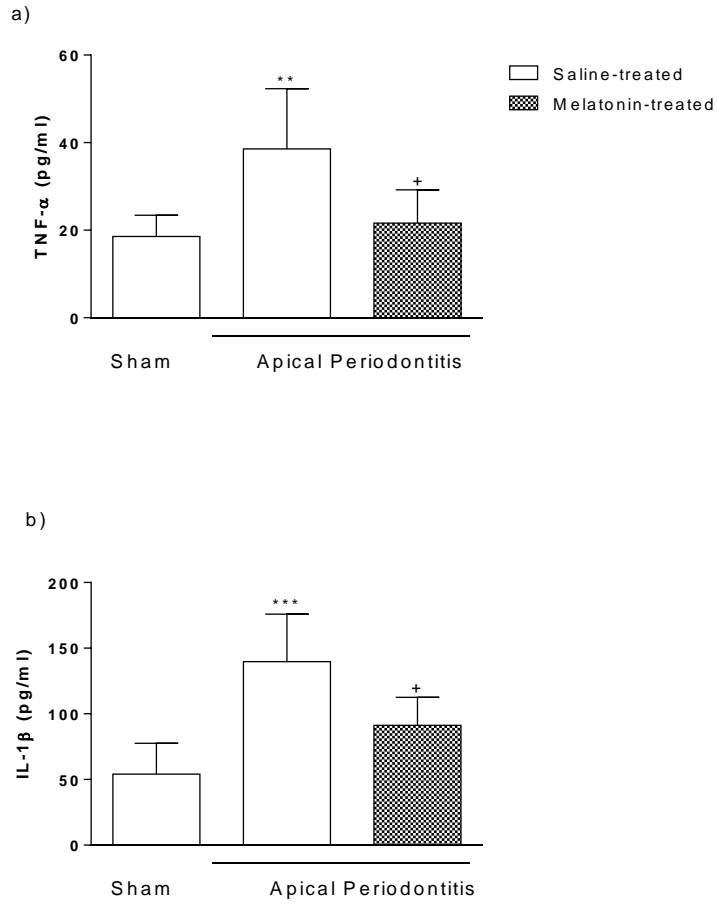
Histomorfolojik Skorlar (%)

Parametreler	Skor	Kontrol (n=8)	Pulpitis (n=8)	Pulpitis+ Melatonin (n=8)
Enflamatuar reaksiyonun konumu	1	100	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	12.5
	4	0	0	37.5
	5	0	87.5	50
	6	0	12.5	0
	7	0	0	0
	8	0	0	0
	9	0	0	0
Enflamatuar infiltratın yoğunluğu	1	100	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	50
	4	0	100	50
Enflamatuar ödem	1	100	0	0
	2	0	100	100
Pulpa nekrozunun konumu (45 ile 105 derece aralığı)	1	100	0	0
	2	0	0	0
	3	0	62.5	75
	4	0	37.5	25

Pulpitis grubunda dental pulpa ağız ortamına maruz bırakıldıktan 24 saat sonra yoğun nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi. 24 saatte tüm örneklerde inflammatuar ödem ve pulpa nekrozu gibi inflammatuar reaksiyonlar gözlemlendi ve skorlar kontrol grubundan alınan örneklerden istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0.05$). Pulpitis grubu ile karşılaştırıldığında pulpitis + melatonin grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalma gözlemlendi ($p < 0.05$).

4.2. Apikal Periodontitis Modelinde Melatoninin Antienflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

TNF- α ve IL-1 β 'nin serum seviyeleri Şekil 3'de ve Tablo 5'te gösterilmektedir. Sonuçlar, TNF- α ve IL-1 β 'nin serum düzeylerinin pulpitis grubunda, kontrol ve pulpitis + melatonin gruplarıyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermektedir ($P < 0.05-0.001$).

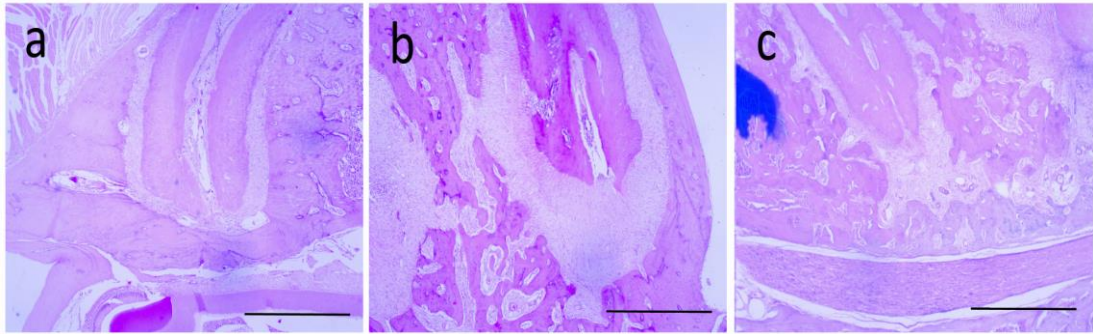


Şekil 3. Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis (AP) modelinde tüm gruplara ait a) TNF- α ve b) IL-1 β (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$ ++ $p < 0.01$ +++ $p < 0.001$ Pulpitis grubuna göre karşılaştırmalar.)

Tablo 5: Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis modelinde tüm gruplara ait serum TNF- α ve IL-1 β değerleri. (Ortalama değer \pm standart hata * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$ ++ $p < 0.01$ +++ $p < 0.001$ AP grubuna göre karşılaştırmalar.)

	Kontrol	Pulpitis	Pulpitis + Melatonin
TNF- α (pg/ml)	18.60 \pm 1.98	38.60 \pm 5.60 **	21.60 \pm 3.10 ⁺
IL-1 β (pg/ml)	54.08 \pm 9.58	139.70 \pm 14.78 ***	91.22 \pm 8.71 ⁺

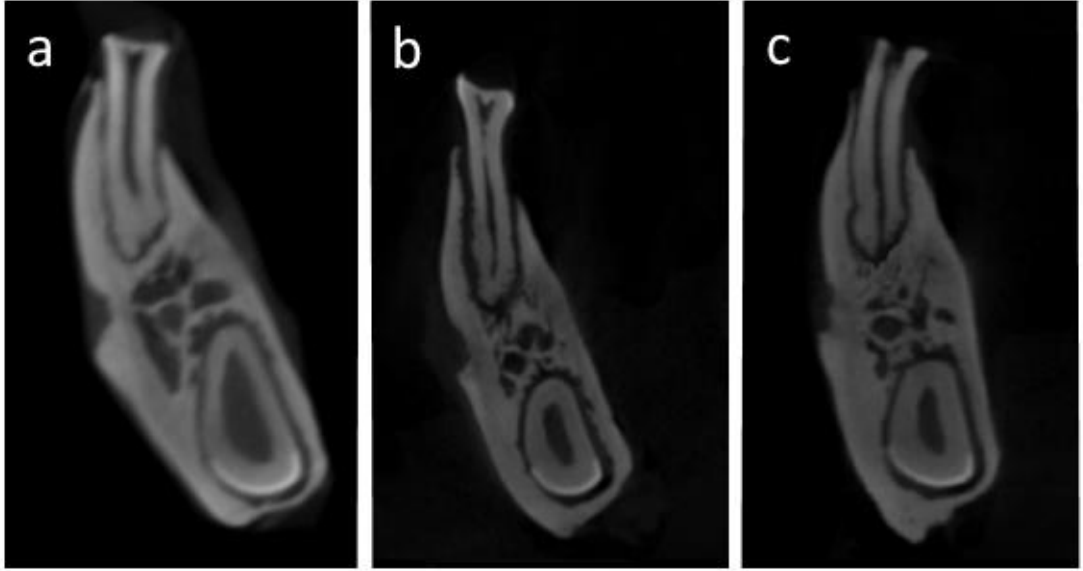
Şekil 4, Farklı deney gruplarındaki periapikal dokuların histolojik göstermektedir. Kontrol grubu örneklerinde herhangi bir kemik kaybı ve periapikal dokularda inflamatuvar hücre infiltratları bulunmamaktaydı. Pulpitis ve pulpitis + melatonin gruplarında, pulpa maruziyetten 21 gün sonra total nekroz belirtileri gösterdi. Periapikal lezyonlar oluşturuldu ve yalnızca periapikal bölgeyle sınırlıydı. Ayrıca, bu lezyonlar esas olarak nötrofillerden (polimorf nükleer hücreler) ve mononükleer hücrelerden oluşuyordu.



