

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN LİGATÜR İNDÜKLÜ DENEYSEL
PERİODONTİTİS VE TEDAVİSİNİN BEYİNDEKİ NÖRODEJENERASYON
VE NÖROENFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Sedanur YAVUZ

Periodontoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Şadiye GÜNPINAR

MART 2023

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN LİGATÜR İNDÜKLÜ DENEYSEL
PERİODONTİTİS VE TEDAVİSİNİN BEYİNDEKİ NÖRODEJENERASYON
VE NÖROENFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Sedanur YAVUZ

Periodontoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şadiye GÜNPINAR

MART 2023

Sevgili eşime, kızıma, oğluma ve kaybettiğim canım anneme,

ÖNSÖZ

Bilgi ve birikimi ile bana her zaman yol gösteren, mesleki açıdan kazanmış olduğu deneyimlerini her zaman sabırla aktaran, tecrübelerine saygı duyduğum, tez danışmanım, bölüm başkanım saygıdeğer Doç. Dr. Şadiye GÜNPINAR'a

Benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyerek bana hem hocalık hem ablalık yapan ve tez sürecim boyunca bana büyük katkıları olan çok değerli Dr. Dt. Esra DEMİR'e

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve birikimleri ile bana yol gösterip sonsuz katkılar sağlayan çok saygıdeğer Prof. Dr. Banu Arzu ALKAN, Prof. Dr. Mehtikar GÜRSEL, Doç. Dr. Umut BALLI, Uzm. Dr. Demet ŞAHİN, Uzm. Dr. Ahmet AYDOĞDU ve Uzm. Dr. Valeh GAHRAMANOV'a

Tez çalışmam süresince çalışmanın ilerlemesinde büyük katkıları olan, her zaman saygı duyduğum ve benim için emekleri çok büyük olan saygıdeğer Doç. Dr. Birsen ELİBOL'a

Büyük bir sabır ve özveri göstererek tez sürecimde bana her zaman yardımcı olan Beyza KİNSİZ'e

Uzmanlık eğitimim süresi boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Kübra KARADURAN, Ümran GÜNDOĞDU, Cansu Can YAŞAR, Ömercan AKTAR, Şeyma KÖLE, Sanubar SHAKILIYEVA ve Seda GÖNÜLAY'a ve tüm klinik personeline

Tüm bu süreç içerisinde ve her zaman benim yanımda olan, desteğini, sevgisini, ilgisini hep hissettiren ve büyük bir sabır gösteren canım eşime, kızıma ve çok değerli aileme

Tezimi 20211001 numaralı proje ile destekleyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne

Sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Mart 2023

Sedanur Yavuz
(Diş Hekimi)

BEYAN

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

Sedanur Yavuz

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	viii
SEMBOLLER	x
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Periodontal Hastalıklar	4
2.1.1 Periodontal hastalıkların sınıflandırılması	4
2.1.1.1 Periodontal sağlık.....	6
2.1.1.2 Periodontitis	6
2.1.2 Periodontal hastalığın histopatogenezi.....	9
2.1.3 Periodontitiste konak immün yanıtı	10
2.1.4 Periodontal hastalıkta NLRP3 inflamazomun rolü	11
2.1.5 Periodontal hastalıkların tedavisi	12
2.1.6 Periodontal hastalığın tedavisinde klorheksidinin rolü	14
2.1.7 Deneysel periodontitis modelleri	15
2.2 Alzheimer Hastalığı	17
2.2.1 Alzheimer hastalığının patolojisi	18
2.2.1.1 Kolinergik hipotez.....	19
2.2.1.2 Amiloid hipotezi.....	19
2.2.1.3 Tau hipotezi.....	20
2.2.1.4 Alzheimer hastalığına oksidatif stresin katkısı	20
2.2.1.5 Alzheimer hastalığında kalsiyum homeostazı.....	21
2.2.2 Alzheimer hastalığında nöroenflamasyonun rolü	21
2.2.3 Alzheimer hastalığında NLRP3 inflamazomun rolü.....	24
2.2.4 Alzheimer hastalığı ve periodontal hastalık.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1 Hayvanların Temini	28
3.2 Çalışma Grupları	28
3.3 Deneysel Alzheimer Modeli	29
3.3.1 Pasif sakınma testi.....	31
3.3.2 Morris su labirenti	32
3.4 Deneysel Periodontitis Modeli.....	34
3.4.1 Periodontal parametrelerinin değerlendirilmesi.....	35
3.4.1.1 Sondalama cep derinliği (SCD)	35

3.4.1.2 Gingival kanama indeksi [199]	36
3.4.1.3 Mobilite [200]	36
3.5 Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi.....	37
3.6 Sıçanların Sakrifikasyonu ve Örneklerin Alınması.....	38
3.7 Alveolar Kemik Kaybı (AKK) Ölçümü	39
3.8 Biyokimyasal Analizler.....	40
3.8.1 Hipokampus ve BOS örneklerinde hiperfosforile tau seviyesinin değerlendirilmesi.....	40
3.8.2 Hipokampus, BOS ve serum örneklerinde NLRP3 seviyesinin değerlendirilmesi.....	42
3.9 İstatistiksel Analizler	43
4. BULGULAR.....	44
4.1 Pasif Sakınma Testi.....	44
4.2 Morris Su Labirenti Testi	45
4.3 Sondalama Cep Derinliği (SCD).....	50
4.4 Gingival Kanama İndeksi (GKİ).....	52
4.5 Mobilite	53
4.6 Alveolar Kemik Kaybı	55
4.7 Biyokimyasal Analizler.....	56
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	69
EKLER.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	88

KISALTMALAR

AH	: Alzheimer hastalığı
PH	: Periodontal hastalık
Aβ	: Amiloid beta
p-tau	: Hiperfosforile tau
NFY	: Nörofibriler yumak
KAK	: Klinik ataşman kaybı
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
PMN	: Polimorfonükleer
EBAH	: Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı
GBAH	: Geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloid öncü proteini
MMP	: Matris Metalloproteinaz
IL	: İnterlökin
IFN-γ	: İnterferon- γ
PDLF	: Periodontal ligament fibroblastları
GF	: Gingival fibroblastlar
MIP	: Makrofaj inflamatuvar proteini
NF-kB	: Nükleer faktör kappa B
SDF	: Stromal kaynaklı faktör
PRR	: Patern tanıma reseptörleri
TLR	: Toll like reseptör
CHX	: Klorheksidin
LPS	: Lipopolisakkarit
APOE	: Apolipoprotein E
AβP	: Amiloid beta peptit
LRP	: Lipoprotein reseptörü ile ilgili protein
MSS	: Mine sement sınırı
MAP	: Mikrotübül ile ilişkili protein
OS	: Oksidatif stres
SSS	: Santral sinir sistemi
KBB	: Kan beyin bariyeri
TNF	: Tümör nekrotizan faktör
CCL	: C-C motif kemokin ligandı
NO	: Nitrik oksit
CXCL	: CXC motif kemokin ligandı
NMDA	: N-metil-D-aspartat
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
STZ	: Streptozosin
aCSF	: Yapay beyin omurilik sıvısı
AKK	: Alveoler kemik kaybı

GKİ	: Gingival kanama indeksi
SCD	: Sondalama cep derinliği
BİE	: Beyin içi enjeksiyon
ELISA	: Enzim bağlı immunosorbent deneyi
NLRP3	: Nod benzeri reseptör protein 3
COPT	: Cerrahi olmayan periodontal tedavi



SEMBOLLER

°C	: Derece Santigrat
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
pg	: Pikogram
s	: Saniye

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Periodontal ve peri-implant hastalık ve durumlarının sınıflandırılması	5
Tablo 2.2: Periodontitisin evreleri.....	7
Tablo 2.3: Periodontitisin dereceleri	8
Tablo 4.1: Pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)	44
Tablo 4.2: Deney sonu pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s).....	45
Tablo 4.3: Morris su tankında platformu bulana kadar havuzda yüzülen mesafenin gruplar arası karşılaştırılması (cm).....	46
Tablo 4.4: Morris su tankında platforma ulaşma süresinin gruplar arası karşılaştırılması (s).....	47
Tablo 4.5: Sondalama cep derinliğinin (SCD) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması (mm)	51
Tablo 4.6: Gingival kanama indeksinin (GKİ) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	52
Tablo 4.7: Mobilitenin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.8: Alveoler kemik kaybının (AKK) gruplar arası karşılaştırılması (mm)	55
Tablo 4.9: BOS ve hipokampüsteki p-tau miktarının gruplar arası karşılaştırılması (pg/ml).....	56
Tablo 4.10: BOS, serum ve hipokampüsteki NLRP3 miktarının gruplar arası karşılaştırılması (ng/ml)	57

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Alois Alzheimer ve hastası Auguste D.	17
Şekil 3.1: Ketalar anestezi ve Rompun	29
Şekil 3.2: Deneysel Alzheimer modeli ve streptozosin enjeksiyonu	30
Şekil 3.3: May Passive Avoidance programı	31
Şekil 3.4: Pasif sakınma düzeneği.....	32
Şekil 3.5: Morris su tankı	33
Şekil 3.6: Su tankında yüzdürülen sıçanın platformu bulması.....	33
Şekil 3.7: Sıçanların genel anestezi altına alınması	34
Şekil 3.8: Sıçanların düz bir zemin üzerinde sabitlenmesi	34
Şekil 3.9: Üst 2. azı dişine 4/0 ipek süturun yerleştirilmesi.....	35
Şekil 3.10: Sondalama cep derinliği ölçümü.....	35
Şekil 3.11: A. Üst sol 2. azı dişi bölgesinden süturlar uzaklaştırılmadan önce (21. gün) B. Süturun uzaklaştırılmasından hemen sonra periodontal parametrelerin değerlendirilmesi.....	37
Şekil 3.12: Klorheksidin jel.....	37
Şekil 3.13: Klorheksidin jelin üst sol 2. azı bölgesine uygulanması.....	38
Şekil 3.14: Sprague Dawley sıçandan çıkartılan tam beyin örneği.....	38
Şekil 3.15: Alveoler kemik kaybı ölçümü.....	39
Şekil 3.16: Stereomikroskopi cihazı	40
Şekil 3.17: Boncuklu homojenizatör.....	41
Şekil 3.18: Mikroplate okuyucu	41
Şekil 3.19: Durdurucu solüsyon ilavesinden sonra p-tau elisa kitinde kuyulardaki renk değişimi	42
Şekil 3.20: Durdurucu solüsyon ilavesinden sonra NLRP3 Elisa kitinde kuyulardaki renk değişimi.....	43
Şekil 4.1: T ₀ Başlangıç pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)	44
Şekil 4.2: Deney sonu pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s).....	45
Şekil 4.3: Morris su tankında platformu bulana kadar havuzda yüzülen mesafe (cm)	46
Şekil 4.4: Morris su tankında platforma ulaşma süresi (s).....	47
Şekil 4.5: Morris su tankında gruplara ait yüzme hızı (cm/s).....	48
Şekil 4.6: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde platform çeyreğinde geçirilen sürenin toplam süreye oranı	48
Şekil 4.7: Morris su tankı platformsuz probe deneyinde A40 alanında geçirilen toplam süre (s).....	49
Şekil 4.8: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde platform çeyreğine ve A40'a giriş sayıları.....	49
Şekil 4.9: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde izlenen yol	50
Şekil 4.10: Alveoler kemik kaybının gruplar arası karşılaştırılması (mm).....	55

Şekil 4.11: BOS (a) ve hipokampüsteki (b) p-tau miktarının gruplar arası karşılaştırılması (pg/ml)	57
Şekil 4.12: BOS, serum ve hipokampüsteki NLRP3 miktarının gruplar arası karşılaştırılması (ng/ml)	58



SIÇANLARDA OLUŞTURULAN LİGATÜR İNDÜKLÜ DENEYSEL PERİODONTİTİS VE TEDAVİSİNİN BEYİNDEKİ NÖRODEJENERASYON VE NÖROENFLAMASYON ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Nöroenflamasyon Alzheimer hastalığı (AH)'nın patolojisinde önemli bir rol oynar ve sistemik enflamasyona bağlı olarak oluşabilir. Periodontal hastalığa bağlı olarak meydana gelen enflamasyon AH ile ilişkili nöroenflamasyonu arttırabilir. Bu çalışmanın amacı, deneysel periodontitis ve AH oluşturulan sıçanlarda periodontal hastalığın ve cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT)'nin davranışsal parametreler, beyin dokusundaki nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerine etkisini araştırmaktır.

Bu çalışmada 64 adet Sprague Dawley sıçan kullanıldı. 28 adet sıçanda beyin içi streptozosin enjeksiyonu ile AH oluşturuldu. 32 adet sıçanda üst sol 2. azı dişlerine 4/0 ipek sütur bağlanarak deneysel periodontitis oluşturuldu. Periodontitis oluşturulan 32 adet sıçanın 16'sına CHX jel uygulaması ile COPT yapıldı. Tüm sıçanların periodontal parametreleri deneysel periodontitisin oluşturulmasından önce (0. gün), süturlar uzaklaştırılmadan hemen önce (21. gün) ve COPT sonrası (41. gün) değerlendirildi. Tüm sıçanlara pasif sakınma ve Morris su labirenti testi yapılarak davranışsal parametreleri değerlendirildi. Sıçanların yarısı 21. gün, diğer yarısı 41. gün sakrifiye edilerek hipokampus, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serum örnekleri alındı. Alınan örneklerde Nod benzeri reseptör protein 3 (NLRP3) ve hiperfosforile tau (p-tau) seviyeleri ELISA yöntemi ile değerlendirildi. Sıçanlardan alınan maxilla örneklerinde alveoler kemik kaybı morfolometrik analiz ile ölçüldü.

Alzheimer ve alzheimer+periodontitis oluşturulan sıçanlarda pasif sakınma test sonuçlarının kontrol grubuna göre daha kısa ($p<0.05$), Morris su labirenti test sonuçlarının daha uzun olduğu ($p<0.05$), diğer taraftan, alzheimer+periodontitis oluşturulan sıçanlarla sadece alzheimer oluşturulan gruplar arasında farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$). İlave olarak, CHX jel uygulaması ile COPT uygulaması yapılan grupların pasif sakınma ve Morris su labirenti test sonuçlarının kontrol grubu ile benzer olduğu tespit edildi ($p>0.05$). BOS p-tau seviyelerinin sadece alzheimer ve alzheimer+periodontitis oluşturulan gruplar arasında farklı olmadığı ($p>0.05$), hipokampus p-tau seviyelerinin ise alzheimer+periodontitis gruplarında sadece alzheimer oluşturulan gruplara göre daha yüksek olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. Diğer taraftan, BOS, hipokampus ve serum NLRP3 düzeyleri gruplar arasında farklı değildi ($p>0.05$).

Çalışmamızın sınırları dahilinde, periodontitisin AH'nı şiddetlendirmedeği diğer taraftan, mevcut periodontal hastalığın tedavi edilmesinin AH'nın davranışsal parametrelerinde iyileşme sağlayarak AH'nın ilerlemesini yavaşlatabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, Periodontal Hastalık, Tau Proteini, Nod Benzeri Reseptör Protein 3 İnflamazomu, Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

EVALUATION OF THE EFFECT OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND PERIODONTAL TREATMENT ON NEURODEGENERATION AND NEUROINFLAMMATION IN BRAIN OF RATS

SUMMARY

Neuroinflammation plays an important role in the pathology of Alzheimer's disease (AD) and may occur due to systemic inflammation. Inflammation due to periodontal disease may increase neuroinflammation associated with AD. The aim of this study was to investigate the effects of periodontal disease and nonsurgical periodontal treatment (NSPT) on behavioral parameters, neurodegeneration and neuroinflammation in rats with experimental periodontitis and AD.

64 Sprague Dawley rats were used in this study. AD was induced in 28 of them by intracranial streptozocin injection. Experimental periodontitis was induced by placing the 4/0 silk suture around the upper left second molars in 32 rats. NSPT was performed with CHX gel application to 16 of 32 rats with periodontitis. The periodontal parameters of all rats were evaluated before the establishment of experimental periodontitis (Day 0), before sutures were removed (Day 21), and after NSPT (Day 41). Behavioral parameters were evaluated by passive avoidance and Morris water maze test on all rats. Half of the rats were sacrificed on the 21st day and the other half on the 41st day, and following hippocampus, cerebrospinal fluid (CSF) and serum samples were collected. Nod-like Receptor Protein 3 (NLRP3) and hyperphosphorylated tau (p-tau) levels in the samples were evaluated by ELISA method. Alveolar bone loss was measured by morphometric analysis in maxilla samples.

It was determined that passive avoidance test results in rats with Alzheimer and Alzheimer+periodontitis were shorter than the control group ($p < 0.05$), and Morris water maze test results were longer ($p < 0.05$). On the other hand, it was determined that there was no difference between the rats with Alzheimer+periodontitis and the groups with only Alzheimer ($p > 0.05$). In addition, the results of passive avoidance and Morris water maze test of the groups treated with CHX gel and NSPT were found to be similar to the control group ($p > 0.05$). CSF p-tau levels were not different between only Alzheimer and Alzheimer+periodontitis groups ($p > 0.05$), while hippocampus p-tau levels were higher in Alzheimer+periodontitis groups than only Alzheimer groups ($p < 0.05$). On the other hand, CSF, hippocampus and serum NLRP3 levels were not different between the study groups ($p > 0.05$).

Within the limits of our study, it can be concluded that periodontitis does not exacerbate AD, on the other hand, treatment of existing periodontal disease may slow the progression of AD by improving behavioral parameters.

Keywords: Alzheimer's Disease, Periodontal Disease, Tau Protein, Nod-like Receptor Protein 3 Inflammasome, Nonsurgical Periodontal Treatment

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontitis, dental plağa bağılı olarak, periodontal ligament ve alveolar kemik dahil dişleri destekleyen dokuların ilerleyici yıkımı ile karakterize kronik multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalıktır [1]. Periodontal hastalık, erişkin popülasyonunda en sık görülen enfeksiyonlardan biridir ve ileri yaş gruplarında diş kaybının önemli bir nedeni olarak kabul edilir [2]. Periodontal patojenler ve bunların virülans faktörleri, periodontal dokularda doğrudan hasara yol açabilmekle birlikte konağın immün yanıtını indükleyerek dolaylı olarak da hasara neden olabilmektedir. Bunun sonucunda periodontal cep oluşumu, periodontal dokularda kronik enflamasyon ve alveolar kemik kaybı meydana gelmektedir [3].

Periodontal cep, bağlantı epiteli ülser olduğunda, bakterilerin ve endotoksinlerinin sistemik dolaşıma girmesi için bir giriş kapısı olarak işlev görür [4]. Bu nedenle, periodontitis, kronik sistemik enfeksiyonun yaygın bir kaynağı olarak kabul edilir [5]. Periodontitisin neden olduğu sistemik enfeksiyon, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık [6], diyabet [7] ve Alzheimer hastalığı (AH) [8] gibi diğer kronik enflamatuvar hastalıklarla ilişkili bulunmuştur.

Alzheimer hastalığı, yaşa bağılı nörodejeneratif bir bozukluktur ve demansın en yaygın türüdür. AH klinik olarak bellek, dil ve öğrenme kapasitesinde ilerleyici bir düşüş ile kendini göstermekte olup [9], histopatolojik olarak nöronlarda yıkım, intranöronal tau nörofibriler yumaklarının anormal birikimi ve hücre dışı amiloid-beta ($A\beta$) protein plakları ile karakterizedir [10]. Tau proteinleri, nöronların işlevini sürdürebilmesi için gerekli olan mikrotübülle ilişkili proteinlerdir [11]. Anormal derecede hiperfosforile edilmiş tau proteini, mikrotübül ağını bozarak sinaps kaybına, nöron ölümüne, beynin hipokampus bölgesinde atrofiye ve diğer bilişsel işlevlerin kaybına neden olur [12]. Amiloid-beta, amiloid öncü proteininin uygun olmayan şekilde bölünmesiyle üretilir. $A\beta_{42}$, AH'ndan etkilenen beyinlerdeki senil plakların baskın varyantıdır [13]. $A\beta$, nöronlarda tau hiperfosforilasyonunu indükler ve nöronal dejenerasyona neden olur [14]. Aynı zamanda yapılan çalışmalar ile Nod benzeri reseptör protein 3 (NLRP3)

inflamazomun da A β plakları ve nörofibriler yumaklar ile bağlantılı olduğu gösterilmiş olup [15, 16], NLRP3'ün tau patolojisini şiddetlendirebileceği tespit edilmiştir [17].

AH, çevresel ve kalıtsal faktörleri içeren karmaşık multifaktöriyel bir etiyolojiye sahiptir. Tüm AH vakalarının yaklaşık %98'i sporadiktir, bu da çevresel faktörlerin AH'na neden olmada kritik bir rol oynadığını gösterir. AH'nın patolojisinde önemli rol oynayan faktörlerden birinin de sistemik enflamasyona bağlı olarak oluşan nöroenflamasyon olduğu düşünülmüştür [18]. Yapılan çalışmalar, enflamatuvar durumu yüksek olan bireylerde bilişsel gerileme görülme olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir [19, 20]. Periodontal hastalığa bağlı olarak meydana gelen enflamasyonun da AH ile ilişkili nöroenflamasyonu artırabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [21-23]. Periodontal hastalığın mikroflorası, konak yanıtı, genetik yatkınlık, çevresel ve davranışsal faktörlerin rolünün Alzheimer hastalığının başlangıcı ve ilerlemesi üzerindeki rolüne ilişkin yapılan çalışmaların sayısı da hızla artmaktadır [24-26]. Bu ilişkinin altında yatan mekanizmalar arasında, periodontitisin neden olduğu sitokin salınımı ve bakteriyemi ile trigeminal sinir yoluyla bakterilerin beyin intrüzyonu yer alır [27]. Periodontitisin şiddeti ve periodontitise bağlı olarak oluşan klinik ataşman kaybı (KAK) da AH'nda kademeli bilişsel bozulma ile ilişkilidir [28]. Aynı zamanda periodontitiste kan-beyin bariyerini geçebilen mikrobiyota, tau proteinlerinin fosforilasyonunu ve bölünmesini indükleyebilir [29].

Alzheimer hastalığının tedavisine yönelik olarak, özellikle amiloid plakların, tau yumaklarının ve beyindeki hiperenflamatuvar yanıtın gelişiminin azaltılması konusunda çeşitli terapötik yaklaşımların umut vaat edebileceği açıktır. Bu hastalara daha etkin koruyucu ve tedavi edici yaklaşımların verilebilmesi için Alzheimer hastalığının gelişiminin daha erken saptanması ve Alzheimer hastalığı geliştirme riski taşıyan hastaların daha doğru belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Periodontal hastalık ve Alzheimer hastalığı arasındaki potansiyel bağlantılardan yola çıkarak, periodontal hastalığa bağlı mikrobiyal yükün ve enflamatuvar reaksiyonların azaltılması, bilişsel gerileme olan hastalarda, hastalığın insidansını, şiddetini veya oranını azaltmada yardımcı olabilir [11].

Tüm bu bilgiler ışığında, bu çalışmanın amacı, deneysel periodontitis ve cerrahi olmayan periodontal tedavinin AH oluşturulan sıçanlarda davranışsal parametreler, beyin dokusundaki nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bu amaçla, deneysel periodontitis ve Alzheimer hastalığı oluşturulan,

deneysel periodontitis oluşturulup cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulaması yapılan sıçanlarda pasif sakınma ve Morris su labirenti testi yapılarak davranışsal parametreleri değerlendirilecek, sıçanların hipokampüs, BOS ve serum örneklerinde NLRP3 ve hiperfosforile tau (p-tau) seviyeleri analiz edildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık (PH), periodonsiyumu (gingiva, periodontal ligament, sement ve alveolar kemik) etkileyen hastalıkları içerir ve gingivitisten viral enfeksiyonlara ve tümörlere kadar uzanır [30].

Gingivitis terimi, basitçe dişeti iltihabını ifade eder. Klinik olarak dişetinde hiperemi ve ödemle karakterize, epitelyal ataşmada ve alveoler kemikte kaybın görülmediği bir hastalıktır [31]. Popülasyonun yaklaşık %80' inde periodontal hastalığın en erken aşaması olan gingivitis görülmektedir [32]. Başlangıçta mikrobiyal dental biyofilme yanıt olarak oluşan gingivitis, tedavi edilmediği durumda periodontitise dönüşebilir [31].

Periodontitis, dental plağın birikimiyle ilişkili, periodontal ligament ve alveolar kemik dahil dişleri destekleyen dokuların ilerleyici yıkımı ile karakterize kronik çok faktörlü enflamatuvar bir hastalıktır [1]. Periodontitis, genellikle yetişkinlerde gözlenir ancak çocuklarda ve ergenlerde de ortaya çıkabilir. Periodontitisteki doku yıkım miktarı dental plak seviyesi, konak savunması ve hastalık ile ilişkili risk faktörleri ile orantılıdır [33]. Yapılan son epidemiyolojik analizler ile periodontitisin prevelansının yaklaşık %60 olduğu, şiddetli periodontitisin popülasyonun yaklaşık %24'ünü etkilediği [34] ve periodontitisin dünya çapında en yaygın görülen 6. hastalık olduğu bildirilmiştir [35].

2.1.1 Periodontal hastalıkların sınıflandırılması

Periodontal hastalığın uluslararası kabul görmüş en son sınıflaması 2017 yılında yapılmıştır. Bu sınıflandırmadan önce mevcut olan 1999 sınıflaması, klinik uygulamada ve bilimsel araştırmalarda sıkça kullanılsa da sınıflandırmanın uygulanmasının zorluğu ve teşhis belirsizliği gibi birçok eksikleri bulunmaktaydı. Bu amaçla periodontal ve peri-implant hastalıkları sınıflandırmak için yapılan 2017 dünya

çalıştayında, periodontitisin mevcut sınıflandırma sistemi yeniden gözden geçirilmiş ve mevcut sınıflandırmanın başlangıcından bu yana hastalığın epidemiyolojisi, etiyolojisi ve patogenezi ile ilgili yeni bilgiler dahil edilerek yeni bir sınıflandırma sistemi önerilmiştir (Tablo 2.1) [36].

Tablo 2.1: Periodontal ve peri-implant hastalık ve durumlarının sınıflandırılması

Periodontal ve Peri-İmplant Hastalık ve Durumlarının Sınıflandırılması			
Periodontal Hastalıklar ve Durumlar			
Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar		Periodontitis	Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar
1)Periodontal ve Gingival Sağlık 2)Mikrobiyal Dental Biyofilme Bağlı Gingivitis 3)Mikrobiyal Dental Biyofilme Bağlı Olmayan Gingivitis		1)Periodontitis 2)Nekrotizan Periodontal Hastalıklar 3)Sistemik Hastalıklara Bağlı Periodontitis	1) Periodontal Destek Dokularını Etkileyen Sistemik Hastalık ve Durumlar 2)Periodontal Apseler ve Endodontik-Periodontal Lezyonlar 3)Mukogingival Deformiteler ve Durumlar 4)Travmatik Oklüzal Kuvvetler 5)Diş ve Proteze Bağlı Faktörler
Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar			
Peri-İmplant sağlık	Peri-İmplant mukozitis	Peri-İmplantitis	Peri-İmplant Yumuşak ve Sert Doku Yetersizlikleri

2.1.1.1 Periodontal sağlık

Dünya Sağlık Örgütü, sağlık terimini, yalnızca hastalık veya sakatlığın olmayışı değil aynı zamanda fiziksel, ruhsal ve sosyal yönden de tam bir iyilik hali olarak tanımlamıştır. Bu tanıma göre periodontal sağlık, enflamatuvar periodontal hastalıktan arındırılmış bir durum olarak tanımlanabilir. Bu da, klinik olarak değerlendirildiğinde, gingivitis veya periodontitis ile ilişkili enflamasyonun olmamasının, periodontal sağlığın tanımlanması için bir ön koşul olduğu anlamına gelir. Klinik anlamda periodontal sağlık, hem bozulmamış periodonsiyumda hem de geçirilmiş hastalığa bağlı azalmış periodonsiyumda ödem, sondalamada kanama, eritem ve hastalık semptomlarının olmamasıyla ilişkilidir [37].

2.1.1.2 Periodontitis

Periodontitis, dişi destekleyen dokuların ilerleyen yıkımı ile karakterize polimikrobiyal bir hastalıktır. Periodontitisin primer özellikleri klinik ataşman kaybı (KAK) ve radyografik olarak değerlendirilen alveolar kemik kaybı, periodontal cep ve gingival kanama ile kendini gösteren periodontal doku destek kaybını içerir [38].

2017 dünya çalıştay kapsamında periodontitis için klinik anlamda şu tanım yapılmıştır:

- Komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte interdental klinik ataşman kaybı veya
- İki veya daha fazla dişte 3 mm den fazla periodontal cep gözlenmesi ve bukkal/lingual klinik ataşman kaybının 3 mm veya daha fazla olması [39]

Bu sınıflandırmaya göre periodontitis hastalığının kapsamını ve kompleksitesini tanımlamak için evreleme (4 hastalık evresi), hastalığın biyolojik özelliklerini ve ilerleme hızını tanımlamak için de derecelendirme (3 derece) sisteminin kullanımı önerilmiştir [40].

Periodontitisin evrelemesiyle ilişkili hastalığın şiddeti ve kompleksitesi olmak üzere iki önemli unsur mevcuttur (Tablo 2.2). Hastalığın şiddetini değerlendirirken öncelikle interdental klinik ataşman kaybı referans alınır ve hastalıktan en çok etkilenen dişe göre hastalık şiddeti belirlenir. Hastalığın kompleksitesi değerlendirilirken ise, vertikal defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu, diş mobilitesi, dişlerde migrasyon, diş kaybı, çiğneme fonksiyonunun kaybı gibi faktörler referans alınmaktadır [39].

