



**ALVEOLİTİSİN ÖNLENMESİNDE ETKİLİ OLABİLECEK BAZI DOĞAL
EKSTRAKTLARIN MEZENKİMAL KÖK HÜCRE FARKLILAŞMA ve
İMMUNOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa KIZILOĞLU

**DOKTORA TEZİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2015

Dt. Mustafa KIZILOĞLU tarafından hazırlanan "Alveolitisin Önlenmesinde Etkili Olabilecek Bazı Doğal Ekstraktların Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşma ve İmmünolojik Özellikleri Üzerine Etkisinin Araştırılması"

adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr. Derviş YILMAZ

Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan: Prof. Dr. Duygu UÇKAN ÇETİNKAYA

Pediyatrik Hematoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

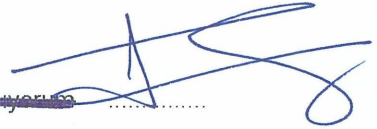
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye:Prof. Dr. Aysel UĞUR

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye:Prof. Dr. İnci Rana KARACA

Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Erkan ERKMEN

Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 03/03/2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mustafa KIZILOĞLU

03/03/ 2015



ALVEOLİTİSİN ÖNLENMESİNDE ETKİLİ OLABİLECEK BAZI DOĞAL EKSTRAKTLARIN
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE FARKLILAŞMA ve
İMMUNOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)

Mustafa KIZILOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2015

ÖZET

Alveolitis profilaksisi ve tedavisini bulmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Ancak çekim soketi ve çevresindeki kök hücre biyolojisinin yeteri kadar anlaşılamamasının, alveolitisin tedavisinde kesin başarı sağlanamamasının en önemli nedeni olduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı mezenkimal kök hücrelerin canlılığını, migrasyonunu, osteojenik farklılaşmasını indükleyecek doğal ajanların kullanımının iyileşme soketinin rejenerasyonunu sağlamada ve alveolitis önlemede yararlı olacağı düşünülmektedir. Çalışmada ilk olarak antimikrobiyal özelliği literatürden bilinen *Pleurotus ostreatus* (kavak mantarı), *Syzygium aromaticum* (karanfil), *Ocimum basilicum* (fesleğen), *Thymbra spicata* var. *intricate* (zahter otu) ile bu özelliklere ilave olarak antiinflamatuvar yetenekleri olduğu rapor edilmiş *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın), *Hypericum perforatum* (sarı kantaron), *Salvia triloba* (adaçayı) bitkilerine ait ekstraktların dental pulpa kaynaklı mezenkimal stromal kök hücre (DP-MSKH)'lerin proliferasyonu üzerindeki etkisi ve sitotoksik özellikleri eş zamanlı olarak xCelligence yöntemi ile araştırılmıştır. En iyi etki gösteren konsantrasyonun adipojenik ve osteojenik farklılaşması üzerinde etkinliği araştırılmıştır. Osteojenik farklılaşma, kantitatif olarak DICA-500 spektrofotometrik yöntemle, osteokalsin ve osteonektin miktarları ise ELİSA KİT yöntemi ile araştırılmıştır. Tümör nekroz faktör (TNF)- α ile oluşturulan inflamasyon ortamında bitki ekstraktı ilaveli hücrelerin yanıtı araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre en iyi etki gösteren *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarının DP-MSKH migrasyonunu uyarıp uyarmadığı araştırılmıştır. Ayrıca alveolitis oluşumunda adı sıklıkla geçen *S. mutans* ve *S. gordonii* ve *S. aureus* üzerinde antibakteriyel etkisi *in vitro* olarak belirlenmiştir. Migrasyonu uyaran ve antibakteriyel aktivitesi yüksek olan *H. perforatum*'un DP-MSKH kıkırdak farklılaşmasına olan etkisi belirlenmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda, DP-MSKH'lerin ikiye katlanma süresini kısaltan, osteojenik farklılaşmayı arttıran, antiinflamatuvar özellikte, DP-MSKH migrasyonunu arttıran, oral biofilmde yer alan *S. gordonii* ve *S. mutans* mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktiviteye sahip *H. perforatum* ekstraktının diş hekimliğinde alternatif terapilerde yer alabileceği düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 1003.1.101

Anahtar Kelimeler : alveolitis, diş çekimi, dental pulpa, mezenkimal kök hücre, osteojenik farklılaşma, bitkisel tedavi

Sayfa Adedi : 113

Danışman : Prof. Dr. Derviş YILMAZ

INVESTIGATION of DIFFERENT NATURAL EXTRACTS' EFFICIENCY on
DIFFERENTIATION and IMMUNOMODULATORY PROPERTIES of MESENCHYMAL
STEM CELLS for ALVEOLITIS PREVENTION

(Ph. D. Thesis)

Mustafa KIZILOĞLU

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

March 2015

ABSTRACT

Alveolitis is one of the most common complication after tooth extraction, leading to significant discomfort and economical burden to the patient. Several studies are being performed to find convenient dry socket's prophylaxis and treatment. However the currently used agents either fail to induce complete resolution or have allergic and toxic effects. Mesenchymal stem cells are a major component of the healing tooth extraction site which is initiating bone healing. The aim of this study was to assess the effects of supplementary and/or alternative medicine on induction of differentiation, migration, immunomodulation and antiinflammation acceleration of the healing process through activation of regional osteoprogenitor mesenchymal stem cells. It is known that the mesenchymal stem cells, which are in stromal tissues in oromaxillofacial region, take part in healing process. In this study it is sought to investigate the dental pulp mesenchymal stem cell's involvement in therapy of alveolitis by their differentiation and immunomodulation properties of these cells. It is planned to define the natural extracts accelerated healing mechanisms. According to our study; *Pleurotus ostreatus*, *Syzygium aromaticum*, *Ocimum basilicum*, *Thymbra spicata* var *intricate* which are known as antimicrobial and also *Cinnamomum zeylanicum*, *Hypericum perforatum*, *Salvia triloba* which are reported as antiinflammatory at the same time, with these plant's extracts and their combination's cytotoxic effects on mesenchymal stem cells, is assessed with xCelligence technique. Osteogenic differentiation, osteocalcin and osteonectin levels are investigated by DCA-500 spectrophotometric and ELISA technique respectively. The result of the study shows that *H. Perforatum*, is decreased the doubling time of DP-MSSC and increased osteogenic differentiation and stem cell's migration and also it has antiinflammatory properties. *H. Perforatum* has antimicrobial effect on *S. gordonii*, *S. mutans* which are part of oral biofilm. The result of this study, *H. Perforatum* could be used in clinical practises after animal and human studies.

Science Code : 1003.1.101

Key Words : alveolitis, tooth extraction, dental pulp, mesenchymal stem cell, osteogenic differentiation, herbal treatment

Page Number : 113

Supervisor : Prof. Dr. Derviş YILMAZ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın belirlenmesi, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteklerini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Derviş Yılmaz'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarak teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmalarına yaptıkları katkı ve verdikleri emekten dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Aysel UĞUR ve Prof. Dr. Duygu UÇKAN ÇETİNKAYA'ya,

Tezimin uzun soluklu laboratuvar çalışmaları boyunca yoğun desteğini gördüğüm ve birlikte çalışmaktan çok keyif aldığım, tezimin her aşamasında sonsuz katkıları bulunan Dr. H. Ayşegül MENDİ'ye,

Bitki ekstraktlarının elde edilmesi ve antibakteriyel aktivite çalışmasındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Nurdan SARAÇ'a,

Kök hücrelerin çoğaltılması ve geliştirilmesindeki katkılarından dolayı Araş. Gör. Beyza GÖKÇINAR YAĞCI'ya ve xCelligence cihazının kullanımı ve analizindeki katkılarından dolayı Uzm. Biyolog Sevil KÖSE'ye,

Çalışmalarımın ilk gününden itibaren zamanını ve emeğini benimle paylaşmaktan hiçbir zaman çekinmeyen sevgili meslektaşım Dt. Hülya YILMAZ'a ve değerli arkadaşım Emre PİRLİO'ya,

Doğduğum günden itibaren sıkılmadan, yorulmadan beni büyüten, yetiştiren ve her türlü zorlukta yanımda olan sevgili annem Saadet KIZILOĞLU ve sevgili babam Südail KIZILOĞLU'na, annem ve babamdan eksik yanı bulunmayan sevgili kardeşim Mehmet KIZILOĞLU'na, bu noktaya gelmemde çok büyük emekleri olan sevgili anneannem Habibe ŞERİFOĞLU ve sevgili dedem Mustafa ŞERİFOĞLU'na,

Sonsuz teşekkürler...

Bu tez çalışmasını 113S448 proje numarası ile destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
RESİMLER LİSTESİ	xiv
KISALTMALAR LİSTESİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Alveolitis	7
2.1.1. Alveolitis etiyolojisi	7
2.1.2. Alveolitis tedavisi ve karşılaşılan sorunlar	9
2.2. Diş Hekimliğinde Alternatif Tedavi Olarak Bitkilerin Kullanımı	11
2.2.1. Cinnamomum zeylanicum	12
2.2.2. Pleurotus ostreatus	13
2.2.3. Ocimum bacilicum	13
2.2.4. Syzygium aromaticum	14
2.2.5. Hypericum perforatum	14
2.2.6. Salvia triloba	15
2.2.7. Thymbra spicata var intricate	16
2.3. Kök Hücreler	17
2.3.1. Kendini yenileme	18
2.3.2. Farklılaşma yeteneği	19
2.3.3. Koloni oluşturma yeteneği	19

	Sayfa
2.4. Mezenkimal Kök Hücreler.....	20
2.5. Maksillofasiyal Bölgedeki Mezenkimal Kök Hücre Kaynakları	24
2.5.1. Dental pulpa kök hücreleri	24
2.5.2. Süt dişi pulpası kök hücreleri	25
2.5.3. Periodontal ligament kök hücreleri.....	25
2.5.4. Dental folikül kök hücreleri	26
2.5.5. Oral mukoza kök hücreleri	26
2.5.6. Alveol kemiği kök hücreleri	26
2.6. Diş Hekimliğinde Rejeneratif Tedavilerin Gelişimi ve MKH'ler	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Gereç	33
3.1.1. Araştırmada kullanılan hücreler	33
3.1.2. Araştırmada kullanılan hücre kültür vasadı	33
3.1.3. Araştırmada kullanılan bakteriler	33
3.1.4. Araştırmada bakteri kültürlerinin geliştirilmesi için kullanılan besiyerleri	34
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Doğal ekstraktların elde edilmesi	34
3.2.2. Hücre kültürü geliştirilmesi	34
3.2.3. Bakterilerin aktifleştirilmesi ve gelişme ortamları	35
3.2.4. Doğal ekstraktların mezenkimal kök hücre proliferasyonu üzerindeki etkisinin araştırılması.....	35
3.2.5. Doğal ekstraktların MKH farklılaşması üzerindeki etkisi	37
3.2.6. Doğal ekstraktların inflamasyon yanıt üzerindeki etkileri	38
3.2.7. Doğal ekstraktların MKH migrasyon yeteneği üzerine etkisi	38
3.2.8. Antibakteriyel etkinin belirlenmesi	39
3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemleri.....	40

	Sayfa
4. BULGULAR	41
4.1. Mezenkimal Kök Hücrelerin (MKH) Geliştirilmesi	41
4.2. Doğal Ekstraktların Mezenkimal Kök Hücre Proliferasyonu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması	41
4.3. Doğal Ekstraktların Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması Üzerindeki Etkisi	61
4.4. Doğal Ekstraktların İnflamasyon Yanıt Üzerindeki Etkileri	67
4.5. Doğal Ekstraktların MKH Migrasyon Yeteneği Üzerindeki Etkileri	74
4.6. Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi	76
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	81
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ	113

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kültür vasadı	33
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan bakteriler	34
Çizelge 4.1. DP-MSKH ve KI-MKH'lerin EC50 değerleri	46
Çizelge 4.2. Disk Difüzyon sonuçları	76
Çizelge 4.3. NCCLS standartlarına göre Amoksisilin disk difüzyon zon çapı değerlendirmesi	77
Çizelge 4.4. Bitki ekstraktlarının bakteri suşları için MİK değerleri	77

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. MKH'lerin immunmodulator özellikleri (Nauta ve Fibbe, 2007)	22
Şekil 2.2. Diş hekimliğinde rejeneratif tedaviler	29
Şekil 3.1. İş akışı	31
Şekil 3.2. Çalışmada gerçekleştirilen deney modeli	32
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan doğal ekstraktlar	36
Şekil 4.1. <i>H. perforatum</i> (sarı kantaron) etanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	42
Şekil 4.2. <i>O. basilicum</i> (fesleğen) metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	42
Şekil 4.3. <i>P. ostreatus</i> (kavak mantarı) metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	43
Şekil 4.4. <i>T. spicate var intricate</i> metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	43
Şekil 4.5. <i>S. aromaticum</i> (karanfil) metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	44
Şekil 4.6. <i>S. triloba</i> (adaçayı) metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	44
Şekil 4.7. <i>C. zeylanicum</i> (tarçın) metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.....	45
Şekil 4.8. <i>H. perforatum</i> (sarı kantaron) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.....	47
Şekil 4.9. <i>H. perforatum</i> (sarı kantaron) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri.....	48
Şekil 4.10. <i>O. basilicum</i> (fesleğen) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.....	49
Şekil 4.11. <i>O. basilicum</i> (fesleğen) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri	50
Şekil 4.12. <i>P. ostreatus</i> (kavak mantarı) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.....	51

Şekil	Sayfa
Şekil 4.13. <i>P. ostreatus</i> (kavak mantarı) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri	52
Şekil 4.14. <i>T. spicata</i> var <i>intricate</i> ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.	53
Şekil 4.15. <i>T. spicata</i> var <i>intricate</i> ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri	54
Şekil 4.16. <i>S. aromaticum</i> (karanfil) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.	55
Şekil 4.17. <i>S. aromaticum</i> (karanfil) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri	56
Şekil 4.18. <i>S. triloba</i> (adaçayı) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi.	57
Şekil 4.19. <i>S. triloba</i> (adaçayı) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri.....	58
Şekil 4.20. <i>C. zeylanicum</i> (tarçın) ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi	59
Şekil 4.21. <i>C. zeylanicum</i> (tarçın) ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) doubling time değerleri	60
Şekil 4.22. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerde kalsiyum granülleri birikimi üzerine etkisi.....	63
Şekil 4.23. DP-MSKH ve Kİ-MKH osteokalsin miktarları	66
Şekil 4.24. DP-MSKH ve Kİ-MKH osteonektin miktarları	66
Şekil 4.25. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde IL-6 salınımı üzerindeki etkileri	69
Şekil 4.26. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde IL-1 β salınımı üzerindeki etkileri	70
Şekil 4.27. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde TGF- β salınımı üzerindeki etkileri	71
Şekil 4.28. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde IL-10 salınımı üzerindeki etkileri	72
Şekil 4.29. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde IL-17 salınımı üzerindeki etkileri	73