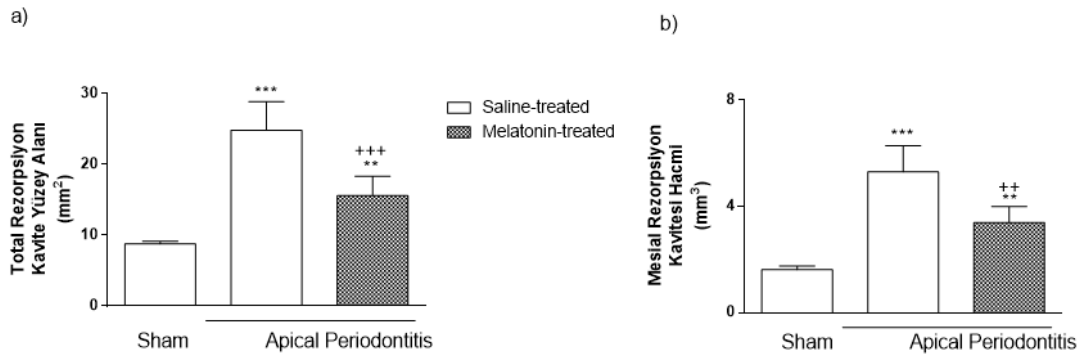
Şekil 4: Kontrol grubundaki (a) sağlıklı periapikal dokuların temsili histolojik görüntüleri; ve pulpitis grubu (b) ve pulpitis + melatonin grubunda (c) periapikal lezyonlar. Ölçek çubukları = 200 μ m.

Şekil 5, mandibular birinci molarların mezial kök seviyesindeki örnek kesitsel mikro-BT görüntülerini göstermektedir. Şekil 6, kemikteki rezorpsiyon boşluğunun

toplam yüzey alanı ve rezorpsiyon boşluğunun toplam hacmini içeren mikro-BT analizinin sonuçlarını göstermektedir. Pulpitis + melatonin grubu, hem yüzey alanı hem de rezorpsiyon boşluğunun hacmi açısından pulpitis grubuna göre önemli ölçüde daha düşük değerler sergiledi ($P < 0.05$).



Şekil 5: Mandibular birinci molarların (a-c) mesial kök seviyesindeki temsili kesitsel mikro BT görüntüleri. (a) Kontrol grubu (b) Pulpitis grubu (c) Pulpitis + Melatonin grubu



Şekil 6. Sıçanlarda deneysel apikal periodontitis modelinde tüm gruplara ait a) Total rezorpsiyon kavite yüzey alanı b) Messial rezorpsiyon kavitesi hacmi (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$ ++ $p < 0.01$ +++ $p < 0.001$ Pulpitis grubuna göre karşılaştırmalar)

5. TARTIŞMA

Pulpitis genellikle dentin tübüllerinin bakteri istilasına yol açan diş çürükleri ile ilişkilidir. Bakteriyel invazyon, diş pulpasında inflamatuvar ve immün olaylar dahil olmak üzere konak savunma reaksiyonlarına neden olur. Bu reaksiyonun amacı, pulpa dokusundaki hasarı veya hasarın ilerlemesini sınırlamak veya önlemektir (Mjör ve ark., 2001). Konak savunma yanıtı, sitokinler ve MMP'ler gibi çeşitli faktörleri ve elementleri içeren önemli bir karmaşık süreci tetikler. Tüm süreç boyunca, inflamatuvar ve immün olaylar, bakterileri ve yan ürünlerini yok etmeye yardımcı olur, ancak aynı zamanda pulpa dokusuna da zarar verir, çünkü süreç düşman ve konak doku arasında ayırım yapmaz (Zero ve ark., 2011). Sonuç olarak, tedavi edilmeyen vakalarda durum pulpa dokusunda apse oluşumu ve klinik semptomların artması ile geri dönüşü olmayan pulpitis'e yol açar.

Bir nöroendokrin hormon olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), üreme, bağışıklık, sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesi, cinsel gelişim ve yaşlanma gibi çeşitli işlevlerde görev alır (Rudra ve ark., 2013). Melatonin ayrıca matriks metalloproteinaz aktivitesini de inhibe eder, böylece IL-1 β ve TNF- α dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder (Esposito ve ark., 2008a; Esposito ve ark., 2008b; Kara ve ark., 2013; Li ve ark., 2015).

Literatürde apikal ve marjinal periodontitiste antioksidan ve antienflamatuvar ajanların etkilerini inceleyen birkaç çalışma vardır. Bununla birlikte, pulpitis üzerindeki etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir (Wolle ve ark., 2012; Wolle ve ark., 2013; Akman ve ark., 2013; Azuma ve ark., 2018; Renn ve ark., 2018; Virto ve ark., 2018). Bu nedenle, bu tez çalışmasının amaçlarından biri, biyokimyasal ve histopatolojik parametreleri analiz ederek sıçanlarda akut pulpitis modelinde melatonin'in olası terapötik etkilerini incelemektir.

Konu ile ilgili literatürde bulunan çalışmalar, melatoninin, çeşitli hayvan sistemik veya lokal inflamasyon modellerinde ve ayrıca insan deneklerle yapılan klinik deneylerde doku hasarının derecesini azalttığını göstermiştir (Cutando ve ark., 2015). Melatonin, güçlü antioksidan özelliklere sahip, suda çözünür, hücreye nüfuz eden, toksik olmayan bileşiklerdir. Ayrıca kan-beyin bariyeri de dahil olmak üzere

birçok biyolojik zardan da yayılabilirler (Ouzir ve ark., 2014). Bu nedenle, melatoninin sistemik uygulamalarının, sıçan akut pulpitis modelinde oluşturulan inflamatuvar süreci baskılamada etkili olup olmayacağı sorusundan yola çıkılarak tez çalışmasının akut pulpitis modeli bölümünün boş hipotezi, grupların farklı inflamatuvar mediatörlerin ve MMP'lerin seviyelerine göre önemli ölçüde farklılık göstermemesi olarak belirlenmiştir.

Literatürde bulunan önceki çalışmalarda akut pulpitis modeli oluşturmak için farklı yöntemler kullanılmıştır (Cleaton-Jones ve ark., 2004; Chung ve ark., 2011; Ma ve ark. 2013; Lin ve ark., 2013). Cleaton-Jones ve ark. (2004) maymunlar üzerinde yaptıkları hayvan çalışmasında, iki farklı pulpitis indüklenmesi metodunu karşılaştırmışlar. Bu amaçla süt azı dişlerinde oluşturulan kavitelere streptococcus mutans kolonisi yerleştirilmesi ile çürük, yumuşak dentin dokusu yerleştirilmesi metodlarının kullanmışlar ve her iki yöntemin de pulpotomi veya pulpektomi tedavilerini test etmek için uygun olduğu sonucuna varmışlardır. Lin ve ark.'nın (2011) yetişkin sıçanlarda standart bir akut pulpitis modeli oluşturmayı hedefledikleri çalışmalarında maksiller birinci ve ikinci azı dişlerinde kavite oluşturularak pulpa dokusunun ekspozite edilip ağız ortamına açık bırakılması yöntemi kullanılmıştır. Takimoto ve ark. (2014) ise, sıçanlar üzerindeki çalışmalarında mandibular keser dişeri kullanmışlar ve kronlarını uzaklaştırdıkları dişlerin açık pulpa dokuları üzerine LPS (10 mg/mL, 1 mL) uygulamışlardır. Uygulama sonrası pulpa dokusu ağız ortamına açık bırakılmayıp üzeri geçici dolgu materyali ile kapatılmıştır. Renard ve ark. (2016) pulpanın gram-negatif bakterilere karşı immun yanıtını daha iyi anlamak için deneysel olarak LPS ve salin solüsyonu olmak üzere iki farklı ajanı sıçan maksiller kesici diş pulpasına uygulamışlar ve biyolojik mediyatörlerle immun sistem hücrelerini analiz etmişlerdir. Sonuç olarak LPS'nin bir kemirgenlerde geri dönüşümsüz kesici diş pulpiti modelinde iltihabı arttırdığını ve düzenlediğini bildirmişlerdir.