Tablo 2.2: Periodontitisin evreleri

Periodontitis Evresi		Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
Hastalık Şiddeti	En Fazla Kayıp Olan Bölgedeki Interdental Klinik Ataçman Kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥8 mm
	Radyografik Kemik Kaybı	Koronal 1/3 <%15	Koronal 1/3 %15-%33	Kök Yüzeyinin orta/apikal 1/3'üne uzanan	Kök Yüzeyinin orta/apikal 1/3'üne uzanan
	Diş Kaybı	Periodontitis Kaynaklı Diş Kaybı Yok		Periodontitis Kaynaklı Diş Kaybı ≤4	Periodontitis Kaynaklı Diş Kaybı ≥5
Kompleksite	Lokal	Maksimum Sondalama Derinliği ≤4 Genellikle Horizontal Kemik Kaybı	Maksimum Sondalama Derinliği ≤5 Genellikle Horizontal Kemik Kaybı	Evre II'ye ek olarak: Sondalama Derinliği ≥ 6 mm Vertikal Kemik Kaybı ≥ 3 mm Sınıf II veya Sınıf III Furkasyon Problemi Orta Derecede Kret Defekti	Evre III'e ek olarak: Kompleks rehabilitasyon gereken durumlar; Çiğneme Disfonksiyonu Sekonder Okluzal travma (diş mobilitate derecesi ≥2) Şiddetli Kret Defekti Kapanış bozukluğu Dişlerde Yer değiştirme 20'den az diş
Kapsam ve Dağılım	Tanımlayıcı Olarak Eklenecek	Her Bir Evre İçin Dağılımın, Lokalize (<%30), Generalize veya Molar / İnsizor Karakterde Olduğu Belitilir			

Periodontitis derecelendirilirken ilerleme hızı dikkate alınır. Periodontitisin derecelendirilmesinde doğrudan kanıt olarak, eski tanısal radyografilerin değerlendirilmesi kullanılır. Dolaylı kanıt olarak ise, periodontitisten en fazla etkilenen dişteki radyografik kemik kaybı yüzdesinin hastanın yaşına bölünmesiyle elde edilen değer kullanılır. Aynı zamanda hastalığın ilerleme hızında, sigara ve diyabetin metabolik kontrolü gibi risk faktörlerinin önemli bir rol oynadığı da belirtilmiştir (Tablo 2.3) [39].

Tablo 2.3: Periodontitisin dereceleri

Periodontitis Derecesi			Derece A	Derece B	Derece C
Primer Kriter	İlerlemenin Direkt Kanıtları	Longitudinal Veriler (Radyografik Kemik Kaybı veya KAK)	5 yılın üzerinde kayıp bulgusu yok	5 yılın üzerinde <2 mm	5 yılın üzerinde ≥ 2 mm
	İlerlemenin İndirekt Kanıtları	% Kemik Kaybı / Yaş	<0.25	0.25- 1.0	> 1.0
		Vaka Fenotipi	Biyofilm miktarına göre dokularda yıkım düşük	Biyofilm miktarıyla dokularda yıkım orantılı	Biyofilm miktarına göre dokularda yıkım fazla
Derece Belirleyicisi	Risk Faktörleri	Sigara	Sigara Kullanmayan	Sigara <10/ gün	Sigara ≥ 10 / gün
		Diabet	Normoglisemik/ Diabet Teşhisi konmamış	HgAlc < %7 Diabetli Bireyler	HgAlc $\geq$ %7 Diabetli Bireyler
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	İnflamatuar Yük	Yüksek Duyarlı C Reaktif Protein (hsCRP)	< 1 mg/L	1-3 mg/L	> 3 mg/L

Biyobelirteçler	KAK/ Kemik Kaybı Göstergeleri	Tükürük, DOS, Serum	?	?	?
-----------------	-------------------------------	---------------------	---	---	---

2.1.2 Periodontal hastalığın histopatogenezi

Gingivitis ve periodontitisin gelişimi dört evreye ayrılır. Bunlar; başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşik lezyon ve ilerlemiş lezyondur [41].

Başlangıç lezyonu, mikrobiyal biyofilm birikiminden 2-4 gün sonra başlar. Biyofilme karşı düşük dereceli enflamasyon sonucunda damarsal geçirgenlik artarak polimorfonükleer (PMN) hücrelerin birleşim epitelinden gingival sulkusa göçü, sulkustan sıvı eksüdasyonu ve perivasküler kollajen kaybı gözlenir [41, 42].

Erken lezyon, mikrobiyal biyofilm birikiminden 4-10 gün sonra gelişir. Bu aşama, yoğun bir T lenfosit infiltratı ve fibroblastların patolojik değişimi ile karakterizedir. Vasküler geçirgenlikte artış, vazodilatasyon, dişeti oluğu sıvısı (DOS) akışında artış, fibroblastlarda apoptoz ve kollajen yıkımı gözlenir [41]. Kollajen yıkım miktarı ortalama %70 oranındadır. Kollajen yıkımı sonucu sulkus derinliği artar ve bunun sonucu olarak hastanın biyofilm kontrolü zorlaşır. Bu lezyonda, baskın olan hücre türleri nötrofil ve lenfositlerdir. Nötrofiller dokulardan sulkusa göç ederek bakterileri fagositoza uğratar [43].

Yerleşik lezyon, biyofilm oluşumunu takiben 2-3 hafta sonra gelişir. Erken lezyon, biyofilm kompozisyonu ve miktarı, konak duyarlılığı, lokal ve sistemik faktörlere bağlı olarak yerleşik lezyona dönüşür. Bu lezyonda aktive B hücreleri (plazma hücreleri) baskındır [41]. Enflamatuvar hücreler bağ dokusunda yoğun bir şekilde bulunmakla birlikte, birleşim ve sulkus epiteline komşu alanda, kan damarlarının çevresinde ve kollajen lif demetleri arasında da gösterilmiştir. Nötrofiller, lizozomal içeriklerini hücre dışı ortama salar ve bu durum ileri doku yıkımına neden olur. Birleşim epiteli ve sulkuler epitelden oluşan cep epiteli ülser olur ve cep epiteli sondalamaya karşı dirençsiz hale gelerek, sondalamada kanama bulgusu, kronik gingivitis oluşur. Yeterli biyofilm kontrolü sağlandığı durumda, enflamatuvar değişimler geri dönüşümlü olabilir ve bu evrede alveoler kemikte yıkım gözlenmez [41, 43].

İlerlemiş lezyon, gingivitisten periodontitise geçişin olduğu evredir. Bu evre, yerleşik lezyonun tüm özelliklerini taşır ve buna ek olarak alveoler kemik yıkımı da gözlenir.

Bu lezyonda plazma hücreleri baskındır. Plazma hücreleri ile birlikte lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu da gözlenir. Birleşim epiteli, kök yüzeyi boyunca apikale göç eder ve osteoklastik kemik yıkımı başlar. Cep derinleştikçe biyofilm bakterileri de apikale doğru ilerler. Bu durum periodontal patojenler için uygun bir ortam oluşmasına neden olur. Cep derinleştikçe, oral hijyen yöntemleri ile bakterinin uzaklaştırılması ve biyofilmin bozulması daha da zorlaşır ve yıkım döngüsü kalıcılık gösterir. Yerleşik lezyondan ilerlemiş lezyona geçişte bakteriyel yük, genetik risk faktörleri, çevresel faktörler ve konak immün yanıtı rol oynar [43].

2.1.3 Periodontitiste konak immün yanıtı

Konak bağışıklık sisteminde, patojenlere karşı iki temel bağışıklık tepkisi vardır, bunlar; doğal bağışıklık ve adaptif bağışıklıktır. Doğal bağışıklığa, enflamatuvar sitokinler, kemokinlerin salınımı, fagositik (makrofajlar, nötrofiller, dentritik hücreler) ve doğal öldürücü hücreler (NK) aracılık eder. Adaptif immün yanıt ise, antijene özgü T ve B lenfositlerin üretimi aracılık eder. B lenfositler, hücre dışı mikroorganizmaları ortadan kaldırmaktan sorumlu olan immünoglobulinleri salgılar. T lenfositler ise antijen sunan, yardımcı ve sitotoksik T lenfositlere farklılaşarak doku yıkım sürecini başlatır [44].

Oral patojenlere karşı konak immün enflamatuvar yanıtın bir sonucu olarak periodontal hastalık ortaya çıkar. Periodontal hastalıkta anahtar rol alan *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* gibi patojenlerin ürettikleri yan ürünler ve onların virülans faktörlerine bağlı olarak kollajen lifleri, alveolar kemik gibi periodontal destek dokular lokal enflamasyonun bir sonucu olarak hasar görür [45, 46].

Periodontal hastalığın kronik enflamatuvar sürecinin başlangıcından sonra lökositler, fibroblastlar veya diğer doku kaynaklı hücrelerden, matris metalloproteinazlar (MMP), diğer konak enzimleri, sitokinler ve prostaglandinler gibi çeşitli enflamatuvar moleküller salınır [45]. Bu enflamasyonun önemli bir kısmı sitokinler ile yönlendirilir [47]. İnterlökin (IL)-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-17 gibi proenflamatuvar sitokinler, akut ve kronik enflamasyona ve doku hasarına katkıda bulunur. Bununla birlikte, bu sitokinlere antagonist etki gösteren ve enflamasyonun baskılanmasında rol oynayan IL-10 gibi ikinci bir sitokin grubu da mevcuttur [48]. Proenflamatuvar sitokinler kemik rezorpsiyonunu uyarak periodontal doku yıkımına neden olurlar [49].

Doğal konak savunmasında, epitelyal hücreler nötrofil kemoaktrani olan IL-8 ' i üretir. IL-8 nötrofil göçüne neden olur [50] ve böylece kan damarlarında monosit adezyonu artar. Monositler, enflamatuvar sitokin üretiminin yanı sıra osteoklastlara farklılaşarak kemik rezorpsiyonuna neden olurlar [51]. Bununla birlikte epitel bariyeri mikroorganizmalar tarafından istila edildiğinde dentritik hücreler, antijen sunan hücre olarak hareket ederek veya IL-12 ve IL-18 üreterek bağışıklık tepkisi oluştururlar. IL-12 ve IL-18, NK hücreleri ve T hücreleri tarafından interferon-y (IFN-y) salgılanmasını destekler [52].

Doğal konak savunmasında görevli periodontal ligament fibroblastları (PDLF) ve gingival fibroblastlar (GF), periodontal bağ dokusunun ana hücreleri olarak işlev görürler. GF'ler enflamatuvar süreç ve kemik metabolizmasının önemli düzenleyicileri olan TNF- α , IL-6, IL-8, makrofaj inflamatuvar proteini (MIP)-1 alfa ve stromal kaynaklı faktör (SDF)-1'i üretir [53, 54]. PDLF'ler ise, MMP' lerin ekspresyonunu sağlar ve IL-1 β , IL-6, TNF- α ve nükleer faktör- κ B ligand (RANKL) üretimi ve salınımı yoluyla periodontal enflamasyona ve kemik kaybına katkıda bulunur [49].

Bakteriyel, fungal veya viral enfeksiyonlar dahil olmak üzere birçok mikrobiyal patojene karşı doğal bağışıklıkta önemli bir rol oynayan bir başka kompleks de Nod Benzeri Reseptör Protein 3 (NLRP3) inflamazomdur [55]. Monositler, makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi bağışıklık hücreleri, NLRP3 inflamazomu eksprese ederler [56]. NLRP3, bakteriyel enfeksiyon, hücre dışı ATP sentezi ve endoplazmik retikulum stresi gibi çeşitli uyaranları algılayabilir [57].

2.1.4 Periodontal hastalıkta NLRP3 inflamazomun rolü

İnflamazomlar, vücudun bağışıklık sisteminin önemli bir parçası olan hücre içi patern tanıma reseptörleri (PRR)'ler tarafından bir araya getirilen çoklu protein kompleksleridir [58]. NLRP3, apoptozla ilişkili en tipik enflamatuvar araçlardan biridir. Toll benzeri reseptör (TLR)'leri, patojenle ilişkili moleküler patern (PAMP)'leri tanıyabilen ve hasarla ilişkili moleküler patern (DAMP)'lere zarar verebilen ve nükleer faktör kappa B'yi (NF- κ B) aktive edebilen bir grup PRR'dir. NF- κ B aktivasyonu sonucunda pro-IL-1 β oluşmakta devamında NLRP3 ekspresyonu meydana gelmektedir. Bu, NLRP3 enflamatuvar aktivasyonunun ilk adımıdır. İkinci

adımında NLRP3, pro-kaspaz-1'in kaspaz-1'e bölünmesine, ardından, pro-IL-1 β 'nin IL-1 β 'ye dönüştürülmesine yol açar [59, 60].

Son zamanlarda, NLRP3 inflamazomu ve periodontitis arasındaki ilişkiye daha fazla dikkat çekilmiştir ve NLRP3'ün, periodontitis ve çok çeşitli enflamatuvar hastalık modellerinde doğuştan gelen bağışıklık tepkisini etkilediği gösterilmiştir [61]. NLRP3'ün sitokin ve antikorların üretimi için T ve B lenfositlerini uyardığı ve bunun sonucunda monositlerinden ve fibroblastlardan prostaglandin E2'nin salınmasını teşvik ederek periodontal doku yıkımına neden olduğu gösterilmiştir [62].

NLRP3, IL-1 β 'yi uyararak osteoklastların oluşumuna ve alveolar kemik rezorpsiyonuna, nötrofillerin kemotaksisini etkileyerek de endotel disfonksiyonuna neden olur [63]. Bununla birlikte, NLRP3 uygun koşullar altında osteoklastlara farklılaşabilen monositlerde/ makrofajlarda yüksek oranda eksprese edilir [64]. Yapılan bir çalışmada, NLRP3'ün ligatür kaynaklı deneysel periodontitiste, osteoklast farklılaşmasını teşvik ederek alveolar kemik kaybını düzenlediği ortaya konulmuştur [65]. Yapılan başka bir çalışmada, periodontal hastalığın tedavisinden sonra NLRP3 seviyelerinde önemli bir düşüş olduğu ve NLRP3 düzeyleri ile klinik ataşman kaybı ve sondalama derinliği arasında anlamlı bir ilişki olduğu rapor edilmiştir. Sonuç olarak yazarlar, NLRP3'ün kronik periodontitiste olası bir enflamasyon göstergesi olabileceğini, ilave olarak yapılan periodontal tedavinin sonucunun değerlendirilmesinde bir parametre olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [66].

2.1.5 Periodontal hastalıkların tedavisi

Periodontitiste bakterilerin merkezi rolü göz önüne alındığında, periodontal tedavinin ilk amacı, hastalığın başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunan etyolojik faktörlerin ortadan kaldırılmasıdır. Periodontitisin ilerleme hızı, ağız hijyen alışkanlıkları ve sigara kullanımı gibi davranışsal ve lokal risk faktörlerinin (okluzal travma vs.), plak tutucu yüzeylerin (kusurlu restorasyonlar vs.) ve sistemik hastalıkların (diabet vs.) düzenli tedavilerle birlikte yönetimi ve destekleyici periodontal tedavilerin yapılması ile azaltılabilir [67].

Periodontal tedavinin ilk adımı olan Faz I periodontal tedavinin amacı, supragingival plak ve diştaşını elimine etmek, hastanın ağız hijyen motivasyonunu sağlamak ve hastalığı önemli ölçüde etkileyen risk faktörlerini kontrol altına almaktır. Tedavinin bu ilk adımı, optimal tedavi yanıtı almak ve uzun vadeli sonuçlar elde etmek için

gereklidir [38]. Supragingival biyofilm kontrolü mekanik ve kimyasal yollarla sağlanabilir. Mekanik plak kontrolü, manuel veya elektrikli diş fırçası, diş ipi, arayüz fırçaları, oral irrigatörler ile gerçekleştirilir. Buna ilave olarak, antiseptik ajanlar, diş macunları ve ağız gargaraları, probiyotikler, antienflamatuvar ajanlar ve antioksidan besinler de mekanik plak kontrolüne yardımcı olarak kullanılabilir [38].

Periodontal hastalığın etyopatogenezinde rol alan kanıtlanmış risk faktörleri sigara ve diyabettir [36]. Bu risk faktörlerinin kontrolüne yönelik olarak, hastaları davranış değişikliği konusunda eğitmek, hastalara tavsiyede bulunmak ve bazı durumlarda onları yeterli tıbbi tedaviye yönlendirmek amaçlanır [38].

Faz I periodontal tedavinin ikinci basamağı, subgingival biyofilm ve diş taşının ortadan kaldırılmasını ve kök yüzeyinin düzleştirilmesini amaçlar. Subgingival enstrümantasyon sonrasında amaç, sondalanan cep derinliğinin ≤ 4 mm olması ve sondalamada kanama olmamasıdır [38]. Subgingival enstrümantasyon, yardımcı fiziksel veya kimyasal ajanların kullanımı, konak düzenleyici ajanların kullanımı (lokal veya sistemik), lokal ve sistemik antimikrobiyallerin kullanımı ile desteklenebilir. Bu yardımcı kemoterapötik ajanlardan biri olan klorheksidin (CHX), periodontal tedaviye yardımcı en etkili antiplak ajanlardan biri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [68].

Periodontitis hastalarında, Faz I periodontal tedavinin ikinci adımına verilen yanıt ve gerekli iyileşme süresi beklendikten sonra, ≥ 6 mm sondalama derinlikleri veya karmaşık anatomik yüzeyler (kök konkavite, furkasyonlar) nedeniyle subgingival biyofilm ve diş taşının tamamen uzaklaştırılamadığı bölgelerde daha ileri tedavilere ihtiyaç duyulabilir. Tedavinin üçüncü basamağın olan Faz II periodontal tedavinin amacı, derin periodontal ceplere erişim sağlamak ve bu bölgedeki kemik defektlerini rejenere etmek veya rezeke etmektir. Bu aşama şunları içerebilir; periodontal tedavilere ilave yardımcı ajan kullanarak veya kullanmadan subgingival enstrümantasyonun tekrarlanması, flap cerrahisi, rezektif periodontal cerrahi ve rejeneratif periodontal cerrahi. Periodontal tedavi tamamlandıktan sonra hastalar destekleyici periodontal tedavi programına tabi tutulmalı ve düzenli olarak kontrol edilmelidir [38].

2.1.6 Periodontal hastalığın tedavisinde klorheksidin rolü

Son yıllarda periodontal tedaviye yardımcı olarak kullanılan, en etkili topikal antiseptik ajanlardan biri klorheksidindir [69]. Klorheksidin, 1940'larda İngiltere'de Kimya Endüstrileri İmparatorluğu "Imperial Chemical Industries" tarafından geliştirilmiştir ve 1950 yılında bir antiseptik olarak pazarlanmıştır [70]. Klorheksidinin plak inhibisyonu ilk olarak 1969'da Schroeder tarafından araştırılmıştır [71]. Yapısal formülü, iki simetrik 4-klorofenil halkası ve merkezi bir heksametilen zinciri ile bağlanan iki biguanid grubundan oluşur. Klorheksidin bir bazdır ve en yaygın oral preparatı CHX diglukonattır [72]. CHX diglukonat, suda çözünür ve fizyolojik pH'da pozitif yüklü CHX bileşenini serbest bırakarak kolayca ayrışmaktadır [73]. CHX, tükürük glikoproteinleri üzerindeki anyonik asit gruplarına bağlanarak pelikül oluşumunu ve plak kolonizasyonunu azaltır, böylece plak oluşumunu inhibe eder [72]. İlave olarak, bakterisittir ve gram pozitif bakteriler, gram negatif bakteriler, dermatofitler, mantarlar, mayalar, HBV, HIV ve çok çeşitli bakterilere karşı etkilidir [70, 72].

Klorheksidin ağız gargaralarının %0.2 ve %0.12 konsantrasyonları mevcuttur [74]. Klorheksidinin kullanım süresi, antiseptiklerin oral yüzeylere adsorpsiyon hızına bağlı olarak 30 veya 60 saniyedir ve %50'si 15 saniye içinde reseptörlere bağlanır. İdeal kullanım sıklığı, günde iki kez (sabah ve akşam) 12 saat kalıcılığa sahip olacak şekildedir [75]. Klorheksidinin jel formunun ise %1, %0.2, %0.12 lik konsantrasyonları mevcuttur. Günde bir kez uygulanan klorheksidin jelin, ağız kokusunu azalttığı ve terapötik etkiler gösterdiği bildirilmiştir [76].

Klorheksidin, ağız hijyeni prosedürlerine ilave olarak, kök yüzeyi düzleştirilmesi veya periodontal cerrahilerden sonra ve antibiyotik profilaksisine ek olarak kullanılabilir [70]. Yapılan çalışmalar diş fırçalama ile birlikte günlük ağız gargarası olarak kullanımının, diş fırçalama ve günlük diş ipi kullanımına kıyasla daha az interproksimal plak ile sonuçlandığını göstermiştir [77]. Aynı zamanda implant çevresi bakımında, klorhexidin jelin %0.2 lik konsantrasyonda kullanımının klinik olarak iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir [78]. Bunun yanında, intermaksiller fiksasyonu olan hastalarda, çürük riski yüksek olan bireylerde, bedensel ve zihinsel engelli hastalarda, oral kandidiyazise yatkınlığı olan hastalarda, protez stomatitinde, subgingival irrigasyonda, ağız kokusunu gidermek amacıyla da kullanılabilir [70].

Literatürde, CHX'in deneysel olarak oluşturulmuş periodontitis modellerinin tedavisi için de başarıyla kullanıldığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanlarda oluşturulan ligatürle oluşturulan periodontitis sonrası ligatürler uzaklaştırılmış ve periodontal durumu iyileştirmek için diş ve ilgili dokuların çevresine %2'lik klorheksidin jel topikal olarak uygulanmıştır. Uygulama süresini takip eden 20 günün sonunda değerlendirilen periodontal parametrelerde klinik olarak iyileşme olduğu tespit edilmiştir [79].

2.1.7 Deneysel periodontitis modelleri

Biyomedikal araştırmaların temel hedefi, deneysel bilginin klinik ortama çevrilerek uygulanmasıdır. Bazı çalışmalarda *in vitro* sistemler kullanılmakla birlikte, araştırmaların insanlar üzerinde yürütülmesinden önce, çalışmanın güvenliğini, etkinliğini ve tedavi sonuçlarını test etmek için hayvan deneyleri gereklidir [80].

Periodontal araştırmalarda, hastalığın gelişimini anlamak ve konak yanıtı ile arasındaki ilişkiyi belirlemek için hayvan modelleri kullanılmıştır [81]. Periodontal hastalık, hayvan modellerinde doğal olarak oluşabilir veya deneysel olarak indüklenebilmektedir [82]. Periodontal hastalık ve tedavi yöntemlerini modellemek için genellikle primatlar, köpekler, sıçanlar, tavşanlar, domuzlar ve hamsterlar kullanılır [83]. Primatlar, insana benzer ağız yapısına ve dişlere sahip olmakla birlikte doğal olarak oluşan diştaşı, plak, oral patojenler ve periodontal hastalığa sahiptir [84]. Seçilen azı dişlerinin interproksimal bölgelerine ortodontik elastik ligatürler ve süturlar yerleştirilerek plak oluşumunun teşvikinin sağlanması yoluyla da periodontal hastalık oluşturulabilir [85]. Primatlarda oluşturulan periodontitis insandakine çok benzemesine rağmen, maliyet ve özel yetiştirme gereksinimleri primatların periodontal çalışmalarda kullanımını sınırlandırmaktadır [82]. Minyatür domuzlar anatomi, fizyoloji ve hastalık gelişimi açısından insanlara benzer oral yapıya sahiptir ve 6. aydan sonra iltihabi dişeti, yoğun plak ve diştaşı ile kendini gösteren dişeti iltihabı, 16. aydan sonra ise şiddetli periodontal enflamasyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmektedir. Minyatür domuzlar, hayvancılık problemleri, maliyeti ve kullanımını destekleyen çalışmaların azlığı nedeniyle çalışmalarda pek fazla tercih edilmez [86]. Köpekler, doğal yolla oluşan periodontitis için uygun bir model sağlar ve subgingival flora insandakine benzer şekilde ağırlıklı olarak anaerobik gram (-) negatif koklar ve çubuklar, *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* içerir [87]. Köpekler, periodontal yara iyileşmesi ve rejenerasyon gibi cerrahi prosedürler için de kullanılır

[88]. Günümüzde bakım zorluğu ve yer problemi gibi nedenlerden periodontal çalışmalarda kullanımı yaygın değildir [82]. Tavşanlar, cerrahi olarak indüklenen periodontal defekt oluşturmak ve periodontal rejenerasyonu incelemek için kullanılmıştır [89, 90].

Fareler, sıçanlar ve hamsterlar, mikrobiyal ve konak tepkilerinin değerlendirilmesi için çeşitli avantajlara sahiptir. Kemirgenlerin her kadranda bir kesici ve üç azı dişi vardır. Kemirgenlerin azı dişlerinin etrafındaki gingival sulkusa ligatürlerin yerleştirilmesinden sonra biyofilm birikiminde artış meydana gelerek dişeti epitelinin bozulduğu, osteoklastogenez ve kemik kaybında artış olduğu; bu yolla periodontal hastalık geliştiği gösterilmiştir [80].

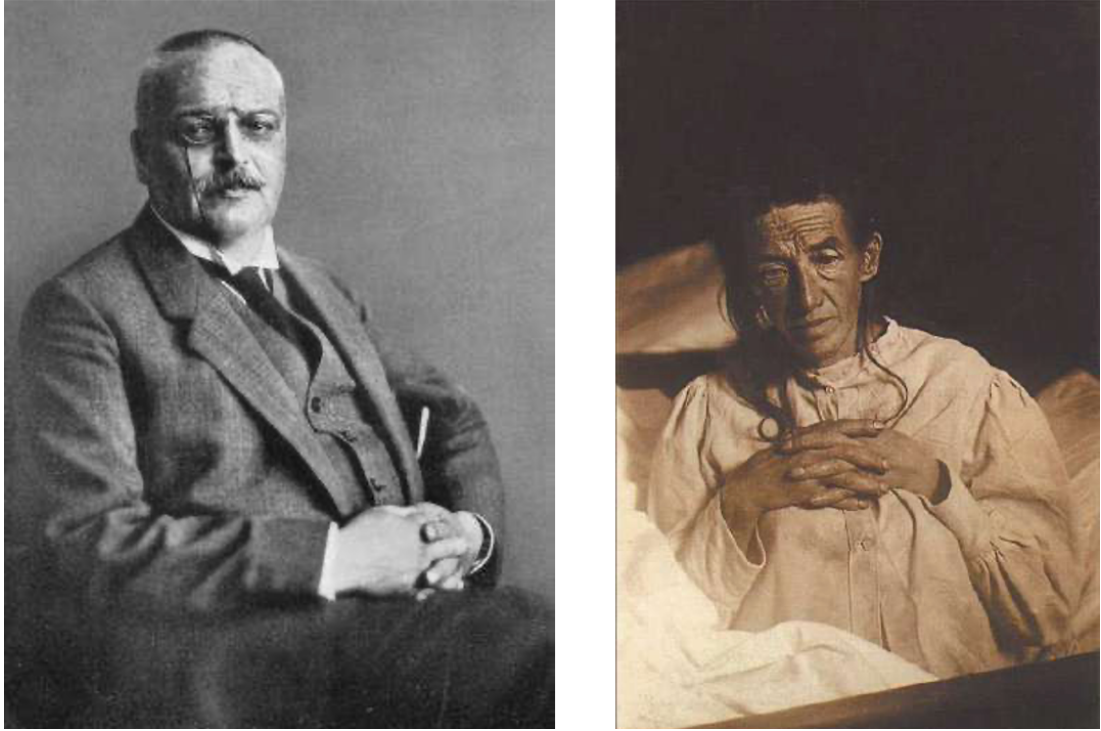
Sıçanlar, azı dişi bölgesindeki periodontal anatominin insandakine benzerliği, kullanım kolaylığı, maliyetinin uygun olması, temini, beslenmesi ve üretiminin kolay olması nedeniyle periodontitis modellerinde sıklıkla kullanılırlar [82, 91]. Deneysel periodontitis oluşturulmasında en çok kullanılan türler, Wistar veya Sprague-Dawley'dir [92, 93].

Sıçanlarda periodontal hastalık iki farklı teknik ile oluşturulabilir. Birinci yol, bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) bölgeye enjekte edilmesi ile akut bir periodontal hastalık oluşturulmasıdır. Bu modelin avantajı, hızlı bir hastalık oluşturma sürecinin olmasıdır. Bu model, çeşitli ajanların etkinliğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Dezavantajları, bakterilerin endotoksinine karşı akut bir enflamatuvar yanıt olması, enfeksiyonun sadece bakteriler tarafından oluşturulmaması ve konak yanıtının belirli hücre tiplerinde spesifik yolları temsil etmesidir. Diğer yolda, periodontal hastalığı başlatmak için azı dişlerin etrafına süturlar yerleştirilmesidir. Bu yolla plak birikimi, sulküler epitelde ülserasyon, bağ dokusunda yıkım ve alveoler kemik kaybı ile birlikte hastalık ilerlemesi gerçekleşir. Bu yöntemin periodontal hastalığın kronik tabiatını daha iyi yansıttığı düşünülmekle birlikte, bu yöntemde insan patojenleri gerekli olmamaktadır [80].

Literatürde çeşitli hayvan modelleri kullanılarak oluşturulan deneysel periodontitis modellerinde, böbrek hastalıkları [94], aterosklerotik kardiyovasküler hastalık [95], diyabet [96] ve Alzheimer hastalığı [97] gibi çeşitli kronik enflamatuvar hastalıklar ile periodontal hastalık arasındaki olası ilişkiler değerlendirilmiştir.

2.2 Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH) ilk olarak 1906'da Almanya'nın Tübingen kentindeki bir konferansta Alois Alzheimer tarafından "serebral korteksin kendine özgü şiddetli hastalık süreci" olarak tanımlanmıştır [98]. Alzheimer, 1901'de Frankfurt Hastanesi'nde yatan 51 yaşındaki bir kadın hastasında (Auguste D.) mental dejenerasyonun ilerleyişini ve semptomlarını ayrıntılı olarak belgelemiştir (Şekil 2.1). Hastalığın ana klinik semptomlarını, şiddetli bilişsel bozukluk, oryantasyon bozukluğu, afazi, sanrılar ve öngörülemez davranışlar olarak sıralamıştır. Patolojik ve anatomik incelemelerde tüm beyinde yaygın bir atrofi ve kortikal hücre kümelerinde karakteristik değişiklikler gözlemiştir [99]. Kraepelin, 1910 tarihli ders kitabında bu hastalık için "Alzheimer hastalığı" terimini önermiştir [100].



Şekil 2.1: Alois Alzheimer ve hastası Auguste D. [101, 102]

Alzheimer hastalığı (AH), yaşlılarda demansın en yaygın nedenidir ve dünya çapında insidansı giderek artmaktadır [103]. 2019 yılında AH ve diğer demans türleri dünya çapındaki ölüm nedenleri arasında 7. sırada gösterilmiştir ve yaşlı- kadın hastaları daha fazla oranda etkilediği rapor edilmiştir [104]. Bugüne kadar dünyada 47 milyondan fazla insan AH'ndan muzdariptir ve bu sayının 2050 yılına kadar 131 milyona yükseleceği öngörülmüştür [105].