Şekil	Sayfa
Şekil 4.30. <i>C. zeylanicum</i> (tarçın) ve <i>H. perforatum</i> (sarı kantaron) bitki ekstraktlarının DP-MSKH migrasyonu üzerindeki etkisi.....	75
Şekil 4.31. <i>C. zeylanicum</i> (tarçın) ve <i>H. perforatum</i> (sarı kantaron) bitki ekstraktlarının KI-MKH migrasyonu üzerindeki etkisi.....	75

RESİMLER LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Migrasyon çalışması deney düzeneği	39
Resim 4.1. DP-MSKH, pasaj 4 geliştirilmiş hücreler (10x, Olympos CKX40, Japan)	41
Resim 4.2. DP-MSKH H. perforatum ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH'de osteojenik farklılaşmada 4. gün	62
Resim 4.3. DP-MSKH adipojenik (a) ve osteojenik farklılaşma (b) ile kontrol görüntüleri (c)	64
Resim 4.4. Kİ-MKH adipojenik (a) ve osteojenik farklılaşma (b) ile kontrol görüntüleri (c)	65
Resim 4.5. DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (c) kıkırdak farklılaşması üzerinde H. perforatum ekstraktının etkisi	67
Resim 4.6. Disk difüzyon ile bitki ekstraktlarının S. gordonii üzerindeki antimikrobiyal etkisi	78
Resim 4.7. Disk difüzyon ile bitki ekstraktlarının S. mutans üzerindeki antimikrobiyal etkisi	78
Resim 4.8. Disk difüzyon ile bitki ekstraktlarının S. aureus üzerindeki antimikrobiyal etkisi	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
-----------------	-----------------

mg	miligram
µg	mikrogram
ng	nanogram
pg	pikogram
mL	mililitre

Kısaltmalar	Açıklama
--------------------	-----------------

MKH	Mezenkimal kök hücre
DP-MSKH	Dental pulpa kaynaklı mezenkimal stromal kök hücre
Kİ-MKH	Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre
TNF- α	Tümör nekroz faktör
CHX	Klorhekzidin

1. GİRİŞ

Ülkemizde diş çekimi, en fazla yapılan diş tedavisi olup, diş çekimini takiben en sık karşılaşılan problemlerden birisi alveolittir. Diş çekim yerinde ve çevresinde çekim zamanından sonraki 1-3 gün içinde artış gösteren ve alveoler soket içerisinde kısmen veya tamamen parçalanmış kan pıhtısının debrisle eşlik ettiği postoperatif inflamasyon olan alveolit, ileri inflamasyona bağlı nekroz odakları, tromboze damarlar, dev hücreler, bakteriler ve atıkları ve sekestr formasyonları ile tanımlanmaktadır. Buna bağlı olarak ateş, kızarıklık, şişlik, ağrı ve trismus görülmekte ve hastada zaman ve iş gücü, maddi ve manevi kayıplara sebep olmaktadır. Alveolitisin etiolojisinde oral bakteriler, kötü oral hijyen, perikoronitis ve ileri periodontal hastalıklar, travmatik diş çekimleri, diabetes mellitus gibi sistemik hastalıklar, kemik metabolizması bozuklukları, sigara kullanımı gibi etkenlerin önemli rolünün olduğu düşünülmektedir. Bilinen bu etkenler doğrultusunda alveolitisin profilaksisi ve tedavisinde kullanılan preparat ve ilaçların tedaviye kesin yanıt vermemesi ve sahip olduğu alerjik ve toksik etkiler, ağız konforunu düşürmesi, yeterli analjeziyi sağlayamaması gibi nedenler, yeni tedavi ve/veya önleyici amaçlı alternatif terapötik ajanların araştırması ihtiyacını doğurmaktadır. Delilbaşı ve ark., alveolitisin önlenmesinde Klorhekzidin (CHX) solüsyonunun β laktamaz inhibitörü içerikli antibiyotikle birlikte kullanımını önermektedirler (Delilbaşı, Saraçoğlu ve Keskin 2002). Ancak CHX içerikli ağız gargaralarının kullanımının tat duyusunda bozukluk, diş, dil ve dişetinde lekelenme, mide bozuklukları gibi yan etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Helms, Della-Fera, Mott ve Frank, 1995).

Diş çekimini takiben, iyileşmekte olan diş soketi kök hücre ihtiva eden geçici bir granülasyon dokusu içermektedir. Bölgedeki dokunun iyileşmesi sırasında, mezenkimal kök hücrelerin yara bölgesindeki doku iyileşmesini hızlandırmak için bölgeye göç ettikleri bilinmektedir (Ueda ve diğerleri, 2014; Karp ve Leng Teo, 2009). İyileşme soketinin rejenerasyonunda mezenkimal kök hücre migrasyon, proliferasyon, diferensiyasyonunun ve mikro çevrenin immünmodülatuar davranışının önemli rolü vardır. Çekim soketi bölgesindeki kök hücre biyolojisinin yeteri kadar anlaşılamaması, alveolitisin tedavisinde kesin başarı sağlanamamasının en önemli nedeni olduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı

mezenkimal kök hücrelerin canlılığını, migrasyonunu, osteojenik farklılaşmasını indükleyecek doğal ajanların kullanımının iyileşme socketinin rejenerasyonunu sağlamada ve alveolitisi önlemede yararlı olacağı düşünülmektedir.

Sentetik ilaçlarla meydana gelebilen, ciddi yan etkilerin yol açtığı tıbbi ve ekonomik sorunlar tartışma ve araştırma konusudur. Bununla birlikte, küretif tedavileri henüz mümkün olmayan birçok kronik hastalığın oluşturduğu tehdide karşı, doğallığın her zaman etkili ve yan etkiden arınmış olduğu düşüncesi yaygın hale gelmektedir. Bu ve benzeri faktörlere bağlı olarak bitkisel tedavi tekrar popüler hale gelmiştir. Herbalistler bitki tedavisinde, sadece etken maddenin izole edilip verilmesini amaçlayan tedavinin aksine, maksimum etkinin bir bütün içinde ortaya çıktığını, bitkinin tüm bileşenlerinin olumlu etki üzerinde bir payı olduğunu savunmaktadırlar. Saflaştırılmamış bitkinin kullanımı ile bitkiyi oluşturan maddelerin birbirini nötralize etmesi sağlanmakta ve böylece yan etki olasılığının azaldığı savunulmaktadır. Ayrıca, günümüzde gelişmekte olan ülkelerde bireylerin yaklaşık olarak %80'i halen geleneksel tıbbi bitkilerle kendini tedavi etmektedir. Tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen bitkisel ilaç hammaddeleri üzerinde yapılan çalışmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Ancak, dental klinikte uygulamaya geçilebilmesi için oromaksillofasiyal bölgede toksik etkisinin olup olmadığı, oral mukoza immün yanıtları üzerindeki etkisinin bilinmesi, rejenerasyonda yer alan stromal kök hücreler üzerindeki etkinliğinin bilinmesi gerekmektedir.

Sağlıklı ve normal bir çekim socketinde, trombin ve fibrinojen birlikte, epitelyumun göç ettiği bir fibrin pıhtısı oluşmaktadır (Noroozi ve Philbert, 2009). Granülasyon dokusunun oluşumu sırasında pıhtının içinde yeni kan damarları oluşmakta ve osteoproliferasyon başlamadan önce pıhtı, fibroblast ve fibrinolizis aracılığı ile pıhtı degradasyonu gerçekleşmektedir (Houston, McCollum, Pietz ve Schneck, 2002). Bu mekanizma, inflamatuvar evre, proliferatif evre ve maturasyon evresi olmak üzere 3 aşamada gerçekleşir. İnflamatuvar evre içerisinde çekim bölgesine travma gelmesi veya bölgenin enfekte olması sonucu pıhtılaşma mekanizmasında meydana gelen bozukluklar alveolitise neden olmaktadır. Çekim socketinde alveolitis meydana gelmesiyle inflamasyon başlamaktadır. İnflamasyon, apoptozise yol açarak doku aktivatörlerini açığa çıkartmaktadır. Böylece pıhtılaşma mekanizması bozulmakta ve plazminin fibrin ağını bozması ile kinin

ortaya çıkarak ağrıya sebep olmaktadır. Bu aşamada hasarlı bölgeye kök hücrelerin göçünü uyaracak ve inflamasyonun azalmasına katkı sağlayacak bir doğal ajan kullanılmasının alveolitis oluşum sürecini engelleyebileceği düşünülmektedir.

Proliferatif evrede ise fibroblastik proliferasyon ve bölgeye göç eden hücrelerin osteoblastik diferansiyasyonunda meydana gelebilecek bozukluklar bu aşamada alveolitise neden olan ana etkenlerdir. Yara iyileşmesinin bu aşamasında immatür hücrelerin öncelikle fibroblastlara daha sonra osteoblastlara farklılaşmaması alveolitisin ilerlemesini sağlamaktadır. Hasarlı dokuda mevcut bulunan kök/progenitor hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasını uyaracak terapötik ajanların kullanılmasının soket iyileşmesini hızlandıracağı gibi alveolitis oluşumunu da engelleyeceği düşünülmektedir.

Bakterilerin alveolitisteki rolü uzun zamandan beri bilinmektedir (Cardoso, Rodrigues, Junior Ferreira, Garlet ve Carvalho, 2010). Oral hijyeni kötü olan kişilerde, perikoronitis ve ilerlemiş periodontal hastalığı olan bireylerde soket içerisine bakterilerin sekonder olarak yerleşmesi ile alveolitis oluşma sıklığının artmış olduğunu bildiren çeşitli çalışmalar bu görüşü desteklemektedir (Blum, 2002; Cardoso ve diğerleri, 2010). Bakterilerle bu durum arasında sebep sonuç ilişkisi, antibakteriyel önlemlerle alveolitis insidansının azalmasıyla daha da güçlenmektedir. Spesifik bir nedensel organizmanın izole edilmesi yönünde pek çok girişim olmuştur. Alfa Streptokoklar sıklıkla bölgeden izole edilen mikroorganizmalardan olup bunların içinde en çok biyofilm oluşmasında da etken mikroorganizmalardan biri olan *Streptococcus mutans* ile olası bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Rozanis, Sciofield ve Warren, 1977). Ağızda biyofilm oluşumu önemli bir sorun olarak diş çekimi ve cerrahi işlemler sonrasında sekonder enfeksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Biyofilm oluşmasında önemli rol oynayan *Streptococcus gordonii* aynı zamanda viridians streptokoklar arasında yer almaktadır. Biyofilm içerisine antimikrobiyal ajanların tamamen girememesi biyofilm matrisini oluşturan polimerik maddenin antibiyotiklerin diffüzyonunu engellediği bilinmektedir (Catellani, 1979).

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı, alveolitis oluşumunu engellemek ve/veya tedavi etmek üzere hücre ve dokuların geliştiği bölge olan nişin iyileştirilmesi; progenitor/kök hücrelerin hayatta kalabilmesi, kendini yenileyebilmesi; farklılaşabilme kapasitesini artırırken aynı zamanda alveolitise neden olan mikroorganizmalar üzerinde de öldürücü etkiye sahip farklı doğal ekstraktların araştırılmasıdır.

Buna göre; araştırmamız aşağıda sıralanan hedefleri gerçekleştirmek üzere planlanmıştır:

- ✓ *Pleurotus ostreatus* (kavak mantarı); *Syzygium aromaticum* (karanfil); *Ocimum basilicum* (fesleğen); *Thymbra spicata* var. *intricate* (zahter otu); *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın); *Hypericum perforatum* (sarı kantaron); *Salvia triloba* (adaçayı) bitkilerine ait ekstraktların DP-MSKH üzerinde sitotoksik özelliklerinin olup olmadığı araştırılmıştır.
- ✓ Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi (PEDISTEM) hücre kültür koleksiyonunda bulunan dental pulpa kaynaklı mezenkimal stromal kök hücrelerden 4 ayrı hastaya ait örnekler kullanılmıştır.
- ✓ Doğal ekstraktların DP-MSKH adipojenik ve osteojenik farklılaşması üzerinde etkinliği olup olmadığı araştırılmıştır. Doğal ekstrakt ve karışımlarının özellikle osteojenik farklılaşmayı uyarmasının dental klinikte kemik rejenerasyonunda avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.
- ✓ Alveolitte pıhtının parçalanması ile artan inflamasyonun düşürülmesi gerekmektedir. İnflamasyonun oluşmasına neden olan sitokinlerin ilk sırasında yer alan tumor nekroz faktör (TNF)- α ile oluşturulan inflamasyon ortamında doğal ekstraktlar varlığında hücrelerin yanıtı araştırılmıştır. Doğal ekstraktlar varlığında TNF- α ile uyarılan hücrelerde proinflamatuvar (IL-1, IL-6); antiinflamatuvar (IL-10, IL-17) ve immunmodulatuvar (TGF- β) sitokin miktarları ELISA KİT yardımı ile belirlenmiştir.
- ✓ Kök hücrelerin bulundukları bölgelerdeki “niş”lerinden hasarlı dokuya doğru mobilizasyonu, alveolitis oluşumu sırasında kök hücrelerin sahip olduğu antiinflamatuvar ve farklılaşma özelliklerinden dolayı önemlidir. Bunu

sağlayan uyarının da hasarlı dokunun değişen mikroçevresinden geldiği gösterilmiştir. Hasarlı bölgede salınan çözülebilir faktörlerden stromal derived faktör (SDF-1), TNF- α ve kompleman C3 fraksiyonunun önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Burada yüksek konsantrasyon gelişmesi sonucu oluşan gradient diğer bölgelerdeki kök hücrelerin hasarlı bölgeye mobilizasyonu için bir uyarı oluşturmaktadır. Doğal ekstraktların bu göç üzerindeki etkisi TNF- α uyarımı ile oluşan göç ile karşılaştırılmıştır.