LPS, gram negatif bakterilerin dış zarının bir bileşenidir ve konak dokuyu yok eden bakteri aktivitesine aracılık ederek gram negatif bakteriler pulpa iltihabına neden olurlar. LPS, insan doğuştan gelen bağışıklık sisteminin en güçlü aktivatörleri arasındadır. Birçok sitokin (TNF-a ve ve IL-1 β dahil) ve MMP'ler (MMP-1 ve

MMP-2 gibi) insan periferik kan mononükleer hücrelerinden, diş pulpa hücrelerinden ve dişeti fibroblastından LPS'ye yanıt olarak indüklenir (Rupf ve ark., 2000). LPS ile indüklenen diş pulpası iltihabı, kemirgenlerde akut ve kronik pulpitisin yanı sıra diğer oral enflamatuar hastalıkların ilerlemesinin dinamik gözlemi için stabil bir deneysel enflamasyon modelini temsil eder (Tarsa ve ark., 2010). Önceki çalışmalar, LPS ile oluşturulan inflamasyonun, dental pulpa hücrelerinde zamana ve doza bağlı bir şekilde indüklendiğini göstermiştir (Lee ve ark., 2008; Hsieh ve ark., 2015).

Kemirgen kesici dişleri, pulpa yaralanmasını takiben yüksek iyileşme kabiliyetine sahip sürekli süren dişler olduğundan, çeşitli çalışmalarda akut pulpa iltihabında biyolojik faktörlerdeki varyasyonları değerlendirmek için kullanılmıştır (Kawanishi ve ark. 2004; Zheng ve ark. 2009). Ayrıca sıçan kesici dişlerinde uygulama azı dişlerine göre daha kolaydır ve tatbik edilecek ajan için yeterli alan daha kolay oluşturulabilir. Bu sebeplerle bu tez çalışmasında da deneysel akut pulpitis modeli, önceki çalışmalarla benzer şekilde (Kawanishi ve ark. 2004; Renard ve ark. 2016), sıçan maksiller kesici diş pulpalarının ekspoze edilerek LPS'nin topikal olarak uygulanması yöntemi ile oluşturuldu.

Renard ve ark. (2016), LPS ile pulpa hasarının inflamatuvar/bağışıklık yanıtının LPS olmadan olduğundan daha hızlı ve daha güçlü olduğunu göstermişlerdir. Li ve ark. (2015), akut pulpitiste en şiddetli inflamasyonun sıçanlarda ameliyattan 24 saat sonra meydana geldiğini belirtmektedir. Literatür ile uyumlu olarak, mevcut deneyin süresi 24 saat olarak tasarlandı. Bulgularımız, LPS'nin 24 saat içinde başarıyla akut pulpitişi provoke edebildiğini gösterdi.

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki LPS'ye yanıt olarak makrofajların, IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler ürettiği literatürdeki çalışmalarda bildirilmiştir (Yu ve ark., 2009). TNF- α ve IL-1 β 'nin ekspresyon seviyeleri ile pulpa dokusunda inflamasyonun derecesi arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (He ve ark., 2016). IL-1 β , çeşitli doğuştan gelen bağışıklık süreçlerini destekleyen ve kronik hastalık ve akut doku hasarı sırasında hasarı şiddetlendiren anahtar bir mediyatör olarak kabul edilir (Chang ve ark., 2012).

TNF- α 'nın ise inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu indüklediği, inflamatuvar yanıtı daha da artırdığı ve pulpa dokusunda MMP-1 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Rhim ve ark., 2011).

Melatonin tedavisi, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederek inflamasyonu azaltır (Kara ve ark., 2013; Gomez-Moreno ve ark., 2007; Srinath ve ark., 2010). Kara ve ark. (2013) melatonin uygulamasının, sıçanlarda deneysel marjinal periodontitis modelinde inflamatuvar sitokinleri azaltarak ve antioksidan konsantrasyonunu düzelterek oksidatif stresi ve periodontal inflamasyonu azaltabileceğini ve çalışmalarının sonucunda, sistemik melatoninin uygulanmasının periodontal sağlığı iyileştirmede klinik olarak faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Gomez-Moreno ve ark.'nın (2007) periodontal hastalığa sahip 46 hasta üzerinde yaptıkları klinik çalışmalarında elde edilen sonuçlarda, melatoninin periodontal enfeksiyonla mücadelede koruyucu bir işlev görebileceği bildirilmiştir. Srinath ve ark.'nın (2010) 45 hasta üzerinde yürüttükleri bir başka klinik çalışmada periodontal hastalığa sahip deneklerde hem tükürük hem de gingival servikal sıvıda melatonin seviyelerinin sağlıklı deneklerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığını, bu sonucun da, melatoninin periodontal hastalığa karşı koruyucu bir rolü olabileceğini gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Önceki çalışmalar, TNF- α ve IL-1 β 'nin gen ekspresyon seviyelerinin zaman noktaları arasında dalgalandığını ancak 24 saatte zirveye ulaştığını göstermiştir (He ve ark., 2016). Yu ve ark.'nın (2009) yürüttükleri çalışmalarında akut pulpitisli sıçanlarda, akut pulpitis indüklenmesini takiben sıçanlar melatonin ile tedavi edildiğinde, bir gün sonraki TNF-a ve IL-1 β 'nin gen ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca melatonin ile ön tedavinin, LPS ile indüklenen proinflamatuvar sitokin gen ekspresyonunun yukarı regülasyonunu önemli ölçüde azalttığını da belirtmişlerdir (Yu ve ark., 2009). Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak, bulgularımız akut pulpitis grubunda serum ve pulpa dokularındaki TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu düzeyler melatonin uygulanan grupta anlamlı derecede azalmıştır.

MMP'ler, beş alt gruptan oluşan bir kalsiyum bağımlı çinko içeren endopeptidaz ailesidir: kollajenazlar, stromelisinler, jelatinazlar, membran tipi MMP'ler ve diğerleri (Chen ve ark., 2013). MMP'ler, epitelyal, mezenkimal ve hematopoetik hücrelerde eksprese edilirler (Xue ve ark., 2007). Deneysel ve klinik çalışmalar, MMP-1'in (kollajenazların bir üyesi) ve MMP-2'nin (jelatinaz A) özellikle inflamasyonu modüle ettiğini göstermiştir (Clegg ve ark., 1997). Tez çalışmamızın sonuçları, LPS'nin neden olduğu akut deneysel pulpitisde proteolitik enzimler olan MMP-1 ve MMP-2'nin aktivasyonlarının arttığını göstermiştir. Bu MMP'ler, farklı hücre ve dokularda spesifik peptit bağlarını ayırarak hücre dışı matris proteinlerini yok ederek aktivite gösterirler ve patolojik durumlarda önemli bir rol oynarlar (Cunnane ve ark., 2001).