AH'nda, beyindeki nöronların hasarı ile yavaş yavaş hafıza kaybı, bilişsel işlev bozukluğu meydana gelir ve ilerlediği durumlarda dil sorunları oluşur. Nöronal hasar ilerleyici ve geri döndürülemez olduğundan, hastalarda yavaş yavaş iletişim bozukluğu, yönelim bozukluğu ve davranış bozukluğu ortaya çıkar. Sonunda hastalar konuşamaz, yutamaz ve yürüyemez hale gelir [106].

AH, bireylerde hastalık özelliklerinin ortaya çıkmaya başladığı sınır yaşı olan 65 yaşına göre erken başlangıçlı AH (EBAH) ve geç başlangıçlı AH (GBAH) olmak üzere iki sınıfa ayrılır [107]. Bildirilen AH vakaları arasında erken başlangıçlı AH hastaların %5-10'unu oluşturur [108]. Erken başlangıçlı AH'nın genetik kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Hastaların çoğunluğunu oluşturan geç başlangıçlı veya sporadik AH'nın ise genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimin bir sonucu olduğuna inanılmaktadır. Yaş, AH için önemli bir risk faktörüdür. Geç başlangıçlı AH için diğer risk faktörleri arasında aile öyküsü, eğitim, yüksek yağlı diyet, hipertansiyon, diyabet, kafa travması öyküsü ve apolipoprotein E (APOE) gibi duyarlılık genleri bulunur. Tüm bu risk faktörleri arasında; yaş, aile öyküsü ve APOE4 aleli en önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir [104].

AH, hücre dışı amiloid β -peptid (A β P) plaklarının ve hiperfosforile tau proteininin intranöronal nörofibriler yumaklar (NFY) oluşumu ile karakterize edilir ve bu durum, kademeli olarak nöronal sinaps kaybına ve nihayetinde temel nörotransmitterlerin azalmasıyla nöronal dejenerasyona yol açar [109].

2.2.1 Alzheimer hastalığının patolojisi

Alzheimer hastalığının nöropatolojisi amiloid plaklar, nörofibriler yumaklar, sinaps dejenerasyonu ve nöron kaybı ile karakterizedir [110]. AH'nın kesin tanısı, otopside doğrulanan vakalarla sınırlıdır. Bu nedenle, AH'nın patolojik tanısı, hastalığın tanısı için altın standart olmaya devam etmektedir [111].

AH'nın altında yatan nörobiyolojik mekanizmalar, patolojinin anlaşılmasında kilit bir unsur oluşturmaktadır. AH'nın patolojisine dair hipotezler şu şekildedir: Amiloid peptit teorisi, kolinerjik hipotez, tau proteininin rolü, oksidatif stres ve kalsiyum teorisidir [98].

2.2.1.1 Kolinerjik hipotez

Moleküler düzeyde, kolinerjik hipotez, AH patofizyolojisini tanımlayan ilk ve en çok çalışılan yaklaşımdır [98]. Kolinerjik hipotez, üç mekanizmaya dayanmaktadır: Serebral Korteks'te tükenmiş presinaptik kolinerjik belirteçlerin keşfi [112], bazal ön beyindeki Meynert Nükleus Bazalis'in (NBM) Alzheimer hastalığında şiddetli nörodejenerasyona uğrayan kortikal kolinerjik innervasyonun kaynağı olduğunun keşfi [113] ve kolinerjik antagonistlerin hafızayı bozduğunun, agonistlerin ise tam tersi etkiye sahip olduğunun gösterilmesidir [114]. Bu hipotez, kolinesteraz inhibitörü tedavilerinin, Alzheimer hastalığı olan bireylerde önemli semptomatik iyileşme sağladığının gösterilmesi ile desteklenmiştir [115]. Diğer ilgili patofizyolojik mekanizmalar son yıllarda daha fazla araştırma konusu olmasına rağmen, kolinerjik fonksiyonu iyileştiren tedaviler Alzheimer hastalığı olan hastaların tedavisinde kritik olmaya devam etmektedir [116].

2.2.1.2 Amiloid hipotezi

Amiloid kaskadı hipotezinde, amiloid β ($A\beta$) üretimi ve klirensi arasındaki eşitsizlik, bu hipotezde en önemli faktör olup tetikleyici rol oynamaktadır. Hastalık oluşumu, amiloid öncü proteinin (APP) süreç ve salgılanmasında bir dizi anormallik olarak analiz edilmiştir ve AH'nda gözlenen diğer anormalliklerden sorumludur [117]. Amiloid β , proteolitik bozunmaya karşı yüksek dirençli bir peptit olup 1-40 ve 1-42 izoformlarının en yaygın olduğu 37-43 amino asitten oluşur [118]. 1-42 amiloid peptit izoformu en hidrofobik formdur ve en yüksek toksisiteye sahip olduğu kabul edilir [119]. Bazı APP ve $A\beta$ mutasyonları, $A\beta$ üretimini ve birikimini arttırmakta ve/veya beyindeki $A\beta$ 'nın yarı ömrünün uzamasına neden olmaktadır. Diğer taraftan, Alzheimer hastalığının sadece bir kısmının (%5) ailesel AH olduğu bildirilmiştir [120]. Amiloid kaskadı hipotezi, beyinde $A\beta$ agregatlarının birikmesinin AH gelişiminde hayati bir rol oynadığını öne sürer [121]. Alzheimer hastalarında, Amiloid β peptid konsantrasyonlarındaki bir klirens anormalliği beyinde amiloid β birikimine yol açar [122]. Amiloid β 'nin kan-beyin bariyerinden taşınmasına reseptörler aracılık eder. Peptidin beyinden kana geçişi, Lipoprotein reseptörü ile ilgili protein (LRP)-1 reseptörleri ve p-glikoproteinlerin etkisi ile etkileşim yoluyla gerçekleşir. Artan amiloid β seviyeleri ve yaşlanma, LRP-1 reseptörlerinin ekspresyonunun azalması, merkezi sinir sisteminde amiloid peptit birikmesine neden olur [98].

2.2.1.3 Tau hipotezi

Tau, hücresel işleyişin düzenlenmesinde, hücre polaritesinin kurulmasında ve hücre içi taşımada rol alan ve nöronal mikrotübülleri stabilize eden mikrotübül ile ilişkili protein (MAP)'lerden biridir. Tau, asidik bir N-terminal alan, bazik ve prolin açısından zengin orta alan, üç veya dört dahili tekrar içeren bir temel alan ve bir C-terminal alan içerir. Tau, hidrofiliktir, çözünür ve 'doğal olarak katlanmamış' bir yapı gösterir. Bazıları mikrotübül bağlama özelliklerini düzenleyen birden fazla bölgede fosforile edilebilir [123].

Az miktarda tau kümelenmesi, genel popülasyonda 30 yaşından küçük çoğu bireyinin beyinde gösterilmiştir. Yapısal olarak yanlış katlanmış hiperfosforile tau, önce patolojinin entorinal kortekse ve diğer beyin bölgelerine yayıldığı locus coeruleus'ta birikir. Bu birikim, tau patolojisinin Braak aşamaları olarak adlandırılır ve 1 ile 6 arasında değişen skorlarda gruplandırılır. Aşama 1 ve 2, büyük ölçüde transentorhinal korteksin üst katmanlarıyla sınırlı olan gümüş lekesi-pozitif tau agregasyonunu gösterir. Aşama 3 ve 4, hipokampusun ve birkaç subkortikal çekirdeğin daha az şiddetli tutulumu ile transentorhinal ve entorhinal bölgelerin şiddetli tutulumu ile karakterizedir. Aşama 5 ve 6, neokortikal birleşme alanlarında arjirofilik tau kümelerinin yaygın oluşumunu ve evre 1 ile 4 arasında etkilenen beyin bölgelerinde patolojide daha fazla artış olduğunu göstermektedir [124].

Hiperfosforile tau proteini, hücre iskeleti proteinleri ile anormal agregasyon gösterirken mikrotübüllerle daha düşük dereceli bir etkileşim gösterir. Bu da serbest tau proteininin artmasını destekler ve daha fazla agregasyona ve kendi fibrilizasyonuna yol açar. Bunun sonucunda aksonal transport bozulur [125].

2.2.1.4 Alzheimer hastalığına oksidatif stresin katkısı

Oksidatif stres (OS), antioksidanların etkisiyle önlenemeyen, reaktif oksijen türevlerinin aşırı üretimi, aynı zamanda hücre redoks dengesinin bozulması olarak tanımlanır [126]. Nörodejeneratif hastalıklardaki ortak özelliklerden biri olan oksidatif stres ile nöronal apoptoz arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir [127]. Senil plaklar ve nörofibriler yumaklarda bulunan patolojiye ek olarak, OS varlığı AH'ndan etkilenen beyinlerin bir özelliğidir. Alzheimer hastalarında serbest radikal hasarının birikimi, beyinsel aktivitelerde değişiklikler, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonu mevcuttur [128]. Yapılan çalışmalar, Aβ'nın

AH'nda OS radikallerinin ana kaynağı ve/veya toksik bir ajan olduğunu göstermiştir [129].

2.2.1.5 Alzheimer hastalığında kalsiyum homeostazi

Tüm canlı dokularda bulunan bir hücre içi haberci olan kalsiyum, çoklu fizyolojik fonksiyonları düzenler ve çeşitli proteinlere, reseptörlere ve iyon kanallarına bağlanır. Hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesi, çeşitli hücreyel yollar için hayati önem taşır ve hücrenin hayatta kalması, ölümü ile ilgili çok karmaşık bir mekanizmaya sahiptir [130]. Kalsiyum taşıma sisteminin bozulması, hücre içi kalsiyumun aşırı yüklenmesine, çeşitli proteinlerin ve diğer substratların bölünmesine yol açar. OS, enerji üretimini bozar, protein üretimini uyarır (amiloid β ve tau proteini), nekroz ve apoptoz yoluyla hücre ölümünü indükler [131-133].

Alzheimer hastalığı, yaşlanmanın en güçlü risk faktörü olduğu çok faktörlü bir hastalıktır ve yaşlanmaya bağlı biyolojik süreçlerin de hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, AH için genetik yatkınlık, psikososyal faktörler, biyolojik faktörler ve yaşam boyunca meydana gelen çevresel maruziyetlerin kümülatif etkisi diğer risk faktörleri arasında yer alır. AH'nın gelişiminde genetik, vasküler ve psikososyal faktörlerin rolü ön planda olup diğer faktörlerin (örneğin, diyet veya beslenme faktörleri, mesleki maruziyet ve enflamasyon) etiyolojik rolüne ilişkin kanıtlar ise karmaşık veya yetersizdir [134]. Aynı zamanda yapılan son çalışmalar, AH'nın gelişimi ve bilişsel gerilemenin önemli bir patolojik faktörü olarak enflamasyonun rolünü desteklemektedir [135-137].

2.2.2 Alzheimer hastalığında nöroenflamasyonun rolü

Nöroenflamasyon, enfeksiyon, travma, iskemi ve toksinler dahil olmak üzere çeşitli patolojik faktörlerin neden olabileceği santral sinir sistemi (SSS) içindeki bir enflamatuvar yanıtı ifade eder. Nöroenflamasyon sürecinde, IL-1 β , IL-6, IL-18, tümör nekroz faktörü (TNF) dahil olmak üzere proenflamatuvar sitokinler, C-C motif kemokin ligandı (CCL) 1, CCL5, C-X-C motif kemokin ligandı (CXCL) 1 gibi kemokinler, prostaglandinler ve nitrik oksit (NO) dahil olmak üzere küçük molekülü haberciler ve reaktif oksijen türevleri rol alır [138]. Doğuştan gelen bağışıklık hücreleri olan mikrogliya ve astrositler de bu sürece katılır. Bununla beraber kan-beyin bariyeri (KBB) biyokimyasal veya mekanik hasara maruz kaldığında infiltre kan hücreleri de nöroenflamasyona katkıda bulunur [138, 139].

Proenflamatuvar moleküllerin salınımı, sinaptik disfonksiyona, nöronal hasara ve nöroenezin inhibisyonuna yol açabilir [140]. IL-1 β , prostaglandin E2 üretimini artırarak sinaptik kaybı indükler, bu da presinaptik glutamat salınımına ve postsinaptik N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonuna yol açar [141]. TNF, NF-kB yolu inhibe edildiğinde TNF reseptörü (TNFR) 1'i aktive eder ve kaspaz 8'i uyararak nöronal hasara yol açar [142]. Buna ilave olarak, mikroglianın fagositik fonksiyonunu uyaran kompleman sistemi aktive olabilir [143]. IL-1 reseptör antagonisti, IL-4, IL-10 ve IL-11 gibi anti-enflamatuvar sitokinler de nöroenflamatuvar süreç sırasında üretilerek aşırı nöroenflamasyonu önlemeye çalışırlar [144]. Bununla birlikte, nörodejeneratif hastalık açısından nöroenflamasyon, kendi kendine çözünmeyen kronik bir süreç olma eğilimindedir ve hastalığa sebebiyet veren hayati bir öneme sahiptir [145].

Çeşitli risk faktörleri tarafından indüklenen sistemik enflamasyon, sirkumventriküler organlar, vagus siniri, aktif transport veya kan beyin bariyeri yoluyla SSS'nde nöroenflamasyonu indükleyebilir [144]. Sistemik enflamasyonun mevcut olduğu genç hastalarda ölüm sonrası yapılan otopsi çalışmalarında, mikrogliarında yaşlı bireyler veya demanslı kişilerde gözlenenlere benzer morfolojik ve immünolojik değişiklikler olduğu tespit edilmiştir [146].

AH hayvan modellerinde, plak birikim aşamasından önce mikrogliyal aktivasyon gözlenmiş ve bu bulgular nöroenflamasyonun AH'nda erken bir olay olduğunu düşündürmüştür [147]. Yapılan daha ileri çalışmalar, beyne tek başına A β enjeksiyonunun primat modellerinde amiloid patolojisini indüklemek için yetersiz olduğunu, ancak lipopolisakkarit veya A β 'nın kronik sistemik enflamasyonla birlikte hayvan modellerine enjeksiyonunun amiloid plak oluşumuna neden olabileceğini göstermiştir [148].

AH'nda nöroenflamasyonun başlatıcı rolünün CD33, TREM2 ve kompleman reseptörü tip 1 gibi mikrogliyal veya doğuştan gelen bağışıklık genlerindeki mutasyonlar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [149, 150]. Reaktif mikrogliya, AH bulunan beyinlerindeki amiloid plaklara yakın şekilde lokalizedir; bu da AH'nın bu önemli patolojik özelliği ile mikrogliya arasında bir etkileşim olduğunu gösterir [151, 152]. Patolojik tau birikimi ile mikrogliyal hücre yükü arasındaki ilişkiler de otopsi çalışmalarında hem de in vivo nörogörüntüleme çalışmalarında gösterilmiştir [153, 154]. Amiloid plakların, mikrogliyal aktivasyonu ve nörofibriler yumakların ardışık

olarak ortaya çıkması, amiloid kaskadı-enflamasyon hipotezine yol açmıştır. Bu hipotez, mikrogliyal aktivasyonun, tau'nun patolojik fosforilasyonuna ve birikimine yol açan bir köprü görevi gördüğünü öne sürmektedir [155, 156].

Mikroglia'nın A β türevlerini tanıdığı reseptörler çoğunlukla Toll benzeri reseptörler (örneğin TLR1, TLR2, TLR4 ve TLR6), CD14, CD47, a β 1 integrin ve çöpçü reseptörleri (CD36 dahil) dahil olmak üzere patern tanıma reseptörleridir [157]. Bu reseptörler, mikrogliyal fenotipik değişiklikleri indükleyen moleküler yolları aktive eder. Örneğin, A β fibrillerinin TLR2'ye bağlanması, IL-8 ve TNF ekspresyonunu indükler [158]. A β varlığında çöpçü reseptörlerin aktivasyonu, NF- κ B, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yoluyla IL-1 β ve NO üretimini up-regüle eder ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolağı ve A β 'nın CD36–CD47–a β 1 integrin kompleksi tarafından tanınması, mikrogliadaki fagositik değişikliklere aracılık eder [159, 160].

A β ile indüklenen mikrogliyal enflamatuvar yanıtta ilgi çeken bir molekül, oksidatif stres tarafından indüklenen kalsiyum geçirgen bir kanal olan melastatin ile ilgili (TRPM) 2 kanalıdır [161]. A β 42'nin protein kinaz C ve NADPH oksidazın aktivasyonu yoluyla oksidatif stresi indüklediği ve bunun da ADP-riboz ve TRPM2'yi aktive ettiği öne sürülmüştür. Ortaya çıkan kalsiyum akışı daha sonra sitokin üretimini ve prolinden zengin tirozin kinaz 2-MAPK pozitif feedback yolunu aktive eder [162]. Ayrıca, NLRP3 aktivasyonunun mikrogliyanın proenflamatuvar yanıtında çok önemli bir olay olduğu ortaya çıkmıştır. Bunu kaspaz 1 ekspresyonu ve IL-1 β 'nin maturasyonu takip eder [163, 164]. NLRP3'ün uyarılması iki aşamalı bir süreçtir; birinci adım, NF- κ B'nin indüklemesi ile NLRP3'ün upregülasyonu, ikinci adım ise NLRP3'te konformasyonel değişikliğe neden olan başka bir uyarıcı ile enflamasyonun tetiklenmesidir [165]. Bu ikinci adıma aracılık eden sinyaller henüz aydınlatılmamış olsa da yapılan bir çalışmada TRPM2 aracılı kalsiyum akışının NLRP3 düzeneğini indükleyebildiği öne sürülmüştür [162]. Kompleman reseptörleri ve mikroglia üzerindeki Fc reseptörleri de dahil olmak üzere diğer reseptörler, A β ile doğrudan etkileşime girmeden doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemi ile iletişim kurarak nöroenflamasyonu düzenler, böylece fagositoza ve ayrıca proenflamatuvar yanıtı aracılık eder [166].

2.2.3 Alzheimer hastalığında NLRP3 inflamazomun rolü

Sitokinler, kemokinler ve prostaglandinler dahil olmak üzere çeşitli enflamatuvar medyatörlerin AH gibi nörodejeneratif bozuklukları olan hastaların ölüm sonrası beyin dokularında ve beyin omurilik sıvısında (BOS) artış gösterdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [167, 168].

Yapılan çok sayıda çalışma, AH'nda ve AH bulunan hayvan modellerinde A β plaklarını çevreleyen mikroglia'da IL-1 β 'nin yüksek ekspresyonunu göstermiştir [169, 170]. Mikroglial NLRP3 enflamatuvar aktivasyonu ile fibriller A β arasındaki ilişki ilk olarak Halle ve arkadaşları tarafından *in vitro* olarak gösterilmiş olup NLRP3 aktivasyonunun IL-1 β 'nin matürasyonu ve ekspresyonu ile sonuçlandığını göstermişlerdir [171].

NLRP3 inflamazomun, A β plakları ve nörofibriler yumaklar arasında bir bağlantı oluşturduğunu öne süren ilk çalışma, Ising ve ark. tarafından yapılmıştır [17]. Hem A β akümüülasyonu ve depozisyonu hem de nörofibriler yumakların oluşumu sitozolik PRR'lar tarafından tespit edilir ve mikroglia'da NLRP3 enflamatuvar aktivasyonu meydana gelir [172, 173]. NLRP3 aktivasyonu, P301S geninde mutasyon bulunan ve tau proteinini aşırı eksprese eden bir fare modeli olan PS19 farelerinde tau kümeleri ile bağlantılı bulunmuştur. NLRP3 inflamazom aktivasyonu ve tau arasındaki ilişki yapılan çalışmalarla araştırılmış olup [15, 16], NLRP3'ün AH oluşturulan fare modellerinde tau patolojisini şiddetlendirdiği tespit edilmiştir [17].

2.2.4 Alzheimer hastalığı ve periodontal hastalık

Birçok faktör yaşam boyu kümülatif zararlı etkiler oluşturarak Alzheimer hastalığı için potansiyel bir risk faktörü haline gelebilir. Bu risk faktörleri arasında enfektif ajanlar, konak immün yanıtı, serebrovasküler hastalık, düşük bilişsel zeka, düşük fiziksel aktivite, alkol alımı, diş kaybı, yaş, kafa travması, kadın cinsiyet yer almaktadır [174]. Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalığı için risk faktörü olabilecek etkenlerden birisinin de periodontal hastalık olduğu gösterilmiştir [21].

Periodontal hastalıkta, konak yanıtı tarafından sistemik dolaşıma erişim sağlayan sitokinler ve çok sayıda enflamatuvar aracı, sistemik etkilerin indüklenmesinde hayati bir rol oynar [175]. Kronik periodontitis artmış aterosklerotik komplikasyon riski [176], miyokard enfarktüsü [177], inme [178], kötü kontrollü diyabet [179], düşük

doğum ağırlıklı bebek riski [180], pulmoner hastalık [181], romatoid artrit [182] ve AH [183] dahil olmak üzere çeşitli durumlarla ilişkilendirilmiştir.

Periodontitis ve AH arasındaki ilişkiyi açıklamak için iki mekanizma öne sürülmüştür. Bu mekanizmalardan birincisine göre, periodontopatojen mikroorganizmalar ve konak yanıtı sonucu proenflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artış meydana gelir ve sistemik/ periferik enflamasyon durumu ortaya çıkar. Artan proenflamatuvar moleküller, kan beyin bariyerinde hasara neden olarak serebral bölgelere ulaşır. Bunun sonucunda ise mikrogial hücrelerin aktivasyonu ve nöronal hasar meydana gelir [175]. İkinci mekanizmaya göre AH ile periodontal hastalık arasındaki ilişkinin dental plakta bulunan mikroorganizmaların beyin dokusuna istilası sonucu olduğu düşünülmüştür. Dental plaktaki mikroorganizmalar beyne kan dolaşımı ya da periferik sinirler yoluyla girebilir. Bu mikroorganizmalar ve ürünleri, SSS içerisinde bir enflamatuvar mekanizma başlatır. SSS'nde enflamasyon varlığının, AH'nda görülene benzer kognitif bozulmaya yol açtığı kayda değer kanıtlarla kabul edilmiştir. Bu enflamatuvar bozukluk, nöronlar ve glial hücreler arasındaki sitokinler tarafından yönetilen etkileşimlere bağlanır. Enflamasyon nedeniyle salınan sitokinler arasında IL ailesi, TNF- α , TGF- β ve kemokinler yer alır. Bunlar aynı zamanda AH patogenezi için serum ve plazma biyobelirteçleri olarak kabul edilmiştir [175, 184].

AH ve periodontitis arasında bir ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları epidemiyolojik çalışmalar olup [185, 186], bazıları periodontitis ve A β [187] veya tau proteini [188] arasında bağlantı kuran çalışmalardır. Bu iki hastalık arasında, nedensel bir ilişki kurmaya çalışan ilişkilendirme çalışmaları, hangi hastalığın önce başladığına ilişkin veriler bulmaya odaklanmıştır [188]. Bu iki hastalık arasındaki ilişkiye yönelik bir olasılık, periodontitisin AH'nı hızlandırması veya alevlendirmesidir. Diğer bir olasılık ise AH'na sahip bireylerin optimal ağız hijyeni uygulayamayabileceği ve bunun sonucunda daha fazla dental plak birikerek, daha şiddetli periodontitis gelişebileceği yönündedir. Üçüncü bir olasılık ise periodontitis ve AH'nın enfeksiyöz ajan, genetik duyarlılık, yaşam tarzı vb. gibi ortak faktörlerden kaynaklanması olasılığıdır [189]. Bu nedensel ilişkinin araştırılması için çeşitli hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar yapılmıştır.

Dominy ve ark. tarafından yapılan yakın tarihli bir çalışmada, kronik periodontitisin gelişiminde önemli kilit taşı patojenlerinden biri olan *Porphyromonas gingivalis* ve bu bakterinin virülans faktörlerinden biri olan, gingipain adı verilen toksik proteaz

Alzheimer hastalarının beyin dokusunda tespit edilmiş olup, seviyeleri tau ve ubiquitin patolojisi ile ilişkili bulunmuştur. Yine Dominy ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları bir çalışmada oral *P. gingivalis* ile enfeksiyon sonrası, *P. Gingivalis*'in beyinde kolonize olduğu ve devamında amiloid plakların bir bileşeni olan A β ₁₋₄₂ üretiminin arttığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda, gingipainler *in vivo* ve *in vitro* olarak nörotoksik olup, normal nöronal fonksiyon için gerekli olan bir protein olan tau üzerinde de zararlı etkiler oluşturmıştır. Bu nörotoksisiteyi engellemek için küçük moleküllu gingipain inhibitörleri tasarlanıp sentezlenmiştir [190]. Duan ve ark. tarafından yapılan yakın tarihli başka bir çalışmada, Streptozocin (STZ) ile oluşturulan AH'na sahip sıçanlarda, deneysel periodontitisin bilişsel işlev üzerindeki etkisini değerlendirmek ve altında yatan mekanizmayı araştırmak amaçlanmış olup, periodontitisin, insülin sinyal yolunu bozarak ve gliosis ve nöroenflamasyonu uyarak, AH benzeri bir nörodejenerasyon oluşturduğu gözlenmiştir [97]. Önemli periodontal patojenlerden biri olan *Treponema denticola* ile AH arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik yapılan bir hayvan çalışmasında, *T. denticola* ile oral enfeksiyonun ardından farelerin beyin dokusunda *T. denticola*'nın kolonize olduğu ve hipokampusüte nöroenflamasyonu aktive ederek fosfokinaz GSK3 β aktivitesini artırdığı, aynı zamanda Ser396, Thr181 ve Thr231 bölgelerinde tau proteininin hiperfosforilasyonunu uyardığı bildirilmiştir [188]. Noble ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, daha yüksek seviyedeki serum IgG antikorlarının daha şiddetli periodontal hastalık ve şiddetlenleştirilmiş AH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [191]. Woong Lee ve ark. tarafından yapılan çalışmada, LPS enjeksiyonu yapılan farelerin hipokampusünde ve serebral korteksinde A β ₁₋₄₂ birikimi meydana gelmiş ve bir antienflamatuvar ajan olan Sulindac ile 3 haftalık ön tedavi sonrası LPS ile indüklenen hafıza fonksiyon bozukluğu ve nöronal hücre ölümünde azalma meydana gelmiştir. Bu çalışma, nöroenflamatuvar reaksiyonun AH patolojisine katkıda bulunabileceğini ve antienflamatuvar bir ajanın AH'nın önlenmesinde faydalı olabileceğini düşündürmüştür [192].

Tüm bu bilgiler ışığında, Alzheimer hastalığında periodontal hastalığa bağlı olarak oluşan nörodejenerasyon ve nöroenflamasyonun periodontal hastalığın cerrahi olmayan tedavisinden sonra azalacağı hipotezinden yola çıkarak, bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan deneysel periodontitis ve cerrahi olmayan periodontal tedavinin

davranışsal parametreler, nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerindeki etkisi değerlendirildi.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurul Komitesi'nden 14.09.2022 tarihli ve 77282 sayılı etik kurul onayı alınarak, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1 Hayvanların Temini

Spesifik patojen içermeyen 64 adet erkek Sprague-Dawley türü sıçan [193], Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'ndan temin edildi. Hayvanlar ayrı ayrı havalandırılan kafeslerde 12 saat ışık/12 saat karanlık döngüsü uygulanarak, 22 ± 2 °C' de ve %40-60 bağıl nem altında 8 hafta boyunca barınma koşullarına alıştırdı. Standart sıçan yemi (pelet) ve suyu istenildiği kadar temin edildi (ad libitum) [92]. Sıçanlar 8 haftalık olduklarında sağlıklı görünen, olağan büyüme gelişimi olanlar (≥ 200 g) [18] ile çalışmaya devam edildi (n=64). Bu işlemten sonra ağırlıkları birbirine yakın olan sıçanlar seçilerek önceden belirlenen gruplara yerleştirildi ve kafeslerde sadece aynı gruptan hayvanlar bir arada barındırıldı.

3.2 Çalışma Grupları

Grup 1 (Kontrol21): Hiçbir işlem uygulaması yapılmayan, 21. günde (ilk) sakrifiye edilen sağlıklı kontrol grubu (n=5),

Grup 2 (Kontrol41): Hiçbir işlem uygulaması yapılmayan, 41. günde (deney sonu) sakrifiye edilen sağlıklı kontrol grubu (n=5),

Grup 3 (Sham21): Beyin içi enjeksiyon (Bie) ile yapay BOS uygulaması yapılan ve 21. günde sakrifiye edilen sham grubu (n=5),

Grup 4 (Sham41): Beyin içi enjeksiyon ile yapay BOS uygulaması yapılan ve 41. günde sakrifiye edilen sham grubu (n=5),

Grup 5 (Alzheimer21): Beyin içi enjeksiyon ile streptozosin (STZ) uygulaması yapılan ve 21. günde sakrifiye edilen Alzheimer grubu (A21) (n=6),

Grup 6 (Alzheimer41): Beyin içi enjeksiyon ile STZ uygulaması yapılan ve 41. günde sakrifiye edilen Alzheimer grubu (A41) (n=6),

Grup 7 (Periodontitis21): Beyin içi enjeksiyon ile BOS uygulaması yapılan ve ligatür indüklü periodontitis oluşturulan, 21. günde sakrifiye edilen Periodontitis grubu (P21) (n=8),

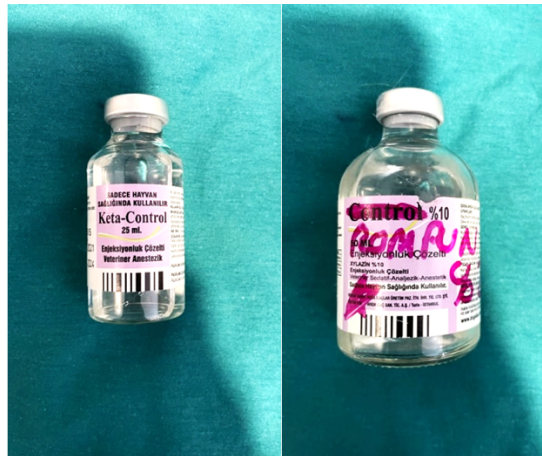
Grup 8 (Periodontitis41): Beyin içi enjeksiyon ile BOS uygulaması yapılan, ligatür indüklü periodontitis oluşturulduktan 21 gün sonra, CHX ile cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanarak 20 gün beklenen ve 41. günde sakrifiye edilen Periodontitis grubu (P41) (n=8),

Grup 9 (Alzheimer+Periodontitis21): Beyin içi enjeksiyon ile STZ uygulaması yapılan ve ligatür indüklü periodontitis oluşturulan, 21. günde sakrifiye edilen Alzheimer+Periodontitis grubu (AP21) (n=8),

Grup 10 (Alzheimer+Periodontitis41): Beyin içi enjeksiyon ile STZ uygulaması yapılan, ligatür indüklü periodontitis oluşturulduktan 21 gün sonra CHX ile cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanarak 20 gün beklenen ve 41. günde sakrifiye edilen Alzheimer+Periodontitis grubu (AP41) (n=8),

3.3 Deneysel Alzheimer Modeli

Toplamda 28 sıçana sporadik Alzheimer hastalığı oluşturmak için, Bie ile streptozotosin (STZ) verildi. Sıçanlar 35 mg/kg rompun, 50 mg/kg ketalar anestezi (Şekil 3.1) ile intraperitoneal yolla anestezi altına alınarak, hayvanların kafasında bulunan tüyler tıraşlandı. Kafaları tıraşlanan sıçanlar stereotaksi çemberine yerleştirilerek kafaları sabitlendi.