- ✓ Hasarlı soket bölgesine antimikrobiyal ajanların tamamen giremediği, biyofilm matriksini oluşturan polimerik maddenin antibiyotiklerin diffüzyonunu engellediği bilinmektedir. Elde edilen verilere göre en iyi sonucu veren ekstraktların alveolitise neden olan belli başlı mikroorganizmalar üzerinde antogonistik etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda alveolitis oluşumunda adı sıklıkla geçen *Streptococcus mutans* ve *S. gordonii* ve *Staphylococcus aureus* 'a karşı bitki ekstraktlarının antibakteriyel etkisi *in vitro* olarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alveolitis

Alveolitis terimi literatürde ilk kez 1896 yılında Crawford tarafından “dry socket” olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları bu durumu ifade etmek için “alveoler osteitis, lokalize osteitis, postoperatif alveolit, alveolit sicca dolorosa, lokalize osteomyelit ve fibrinolitik alveolit” gibi terimler kullanılmıştır (Blum, 2002). Yapılan çalışmalara göre tüm rutin daimi diş çekimleri sonrası alveolitis görülme oranı %1-4, gömülü mandibular üçüncü molar çekimleri sonrası %5-30 arasında olduğu bildirilmiştir. Alveolitis görülme oranı mandibulada fazla olmakla birlikte, mandibular molarlarda, maksiller molarlara oranla 10 kat yüksek olduğu bilinmektedir. Tipik olarak alveolitis, çekimden sonraki 1.-3. günlerde başlamakta ve 5-10 gün arasında devam edebilmektedir. Alveolitisin klinik özellikleri çekimden 24-72 saat sonra başlayan nabız atar tarzda ağrı, belirgin halitozis ve metalik tattır (Noroozi ve Philbert, 2009). Çekim soketindeki kan pıhtısı kısmen veya tamamen bütünlüğünü kaybetmiştir Bunun sonucunda debrisle çevrelenmiş çıplak kemik kreti izlenmektedir. Süpürasyon kanıt olmamakla birlikte, hasta genellikle çekim bölgesinden aynı taraftaki kulağa ve başın yan tarafına yayılan nabız atar tarzda ağrıdan şikayet eder. Daha az sıklıkla alveolitis sonucu jugulodigastrik lenf düğümleri etkilenmektedir (Rutkowski, Fennell, Kern, Madison ve Johnson, 2007).

2.1.1. Alveolitis Etiyolojisi

Alveolitis etiyolojisinde bakteriyel enfeksiyon, travma ve biyokimyasal ajanlar yer almaktadır (Rutkowski ve diğerleri, 2007). Artmış fibrinolitik aktivitenin ve plazminojenin plazmine aktivasyonunun alveolitisi başlatan doku aktivatörleri olduğu bilinmektedir (Birn, 1973). Bu fibrinolitik aktivitenin çekim sonrası kan pıhtısının bütünlüğünü bozucu etkisi olduğu düşünülmektedir. Fibrinolizisteki bu artışın cerrahiden sonraki 2. güne kadar bu pıhtıyı çözmede yetersiz kaldığı, pıhtının antiplazmin içerdiği ve bunun da pıhtının çözülmesini nötralize ederek engellediği Birn tarafından bildirilmiştir (Birn 1970). McGregor ‘un lokal anestezi altında 10.000 diş çekimini takiben yaptığı çalışmada cinsiyet, travmatik çekimler, sigara kullanımı predispozan risk faktörleridir (Macgregor, 1968). Bunlara ek

olarak, perikoronitis varlığı (Awang, 1989), pre- ve postoperatif bakteriyel popülasyon, uygun olmayan irrigasyon da diğer risk faktörlerini oluşturmaktadır (Noroozi ve Philbert, 2009). Cinsiyetler üzerine yapılan bir çalışmada, bayan hastaların %4.1'inde, erkeklerin %0.5'inde alveolitis olgusuna rastlanmıştır (Sweet ve Butler, 1978). Oral kontraseptif kullanan bayanlarda alveolitis görülme oranı kullanmayalara oranla 3 kat fazladır (Vezeau, 2000). Bu oran oral kontraseptiflerin içerdiği östrojenin plazmadaki fibrinolitik aktiviteyi artırdığını göstermektedir. Bu da çekim sonrası pıhtı stabilizasyonunu etkilemektedir (Noroozi ve Philbert, 2009). Yaş aralıklarına göre yapılan değerlendirmede, literatüre göre alveolitis çocukluk döneminde ender olarak gözlenmektedir. Yaşamın 3. ve 4. dekatlarında alveolitis görülme oranı en fazla olduğu ancak bu dönemde yine en yüksek seviyede gözlenen sigara kullanımının bu orana etkisinin büyük olduğu yayınlanmıştır (Noroozi ve Philbert, 2009).

Literatürün büyük çoğunluğu cerrahi travma ile alveolitis arasında korelasyon olduğunu savunmaktadır (Vezeau, 2000). Travmanın soketi sınırlayan kemik dokusuyla birlikte damarlara yaptığı kompresyon sonucu tromboza neden olduğu, böylelikle kan perfüzyonunu azalttığı kabul edilmektedir. Travma ile düşük doku direnci birleşince anaerobların etkin olduğu doku enfeksiyonu gözlenmektedir (Noroozi ve Philbert, 2009). Sigara kullanımı, nötrofil kemotaksisini ve fagositozunu düşürerek immünglobulin yapımını engellemektedir. Meechan ve ark.'nın yaptığı çalışmada (1988), 3541 diş çekimi takip edilmiş ve sigara kullanımının immediyat çekim sonrası soketin kanla dolmasını engellediği ve kullananların kullanmayanlara oranla alveolitise daha sık oranla maruz kaldığı belirtilmiştir (Meechan ve diğerleri, 1988). Cerrahi sonrası ilk 24 saat içinde sigara kullananlarda alveolitis görülme oranı %40'a yükselmektedir. Nargile kullanımının da sigara gibi benzer etkiler yaparak alveolitis oranını arttırdığı belirtilmiştir (Al-Belasy, 2004). Perikoronitisin alveolitise ilişkisini değerlendiren, 942 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; perikoronitisli hastalarda diş çekimi sonrası alveolitis görülme oranı %14.1 iken, perikoronitis olmayan hastalarda bu oran %6.6 olarak tespit edilmiştir (Noroozi ve Philbert, 2009). Uygun olmayan irrigasyonun alveolitis üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada bilateral gömülü yirmi yaş dişleri olan 211 hastadan bir taraftaki dişi çekilirken 25 ml serum fizyolojik kullanılırken, diğer taraftakinin çekiminde 175 ml serum fizyolojik

kullanılmıştır. Çalışma sonunda fazla yıkama olan tarafta 12 alveolitis vakası görülürken, az yıkanan tarafta 23 alveolitis vakası gözlenmiştir. Bu sonucun, yıkamanın soketin bakteriyel kontaminasyonunu azalttığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Noroozi ve Philbert, 2009). Bu etkenlerin dışında, pıhtılaşma sürecinde bakterilerin fagositik aktivasyonları ve inflammat aracılığıyla süreç değişebilmektedir. TNF-alfa plazminojen tip ürokinaz aktivatörünün etkisini arttırmakta ve tip 1 plazminojeni inhibe edebilmektedir. Böylece pıhtı kaybı oluşmaktadır (Cardoso ve diğerleri., 2010).

Alveolitis etiyopatolojisi ile ilgili hipotezler arasında lokal travma ve bakteriyel invazyon ilişkisinin de önemli rol oynadığı bilinmektedir. Lokal travmanın yaşandığı yere bakteriyel invazyon plazmin oluşumu ile sonuçlanmakta ve sokette fibrinolizis gerçekleşmektedir. Zayıf oral hijyen ve bahsedilen alveolar kontaminasyon önüne geçilmesi gereken bir sorun olmaktadır. Bunun için sebep olan bakterilerin tanımlanması ihtiyacı halen vardır. Ancak araştırmacılar belirgin bir bakteriye işaret etmemiştir. Alveolitisli hastaların soketlerinden alınan örneklerde alfa Streptokoklar ve beta hemolitikler izole edilmiştir. *S. mutans*'ın alveolar iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir (Cardoso ve diğerleri, 2010).

2.1.2. Alveolitis Tedavisi ve Karşılaşılan Sorunlar

Alveolitisin tedavisinde öncelikle neden olan etiyoloji belirlenmelidir. Alveolitisin postoperatif dönemde yara iyileşmesi sırasında meydana getirdiği ağrının giderilmeden, hasta rahatlatılmadan tedavi edilememesi de alveolitis sadece palyatif bir şekilde tedavisini zorunlu kılmaktadır (Blum, 2002). Çıplak kemiğin yeni granülasyon dokusu ile çevrelenmesi için ortalama 7-10 gün gereklidir. Bu süre zarfında hastanın konforsuzluğunu gidermek için çeşitli işlemler yapılmaktadır (Noroozi ve Philbert, 2009). Öjenol içerikli örtüleme maddesiyle soketin kaplanarak alveolitisin önüne geçmenin planlandığı bir çalışmada örtüleme işlemlerinin yara iyileşmesini geciktirdiği öne sürülmüştür (Bloomer, 2000; Blum, 2002). Analjezik seçenekleri nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlardan narkotik analjeziklere kadar değişmektedir. Colby, hastalara plastik şırınga verilerek evde irrigasyonun devam ettirilmesini önermektedir (Colby, 1997). Diğer yandan kanama yaratacak düzeyde

soketin küretajının, postoperatif dönemde ağrıyı arttırması nedeniyle, önerilmediği raporlar da vardır (Blum, 2002).

Antifibrinolitik ajanlar çekim sonrası erken dönemde pıhtının dağılmasını engellemek için kullanılmaktadır (Torres-Lagares ve diğerleri, 2005). Apérynl, alveolitis oluşumundan sonra semptomları gidermek amacıyla uygulanan antifibrinolitik bir maddedir. Yapılan bir çalışmada, soketlerin değişik derecelerde salin solüsyonuyla yıkanması sonucu alveolitis meydana gelme oranları incelenmiştir. Diş çekimi sonrası alveol soketleri 25 ml, 175 ml, 350 ml oranlarında olmak üzere steril salin solüsyonuyla irrigé edilmiştir. Yıkama oranı arttıkça alveolitle karşılaşma oranı azalmıştır (%10.9, %5.7, %3.2), (Blum, 2002). Cheung ve ark.'nın yaptığı çalışmada, steril eldiven kullanılarak çekilen dişlerle, temiz ancak steril olmayan eldivenlerle çekilen dişlerde alveolitis meydana gelme oranları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Cheung, Chow, Tsang ve Tung, 2001).

Bakteriyel teoriye dayanarak yapılan bir çalışmada alveolitis oluşumunu önlemede sistemik antibiyotikler yalnız veya steroidlerle birlikte kullanılmış ancak iyileşme sağlamadığı bildirilmiştir. Üçüncü molarların çekimini takiben kullanılan topikal antibiyotikler sonuçları olumlu yönde nispeten etkilemiştir (Torres-Lagares ve diğerleri, 2005). Enfeksiyonun yayılma olasılığını düşündüren ateş, halsizlik, lenfadenopati, trismus gibi klinik belirtilerin olması durumunda tedaviye yardımcı olarak antibiyotikler kullanılmaktadır. Bu amaçla penisilin, klindamisin, eritromisin veya metranidazol türevleri kullanılabilir. Dar antibakteriyel spektruma bağlı etkileri diğerlerine oranla daha az olan metranidazol tercih edilebilmektedir. Ancak warfarin, fenitoin, antihipertansiflerle ve alkolle etkileşimine dikkat edilmelidir. Profilaktik ve tedavi amacıyla antibakteriyellerin rutin kullanımı büyük ölçüde tartışmalıdır. Rutin kullanım sonucu toplum genelinde gelişen direnç ve bireylerde meydana gelebilen hipersensitivite en büyük dezavantajlardır (Blum, 2002). Tek başlarına ya da kombinasyon halinde kullanılan çeşitli tiplerdeki antibakteriyeller de dahil olmak üzere çeşitli topikal ve sistemik ilaçların alveolitis önlemedeki etkinliklerini değerlendirmek için sayısız çalışma yapılmıştır (Delilbaşı ve diğerleri, 2002; Siddiqi, Morkel ve Zafar, 2010; Ren ve Malmstrom, 2007). Ancak çok az çalışma birbirini destekler niteliktedir. Antibiyotiklerin kullanıldığı bazı

çalışmalarda bildirilen alveolitis insidansı, antibiyotik kullanılmayan çalışmalarda bildirilenden daha yüksek olmaktadır. Bazı durumlarda, antibiyotik madde ya da antibiyotiği taşımak için kullanılan baz madde alveolitisten daha şiddetli ve ciddi komplikasyonlara yol açtığı belirtilmiştir (Vezeau, 2000).

Trombositten zengin plazma (TZP), ekim sonrası soketteki sert ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandırmak için kullanılmaktadır. Hastanın kendinden alınan kandan hazırlanan TZP mandibular molar çekim soketine immediyat uygulanıp, sütüre edildiği bir çalışmada, 904 çekim bölgesi TZP yerleştirilerek ve ya TZP yerleştirilmeden takip edilip değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; TZP yerleştirilmeyen soketlerde %9.57 oranında alveolitis gözlenirken, TZP yerleştirilenlerde %3.63 oranında alveolitis gözlenmiştir. TZP'nin alveolitis oranını %62.1 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir. TZP'nin bu yararının; pıhtı formasyonunun başlamasına yardım etmesi, iyileşme sürecini kolaylaştıran büyüme faktörlerini içermesi ve enfeksiyonu inhibe eden konsantre beyaz kan hücrelerini içermesinden kaynaklandığı ne sürülmektedir (Rutkowski ve diğerleri, 2007).

2.2. Diş Hekimliğinde Alternatif Tedavi Olarak Bitkilerin Kullanımı

Alveolitis etiyolojisi ile ilgili ne sürülen hipotezlerden biri bakteri varlığı olup, önüne geçmek amacı ile farklı antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak en büyük sorun antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli patojenlerin varlığıdır. Yan etkilerinin yanında farklı antibiyotiklerin yüksek miktarda kullanılması supra enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Sweeney, Dave, Chambers ve Heritage, 2004). Birçok yeni ve farklı antimikrobiyal ajan olmasına karşılık, antibakteriyel ve antifungal enfeksiyonlar halen büyük sağlık problemidir. Bundan dolayı, yeni antimikrobiyal bileşiklerin bulunması amacı ile birçok farklı araştırma yapılmaktadır. alışmalar doğal ekstraktların etkinliği üzerine odaklanmış, (Zaidi ve diğerleri, 2012; Taheri, Azimi, Rafieian ve Zanjani, 2011) ancak literatürde doğal bitki ekstraktlarının oral stroma hücreleri üzerindeki etkinliği ile ilgili verilere ulaşılamamıştır.

