

DENEY HAYVANLARINDA OLUŞTURULAN PERİAPİKAL LEZYON MODELİNDE SELENYUMUN KANDAKİ OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

THE EFFECTS OF SELENIUM ON THE BLOOD OXIDATIVE STRESS PARAMETRES IN THE PERIAPICAL LESION WHICH WAS FORMED ON RATS

Nergiz BOLAT^{1*}, Bulem ÜREYEN KAYA¹, İter İLHAN², Halil AŞCI³, Yalçın ERZURUMLU⁴

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye
²Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye
³Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye
⁴Süleyman Demirel Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

Ö Z E T

Amaç: Bu çalışmanın amacı selenyumun ratlarda deneysel olarak indüklenen periapikal lezyon varlığında kan inflamasyon ve oksidatif stres belirteçleri üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 30 adet erişkin Sprague-Dawley cinsi erkek rat rastgele negatif kontrol, pozitif kontrol ve selenyum grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Pozitif kontrol ve selenyum grubundaki ratlarda alt çene 1. azı dişlerinde periapikal lezyon oluşumu tetiklendi. Selenyum grubundaki ratlara deney süresince (28 gün) periton içine selenyum uygulandı. Yirmi sekinci günde alınan kan örneklerinde IL-6, total oksidan (TOS), total antioksidan (TAS) kapasite, oksidatif stres indeksi (OSI), iskemi modifiye albümin (İMA), natif tiyol (NT) ve total tiyol (TT) seviyeleri değerlendirildi.

Bulgular: Gruplar arasında serum IL-6 seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,01$). Selenyum grubundaki IL-6 seviyesi pozitif kontrol grubundan daha düşüktü ($p<0,01$). Gruplar arasında TAS, TOS ve OSI seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0,01$). Gruplar arasında en yüksek serum TAS seviyesi negatif kontrol grubunda tespit edilirken, selenyum grubu ile aralarında istatistiksel bir fark bulunmadı. Gruplar arasında en yüksek OSI değeri pozitif kontrol grubunda tespit edildi ($p<0,05$). OSI değeri selenyum grubunda pozitif kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0,01$). Gruplar arasında en yüksek TT ve NT değerleri selenyum grubunda tespit edildi ($p<0,01$). Gruplar arası karşılaştırmalarda İMA ve Disülfid değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Antioksidan enzim sentezini artırdığı bilinen selenyumun periapikal lezyon gibi lokal kronik enfeksiyonlar sonucu kanda meydana gelen oksidan ve enflamatuvar parametrelerin artışına karşı koruyucu rol oynayarak sistemik sağlığın devam ettirilmesinde etkili olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Periapikal lezyon, oksidatif stres, selenyum, total oksidan kapasite, total antioksidan kapasite

Alınış / Received: 18.06.2021 Kabul / Accepted: 06.09.2020 Online Yayınlanma / Published Online: 20.12.2021

ABSTRACT

Objective: To investigate the effects of selenium against blood serum oxidative stress and inflammation markers after periapical lesion induction.

Material and Method: In this study, 30 adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into negative control, positive control and selenium groups (n=10). Periapical lesion was induced in mandibular first molars in the positive control and selenium groups. Rats in selenium group were applied to intraperitoneal selenium during 28 days. The blood taken on the day 28 was homogenized and was used in the analysis of the IL-6, total oxidant capacity (TOS), total antioxidant capacity (TAS), oxidative stress index (OSI), ischemia modified albumin (IMA), native thiol (NT) and total thiol (TT) parameters.

Results: Statistically significant difference was determined among the groups in terms of serum IL-6 level ($p<0.01$). The lowest serum IL-6 level was detected in the negative control group ($p<0.01$). Statistically significant differences were observed among the groups in terms of TAS, TOS and OSI levels. While the highest serum TAS level was in the negative control group, there was no statistical difference between the selenium and negative control groups. The highest TT and NT values among the groups were detected in the selenium group ($p<0.01$), and there was no statistical difference between the negative and positive control groups in terms of NT value ($p=0.052$). No statistically significant difference was found in terms of IMA and Disulfide values among groups ($p>0.05$).

Conclusions: Selenium, which is known to increase antioxidant enzyme synthesis, is thought to be effective in maintaining systemic health by playing a protective role against the increase in oxidant and inflammatory parameters in the blood as a result of local chronic infections.

Keywords: Periapical lesion, oxidative stress, selenium, total antioxidant status, total oxidant status