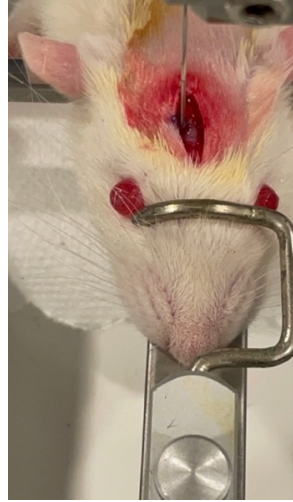


Şekil 3.1: Ketalar anestezi ve Rompun

Kafaların sabitlenmesinden sonra işlem yapılacak bölge batikon¹ yardımı ile dezenfekte edildi. Ardından 15 nolu bistüri ile sagittal insizyon yapıldı. Sağ ve sol hipokampus koordinatlarına denk gelen koordinatlar kullanılarak lateral ventriküller üzerinde her iki tarafta kafatasında delikler açıldı. Açılan deliklerin yerleri bregmanın 0.8 mm posterioru, sagittal süturun 1.5 mm laterali ve beyin yüzeyinin 3.5 mm altı olarak belirlendi [194]. Açılan deliklere 33 gauge mikroenjeksiyon kanülleri sağ ve sol bilateral olarak uygulandı. Kanül yerleştirme koordinatları, Paxinos ve Watson'ın (1998) atlası kullanılarak belirlendi.

STZ² 25 mg/ml'lik bir çözelti içindeki yapay beyin omurilik sıvısında (aCSF)³ çözüldü. Toplam 3 mg/kg STZ çözeltisi enjeksiyondan hemen önce hazırlandı. Hazırlanan STZ çözeltisi toplamda 20 µl olacak şekilde bir gün ara verilerek toplamda iki doz olacak şekilde bilateral olarak enjekte edildi (Şekil 3.2). Enjeksiyon kanülü, difüzyonu desteklemek için infüzyonu takiben bir dakika daha yerinde bırakıldı.

Sham grubundaki sıçanlara (3. Ve 4. grup) ve periodontitis grubundaki sıçanlara (7. Ve 8. grup) iki taraflı Bie ile yapay BOS enjekte edildi. Her bir sıçana bir gün ara verilerek toplamda iki doz olacak şekilde bilateral 20 µl yapay BOS enjeksiyonu yapıldı. Sagittal insizyon hattı 4-0 rezorbe olabilen, monofilaman sütur⁴ ile dikildi. Hayvanlardaki enfeksiyonu önlemek amacıyla her bir sıçana tek doz 0.1 mL Sefazon antibiyotik enjeksiyonu yapıldı [195].



Şekil 3.2: Deneysel Alzheimer modeli ve streptozosin enjeksiyonu

¹ Dermosept, Baticonol %10 Antiseptik Çözelti 100 mL, Türkiye

² SIGMA-ALDRICH, S0130-50 MG, St Louis, Almanya

³ 3 mM KCl, 140 mM NaCl, 1.2 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 0.3 mM NaH₂P0₄, 1 mM Na₂HP0₄, 3 mM D-glukoz

⁴ MonoPlus® 4/0 C0024014, Almanya

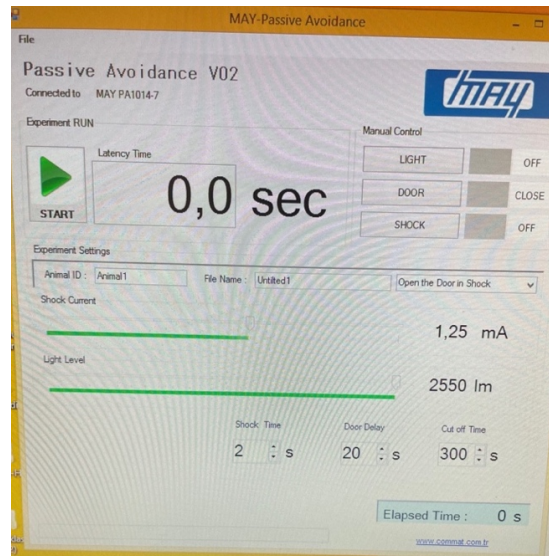
İkinci enjeksiyondan sonra deneysel Alzheimer modeli oluşması için 4 hafta beklendi. Bu sürenin sonunda tüm sıçanlara pasif sakınma testi yapıldı.

3.3.1 Pasif sakınma testi

Bu aşamada sıçanlar değerlendirilirken kontrol grubu, sham grubu ve Alzheimer grubu olmak üzere 3 grup halinde değerlendirildi. Davranış deneyi tamamlanan sıçanlar önceden belirlenen gruplara atandı.

Bu test iki bölmeli düzenekten oluşmaktadır. Bu bölmeler elektrik şoku verilmeyen aydınlık alan (40x30x26 cm ebatlarında ve 2550 lümen aydınlatmalı alan) ve elektrik şoku uygulanan karanlık alandan oluşur (40x30x26 cm ebatlarında). Bu iki oda arasında sürgülü bir geçiş kapısı (8x4,5 cm) bulunmaktadır (Şekil 3.4).

Testin ilk günü sıçanlar tek tek aydınlık bölmeye bırakıldı. Ardından test süresi başlatıldı. Sıçanların ortama alışması için 20 sn'lik bir periyod beklendikten sonra iki bölme arasında bulunan kapı otomatik olarak açıldı. Kapının açılmasından sonra sıçanların karanlık alana geçmesi beklendi. Sıçanlar karanlık alana geçtiklerinde 2 sn boyunca 1 mA elektrik akımına maruz bırakıldı. 24 saat sonra test tekrarlandı ve sıçanlar tekrar aydınlık alana bırakıldı. Sıçanlar karanlık alana geçene kadar olan süre kaydedildi. Sıçanların karanlık alana geçmesi için gereken maksimum bekleme süresi 300 saniye olarak belirlendi [196] (Şekil 3.3). Sıçanlara verilen elektrik akımı, ışık miktarı ve geçirilen süreler May Passive Avoidance programı ile hesaplandı. Sıçanların sakrifikasyonundan önce aynı prosedür izlenerek tüm sıçan gruplarına pasif sakınma testi tekrar yapıldı.



Şekil 3.3: May Passive Avoidance programı



Şekil 3.4: Pasif sakınma düzeneği

3.3.2 Morris su labirenti

Sakrifikasyon öncesi tüm sıçanlara Morris su labirenti testi uygulandı. Morris su labirenti, 210 cm genişliğinde ve 51 cm yükseklikte bir tanktan oluşmaktadır (Şekil 3.5). Tank, 45 cm yüksekliğe kadar oda sıcaklığında su ile dolduruldu. Suyun içerisine sıçanlarla kontrast oluşturmak için gıda boyası ilave edildi. Düzenek kamera bağlantılı bir bilgisayar programı ile kontrol edildi. Bu programda havuz dört eşit parçaya bölündü. Bu bölmelerden birisinin orta noktasına sıçanların üzerinde durabileceği bir platform suyun altında kalacak şekilde ve sıçanların göremeyeceği şekilde yerleştirildi. Hayvanların platformu bulmalarını kolaylaştırmak için ipucu olarak odaya çeşitli geometrik şekiller yerleştirildi. Sıçanlar bölmelerden her birinin orta noktasından bırakılarak yüzdürüldü ve platformu bulmaları için 60 sn verildi (Şekil 3.6). Bu işlem 5 gün boyunca ve 4 kadrant için de tekrarlandı. İlk gün platformu bulan sıçanların çevreyi gözlemleyebilmesi için platformun üzerinde 5-10 sn kadar durması beklendi ve sıçanlar sudan alınarak kafeslerine yerleştirildi. Platformu 60 sn içinde bulamayan sıçanlara platformun yeri öğretildi ve platformun üzerinde 5-10 sn kadar çevreyi gözlemlemesi beklendi. Diğer deney günlerinde platformu 60 sn içinde bulamayan hayvanlar direkt olarak sudan alınarak kafeslerine yerleştirildi ve parametreler kaydedildi. Deneyin altıncı gününde bellek parametrelerinin değerlendirilmesi ve sıçanların öğrenme fonksiyonlarını değerlendirmek için prob denemesi yapıldı. Prob günü, platform tankın içerisinden çıkartıldı. Platformun

bulunduğu bölmenin karşısındaki bölmenin orta noktasından sıçanlar suya bırakılarak 60 sn süresince yüzdürüldü. Bu süre içerisinde sıçanların önceden platformun bulunduğu bölmede ne kadar zaman geçirdikleri hesaplandı. Aynı zamanda sıçanların yüzme mesafesi, platforma ulaşma süresi ve yüzme hızı kaydedildi. Bu test ile sıçanların öğrenilen bilgileri saklama kapasitesi ve yeni stratejiler geliştirme kapasitesi, mekânsal öğrenmeleri ve hafızaları değerlendirildi [196].



Şekil 3.5: Morris su tankı



Şekil 3.6: Su tankında yüzdürülen sıçanın platformu bulması

3.4 Deneysel Periodontitis Modeli

Toplam 32 sıçan 35 mg/kg rompun, 50 mg/kg ketalar anestezi ile intraperitoneal olarak genel anestezi altına alındı (Şekil 3.7). Anestezinin ardından sıçanlar düz bir tahta zemin üzerine başları sabit olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 3.8). Periodontitis modelinin oluşturulması için sıçanların sol üst 2. azı dişi etrafına steril 4/0 ipek⁵ sütur materyali bağlandı ve sütur subgingival olarak yerleştirildi (Şekil 3.9) [197]. Periodontal hastalığın oluşması için 21 gün beklendi [198]. Bu süre içerisinde süturlar gün aşırı kontrol edildi. Süturun yerinde olmadığı tespit edilen sıçanlar genel anestezi altına alınarak sütur materyali tekrar bağlandı.



Şekil 3.7: Sıçanların genel anestezi altına alınması



Şekil 3.8: Sıçanların düz bir zemin üzerinde sabitlenmesi

⁵ ALCASILK® 4/0 E0625V3T75, Türkiye



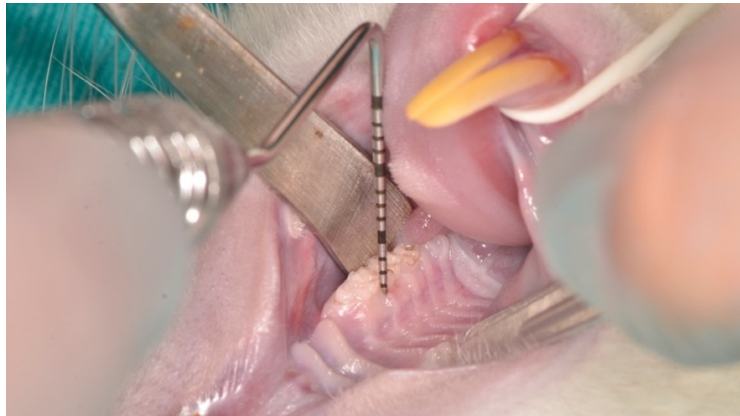
Şekil 3.9: Üst 2. azı dişine 4/0 ipek sütünun yerleştirilmesi

3.4.1 Periodontal parametrelerinin değerlendirilmesi

Deneyisel periodontitisin oluşturulmasından önce (0. Gün), sütünlar uzaklaştırılmadan hemen önce (21. gün) ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonra (41. gün) periodontal parametreler değerlendirildi.

3.4.1.1 Sondalama cep derinliği (SCD)

Sıçanların üst sol 2. azı dişlerinin 6 noktasından (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) SCD ölçümleri alındı [199]. Sondalama derinliği ölçümlerinde yuvarlak uçlu bir sonda⁶ kullanıldı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Sondalama cep derinliği ölçümü

⁶ Hu-Friedy 15 UNC Coler-Coded Probe 7147571, Amerika Birleşik Devletleri

3.4.1.2 Gingival kanama indeksi [199]

Üst sol 2. azı dişleri 6 noktasından (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) sondalandı⁷ ve 10 saniye beklendi. Mevcut kanama aşağıda belirtildiği şekilde skorlandı:

- Skor 0: Gingival marjin ve gingival papilla sağlıklıdır ve hafif sondalama basıncından sonra kanama görülmez.
- Skor 1: Gingival marjin ve gingival papilla hafif iltihaplıdır ve hafif sondalama basıncından sonra kanama gözlenmez.
- Skor 2: Gingival marjin ve gingival papilla hafif derecede iltihaplıdır; hafif sondalama basıncı sonrası renk değişiklikleri, ödem yokluğu ve noktasal kanama oluşumu gözlenir.
- Skor3: Gingival marjin ve gingival papilla orta derecede iltihaplıdır; renk değişiklikleri, hafif ödem ve hafif sondalama basıncı sonrası gingival sulkusta çizgisel kanama görülür.
- Skor 4: Gingival marjin ve gingival papilla ciddi şekilde iltihaplıdır; hafif sondalama basıncı sonrası renk değişiklikleri, şiddetli ödem ve gingival sulkusu dolduran kanama görülür.
- Skor 5 Gingival marjin ve gingival papilla ciddi şekilde iltihaplıdır; renk değişiklikleri, şiddetli ödem, ülser, hafif sondalama basıncı sonrası spontan kanama ve gingival sulkustan taşan kanama gözlenir.

3.4.1.3 Mobilite [200]

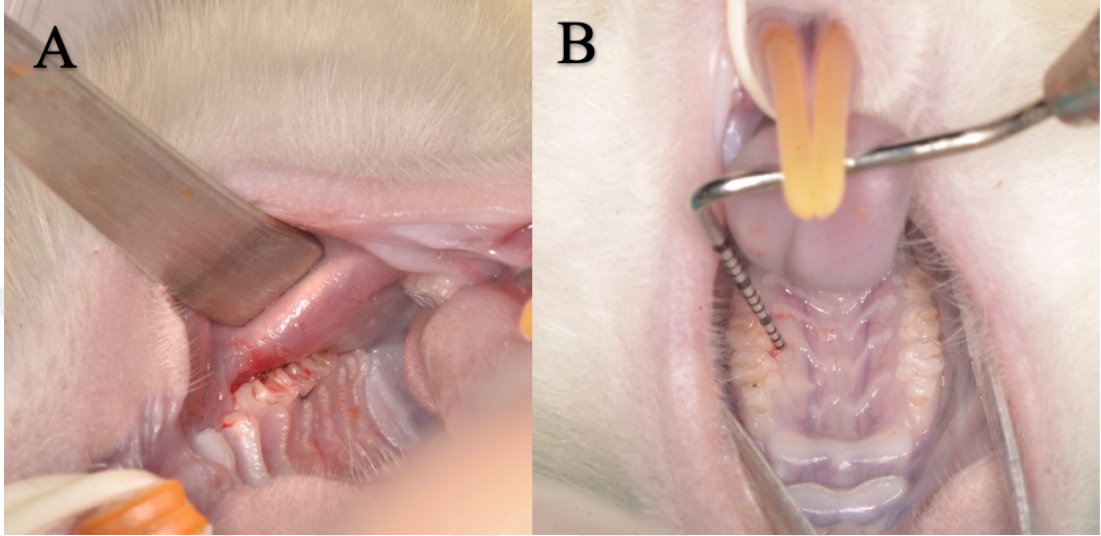
Sıçanların 2. azı dişinin iki el aleti yardımı ile bukkal lingual ve vertikal olarak mobilite durumu değerlendirildi. Mobiliteyi değerlendirmek için ise şu skala kullanıldı:

- 0 = mobilite yok
- 1 = hafif mobilite (vestibüler-palatal yönde)
- 2 = orta derecede mobilite (vestibüler-palatal ve mesial-distal yönde)
- 3 = şiddetli mobilite (vertikal)

⁷ Hu-Friedy 15 UNC Coler-Coded Probe 7147571, Amerika Birleşik Devletleri

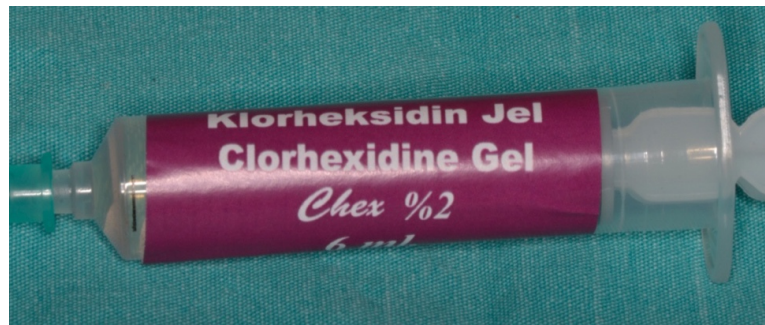
3.5 Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

Periodontal hastalığın oluşması için gereken 21 gün beklendikten sonra 7-8-9-10. gruptaki toplam 32 sıçanın süturları genel anestezi altında uzaklaştırıldı (Şekil 3.11A). Süturların uzaklaştırılmasından sonra tüm sıçan gruplarında üst sol 2. azı diş bölgesindeki periodontal parametreler tekrar kaydedildi (Şekil 3.11B) [94].



Şekil 3.11: A. Üst sol 2. azı dişi bölgesinden süturlar uzaklaştırılmadan önce (21. gün) **B.** Süturun uzaklaştırılmasından hemen sonra periodontal parametrelerin değerlendirilmesi

Süturun uzaklaştırılmasından sonra 8. ve 10. gruptaki toplam 16 sıçanın üst sol 2. azı dişi ve çevresindeki dokulara klorheksidin jel⁸ (Şekil 3.12), bir bond çubuğu yardımıyla topikal olarak tek sefer uygulandı (Şekil 3.13). Uygulama sonrası 20 gün beklendi [79] ve 20 gün sonunda periodontal parametreler tekrar kaydedildi.



Şekil 3.12: Klorheksidin jel

⁸ BEST® BST.SPT36, Türkiye



Şekil 3.13: Klorheksidin jelin üst sol 2. azı bölgesine uygulanması

3.6 Sıçanların Sakrifikasyonu ve Örneklerin Alınması

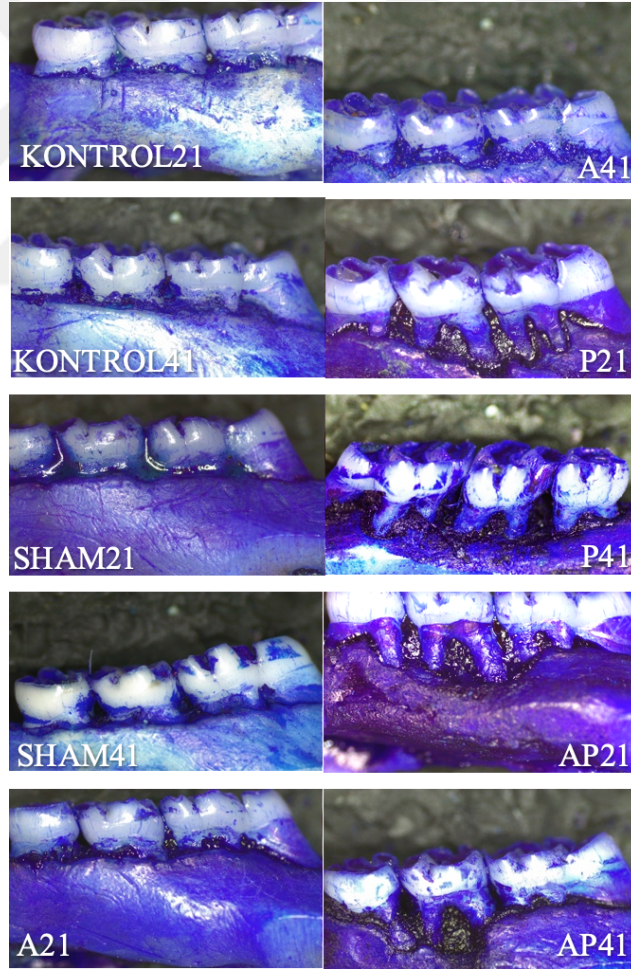
1-3-5-7-9. gruplardaki sıçanlar deneysel periodontitisin oluşturulmasından 21 gün sonra, 2-4-6-8-10. gruplardaki sıçanlar ise 41 gün sonra intraperitoneal olarak genel anestezi altına alındı. Anestezi altına alınan sıçanlar dekapitasyon yöntemi kullanılarak sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanlardan hipokampus, BOS, serum ve maxilla örnekleri alındı (Şekil 3.14). Serum örnekleri, oda sıcaklığında 10-20 dakika, 2000-3000 rpm hızında 20 dakika santrifüjlendi. Alınan hipokampus, BOS ve santrifüjlenen serum örnekleri -80 °C de örneklerin analizi yapılmıncaya kadar saklandı. Alınan maxilla örnekleri ise +4 °C de saklandı.



Şekil 3.14: Sprague Dawley sıçandan çıkartılan tam beyin örneği

3.7 Alveolar Kemik Kaybı (AKK) Ölçümü

Toplanan maxilla örnekleri 4 saat boyunca sodyum hipoklorit içerisinde bekletildi. Ardından yumuşak dokular mekanik olarak temizlendi. Numuneler mine sement sınırı (MSS)'nı belirginleştirmek için 1 dakika boyunca metilen mavisi solüsyonu (1g/100mL) ile boyandı [201]. Boyanan numuneler stereomikroskopi cihazı⁹ (Şekil 3.16) kullanılarak $\times 2$ büyütme ile incelendi ve görüntüler kaydedildi (Şekil 3.15). Kaydedilen görüntülerde alveoler kemik kaybı maksiller sol 2. azı diş üzerinde hem bukkal hem palatinalden toplam 6 noktadan ölçüldü. Tüm ölçümler sıçanın ait olduğu gruba kör bir biçimde yapıldı. Ölçüm yapılırken MSS' den alveoler kemik tepesine kadar olan mesafe değerleri Leica Application Suit X (LAS X) programı kullanılarak mm cinsinden ölçüldü. Kaydedilen ölçüm değerlerinin istatistiksel analizi için ortalama değerler kullanıldı [202].



Şekil 3.15: Alveoler kemik kaybı ölçümü

⁹ Leica S9i microscop, Almanya



Şekil 3.16: Stereomikroskopi cihazı

3.8 Biyokimyasal Analizler

3.8.1 Hipokampus ve BOS örneklerinde hiperfosforile tau seviyesinin değerlendirilmesi

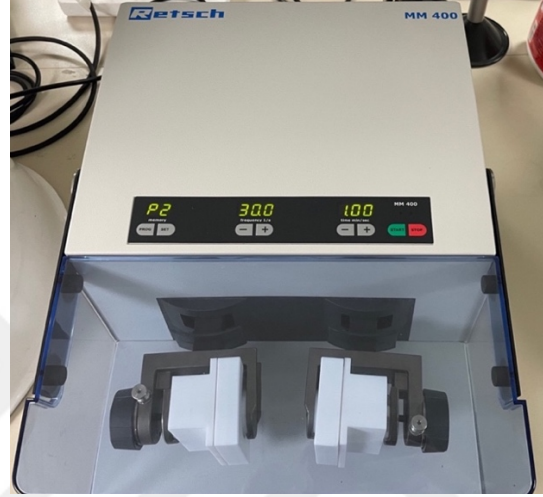
Hipokampus dokusunun protein homojenizasyonu için 250 µl RIPA lizis tamponu hazırlandı. Hipokampus örnekleri -80 °C’ den çıkartılarak, içerisinde hazırlanan lizis tamponunun bulunduğu eppendorf tüplerine koyuldu. Her bir eppendorf tüpüne 3-4 adet metal boncuk eklendi ve hazırlanan eppendorf tüpleri Boncuklu homojenizatöre¹⁰ (Şekil 3.17) yerleştirildi. Ardından örnekler 1 dakika boyunca cihazda homojenize edildi. Sonrasında, dokular 20 dakika süresince buz üzerinde inkübe edildi. Devamında, numuneler 1400 rpm, 4 °C’de 15 dakika boyuca santrifüj edildi. Her bir numune yaklaşık 50 µl olacak şekilde alıktlandı.

Homojenizasyonu yapılan hipokampus numuneleri ve -80 °C’den çıkarılan BOS numunelerinde enzim bağlı immunosorbent deneyi (ELISA) ile hiperfosforile tau seviyeleri değerlendirildi¹¹. Kit içerisinde yer alan tüm reaktifler, standartlar ve numuneler kit içerisindeki prosedürlere göre hazırlandı. Toplam 96 kuyudan oluşan kitin standart kuyularına 50µl standart solusyon mikropipetler ile koyuldu. Test kuyularına 40µl pipet numune seyreltici, ardından 10µl test numunesi eklendi. Numunelerin kuyulara eklenmesi esnasında kuyu duvarlarına temastan mümkün

¹⁰ Retsch® MM400, Almanya

¹¹ AFG Bioscience Rat ELİSA kit EK720961, Amerika Birleşik Devletleri

olduğunca kaçınıldı. Örnekler 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Ardından kuyular distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem 5 kez tekrar edildi. Her kuyuya kromojen solüsyon A 50µl ve kromojen Solüsyon B 50µl eklenerek 15 dakika ışıktan korunarak 37°C'de inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50µl durdurucu solüsyon eklendi. Solüsyonun eklenmesinin ardından mavi olan renk sarıya döndü (Şekil 3.19). 15 dakika daha beklenerek değerler 450 nm absorbansta mikropate okuyucu¹² kullanılarak kaydedildi (Şekil 3.18).

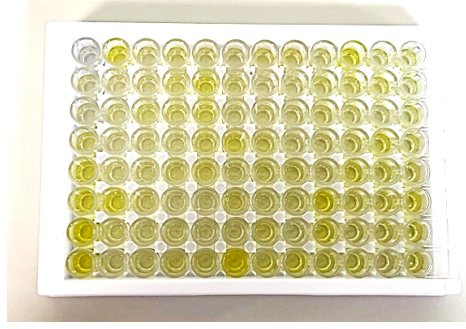


Şekil 3.17: Boncuklu homojenizatör



Şekil 3.18: Mikropate okuyucu

¹² Thermo Scientific Multiskan Go, Amerika Birleşik Devletleri



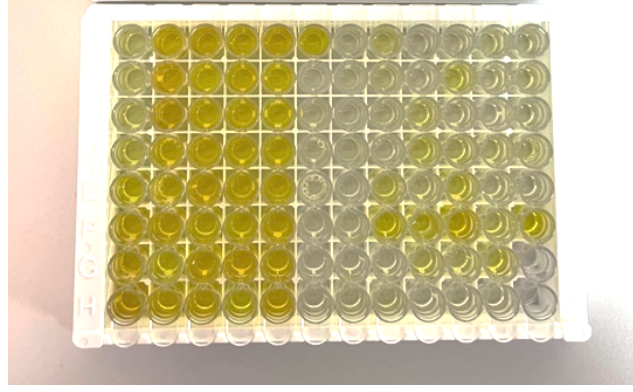
Şekil 3.19: Durdurucu solüsyon ilavesinden sonra p-tau elisa kitinde kuyulardaki renk değişimi

3.8.2 Hipokampüs, BOS ve serum örneklerinde NLRP3 seviyesinin değerlendirilmesi

Hipokampüs, BOS ve serum örnekleri -80°C 'den çıkarıldı ve ELISA kiti¹³ kullanılarak NLRP3 inflamazom seviyeleri değerlendirildi. 96 kuyudan oluşan kitte 7 kuyuya 100 μL standart solüsyon eklendi ve bir kuyu boş bırakıldı. Diğer kuyulara 100 μL numune eklendi. Ardından 37°C 'de 80 dakika inkübe edildi. Her bir kuyu 200 μL yıkama solüsyonu ile yıkandı ve 1-2 dakika bekletildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 100 μL biotinlenmiş antikor solüsyonu eklendi. Ardından 37°C 'de 50 dakika inkübe edildi. Yıkama işlemi 3 kez daha tekrarlandı. Bu işlemden sonra, her kuyuya 100 μL Streptavidin-HRP solüsyonu eklendi ve tekrar 37°C 'de 50 dakika inkübe edildi. Ardından 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sonraki adımda her kuyucuğa 90 μL TMB Substrat solüsyonu eklendi ve numuneler ışıktan korumaya özen göstererek 37°C 'de 20 dakika inkübe edildi. TMB Substrat solüsyonu herbir kuyucuğa eklendi ve sıvının renginin maviye döndüğü gözlemlendi. Ardından her kuyuya 50 μL reaksiyon durdurucu solüsyon eklendi. Durdurucu solüsyon eklendiğinde sıvı rengi sarıya döndü (Şekil 3.20). Değerler 450 nm absorbansta mikropate okuyucu¹⁴ kullanılarak kaydedildi.