Dental plak, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Anti-plak ajanların geliştirilmesi için farklı kimyasal ve biyolojik bileşikler üzerinde birçok araştırma yapılmıştır (Helms ve diğerleri, 1995). Bugüne

kadar Klorhekzidin ve Listerine (esansiyal yağların kombinasyonu)'e Amerikan Dental Birliği Konseyi tarafından onay verilmiştir. Ancak, bu gargaraların diş üzerindeki lekelenendirme ve artmış kallus formasyonu gibi yan etkileri de göz ardı edilmiştir. Tıbbi bitkiler üzerinde yapılan araştırmalarda esansiyal yağlar ya da bitki ekstraktları, yeni antimikrobiyal ajanlar olarak önerilmektedir.

Çalışmada *Pleurotus ostreatus*, *Syzygium aromaticum*, *Ocimum basilicum*, *Thymbra spicata* var *intricate*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Hypericum perforatum*, *Salvia triloba* ekstraktları kullanılmıştır.

2.2.1. *C. zeylanicum* (tarçın)

Asya kökenli, yaprak dökmeyen, hoş kokulu bir ağacın kabuklarından elde edilen bir baharattır. Kokusu kuvvetli, kesin ve uzun süreli, tadı tatlımsı ve yakıcıdır. *Cinnamon* sp. içeren sakızların H₂S üreten tükürükte bulunan anaeroblar üzerindeki kısa dönem öldürücü etkisi araştırılmıştır. *Cinnamon* sp. içeren ve içermeyen sakızlar arasında total tükürük anaerob sayıları arasında belirgin bir fark, tarçın içeren sakızlar lehine görülmüş olmasına rağmen istatistiki olarak değerlendirilmemiştir (Zhu, Carvalho, Scher ve Wu, 2011).

Tadı, kokusu ve antibakteriyel özellikleri temeline dayanarak hazırlanan ağız hijyen ürünlerine katılan *Cinnamon* sp. temasına bağlı stomatitler ile ilgili çalışmalar literatürde geniş yer almaktadır. Yapılan çalışmalar sebebinin araştırılmasına yönelik olmayıp klinik hastalarda *Cinnamon* sp. içeren ve içermeyen gargara kullanan hastaların stomatit profillerinin belirlenmesine dayanmaktadır (Endo ve Rees, 2006). *C. zeylanicum* türünün su ve etanol ekstraktlarının farklı dental plak mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırıldığında, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. ve dental plak örnekleri üzerinde etanol ekstraktlarının daha etkin olduğu belirlenmiştir (Abdul ve Wahid, 2009).

Diş hekimliğinde *S. mutans*, *S. aureus*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata* oral enfeksiyona yol açan etmenlerin başında gösterilmektedir. Antibiyotiklerin yan etkilerinin yanında, *Cinnamon* sp. ve *Eucalyptus* sp.'nin *S. mutans*, *C. albicans* ve *C. glabrata* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada,

Cinnamon yağının tüm *S. mutans* suşları üzerinde inhibitör özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Fani ve Kohanteb, 2010).

2.2.2. *P. ostreatus* (kavak mantarı)

Son yıllarda mantarların gıda olarak kullanımlarının yanında sağlığa faydalı etkileri de dikkat çekmeye başlamıştır. Farklı çalışmalarda antiinflamatuvar, antitümör, antibakteriyel, antioksidan ve antiviral özellikleri gösterilmiştir (Barros, Baptista, Estevinho ve Ferreira, 2007a; Dore ve diğerleri, 2007; Barros, Baptista, Estevinho ve Ferreira, 2007b; Ferreria, Baptista, Vilas-Boas ve Barros, 2005). Biyoaktif bileşiklerce zengin olmalarından dolayı mantarların immün uyarıcı aktivitesi araştırılmış ve antiinflamatuvar aktivitesi gösterilmiştir. *Lactarius deliciosus*'tan izole edilen yeni bir heteropolisakkaritin *in vivo* çalışmada antitümör özelliği gösterilmiştir (Ding, Hou ve Hou, 2012). Kuzeydoğu Portekiz'den *L. deliciosus*'un şapkasının ve sapının metanol ekstraktlarının antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Şapka kısmının metanol ekstraktının total fenolik içeriği ve serbest radikal giderme etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Ferreira ve diğerleri, 2005). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada *P. ostreatus*'un triaçilgliserol konsantrasyonlarının ve oksidize düşük yoğunluklu lipoprotein seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü gözlenmiştir (Schneider ve diğerleri, 2011). Mantarların farklı araştırmalarda antimikrobiyal aktiviteleri gösterilmiştir (Gao ve diğerleri, 2005; Gezer ve diğerleri, 2006; Kim ve Fung, 2004; Mercan ve ark., 2006; Türkoğlu, Duru, Mercan, Kıvrak, ve Gezer, 2007). Etil asetat ve kloroform ekstraktlarının *S. mutans* ve *Prevotella intermedia* üzerinde antibakteriyel aktivitesi olduğu rapor edilmiştir (Hirasawa, Shouji, Neta, Fukushima ve Takada, 1999). İlaç dirençliliği, araştırmacıları yeni antimikrobiyal ajan arayışı içerisine her zaman itmiştir. Yapılan literatür taramasında, makro fungusların diş hekimliği ile ilgili araştırmalara konu olmadıkları görülmüştür.

2.2.3. *Ocimum bacilicum* (fesleğen)

Labiata ailesi, tıbbi bitkiler içinde en çok kullanılan türlere sahip olan ve antibakteriyel ve antioksidan özellikleri bilinen bir ailedir. Bu aile içinde *Ocimum* sp.'nin farklı türlerini içermekte ve bunlardan biri olan *O. bacilicum* doğu Anadolu

bölgesinde doğal olarak bulunmaktadır. *O. bacilicum*'un farklı ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri 10 farklı bakteri ve 4 maya türüne karşı araştırılmıştır. Metanol ekstraktlarının en iyi etkiyi gösterdiği ve bitki ekstraktıyla muamele edilen bakterilerin SEM görüntülerinde bakterinin hasar gördüğü bildirilmiştir (Kaya, Yiğit ve Benli, 2008). Farklı *Ocimum* türlerinin yaprak, kök, gövde ve çiçek ekstraktlarının antiplasmodial özelliğinin varlığının araştırıldığı çalışmada *O. bacilicum*'un etanol ekstraktlarının eritrosit morfolojilerinde bir değişime neden olmadığı ve IC₅₀ 43,81 µg/ml ile yaprak ekstraktının en iyi antiplasmodial etkiyi gösterdiği rapor edilmiştir (Inbaneson, Ravikumar ve Suganthi, 2012). Yapılan literatür araştırmasına göre adı geçen bitkinin diş hekimliğinde kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur.

2.2.4. *Syzygium aromaticum* (karanfil)

Diş hekimliğinde uzun yıllardan beri karanfil yağı minör yaralarda analjezik ve genel antiseptik olarak kullanılmaktadır (Cai ve Wu, 1996). Karanfil yağının antioksidan özelliklerine dayanarak antikarsinojen ajan olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Lee ve Shibamoto, 2002). Ancak karanfil yağının insan hücrelerine toksik etkisi olduğu da belirtilmiştir (Prashar ve diğerleri, 2006). Aşırı doz tüketimi ya da enjeksiyonunda akut solunum stres sendromu, fulminan hepatik bozukluklar ve merkezi sinir sistemi bozukluklarını içeren komplikasyonlara neden olmaktadır (Hartnoll ve Moore, 1993). Karanfil yağı bitkisel tedavilerde ağrı giderici ve iyileşmeyi hızlandırıcı amaçlı kullanılmaktadır. İki ana komponenti olan öjenol ve β -karyofilen genel olarak “güvenli” olarak tanımlansa da *in vitro* çalışmada hem yağı hem de öjenolün insan deri fibroblastları ve endotelial hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olduğu rapor edilmiştir (Prashar, Locke ve Evans, 2006). Cai ve Wu'nun yaptığı çalışmada (1996), karanfil bitkisinin ve bu bitkiden elde edilen 8 aktif bileşenin, ağız içindeki gram negatif anaerobik periodontal oral patojenler olan *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia* üzerinde inhibitör etki gösterdiği ispatlanmıştır (Cai ve Wu, 1996).

2.2.5. *Hypericum perforatum* (sarı kantaron)

St. John's bitkisi olarak da bilinen, sarı çiçekleri olan, medikal olarak da kullanılan bir bitkidir. Anksiyete, depresyon, kesik, yanık, kanser, bakteriyel ve viral hastalıkların tedavisinde antioksidan, analjezik (Haag ve diğerleri, 2014) ve sinir koruyucu (Klemow ve ark., 2011) ajan olarak kullanılmaktadır. Sarı kantaron aynı zamanda önemli seviyede yara iyileşmesi ve antienflamatuvar özelliklere sahiptir. Antienflamatuvar etkisini, nitrik oksit sentezini ve siklooksijenaz 2'yi inhibe ederek sağlamaktadır. Sarı kantaron, metisilin dirençli *S. aureus* da dahil olmak üzere gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Kemoterapi ve radyoterapi komplikasyonu olarak gözlenebilen oral mukozitisin tedavisinde *H. perforatum* yararının test edildiği 72 fare üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada farelere 1., 5. ve 10. günlerde 5-fluorouracil verilmiş ve 1. ve 2. günlerde steril iğneyle farelerin yanaklarında yaralar oluşturulmuştur. Çalışmanın 12. ve 17. günlerinde 1. gruba topikal olarak %10'luk sarı kantaron jeli, 2. gruba oral 300mg/kg'lık *H. perforatum* verilmiş, kontrol grubuna herhangi bir müdahalede bulunulmamıştır. Sonuçta *H. perforatum* oral uygulandığı grup, topikal uygulanan gruba göre, topikal uygulanan grup da kontrol grubuna göre, kemoterapinin indüklediği oral mukozitisin iyileşmesinde önemli seviyede bir hızlanma sağlamıştır. (Tanideh, Tadbir, Ebrahimi ve Koohi-Hosseini, 2014)

H. perforatum'un periodontitis üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ratların 1. molarlarının çevresine naylon ligatürler yerleştirilerek bölgede periodontitis oluşturulmuştur. 8 gün boyunca hergün 2 mg/kg *H. perforatum* oral yolla ratlara uygulanmıştır. 8. günde 1. molarları çevreleyen mukogingival doku eksize edilmiştir. Periodontitis sonucu gözlenen ödem, nötrofil infiltrasyonu ve sitokin üretiminin değerlendirildiği çalışmada *H. perforatum* uygulanan grupta tüm parametrelerde önemli düzeylerde azalma gözlenerek sarı kantaronun antienflamatuvar etkisi kanıtlanmıştır (Paterniti ve diğerleri, 2010).

2.2.6. *Salvia triloba* (adaçayı)

Adaçayı, Lamiaceae bitki ailesinin içinde 900 çeşidi bulunan önemli bir türdür. Dünya genelinde adaçayının birçok türü yemek ve ilaç yapımı için yetiştirilmektedir. Adaçayı bitkisi, Marmara, Ege ve Akdeniz bölgesinde yabani olarak yetişir. Yaprakları boz renkli, kenarları kalkık, yanlarda küçük birer yan yaprak vardır. Çiçekleri pembemsi eflatun renklidir. Bitkiye elma otu veya elma adaçayı denmesinin sebebi bitkinin üzerinde küçük elma şeklinde kozalaklarının olmasındandır. Türkiye’de yabani olarak yetiştiği gibi kültür bitkisi olarak da yetiştirilebilir.

Salvia miltiorrhiza’nın kurutulmuş kökleri koroner ve serebrovasküler hastalıkların, uyku bozukluklarının, hepatitin, kronik renal bozuklukların ve ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadır. *Salvia triloba*’nın etanol içerikli ekstraktlarının GABA-benzodiazepin reseptörüne afinitesinin olduğu tespit edilmiştir (Imanshahidi ve Hosseinzadeh, 2006). Adaçayının antienflamatuar ve ülserojenik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kloroform içerikli ekstraktlarda yüksek oranda antienflamatuar etkiye sahip olduğu, ülserojenik etkisinin asetil salisilik asitten daha az olduğu belirlenmiştir (El-Sayed, El-Eraky, Ibrahim ve Mabry, 2006). Literatürde, bitkinin diş hekimliğinde kullanımı ile ilgili bilgi mevcut değildir.

2.2.7. *Thymbra spicata* var *intricate* (zahter otu)

Zahter otu, Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde yaygın olarak yetişen, kekik bitkisinin bir türüdür. Yapılan bir çalışmaya göre, zahter otu, Al, Ca, Mg, Na ve P minerallerinden zengin bir bitkidir (Kızıl, 2010).

Toros Dağları’nın eteklerinde yaşayan ve geçimini kekikten sağlayan yerel halk bulunmaktadır. Bu köylüler yemeklerinde aşırı miktarda kekik tüketmekte, buna karşılık da yüksek oranlarda anemiyle karşılaşmaktadırlar. Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, ratlar üzerinde kekik tüketiminin etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre kekik bitkisinin türlerinin tümünde antihiperkolesterolemik etki saptanmıştır. Anemik etkisi de saptanan kekiğin aynı zamanda 80 mg/kg *Thymbra spicata Labiatae* (TSL) grubunda orta, 160 mg/kg

TSL grubunda belirgin derecede karaciğer dejenerasyonuna neden olduğu saptanmıştır (Akdoğan, 2012). Literatürde, bitkinin dış hekimliğinde kullanımı ile ilgili bilgi mevcut değildir.

2.3. Kök Hücreler

Kök hücreler, canlı vücudunda bulunan, kendini yenileyebilen ve aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir (Can, 2014:41). Henüz farklılaşmamış olan bu hücrelerin, sınırsız bölünebilme, kendini yenileyebilme, organ ve dokulara dönüşebilme, koloni oluşturabilme ve hasarlı dokulara göç etme (migrasyon) yeteneğine sahip oldukları gösterilmiştir (Parker ve diğerleri, 2004; Weissman, 2000). Kök hücreler, dokularda az sayıda bulunmakta, yaşam boyu belli oranda bölünmekte ve bölündükçe sayılarını korumaktadır. Bölündüklerinde oluşan iki yavru hücreden birisi kök hücre olarak mevcudiyetini korurken asimetri kuralına göre diğeri farklılaşmaya doğru gidecek hücre formunu oluşturarak, hücre havuzuna katılmaktadır (Can, 2014:43).