Melatonin'in MMP-1 ve MMP-2'nin ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkisi, çeşitli inflamasyon modellerinde incelenmiştir (Esposito ve ark., 2008a; Esposito ve ark., 2008b). Esposito ve ark.'nın (2008a) farelerde deneysel olarak oluşturulmuş spinal kord yaralanma modelinde MMP'lerin aktivitesi ile melatoninin anti-inflamatuar etkileri arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında melatonin spinal kord hasarını azalttığı, bu etkisinin MMP-9 ve MMP-2 aktivite ve ekspresyonundaki bir azalma ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Yine Esposito ve ark.'nın (2008b) yürüttüğü bir başka hayvan çalışmasında farelerde deneysel olarak oluşturulmuş kolit modeli kullanılmış ve melatoninin sıçanlarda kolon hasarını azaltma yeteneği, proMMP-9 ve MMP-2 aktivitelerinde ve ekspresyonunda bir azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Savtekin ve ark.'nın (2016) sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş artrit modelinde sistemik olarak uygulanan melatonin'in MMP-1 ve MMP-2 ekspresyonunu ve böylece doku hasarını azaltarak koruyucu etkinin oluştuğunu göstermiştir. Bununla birlikte, melatonin'in proteolitik enzimler üzerindeki etkileri, daha önce pulpitis modellerinde çalışılmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışması bu konudaki çalışmalarda bir ilk adımdır ve sonraki çalışmalara kapı aralamaktadır. Abdominal enjeksiyon ile sistemik melatonin uygulaması, TNF- α , IL-1 β , MMP-1 ve MMP-2 ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde azaltabilir ve akut pulpitisde koruyucu bir etkiye sahip olabilir. Bu, melatoninin ağız hastalıkları için umut verici terapötik bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Apikal periodontitis, pulpa ve periapikal dokuların destrüksiyonu ile karakterize olup, histopatolojik bir lezyona yol açan periodontal ligamentte lokal inflamasyon olarak başlar (Nair, 2004). Bu kalıcı kronik inflamatuvar durum sistemik sağlığı etkileyebilir ve esas olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve serum sitokin düzeylerini artırarak otoimmün hastalıkların patogeneğinde yer alabilir (Cotti ve ark., 2011; Cintra ve ark., 2014a; Cintra ve ark., 2014b).

Bu tez çalışmasının sonuçları, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitis modelinde sıçanların serum sitokinlerinde (TNF- α ve IL-1 β) bir yükselme olduğunu göstermiştir. Benzer değişiklikler literatürde de bildirilmiştir. Cintra ve ark. (2016), deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitisin, inflamatuvar sitokinlerin serum seviyelerini değiştirerek kan homeostazını etkilediğini bildirmiştir. Samuel ve ark. (2018), apikal periodontitis varlığının kandaki sitokin düzeylerini artırdığını göstermiştir. Ancak her iki çalışmada da araştırmacılar bu değişikliğin sadece çoklu apikal periodontitis gruplarında anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Cintra ve ark. (2016) ve Samuel ve ark.'nın (2018) çalışmalarının aksine, bu tez çalışmasında, tek dişte lokalize olan apikal periodontitiste bile kanda sitokinlerin önemli ölçüde arttığına dair kanıtlar tespit edilmiştir. Tez çalışmamızın sonuçlarıyla paralellik gösteren bulgulara Aksoy ve ark.'nın (2019) aynı modeli kullanarak yürüttükleri çalışmaların sonuçlarında da ulaşılmıştır.

Mevcut çalışma sonuçları, sıçanlarda sistemik olarak uygulanan melatonin tedavisinin, sıçanların serum TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olduğunu, aynı zamanda tedavinin periapikal kemik kaybının inhibisyonu üzerinde terapötik etkiler sağladığını göstermiştir. Melatonin'in periodontal sağlık üzerindeki etkisi, literatürdeki önceki çalışmalarda bildirilen güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile açıklanabilir (Tothova ve Celec, 2017). Oksidatif stres literatürde tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalık, kanser, akciğer hastalıkları ve hepatopatiler dahil olmak üzere çeşitli patolojik veya durumlarla ilişkilendirilmiştir (Inchingolo ve ark., 2014). Çok sayıda klinik çalışma da oksidatif stres belirteçleri ile periodontal hastalıklar arasındaki ilişkiyi doğrulamıştır, ancak bunun apikal

periodontitis ile ilişkisi nispeten daha az çalışılmıştır. Inchingolo ve ark. (2014) tarafından yürütülen öncü bir çalışmada, kronik apikal periodontitisli hastaların, kontrol hastalarına göre önemli ölçüde daha yüksek kan oksidatif stres seviyeleri sergiledikleri bildirmişler ve kronik apikal periodontitisten etkilenen deneklerin, genel sağlık için tehlikeli olabilecek bir oksidatif stres durumuna maruz kaldıklarını öne sürmüşlerdir. Başka bir hayvan çalışmasında ise (Prieto ve ark., 2017), apikal periodontitisin kandaki oksidatif stres parametrelerini değiştirmede bulunmuştur. Başka bir çalışma, artan kök kanal endotoksin düzeylerinin artan oksidatif stres, depresyon şiddeti ve düşük yaşam kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Gomes ve ark., 2018).

Bir substratın oksidasyonunu geciktirebilen veya önleyebilen maddeler olarak tanımlanan antioksidanlar, tüm vücut dokularında ve sıvılarında bulunur ve işlevleri serbest radikallere karşı koruma sağlamaktır (Gomes Muniz ve ark., 2015). Farklı antioksidan ajanların periodontal hastalıklardaki terapötik potansiyelini değerlendirmek için çeşitli girişimlerde bulunulmuştur (Tothova ve Celec, 2017). Bu amaçla likopen, melatonin, N-asetilsistein, resveratrol C vitamini, E vitamini, meyve ve sebze kapsülleri ve diyet müdahaleleri araştırılmıştır (Tothova ve Celec, 2017). Bununla birlikte, apikal periodontitiste adjuvan antioksidan tedavi hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. Wolle ve ark. (2013) yürüttükleri iki farklı çalışmada tip 2 diyabet ve kardiyomiyopati sıçan modellerinde apikal periodontitis gelişimini değerlendirerek antioksidan ajan tempol'un potansiyel etkilerini değerlendirmiştir (Wolle ve ark., 2012, 2013).

Bu tez çalışmasında melatonin, oksidasyon ve antioksidan arasındaki dengeyi etkili bir şekilde koruyabileceği hipotezine dayanarak uygulandı. Güçlü bir antioksidan olan melatonin, antiinflamatuvar özelliklerinin yanı sıra serbest radikalleri ortadan kaldırma ve oksidatif stres kaynaklı hasarları hafifletme yeteneğine sahiptir. Sonuçlarımız, antioksidan özelliğe sahip melatoninin 10 mg kg-1, ip, 21 gün ile sistemik tedavisinin sadece TNF- α ve IL-1 β serum düzeylerini önemli ölçüde azaltabildiğini değil, aynı zamanda sıçanlarda periapikal lezyonların boyutunu etkilediğini göstermektedir. Ancak bu çalışmanın en büyük sınırlaması, sadece

inflatuar belirteçlere odaklandığından, kandaki oksidatif stres belirteçleri hakkında bilgi vermemesdir. Ayrıca, etki mekanizması ile ilgili olarak, melatonin'in birincil koruyucu etkilerinin, doğrudan antioksidan özelliklerinden mi yoksa anti-inflatuar etkilerinden mi kaynaklandığı açık değildir. Bu potansiyel özelliklerin her ikisi de kemik yıkımını kısıtlayabilen mekanizmalara sahiptir (Aksoy ve ark., 2019). Melatonin'in kandaki oksidatif stres belirteçleri açısından etkinliğini belirlemek için ise daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Mevcut sonuçlarla uyumlu olarak, önceki çalışmalar, melatonin'in sıçanlarda çeşitli deneysel hastalık modellerinde proinflatuar sitokinlerin kan konsantrasyonlarını azaltabildiğini göstermiştir. Zhang ve ark.'nın (2021) sıçanlarda akut böbrek hasarı modeli kullanarak yürüttükleri çalışmalarında melatoninin antioksidan stres, antiapoptozis ve anti-inflamasyonun renoprotektif etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir. Fenton-Navarro ve ark. (2021) sıçanlarda oluşturdukları serebral iskemi modelinde melatonin tedavisinin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tedavi uygulanan grupta dolaşımdaki TNF- α , IL-6, IL-10 seviyelerinde azalmayla birlikte nöroprotektif özellik gösterdiği ve anksiyete azaltıcı etkilerinden dolayı iskemik atak sonrası destekleyici tedavi olarak kullanımının düşünülebileceğini bildirmişlerdir. Abdulwahab ve ark. (2021) sıçanlarda oluşturdukları tip 2 diabet modelinde artmış olan serum proinflatuar sitokin (TNF- α , IL-6 ve IL-1 β) seviyelerinin melatonin uygulaması ile azaldığı, antiinflatuar sitokin (IL-10) seviyesinin ise melatonin ile birlikte artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Melatonin ile elde edilen bulgularımızın aksine, Wolle ve ark. (2013) başka bir antioksidan ajan olan tempol'ün tip 2 diyabetik sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan endodontik lezyonlar üzerine koruyucu etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ancak çalışmalarında antioksidanla tedavi edilen kontrol grubu kullanılmamıştır. Bu nedenle, antioksidan ajanın sistemik olarak sağlıklı apikal periodontitisli sıçanlar üzerindeki etkilerine yönelik bir değerlendirme yapılmadığından, çalışma sonuçları mevcut çalışma ile karşılaştırılmamıştır.