¹³ ELK Biotechnology Rat Elisa kit ELK7621, Çin

¹⁴ Thermo Scientific Multiskan Go, Amerika Birleşik Devletleri



Şekil 3.20: Durdurucu solüsyon ilavesinden sonra NLRP3 Elisa kitinde kuyulardaki renk değişimi

3.9 İstatiksel Analizler

Çalışmanın örneklem büyüklüğü, önceki çalışmalar referans alınarak ortalamalar arasındaki fark 0.16 birim standart sapma 0.06 alındığında %95 güven düzeyi ve $\alpha=0.05$ anlamlılık seviyesinde %80 güç için, $n_1=n_2=n_9=n_{10}=5$, $n_3=n_4=6$, $n_5=n_6=n_7=n_8=8$, $n=64$ olarak belirlendi [203]. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-wilks testi ile değerlendirildi. Betimleyici istatistikler medyan (minimum-maksimum) ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Parametrik olmayan veriler için yapılan karşılaştırmalı analizlerde Wilcoxon testi, Kruskal Wallis testi, parametrik veriler için yapılan karşılaştırmalı analizlerde Dunn Bonferroni post test ve tekrarlı ölçüm ANOVA ve LSD post hoc test kullanıldı. Analizler SPSS 28 V paket programı ile yapıldı. $p<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Pasif Sakınma Testi

Bu çalışmada P41 grubundaki 1 (bir) adet sıçan anesteziye bağlı komplikasyon nedeniyle kaybedildi ve çalışma toplam 63 sıçan ile tamamlandı.

Çalışmaya dahil edilen 63 adet sıçana ait başlangıç pasif sakınma testi sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 de gösterildi.

Tablo 4.1: Pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)

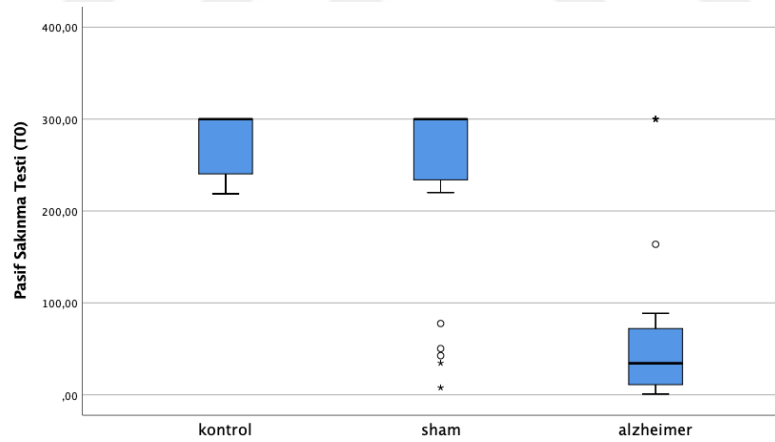
Pasif Sakınma	Kontrol	Sham	Alzheimer	p
T ₀	300,0 (218,7-300,0)	300,0 (7,8-300,0)	34,2 (0,8-300,0) ^{ab}	<0.001

Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre farklılık

b: Sham grubuna göre farklılık

T₀: Başlangıç



Şekil 4.1: T₀ Başlangıç pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)

Alzheimer grubuna ait pasif sakınma test sonuçlarının kontrol ve sham grubuna göre daha düşük olduğu ($p < 0.001$), diğer taraftan sham ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p = 1.000$).

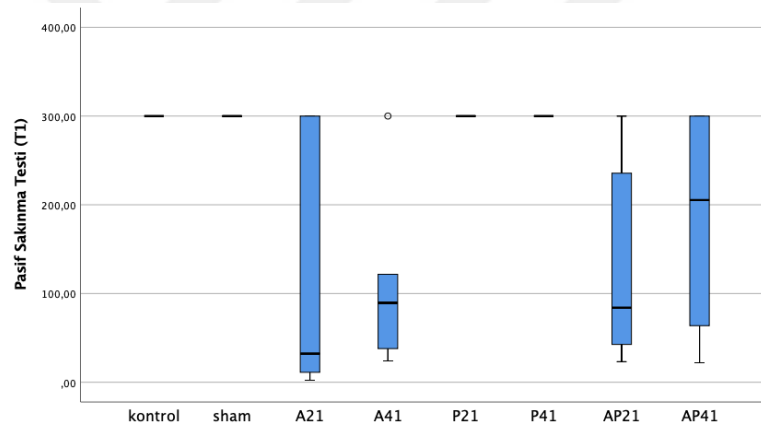
Çalışmaya dahil edilen 63 adet sıçana ait deney sonu pasif sakınma testi sonuçları Tablo 4.2 ve Şekil 4.2 de özetlendi.

Tablo 4.2: Deney sonu pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)

Grup	Pasif Sakınma (T ₁)	p
Kontrol	300,0 (300,0-300,0)	
Sham	300,0 (300,0-300,0)	
A21	32,2 (2,30-300,0) ^{ab}	
A41	89,4 (24,0-300,0) ^a	
P21	300,0 (300,0-300,0)	
P41	300,0 (300,0-300,0)	
AP21	84,0 (2,3-300,0) ^a	<0.001
AP41	205,4 (22,0-300,0)	

Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre farklılık, b: Sham grubuna göre farklılık, c: A21 grubuna göre farklılık, d: A41 grubuna göre farklılık, e: P21 grubuna göre farklılık, f: P41 grubuna göre farklılık, g: AP21 grubuna göre farklılık, h: AP41 grubuna göre farklılık
A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis



Şekil 4.2: Deney sonu pasif sakınma testinin gruplar arası karşılaştırılması (s)

Deney sonu yapılan pasif sakınma testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p < 0.001$). Pasif sakınma süresinin A21 grubunda kontrol ve sham grubuna göre daha düşük olduğu (sırasıyla; $p = 0.037$ ve $p = 0.046$), kontrol grubunun pasif sakınma süresinin A41 ve AP21 gruplarına göre daha yüksek bulunduğu gözlemlendi (sırasıyla; $p = 0.048$ ve $p = 0.046$). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0.05$).

4.2 Morris Su Labirenti Testi

Çalışmaya dahil edilmiş olan tüm sıçanların Morris su tankında platformu bulana kadar yüzdükleri mesafelerin gruplar arası karşılaştırması Şekil 4.3 ve Tablo 4.3' te gösterildi.

Tablo 4.3: Morris su tankında platformu bulana kadar havuzda yüzülen mesafenin gruplar arası karşılaştırılması (cm)

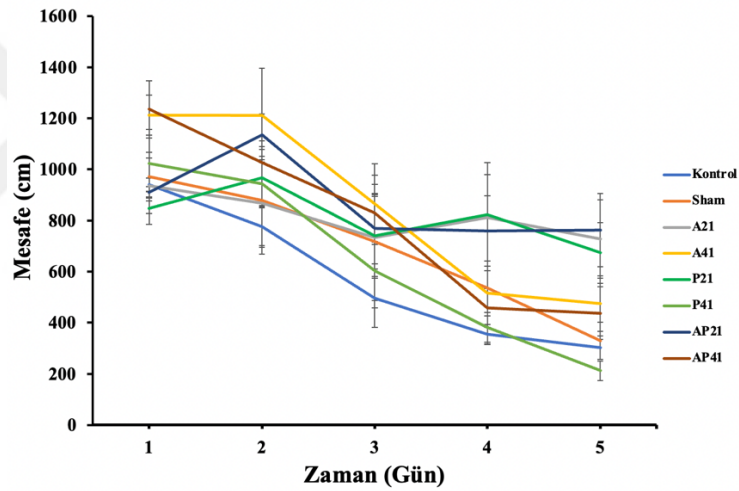
Grup	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	p*
Kontrol	933,7±74,5	790,6±171,0	547,1±121,8	356,7±72,6	301,5±76,2	
Sham	986,1±189,9	855,8±421,8	750,6±519,7	659,9±440,5	376,0±146,8	
A21	936,5±265,4	762,7±290,0	618,9±201,2	811,1±413,2	728,2±375,0	
A41	1211,4±192,0	1212,2±450,5	864,3±387,4	514,9±215,8	475,0±266,5	
P21	848,2±170,1	1040,1±192,3	740,9±423,3	823,7±533,9	673,0±311,8	0.048*
P41	1023,6±348,5	1004,3±121,2	602,2±303,5	335,0±61,6	181,8±42,2	
AP21	910,1±64,0	1134,5±235,9	768,6±389,6	758,1±389,0	761,6±406,3	
AP41	1234,8±315,9	1025,6±240,4	828,6±319,3	457,6±217,7	437,1±291,4	
p**	0.018**	0.045**	0.633	0.026**	0.002**	

Tek yönlü ANOVA testi, veriler ortalama± standart sapma olarak verildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

*: Günler arası farklılık

** : Gruplar arası farklılık

A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis



Şekil 4.3: Morris su tankında platformu bulana kadar havuzda yüzülen mesafe (cm)

1. günde gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda yüzülen mesafe, A41 ve AP41 gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.033$ ve $p=0.014$).

2. günde gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda yüzülen mesafe, A41 ve AP21 gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.007$ ve $p=0.017$).

4. günde ve 5. günde gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda yüzülen mesafe, A21 ve AP21 gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.016$ ve $p=0.022$ / sırasıyla; $p=0.009$ ve $p=0.003$).

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların Morris su tankında platformu bulana kadar geçirdikleri sürenin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4.4 ve Tablo 4.4’ te özetlendi.

Tablo 4.4: Morris su tankında platforma ulaşma süresinin gruplar arası karşılaştırılması (s)

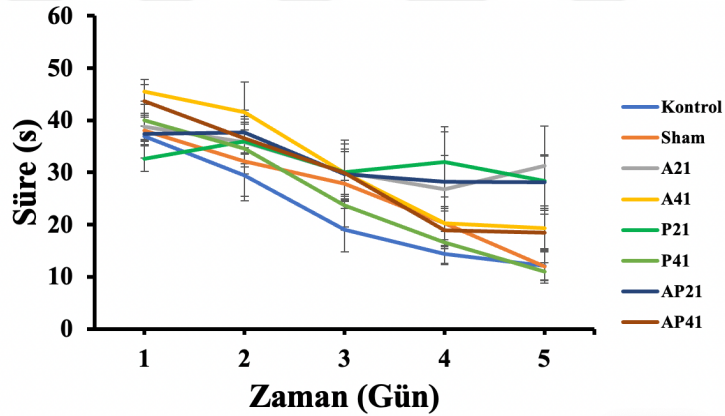
Grup	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	p*
Kontrol	35,5±7,1	28,0±3,5	20,7±5,4	14,1±3,2	12,3±4,5	
Sham	37,0±5,2	32,1±15,0	30,5±16,6	25,5±15,6	14,7±6,3	
A21	40,7±2,3	35,8±15,0	30,0±13,1	34,4±16,3	31,2±18,6	
A41	45,4±5,8	41,5±14,3	25,8±6,3	18,0±4,0	19,2±9,5	
P21	32,5±6,4	35,9±11,3	29,9±11,9	32,0±17,8	28,3±12,6	0.037*
P41	40,0±9,7	34,5±9,3	23,6±12,5	16,5±5,5	10,9±4,5	
AP21	36,3±2,3	37,7±6,8	29,7±13,4	28,1±14,4	28,0±14,9	
AP41	43,6±8,7	36,4±7,7	29,8±11,5	18,9±10,1	15,7±5,2	
p**	0.014**	0.503	0.690	0.020 **	0.003**	

Tek yönlü ANOVA testi, veriler ortalama± standart sapma olarak verildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

*: Günler arası farklılık

**: Gruplar arası farklılık

A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis

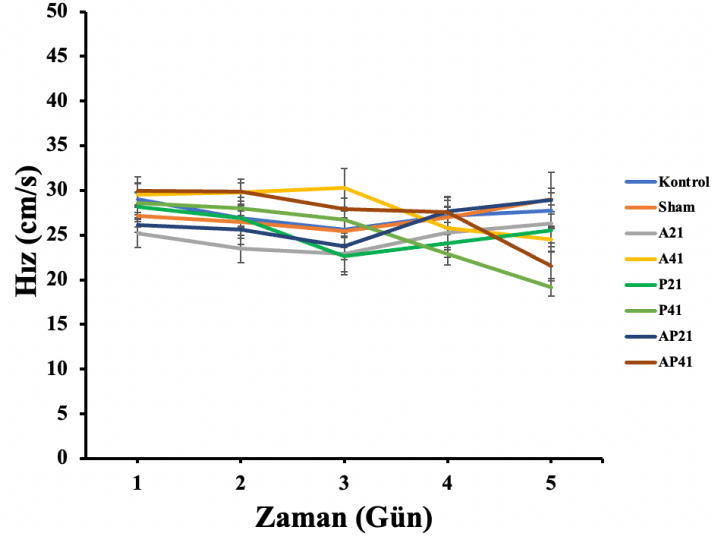


Şekil 4.4: Morris su tankında platforma ulaşma süresi (s)

1. günde gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda platforma ulaşma süresi, A41 ve AP41 gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.010$ ve $p=0.023$).

4. ve 5. günde gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda platforma ulaşma süresi, A21 ve AP21 gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.004$ ve $p=0.028$ / sırasıyla; $p=0.003$ ve $p=0.008$).

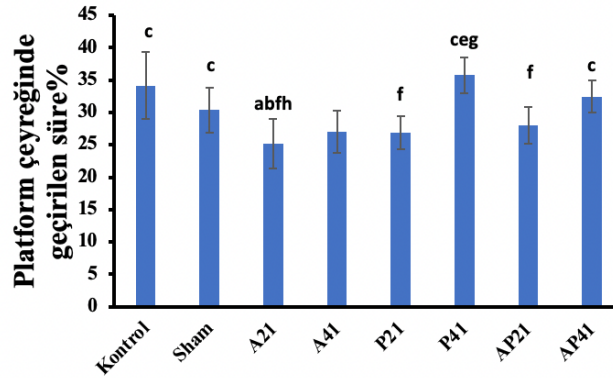
Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların Morris su tankında yüzme hızlarının gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4.5’ de özetlendi.



Şekil 4.5: Morris su tankında gruplara ait yüzme hızı (cm/s)

Tekrarlı ölçüm ANOVA verilerine göre, günler arasında yüzülen hız açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.251$).

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların platformsuz prob deneyinde platform çeyreğinde geçirdikleri sürenin toplam süreye oranının gruplar arası karşılaştırması Şekil 4.6’ da gösterildi.



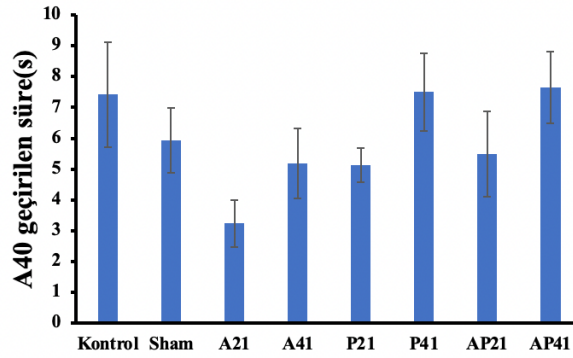
a: Kontrol grubuna göre farklılık, b: Sham grubuna göre farklılık, c: A21 grubuna göre farklılık, d: A41 grubuna göre farklılık, e: P21 grubuna göre farklılık, f: P41 grubuna göre farklılık, g: AP21 grubuna göre farklılık, h: AP41 grubuna göre farklılık

Şekil 4.6: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde platform çeyreğinde geçirilen sürenin toplam süreye oranı

Öğrenme deneyleri sonrası yapılan platformsuz hafıza ölçümü deneyinde platform çeyreğinde geçirilen sürenin toplam geçirilen süreye oranları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p=0,030$). Platform çeyreğinde geçirilen sürenin toplam geçirilen süreye oranının A21 grubunda kontrol, sham, P41 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu (sırasıyla; $p=0.006$, $p=0.04$, $p=0.001$ ve

p=0.011), P41 grubunda ise P21 ve AP21 gruplarına göre daha yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla; p=0.020, p=0.034).

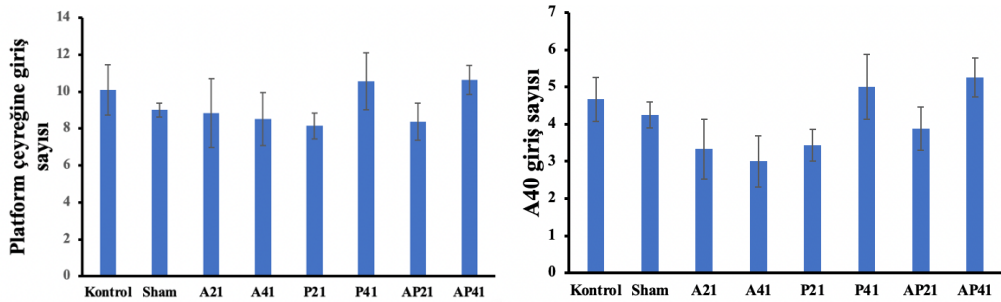
Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların platformsuz prob deneyinde A40 (platformu içeren 40cm-40cm ebatlarında alan) alanında geçirdikleri toplam sürenin gruplar arası karşılaştırması Şekil 4.7' de gösterildi.



Şekil 4.7: Morris su tankı platformsuz probe deneyinde A40 alanında geçirilen toplam süre (s)

Sıçanların platform alanına giriş sayıları ölçülerek hafızalarının ne kadar kuvvetli olduğu belirlenmeye çalışıldı ve A40 alanında geçirilen süre açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p=0,096).

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların platformsuz prob deneyinde platform çeyreğine ve A40 alanına giriş sayılarının gruplar arası karşılaştırması Şekil 4.8' da gösterildi.

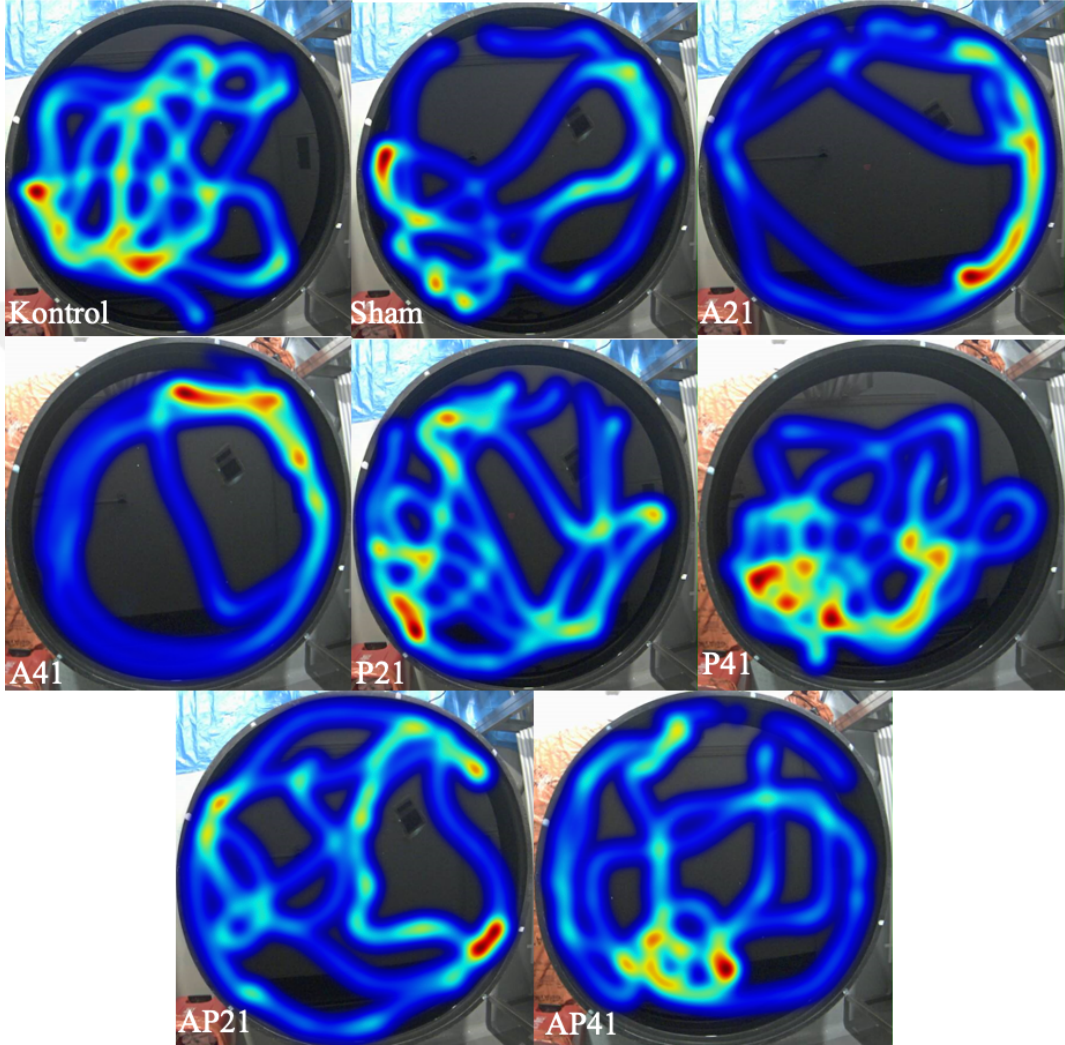


Şekil 4.8: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde platform çeyreğine ve A40'a giriş sayıları

Öğrenme deneyleri sonrası yapılan platformsuz hafıza ölçümü deneyinde sıçanların A40'a giriş sayısında (p=0,096) ve platform çeyreğine giriş sayısında (p=0,526) gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 4.8).

Gruplardaki sıçanların platformsuz prob deneyinde Morris su tankında izledikleri yol Şekil 4.9'da gösterildi.

Buna göre, platformsuz prob deneyinde grupların önceden platformun olduğu bölgede geçirdikleri zamana bakıldığında A21, A41 ve AP21 gruplarının platform bölgesinde geçirirleri sürenin kontrol grubuna göre daha az olduğu ve uzun süreli belleklerinde bozulma olduğu, AP41 grubunun platform bölgesinde geçirdiği sürenin ise kontrol grubuyla benzer olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.9: Morris su tankı platformsuz prob deneyinde izlenen yol

4.3 Sondalama Cep Derinliği (SCD)

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların sondalama cep derinliği ölçüm değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.5’ de özetlendi.

Tablo 4.5: Sondalama cep derinliğinin (SCD) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması (mm)

Grup	SCD (T ₀)	SCD (T ₁)	SCD (T ₂)	p**
Kontrol	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	1,000
Sham	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	1,000
A21	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	-	1,000
A41	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	0,5 (0,5-0,5)	1,000
P21	0,5 (0,5-0,5)	1,2 (0,9-1,3) ^{abcd}	-	0,017**
P41	0,5 (0,5-0,5)	1,1 (0,9-1,2) ^{abcd}	0,5 (0,5-0,6)	(T ₀ T ₁):0,018** (T ₁ T ₂):0,016** (T ₀ T ₂):0,083
AP21	0,5 (0,5-0,5)	1,0 (0,8-1,2) ^a	-	0,011**
AP41	0,5 (0,5-0,5)	1,2 (1,0-1,2) ^{abcd}	0,5 (0,5-0,6)	(T ₀ T ₁):0,011** (T ₁ T ₂):0,011** (T ₀ T ₂):0,317
p*	1,000	<0.001*	0,119	

Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

*: Gruplar arası farklılık

**: Grup içi farklılık

a: Kontrol grubuna göre farklılık, b: Sham grubuna göre farklılık, c: A21 grubuna göre farklılık, d: A41 grubuna göre farklılık,

e: P21 grubuna göre farklılık, f: P41 grubuna göre farklılık, g: AP21 grubuna göre farklılık, h: AP41 grubuna göre farklılık

T₀: Başlangıç SCD ölçümü, T₁: Süturlar uzaklaştırılmadan önce SCD ölçümü, T₂: Tedavi sonrası SCD ölçümü

A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis

Başlangıç SCD ölçümleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=1.000).

Süturlar uzaklaştırılmadan önce yapılan SCD ölçümü ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p<0.001). Buna göre; Kontrol grubunun SCD ölçüm değerinin AP21, P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu (p<0.05), sham grubunun SCD ölçüm değerinin ise P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu belirlendi (p<0.05). A21 grubunun SCD ölçüm değerinin P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu (p<0.05), A41 grubunun SCD ölçüm değerinin ise P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu tespit edildi (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05).

Periodontal tedavi sonrası SCD ölçümleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.119).

SCD ölçüm değerleri değerlendirilen zaman dilimlerinde grup içi karşılaştırıldığında; kontrol, sham, A21 ve A41 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (p>0.05). P21 ve AP21 gruplarında yapılan grup içi karşılaştırmada süturlar uzaklaştırılmadan önce (T₁) ölçülen SCD değerinin başlangıç (T₀) ölçümüne

göre daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla; $p=0.017$ ve $p=0.011$). P41 grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T_1) ölçülen SCD değerinin başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (sırasıyla; $p=0.018$ ve $p=0.016$), diğer yandan başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçülen SCD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı belirlendi ($p=0.083$). AP41 grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T_1) ölçülen SCD değerinin başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (tüm; $p=0.011$), diğer yandan başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçülen SCD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı belirlendi ($p=0.317$).

4.4 Gingival Kanama İndeksi (GKİ)

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların gingival kanama indeksi ölçüm değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.6' da özetlendi.

Tablo 4.6: Gingival kanama indeksinin (GKİ) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

Grup	GKİ (T_0)	GKİ (T_1)	GKİ (T_2)	p^{**}
Kontrol	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
Sham	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
A21	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	-	1,000
A41	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
P21	0,0 (0,0-0,0)	3,5 (3,2-4,5) ^{abcd}	-	0,018**
P41	0,0 (0,0-0,0)	3,7 (3,0-4,3) ^{abcd}	1,0 (0,7-1,2) ^{abd}	(T_0T_1):0,017** (T_1T_2):0,018** (T_0T_2):0,017**
AP21	0,0 (0,0-0,0)	4,2(3,8-4,5) ^{abcd}	-	0,011**
AP41	0,0 (0,0-0,0)	3,6(3,3-4,0) ^{ab}	0,5 (0,2-0,9)	(T_0T_1):0,011** (T_1T_2):0,012** (T_0T_2):0,011**
p^*	1,000	<0.001*	<0.001*	

Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

*: Gruplar arası farklılık

** : Grup içi farklılık

a: Kontrol grubuna göre farklılık, **b:** Sham grubuna göre farklılık, **c:** A21 grubuna göre farklılık, **d:** A41 grubuna göre farklılık, **e:** P21 grubuna göre farklılık, **f:** P41 grubuna göre farklılık, **g:** AP21 grubuna göre farklılık, **h:** AP41 grubuna göre farklılık
 T_0 : Başlangıç GKİ ölçümü, **T_1 :** Süturlar uzaklaştırılmadan önce GKİ ölçümü, **T_2 :** Tedavi sonrası GKİ ölçümü

A: Alzheimer, **P:** Periodontitis, **AP:** Alzheimer-Periodontitis

Başlangıç GKİ ölçümleri gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=1.000$).

Süturlar uzaklaştırılmadan önce yapılan GKİ ölçümü ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.001$). Buna göre; kontrol grubunun GKİ ölçüm değerlerinin AP21, P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu ($p<0.05$), sham grubunun GKİ ölçüm değerlerinin AP21, P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu saptandı ($p<0.05$). A21 ve A41 gruplarının GKİ ölçüm değerlerinin P41, P21 ve AP21 gruplarına göre daha düşük olduğu ($p<0.05$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tedavi sonrası yapılan GKİ ölçümleri ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$). Kontrol, sham ve A41 grubunun GKİ ölçüm değerlerinin P41 grubuna göre daha düşük olduğu (sırasıyla; $p=0.003$, $p=0.009$ ve $p=0.001$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

GKİ ölçüm değerleri değerlendirilen zaman dilimlerinde grup içi karşılaştırıldığında; kontrol, sham, A21 ve A41 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmedi ($p>0.05$). P21 ve AP21 gruplarında yapılan grup içi karşılaştırmada süturlar uzaklaştırılmadan önce (T_1) ölçülen GKİ değerinin başlangıç (T_0) ölçümüne göre daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla; $p=0.018$ ve $p=0.011$). P41 grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T_1) ölçülen GKİ değerinin başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (sırasıyla; $p=0.017$, $p=0.018$), periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçülen GKİ değerinin ise başlangıça (T_0) göre daha yüksek olduğu saptandı ($p=0.017$). AP41 grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T_1) ölçülen GKİ değerinin başlangıç (T_0) ve periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (sırasıyla; $p=0.011$ ve $p=0.012$), periodontal tedavi sonrası (T_2) ölçülen GKİ değerinin ise başlangıça (T_0) göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0.011$).

4.5 Mobilite

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların mobilite değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.7' de özetlendi.

Tablo 4.7: Mobilitenin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

Grup	Mobilite (T ₀)	Mobilite (T ₁)	Mobilite (T ₂)	p**
Kontrol	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
Sham	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
A21	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	-	1,000
A41	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,000
P21	0,0 (0,0-0,0)	2,0(1,0-3,0) ^{abcd}	-	0,016**
P41	0,0 (0,0-0,0)	2,0(1,0-3,0) ^{ab}	1,00 (0,00-1,00)	(T ₀ T ₁):0,016** (T ₁ T ₂):0,011** (T ₀ T ₂):0,025**
AP21	0,0 (0,0-0,0)	2,5(1,0-3,0) ^{abcd}	-	0,010**
AP41	0,0 (0,0-0,0)	2,0(2,0-3,0) ^{abcd}	1,0(1,0-1,0) ^{abd}	(T ₀ T ₁):0,007** (T ₁ T ₂):0,007** (T ₀ T ₂):0,005**
p*	1,000	<0.001*	<0.001*	

Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

*: Gruplar arası farklılık

**: Grup içi farklılık

a: Kontrol grubuna göre farklılık, b: Sham grubuna göre farklılık, c: A21 grubuna göre farklılık, d: A41 grubuna göre farklılık, e: P21 grubuna göre farklılık, f: P41 grubuna göre farklılık, g: AP21 grubuna göre farklılık, h: AP41 grubuna göre farklılık
T₀: Başlangıç mobilite ölçümü, T₁: Süturlar uzaklaştırılmadan önce mobilite ölçümü, T₂: Tedavi sonrası mobilite ölçümü
A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis

Başlangıç mobilite ölçümleri gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=1.000).

Süturlar uzaklaştırılmadan önce yapılan mobilite ölçümü ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi (p<0.001). Kontrol ve sham grubunun mobilite değerlerinin AP21, P41, P21 ve AP41 gruplarına göre daha düşük olduğu (p<0.05); A21 ve A41 grubunun mobilite değerlerinin AP41, P21 ve AP21 gruplarına göre daha düşük olduğu tespit edildi (p<0.05).

Tedavi sonrası yapılan mobilite ölçümleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; kontrol, sham ve A41 grubunun mobilite değerinin AP41 grubuna göre daha düşük olduğu (sırasıyla; p=0.014, p=0.033 ve p=0.007), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı (p>0.05).