Kök hücrelerin hasarlı doku ve organ rejenerasyonunda rol aldığı uzun yıllardan beri bilinmektedir. Hasarın iyileştirilmesinde etkili mekanizmalar; kök hücrenin farklılaşarak olgun fonksiyonel hücrelere dönüşmesi, kök hücrenin hasarlı hücre ile füzyon sonucu hücre fonksiyonunun yeniden kazanılması, kök hücrenin hasarlı dokuda hücre/hücre, hücre/ekstraselüler matriks ilişkileri ve çözünebilir faktörlerin (büyüme faktörü, sitokin, kemokin, vs..) salınımı yoluyla hasarın giderilmesine katkıları olarak sayılabilir. Kök hücrenin, kendi kökeni dışında birçok farklı dokuya ait hücrelere farklılaşabilme yeteneği (transdifferansiasyon/plastisite) çok büyük ilgi uyandırır da aslında bu değişimin çok az sayıda hücreyi kapsadığı bilinmekte ve iyileşmeye olan katkıda, özellikle çözünebilir faktörlerin salınımı olmak üzere diğer mekanizmaların da etkisinin düşünülmesi gerekliliği vurgulanmaktadır (Lemoli ve diğerleri, 2005; Krause ve diğerleri, 2001; Anderson, Gage ve Weissmann, 2001).

Kök hücreler çoğu zaman bölünerek, sonrasında dokuya özgü farklılaşmış hücreleri oluşturacak olan geçici hücreleri meydana getirmektedir. Bölünme hızları genellikle yavaş olmasına rağmen, yaralanma ve doku kaybının şiddetli olduğu durumlarda doğal bölünme hızlarını arttırmaktadır. Dokuların en kalıcı ve en uzun

süre yaşayan hücreleri olmasına rağmen sayıları yaşla birlikte azalmaktadır. Büyüme faktörlerine ve sinyal moleküllerine hassastır ve hızla yanıt vermektedir. Kök hücrelerin önemli bir kısmı hücre döngüsünün G0 evresinde sessiz olarak bulunmaktadır. Embriyo kök hücreleri ve yetişkindeki çoğalan geçici hücreler bu evreyi hızlı bir şekilde geçerek hücre döngüsünü tamamlamaktadır. Kök hücreler, diğer hücrelerden farklı kromatin örüntüsüne sahiptir ve strese karşı dayanıklıdır (Can, 2014:42).

Kök hücreler temel olarak embriyonik kök hücre ve yetişkin kök hücre olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Embriyonik kök hücreler en yüksek farklılaşma potansiyeline sahip kök hücreler olmalarına rağmen, embriyoya ait dokuların kullanımıyla ilgili etik sorunlar ve neoplastik potansiyel taşımaları nedeniyle kullanımına kısıtlamalar getirilmiştir (Yang ve Fan, 2008; Thomson ve diğerleri, 1998). Bunlara alternatif olarak somatik dokulardan elde edilen erişkin kök hücreler, özellikle mezenkimal kök hücrelerin kullanımı önem kazanmıştır (Eroğlu, 2008).

2.3.1. Kendini yenileme

Kök hücrenin kendini yenileyebilmesi özelliği, hücrelerin çoğalma sayısının çok fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler 40-60 kez bölündükten sonra yaşlılık evresine girmekte ve diğer kök hücre özelliklerini kaybetmektedirler. Onkogenik bir değişim göstermeden bu sayının iki katına ulaşabilen hücrelere “ileri derecede çoğalabilen hücreler” denilmektedir (Luna, Masamunt, Lawrance ve Sans, 2011).

Bir kök hücre bölündüğünde en fazla iki farklı fenotipte hücre ortaya çıkar. Bunlardan birisi kök hücrenin yedeği niteliğinde kalırken, diğerinin bir sonraki aşama için farklılaşmasına “asimetrik hücre bölünmesi” denilmektedir. Bu bölünme şekli, çevre asimetrisi ve bölünme asimetrisi olmak üzere iki ayrı mekanizma ile açıklanmaktadır (Watt ve diğerleri, 2006). Çevre asimetrisinde oluşan hücrelerin yapısı çevre faktörleriyle veya rastgele belirlenmektedir. Ortaya çıkan hücrelerden en az birisi kök hücre olmayı sürdürür. Bölünme asimetrisinde bölünecek olan hücrenin yapısı veya yakın bir hücreyle olan ilişkisi sonucunda sitoplazmada oluşan faktörlerin hücre içindeki dağılım farkı nedeniyle, ortaya çıkan

hücrelerin yapıları da birbirinden farklı olmaktadır. Bu hücrelerden biri kök hücre olarak kalırken diğeri farklılaşmaktadır (Can, 2014:43).

Bulunduğu dokunun ihtiyacına göre, kök hücrenin bölünmesi sonucu ortaya çıkan hücrelerden biri kök hücre olarak kalmayı sürdürürken diğeri çoğu zaman hemen farklılaşma yoluna gitmeyebilmektedir. Bu hücreler farklılaşmadan bölünme yoluna girer ve çoğalan geçici hücreler ortaya çıkar. Bu hücreler geometrik olarak çoğalırlar ve belirli bir sayıya ulaştıklarında, ortam koşulları da uygunsa farklılaşırlar. Bu hücrelere sonuna kadar farklılaşmış hücreler denilmektedir. Çoğalan geçici hücrelerle, sonuna kadar farklılaşmış hücrelerin arasındaki denge, doku ve organlarımızın büyüklüğünü çevre koşullarıyla birlikte belirlemektedir (Can, 2014:44).

2.3.2. Farklılaşma yeteneği

Bir kök hücre popülasyonunun en az iki farklı hücre tipine farklılaşma kapasitesidir (Caplan, 1991). Farklılaşma, işlevsel olarak olgun bir hücre olma yolunda meydana gelen biyokimyasal olayların tümüne verilen addır. Farklılaşma, eritroblastta ve keratinositte DNA sentezinin geri dönüşümsüz kesilmesi şeklinde, hepatositlerde albümin sentezinin geri dönüşümlü başlaması şeklinde görülmektedir. Farklılaşma işlemi canlıların gelişimi sırasında defalarca meydana gelmektedir. Bu işlem hücrenin gen seti üzerinde, son derece kontrollü süregelen bir takım kontrol mekanizmalarının zamana ve mekana bağlı değişimleriyle gerçekleşmektedir. Kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri arasındaki farkı tanımlamak için multipotent, pluripotent, totipotent terimleri kullanılmaktadır. Tüm hücrelere dönüşebilme potansiyeline ve tüm organizmayı oluşturma yeteneğine sahip kök hücrelere “totipotent”, vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilme yeteneğine sahip, ancak tek başlarına bir organizmayı oluşturma yetisine sahip olmayan hücrelere “pluripotent” hücreler denir. Daha özelleşmiş fonksiyonlara sahip olan ve erişkin kök hücreleri oluşturan kök hücrelere ise “multipotent” hücre denilmektedir (Winslow, 2001).

2.3.3. Koloni oluşturma yeteneği

Klon oluşumu, tek bir kök hücreden çok sayıda yeni kök hücrenin oluşumu anlamına gelmektedir. Klon oluşturma yeteneği (klon büyüklüğü, klon oluşturma hızı) kök hücreler arasında yapılacak kıyaslamalarda kullanılan bir ölçüttür. Klonları oluşturan hücrelerin kültürde canlılıklarını korumaları, başarıyla dondurulup çözülebilmeleri gerekmektedir. Klinikte saf hücre kültürlerini hazırlamak çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Kültürün içeriğinde bulunabilecek birden fazla türde hücre varlığı klon oluşturma etkinliğini olumsuz olarak etkileyebilmektedir.

2.4. Mezenkimal Kök Hücreler

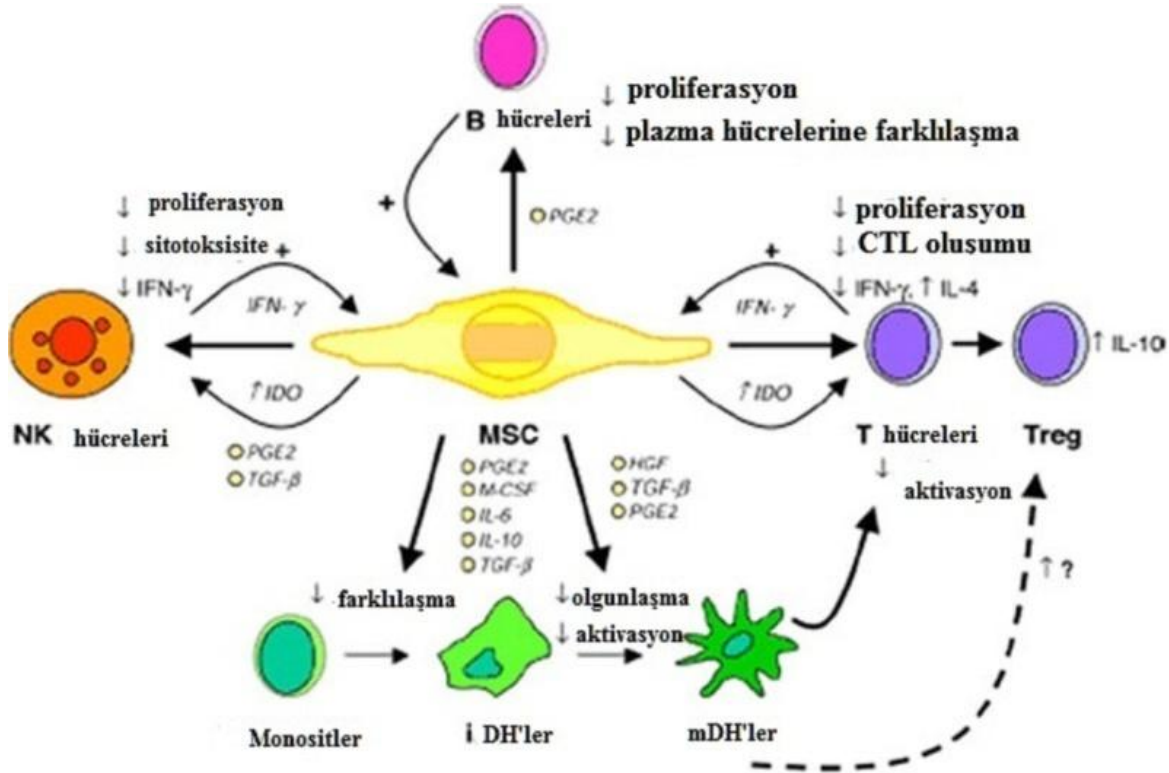
Organizmanın en zengin kök hücre kaynaklarından biri sayılabilecek olan kemik iliğinde başlıca, mezodermden köken alan hematopoetik, endotel ve mezenkimal kök/progenitör hücreler bulunmaktadır. Bunlardan stromal kökenli olan mezenkimal kök hücreler (MKH), stromaya tutunması (ekstraselüler matrikse ve stromal hücrelere), çeşitli sekretuar faktörlerin salınımı ile hematopoetik progenitör hücrenin olgun hücreye farklılaşması veya inhibisyonu ile kök hücrenin siklusun G0 fazında kalarak kök hücre rezervi oluşturmaları, kendini yenilemesi ya da gerektiğinde diğer dokulara mobilizasyonu, migrasyonu gibi biyolojik fonksiyonlarına önemli katkı sağlamaktadır. Böylelikle, MKH'ler kemik iliği mikroçevresinin önemli bir komponenti olup sağlıklı hematopoezin yürütülmesinde kritik bir öneme sahiptirler. (Wilson ve Trumpp, 2006).

Bir hücre popülasyonunun MKH olarak tanımlanmasını sağlayan yüzey antijeni ekspresyonu, immünoloji ve hematolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. International Society for Cellular Therapy (ISCT)'nin kriterlerine göre bir MKH popülasyonunun %95 veya daha fazlasının CD105 (endoglin olarak bilinir ve orijinal olarak MAb SH2 şeklinde tanımlanmıştır), CD73 (ekto-5-nükleotidaz olarak bilinir ve orijinal olarak MAb SH3 ve SH4 şeklinde tanımlanmıştır), CD90 (Thy-1 olarak da bilinir) antijenleri için pozitif olması gerekmektedir (Dominici ve diğerleri, 2006; Majumdar, Thiede, Mosca, Moorman ve Gerson, 1998). Ayrıca, heterojen MKH popülasyonunu diğer hücre popülasyonlarından ayırt etmek için hematopoetik kök hücreler veya hücrelerin izole edildiği dokuya ait spesifik

antijenlerin negatif olması gerekmektedir. Buna göre hücre popülasyonunda CD45, CD34, CD14 veya CD11b, HLA sınıf II, CD79 α veya CD19 ve gibi hematopoetik antijenlerdeki pozitiflik oranının %2'yi geçmemesi gerekmektedir (Dominici ve diğerleri, 2006).

MKH'lerin immüdüzenleyici özellikleri 2 ayrı perspektiften değerlendirilmektedir. Bunlar; (i) allojenik MKH'lerin immünbaskılayıcı özellikleri ve (ii) İnflamatuvar sitokinlerin MKH'lerin aktivite ve farklılaşma özellikleri üzerine etkileridir. MKH'ler, birbirinden bağımsız hayvan ve insan deney modellerinde benzer özellikleri göstermektedir. MKH'ler ile yapılan çalışmalarda başlangıçta T lenfositleri üzerindeki etkilerine odaklanılmış ancak, daha sonraları B hücreleri, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler (NK) gibi immun yanıtlarda yer alan hücreler üzerinde etkileri olduğu rapor edilmiştir (Uccelli, Pistoia ve Moretta, 2007).

Kemik iliği kaynaklı MKH'lerin (Kİ-MKH) non-immünojenik ve daha da önemlisi immünmodulatuvar ve antiinflamatuvar yeteneklere sahip olduğu bilinmektedir (Nauta ve Fibbe, 2007). Kİ-MKH'ler immunmodulatuvar etkilerini NK, dendritik hücreler, T ve B hücreleri gibi doğal ve kazanılmış immune hücrelerinin proliferasyon ve fonksiyonlarını inhibe ederek ve CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ düzenleyici T hücrelerinin (T_{reg}) yayılımını hücre hücre teması ya da çözülebilir faktörler aracılığı ile arttırarak göstermektedir (Krampera ve diğerleri, 2006). Bugüne kadar, MKH'ler tarafından salınan ya da hedef hücrelerle etkileşim sonucu dolaylı olarak salınan TGF- β 1, hepatosit büyüme faktörü (HGF), IL-10, PG₂, NO ve IDO gibi çözülebilir faktörler immünmodulatuvar özellikte olarak kabul edilmiştir. Aktive olmuş T hücreleri tarafından salınan iki önemli proinflamatuvar sitokin TNF- α ve IFN- γ 'nın MKH'ler tarafından PGE₂, TGF- β 1, HGF, NO ve IDO ekspresyonlarını uyardığı gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2009). Bu bulgulara göre, TNF-alfa ve IFN-gama immun hücreler ve MKH'ler arasında kilit rol oynayan önemli bir faktördür. MKH'lerin immünmodulatuvar ve antiinflamatuvar özellikleri deney hayvanı modellerinde graft versus host hastalığı, diabetes, romatoid artrit, otoimmun ensefalomyelitis, sistemik lupus, periodontitis, inflamatuvar barsak hastalığı ve sepsisler üzerinde gösterilmiştir (Waterman, Tomchuck, Henkle ve Bettancourt, 2010)



Şekil 2.1. MKH'lerin immunmodulator özellikleri (Nauta ve Fibbe, 2007)

Günümüzde MKH'lerin elde edilmesi ve tanımlanması, antijen tanımlamalarının yanısıra daha çok operasyonel temellere dayanmaktadır. Bu hücrelerin plastik kültür yüzeylere tutunarak büyümeleri ve çoğalmaları, *in vitro* olarak en az üç seriye farklılaştırılabilimleri altın standart olarak kabul edilmektedir. Mezenkimal kök hücreler, mezoderm dokusunun öncü hücreleri oldukları için kemik, kıkırdak, kas gibi bağ ve destek dokularının, yağ dokusunun, vasküler sistemin temel hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptir. Mezenkimal kök hücreler ektopik olarak vücut içine transplante edildiklerinde kemik ve kıkırdak dokularına dönüşürler (Ashton ve diğerleri, 1980; Haynesworth, Goshima, Goldberg ve Caplan, 1992).