Wolle ve ark.'nın (2012) yrttg bir başka çalışmada, hem kontrol hayvanlarında hem de doksorubisine bağlı kardiyomiyopati sanlarda tempol'n apikal periodontitis üzerine faydalı sistemik etkileri bildirilmiştir ve bu sonuçlar mevcut çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Literatürde, apikal periodontitis modelinde farklı antiinflamatuvar ve antioksidan ajanları karılatırmak veya melatonin tedavisinin farklı sistemik hastalık modelleriyle birlikte çalışıldığı az sayıda araştırma mevcuttur ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasında sanlarda kullanılan intraperitoneal ilaç uygulama yöntemi, sanlarda yapılan önceki benzer çalışmalara dayanarak belirlenmiştir. Uygulanacak ajanların periton boşluğuna enjeksiyonu laboratuvar kemirgenlerinde yaygın bir tekniktir ve intravenöz erişimin zor olduğu küçük türler için kullanılır. Bu teknik aynı zamanda büyük hacimli sıvı ajanları güvenli bir Şekilde uygulamak için kullanılabilir (Turner ve ark., 2011). Kemirgenlerde yaygın olarak kullanılan bir diğer uygulama yöntemi ise oral gavajdır (Tjaderhane ve ark., 2007; Wolle ve ark., 2013; Aydın ve ark., 2014). Bununla birlikte, oral gavaj, mide aşırı doluyrsa pasif reflü, aspirasyona bağlı pnömoni, faringeal, özofagus ve gastrik irritasyon veya yaralanma riski taşır (Turner ve ark., 2011).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan geri dönüşümsüz pulpitis ve apikal periodontitis modellerinde melatoninin antienflamatuvar etkilerinin değerlendirildiği bu tez çalışmasının sınırlamaları dahilinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Deneysel çalışmamız, sıçanlarda oluşturulan akut pulpitis modelinde pulpa dokusu ve serumda proinflamatuvar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin arttığını ve biyokimyasal parametrelerdeki değişikliklere doku hasarının eşlik ettiğini ortaya koymuştur.

2. Melatonin tedavisi proinflamatuvar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin serum ve pulpa dokusundaki artışını önemli ölçüde sınırlamıştır.

3. Bu tez çalışmasının sonuçları, deneysel olarak oluşturulmuş apikal periodontitis modelinde sıçanların serum sitokin düzeylerinde (TNF- α ve IL-1 β) bir yükselme olduğunu göstermiştir.

4. Sonuçlarımız, sıçanlarda oluşturulan apikal periodontitis modelinde melatoninin sistemik olarak uygulanmasının TNF- α ve IL-1 β serum düzeylerini önemli ölçüde azaltabildiğini ve aynı zamanda sıçanlarda periapikal lezyonların boyutunu da sınırladığını göstermiştir.

5. Bu çalışmanın bulguları, sistemik melatonin uygulamasının periapikal kemik hasarını sınırlayabileceğini desteklese de, doğrudan insanlara uyarlanamaz. Buna nedenle, melatonin'in sistemik uygulamalarının insanlarda endodontik hastalıklar üzerindeki etkisini araştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abdulwahab DA, El-Missiry MA, Shabana S, Othman AI, Amer ME. Melatonin protects the heart and pancreas by improving glucose homeostasis, oxidative stress, inflammation and apoptosis in T2DM-induced rats. *Heliyon*. 2021 Mar 12;7(3):e06474.

Akman S, Canakci V, Kara A, Tozoglu U, Arabaci T, Dagsuyu IM. Therapeutic effects of alpha-lipoic acid and vitamin C on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats. A biochemical, histochemical and stereologic study. *Journal of Periodontology*. 2013;84(5):666-674.

Aksoy U, Savtekin G, Şehirli AÖ, Kermeoğlu F, Kalender A, Özkayalar H, Sayiner S, Orhan K. Effects of alpha-lipoic acid therapy on experimentally induced apical periodontitis: a biochemical, histopathological and micro-CT analysis. *Int Endod J*. 2019;52(9):1317-1326.

Alaçam T, Uzel İ, Alaçam A, Aydın M. Pulpa ve periapikal doku hastalıkları. *Endodonti*. Barış Yayınları, Ankara; 2000, s.45-72.

Alaçam T. (2011a) *Endodonti*, Nobel Kitabevi, Ankara. S: 71-106.

Arabacı T, Kermen E, Özkanlar S, Köse O, Kara A, Kızıldağ A, Duman ŞB, Ibişoğlu E. Therapeutic effects of melatonin on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: a biochemical and immunohistochemical study. *Journal of periodontology* 2015; 86(7): 874-881.

Ataman B. Pulpites iatrogenes. Traitments etiologiques preventives et curatifs. *Encycl Med Chir, Stomatol-Odontol II 23-008-A-20*. 1994; 1-12.

Aydın A, Halici Z, Akoz A et al. Treatment with a- lipoic acid enhances the bone healing after femoral fracture model of rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2014;387:1025-1036.

Azuma MM, J. E. Gomes-Filho JE, Cardoso CD, et al. Omega 3 fatty acids reduce the triglyceride levels in rats with apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal*. 2018;29(2):173-178.

Bhattacharya S, Patel KK, Dehari D, Agrawal AK, Singh S. Melatonin and its ubiquitous anticancer effects. *Mol Cell Biochem*. 2019;462(1-2):133-155.

Buonavoglia A, Latronico F, Pirani C, Greco MF, Corrente M, Prati C. Symptomatic and asymptomatic apical periodontitis associated with red complex bacteria: clinical and microbiological evaluation. *Odontology*. 2013;101(1):84-88.

Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, Cutrera RA, Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *Journal of pineal research*. 2003;34(2):81-87.

Caviedes-Bucheli J, Lombana N, Azuero-Holguín MM, Muñoz HR. Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and Vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp. *Int Endod J*. 2006;39:394-400.

Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Holguín MM, Ulate E. Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod*. 2008;34(7):773-788.

Chang MC, Lin LD, Zwei-Ching Chang J, et al. Regulation of vascular cell adhesion molecule-1 in dental pulp cells by interleukin-1 β : the role of prostanoids. *Journal of Endodontics*. 2012;38(6):774-779.

Chang MC, Lin LD, Zwei-Ching Chang J, Huang CF, Chuang FH, Lee JJ, Jeng JH. Regulation of vascular cell adhesion molecule-1 in dental pulp cells by interleukin-1 β : The role of prostanoids. *Journal of Endodontics*. 2012;38(6):774-779.

Chen Q, Jin M, Yang F, Zhu J, Xiao Q, Zhang L. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:928315.

Chitimus DM, Popescu MR, Voiculescu SE, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, Zagrean AM. Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease. *Biomolecules*. 2020;10(9):1211.