Mobilite değerleri değerlendirilen zaman dilimlerinde grup içi karşılaştırıldığında; kontrol, sham, A21 ve A41 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmedi (p>0.05). P21 ve AP21 gruplarında yapılan grup içi karşılaştırmada süturlar uzaklaştırılmadan önce (T₁) ölçülen mobilite değerinin başlangıç (T₀) ölçümüne göre daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla; p=0.016 ve p=0.010). P41

grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T₁) ölçülen mobilite değerinin başlangıç (T₀) ve periodontal tedavi sonrası (T₂) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (sırasıyla; p=0.016, p=0,011), periodontal tedavi sonrası (T₂) ölçülen mobilite değerinin ise başlangıca (T₀) göre daha yüksek olduğu saptandı (p=0.025). AP41 grubunun süturlar uzaklaştırılmadan önce (T₁) ölçülen mobilite değerinin başlangıç (T₀) ve periodontal tedavi sonrası (T₂) ölçümüne göre daha yüksek olduğu (p=0.007), periodontal tedavi sonrası (T₂) ölçülen mobilite değerinin ise başlangıca (T₀) göre daha yüksek olduğu belirlendi (p=0.005).

4.6 Alveoler Kemik Kaybı

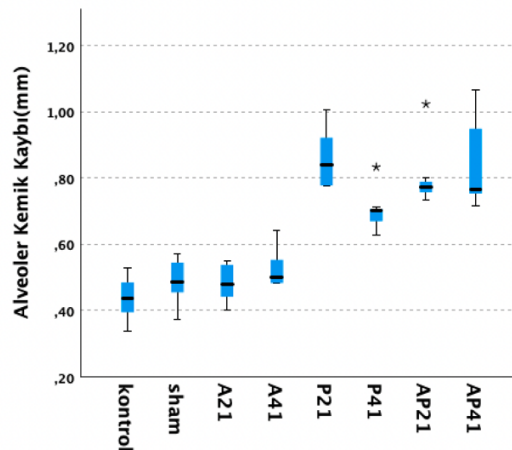
Çalışmaya dahil edilen 63 adet sıçanın alveoler kemik kaybı seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması Tablo 4.8 ve Şekil 4.10'da özetlendi.

Tablo 4.8: Alveoler kemik kaybının (AKK) gruplar arası karşılaştırılması (mm)

Grup	Alveoler Kemik Kaybı	p
Kontrol	0.44 (0,34-0,53)	
Sham	0.49 (0,37-0,57)	
A21	0,48 (0,4-0,55)	
A41	0,50 (0,48-0,64)	
P21	0,84 (0,78-1,01) ^{abcd}	<0.001
P41	0,70 (0,63-0,83)	
AP21	0,77 (0,73-1,02) ^{abc}	
AP41	0,76 (0,72-1,07) ^{abc}	

Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre farklılık, b: Sham grubuna göre farklılık, c: A21 grubuna göre farklılık, d: A41 grubuna göre farklılık, e: P21 grubuna göre farklılık, f: P41 grubuna göre farklılık, g: AP21 grubuna göre farklılık, h: AP41 grubuna göre farklılık
A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis



Şekil 4.10: Alveoler kemik kaybının gruplar arası karşılaştırılması (mm)

AKK ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.001$).

Periodontitis oluşturulan P21, AP21 ve AP41 gruplarının AKK değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). P41 grubunun AKK değeri ile kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemesine rağmen P41 grubunun medyan değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p>0.05$). Hem periodontitis hem Alzheimer hastalığı oluşturulan AP21 ve AP41 gruplarının AKK değeri ile sadece periodontitis oluşturulan P21 ve P41 gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı belirlendi ($p>0.05$).

4.7 Biyokimyasal Analizler

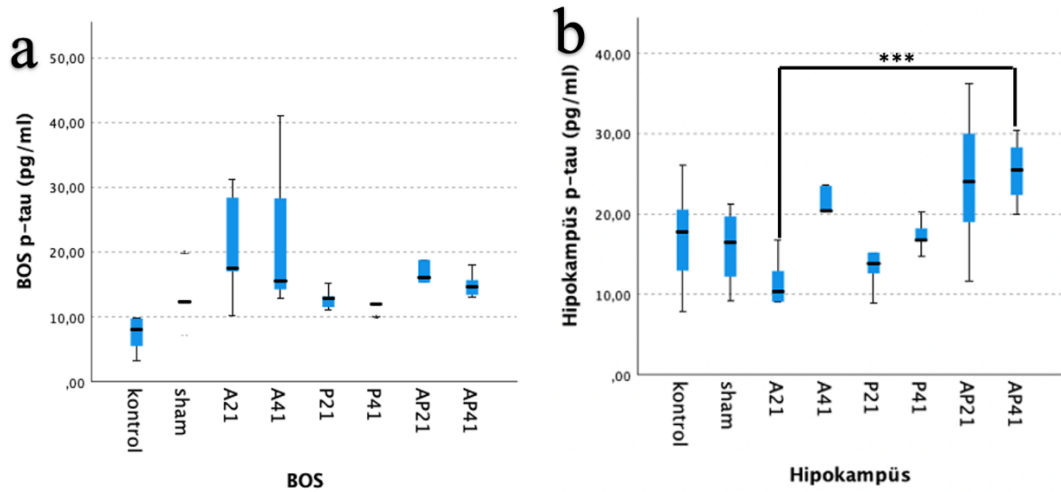
Çalışmaya dahil edilen 63 adet sıçanın BOS ve hipokampüsteki p-tau miktarlarının gruplar arası karşılaştırması Tablo 4.9 ve Şekil 4.11 a, b’de gösterildi.

Tablo 4.9: BOS ve hipokampüsteki p-tau miktarının gruplar arası karşılaştırılması (pg/ml)

Grup	BOS p-tau	Hipokampus p-tau
Kontrol	9,78 (3,20-17,00)	21,00 (10,80-26,00)
Sham	12,40 (7,68-19,60)	16,20 (9,21-21,00)
A21	17,25 (10,10-31,30)	11,65 (9,07-16,80)
A41	15,60 (12,90-41,00)	23,50 (20,40-23,60)
P21	12,20 (11,10-15,10)	13,80(12,60-26,30)
P41	12,00 (9,87-17,00)	17,55 (16,70-20,30)
AP21	16,10(9,04-18,80)	23,00 (11,70-25,00)
AP41	14,70 (13,10-15,70)	25,50 (19,90 -30,40)
p	0,027*	0,013*

Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

** Gruplar arası farklılık, A: Alzheimer, P: Periodontitis, AP: Alzheimer-Periodontitis*



Şekil 4.11: BOS (a) ve hipokampüsteki (b) p-tau miktarının gruplar arası karşılaştırılması (pg/ml)

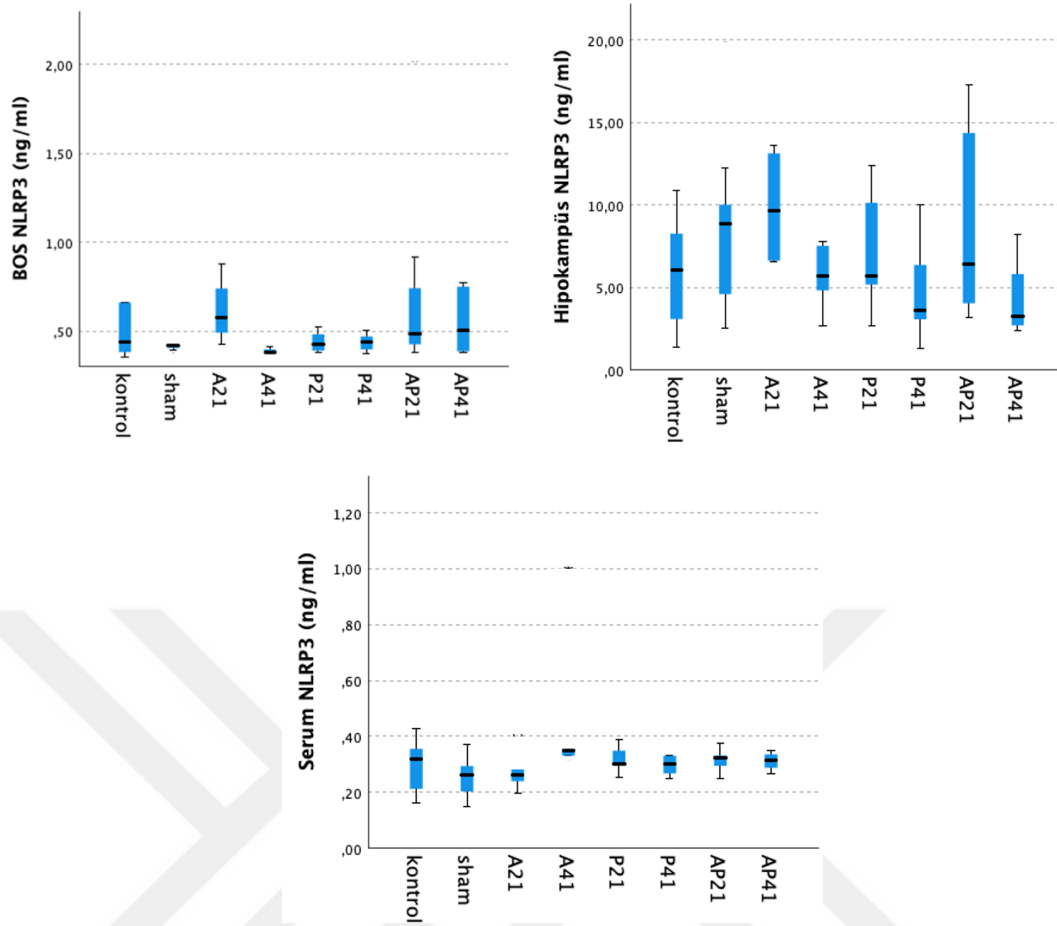
BOS ($p=0,027$) ve hipokampus ($p=0,013$) p-tau seviyelerinin gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olduğu; fakat yapılan eşli karşılaştırmalarda BOS p-tau düzeylerinin farklı olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Diğer taraftan; hipokampus p-tau düzeylerinin A21 ve AP41 grupları arasında farklı olduğu ($p=0,031$), diğer gruplar arasında farklılık olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Çalışmaya dahil edilen sıçanların BOS, serum ve hipokampüsteki NLRP3 miktarının gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.10 ve Şekil 4.12’ de özetlendi.

Tablo 4.10: BOS, serum ve hipokampüsteki NLRP3 miktarının gruplar arası karşılaştırılması (ng/ml)

Grup	BOS NLRP3	Serum NLRP3	Hippokampus NLRP3
Kontrol	0,43 (0,36-1,29)	0,32 (0,16-0,42)	6,09 (1,39- 10,85)
Sham	0,41 (0,35-0,83)	0,26 (0,15-0,37)	8,83 (2,51- 19,61)
A21	0,57 (0,43-0,88)	0,26 (0,19-0,40)	9,64 (6,58- 13,65)
A41	0,38 (0,37-0,41)	0,34 (0,29-1,00)	5,67 (2,67- 7,80)
P21	0,42 (0,38-0,52)	0,30 (0,25-0,39)	5,69 (2,67- 12,38)
P41	0,43 (0,37-0,73)	0,30 (0,24-0,63)	3,94 (1,30- 10,02)
AP21	0,48 (0,38-2,03)	0,32 (0,25-0,37)	6,66 (3,16- 17,29)
AP41	0,50 (0,37-1,61)	0,31 (0,26-0,34)	3,35 (2,35- 8,24)
p	0,343	0,209	0,098

Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis testi ve Dunn Bonferroni testi, veriler medyan(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.
A: Alzheimer, **P:** Periodontitis, **AP:** Alzheimer-Periodontitis



Şekil 4.12: BOS, serum ve hipokampüsteki NLRP3 miktarının gruplar arası karşılaştırılması (ng/ml)

Buna göre; BOS ($p=0,343$), serum ($p=0,209$) ve hipokampus ($p=0,098$) örneklerinde NLRP3 düzeylerinin (ng/ml) gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Alzheimer hastalığı, sinir sisteminin bir veya daha fazla fonksiyonunun yavaş ve ilerleyici kaybıyla karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır [204]. AH'nın patogenezinin anlaşılması konusunda büyük gelişmeler olmasına rağmen, hastalığın etyolojisi halen belirsizliğini korumaktadır. AH'nın önemli patolojik belirteçlerinden olan Amiloid- β plakları ve hiperfosforile tau seviyeleri, hastalığın terapötik hedefleri arasında yer almaktadır [136]. Bununla birlikte, birçok klinik çalışma anti-amiloid ilaçların hastaların bilişsel performansında ve hastalığın birincil yan etkilerini önleme konusunda tam olarak etkili olamadığını göstermektedir [205, 206]. Bu sebeple, AH'nın gelişimi ve ilerlemesi ile bağlantılı risk faktörlerinin tanımlanması, bu faktörlerin kontrol altına alınması ve AH'nı önlemek ve/veya tedavi etmek için yeni stratejiler geliştirilmesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır [207, 208]. Birçok kanıt, sistemik enflamasyonun, mikrogial aktivasyon ve proenflamatuvar moleküllerin salınması yoluyla nörodejenerasyona katkıda bulunan ve böylece AH'nın ilerlemesini yönlendiren bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir [137, 209-212]. Sistemik enflamasyonda önemli bir rol oynadığı bildirilmiş olan periodontitisin de AH üzerine etkisi birçok mekanizma üzerinden araştırılmıştır [24, 213, 214] ancak olası bu yolların tedavisine yönelik yapılan çalışmalar sınırlıdır [213, 215]. Diğer taraftan, cerrahi olmayan periodontal tedavinin AH'nda bilişsel fonksiyonlar üzerine olan olası etkisi araştırılmamıştır. Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, cerrahi olmayan periodontal tedavinin Alzheimer hastalığı oluşturulmuş sıçanlarda AH'nın ilerlemesi ve neden olduğu nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerine olan olası etkisini araştıran ilk çalışmadır. Çalışma sonuçlarımıza göre, periodontitisin AH'nda öğrenme ve hafızada meydana gelen bozulmayı şiddetlendirebileceği diğer taraftan bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, cerrahi olmayan periodontal tedavinin de AH'nda meydana gelen bu davranışsal değişikliklerde, öğrenme ve hafıza bulguları üzerine olumlu etki sağlayabileceği belirlendi. İlave olarak, Alzheimer hastalığına bağlı olarak BOS ve hipokampüsteki p-tau seviyelerinin artış gösterdiği, periodontitisin bu durumu

şiddetlendirdiği ancak periodontal tedavinin p-tau üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edildi. Diğer taraftan Alzheimer hastalığı ve periodontal hastalığın birlikte olması durumunun NLRP3 inflamazom üzerine bir etkisinin bulunmadığı belirlendi.

AH'na dair biyolojik mekanizmaları ortaya çıkarmak, moleküler hedefleri doğrulamak, potansiyel bağlantıları tanımlamak ve tedavisine yönelik olarak yapılan ilaç çalışmaları için sıçan ve fare modelleri literatürde sıkça kullanılmıştır [216-219]. Yapılan bu çalışmaların bazılarında AH modeli oluşturulan sıçanlarda cinsiyete bağlı olarak beyinde farklı etkiler olduğu belirlenmiştir [220-223]. Bao ve ark. (2017), cinsiyetin beyin fonksiyonu üzerindeki potansiyel etkisini incelemiş ve STZ indüklü AH modeli oluşturulmuş sıçanlarda, STZ'nin erkek sıçanlarda öğrenme ve hafıza bozukluğuna yol açtığını ancak dişi sıçanlarda herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda erkek sıçanlarda dendritik ve sinaptik plastisite kaybı, GSK-3 β hem de BACE1 aktivitelerinde artış, tau hiperfosforilasyonu, A β artışı olduğu, diğer taraftan dişi sıçanlarda STZ'nin bu değişiklikleri indüklemediğini rapor etmişlerdir [220]. Çalışmamızda, beyin içi streptozosin enjeksiyonu ile oluşturulmuş AH sıçan modelinde literatürde yapılan bu çalışmalar referans alınarak Sprague Dawley erkek sıçanlar tercih edilmiştir.

Bie-STZ sıçan modeli, beyinde insülin sinyal yollarının bozulmasına sebep olan ve sporadik AH'nın davranışsal ve patolojik basamaklarını taklit eden, onaylanmış deneysel bir modeldir [224, 225]. STZ'nin her iki lateral ventriküle uygulandığında öğrenme, hafıza ve bilişsel fonksiyonlarda uzun süreli ve devam eden bozukluklarla karakterize kronik bir beyin hasarı modelinin oluşmasını sağladığı literatürde gösterilmiştir [226]. Bie-STZ sıçan modelinin bilişsel işlevlerde zamana ve doza bağlı bir eksiklik ile beraber A β plak oluşumu ve hiperfosforile tau protein birikimine sebep olduğu bildirilmiştir [227]. İlave olarak, yüksek dozda (3mg/kg) Bie-STZ infüzyonundan 3-4 ay sonraki dönemin, frontal korteks ve hipokampüste A β 'nin saptanması ve birikmesi için çok önemli bir dönem olduğuna dair bulgular da gösterilmiştir [228, 229]. Bu nedenle çalışmamızda sıçanlarda deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturmak için Bie-STZ enjeksiyon modeli kullanıldı.

Alzheimer hastalığının en çarpıcı özelliği, büyük miktardaki nöron ve sinaps kaybının neden olduğu bilişsel işleyişte ilerleyici kayıptır [230, 231]. Sıçan ve fare modellerinde bilişsel işleyişteki bu kaybı, hipokampal bağımlı öğrenme ve hafızayı değerlendirmek

için çeşitli bilişsel testler kullanılmaktadır [232]. Hipokampal bağımlı olan bu bilişsel testler, AH patolojisinin hipokampüste ve medial temporal lobun entorhinal korteksinde başladığı ve burada en şiddetli seviyede olduğu göz önüne alındığında, AH'nın araştırılması için idealdir ve büyük önem taşımaktadır [230]. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada hipokampal bağımlı öğrenme ve hafızayı test etmek için bu bilişsel testlerden pasif sakınma ve Morris su labirenti testi kullanıldı.

Literatürde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara dayanarak, STZ'nin beyin içi enjeksiyonundan sonra yapılan pasif sakınma testleri ile sıçanların davranışlarında bozukluk, öğrenmelerinde ve hafızalarında kayıp olduğu bildirilmiştir [233-235]. Çalışmamızda deney başlangıcında yapılan pasif sakınma testinin sonucunda literatürdeki çalışmalara paralel olarak [233, 234] AH oluşturulan grupların test sonuçlarının kontrol gruplarına göre kısa olması, AH oluşturulan sıçanların öğrenmelerinin bozulduğunu, aynı zamanda amigdala-hipokampus bağlantılarında hasar olduğunu göstermektedir. Deney sonu yapılan pasif sakınma testi sonucunda da sadece alzheimer oluşturulan grupların (A21, A41) ve alzheimer+periodontitis oluşturulan AP21 grubunun karanlık alana geçme sürelerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha kısa olması, alzheimer oluşturulan bu gruplarda öğrenmede gecikme ve uzun süreli bellek kaybı olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, alzheimer ve periodontitis oluşturulmuş ve periodontal tedavi uygulanan AP41 grubunun karanlık alana geçme süresinde kontrol grubuna göre farklılık bulunmaması periodontitisin tedavisinin Alzheimer hastalığının öğrenme ve bellek parametrelerinde iyileşme sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte A21 ve A41 grupları arasında da karanlık alana geçme süresi açısından farklılık görülmemiş olması süreye bağlı olarak davranışsal parametrelerde anlamlı bir değişiklik oluşmadığını gösterebileceği gibi, değerlendirilen sürenin yeterli olmayabileceği ile de açıklanabilir.

Morris su labirenti ilk olarak 1981'de Morris tarafından kemirgenlerde hipokampal bağımlı uzamsal öğrenme ve uzun süreli uzamsal hafızayı değerlendirmek için yapılan davranışsal bir testtir [236]. Morris su labirenti AH [237-239] ve yaşlanma [240] modellerinde uzamsal bellekteki bozulmayı test etmek ve ilaçların biliş üzerine etkilerini değerlendirmek için başarıyla kullanılmaktadır. Buna yönelik olarak yapılan bir çalışmada STZ indüklü Alzheimer modeli oluşturulan sıçanlarda AH'na bağlı olarak öğrenme ve hafızada bozulma meydana geldiği Morris su testi ile gösterilmiştir

[241]. Yapılan başka bir çalışmada ise sıçanlarda STZ indüklü AH modeli oluşturularak tedavisine yönelik olarak sıçanlara Sülforafan uygulanmış ve sonuç olarak AH'nın tedavisinin, bilişsel eksikliklerde önemli iyileşme sağladığı Morris su labirenti ile gösterilebilmiştir [242]. Literatürde periodontal hastalığın AH'nda davranışsal parametreler üzerindeki etkisini Morris su labirenti testi ile değerlendiren çalışmalar mevcuttur [15, 213, 243]. Bununla bağlantılı olarak bir çalışmada 8 hafta boyunca farelere *P. gingivalis* uygulanmış ve deney sonunda fareler Morris su labirenti testine tabi tutulmuştur, bunun sonucunda *P. gingivalis* uygulanan farelerin kontrollere kıyasla platform alanından daha az sayıda geçiş yaptığı ve platform alanında daha az zaman harcadığı, aynı zamanda bu farelerin daha kötü belleğe sahip olduğu bildirilmiştir [15]. Bizim çalışmamızda deneysel periodontitis ve cerrahi olmayan periodontal tedavinin bilişsel işlev üzerindeki etkisini değerlendirmeye yönelik olarak deney sonunda yapılan Morris su testi ile sıçanların havuzda yüzdükleri süre, mesafe ve hız, aynı zamanda yapılan prob denemesi ile sıçanların platform çeyreğinde ve A40 alanında geçirdikleri süre değerlendirildi. Sıçanların havuzda yüzdükleri mesafe ve süre değerlendirildiğinde; alzheimer oluşturulan gruplarda (A21, A41) ve alzheimer+periodontitis oluşturulan AP21 grubunda 5. gün yüzülen mesafe ve sürenin kontrol ve AP41 grubuna göre daha fazla olması sıçanlarda bilişsel kayıp ve öğrenmede gecikme olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, alzheimer ve periodontitis oluşturulmuş ve periodontal tedavi uygulanan AP41 grubunda 1. günde kontrol grubuna göre daha yüksek olan yüzülen mesafe ve sürenin 5. gün kontrol grubuyla benzer seviyeye ulaşması periodontal tedavinin AH'na bağlı olarak oluşan bilişsel eksikliklerde iyileşme sağlayabileceğini düşündürmektedir. Sıçanların labirentte yüzdükleri hız değerlendirildiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı, buna bağlı olarak da sıçanların hızının yüzülen mesafe ve süre üzerinde etkisi olmadığı belirlendi. Morris su testinin son gününde prob deneyi yapıldı. Bu aşamada platform bulunduğu yerden çıkartılarak sıçanların platformun eski konumunun çevresine odaklanarak platformu aramaları ve uzamsal strateji geliştirmeleri beklendi. Çalışmamızın prob günü verilerine bakıldığında platform çeyreğinde ve A40 alanında geçirilen sürenin sadece alzheimer oluşturulan gruplarda (A21, A41) ve alzheimer+periodontitis oluşturulan AP21 grubunda kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olduğu; diğer taraftan AP41 grubunun geçirdiği sürenin A21, A41, AP21 e göre daha yüksek seviyede, kontrol grubuyla ise benzer seviyede olduğu belirlendi. Sadece alzheimer oluşturulan gruplar (A21, A41) ile

alzheimer+periodontitis oluşturulan AP21 grubu arasında ise anlamlı bir farklılık bulunmadığı, dolayısıyla periodontitisin AH’nda davranışsal düzeyde meydana gelen bu değişiklikleri şiddetlendirmedeği tespit edildi. Bu sonuç, periodontitisin AH’nı şiddetlendirebilmesi için sıçanların daha uzun süre periodontal hastalığa maruz kalması gerekiyor olabileceğinden kaynaklanabilir [97, 213, 244]. Sonuçlarımız sadece AH oluşturulan ve AH+periodontitis oluşturulan gruplarda davranışsal düzeyde meydana gelen bu değişikliklerin hafızada bozulma ve öğrenmede gecikmeye sebep olduğunu, periodontal hastalığın AH’nı şiddetlendirmedeğini, bununla birlikte uygulanan cerrahi olmayan periodontal tedavinin ise bilişsel eksikliklerde iyileşme sağladığını düşündürmektedir.

Sıçanlar molar bölgedeki periodontal anatominin insandakine benzerliği, maliyetinin uygun olması, temini, beslenmesi ve üretiminin kolay olması nedeniyle periodontitis modellerinde sıklıkla kullanılmaktadır [82, 91]. Sıçanlarda periodontal hastalık iki farklı yöntem ile indüklenebilir. Bunlardan birincisi, dişeti bölgesine lipopolisakkarit enjeksiyonu ile akut bir periodontal hastalık oluşumudur [245]. İkinci yöntem ise molar diş çevresine süturlar yerleştirilerek plak birikiminin sağlanması; bunun sonucunda da sulküler epitelde ülserasyon, bağ dokusunda yıkım ve alveoler kemikte kayıp oluşturularak kronik bir periodontitis modeli oluşturulmasıdır [80]. Bu yöntemlerden sütur ile indüksiyon modeli kronik periodontitisi taklit etmek için en sık kullanılan modeldir [246-249] Kronik periodontitisin oluşumu için gerekli olan sürenin belirlenmesine yönelik olarak literatürde yapılan bir çalışmada, Sprague Dawley sıçanların maksiller 1. ve 2. azı dişleri çevresine sütur bağlanmış ve periodontal hastalığın indüklenmesinden sonra çeşitli zaman periyotlarında sıçanlar kurbanıye edilerek alveoler kemik kayıpları histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda 0-14. günler arasındaki faz inflamasyon ve hızlı kemik rezorpsiyonuyla karakterize edilen akut faz olarak, 14-21. günler arasındaki faz ise belirgin kemik kaybı progresyonu olmayan kronik faz olarak tanımlanmıştır [198]. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada sütur indüklü deneysel periodontitis modeli kullanıldı ve periodontitis oluşumu için 21 gün beklendi. Literatürdeki çalışmalara [249-251] paralel olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada, sütur indüklü deneysel periodontitis oluşturulan P21, P41, AP21, AP41 gruplarındaki sıçanların alveolar kemik kaybının kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu tespit edildi.

Periodontitisin oluşumu klinik ataşman kaybı, alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve gingival kanama ile kendini gösterir [38]. Bu nedenle literatürde yapılan deneysel periodontitis çalışmalarında periodontitis oluşumunu göstermek için bu parametrelerden faydalanılmıştır [94, 252, 253]. Carvalho ve ark. ile Galeno ve ark.'nın yaptığı çalışmalarda Wistar sıçanlarda 20 gün boyunca ligatür ile periodontal hastalık indüklenmiş ardından periodontal hastalık oluşturulan bir gruba CHX ile cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanmıştır. Araştırmacılar, periodontal hastalığın oluşumunu ve şiddetini, aynı zamanda periodontal tedavinin etkinliğini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bunun için gingival kanama indeksi, sondalama derinliği ve mobilite değerleri ölçülmüştür. Sonuç olarak, değerlendirilen periodontal parametrelerin periodontitis oluşturulan grupta başlangıca göre daha yüksek olduğunu, periodontal tedavi uygulanan grupta ise periodontal parametrelerin iyileşme sağlandığını rapor etmişlerdir [79, 94]. Bu çalışmada periodontal hastalığın oluşumunun gösterilmesi ve periodontal tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi için tüm sıçanların periodontal parametreleri başlangıç (T_0), süturların uzaklaştırılmasından hemen önce (T_1) ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonraki faz (T_2) olmak üzere üç aşamada kaydedildi. Başlangıç aşamasında SCD, GKİ ve mobilite ölçümlerinin gruplar arasında farklı olmadığı, tüm grupların periodontal olarak sağlıklı olduğu belirlendi. Süturların uzaklaştırılmasından hemen önce yapılan periodontal ölçümlerde literatürle uyumlu olarak [79, 94] periodontal hastalık oluşturulan P21, P41, AP21 ve AP41 gruplarının SCD, GKİ ve mobilite değerlerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu belirlendi. İlave olarak, cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanan P41 ve AP41 gruplarının tedavi sonrası ölçülen SCD, GKİ ve mobilite değerlerinin kontrol grubuyla benzer seviyede olması yapılan periodontal tedavinin periodontal hastalıkta başarılı bir iyileşme sağladığını gösterdi.

Periodontal tedavi, enflamasyonu kontrol altına almak veya durdurmak amacıyla aşamalı bir yaklaşımla uygulanan çok çeşitli müdahaleleri içerir [254]. Faz I periodontal tedavi aşaması, hem hasta hem de hekim tarafından supragingival biyofilmin ve periodontal hastalıkların etyopatogenezinde yer alan kanıtlanmış risk faktörlerinin kontrolünü içerir [255, 256]. Periodontitis teşhisi konan hastalar için Faz I periodontal tedavinin ikinci aşaması, subgingival biyofilm ve diş taşının uzaklaştırılmasıdır. Bu adım, subgingival enstrümantasyon, yardımcı lokal/sistemik antimikrobiyal veya antienflamatuvar ilaçların kullanımını içerebilir [257]. Tüm bu

yardımcı ajanlar arasında, 40 yılı aşkın süredir üzerinde çalışılan bisguanid sınıfının katyonik bir ajanı olan CHX, antimikrobiyal, bakterisidal ve bakteriyostatik etkileri (doza ve türe bağlı), yüksek dayanıklılık, sistemik toksisitesinin az olması gibi özellikleri sebebiyle ideal ajan olarak kabul edilmektedir [258, 259]. CHX'nin gargara, sprey veya jel gibi farklı formları mevcuttur [260]. Aynı zamanda CHX, %0,02 ile %0,06 arasında değişen konsantrasyonlarda bakteriyostatik etki; > %0,12 konsantrasyonlarda ise bakterisit etki göstermektedir [261]. Literatürde yapılan çalışmalarda klorheksidinin, cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak kullanıldığında gingival indeks, sondalama cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi gibi periodontal parametrelerde daha fazla iyileşme sağladığı gösterilmiştir [262-264]. Literatürde yapılan benzer iki çalışmada sıçanlarda 20 gün boyunca ligatürle indüklenen periodontal hastalık sonrası, ligatürler uzaklaştırılmış ve diş çevresine %2 lik CHX jel uygulanarak periodontal hastalık tedavi edilmiştir. Tedavinin sistemik etkilerinin gözlemlenebilmesi için tedavi sonrası 20 gün daha beklenmiştir. Bunun sonucunda çalışmaların birisinde periodontitisin neden olduğu mikroveziküler steatozun, ligatürün uzaklaştırılmasından sonra geri dönüşümlü olduğu [79], diğer çalışmada ise periodontitise bağlı renal değişikliklerin, sıçanlarda ligatürlerin uzaklaştırılmasından sonra da devam ettiği rapor edilmiştir [94]. Literatürde yapılan bu çalışmalara paralel olarak çalışmamızda, sıçanlarda oluşturulan ligatür indüklü periodontal hastalığın tedavi edilmesi için %2 CHX jel kullanıldı ve tedavinin sistemik etkilerinin gözlemlenebilmesi için 20 gün beklendi. Bekleme süresinin sonunda periodontal tedavinin ve ligatür indüklü periodontitisin beyindeki nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerine etkisinin değerlendirilmesi için davranış testlerine ek olarak biyokimyasal analizler de yapıldı. Bu amaçla hipokampus ve BOS'taki p-tau seviyeleri ile serum, hipokampus ve BOS'taki NLRP3 seviyeleri değerlendirildi.