1. Giriş

Apikal periodontitis bakteri ve bakteriyel toksinlerin, enzimlerin ve zehirli metabolik ürünlerin pulpa dokusuna invazyonu ile periodontal ligamentte lokal olarak başlayan ve periapikal dokuların harabiyeti ile karakterize olan inflamatuvar bir hastalıktır. Endodontik kaynaklı mikrobiyal enfeksiyon ile konak savunması arasındaki başarısız dinamik ilişkiden kaynaklanmakta olan apikal periodontitis; konak doku için zararlı bir ajanın varlığı, bakteri ve bakteri yan ürünlerinin nötralizasyonu, doku tamirinin indüklenmesini içeren kompleks bağışıklık sistemi ile karakterizedir. Bu sürecin dengesi inflamasyonu aktive (proenflamatuvar) ve inhibe eden (antienflamatuvar) medyatörlerin varlığına bağlıdır [1]. Pro ve antienflamatuvar sitokinler, patojenik ajanları nötralize etmeye çalışan T-helper (Th) hücreleri tarafından üretilirler [2]. Th1 kökenli hücreler, osteoklastogenezi ve polimorfonükleer hücreleri aktive eden tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ve interferon gama (IFN- γ) gibi sitokinleri salgılayarak enflamatuvar süreci güçlendirir [3]. Akut faz cevabı, B hücrelerinin olgunlaşması ve makrofaj farklılaşmasında rol oynayan interlökin-6 (IL-6), enflamasyonu güçlendirme potansiyeline sahip T helper hücrelerinin farklılaşmasında da önemli bir role sahiptir [4]. TNF- α ve IL-6, patojenik ajanı veya patolojik bir süreci sınırlandırabilmek amacıyla daha fazla enflamatuvar hücre ve medyatörü ortamda toplayarak, proenflamatuvar yanıtı uyarır [3]. Kemotaksis aracılığı ile ilgili bölgede toplanan TNF- α ve IL-6 sağlıklı dokuya zarar veren abartılı yanıtlara da neden olabilir [5]. Apikal periodontitisteki enflamatuvar cevaba aracılık eden bu karmaşık sitokin, kemokin ve nöropeptid ağı periapikal dokuların fizyolojisini değiştirmektedir. IL-1, IL-11, IL-17 ve TNF- α gibi sitokinlerin etkisiyle farklılaşan ve aktifleşen osteoklastlar kemik yıkımında rol oynarlar. Periapikal alandaki proenflamatuvar sitokin ve kemokinler, endoplazmik retikulum stresi ve mitokondrial stres, MAPK sinyal yolağı aracılığı ile otofaji, apoptoz gibi temel hücre hasar mekanizmalarının aktifleşmesine neden olmaktadır [6]. Tüm bu mekanizmalar oksidatif stres ile yakın ilişki halinde olup birbirini tetikleyebilmektedir.

Reaktif oksijen türleri (ROS)'un üretimi, fagositik infiltrasyon ve kemik rezorpsiyonuyla karakterize durumlarda, invaziv patojene karşı savunma sağlayan önemli bir mekanizmadır. ROS, diğer organik

moleküllerle etkileşime girerek oksidatif hasara sebep olabilir. Aynı zamanda insan vücudu çeşitli peroksidaz sistemi, proteinler, vitaminler ve ürik asit gibi enzimatik ve non-enzimatik sistemler aracılığıyla antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Pro-oksidanlar lehine bir dengesizlik durumu oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır [7]. Oksidatif stresin pulpitis, primer ve sekonder apikal periodontitis, periapikal apse gibi birçok endodontik patolojide önemli rol oynadığı gösterilmiştir; aynı zamanda ağrı ve periapikal indeks (PAI) ile ilişkisi de ortaya konulmuştur [8].

Yirminci yüzyılın başlarında öne sürülen fokal enfeksiyon teorisi, dental enfeksiyonlara neden olan patojenik mikroorganizmaların sistemik olarak yayılabileceğini ve sistemik değişiklikleri tetikleyebileceğini öne sürmektedir [9]. Hatta enfekte dişler için tek tedavi şeklinin diş çekimi olması gerektiği savunulmuştur [10]. Bu teori, bilimsel kanıt eksikliği nedeniyle reddedilmiş [11] ancak son zamanlarda literatürde yerini alan çalışmalar apikal periodontitis (AP) gibi dental enfeksiyonların, esas olarak enflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve serum sitokin seviyelerini artırarak otoimmün hastalıkların patogenezi güçlendirebileceğini göstermektedir [12].

Araştırmacılar apikal periodontitisin lokal bir enfeksiyon odağı olarak kan damarları yoluyla sistemik duruma etkilerini araştırmakta [13] ve halen "Endodontik enfeksiyon sistemik sağlığı değiştirebilir mi?" sorusuna cevap aramaktadırlar.

Enflamatuvar yanıtı başlatan veya sürdüren bazı enflamatuvar medyatörler, vücudun çeşitli bölgelerinde üretilip kan akımı yoluyla iltihaplanma bölgesine taşınırken, aynı zamanda enflamasyon bölgesinde üretilen enflamatuvar medyatörler dolaşıma geçerek sistemik enflamasyona katkıda bulunabilirler [14]. Periapikal hastalık ile artmış sistemik enflamatuvar medyatör seviyeleri arasında ilişki olduğu [15]; hatta tek bir dişte lokalize apikal periodontitis varlığında dahi kanda önemli değişiklikler olduğu gösterilmiştir [16]. Yakın tarihli bir çalışma kronik apikal periodontitis ile ilişkili kök kanalı endotoksin seviyesindeki artışın, oksidatif stres yollarının aktive olması sonucu hastalarda depresyona ve hayat kalitesinin azalmasına neden olduğunu göstermiştir [17]. Bununla birlikte, antienflamatuvar ve antioksidan enzim artırıcı ajanların kullanımının oksidatif stres ve enflamasyona bağlı gelişebilen bu ciddi tabloları hafifleteceği düşünülmektedir [16].