Chung MK, Lee J, Duraes G, Ro JY. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia. *Journal of Dental Research*. 2011;90(9):1103-1107.

Cintra LTA, Da Silva Facundo AC, Prieto AKC et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *Journal of Endodontics*. 2014;40: 1139-1144.

Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *Journal of Endodontics*. 2016;42: 747-751.

Cintra LTA, Samuel RO, Facundo ACS et al. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *International Endodontic Journal*. 2014;4: 228-237.

Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61:77-84.

Cleaton-Jones P, Duggal M, Parak R, Williams S, Setzer S. Pulpitis induction in baboon primary teeth using carious dentine or *Streptococcus mutans*. *Sadj*. 2004;59(3):119-122.

Clegg PD, Burke RM, Coughlan AR, Riggs CM, and Carter CD. Characterisation of equine matrix metalloproteinase 2 and 9; and identification of the cellular sources of these enzymes in joints. *Equine Veterinary Journal*. 1997;29(5):335-342.

Cotti E, Dessì C, Piras A, Flore G, Deidda M, Madeddu C, Zedda A, Longu G, Mercurio G. Association of endodontic infection with detection of an initial lesion to the cardiovascular system. *J Endod*. 2011;37(12):1624-1629.

Cunnane G, Fitzgerald O, Hummel KM, et al. "Synovial tissue protease gene expression and joint erosions in early rheumatoid arthritis," *Arthritis and Rheumatism*. 2001;44(8):1744-1753.

Cutando A, Montero J, Gómez-de Diego R, Ferrera MJ, Lopez-Valverde A. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2015;7(5):e628- e633.

Çalışkan M. Endodontide Tanı ve Tedaviler. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2006:83-110.

Dammaschke T. Rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry. *Lab Anim*. 2010;44(1):1-6.

De Swert KO, Joos GF. Extending the understanding of sensory neuropeptides. *Eur J Pharmacol*. 2006;533:171- 81.

Dollins AB, Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HJ, Deng MH. Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1994; 91(5): 1824-1828.

Duarte PM, Tezolin KR, Figueiredo MF, Feres M, Bastos MF. Microbial profile of ligature-induced periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2010; 55 (2): 142-147.

Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature reviews cancer*. 2002;2:161.

El Karim IA, Lamey PJ, Linden GJ, Awawdeh L, Lundy FT. Caries-induced changes in the expression of pulpal neuropeptide Y. *Eur J Oral Sci* 2006;114:133-137.

Elashiry MM, Saber SE, Elashry SH. Comparison of Shaping Ability of Different Single-File Systems Using Microcomputed Tomography. *Eur J Dent*. 2020;14(1):70-76.

Elsalhy M, Azizieh F, Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *Int Endod J*. 2013;46(6):573-580.

Eriksen HM. Epidemiology of apical periodontitis. In: D Ørstavik, TR Pitt Ford, editors. *Essential Endodontology. Prevention and treatment of apical periodontitis*. London: Blackwell Science; 1998:179-191.

Esposito E, Genovese T, Caminiti R, Bramanti P, Meli R, Cuzzocrea S. Melatonin regulates matrix metalloproteinases after traumatic experimental spinal cord injury. *Journal of Pineal Research*. 2008;45(2):149-156.

Esposito E, Mazzon E, Riccardi L, Caminiti R, Meli R, Cuzzocrea S. "Matrix metalloproteinase-9 and metalloproteinase-2 activity and expression is reduced by melatonin during experimental colitis," *Journal of Pineal Research*, 2008;45(2):166-173.

Fenton-Navarro B, Garduño Ríos D, Torner L, Letechipía-Vallejo G, Cervantes M. Melatonin decreases circulating levels of galectin-3 and cytokines, motor activity, and anxiety following acute global cerebral ischemia in male rats. *Arch Med Res*. 2021;S0188-4409(21)00032-1.

Fouad AF, Levin L. Pulpal Reactions to Caries and Dental Procedures. In Hargreaves KM, Cohen Stephen, eds. *Pathways of the pulp*. St. Louis, Missouri: Elsevier. 2011; 504-528.

Garfinkel D, Laudon M, Nof D, Zisapel N. Improvement of sleep quality in elderly people by controlled-release melatonin. *The Lancet* 1995; 346(8974): 541-544.

Gibbs RA, Weinstock GM, Metzker ML, et al. Rat Genome Sequencing Project Consortium. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*. 2004;428(6982):493-521.

Gil-Martín E, Egea J, Reiter RJ, Romero A. The emergence of melatonin in oncology: Focus on colorectal cancer. *Med Res Rev*. 2019 Nov;39(6):2239-2285.

Gomes BPF, Herrera DR. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res.* 2018;32(suppl 1):69.

Gómez-Moreno G, Cutando-Soriano A, Arana C, et al., "Melatonin expression in periodontal disease," *Journal of Periodontal Research.* 2007; 42(6): 536-540.

Goodies HE, Pashley D, Stabholtz A. Pulpal effects of thermal and mechanical irritants. In: Hargraves KM, Goodies HE. *Seltzer and Bender's dental pulp.* Chicago: Quintessence. 2002; 371-388.

Guerrero-Gironés J, Alcaina-Lorente A, Ortiz-Ruiz C, Ortiz-Ruiz E, Pecci-Lloret MP, Rodríguez-Lozano FJ, Martínez CM, Ortiz-Ruiz AJ. Melatonin as an Agent for Direct Pulp-Capping Treatment. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(3):1043.

Gürdöl F. *Tıbbi biyokimya, Nobel Kitabevi, Istanbul; 2015, s:113-135*

Hardeland R. Aging, Melatonin, and the Pro- and Anti-Inflammatory Networks. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5):1223.

Hardeland R. Melatonin: signaling mechanisms of a pleiotropic agent. *Biofactors* 2009;35(2):183-192.

He Y, Gan Y, Lu J, et al. Pulpal tissue inflammatory reactions after experimental pulpal exposure in mice. *Journal of Endodontics.* 2016;43(1):90-95.

Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005;115(1):1-20.

Henriques LC, De Brito LC, Tavares WL, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP (2011) Cytokine analysis in lesions refractory to endodontic treatment. *Journal of Endodontics.* 2011;37:1659-1662.

- Hsieh SC, Tsao JT, Lew WZ, Chan YH, Lee LW, Lin CT, et al. Static magnetic field attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in pulp cells by affecting cell membrane stability. *ScientificWorldJournal*. 2015;2015:492683.
- Inchingolo F, Marrelli M, Annibali S, et al. Influence of endodontic treatment on systemic oxidative stress. *International Journal of Medical Sciences*. 2014;11:1-6.
- Irie MS, Rabelo GD, Spin-Neto R, Dechichi P, Borges JS, Soares PBF. Use of Micro-Computed Tomography for Bone Evaluation in Dentistry. *Braz Dent J*. 2018;29(3):227-238.
- Jain A, Bahuguna R. Role of matrix metalloproteinases in dental caries, pulp and periapical inflammation: An overview. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2015;5(3):212-218.
- Jiang J, Liang S, Zhang J, Du Z, Xu Q, Duan J, Sun Z. Melatonin ameliorates PM2.5 -induced cardiac perivascular fibrosis through regulating mitochondrial redox homeostasis. *J Pineal Res*. 2021;70(1):e12686.
- Jurisic V, Terzic T, Colic S, et al. The concentration of TNF-alpha correlate with number of inflammatory cells and degree of vascularization in radicular cysts. *Oral Dis*. 2008;14:600-605.
- Kara A, Akman S, Ozkanlar S, et al. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013;55:21-26.
- Kawanishi HN, Kawashima N, Suzuki N, Suda H, Takagi M. Effects of an inducible nitric oxide synthase inhibitor on experimentally induced rat pulpitis. *Eur J Oral Sci*. 2004 ;112(4):332-337.
- Keiser K ve Byrne BE. Endodontic pharmacology. In: Hargreaves KM, Cohen Stephen Eds. *Pathways of the pulp*. St. Louis, Missouri: Elsevier. 2011; 671-690.
- Khan AA, Hargreaves KM. Dental Pain. In: Türp JC, Sommer RC, Huuger A, editors. *The Puzzle of Orofacial Pain*. 2007.