NLRP3 apoptozla ilişkili en tipik enflamatuvar araçlardan biridir ve nöroenflamasyondaki rolü yapılan birçok çalışmada araştırılmıştır [265, 266]. Düzensiz NLRP3 inflamazom aktivitesi, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı (AH) dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezi ve ilerlemesini yönlendiren kronik enflamatuvar bir ortam oluşturur [267]. Yapılan son deneysel çalışmalar, NLRP3'ün neden olduğu enflamasyonun, Alzheimer patogeneziinde önemli bir belirleyici olduğunu göstermektedir [265, 268]. Beyindeki steril NLRP3 enflamatuvar aktivatörleri AH'nın ilerlemesi sırasında, beyinde hücre dışı A β ve nörofibriller

yumaklar (NFY) adı verilen hücre içi hiperfosforile taudan oluşan peptit agregatlarının birikimini sergiler ve kalıcı mikrogial NLRP3 inflamazom sinyali, mikrogia'nın A β ve NFY'leri temizleme kapasitesini azaltarak mikrogial disfonksiyonu tetikler [265]. Halle ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada A β 'nin murin mikrogiasında NLRP3 enflamatuar sinyalini indüklediği gösterilmiştir [171]. Stancu ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada tau birikiminin, kemirgen mikrogiasında NLRP3 inflamazom sinyalini aktive ettiğini ve bir NLRP3 inhibitörü olan MCC950'nin tau kaynaklı IL-1 β yanıtını ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir [17]. Yakın tarihli yapılan başka bir çalışmada 14 aylık farelere *Porphyromonas gingivalis*'in dış zar vezikülleri (Pg OMV) sekiz hafta boyunca gün aşırı oral yolla uygulanmış ve nöroenflamasyon, tau hiperfosforilasyonu ve NLRP3 inflamazom analizi yapılmıştır. Bunun sonucunda araştırmacılar Pg OMV'nin beyinde bellek işlev bozukluğunu, nöroenflamasyonu ve tau fosforilasyonunu harekete geçirdiğini ve NLRP3 inflamazomu tetiklediğini rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, *Porphyromonas gingivalis*'in AH benzeri patolojide nöroenflamasyonu aktive etmede önemli bir rol oynadığı ve NLRP3 inflamazom aktivasyonunun olası bir mekanizma olabileceğini öne sürmüşlerdir [15]. Diğer taraftan bu çalışmada periodontitis oluşturulan gruplardaki BOS, hipokampus ve serum örneklerinde NLRP3 inflamazom seviyesi periodontitis oluşturulmayan gruplar ve kontrol grubu ile benzerdi. Çalışmamızın sonuçları ve literatürde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde periodontitisin AH patolojisine olan etkisi TLR4 [243], STAT3 [213], PD-1/PD-L1 [269] veya insulin sinyal yolları [97] gibi başka sinyal yolları üzerinden olabileceği gibi Th17/Treg dengesindeki bozulmadan [270] da kaynaklanabilir. Aynı zamanda çalışmamızın bu sonucunun periodontitis modelinin oluşturulmasındaki farklılık veya periodontitisin oluşması için beklenmesi gereken sürenin farklı olmasından da kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Alzheimer hastalığı, beyinde iki ana patolojik bulgu ile karakterize edilir. Bunlar, A β peptitleri ve hiperfosforile taudan oluşan nörofibriler yumaklardır [265]. Hiperfosforile tau oluşumunu neyin tetiklediği tam olarak bilinmemekle beraber hastalığın erken evrelerinde tespit edilebilen aktif bir süreç olan nöroenflamasyonun hiperfosforile tau oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmüştür [271]. Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olabileceği ve nöroenflamasyonda rol oynadığı bildirilen [21] periodontal hastalık ile AH arasındaki yollar araştırılmıştır [206, 214]. Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda periodontal hastalığın hiperfosforile tau seviyesini

artırdığı gösterilmiştir [15, 272]. Yan ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada periodontal patojenlerden *Fusobacterium nucleatum*'un AH benzeri fare modelinde davranışsal ve patolojik değişikliklere yol açıp açamayacağını değerlendirmiş ve farelerde öğrenme bozukluğu ve p-tau 181'de artış olduğu rapor edilmiştir [273]. Yapılan başka bir hayvan çalışmasında ise C57BL/6 farelerine oral olarak uygulanan *P. gingivalis* bakterisine tekrar tekrar maruz kalınmasının nöroenflamasyon ve nörodejenerasyon üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve bu durumun p-tau miktarını arttırdığı bildirilmiştir [274]. Gong ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada, farelerde oral olarak uygulanan *P. gingivalis*'in bellek işlev bozukluğunu, nöroenflamasyonu ve tau fosforilasyonunu harekete geçirdiği ve NLRP3 inflamazomunu tetiklediği gösterilmiştir [15]. Dominy ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada beyin kolonizasyonuna, A β üretiminin artmasına ve tau üzerinde zararlı etkiler oluşmasına neden olan *P. gingivalis*'in beyindeki nörodejeneratif etkilerini azaltmak için bir gingipain inhibitörü tasarlamış ve gingipain inhibitörü ile tedavinin beyindeki *P. gingivalis* enfeksiyonunu azaltacağını, daha fazla nörodejenerasyonu ve patoloji birikimini yavaşlatacağını veya önleyeceğini göstermişlerdir [215]. Literatürde yapılan bu çalışmalara paralel olarak yapmış olduğumuz çalışmada, sıçanlarda BOS ve hipokampüsteki hiperfosforile tau seviyeleri değerlendirildi. Bunun sonucunda, alzheimer (A21, A41) ve alzheimer+periodontitis oluşturulan grupların (AP21, AP41) BOS p-tau seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, ancak bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, diğer taraftan AP21, AP41 grupları ile A21, A41 grupları arasında anlamlı farklılık olmadığı belirlendi. Buna göre, AH'nın BOS p-tau seviyesini arttırabileceği, ancak periodontitisin BOS'taki p-tau seviyesi üzerinde şiddetlendirici bir etkisinin olmadığı düşünüldü. Hipokampüsteki p-tau seviyeleri değerlendirildiğinde ise değerlerin sadece alzheimer oluşturulan gruplarda ve alzheimer+periodontitis oluşturulan gruplarda kontrole göre daha yüksek olması alzheimer hastalığına bağlı olarak beyindeki nörodejenerasyonun arttığını ilave olarak, alzheimer+periodontitis oluşturulan gruplarda sadece alzheimer oluşturulan gruplara göre daha yüksek olması ise, periodontitisin hipokampüsteki nörodejenerasyonu şiddetlendirebileceğini düşündürdü. Diğer yandan, AP21 ile AP41 grubunun fosforile tau seviyeleri arasında bir farklılık olmaması periodontal tedavinin fosforile tau seviyesi üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı şeklinde yorumlanabileceği gibi, bu sonuç yapılan periodontal tedavinin tedavi sonrası iyileşme sürecinde sistemik etkisini gösterememiş olmasından da kaynaklanabilir. Cerrahi olmayan periodontal tedavinin

öğrenme ve hafıza üzerindeki iyileştirici etkisi davranış testleri ile bu çalışmada ortaya konmuş olmakla birlikte, fosforile tau seviyesi üzerindeki olası olumlu etkisi kanıtlanamamıştır.

Bu araştırma cerrahi olmayan periodontal tedavinin AH üzerine olan olası etkisini değerlendiren ilk çalışma olmakla birlikte hayvan çalışması olması nedeniyle klinik durumu tam olarak yansıtmayabileceği düşünülebilir. İlave olarak, dişetinde herhangi bir enflamasyon belirtecinin değerlendirilmemiş olması ve periodontal hastalığın AH üzerine olan olası etkisinin biyokimyasal olarak sadece NLRP3 ve p-tau seviyeleri üzerinden değerlendirilmiş olması bu çalışmanın limitasyonları arasında sayılabilir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Alzheimer modeli oluşturulan sıçanlarda, ligatür ile oluşturulan deneysel periodontitisin ve CHX ile yapılan cerrahi olmayan periodontal tedavinin davranışsal parametreler, beyindeki nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerindeki etkisi değerlendirildi.

Çalışmanın sınırları dahilinde;

- 1) Pasif sakınma ve Morris su labirenti testlerinde, alzheimer ve alzheimer+periodontitis oluşturulan sıçanlarda öğrenmede gecikme, uzun süreli hafızada ve mekânsal bellekte bozulma meydana geldiği, diğer taraftan, alzheimer+periodontitis oluşturulan sıçanlarla sadece alzheimer oluşturulan gruplar arasında farklılık olmadığı,
- 2) Periodontal tedavi uygulanan alzheimer+periodontitis oluşturulan sıçanlarda pasif sakınma ve Morris su labirenti test sonuçlarının kontrol grubu ile benzer olduğu, böylece cerrahi olmayan periodontal tedavinin bellek parametrelerinde iyileşme sağlayabileceği,
- 3) Sütür ile indüklenerek periodontal hastalık oluşturulan periodontitis ve alzheimer+periodontitis gruplarında alveoler kemik kaybının ve değerlendirilen klinik periodontal parametrelerin kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek olduğu ve deneysel periodontitisin başarılı bir şekilde oluşturulduğu,
- 4) CHX jel uygulaması ile yapılan cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası klinik periodontal parametrelerde iyileşme sağlandığı ve periodontitisin başarılı bir şekilde tedavi edildiği,
- 5) BOS p-tau seviyelerinin sadece alzheimer ve alzheimer+periodontitis oluşturulan gruplar arasında farklı olmadığı, ilave olarak COPT uygulamasının da BOS p-tau seviyeleri üzerinde etkisinin olmadığı,

- 6) Hipokampus p-tau seviyelerinin alzheimer+periodontitis gruplarında sadece alzheimer oluşturulan gruplara göre daha yüksek olduğu, COPT uygulamasının hipokampus p-tau seviyelerini azaltmadığı,
- 7) BOS, hipokampus ve serum NLRP3 düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı belirlendi.

Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, deneysel AH ve periodontitis oluşturulmuş sıçanlarda CHX ile yapılan cerrahi olmayan periodontal tedavinin davranışsal parametreler, nörodejenerasyon ve nöroenflamasyon üzerindeki etkisini değerlendiren ilk çalışmadır. Bu çalışmanın sınırları dahilinde, periodontitisin AH'nı şiddetlendirmedeği diğer taraftan, mevcut periodontal hastalığın tedavi edilmesinin Alzheimer hastalığının davranışsal parametrelerinde iyileşme sağlayarak Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlatabileceği sonucuna varılmıştır.

AH'na sahip bireylerin rutin diş hekimi sağlık kontrollerinin yapılması ve ağız bakımını sağlamaya yönelik olarak oral hijyen stratejileri geliştirilerek periodontal hastalığın başlamasının önlenmesi, periodontal hastalığın olduğu bireylerde ise gerekli periodontal tedaviler uygulanarak nöronal enflamasyon kaynaklarının uzaklaştırılmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan, bu çalışmanın deneysel bir hayvan modeli olduğu ve elde edilen bulguların klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kwon, T., I.B. Lamster, and L. Levin, *Current Concepts in the Management of Periodontitis*. Int Dent J, 2021. **71**(6): p. 462-476.
2. Sansores-Espana, D., et al., *Periodontitis and Alzheimer s disease*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2021. **26**(1): p. e43-e48.
3. Javed, F., et al., *Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with chronic periodontitis*. J Investig Clin Dent, 2014. **5**(1): p. 1-8.
4. Cerajewska, T.L., M. Davies, and N.X. West, *Periodontitis: a potential risk factor for Alzheimer's disease*. Br Dent J, 2015. **218**(1): p. 29-34.
5. Tomas, I., et al., *Periodontal health status and bacteraemia from daily oral activities: systematic review/meta-analysis*. J Clin Periodontol, 2012. **39**(3): p. 213-28.
6. Tonetti, M.S., T.E. Van Dyke, and E.F.P.A.A.P.w. working group 1 of the joint, *Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases*. J Periodontol, 2013. **84**(4 Suppl): p. S24-9.
7. Gurav, A. and V. Jadhav, *Periodontitis and risk of diabetes mellitus*. J Diabetes, 2011. **3**(1): p. 21-8.
8. Wang, R.P., et al., *Systemic inflammation linking chronic periodontitis to cognitive decline*. Brain Behav Immun, 2019. **81**: p. 63-73.
9. Kantarci, A., et al., *Microglial response to experimental periodontitis in a murine model of Alzheimer's disease*. Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 18561.
10. Hyman, B.T. and J.Q. Trojanowski, *Editorial on consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease*. Journal of neuropathology and experimental neurology, 1997. **56**(10): p. 1095.
11. Ryder, M.I. and P. Xenoudi, *Alzheimer disease and the periodontal patient: new insights, connections, and therapies*. Periodontology 2000, 2021. **87**(1): p. 32-42.
12. Li, B., et al., *Disruption of microtubule network by Alzheimer abnormally hyperphosphorylated tau*. Acta neuropathologica, 2007. **113**(5): p. 501-511.
13. Iwatsubo, T., et al., *Visualization of A β 42 (43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: evidence that an initially deposited species is A β 42 (43)*. Neuron, 1994. **13**(1): p. 45-53.
14. Jin, M., et al., *Soluble amyloid β -protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011. **108**(14): p. 5819-5824.
15. Gong, T., et al., *Outer membrane vesicles of Porphyromonas gingivalis trigger NLRP3 inflammasome and induce neuroinflammation, tau phosphorylation, and memory dysfunction in mice*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022: p. 1055.
16. Stancu, I.C., et al., *The NLRP3 inflammasome modulates tau pathology and neurodegeneration in a tauopathy model*. Glia, 2022. **70**(6): p. 1117-1132.

17. Stancu, I.-C., et al., *Aggregated Tau activates NLRP3–ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo*. Acta neuropathologica, 2019. **137**(4): p. 599-617.
18. Tang, Z., et al., *Effects of porphyromonas gingivalis and its underlying mechanisms on alzheimer-like tau hyperphosphorylation in sprague-dawley rats*. Journal of Molecular Neuroscience, 2021. **71**(1): p. 89-100.
19. Walker, K.A., et al., *Systemic inflammation during midlife and cognitive change over 20 years: The ARIC Study*. Neurology, 2019. **92**(11): p. e1256-e1267.
20. Yaffe, K., et al., *The metabolic syndrome, inflammation, and risk of cognitive decline*. Jama, 2004. **292**(18): p. 2237-2242.
21. Kamer, A.R., et al., *Inflammation and Alzheimer's disease: possible role of periodontal diseases*. Alzheimer's & Dementia, 2008. **4**(4): p. 242-250.
22. Teixeira, F.B., et al., *Periodontitis and Alzheimer's disease: a possible comorbidity between oral chronic inflammatory condition and neuroinflammation*. Frontiers in aging neuroscience, 2017. **9**: p. 327.
23. Hu, Y., et al., *Periodontitis induced by P. gingivalis-LPS is associated with neuroinflammation and learning and memory impairment in Sprague-Dawley rats*. Frontiers in Neuroscience, 2020. **14**: p. 658.
24. Li, A., et al., *Periodontitis and cognitive impairment in older adults: The mediating role of mitochondrial dysfunction*. Journal of Periodontology, 2022. **93**(9): p. 1302-1313.
25. Grandini, S., M. Sanz, and M. Romandini, *Periodontitis and low cognitive performance: A population-based study*. 2023.
26. Tang, Z., et al., *Treponema denticola Induces Alzheimer-like tau hyperphosphorylation by activating hippocampal neuroinflammation in mice*. Journal of Dental Research, 2022. **101**(8): p. 992-1001.
27. Gurav, A.N., *Alzheimer's disease and periodontitis-an elusive link*. Revista da Associação Médica Brasileira, 2014. **60**: p. 173-180.
28. Vasileios, Z., et al., *Neuroinflammation: The link between periodontal disease and Alzheimer's disease*. 2022.
29. Mietelska-Porowska, A., et al., *Tau protein modifications and interactions: their role in function and dysfunction*. International journal of molecular sciences, 2014. **15**(3): p. 4671-4713.
30. Kumar, S., *Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis*. Dent Clin North Am, 2019. **63**(1): p. 69-81.
31. Armitage, G.C., *The complete periodontal examination*. Periodontology 2000, 2004. **34**: p. 22-33.
32. Ccahuana-Vasquez, R.A., et al., *A 5-week randomized clinical evaluation of a novel electric toothbrush head with regular and tapered bristles versus a manual toothbrush for reduction of gingivitis and plaque*. Int J Dent Hyg, 2019. **17**(2): p. 153-160.
33. Kinane, D.F., P.G. Stathopoulou, and P.N. Papapanou, *Periodontal diseases*. Nature Reviews Disease Primers, 2017. **3**.
34. Trindade, D., et al., *Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies*. Journal of Clinical Periodontology, 2023.
35. Frencken, J.E., et al., *Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review*. Journal of Clinical Periodontology, 2017. **44**: p. S94-S105.

36. Papapanou, P.N., et al., *Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions*. J Periodontol, 2018. **89 Suppl 1**: p. S173-S182.
37. Lang, N.P. and P.M. Bartold, *Periodontal health*. J Clin Periodontol, 2018. **45 Suppl 20**: p. S9-S16.
38. Sanz, M., et al., *Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline*. J Clin Periodontol, 2020. **47 Suppl 22**: p. 4-60.
39. Tonetti, M.S., H. Greenwell, and K.S. Kornman, *Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition*. J Periodontol, 2018. **89 Suppl 1**: p. S159-S172.
40. Suvan, J., et al., *Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review*. J Clin Periodontol, 2020. **47 Suppl 22**: p. 155-175.
41. Page, R.C., *Pathogenesis of Periodontal-Disease - a Classic Commentary on Pathogenesis of Inflammatory Periodontal-Disease - a Summary of Current Work by Page,R.C., Schroeder,H.E.* Current Contents/Clinical Medicine, 1993(28): p. 8-8.
42. Kinane, D.F., *Causation and pathogenesis of periodontal disease*. Periodontol 2000, 2001. **25**: p. 8-20.
43. Newman, M.G., et al., *Newman and Carranza's clinical periodontology*. 13th ed. 2019, Philadelphia, PA: Elsevier. xxiii, 913 pages : illustrations (chiefly color).
44. Azuma, M., *Fundamental mechanisms of host immune responses to infection*. J Periodontal Res, 2006. **41**(5): p. 361-73.
45. Kirkwood, K.L., et al., *Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases*. Periodontol 2000, 2007. **43**: p. 294-315.
46. Shi, T., et al., *IL-10 secreting B cells regulate periodontal immune response during periodontitis*. Odontology, 2020. **108**(3): p. 350-357.
47. Cardoso, E.M., C. Reis, and M.C. Manzanares-Céspedes, *Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases*. Postgrad Med, 2018. **130**(1): p. 98-104.
48. Garlet, G.P., *Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints*. J Dent Res, 2010. **89**(12): p. 1349-63.
49. Di Benedetto, A., et al., *Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss*. Clin Dev Immunol, 2013. **2013**: p. 503754.
50. Han, Y.W., et al., *Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: Fusobacterium nucleatum adheres to and invades epithelial cells*. Infect Immun, 2000. **68**(6): p. 3140-6.
51. Nanbara, H., et al., *Modulation of Wnt5a expression by periodontopathic bacteria*. PLoS One, 2012. **7**(4): p. e34434.
52. Tew, J.G., et al., *Dendritic cells, antibodies reactive with oxLDL, and inflammation*. J Dent Res, 2012. **91**(1): p. 8-16.
53. Ekhlassi, S., et al., *Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 secretion, and CCL25 gene expression, in mouse primary gingival cell lines: interleukin-6-driven activation of CCL2*. J Periodontal Res, 2008. **43**(4): p. 431-9.
54. Morandini, A.C., et al., *Differential production of macrophage inflammatory protein-1alpha, stromal-derived factor-1, and IL-6 by human cultured periodontal ligament and gingival fibroblasts challenged with lipopolysaccharide from P. gingivalis*. J Periodontol, 2010. **81**(2): p. 310-7.

55. Kanneganti, T.-D., et al., *Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA*. Journal of Biological Chemistry, 2006. **281**(48): p. 36560-36568.
56. Guarda, G., et al., *Differential expression of NLRP3 among hematopoietic cells*. The Journal of Immunology, 2011. **186**(4): p. 2529-2534.
57. He, Y., H. Hara, and G. Núñez, *Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation*. Trends in biochemical sciences, 2016. **41**(12): p. 1012-1021.
58. Kelley, N., et al., *The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(13).
59. Liu, D., et al., *Advances in the molecular mechanisms of NLRP3 inflammasome activators and inactivators*. Biochem Pharmacol, 2020. **175**: p. 113863.
60. Ma, M., et al., *LncRNA XIST mediates bovine mammary epithelial cell inflammatory response via NF-kappaB/NLRP3 inflammasome pathway*. Cell Prolif, 2019. **52**(1): p. e12525.
61. Belibasakis, G.N., B. Guggenheim, and N. Bostanci, *Down-regulation of NLRP3 inflammasome in gingival fibroblasts by subgingival biofilms: involvement of Porphyromonas gingivalis*. Innate Immun, 2013. **19**(1): p. 3-9.
62. Marchesan, J.T., et al., *Role of inflammasomes in the pathogenesis of periodontal disease and therapeutics*. Periodontol 2000, 2020. **82**(1): p. 93-114.
63. Isola, G., et al., *Periodontitis activates the NLRP3 inflammasome in serum and saliva*. J Periodontol, 2022. **93**(1): p. 135-145.
64. Guarda, G., et al., *Differential expression of NLRP3 among hematopoietic cells*. J Immunol, 2011. **186**(4): p. 2529-34.
65. Chen, Y., et al., *NLRP3 regulates alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis by promoting osteoclastic differentiation*. Cell Prolif, 2021. **54**(2): p. e12973.
66. Shahbeik, S., et al., *Evaluation of NLRP3 and IL-18 Levels after Periodontal Therapy*. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2021. **20**(6): p. 764-770.
67. Orlandi, M., F. Graziani, and F. D'Aiuto, *Periodontal therapy and cardiovascular risk*. Periodontol 2000, 2020. **83**(1): p. 107-124.
68. da Costa, L., et al., *Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis*. J Am Dent Assoc, 2017. **148**(5): p. 308-318.
69. Zhao, H., J. Hu, and L. Zhao, *Adjunctive subgingival application of Chlorhexidine gel in nonsurgical periodontal treatment for chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis*. BMC Oral Health, 2020. **20**(1): p. 34.
70. Balagopal, S. and R. Arjunkumar, *Chlorhexidine: the gold standard antiplaque agent*. Journal of Pharmaceutical sciences and Research, 2013. **5**(12): p. 270.
71. Schroeder, H.E., *Formation and inhibition of dental calculus*. J Periodontol, 1969. **40**(11): p. 643-6.
72. Greenstein, G., C. Berman, and R. Jaffin, *Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy*. J Periodontol, 1986. **57**(6): p. 370-7.
73. Brex, M. and J. Theilade, *Effect of chlorhexidine rinses on the morphology of early dental plaque formed on plastic film*. J Clin Periodontol, 1984. **11**(9): p. 553-64.
74. Hoffmann, T., et al., *Clinical controlled study on plaque and gingivitis reduction under long-term use of low-dose chlorhexidine solutions in a*

- population exhibiting good oral hygiene. Clin Oral Investig*, 2001. **5**(2): p. 89-95.
75. Van der Weijden, G.A., et al., *Three different rinsing times and inhibition of plaque accumulation with chlorhexidine. J Clin Periodontol*, 2005. **32**(1): p. 89-92.
 76. Addy, M. and J.M. Moran, *Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. Periodontology* 2000, 1997. **15**(1): p. 52-54.
 77. Zimmer, S., et al., *Clinical efficacy of flossing versus use of antimicrobial rinses. Journal of periodontology*, 2006. **77**(8): p. 1380-1385.
 78. de Araujo Nobre, M., N. Cintra, and P. Maló, *Peri-implant maintenance of immediate function implants: a pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine. International journal of dental hygiene*, 2007. **5**(2): p. 87-94.
 79. Dos Santos Carvalho, J., et al., *Steatosis caused by experimental periodontitis is reversible after removal of ligature in rats. Journal of Periodontal Research*, 2017. **52**(5): p. 883-892.
 80. Kantarci, A., H. Hasturk, and T.E. Van Dyke, *Animal models for periodontal regeneration and peri-implant responses. Periodontol* 2000, 2015. **68**(1): p. 66-82.
 81. Graves, D.T., et al., *The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. Journal of clinical periodontology*, 2008. **35**(2): p. 89-105.
 82. Oz, H.S. and D.A. Puleo, *Animal models for periodontal disease. J Biomed Biotechnol*, 2011. **2011**: p. 754857.
 83. Struillou, X., et al., *Experimental animal models in periodontology: a review. Open Dent J*, 2010. **4**: p. 37-47.
 84. Schou, S., P. Holmstrup, and K.S. Kornman, *Non-human primates used in studies of periodontal disease pathogenesis: a review of the literature. Journal of periodontology*, 1993. **64**(6): p. 497-508.
 85. Madden, T.E. and J.G. Caton, [9] *Animal models for periodontal disease. Methods in enzymology*, 1994. **235**: p. 106-119.
 86. Wang, S., et al., *The miniature pig: a useful large animal model for dental and orofacial research. Oral diseases*, 2007. **13**(6): p. 530-537.
 87. Egelberg, J., *Local effect of diet on plaque formation and development of gingivitis in dogs. Odontolo Rev*, 1965. **16**: p. 31-41.
 88. Kwon, D.H., et al., *Evaluation of an injectable rhGDF-5/PLGA construct for minimally invasive periodontal regenerative procedures: a histological study in the dog. Journal of Clinical Periodontology*, 2010. **37**(4): p. 390-397.
 89. Tyrrell, K.L., et al., *Periodontal bacteria in rabbit mandibular and maxillary abscesses. Journal of clinical microbiology*, 2002. **40**(3): p. 1044-1047.
 90. Oortgiesen, D.A., et al., *Fenestration defects in the rabbit jaw: an inadequate model for studying periodontal regeneration. Tissue Engineering Part C: Methods*, 2010. **16**(1): p. 133-140.
 91. Bjornsson, T.D., et al., *The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective. Drug Metab Dispos*, 2003. **31**(7): p. 815-32.
 92. Kuhr, A., et al., *Observations on experimental marginal periodontitis in rats. Journal of periodontal research*, 2004. **39**(2): p. 101-106.
 93. Ekuni, D., et al., *Proteases augment the effects of lipopolysaccharide in rat gingiva. Journal of periodontal research*, 2003. **38**(6): p. 591-596.

94. Galeno, J.G., et al., *Renal alterations caused by ligature-induced periodontitis persist after ligature removal in rats*. Journal of periodontal research, 2021. **56**(2): p. 306-313.
95. Dimitriu, T., et al., *Ligature induced periodontitis causes atherosclerosis in rat descending aorta: an experimental study*. Medicine and pharmacy reports, 2021. **94**(1): p. 106.
96. Nishikawa, T., et al., *Therapeutic potential for insulin on type 1 diabetes-associated periodontitis: Analysis of experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats*. Journal of Diabetes Investigation, 2020. **11**(6): p. 1482-1489.
97. Duan, L., et al., *Experimental Periodontitis Deteriorates Cognitive Function and Impairs Insulin Signaling in a Streptozotocin-Induced Alzheimer's Disease Rat Model*. Journal of Alzheimer's Disease, 2022(Preprint): p. 1-18.
98. Sanabria-Castro, A., I. Alvarado-Echeverría, and C. Monge-Bonilla, *Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease: an update*. Annals of neurosciences, 2017. **24**(1): p. 46-54.
99. Möller, H.-J. and M.B. Graeber, *The case described by Alois Alzheimer in 1911*. European archives of psychiatry and clinical neuroscience, 1998. **248**(3): p. 111-122.
100. Hoff, P. and H. Hippus, *Alois Alzheimer 1864-1915: Ein Überblick über Leben und Werk anlässlich seines 125. Geburtstages*. Nervenarzt, 1989. **60**(6): p. 332-337.
101. Engelhardt, E. and L.T. Grinberg, *Alois Alzheimer and vascular brain disease: Arteriosclerotic atrophy of the brain*. Dementia & neuropsychologia, 2015. **9**: p. 81-84.
102. Maurer, K., et al., *The history of Alois Alzheimer's first case*. Concepts of Alzheimer's Disease. Biological, Clinical and Cultural Perspectives, 2000: p. 5-29.
103. Frisoni, G.B., et al., *The probabilistic model of Alzheimer disease: the amyloid hypothesis revised*. Nature Reviews Neuroscience, 2022. **23**(1): p. 53-66.
104. Abbayya, K., et al., *Association between periodontitis and Alzheimer's disease*. North American Journal of Medical Sciences, 2015. **7**(6): p. 241.
105. Kumar, S., M. Vijayan, and P.H. Reddy, *MicroRNA-455-3p as a potential peripheral biomarker for Alzheimer's disease*. Human molecular genetics, 2017. **26**(19): p. 3808-3822.
106. Jungbauer, G., et al., *Periodontal microorganisms and Alzheimer disease—A causative relationship?* Periodontology 2000, 2022. **89**(1): p. 59-82.
107. Zhu, X.-C., et al., *Rate of early onset Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis*. Annals of translational medicine, 2015. **3**(3).
108. Dementia, E.O., *A National Challenge, a Future Crisis*. Washington, DC: Alzheimers Association, 2006.
109. Akiyama, H., et al., *Inflammation and Alzheimer's disease*. Neurobiology of aging, 2000. **21**(3): p. 383-421.
110. Price, D.L. and S.S. Sisodia, *Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models*. Annual review of neuroscience, 1998. **21**: p. 479.
111. Sengoku, R., *Aging and Alzheimer's disease pathology*. Neuropathology, 2020. **40**(1): p. 22-29.
112. Bowen, D.M., et al., *Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies*. Brain: a journal of neurology, 1976. **99**(3): p. 459-496.