Selenyum, özellikle glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunda gerekli olan bir eser element olup bu özelliğiyle birçok çalışmada koruyucu nitelikte olduğu ispatlanmıştır [18]. Dolayısıyla eksikliği durumunda bir denge halinde bulunan oksidan-antioksidan seviyesi oksidanlar yönüne kayarak oksidatif stres ile savaşmada yetersizliğe neden olacaktır [19].

Bu çalışmanın amacı, antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri bilinen selenyumun ratlarda deneysel olarak indüklenen periapikal lezyon varlığında kan enflamasyon (IL-6) ve oksidatif stres (total oksidan kapasite (TOS), total antioksidan kapasite (TAS), oksidatif stres indeksi (OSİ), iskemi modifiye albümin (İMA), native tiyol (NT) ve total tiyol (TT) belirteçleri üzerine olası etkilerinin araştırılmasıdır.

2. Materyal ve Metot

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.01.2021 tarih ve 01/07 sayılı kararı ile uygun görülen çalışmada 30 adet 280-400 gr ağırlığında erişkin Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Hayvanlar sabit sıcaklık (22±2 °C) ve nem oranında (%55-60), 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam koşullarında, Euro type-IV kafeslerde, her bir kafeste en fazla 5 hayvan olacak şekilde deney süresince (28 gün) barındırıldı. Hayvanlar %21 protein içeren hazır standart pelet yem ile bazal miktarda (ad libitum) beslendi ve su olarak şehir şebeke suyu kullanıldı.

Deney hayvanları her bir grupta 10 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı.

1-Negatif Kontrol Grubu (n=10): 28 gün boyunca 0,5-1 ml hacimde intraperitoneal (ip) enjeksiyon yoluyla serum fizyolojik (SF) uygulandı.

2-Pozitif Kontrol Grubu (n=10): Rat alt sağ ve sol 1. büyük azı dişlerinde pulpa ağız ortamına açık bırakılarak periapikal lezyon oluşumu tetiklendi ve 28 gün boyunca her gün bir doz 0,5-1 ml hacimde ip SF uygulandı.

3- Selenyum Grubu (n=10): Rat alt sağ ve sol 1. büyük azı dişlerinde pulpa ağız ortamına açık bırakılarak periapikal lezyon oluşumu tetiklendi ve 28 gün boyunca her gün bir doz 0,5-1 ml hacimde 0,1 mg/kg dozunda ip selenyum uygulandı [20].

DeneySEL Periapikal Lezyon Oluřturulması

Deney hayvanlarına anestezi için periton içine (intraperitoneal: ip) enjekte edilen %10 Ketamin (Brema %10, Bremer Pharma GmbH, Almanya) / %2 Xylazin (Xylazin Bio %2, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) uygulandı ve anestezi derinliği parmak sıkıştırma testi ile kontrol edildi. Anesteziyi takiben ratların ağız içleri ile alt azı dişleri iyodin solüsyonu ile dezenfekte edildi.

Pozitif kontrol ve selenyum gruplarındaki 20 adet ratın alt sağ ve sol 1. büyük azı dişlerinin pulpalari, serum fizyolojik soğutmalı düşük devirli döner alete (35.000 devir/dk) takılan ISO 010 ve 006 (NTI, Kahla, Almanya) çelik rond frezler ile okluzal yüzeylerde sınıf I kaviteler hazırlanarak ekspozede edildi. Kök kanallarının açıklığı 10 numaralı K eğesi (Thomas, Bourges, Fransa) ile kontrol edildi. Periapikal lezyon oluşumu için okluzal kaviteler 28 gün boyunca ağız boşluğuna açık bırakıldı. Yirmi sekiz gün sonunda deney hayvanlarına 80-100 mg/kg Ketamin, 8-10 mg/kg Xylazin anestezisi uygulandı ve abdominal insizyonu takiben vena cava inferiordan kan örnekleri alındı. Alınan bu örnekler santrifüjlenip biyokimyasal analizler için -20 C^ode saklandı.

Biyokimyasal Analizler

Serum IL-6 Seviyesi

Kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Serum IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile incelendi. Bu amaçla Rat IL-6 Serum ELISA kiti (Diacclone Rat IL-6 ELISA, Besançon Cedex, Fransa, Katalog no: 670 010 096) kullanılarak üretici firmanın önerdiği adımlar takip edildi. ELISA okumaları mikroparka okuyucu özellikli spektrofotometre (BioTek, Winooski, VT, Amerika Birleşik devletleri) cihazında 450 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Her bir serum örneği 3 tekrarlı çalışıldı.

TOS ve TAS seviyeleri, Total Oksidan Status (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) ve Total Antioksidan Status (Rel Assay Diagnostics) kitleri kullanılarak biyokimya analizörü (AU5800, Beckman Coulter, Indianapolis, Amerika Birleşik Devletleri) ile ölçüldü. Ardından, TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./lt) değerinin TAS (mmol Trolox equiv./lt) değerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı [21].

İskemi Modifiye Albümin (IMA) Seviyesi

Serum IMA düzeyi ölçümü için Bar-Or ve arkadaşlarının [16] tanımladığı albümin kobalt bağlama testi kullanıldı. Bu ölçüm için 200 μl numuneye 50 μl kobalt klorid ilave edilip 10 dakika süreyle inkübe edildi. İnkübasyon aşamasından sonra albümine bağlanmayan kobaltı belirlemek için ölçüm küvetine 50 μl ditiyotreitöl (DTT) eklendi ve ditiyotreitölün, albümine bağlanmamış kobalt ile renkli kompleks oluşturması sağlandı. Oluşan renkli kompleks 470 nm dalga boyunda Shimadzu UV-1601 (Kyoto, Japonya) spektrofotometre kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar absorbans ünite (ABSU) olarak verildi [22].