MKH'ler dokularda çok az sayıda bulunurlar. Tedavi, hatta araştırma amaçlı kullanım için bile *in vitro* kültür ortamında çoğaltılmaları gerekmektedir. Kemik iliği MKH'leri hematopoietik hücreler için gerekli birçok büyüme faktörünü salgımlarken (makrofaj koloni stimule eden faktör, stem cell faktör gibi); diğer kök hücreler ile ortak olan bazı gen ekspresyonları yanında konnektif dokuya özgün moleküller ve

adezyon moleküllerini de eksprese etmektedirler. MKH'lerin klinik kullanım için belki de en avantajlı özelliklerinden biri de, bu hücrelerin immunojenitesinin düşük olması ve immunsupresif olmalarından kaynaklandığı bilinmektedir. HLA-DR ve ko-stimulator molekül ekspresyonları yoktur. T lenfosit aktivasyonu ve alloreaktif reaksiyonları önlerler. Bunların yanında aktif B lenfositleri de inhibe eder, regülatör T hücreleri uyarır; ayrıca solubl faktörler ile immün supresyon yaptıkları gösterilmiştir. Bununla birlikte MKH'lerin bazı sistemlerde (non-myeloblatif transplantlarda) ve özellikle düşük dozlarda immunstimulasyon da yapabileceği bildirilmiştir. Şekil 2.1 'de MKH'lerin immunmodulator etki mekanizması yer almaktadır. MKH'lerin immun supresif özelliği hücresel tedavi açısından önemli bir avantajdır (Hibi, Yamada, Ueda ve Endo, 2006; Le Blanc ve diğerleri, 2004; Bartholomew, Siatskas ve Ferrer, 2002).

Kök hücrelerin keşfi, hücresel ve moleküler biyolojideki gelişmeler çeşitli dokuların rejenerasyonunda yeni stratejilerin geliştirilmesini beraberinde getirmiştir. MKH'ler farklı doku kaynaklarından elde edilse de çok yönlü farklılaşabilme, plastik doku kültür kaplarına yapışma ve spesifik bazı yüzey antijenleri taşıma gibi birçok ortak özellik taşımaktadırlar (Parker ve diğerleri, 2004). Bulundukları mikro çevreye göre ve organizmada ihtiyaç olma haline bağlı olarak MKH'lerin biyolojik özellikleri ve fonksiyonlarında önemli değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bununla ilişkili olarak da bu hücrelerin izole edildikleri bölgeye göre değişik özellikler taşıyacağı ileri sürülmüş ve spesifik bir dokunun onarımı için o bölgeden elde edilen kök hücrelerin kullanımı gündeme gelmiştir (Koga ve diğerleri, 2008). Erişkin kök hücreleri kemik iliği, periost, kas, yağ, beyin ve deri dokularında bulunmaktadır. Somatik dokulardan elde edilen bu kök hücre kaynaklarında özellikle de MKH'ler önem kazanmıştır.

Kök hücrelerin bulundukları bölgelerdeki “niş”lerinden hasarlı dokuya doğru mobilizasyonu, migrasyonu gerekmektedir. Bunu sağlayan uyarının da hasarlı dokunun değişen mikro çevresinden geldiği gösterilmiştir. Hasarlı bölgede salınan solubl faktörlerden stromal derived faktör (SDF-1) ve kompleman C3 fraksiyonunun önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. Burada yüksek konsantrasyon gelişmesi sonucu oluşan gradient diğer bölgelerdeki kök hücrelerin

hasarlı bölgeye mobilizasyonu için bir uyarı oluşturmaktadır (Wynn ve diğerleri, 2004; Ratajczak, Reca, Wysoczynski, Yan ve Ratajczak, 2006).

2.5. Maksillofasiyal Bölgedeki Mezenkimal Kök Hücre Kaynakları

MKH'ler birçok dokudan elde edilebildiği gibi oral ve maksillofasiyal bölgenin çeşitli dokulardan elde edilebilir. Dişten elde edilen ilk kök hücreler kalıcı dişlerin pulpasından elde edilen diş pulpası kök hücreleridir (Gronthos, Mankani, Brahim, Robey ve Shi, 2000). Daha sonra çocuklukta fizyolojik olarak düşen süt dişlerinin pulpasından da benzer kök hücreler elde edilmiştir (Miura ve diğerleri, 2003). Bu hücrelerin yanı sıra kalıcı dişlerin apikal bölgelerinden apikal papilla kök hücreleri, diş kökünü tamamen saran sert bağ dokusundan periodontal ligament kök hücreleri, gelişmekte olan molar dişlerin dental foliküllerinden dental folikül öncü hücreleri, oral mukozadan oral mukoza kök hücreleri tanımlanmıştır.

Jo ve ark., insan dental dokularından ve mandibular kemik iliğinden izole ettikleri postnatal kök hücreleri birbirleriyle karşılaştırmışlar ve çalışmalarını optimum kültür koşulları sağlamak amacıyla 3 farklı vasatta gerçekleştirmişlerdir. Proliferasyon kapasitelerini değerlendiren çalışmalar pasaj 3'de yapılmış ve periapikal folikül dokusunun proliferasyon oranları ve kendini eşleyen popülasyon sayısı bakımından diğer dental kök hücre örneklerine göre üstünlükleri rapor edilmiştir (Jo ve diğerleri, 2007).

2.5.1. Dental pulpa kök hücreleri

Gronthos ve ark., gömülü yirmi yaş dişlerinden ekstirpe ettikleri dental pulpa dokusundan klonojenik ve yüksek proliferasyon yeteneğine sahip MKH'ler elde etmiş ve bunları kemik iliği kaynaklı MKH'lerin kolonileşme ve farklılaşma yeteneklerine göre kıyaslamışlardır. Bu çalışmaya göre DP-MKH'lerin, kemik iliği kaynaklı MKH'lere oranla daha fazla kolonileştiği, farklılaşma potansiyellerinin farklı olduğu ve hidroksiapatit/ trikalsiyum fosfat taşıyıcı matriks ile in vivo transplantasyonunda dentin-pulpa benzeri doku rejenerasyonu sağlayabildiği rapor edilmiştir (Gronthos ve diğerleri, 2000).

DP-MKH'ler, insanda mandibular defekt rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır (d'Aquino ve diğerleri, 2009). Yirmiyaş dişlerinin pulpasından elde edilen kök hücreler kollajenden zengin bir iskele üzerinde çoğaltıldıktan sonra defekt bölgesine uygulanmıştır. Operasyondan 3 ay sonra periodontal doku rejenerasyonu, 1 yıl sonra ise kemik rejenerasyonu gerçekleşmiştir.

Rejeneratif tedavide MKH'lerin kullanımına yönelik çalışmalar öncelikli olarak dental kaplama materyallerinin dental bölgede uygulandığı alandaki hücreler üzerine etki mekanizmalarına odaklanmıştır. Endodonti tedavilerinde rutin olarak kullanılan mineral tiroksit agregatların (MTA) dental pulpa hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. MTA'nın pulpa hücrelerinde inflamasyonu nuklear faktör κB yolağı üzerinden uyardığı rapor edilmiştir (Minamikawa ve diğerleri, 2009).

2.5.2. Süt dişi pulpası kök hücreleri

Eksfoliye süt dişinin pulpasından MKH eldesini ilk kez Masaka Miura ve ark., rapor etmişlerdir. Bu hücrelerin proliferasyon oranının, daimi diş pulpasından elde edilen hücrelerin proliferasyon oranından fazla olduğunu tespit etmişlerdir. *In vivo* ortamda, hidroksiapatit/ trikalsiyum fosfat tozla karıştırılan kök hücrelerin farelere uygulanmasıyla odontoblastlara farklılaşma yeteneklerinin olduğu rapor edilmiştir (Miura ve diğerleri, 2003).

2.5.3. Periodontal ligament kök hücreleri

Periodontal ligament yapısı içinde sementumu meydana getiren sementoblastların ve kemik rejenerasyonunu sağlayan osteoblastların olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Bu dokunun çevre doku rejenerasyonunda önemli rol oynaması, bölgede kök hücrelerin de olabileceğini akıllara getirmekteydi. Yapılan bir çalışmada gömülü yirmiyaş dişlerinden elde ettikleri periodontal ligament dokusundan yüksek proliferasyon özelliğine sahip, bazı MKH'lere spesifik antijenleri eksprese edebilen hücrelerin olduğunu belirtmişlerdir (Seo ve diğerleri, 2004).

Domuzda oluşturulan periodontitis modelinde allojenik ve otojenik olarak periodontal ligament kaynaklı kök hücreler periodontal dokunun rejenerasyonunu sağlamıştır (Ding ve diğerleri, 2010).

2.5.4. Dental folikül kök hücreleri

Kemik dokusunda devamlı bir remodeling gerçekleşmektedir. Morsczeck ve ark., insanlarda 20 yaş dişlerinden elde ettikleri dental folikül prekürsör hücreleri ilk olarak izole etmeyi başarmışlardır (Morssczeck ve diğerleri, 2005a). Aynı araştırmacılar izole ettikleri bu hücreleri tanımlamak için bir çalışma daha sunmuşlardır (Morssczeck ve diğerleri, 2005b). Bu çalışmada, 20 yaş dişlerinden elde ettikleri dental folikül dokusundan izole ettikleri hücrelerin farklılaşma potansiyelini değerlendirmek için pasaj 6 ve 17'deki örnekler kullanılmış ve 4-5 haftalık uzun dönem kültürlerde farklılaşma potansiyelleri değerlendirilmiştir. Lindroos ve ark., insan dental pulpa, periodontal ligament ve dental folikül dokusu kaynaklı MKH ve bukkal mukoza kaynaklı fibroblastlar üzerinde karakterizasyon çalışmaları yapmışlardır (Lindroos ve diğerleri, 2008). Dental pulpa, folikül ve periodontal ligament dokusundan izole edilen kök hücrelerin osteojenik farklılaşma gösterdiği ve alkaline fosfataz (ALP) aktivitesinin yüksek olduğu belirtilmiştir.

2.5.5. Oral mukoza kök hücreleri

Oral mukoza, oral epitel, lamina propria ve bağ dokudan oluşmaktadır. Gingival ve alveolar mukozanın lamina propriasından izole edilen mononükleer ve adherent hücreler yüksek derecede proliferedir ve kök hücre içermektedir (Marynka-Kalmani ve diğerleri, 2010). Oral mukozanın bağ doku kök hücreleri, pulpa ve periodontal ligamentin bağ doku kök hücrelerinden CD49d salınımının fazla olması ve osteojenik transkripsiyon faktörlerinin az salınımı ile ayrılmaktadır (Lindroos ve diğerleri, 2008).

2.5.6. Alveol kemiği kök hücreleri

Dental pulpa dokusu, kök apeksi yoluyla periodontal ligamente ve kemik iliğine bağlanmaktadır. Alveoler kemikten elde edilen mezenkimal kök hücreler, iliak

kemikten elde edilen MKH'lerle benzer şekilde *in vitro* ve *in vivo* olarak klonojenik ve osteojenik potansiyele sahiptir (Matsubara ve diğerleri, 2005). Ancak bu iki hücre tipi arasında birkaç farklılık bulunmaktadır. Mandibular MKH'ler, iliak krestten elde edilen MKH'lere oranla daha hızlı proliferasyon yapmakta, daha geç yaşlanmakta, alkalen fosfataz salınımını daha güçlü yapmakta ve *in vitro* kültüre edildiğinde daha fazla kalsiyum biriktirmektedir (Akintoye ve diğerleri, 2006). *In vivo* olarak transplante edildiğinde, uzun kemiklerden elde edilen MKH'ler mandibuladan elde edilen MKH'lere oranla daha fazla kemik iliği bölgesi oluştururken, mandibular MKH'ler daha fazla kemik oluşturmaktadır (Akintoye ve diğerleri, 2006).

Dental kök hücrelerin nörotrofik faktör üretme ve sekresyon yetenekleri, nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde ve hasar görmüş motor nöronların tamirinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Dental kök hücrelerden nöral markırların ekspresyonu ile nöral rejenerasyon potansiyelinin Parkinson hastalığının tedavisinde kullanımı düşünülebilir (Estrela, Alencar, Kitten ve Vencio, 2011).

2.6. Diş Hekimliğinde Rejeneratif Tedavilerin Gelişimi ve MKH'ler

Travma veya kanser vakalarında (Izumi, Tobita ve Feinberg, 2003) oromaksillofasiyal dokuların rekonstrüksiyonuna ek olarak periodontoloji ve implantoloji (Izumi ve diğerleri, 2011; Buser ve Tonetti, 1997) alanlarında periodontal hastalıklara bağlı gelişen alveolar kemikte ve periodontal dokularda oluşan defektlerin giderilmesinde rejeneratif tedaviler uzun zamandır kullanılmaktadır.