113. Whitehouse, P.J., et al., *Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis*. Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 1981. **10**(2): p. 122-126.
114. Drachman, D.A. and J. Leavitt, *Human memory and the cholinergic system: a relationship to aging?* Archives of neurology, 1974. **30**(2): p. 113-121.
115. Summers, W.K., et al., *Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type*. New England Journal of Medicine, 1986. **315**(20): p. 1241-1245.
116. Hampel, H., et al., *The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease*. Brain, 2018. **141**(7): p. 1917-1933.
117. Cummings, J.L., R. Doody, and C. Clark, *Disease-modifying therapies for Alzheimer disease: challenges to early intervention*. Neurology, 2007. **69**(16): p. 1622-1634.
118. Deane, R., et al., *Clearance of amyloid- β peptide across the blood-brain barrier: implication for therapies in Alzheimer's disease*. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders), 2009. **8**(1): p. 16-30.
119. Dawbarn, D. and S.J. Allen, *Neurobiology of Alzheimer's disease*. 2007: Oxford University Press.
120. Gessel, M.M., et al., *Familial Alzheimer's disease mutations differentially alter amyloid β -protein oligomerization*. ACS chemical neuroscience, 2012. **3**(11): p. 909-918.
121. Huang, H.-C. and Z.-F. Jiang, *Accumulated amyloid- β peptide and hyperphosphorylated tau protein: relationship and links in Alzheimer's disease*. Journal of Alzheimer's disease, 2009. **16**(1): p. 15-27.
122. Wang, D.S., D.W. Dickson, and J.S. Malter, *beta-Amyloid degradation and Alzheimer's disease*. J Biomed Biotechnol, 2006. **2006**(3): p. 58406.
123. Mandelkow, E.-M. and E. Mandelkow, *Tau in Alzheimer's disease*. Trends in cell biology, 1998. **8**(11): p. 425-427.
124. Spillantini, M.G. and M. Goedert, *Tau pathology and neurodegeneration*. The Lancet Neurology, 2013. **12**(6): p. 609-622.
125. Kuret, J., et al., *Evaluating triggers and enhancers of tau fibrillization*. Microscopy research and technique, 2005. **67**(3-4): p. 141-155.
126. Pisoschi, A.M. and A. Pop, *The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review*. European journal of medicinal chemistry, 2015. **97**: p. 55-74.
127. Lin, M.T. and M.F. Beal, *Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases*. Nature, 2006. **443**(7113): p. 787-795.
128. Praticò, D., *Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal*. Trends in pharmacological sciences, 2008. **29**(12): p. 609-615.
129. Hensley, K., et al., *A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994. **91**(8): p. 3270-3274.
130. Korol, T.Y., et al., *Disruption of calcium homeostasis in Alzheimer's disease*. Neurophysiology, 2008. **40**(5): p. 385-392.
131. Fonseca, A.C., S.M. Cardoso, and C.F. Pereira, *Calcium and redox homeostasis in Alzheimer's disease: a focus on the endoplasmic reticulum*. Therapeutic Targets for Neurological Diseases, 2015. **2**.

132. Stutzmann, G.E., et al., *Dysregulated IP3 signaling in cortical neurons of knock-in mice expressing an Alzheimer's-linked mutation in presenilin1 results in exaggerated Ca²⁺ signals and altered membrane excitability*. Journal of Neuroscience, 2004. **24**(2): p. 508-513.
133. Small, D.H., *Dysregulation of calcium homeostasis in Alzheimer's disease*. Neurochemical research, 2009. **34**(10): p. 1824-1829.
134. Qiu, C., M. Kivipelto, and E. Von Strauss, *Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention*. Dialogues in clinical neuroscience, 2022.
135. Alexandraki, K.I., et al., *Differential expression of apoptotic and low-grade inflammatory markers in alzheimer disease compared to diabetes mellitus type 1 and 2*. The journal of applied laboratory medicine, 2019. **3**(6): p. 1003-1013.
136. Long, J.M. and D.M. Holtzman, *Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies*. Cell, 2019. **179**(2): p. 312-339.
137. Tejera, D., et al., *Systemic inflammation impairs microglial A β clearance through NLRP 3 inflammasome*. The EMBO journal, 2019. **38**(17): p. e101064.
138. DiSabato, D.J., N. Quan, and J.P. Godbout, *Neuroinflammation: the devil is in the details*. Journal of neurochemistry, 2016. **139**: p. 136-153.
139. Heneka, M.T., M.P. Kummer, and E. Latz, *Innate immune activation in neurodegenerative disease*. Nature Reviews Immunology, 2014. **14**(7): p. 463-477.
140. Lyman, M., et al., *Neuroinflammation: the role and consequences*. Neuroscience research, 2014. **79**: p. 1-12.
141. Mishra, A., et al., *Synapse loss induced by interleukin-1 β requires pre-and post-synaptic mechanisms*. Journal of Neuroimmune Pharmacology, 2012. **7**(3): p. 571-578.
142. Micheau, O. and J. Tschopp, *Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes*. Cell, 2003. **114**(2): p. 181-190.
143. Hong, S., et al., *Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models*. Science, 2016. **352**(6286): p. 712-716.
144. Calsolaro, V. and P. Edison, *Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions*. Alzheimer's & dementia, 2016. **12**(6): p. 719-732.
145. Heneka, M.T., et al., *Neuroinflammation in Alzheimer's disease*. The Lancet Neurology, 2015. **14**(4): p. 388-405.
146. Tischer, J., et al., *Inhomogeneous distribution of Iba-1 characterizes microglial pathology in Alzheimer's disease*. Glia, 2016. **64**(9): p. 1562-1572.
147. Hanzel, C.E., et al., *Neuronal driven pre-plaque inflammation in a transgenic rat model of Alzheimer's disease*. Neurobiology of aging, 2014. **35**(10): p. 2249-2262.
148. Philippens, I.H., et al., *Acceleration of amyloidosis by inflammation in the amyloid-beta marmoset monkey model of Alzheimer's disease*. Journal of Alzheimer's Disease, 2017. **55**(1): p. 101-113.
149. Hollingworth, P., et al., *Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease*. Nature genetics, 2011. **43**(5): p. 429-435.
150. Lambert, J.-C., et al., *Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease*. Nature genetics, 2013. **45**(12): p. 1452-1458.

151. McGeer, P.L., et al., *Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR*. Neuroscience letters, 1987. **79**(1-2): p. 195-200.
152. Tooyama, I., et al., *Reactive microglia express class I and class II major histocompatibility complex antigens in Alzheimer's disease*. Brain research, 1990. **523**(2): p. 273-280.
153. Hayes, A., et al., *Pathological relationships between microglial cell activity and tau and amyloid β protein in patients with Alzheimer's disease*. Neuroscience letters, 2002. **331**(3): p. 171-174.
154. Dani, M., et al., *Microglial activation correlates in vivo with both tau and amyloid in Alzheimer's disease*. Brain, 2018. **141**(9): p. 2740-2754.
155. Kitazawa, M., T.R. Yamasaki, and F.M. LaFerla, *Microglia as a Potential Bridge between the Amyloid β -Peptide and Tau*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2004. **1035**(1): p. 85-103.
156. McGeer, P.L. and E.G. McGeer, *The amyloid cascade-inflammatory hypothesis of Alzheimer disease: implications for therapy*. Acta neuropathologica, 2013. **126**(4): p. 479-497.
157. Leng, F. and P. Edison, *Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?* Nature Reviews Neurology, 2021. **17**(3): p. 157-172.
158. Liu, S., et al., *TLR2 is a primary receptor for Alzheimer's amyloid β peptide to trigger neuroinflammatory activation*. The Journal of Immunology, 2012. **188**(3): p. 1098-1107.
159. Murgas, P., B. Godoy, and R. Von Bernhardi, *$A\beta$ potentiates inflammatory activation of glial cells induced by scavenger receptor ligands and inflammatory mediators in culture*. Neurotoxicity research, 2012. **22**(1): p. 69-78.
160. Koenigsknecht, J. and G. Landreth, *Microglial phagocytosis of fibrillar β -amyloid through a β 1 integrin-dependent mechanism*. Journal of Neuroscience, 2004. **24**(44): p. 9838-9846.
161. Malko, P., et al., *TRPM2 channel in microglia as a new player in neuroinflammation associated with a spectrum of central nervous system pathologies*. Frontiers in pharmacology, 2019. **10**: p. 239.
162. Alawieyah Syed Mortadza, S., et al., *A critical role of TRPM2 channel in $A\beta$ 42-induced microglial activation and generation of tumor necrosis factor- α* . Glia, 2018. **66**(3): p. 562-575.
163. Strowig, T., et al., *Inflammasomes in health and disease*. nature, 2012. **481**(7381): p. 278-286.
164. Heneka, M.T., et al., *NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice*. Nature, 2013. **493**(7434): p. 674-678.
165. White, C.S., et al., *Inflammasomes as therapeutic targets for Alzheimer's disease*. Brain pathology, 2017. **27**(2): p. 223-234.
166. Doens, D. and P.L. Fernández, *Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis*. Journal of neuroinflammation, 2014. **11**(1): p. 1-14.
167. Ojala, J., et al., *Expression of interleukin-18 is increased in the brains of Alzheimer's disease patients*. Neurobiology of aging, 2009. **30**(2): p. 198-209.

168. Cartier, L., et al., *Chemokine receptors in the central nervous system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases*. Brain Research Reviews, 2005. **48**(1): p. 16-42.
169. Lue, L.F., et al., *Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro*. Glia, 2001. **35**(1): p. 72-79.
170. Apelt, J. and R. Schliebs, *β -amyloid-induced glial expression of both pro-and anti-inflammatory cytokines in cerebral cortex of aged transgenic Tg2576 mice with Alzheimer plaque pathology*. Brain research, 2001. **894**(1): p. 21-30.
171. Halle, A., et al., *The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- β* . Nature immunology, 2008. **9**(8): p. 857-865.
172. Venegas, C., et al., *Microglia-derived ASC specks cross-seed amyloid- β in Alzheimer's disease*. Nature, 2017. **552**(7685): p. 355-361.
173. Ising, C., et al., *NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology*. Nature, 2019. **575**(7784): p. 669-673.
174. Cerajewska, T., M. Davies, and N. West, *Periodontitis: a potential risk factor for Alzheimer's disease*. British Dental Journal, 2015. **218**(1): p. 29-34.
175. Abbayya, K., et al., *Association between Periodontitis and Alzheimer's Disease*. N Am J Med Sci, 2015. **7**(6): p. 241-6.
176. Bartova, J., et al., *Periodontitis as a risk factor of atherosclerosis*. Journal of immunology research, 2014. **2014**.
177. Emingil, G., et al., *Association between periodontal disease and acute myocardial infarction*. Journal of periodontology, 2000. **71**(12): p. 1882-1886.
178. Fagundes, N.C.F., et al., *Periodontitis as a risk factor for stroke: A systematic review and meta-analysis*. Vascular Health and Risk Management, 2019. **15**: p. 519.
179. Iacopino, A.M., *Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation*. Annals of periodontology, 2001. **6**(1): p. 125-137.
180. Martins Moliterno, L.F., et al., *Association between periodontitis and low birth weight: a case-control study*. Journal of clinical periodontology, 2005. **32**(8): p. 886-890.
181. Takeuchi, K., et al., *Periodontitis is associated with chronic obstructive pulmonary disease*. Journal of Dental Research, 2019. **98**(5): p. 534-540.
182. Bartold, P.M., R. Marshall, and D. Haynes, *Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review*. Journal of periodontology, 2005. **76**: p. 2066-2074.
183. Pritchard, A.B., et al., *Periodontitis, microbiomes and their role in Alzheimer's disease*. Frontiers in aging neuroscience, 2017. **9**: p. 336.
184. Lee, K.S., et al., *Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease*. Dementia and geriatric cognitive disorders, 2009. **28**(4): p. 281-287.
185. Gatz, M., et al., *Potentially modifiable risk factors for dementia in identical twins*. Alzheimer's & Dementia, 2006. **2**(2): p. 110-117.
186. Choi, S., et al., *Association of chronic periodontitis on Alzheimer's disease or vascular dementia*. Journal of the American Geriatrics Society, 2019. **67**(6): p. 1234-1239.
187. Leira, Y., et al., *Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced periodontitis and serum amyloid-beta peptides*. Archives of oral biology, 2019. **99**: p. 120-125.
188. Tang, Z., et al., *Treponema denticola Induces Alzheimer-Like Tau Hyperphosphorylation by Activating Hippocampal Neuroinflammation in Mice*. Journal of Dental Research, 2022: p. 00220345221076772.

189. Ryder, M.I., *Porphyromonas gingivalis* and Alzheimer disease: Recent findings and potential therapies. Journal of periodontology, 2020. **91**: p. S45-S49.
190. Dominy, S.S., et al., *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. Sci Adv, 2019. **5**(1): p. eaau3333.
191. Noble, J.M., et al., Serum IgG antibody levels to periodontal microbiota are associated with incident Alzheimer disease. PloS one, 2014. **9**(12): p. e114959.
192. Lee, J.W., et al., Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. Journal of neuroinflammation, 2008. **5**(1): p. 1-14.
193. Hu, Y., et al., Activated STAT3 signaling pathway by ligature-induced periodontitis could contribute to neuroinflammation and cognitive impairment in rats. Journal of neuroinflammation, 2021. **18**(1): p. 1-17.
194. Sharma, M. and Y. Gupta, Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. Life sciences, 2002. **71**(21): p. 2489-2498.
195. Aydoğan, T., Timokinon tedavisinin sporadik alzheimer modeli oluşturulmuş sıçan beyin dokusundaki mikroRNA ve mRNA ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırılması/Investigating the mechanism on expression of MRNA and microrna triggered by timoquinon treatment in brain of sporadic alzheimer's disease model rats. 2017.
196. Dalli, T., et al., Thymoquinone activates MAPK pathway in hippocampus of streptozotocin-treated rat model. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018. **99**: p. 391-401.
197. Semenoff, T.A.D.V., et al., Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: a comparison of histological section planes. Journal of Applied Oral Science, 2008. **16**: p. 251-256.
198. de Molon, R.S., et al., Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. Microscopy research and technique, 2018. **81**(12): p. 1412-1421.
199. Liu, R., et al., Effects of systemic ornidazole, systemic and local compound ornidazole and pefloxacin mesylate on experimental periodontitis in rats. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 2012. **18**(3): p. BR95.
200. Xu, Y. and W. Wei, A comparative study of systemic subantimicrobial and topical treatment of minocycline in experimental periodontitis of rats. Archives of oral biology, 2006. **51**(9): p. 794-803.
201. Silva, V.d.O., et al., β -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. PloS one, 2015. **10**(8): p. e0134742.
202. Souza, D.M.d., et al., Evaluation of two morphometric methods of bone loss percentages caused by periodontitis in rats in different locations. Journal of Applied Oral Science, 2010. **18**: p. 493-497.
203. Ma, Y.-Q., D.-K. Wu, and J.-K. Liu, mTOR and tau phosphorylated proteins in the hippocampal tissue of rats with type 2 diabetes and Alzheimer's disease. Molecular medicine reports, 2013. **7**(2): p. 623-627.
204. Du, X., X. Wang, and M. Geng, Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. Translational neurodegeneration, 2018. **7**(1): p. 1-7.
205. Pinheiro, L. and C. Faustino, Therapeutic strategies targeting amyloid- β in Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research, 2019. **16**(5): p. 418-452.

206. Liccardo, D., et al., *Potential bidirectional relationship between periodontitis and Alzheimer's disease*. Frontiers in Physiology, 2020. **11**: p. 683.
207. Silva, M.V.F., et al., *Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures*. Journal of biomedical science, 2019. **26**: p. 1-11.
208. Breijyeh, Z. and R. Karaman, *Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment*. Molecules, 2020. **25**(24): p. 5789.
209. Perry, V.H., C. Cunningham, and C. Holmes, *Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration*. Nature Reviews Immunology, 2007. **7**(2): p. 161-167.
210. Holmes, C., *Systemic inflammation and Alzheimer's disease*. Neuropathology and applied neurobiology, 2013. **39**(1): p. 51-68.
211. Ozben, T. and S. Ozben, *Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease*. Clin Biochem, 2019. **72**: p. 87-89.
212. Cao, W. and H. Zheng, *Peripheral immune system in aging and Alzheimer's disease*. Molecular neurodegeneration, 2018. **13**(1): p. 1-17.
213. Hu, Y., et al., *Activated STAT3 signaling pathway by ligature-induced periodontitis could contribute to neuroinflammation and cognitive impairment in rats*. Journal of Neuroinflammation, 2021. **18**: p. 1-17.
214. Sadrameli, M., P. Bathini, and L. Alberi, *Linking mechanisms of periodontitis to Alzheimer's disease*. Current opinion in neurology, 2020. **33**(2): p. 230-238.
215. Dominy, S.S., et al., *Porphyrromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors*. Science advances, 2019. **5**(1): p. eaau3333.
216. Shao, X., et al., *Treatment of Alzheimer's disease with framework nucleic acids*. Cell Proliferation, 2020. **53**(4): p. e12787.
217. Yang, L., et al., *Non-invasive photobiomodulation treatment in an Alzheimer Disease-like transgenic rat model*. Theranostics, 2022. **12**(5): p. 2205.
218. Alavi, M.S., et al., *Beneficial effects of levetiracetam in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease*. Metabolic Brain Disease, 2022. **37**(3): p. 689-700.
219. Kosel, F., J.M. Pelley, and T.B. Franklin, *Behavioural and psychological symptoms of dementia in mouse models of Alzheimer's disease-related pathology*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2020. **112**: p. 634-647.
220. Bao, J., et al., *Sex differences in the cognitive and hippocampal effects of streptozotocin in an animal model of sporadic AD*. Frontiers in aging neuroscience, 2017. **9**: p. 347.
221. Packard, M.G., *Posttraining estrogen and memory modulation*. Hormones and behavior, 1998. **34**(2): p. 126-139.
222. Brinton, R.D., *Estrogen-induced plasticity from cells to circuits: predictions for cognitive function*. Trends in pharmacological sciences, 2009. **30**(4): p. 212-222.
223. Foster, T.C., *Role of estrogen receptor alpha and beta expression and signaling on cognitive function during aging*. Hippocampus, 2012. **22**(4): p. 656-669.
224. Hoyer, S. and H. Lannert, *Long-term effects of corticosterone on behavior, oxidative and energy metabolism of parietotemporal cerebral cortex and hippocampus of rats: comparison to intracerebroventricular streptozotocin*. Journal of Neural Transmission, 2008. **115**(9): p. 1241-1249.

225. Salkovic-Petrisic, M., et al., *Long-term oral galactose treatment prevents cognitive deficits in male Wistar rats treated intracerebroventricularly with streptozotocin*. Neuropharmacology, 2014. **77**: p. 68-80.
226. YALABIK, M.Ş., et al., *Streptozotosin ile oluşturulan deneyssel alzheimer modelinde agmatinin etkilerinin araştırılması*. Clinical and Experimental Health Sciences, 2013. **3**(3): p. 145-153.
227. Knezovic, A., et al., *Staging of cognitive deficits and neuropathological and ultrastructural changes in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease*. Journal of neural transmission, 2015. **122**(4): p. 577-592.
228. Kosaraju, J., et al., *Saxagliptin: a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates streptozotocin induced Alzheimer's disease*. Neuropharmacology, 2013. **72**: p. 291-300.
229. Shingo, A.S., et al., *Intracerebroventricular administration of an insulin analogue recovers STZ-induced cognitive decline in rats*. Behavioural brain research, 2013. **241**: p. 105-111.
230. Puzzo, D., et al., *Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines*. Biochemical pharmacology, 2014. **88**(4): p. 450-467.
231. West, M.J., *Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus*. Neurobiology of aging, 1993. **14**(4): p. 287-293.
232. Bryan, K.J., et al., *Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: Behavioral Testing and Considerations*, in *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, J.J. Buccafusco, Editor. 2009: Boca Raton (FL).
233. Khalili, M. and F. Hamzeh, *Effects of active constituents of Crocus sativus L., crocin on streptozocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in male rats*. Iranian biomedical journal, 2010. **14**(1-2): p. 59.
234. Veerendra Kumar, M. and Y. Gupta, *Effect of Centella asiatica on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2003. **30**(5-6): p. 336-342.
235. Seyedreza, P., M.N. Alireza, and H. Seyedbrahim, *Role of testosterone in memory impairment of Alzheimer disease induced by Streptozotocin in male rats*. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012. **20**(1): p. 1-5.
236. Morris, R.G., *Spatial localization does not require the presence of local cues*. Learning and motivation, 1981. **12**(2): p. 239-260.
237. Trinchese, F., et al., *Progressive age-related development of Alzheimer-like pathology in APP/PS1 mice*. Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 2004. **55**(6): p. 801-814.
238. Puzzo, D., et al., *Phosphodiesterase 5 inhibition improves synaptic function, memory, and amyloid- β load in an Alzheimer's disease mouse model*. Journal of Neuroscience, 2009. **29**(25): p. 8075-8086.
239. Gong, B., et al., *Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment*. The Journal of clinical investigation, 2004. **114**(11): p. 1624-1634.
240. Palmeri, A., et al., *Inhibition of phosphodiesterase-5 rescues age-related impairment of synaptic plasticity and memory*. Behavioural brain research, 2013. **240**: p. 11-20.
241. Khorasani, A., M. Abbasnejad, and S. Esmaeili-Mahani, *Phytohormone abscisic acid ameliorates cognitive impairments in streptozotocin-induced rat*

- model of Alzheimer's disease through PPAR β / δ and PKA signaling.* International Journal of Neuroscience, 2019. **129**(11): p. 1053-1065.
242. Yang, W., et al., *Sulforaphene ameliorates neuroinflammation and hyperphosphorylated tau protein via regulating the PI3K/Akt/GSK-3 β pathway in experimental models of Alzheimer's disease.* Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020. **2020**.
 243. Zhang, J., et al., *Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice.* Journal of neuroinflammation, 2018. **15**(1): p. 1-14.
 244. Díaz-Zúñiga, J., et al., *Alzheimer's disease-like pathology triggered by Porphyromonas gingivalis in wild type rats is serotype dependent.* Frontiers in immunology, 2020. **11**: p. 588036.
 245. Lari, S., et al., *Local delivery of a CXCR3 antagonist decreases the progression of bone resorption induced by LPS injection in a murine model.* Clinical Oral Investigations, 2022. **26**(8): p. 5163-5169.
 246. de Molon, R.S., E.D. de Avila, and J.A. Cirelli, *Host responses induced by different animal models of periodontal disease: a literature review.* Journal of investigative and clinical dentistry, 2013. **4**(4): p. 211-218.
 247. de Molon, R.S., et al., *Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice.* Journal of periodontology, 2014. **85**(3): p. 465-477.
 248. Pirih, F.Q., et al., *Ligature-induced peri-implantitis in mice.* Journal of periodontal research, 2015. **50**(4): p. 519-524.
 249. Wong, R.L., et al., *Comparing the healing potential of late-stage periodontitis and peri-implantitis.* Journal of Oral Implantology, 2017. **43**(6): p. 437-445.
 250. Alencar, V.B., et al., *Disodium chlodronate prevents bone resorption in experimental periodontitis in rats.* Journal of periodontology, 2002. **73**(3): p. 251-256.
 251. Zhang, B., et al., *Hyperglycemia modulates M1/M2 macrophage polarization via reactive oxygen species overproduction in ligature-induced periodontitis.* Journal of periodontal research, 2021. **56**(5): p. 991-1005.
 252. Andrade, R.S.B.d., et al., *High-fat diet aggravates the liver disease caused by periodontitis in rats.* Journal of Periodontology, 2019. **90**(9): p. 1023-1031.
 253. Yue, Y., et al., *The role of TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in periodontitis-induced liver inflammation of rats.* Oral diseases, 2021. **27**(4): p. 1012-1021.
 254. Sanz, M., et al., *Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline.* Journal of Clinical Periodontology, 2020. **47**: p. 4-60.
 255. Van Der Weijden, F. and D.E. Slot, *Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence.* Periodontology 2000, 2011. **55**(1): p. 104-123.
 256. Bouchard, P., et al., *Risk factors in periodontology: a conceptual framework.* Journal of clinical periodontology, 2017. **44**(2): p. 125-131.
 257. Haas, A.N., et al., *New tendencies in non-surgical periodontal therapy.* Brazilian Oral Research, 2021. **35**.
 258. Teles, R.P. and F.R.F. Teles, *Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control?* Brazilian Oral Research, 2009. **23**: p. 39-48.

259. Gunsolley, J.C., *Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses*. Journal of dentistry, 2010. **38**: p. S6-S10.
260. Francetti, L., et al., *Chlorhexidine spray versus mouthwash in the control of dental plaque after implant surgery*. Journal of clinical periodontology, 2004. **31**(10): p. 857-862.
261. Karpiński, T. and A. Szkaradkiewicz, *Chlorhexidine–pharmaco-biological activity and application*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015. **19**(7): p. 1321-1326.
262. Stratul, S.I., et al., *Prospective clinical study evaluating the long-time adjunctive use of chlorhexidine after one-stage full-mouth SRP*. International journal of dental hygiene, 2010. **8**(1): p. 35-40.
263. Faveri, M., et al., *Scaling and root planing and chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: A randomized, placebo-controlled clinical trial*. Journal of Clinical Periodontology, 2006. **33**(11): p. 819-828.
264. Feres, M., et al., *Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy*. Journal of clinical periodontology, 2009. **36**(10): p. 857-867.
265. Milner, M.T., et al., *The NLRP3 inflammasome triggers sterile neuroinflammation and Alzheimer's disease*. Current Opinion in Immunology, 2021. **68**: p. 116-124.
266. Lin, S. and X. Mei, *Role of NLRP3 inflammasomes in neuroinflammation diseases*. European neurology, 2020. **83**(6): p. 576-580.
267. Lu, R., L. Zhang, and X. Yang, *Interaction between autophagy and the NLRP3 inflammasome in Alzheimer's and Parkinson's disease*. Frontiers in Aging Neuroscience, 2022.
268. Hanslik, K.L. and T.K. Ulland, *The role of microglia and the Nlrp3 inflammasome in Alzheimer's disease*. Frontiers in Neurology, 2020. **11**: p. 570711.
269. Liu, X., L. Yang, and X. Tan, *PD-1/PD-L1 pathway: A double-edged sword in periodontitis*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023. **159**: p. 114215.
270. Zhang, X., et al., *The imbalance of Th17/Treg via STAT3 activation modulates cognitive impairment in P. gingivalis LPS-induced periodontitis mice*. Journal of leukocyte biology, 2021. **110**(3): p. 511-524.
271. Metcalfe, M.J. and M.E. Figueiredo-Pereira, *Relationship between tau pathology and neuroinflammation in Alzheimer's disease*. Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine, 2010. **77**(1): p. 50-58.
272. Tang, Z., et al., *Effects of Porphyromonas gingivalis and its underlying mechanisms on Alzheimer-like tau hyperphosphorylation in Sprague-Dawley rats*. Journal of Molecular Neuroscience, 2021. **71**: p. 89-100.
273. Yan, C., et al., *Fusobacterium nucleatum infection-induced neurodegeneration and abnormal gut microbiota composition in Alzheimer's disease-like rats*. Frontiers in Neuroscience, 2022. **16**.
274. Ilievski, V., et al., *Chronic oral application of a periodontal pathogen results in brain inflammation, neurodegeneration and amyloid beta production in wild type mice*. PloS one, 2018. **13**(10): p. e0204941.

EKLER

EK A: Etik kurul onay



EK A

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararları/Tarih ve Sayı: 14.09.2022-E.77282



T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ

09.08.2022

KONU: Etik Kurul Kararı - Esra DEMİR

Sayın, Dr. Dt. Esra DEMİR

“Sıçanlarda Oluşturulan Ligatür İndüklü Deneysel Periodontitis ve Tedavisinin Beyindeki Nörodejenerasyon ve Nöroenflamasyon Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” başlıklı dilekçenize ilişkin aşağıdaki maddeler 09.08.2022 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

- Proje yürütücüsünün Doç. Dr. Şadiye GÜNPINAR olarak değişmesi.
- Proje ekibinden Doç. Dr. Bilge SÜMBÜL ve Filiz KAPTAN isimli araştırmacıların ekipten çıkarılması.
- Proje ekibine Beyza KİNSİZ isimli araştırmacının isminin ekibe eklenmesi.
- Deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla ligatür bağlanmış sıçanlara varolan periodontiti şiddetlendirmek amacıyla 8 hafta boyunca haftada iki kere olmak üzere P.gingivalis uygulaması yerine, sıçanlara bağlanmış ligatürlerin çıkarılması ve oluşan deneysel periodontal hastalığın tedavi edilmesi.
- Proje başlığının ‘Sıçanlarda Oluşturulan Ligatür İndüklü Deneysel Periodontitis ve Tedavisinin Beyindeki Nörodejenerasyon ve Nöroenflamasyon Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi’ olarak değişmesi.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sayısı
----------------------	------	--------

Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Doç. Dr. Sedat AKBAŞ
Üye

Doç. Dr. Özgün Yusuf ÖZYILMAZ
Üye

Doç. Dr. Remzi DOĞAN
Üye

(Katılmadı)

Doç. Dr. Ömer Faruk ÖZER
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Emine Rümeysa HEKİMOĞLU
Üye

(Katılmadı)
Dr. Öğr. Üyesi Özge PASİN
Üye

(Katılmadı)

Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZTÜRK
Üye

Vet. Hek. Mert ÇELİKİTEN
Üye

Serife GÜNCÜ

- Etik kurulumuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tür, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deney Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.