Native Tiyol (NT) ve Total Tiyol (TT) Seviyesi

Serumda native (-SH) ve total tiyol (-SH+ -S-S-) düzeyleri, Erel 'in [23] yeni otomatize metodu ile Native Thiol ve Total Thiol kitleri (Rel Assay Diagnostics) kullanılarak biyokimya analizörü (AU5800, Beckman Coulter) ile ölçüldü. Bu metot oksidatif stres altında proteinlerin disülfid bağlarına dönüşen sülfidril gruplarının sodyum borohidrid (NaBH_4) ile tekrar tiyol formuna indirgenmesine dayanır. Daha sonra fazla NaBH_4 kalıntıları formaldehit ile uzaklaştırıldı ve numunenin toplam tiyol içeriği 5,5'-dithiobis- (2-nitrobenzoik) asit (DTNB) ilave edildikten sonra ölçüldü. NT düzeyleri modifiye Ellman reaktifli kullanılarak analiz edildi. TT ile NT düzeyleri arasındaki farkın yarısı alınarak dinamik disülfid (-S-S-) bağlarının miktarı saptandı [23].

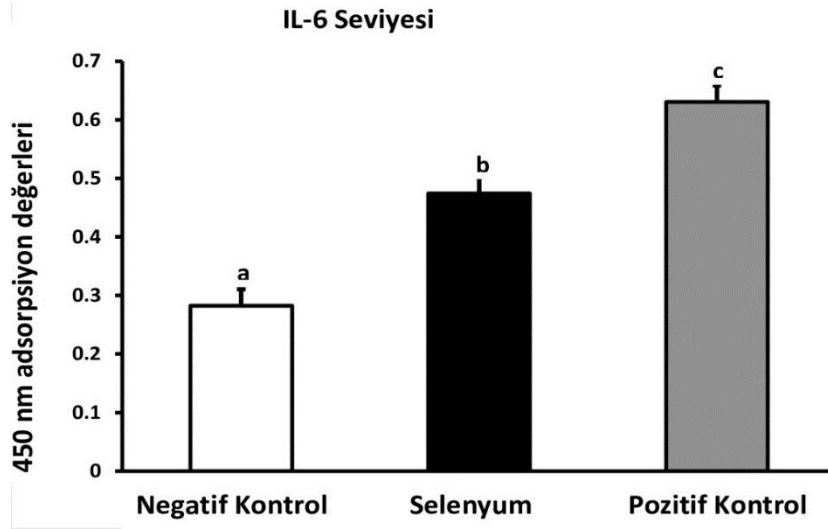
İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 15.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanıldı. Veriler faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi ve grup ortalamaları arasındaki farklılığın belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden posthoc LSD testi kullanıldı ($p=0,05$).

3. Bulgular

IL-6

Gruplar arasında serum IL-6 seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,01$). En düşük serum IL-6 seviyesi negatif kontrol grubunda ($0,2867\pm0,0281$) gözlemlendi ($p<0,01$). Periapikal lezyon oluşumu indüklenmiş ratlarda selenyumun sistemik olarak kullanılması (selenyum grubu) ($0,4742\pm0,0573$) IL-6 seviyesini pozitif kontrol grubuna ($0,6303\pm0,0422$) göre anlamlı derecede azalttı ($p<0,01$) (Şekil 1).



Şekil 1: Serum IL-6 düzeyleri

TAS, TOS ve OSİ

Oksidatif stres göstergeleri olarak TAS, TOS ve OSİ seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,034$; $p=0,001$; $p=0,000$; sırasıyla). Gruplara ait TAS, TOS ve OSİ değerleri Tablo 1'de izlenmektedir.

Tablo 1: Gruplara ait serum oksidatif stres belirteç seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri (Ort \pm SS)

	Negatif Kontrol		Pozitif Kontrol		Selenyum	
	Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max
TAS (mmol TroloxEq./L)	1,47±0,2 ^a	1,23-2,00	1,18±0,1 ^b	1,05-1,29	1,41±0,2 ^a	1,19-1,84
TOS (µmol H2O2 Eq./L)	12,2±2,1 ^β	8,75-16,71	17,26±3,5 ^α	11,96-22,82	9,31±1,5 ^γ	7,09-11,92
OSI (TOS/TAS)	0,85±0,2 ^γ	0,60-1,36	1,47±0,3 ^κ	0,95-2,17	0,67±0,1 ^γ	0,49-1,00
TT	265,22±47,9 ^γ	208,85-344,0	209,78±38,5 ^κ	149,30-253,59	394,43±49,7 ^λ	338,68-473,74
NT	222,0±46,4 ^β	183,0-300	177,85±36,1 ^β	125,0-234,0	342,25±39,9 ^κ	294,0-424,0
İMA (aBSU)	245,15±11,7	219,8-258,0	252,30±10,5	238,9-266,6	251,14±3,2	247,3-255,9
DISÜLFİD	20,13±4,5	11,90-25,40	22,65±14,4	11,86-54,78	23,82±9,9	10,50-37,64

TAS: total antioksidan kapasite TOS: total oksidan kapasite, OSI: oksidatif stres indeksi, TT: total tiyol, NT: native tiyol İMA: iskemi modifiye albümin.*Aynı satırda aynı simge ile gösterilen değerler arasında istatistiksel anlamlı fark yoktur (p<0,05).