Kose O, Arabaci T, Kara A, Yemenoglu H, Kermen E, Kizildag A, Gedikli S, Ozkanlar S. Effects of Melatonin on Oxidative Stress Index and Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats With Periodontitis. *Journal of periodontology*. 2016; 87(5): 82-90.

Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar mediyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg*. 2006;16:143-152.

Landis EN, Keane DT. X-ray microtomography. *Mater Charact*. 2010;61(12):1305-16.

Le NT, Xue M, Castelnoble LA, Jackson CJ. The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front Biosci*. 2007;12:1475-1487.

Lee JC, Yu MK, Lee R, et al. Terrein reduces pulpal inflammation in human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*. 2008;34(4): 433-437.

Lee TY, Jin EJ, Choi B. MMP-13 expression in coronal and radicular dentin according to caries progression - a pilot study. *Tiss Eng Reg Med*. 2013;10.6:317-321.

Levin LG, Law AS, Holland GR, Abbott PV, Roda RS. Identify and define all diagnostic terms for pulpal health and disease states. *Journal of Endodontics*. 2009;35:1645-1657.

Li JG, Lin JJ, Wang ZL, et al. Melatonin attenuates inflammation of acute pulpitis subjected to dental pulp injury. *American Journal of Translational Research*. 2015;7(1):66-78.

Lin JJ, Du Y, Cai WK, et al. Toll-like receptor 4 signaling in neurons of trigeminal ganglion contributes to nociception induced by acute pulpitis in rats. *Scientific Reports*. 2015;5:1-14.

Ma J, Chen W, Zhang L, et al. RNA interference-mediated silencing of Atp6i prevents both periapical bone erosion and inflammation in the mouse model of endodontic disease. *Infection and Immunity*. 2013;81(4):1021-1030.

- Ma Q, Reiter RJ, Chen Y. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions. *Angiogenesis*. 2020;23(2):91-104.
- Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. *J Endod*. 2012;38:740-745.
- Martinho FC, Leite FR, Nóbrega LM, Endo MS, Nascimento GG, Darveau RP, et al. Comparison of *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides clinically isolated from root canal infection in the induction of pro-inflammatory cytokines secretion. *Braz Dent J*. 2016;27(2):202-207.
- Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, Ruggeri A. Immunohistochemical and bio-chemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent*. 2011;39:231-237.
- Mejare IA, Axelsson S, Davidson T, Frisk F, Hakeberg M, Kvist T, et al. Diagnosis of the condition of the dental pulp: A systematic review. *Int Endod J*. 2012; 45: 597-613.
- Millet P, Vachharajani V, McPhail L, et al.: GAPDH Binding to TNF- α mRNA Contributes to Posttranscriptional Repression in Monocytes: A Novel Mechanism of Communication between Inflammation and Metabolism. *J Immunol*. 2016; 196(6): 2541-2551.
- Mjör IA, Sveen OB, Heyeraas KJ. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: normal structure and physiology,. Quintessence International. 2001;32(6):427-446.
- Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, Montagnese TA, Mickel A. Genetic predisposition to persistent apical periodontitis. *J Endod*. 2011;37:455-459.
- Mortezaee K, Potes Y, Mirtavoos-Mahyari H, Motevaseli E, Shabeeb D, Musa AE, Najafi M, Farhood B. Boosting immune system against cancer by melatonin: A mechanistic viewpoint. *Life Sci*. 2019;238:116960.

- Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 2004;15:348-381.
- Oikawa T, Nomura Y, Arai C, Noda K, Hanada N, Nakamura Y. Mechanism of active eruption of molars in adolescent rats. *Eur J Orthod*. 2011;33(3):221-227.
- Ouzir M, Bouhaddou N, Khalki H, Lakhdar-Ghazal N. Physiological and pharmacological properties of 5-methoxytryptophol. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*. 2014;8(4):355-364.
- Permuy M, López-Peña M, González-Cantalapiedra A, Muñoz F. Melatonin: A Review of Its Potential Functions and Effects on Dental Diseases. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4):865.
- Petersen J, Glaßl EM, Nasser P, Crismani A, Luger AK, Schoenherr E, Bertl K, Glodny B. The association of chronic apical periodontitis and endodontic therapy with atherosclerosis. *Clin Oral Investig*. 2014;18(7):1813-1823.
- Rechenberg DK, Galicia JC, Peters OA. Biological Markers for Pulpal Inflammation: A Systematic Review. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167289.
- Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. *Nature reviews Drug discovery*. 2012;11(3):234.
- Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan D-X. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2009;44(4):175-200.
- Reiter RJ, Tan DX, Galano A. Melatonin: exceeding expectations. *Physiology*. 2014;29(5):325-333.
- Reiter RJ, Tan D-X, Rosales-Corral S, C Manchester L. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2013;13(3):373-384.
- Reiter RJ. The Pineal and Its Hormones in the Control of Reproduction in Mammals. *Endocrine Reviews*. 1980; 1(2): 109-131.

Renard E, Gaudin A, Bienvenu G et al., “Immune cells and molecular networks in experimentally induced pulpitis,” *Journal of Dental Research*. 2016; 95(2):196-205.

Renn TY, Huang YK, Feng SW, Wang HW, Lee WF, Lin CT, Burnouf T, Chen LY, Kao PF, Chang HM. Prophylactic supplement with melatonin successfully suppresses the pathogenesis of periodontitis through normalizing RANKL/OPG ratio and depressing the TLR4/MyD88 signaling pathway. *J Pineal Res*. 2018;64(3).

Rhim RM, Park SH, Kim DS, Kim SY, Choi KK, and Choi GW. “The effect of tumor necrosis factor [TNF]- α to induce matrix metalloproteinase [MMPs] from the human dental pulp, gingival, and periodontal ligament cells,” *Journal of Korean Academy of Conservative Dentistry*. 2011;36(1):26.

Ricucci D, Loghin S, Siqueira JF. Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses. *J Endod*. 2014;40:1932-1939.

Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36(8):1277-88.

Rosales-Corral SA, Acuña-Castroviejo D, Coto-Montes A, Boga JA, Manchester LC, Fuentes-Broto L, Korkmaz A, Ma S, Tan DX, Reiter RJ. Alzheimer’s disease: pathological mechanisms and the beneficial role of melatonin. *Journal of pineal research*. 2012;52(2):167-202.

Rudra DS, Pal U, Maiti NC, Reiter RJ, Swarnakar S. Melatonin inhibits matrix metalloproteinase-9 activity by binding to its active site. *Journal of Pineal Research*. 2013;54(4):398-405.

Rupf S, Kannengiesser S, Merte K, Pfister W, Sigusch B, Eschrich K. Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. *Endod Dent Traumatol*. 2000;16(6):269-275.

Sakko M, Tjäderhane L, Rautemaa-Richardson R. Microbiology of root canal infections. *Prim Dent J*. 2016;5(2):84-89.

Samuel RO, Gomes-Filho JE, Azuma MM, et al. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clinical Oral Investigations*. 2018;22:1395-401.

Savtekin G, Tuzum MS, Uyanik LO, et al. "Effects of melatonin and 5-methoxytryptophol on synovial inflammation in the zymosan-induced rheumatoid arthritis in rats," *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2016; 9(4): 7137-7144.

Shin SJ, Lee JI, Baek SH, Lim SS. Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. *Journal of Endodontics*. 2002;28(4):313-315.

Silva LB, Neto APS, Maia SMAS, et al. The Role of TNF- α as a Proinflammatory Cytokine in Pathological Processes. *The Open Dentistry Journal*. 2019;13:332-338.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Ricucci D, Hülsmann M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. *Br Dent J*. 2014;216(6):305-312.

Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YC, Mazzi-Chaves JF, Carvalho KKT, Barbosa AFS, Versiani MA, Jacobs R, Leoni GB. Root canal preparation using micro-computed tomography analysis: a literature review. *Braz Oral Res*. 2018;32(suppl 1):e66.