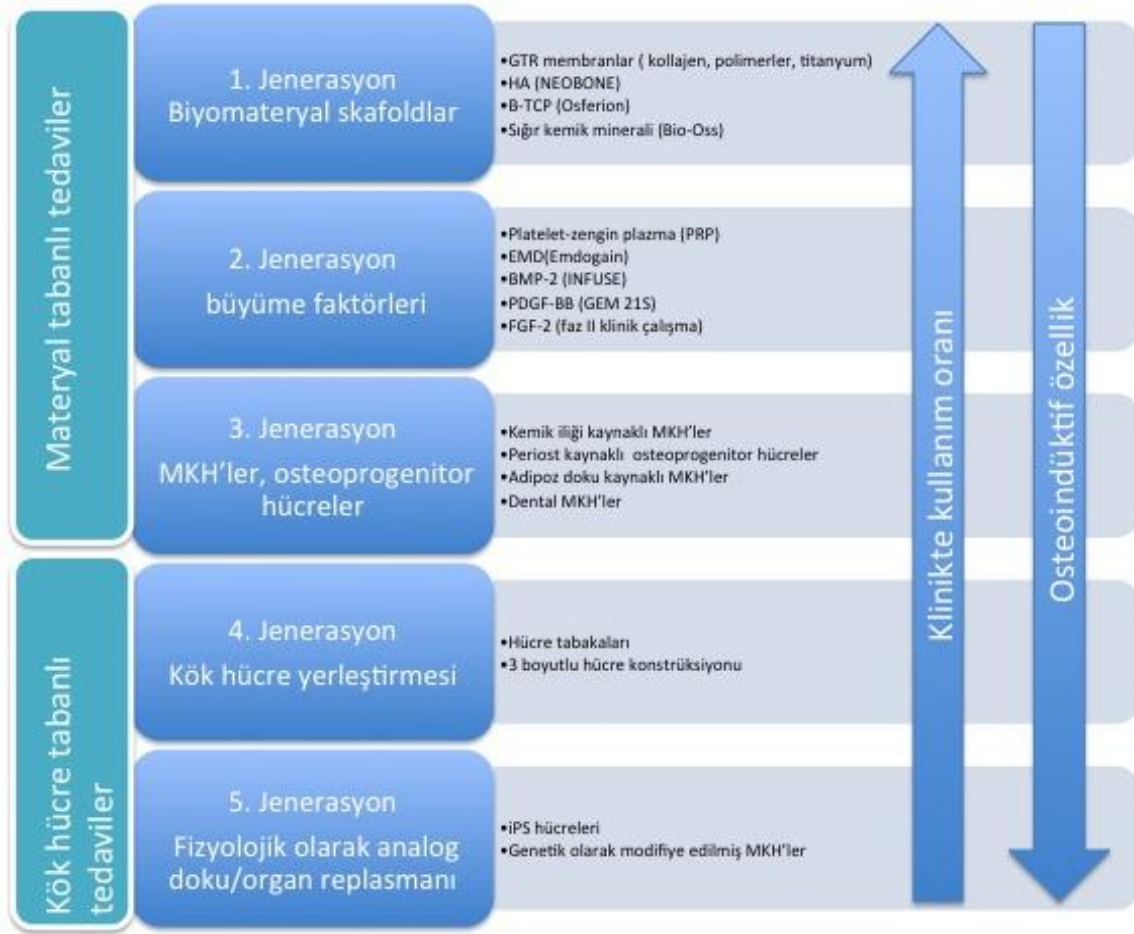
Rejeneratif periodontal/alveolar kemik tedavileri skafoldların kullanımını temel almaktadır. Bu yaklaşımın ilk jenerasyonunda osteokondüktif membranlar ve kemik greft materyalleri bölgede oluşması istenen dokuya desteklik sağlamak amacıyla kullanılır. İkinci jenerasyon, büyüme faktörleri gibi osteoindüktif özellikler içeren, defekt bölgesindeki dokunun oluşumunu direkt olarak arttıran materyalleri içermektedir. Bu iki jenerasyona ait tedavi yaklaşımları diş hekimliği klinik uygulamasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.1.).

Üçüncü jenerasyon rejeneratif tedaviler MKH tabanlı periodontal/alveolar kemik tedavilerini içermektedir. Bu ve bundan sonraki jenerasyon rejeneratif tedaviler üniversite hastanelerinde klinik araştırma uygulamalarında kullanımla sınırlıdır. Hücre tabakaları gibi hücre yerleştirme tekniklerinin (Iwasaki ve Medzhitov, 2009; Sasaki ve diğerleri, 2010) rejeneratif tedavileri dördüncü jenerasyon rejeneratif tedavileri oluşturmaktadır.

Gelecekteki beşinci jenerasyon yaklaşımının oral doku kaynaklı pluripotent kök hücrelerin (Egusa, Okita, Kayashima, Yu ve Fukuyasu, 2010; Tamaoki ve diğerleri, 2010) ve genetik olarak modifiye edilmiş kök hücrelerin kullanımı sonucu fizyolojik olarak oluşturulmak istenen doku/organın yerini analog olarak alabilen rejeneratif tekniğin olacağı düşünülmektedir.

Geleneksel doku mühendisliği konseptinde skafold, büyüme faktörleri ve kök hücrelerin kombine kullanımı rejeneratif tedavilerin başarı oranını arttırmaktadır (Langer ve Vacanti, 1993). Ancak bu uygulamaların klinik pratiğinde kabul edilebilirliği günümüzde materyal tabanlı uygulamalar (birinci ve ikinci jenerasyon) için yoğunken, hücre tabanlı uygulamalar (üç ve sonraki jenerasyonlar) için daha azdır. Bu amaçla kök hücre uygulamalarının klinik kullanımda daha geniş yer bulabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara gerek vardır (Egusa, Sonoyama, Nishimura, Atsura ve Akiyama, 2012).

Alkai ve ark. (2013)'nın tavşanlar üzerinde distraksiyon osteogenezi uyguladığı çalışmada, osteotomi aşamasında distraksiyon bölgesine süt dişlerinden elde edilen kök hücreler uygulanmış ve kemik rejenerasyonunda kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenmiştir (Alkai, İsmail, Ahmad, Masudi ve Rozak, 2013)



Şekil 2.2. Diş hekimliğinde rejeneratif tedaviler

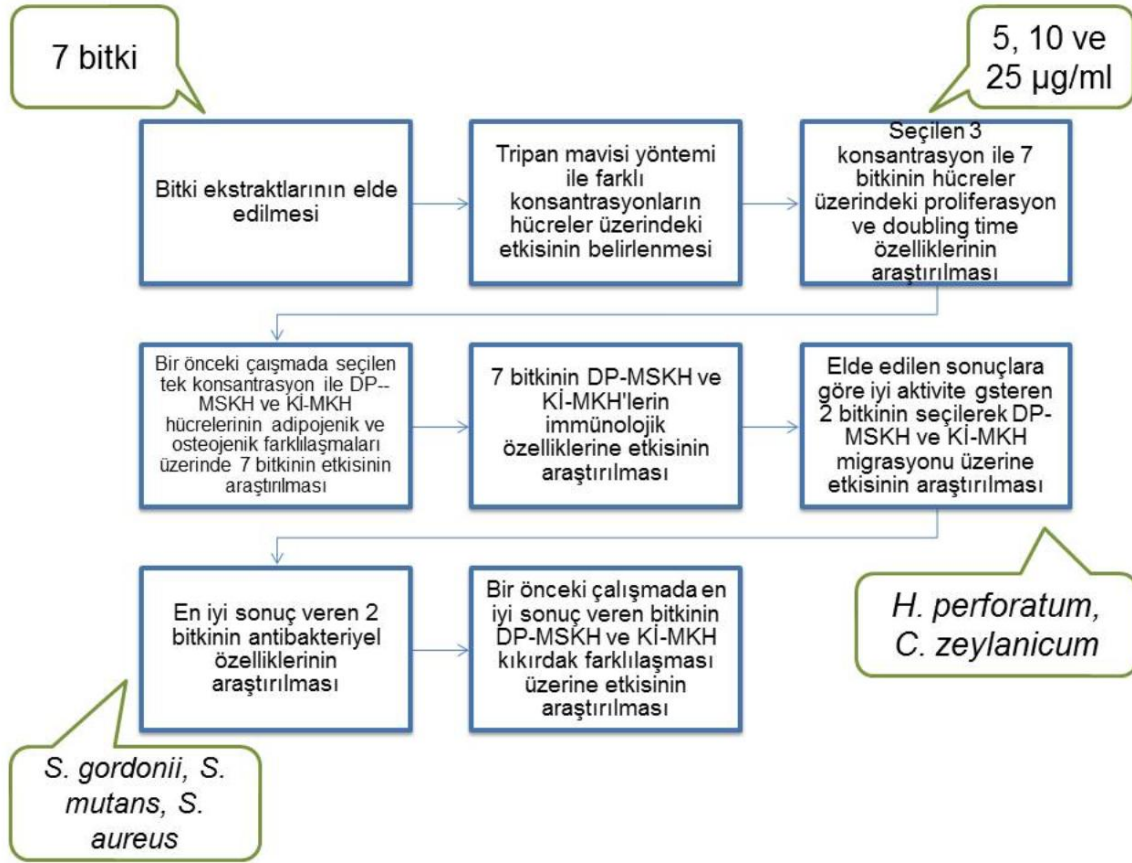
3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada gerçekleştirilen iş akışı Şekil 3.1.'de gösterilmektedir. Çalışmalar, Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi (PEDISTEM) ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD. laboratuvarlarında yapılmıştır.



Şekil 3.1. İş akışı

Çalışmada deney modeli aşağıdaki plana göre gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2.). Çalışmada başlangıçta belirtilen 7 farklı bitkiden iyi aktivite gösteren konsantrasyon ve türler seçilerek devam çalışmalara geçilmiştir.



Şekil 3.2. Çalışmada gerçekleştirilen deney modeli

Çalışma süresince sırası ile; canlılık üzerindeki en etkin konsantrasyon miktarı tripan mavisi ve xCelligence yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler, referans olarak kullanılan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler ile karşılaştırılmıştır. Adipojenik ve osteojenik farklılaşma ile immünolojik çalışmalarda 7 bitkinin etkinliği değerlendirilmiştir. Adipojenik, osteojenik ve immünolojik çalışmalarda en iyi etkiyi *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarında elde edilmiştir. Migrasyon ve antibakteriyel aktivite çalışmaları seçilen bu iki bitki üzerinde gerçekleştirilmiştir. En iyi sonucu veren *H. perforatum* kıkırdak farklılaşması çalışmasına alınmıştır.

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmada kullanılan hücreler

Etik kurul raporu (EK.NO.GÜB30.2.GÜN0.21.71.00) önceki çalışmalarda alınmış ve PEDISTEM kültür koleksiyonunda saklanan dental pulpa kaynaklı mezenkimal stromal kök hücreler (DP-MSKH) ile kontrol grubu olarak kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH) kullanılmıştır.

3.1.2 Araştırmada kullanılan hücre kültür vasatı

Hücre kültürlerinin geliştirilmesinde düşük glukozlu Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM-LG, Invitrogen) bazal vasat olarak kullanılmıştır. Hücre kültürü geliştirme vasatı içeriği Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Maddeler	ml
Fetal sığır serum (FBS)	10
Penisilin/streptomisin	1
L-Glutamin	1

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan hücre kültür vasadı

DMEM-LG ile 100 ml'ye tamamlanıp, 0,2 µm filtreden geçirilerek sterilizasyon sağlanmıştır.

3.1.3. Araştırmada kullanılan bakteriler

Araştırmada kullanılan bakteri suşları ticari firma aracılığı ile elde edilmiştir. Çizelge 3.2.'de yer almaktadır.

İzolasyon kaynağı	Kod	Tür adı
Subakut bakteriyel endokarditli hasta	ATCC 10558	<i>Streptococcus gordonii</i>
Çürük dentin	ATCC 25175	<i>Streptococcus mutans</i>
İnsan lezyonları	ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan bakteriler

3.1.4. Araştırmada bakteri kültürlerinin geliştirilmesi için kullanılan besiyerleri

Araştırmada bakterilerin geliştirilmesi için Brain Heart Infusion (BHI, Merck) ticari hazır sıvı besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 37 g/L tartılarak 1000 ml distile suya tamamlanmıştır. pH'sı 7,4 $\pm$ 0,2'ye ayarlanmıştır. Katı besiyeri hazırlamak için besiyerine %1,5 oranında Agar (Merck) ilave edilmiştir. Besiyeri 121°C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Doğal ekstraktların elde edilmesi

Toz haline getirilen bitki örnekleri soksalet aparatı kullanılarak renk açılıncaya kadar (yaklaşık 4-5 saat) etanol ekstraksiyonuna tabii tutulmuştur. Çalışmada, her örnek için, 15 gr örnek ve 300 ml %96'lık etanol (MERCK) kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstrakt filtre kağıdından (Whatman No:1) süzölmüş ve etanol evaporatörden uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar son konsantrasyon 100 mg/ml olacak şekilde 1/1 (v/v) etil alkol/bidistile su karışımında çözülmüş, +4°C'de koyu renkli ve kapaklı cam şişelerde saklanmıştır.

3.2.2. Hücre kültürü geliştirilmesi

DP-MSKH'lerden 4 ayrı örneğe ait örnekler çözülüp sayımı yapılarak 25 cm²'lik kültür kapları (T25) (Greiner Bio-One, Germany) içerisine 5x10³ hücre /cm² yoğunluğunda kültüre konulmuş ve 5 ml kültür vasatı ilave edilmiştir (Bkz. Madde 3.1.2). Hücre kültürleri %5 CO₂ içeren 37°C'li ve %95 nemli inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Her 3 günde bir kültür vasatı değiştirilerek hücreler kültür kabı yüzeyinin %70-80'ini kaplayana kadar vasat değişimine devam edilmiştir. Hücreler yeterli yoğunluğa ulaştığında %0,25 tripsin-EDTA ile tripsinize edilerek uygun solüsyon içerisine alınmış ve ileri pasajlara devam edilmiştir. Çalışma süresince hücrelerin pasajı 3-6 arasında değişmiştir.

3.2.3. Bakterilerin aktifleştirilmesi ve gelişme ortamları

Bakteri suşlarının geliştirilmesi ve aktifleştirilmesinde BHI sıvı besiyerleri kullanılmıştır. *S. aureus* ATCC 6538 37 ±0,1°C'de aerobik ortamda 18-24 saat, *S. mutans* ATCC 25175 ve *S. gordonii* ATCC 10558 ise 37±0,1°C'de anaerobik ortamda 24-48 saat inkübe edilmiştir.