Gruplar arasında en yüksek serum TAS seviyesi negatif kontrol grubunda (1,4710±0,2277) tespit edilirken, selenyum grubu (1,4140±0,2239) ile aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (p=0,513). Gruplar arasında en yüksek OSI değeri pozitif kontrol grubunda (1,4746±0,3704) tespit edildi (p<0,05). Periapikal lezyon oluşumu indüklenmiş ratlarda selenyumun sistemik olarak kullanılması (selenyum grubu) (0,6759±0,1694) OSI değerini pozitif kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalttı (p<0,01) ve negatif kontrol grubu (0,8543±0,2372) ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,148).

TT, NT, İMA ve Disülfid

Gruplara ait TT, NT, İMA ve Disülfid değerleri Tablo 1'de izlenmektedir.

TT ve NT seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi (p<0,001). Gruplar arasında en yüksek TT ve NT değerleri selenyum grubunda tespit edildi (p<0,01) ve NT değeri açısından negatif kontrol ve pozitif kontrol grupları arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,052).

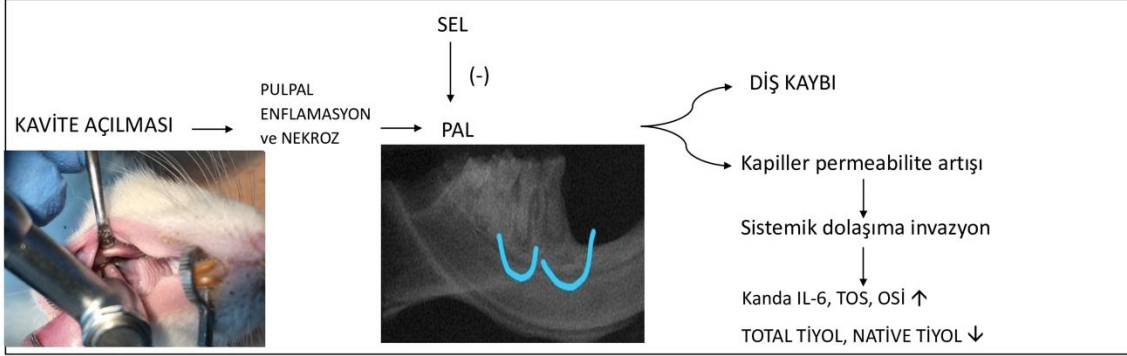
Gruplar arası karşılaştırmalarda İMA ve Disülfid değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05).

4. Tartışma ve Sonuç

Apikal periodontitis kök kanal patojenlerinin alveol kemik ve çevre dokulara yayılmasını engellemek amacıyla konağın verdiği bir savunma tepkisidir. Bu savunma farklı enflamatuvar medyatörler ile gerçekleşmektedir. Literatürde, apikal periodontitisi diyabet gibi enflamatuvar hastalıkların neden olduğu semptomları güçlendirebilecek bir faktör olarak tanımlayan çok sayıda araştırma mevcut [24] olmasına karşın; apikal periodontitisin sistemik hastalıkların esas sebebi olduğunu kanıtlayan çok az veri bulunmaktadır. İnsan ve hayvan çalışmaları sistemik hastalığı olmayan gruplarda apikal periodontitis varlığının neden olabileceği sistemik moleküler değişiklikleri araştırmaktadır. Sıçanlarda apikal periodontitis varlığının serum ısı şok proteini ve lipopolisakkarit konsantrasyonlarında artışa [25] neden olduğu, birden fazla apikal periodontitis varlığında lökosit, lenfosit ve serum TNF-α seviyelerinde artış, IL-4 seviyesinde ise düşüş olduğunu bildirilmiştir [13]. Aynı zamanda apikal periodontitis varlığının sıçan kan serum C-reaktif protein (CRP), IL-2 ve IL-6 seviyelerini yükselttiğini ve bununla birlikte aort, miyokart ve dalakta geri dönüşümlü; karaciğerde geri dönüşü olmayan değişikliklere neden olduğu da gösterilmiştir. Bu çalışmalar, apikal periodontitisin sistemik bağışıklık tepkisini tetikleyebileceği ve organ hasarlarına neden olarak genel sağlığı etkileyebileceği sonucuna varmışlardır [26].

IL-6, konak savunmasında hayati bir role sahip olan çok işlevli bir immüno-düzenleyici sitokindir. IL-6'nın düzensiz üretimi proinflamatuvar etki yapabilir ve otoimmün hastalıkları ve kronik enflamasyonu

başlatabilir [27]. IL-6'nın diğer medyatörlerin yanı sıra CRP üretimini düzenlediği ve dolayısıyla düşük dereceli sistemik iltihaplanmaya [28] katkıda bulunduğu da bilinmektedir. Çalışmamızda periapikal lezyon indüklenmiş rat serum örneklerinde IL-6 seviyesinin sağlıklı örneklere kıyasla daha yüksek olması lokal enflamatuvar medyatörlerin kan dolaşımına geçerek sistemik enflamasyona katkı gösterebileceğini kanıtlamaktadır. Selenyum kullanımı sonucu kanda azalan IL-6 düzeyleri, sistemik selenyum takviyesinin, periapikal lezyona sekonder gelişebilecek sistemik enflamasyonu kontrol altına almada başarılı olabileceğini göstermektedir (Şekil 2).