Soylu MS. Rat Fizyolojisi. In:Yücel O, ed. Küçük deney hayvanlarından rat. *Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri*, Ankara, 2012; s. 22-25.

Srinath R, Acharya AB, Thakur SL. Salivary and gingival crevicular fluid melatonin in periodontal health and disease. *Journal of Periodontology* 2010;81(2):277-283.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol*. 2007;52(2):121-127.

Swain MV, Xue J. State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci.* 2009;1(4):177-188.

Takimoto K, Kawashima N, Suzuki N, Koizumi Y, Yamamoto M, Nakashima M, Suda H. Down-regulation of inflammatory mediator synthesis and infiltration of inflammatory cells by MMP-3 in experimentally induced rat pulpitis. *J Endod.* 2014;40(9):1404-1409.

Tarsa L, Bałkowiec-Iskra E, Kratochvil FJ et al. Tooth pulp inflammation increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience.* 2010;167(4):1205-1215.

Tjäderhane L, Hotakainen T, Kinnunen S, Ahonen M, Salo T. The effect of chemical inhibition of matrix metalloproteinases on the size of experimentally induced apical periodontitis. *Int Endod J.* 2007;40(4):282-289

Torabinejad M, Fouad A, Walton Re. *Endodonti Temel İlkeler ve Uygulamalar Nobel Kitabevi, İstanbul.* 2014;s:49-68.

Tothov a L, Celec P. Oxidative stress and antioxidants in the diagnosis and therapy of periodontitis. *Frontiers in Physiology.* 2017;8:1-14.

Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science.* 2011;50, 600-613.

Vaseenon S, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Effects of melatonin in wound healing of dental pulp and periodontium: Evidence from in vitro, in vivo and clinical studies. *Arch Oral Biol.* 2021;123:105037.

Virto L, Haugen HJ, Fernández-Mateos P, et al. Melatonin expression in periodontitis and obesity: an experimental invivo investigation. *Journal of Periodontal Research.* 2018;53(5):825-831.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research.* 2003;92:827-839.

Von Böhl M, Ren Y, Fudalej PS, Kuijpers-Jagtman AM. Pulpal reactions to orthodontic force application in humans: a systematic review. *Journal of endodontics*. 2012;38:1463-1469.

Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 [MMP-8] in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *International Endodontic Journal*. 2012;35(11):897-904.

Wolle CF, Zollmann LA, Bairros PO, Etges A, Leite CE, Morrone FB, Campos MM. Outcome of periapical lesions in a rat model of type 2 diabetes: refractoriness to systemic antioxidant therapy. *J Endod*. 2013;39(5):643-647.

Wolle CFB, De Aguiar ZL, Etges A, Vitalis GS, Leite CE, Campos MM. Effects of the antioxidant agent tempol on periapical lesions in rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Journal of Endodontics*. 2012;38:191-195

Wolle CFB, Zollmann LA, Bairros PO et al. Outcome of periapical lesions in a rat model of type 2 diabetes: refractoriness to systemic antioxidant therapy. *Journal of Endodontics*. 2013;39(5):643-647.

Xie Z, Chen F, Li WA, Geng X, Li C, Meng X, Feng Y, Liu W, Yu F. A review of sleep disorders and melatonin. *Neurol Res*. 2017;39(6):559-565

Xue M, March L, Sambrook PN, Jackson CJ. Differential regulation of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 by activated protein C: relevance to inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2007;56(9):2864-2874.

Yamaguchi M, Kojima T, Kanekawa M, Aihara N, Nogimura A, Kasai K. Neuropeptides stimulate production of interleukin-1b, interleukin-6, and tumor necrosis factor-a in human dental pulp cells. *Inflamm. Res*. 2004;53:199-204.

Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J*. 2007;52:4-16.

Yu MK, Lee JC, Kim JH, et al. Anti-inflammatory effect of peroxisome proliferator activated receptor gamma on human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*. 2009;35(4):524-528.

Zamolo G, Grahovac M, Žauhar G, Vučinić D, Kovač L, Brajenić N, Grahovac B. Matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, and MMP-13 are overexpressed in primary nodular melanoma. *J Cutan Pathol*. 2020 Feb;47(2):139-145.

Zero DT, Zandona AF, Vail MM, Spolnik KJ. Dental caries and pulpal disease. *Dental Clinics of North America*. 2011;55(1):29-46.

Zhang C, Suo M, Liu L, Qi Y, Zhang C, Xie L, Zheng X, Ma C, Li J, Yang J, Bu P. Melatonin Alleviates Contrast-Induced Acute Kidney Injury by Activation of Sirt3. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:6668887.

Zhang P, Wu X, Li G, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms and susceptibility to ischemic heart disease: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2017;96(14):e6569.

Zheng L, Amano K, Iohara K, Ito M, Imabayashi K, Into T, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M. Matrix metalloproteinase-3 accelerates wound healing following dental pulp injury. *Am J Pathol*. 2009;175(5):1905-1914.

EKLER



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 27/02/2019
Toplantı No : 2019/02
Proje Başvuru No : 59

Yakın Doğu Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi'nden, Sorumlu Araştırmacı Doç. Dr. Umut Aksoy tarafından hazırlanan "Sağlıklı ve kardiyomyopati ratlarda oluşturulan deneysel apikal periodontitis modelinde sistemik olarak uygulanan melatonin ve n-acetilsistein'in enflamatuvar yanıt üzerine etkilerinin biyokimyasal, histopatolojik ve radyolojik olarak incelenmesi" başlıklı araştırma önerisi Kurulumuzca etik olarak uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emine KOÇ	(BAŞKAN)	
1. Prof. Dr. Tamer YILMAZ	(ÜYE)	
2. Prof. Dr. Vedat SAĞMANLIGIL	(ÜYE)	
3. Doç. Dr. Dilek ARSOY	(ÜYE)	
4. Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT	(ÜYE)	
5. Doç. Dr. Serdar SUSEVER	(ÜYE)	
6. Yrd. Doç. Dr. Savaş Volkan GENÇ	(ÜYE)	
7. Vet. Hek. Umut SAYILI	(ÜYE)	
8. Avukat Burak NOLAN	(ÜYE)	
9. Vet. Hek. Meliha TEMİZEL	(ÜYE)	



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 12/05/2016
Toplantı No : 2016/2
Proje Başvuru No :3

Yakin Doğu Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi, sorumlu araştırmacı Yrd. Doç. Dr. Umud AKSOY tarafından hazırlanan "Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş akut pulpitiste melatonin ve 5-metoksitriptofol'ün enflamatuar yanıt etkisinin araştırılması", başlıklı araştırma önerisi; düzeltmelerin gerçekleşmesi durumunda, oy birliği ile Kurulumuz tarafından uygun bulunmuştur.

- | | | |
|------------------------------------|----------|--|
| 1. Prof. Dr. Emine KOÇ | (BAŞKAN) | |
| 2. Prof. Dr. Tamer YILMAZ | (ÜYE) | |
| 3. Doç. Dr. Dilek ARSOY | (ÜYE) | |
| 4. Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT | (ÜYE) | |
| 5. Yrd. Doç. Dr. Serdar SUSEVER | (ÜYE) | |
| 6. Yrd. Doç. Dr. Zafer Ahmed SABİT | (ÜYE) | |
| 7. Yrd. Doç. Dr. Savaş Volkan GENÇ | (ÜYE) | |
| 8. Vet. Hek. Umut SAYILI | (ÜYE) | |
| 9. Avukat Burak NOLAN | (ÜYE) | |

Öneriler:

- 1- Ötenazi yöntemi kan alındıktan sonra yüksek dozda anestezi ajanı vermek suretiyle yapılmalıdır.
- 2- Intro peritoneal uygulamada kullanılacak enjektör iğnesi çapı ve uzunluğunun değiştirilmesi.
- 3- Çalışmada kullanılan hayvan sayısında risk analizi yapılmamıştır.