(PAL: periapikal lezyon, SEL: selenyum, IL-6: interlökin 6, TAS: total antioksidan kapasite TOS: total oksidan kapasite, OSİ: oksidatif stres indeksi, TT: total tiyol, NT: native tiyol)

Şekil 2: Periapikal lezyona sekonder gelişen kan parametrelerindeki değişiklikler ve selenyumun etki mekanizması

Enflamasyon her zaman ROS ile ilişkili olmakla birlikte lokal (endodonsiyum, bağ dokusu) ve sistemik oksidatif stres düzeylerinde farklılıklar izlenebilmektedir. Nötrofillerde ve diğer fagositik hücrelerde ROS üretimi mikroorganizmaları ortamdaki uzaklaştırmak için gereklilikten, iltihap bölgesinde doku hasarına da yol açmaktadır. Oksidatif stres seviyesi bir taraftan bakteriyel enfeksiyonla ilişkili enflamasyonla, diğer taraftan antioksidan kapasitenin gücü ile bağlantılıdır. Pro-oksidan ve antioksidan seviyeleri, normalde tüm vücutta olduğu gibi ağız boşluğunda da denge halindedir. Bazal seviyede ROS, hücreler arası iletişim, büyüme, hücre farklılaşma ve antibakteriyel aktivite gibi birçok biyolojik fonksiyon için gerekli olmakla beraber artan ROS üretimi proteinleri, lipidleri, nükleik asitleri modifiye ve inaktive ederek veya hücre işlev bozukluklarını indükleyerek hücre ve doku hasarında rol oynamaktadır. Periapikal lezyonlarda, oksijen radikallerinin üretimi ve ortadan kaldırılması arasındaki dengesizlik, kronik apikal periodontitiste periapikal hasar ve kemik kaybında önemli bir faktör olarak öne sürülmüştür [29].

Erel Ö. tarafından geliştirilen TAS ve TOS kitleri günümüz çalışmalarında sıklıkla kullanılmakta olup esasında hasarlı bölgede üretilen hidroksil radikali tarafından başlatılan güçlü serbest radikal reaksiyonuna karşı oluşturulan antioksidatif etkiyi ölçmektedir [21]. Oksidasyon ve anti-oksidasyon arasındaki redoks dengesinin göstergesi olan OSİ, total peroksit konsantrasyonunun total antioksidan kapasiteye oranı olarak ifade edilmektedir. Vengerfeldt ve ark. tarafından, primer ve sekonder apikal periodontitis hastalarının hem kök kanalı hem de tükürük örneklerindeki OSİ değerlerinin, sağlıklı hastaya göre daha yüksek olduğunu bildirilmiştir [8]. Aynı çalışmada OSİ seviyesi ile kemik kaybı arasında güçlü bir korelasyon olduğu da gösterilmiştir; bu durum osteoklastlar tarafından süperoksit anyonunun üretilip kemik rezorpsiyonuna yol açmasıyla açıklanabilir [29].

Sunulan bu çalışmada periapikal lezyonun indüklendiği ancak antioksidan kapasitesi bilinen selenyumun uygulanmadığı örneklerde TOS ve OSİ değerlerindeki anlamlı yükselme ve TAS değerlerindeki anlamlı azalma ile lokal enflamasyonun sistemik olarak kan değerleri üzerindeki etkisi de gösterilmiştir. Deneysel hayvan modelinin kullanılması, çalışmayı aynı tür, cinsiyet ve ağırlıktaki hayvanların aynı yiyeceği aldığı, aynı stresi yaşadığı ve aynı konaklamayı paylaştığı standart koşullar altında gerçekleştirmeye izin vermesi nedeniyle apikal periodontitis çalışmalarında tutarlı ve kabul görmüş bir yöntemdir [30]. Sunulan bu hayvan çalışmasında örneklerin standardize edilebilmesi sayesinde kan değerlerindeki değişimlerin lokal olarak geliştirilen periapikal lezyonun sekonder sistemik yansımaları olduğu söylenebilir. Sistemik selenyum uygulamasının serum enflamasyon ve oksidatif stres parametreleri üzerine olumlu etkisi de literatürde ilk olarak bu çalışma ile gösterilmiştir. Vücutta IL-4 ve IL-10 gibi antiinflamatuvar maddelerin ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin sentezlenebilmesi için gereken yapıtaşları genellikle besinler ile

alınabilmektedir. Örneğin besinlerden alınabilen bir mineral olan ve eksikliği durumunda, birçok zararlı duruma karşı vücudu savunmasız duruma sokan selenyum, özellikle oksidatif stres ile mücadele eden enzimlerin sentezinde önemli yer tutmaktadır [31]. Literatürde melatonin ve alfa lipoik asitin enflamasyona karşı koruyucu etkisi rat çalışmalarında gösterilmiştir. Sistemik melatonin uygulamasının periapikal lezyon doku örneklerinde IL1- β , RANK, RANKL, OPG pozitif hücre ve osteoklast hücre sayısındaki olumlu etkileri bildirilmiştir [30]. Aksoy ve ark. da alfa lipoik asidin koruyucu etkisine baktıkları çalışmalarında, ratlarda periapikal lezyon modelinde alfa lipoik asidin kan TNF- α , IL-6, matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) ve MMP-2 seviyelerinde azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir [16]. Alfa lipoik asidin etkisi, ROS'u temizleme ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi güçlü antioksidan enzimler dahil olmak üzere diğer antioksidanların doku konsantrasyonlarını artırma kabiliyeti ile açıklanmıştır [16].

Periapikal lezyonda doku hipoksisine bağlı olarak dokuda nekrotik alanların oluşması vaskülarizasyonun da önemli oranda bozulabildiğini göstermektedir. İskemik dokularda hipoksi, asidoz, süperoksit-radikal yaralanma, enerji bağımlı membran bozulması nedeniyle albüminin N-terminalini değiştirdiği ve metaller için bağlayıcı kapasitesini azaltarak iskemi modifiye albümin (İMA) oluşumuna neden olduğu bilinmektedir [22]. Çalışmalarda İMA seviyesinin birkaç dakika içinde yükseldiği, 6-12 saat boyunca yüksek kaldığı ve sonra 24 saat içinde düştüğü gösterilmiştir [32]. Çalışmamız da bu görüşü destekler nitelikte olup kronik bir süreç olan periapikal lezyon oluşumuna sekonder anlamlı bir İMA artışı gelişmemiştir. Selenyum kullanımı da bu tabloyu değiştirmemiştir.

Sülfhidril (-SH) grubu içeren organik bileşikler olan tiyoller -SH gruplarından dolayı oksidasyona karşı yüksek hassasiyete sahiptir ve redoksa karşı oldukça hassas yanıt verirler. Tiyoller oksitlenerek disülfid yapılar dönüşürler. Bu nedenle protein fonksiyonunun düzenlenmesi, protein yapısının stabilizasyonu, proteinlerin sistein kalıntılarının geri döndürülemez oksidasyona karşı korunması, şaperon fonksiyonu, enzim fonksiyonlarının düzenlenmesi ve transkripsiyon dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal süreçlerle ilişkili önemli bir parametredir [33-35]. Çalışmamızda da bu belirtilen hassasiyete uygun şekilde veriler saptanmıştır.

Erel ve arkadaşları yeni bir yöntem ile kandaki hem tiyol hem de disülfid seviyelerine bakarak serum ile plazmada mevcut tiyol tespit etmişler ve buna native tiyol (NT) yani doğal tiyol adını vermişlerdir. Daha sonra, dinamik disülfid bağlarını sodyum borohidrat (NaBH₄) kullanarak serbest sülfhidril gruplarına indirgemek için bir ön işlem adımı gerçekleştirerek ikinci ölçüm yapmışlar ve ikinci sonucu total tiyol (TT) olarak kabul etmişlerdir [36]. Bu çalışmada saptanan TT ve NT seviyeleri de Erel ve arkadaşlarının çalışmalarını destekler şekildedir. Pozitif kontrol grubunda meydana gelen anlamlı azalmanın, antioksidan enzim tüketimine sekonder anlamlı azalma göstermesi ve antioksidan enzim sentezini artırdığı bilinen selenyum tedavisi ile bu durumun tersine çevrilebildiği kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak, periapikal lezyon gibi lokal kronik enfeksiyonlar sonucu kanda meydana gelen oksidan ve enflamatuvar parametrelerin artışına karşın selenyum kullanımının koruyucu etki göstererek sistemik sağlığın devam ettirilmesinde rolü olacağı düşünülmektedir. Selenyumun periapikal lezyonların patogenezindeki olası koruyucu rolünü ortaya koyan daha fazla sayıda klinik çalışmaya ve hayvan çalışmasına ihtiyaç vardır.

Kaynakça

[1] Garlet GP (2010) Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. J Dent Res 89:1349–1363.

[2] Reiner S.L.: Development in motion: helper T cells at work. Cell 2007; 129: pp. 33-36.

[3] Martinho F.C., Chiesa W.M., Leite F.R., et. al.: Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. J Endod 2012; 38: pp. 740-745.

[4] Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Bigueti CC, et al. Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. Journal of Applied Oral Science 2014; 22, 336– 46.

[5] D'Aiuto F., Parkar M., Andreou G., et. al.: Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. J Dent Res 2004; 83: pp. 156-160.

- [6] Wang J, Du Y, Deng J, Wang X, Long F, He J. MicroRNA-506 Is Involved in Regulation of the Occurrence of Lipopolysaccharides (LPS)-Induced Pulpitis by Sirtuin 1 (SIRT1). *Med Sci Monit.* 2019 Dec 26; 25: 10008-10015.
- [7] Inchingolo F, Marrelli M, Annibali S, et al. Influence of endodontic treatment on systemic oxidative stress. *Int J Med Sci.* 2014; 11: 1–69.
- [8] Vengerfeldt V, Mändar R, Saag M, Piir A, Kullisaar T. Oxidative stress in patients with endodontic pathologies. *J Pain Res.* 2017;1 0: 2031-2040.
- [9] Miller W.D.: The human mouth as a focus of infection. *Dent Cosmos* 1891; 33: pp. 689-713.
- [10] Darling B.C.: Roentgen-ray indications for tooth extraction the medical roentgenologist offers an impartial survey for the physician, the dentist, and the patient. *J Dent Res* 1919; 1: pp. 391-412.
- [11] Newman H.N.: Focal infection. *J Dent Res* 1996; 75: pp. 1912-1919.
- [12] Cintra L.T., da Silva Facundo A.C., Prieto A.K., et. al.: Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod* 2014; 40: pp. 1139-1144.
- [13] Samuel RO, Gomes-Filho JE, Azuma MM, Sumida DH, Oliveira SH, Chiba FY et al. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clin Oral Investig.* 2018 Apr;22 (3): 1395-401.
- [14] Arababadi M.K., Pourfathollah A.A., Jafarzadeh A., Hassanshahi G. Serum levels of IL-10 and IL-17A in occult HBV-infected south-east Iranian patients. *Hepat Mon.* 2010; 10 (1): 31–35.
- [15] Azuma Mm, Gomes-Filho Je, Ervolino E, Cardoso Cbm, Pipa Cb, Kawai T, Conti Lc, Cintra Lta. Omega-3 Fattyacids Reduce İnflammation İn Rat Apical Periodontitis. *J Endod* 2018; 44: 604–608.34.
- [16] Aksoy U, Savtekin G, Şehirli AÖ, Kermeoğlu F, Kalender A, Özkayalar H, Sayiner S, Orhan K. Effects of alpha-lipoic acid therapy on experimentally induced apical periodontitis: a biochemical, histopathological and micro-CT analysis. *Int Endod J.* 2019 Sep; 52(9): 1317-1326.
- [17] Gomes C, Martinho FC, Barbosa DS et al. Increased root canal endotoxin levels are associated with chronic apical periodontitis, increased oxidative and nitrosative stress, major depression, severity of depression, and a lowered quality of life. *Molecular Neurobiology* 2018; 55, 2814–27.
- [18] Patel MD, Shakir QJ, Shetty A. Interrelationship between chronic periodontitis and anemia: a 6-month follow-up study. *J Indian SocPeriodontol.* 2014; 18(1): 19-25.
- [19] Thomas B, Ramesh A, Suresh S, Prasad BR. A comparative evaluation of antioxidant enzymes and selenium in the serum of periodontitis patients with diabetes mellitus type 2. *Contemp Clin Dent* 2013; 4:176–180.
- [20] Atli M, Erikoglu M, Kaynak A, Esen HH, Kurban S. The effects of selenium and vitamin E on lung tissue in rats with sepsis. *Clin Invest Med.* 2012; 35(2): 48-54.
- [21] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38, 1103-1111.
- [22] Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med* 2000; 19: 311-315.
- [23] Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochem.* 2014; 47(18): 326–32.
- [24] Arya S, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Ghalaut V, Aggarwal S. Healing of apical periodontitis after nonsurgical treatment in patients with type 2 diabetes. *J Endod.* 2017 Oct; 43(10): 1623-7.
- [25] Pereira RF, Cintra LT, Tessarin GW, Chiba FY, Mattera MSLC, Scaramele NF, et al. Periapical lesions increase macrophage infiltration and inflammatory signaling in muscle tissue of rats. *J Endod.* 2017 Jun;43(6):982-8.
- [26] Zhang J, Huang X, Lu B, Zhang C, Cai Z. Can apical periodontitis affect serum levels of CRP, IL-2, and IL-6 as well as induce pathological changes in remote organs? *Clin Oral Investig.* 2016 Sep; 20(7): 1617-24.
- [27] Bashashati M., Moradi M., Sarosiek I.: Interleukin-6 in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of IL-6 (-G174C) and circulating IL-6 levels. *Cytokine* 2017; 99: pp. 132-138.

- [28] Simpson R.J., Hammacher A., Smith D.K., et. al.: Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci* 1997; 6: pp. 929-955.
- [29] Graunaite I, Lodiene G, Maciulskiene V. Pathogenesis of apical periodontitis: a literature review. *J Oral Maxillofac Res.* 2011; 2: e1.
- [30] Sartekin E, Üreyen Kaya B, Aşçı H, Özmen Ö. Anti-inflammatory and antiresorptive functions of melatonin on experimentally induced periapical lesions. *Int Endod J.* 2019 Oct; 52(10): 1466-1478.
- [31] Higuchi, A.; Inoue, H.; Kawakita, T.; Ogishima, T.; Tsubota, K. Selenium Compound Protects Corneal Epithelium against Oxidative Stress. *PLoS ONE* 2012; 7, e45612.
- [32] Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes. *CJEM* 2006; 8: 27–31.
- [33] Chen W, Zhao Y, Seefeldt T, Guan X. Determination of thiols and disulfides via HPLC quantification of 5-thio-2-nitrobenzoic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2008; 48: 1375-1380.
- [34] Brulisauer L, Gauthier MA, Leroux JC. Disulfide-containing parenteral delivery systems and their redox-biological fate. *Journal of Controlled Release* 2014; 195: 147-154.
- [35] Sanchez-Rodriguez MA, Mendoza-Nunez VM. Oxidative stress indexes for diagnosis of health or disease in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019; 2019: 4128152.