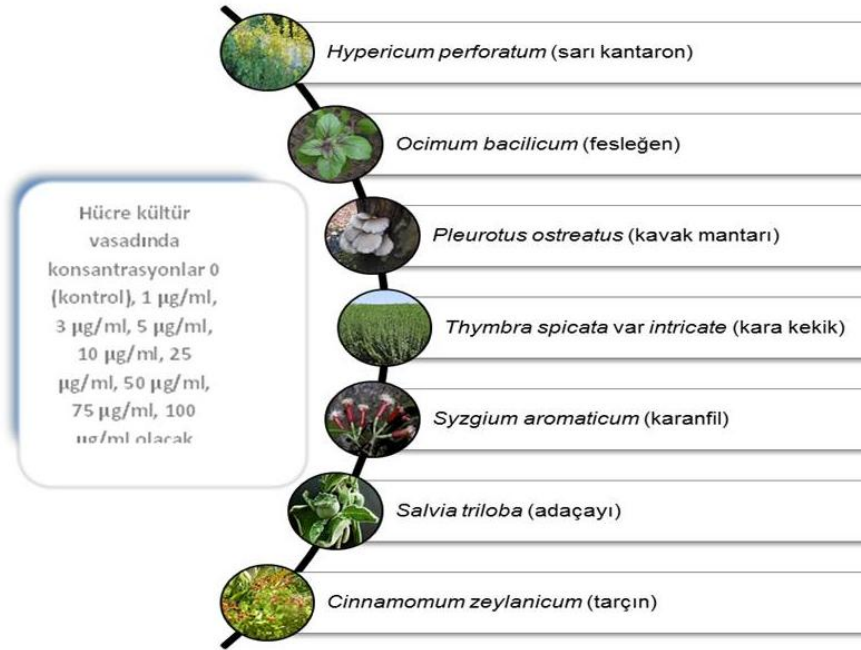
3.2.4. Doğal ekstraktların sitotoksitelerinin ve mezenkimal kök hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması

Doğal ekstraktların DP-MSKH sitotoksitite ve proliferasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 7 farklı doğal ekstrakt ve kullanılan değişen konsantrasyonlar Şekil 3.3.'de gösterilmektedir.

Doğal ekstraktların DP-MSKH canlılığı üzerindeki etkisi iki aşamalı olarak araştırılmıştır. En iyi etkinlik gösteren konsantrasyon tripan mavisi yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemle göre belirlenen en iyi konsantrasyon ile, o konsantrasyonun üst ve alt konsantrasyonlarının proliferasyon üzerine etkisi ve ikiye katlanma süresi xCelligence yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

a. Sitotoksik etki varlığının araştırılması: Doğal ekstraktların DP-MSKH üzerinde sitotoksik etkisinin olup olmadığını ve devam çalışmalarında kullanılacak en etkin konsantrasyonu belirlemek amacı ile tripan mavisi ile canlılık analizi yapılmıştır.

Buna göre 24 kuyulu mikroplakaya, 5×10^3 h/cm² olacak şekilde ekilen hücreler, 7 doğal ekstraktın farklı konsantrasyonlarını içeren hücre kültür vasatı ile muamele edilmiştir. Kontrol grubu olarak belirlenen doğal ekstrakt içermeyen kültür vasatında gelişen hücreler tam yayılım gösterdiğinde çalışma sonlandırılmıştır.



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan doğal ekstraktlar

b. Seçilen konsantrasyonlar ile proliferasyon üzerindeki etkinin araştırılması:

xCelligence sistemi üretici firmanın yönergeleri takip edilerek kullanılmıştır (ROCHE Diagnostikc, 2008) Sistem 4 ana birimden oluşmaktadır: (i) RTCA analizatörü, (ii) RTCA SP istasyonu, (iii) entegre yazılım ile RTCA bilgisayar ve (iv) tek kullanımlık atılabilir E-plate 96. Standart kültür kabını taşıyan RTCA SP istasyonu inkübatör içinde yer alırken analizatör ve dizüstü bilgisayar dışarıda yer almaktadır. xCelligence sisteminin merkezi e-plate 96 olup tek kullanımlıktır. E-plate 96 bilinen 96 kuyulu mikroplakalara benzemekle birlikte tabanında içerdiği hücrelerin takip edilmesini sağlayan altın hücre sensör arrayler ile farklılık göstermektedir. E-plate 96 buharlaşmanın düşük olmasını sağlayan kapağa sahiptir. Her kuyunun taban alanı $5.0 \text{ mm} \pm 0.05 \text{ mm}$ olup toplam hacmi $243 \pm 5 \mu\text{l}$ 'dir. Her kuyunun taban alanı yaklaşık olarak %80'i elektrotlar ile kaplıdır. Elektrotlar $+15$ - $+40^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığı ve %98 neme dayanıklıdır. Elektrot

sensörlerinin elektronik empedansları, elektrotlar üzerinde yer alan hücrelerin fizyolojik değişikliklerinin belirlenmesi ve izlenmesine imkan vermektedir. Hücrelerin yokluğunda elektrot empedansı hem elektrot/solüsyon ara yüzündeki hem de bulk solüsyonundaki iyon ortamı tarafından belirlenmektedir. Bundan dolayı elektrotlar üzerinde daha fazla gelişen hücreler daha fazla elektrot empedansı verecektir. RTCA ilişkin yazılım, ortalama değerleri, maksimum ve minimum değerler, standart sapmalar, EC50, IC50, hücre indeksi gibi parametreleri elde ederek grafik haline dönüştürmektedir. CI birim cinsinden açıklanan veriler Excel biçimine aktarılabilir.

E-plate 96 kuyularına 50 µl kültür vaseden eklenmiştir. E-plate 96 sisteme entegre edilmiş ve inkübatör içinde elektrik temasının sağlandığından ve background empedansın varlığı belirlenmiştir. DP-MSKH'ler 5000 hücre/ml olacak şekilde, tripan mavisi çalışmasının sonucunda belirlenmiş farklı üç konsantrasyon 5, 10 ve 25 µg/ml doğal ekstraktlarla birlikte kuyulara aktararak inkübatöre alınmıştır. Hücre proliferasyonları 10 gün boyunca her 30 dk bir alınan ölçümlerle belirlenmiştir. Farklı nişlerdeki etkinliği karşılaştırma yapmak amacı ile çalışmada kemik iliği (Kİ) kaynaklı MKH'ler kullanılmıştır.

3.2.5. Doğal ekstraktların MKH farklılaşması üzerindeki etkisi

Çalışma xCelligence sistemi kullanılarak yapılan çalışmanın sonucuna göre belirlenen konsantrasyon (10 µg/ml) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı nişlerdeki etkinliği karşılaştırma yapmak amacı ile çalışmada Kİ-MKH'ler kullanılmıştır. Çalışmada pasaj (P) 4 ve P5 hücreler kullanılmıştır

a. Yağ hücre farklılaşması: Altı kuyucuklu doku kültür kaplarında %90-100 oranında tam yayılım olana kadar geliştirilmiş DP-MSKH ve Kİ-MKH'ler, Pittenger ve ark.'ının (1999) metoduna göre yağ hücre farklılaşmasına yönlendirilmiştir. Hücrelerdeki nötral lipidler için spesifik olan Oil Red O boyası ile boyanarak farklılaşan hücreler morfolojik olarak tespit edilmiştir (Pittenger ve ark., 1999).

b. Odontoblastik/Osteojenik hücre farklılaşması: Altı kuyucuklu (doku kültür kaplarında %80 oranında tam yayılım olana kadar geliştirilen DP-MSKH ve Kİ-

MKH'ler Pittenger ve ark.'ının metoduna göre hücre farklılaşmasına yönlendirilmiştir. Farklılaşan hücreler Alizarin Kırmızısı S boyası ile boyanan kalsiyum fosfat depolarının tespiti belirlenmiştir (Pittenger ve diğerleri, 1999). Kalsiyum granüllerinin miktarı DICA 500 KİT'i ile spektrofotometrik olarak üretici firmanın yönergeleri takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Ayrıca osteokalsin ve osteonektin miktarları ELISA KİT yöntemi ile belirlenmiştir.

c. Kıkırdak hücrelerine farklılaşma: Hücreler, Shizuko ve ark.'ının yöntemine göre kıkırdak farklılaşması yönünde uyarılmıştır. Farklılaşma sonrasında histolojik incelemeler için 5 µm kalınlığında frozen kesitler alınmıştır. Alınan kesitler Alsiyan mavisi ile boyanarak farklılaşma potansiyeli belirlenmiştir (Shizuko, Motoki, Takeshi ve Ichiro, 2005). Çalışma kemik farklılaşması, migrasyon, immünolojik ve antibakteriyel etkiler açısından en iyi sonuç veren doğal ekstrakt kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

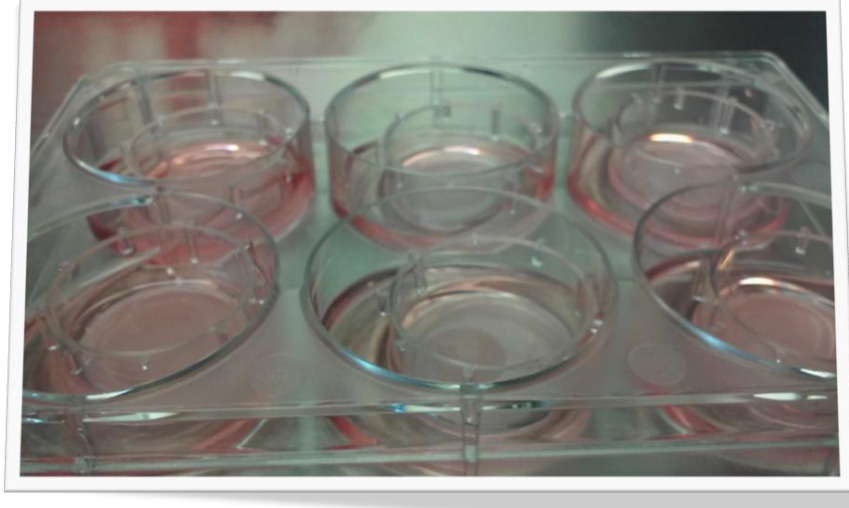
3.2.6. Doğal ekstraktların inflamasyon yanıt üzerindeki etkileri

In-vitro ortamda bitki ekstraktları ile muamele edilen hücrelerin proinflamatuvar, immüdüzenleyici ve antiinflamatuvar sitokin salınımı üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla geliştirilmiştir. Bitki ekstraktlarının herhangi bir uyarım olmadan ve TNF-α ile uyarıldığı zaman inflamasyon yanıtı önleyici etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Sitokinler ELISA KİT yöntemi ile ticari firmanın yönergelerine göre belirlenmiştir. Doğal ekstraktların antiinflamatuvar yönde koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için doğal ekstraktlar ile 1 saat muamele edildikten sonra TNF-α (10 ng/ml) ile uyarılarak 24 saat inkübasyona alınmıştır. Süre sonunda kültür supernatantları alınarak ELISA sistemleri ile IL-1, IL-6, IL-10, IL-17 ve TGF-β varlığı açısından araştırılmıştır (Zaidi ve diğerleri, 2012).

3.2.7. Doğal ekstraktların MKH migrasyon yeteneği üzerine etkisi

Migrasyon yeteneği, 6.5 mm çapında 8µm porlu filtreler içeren transwell migrasyon plaklarda gerçekleştirilmiştir (Resim 1) (Corning Costar, Cambridge, MA). 1 ml 5×10^4 sayıda MKH filtrenin üst tarafına yerleştirilerek doğal ekstrakt içeren 600µl

migrasyon vasadı filtrenin alt tarafına yerleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak, migrasyonda uyarıcı etkisi olduğu bilinen 10 ng/ml TNF- α kullanılmıştır (Zhu ve ark., 2014). Bir gece inkübasyon sonunda filtrenin alt bölmesine geçen hücreler tripan mavisi yöntemi ile sayılmıştır (Ponte ve diğerleri, 2007).



Resim 3.1. Migrasyon çalışması deney düzeneği

3.2.8. Antibakteriyel etkinin belirlenmesi

Elde edilen verilere göre seçilen *C. zeylanicum* ve *H. perforatum* ekstraktları çalışmada kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite, disk difüzyon ve MİK (Minimum inhibisyon konsantrasyonları) metotları kullanılarak tespit edilmiştir.

- a. Antibiyotik disklerin hazırlanması: 100 mg/ml'lik etanolik ekstraktlardan, 6 mm/çapındaki steril boş antibiyotik disklerle (Oxoid), mikropipet yardımıyla 20 μ l emdirilmiştir. Kontrol olarak 1/1 (v/v) oranında hazırlanmış steril etil alkol/bidistile su karışımı kullanılmıştır. Karşılaştırmak amacıyla standart antibiyotik olarak Amoksisilin diski (10 μ g) kullanılmıştır.
- b. Antibakteriyel aktivitenin tespiti: Ekstraktların bakteriler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon (Bauer, Kirby, Sherris ve Turck 1966; Collins, Lyne ve Grange 1995; Murray, Baron ve Pfaller, 1995) ve mikrodilüsyon yöntemleri (Wikler ve diğerleri, 2006) kullanılmıştır.

- c. Disk difüzyon yöntemi: Geliştirilen bakteriler ve 0,5 McFarland standart bulanıklığına ulaşan sıvı kültürlerden, 9 cm çapındaki petri kutularında hazırlanmış Brain Heart Infusion Agar (BHIA) besiyerine, mikropipet yardımıyla 100'er µl aktarılmış ve yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Daha sonra bitki ekstraktları emdirilmiş diskler agar üzerine uygun şekilde yerleştirilmiştir. *S. aureus* 37 ±0,1°C'de aerobik ortamda 18-24 saat, *S. mutans* ve *S. gordonii* ise 37 ±0,1°C'de, anaerobik ortamda 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, besiyeri üzerinde disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülmüştür. Karşılaştırmak amacı ile Amoksisilin diski (10 µg) aynı şekilde kullanılmıştır. Çalışmaların tamamı üç paralel olarak yürütülmüştür.

Mikrodilüsyon metodu: Bitki ekstraktlarının çalışmada kullanılan test bakterilerine karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri, broth mikrodilüsyon metoduna göre tespit edilmiştir (Wikler ve diğerleri, 2006). Ekstraktların seri solüsyonları düz tabanlı 96 kuyulu steril hücre kültür mikrolakaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test besiyeri olarak BHIB kullanılmış ve her test bakterisi için 5×10^5 cfu/ml konsantrasyonda bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. İlk sırada sadece besiyeri, ikinci sırada besiyeri+ bakteri, üçüncü sırada besiyeri+çözgen olmak üzere diğer sıralarda elde edilen ekstraktların final konsantrasyonlarını (100, 50, 25, 10, 5 ve 1 mg/ml) içeren besiyeri+bakteri süspansiyonları kuyucuklara eklenmiş ve 37 ±0,1°C'de 24-48 saat inkübe edilmiş bakteriyel üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlenmiştir. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Karşılaştırmak amacıyla standart antibiyotik olarak amoksisilin (50, 25, 10, 5, 1 ve 0,5 mg/ml konsantrasyonda) kullanılmıştır. MİK ölçümleri Mikroplaka okuyucu (Thermo Scientific Multiskan FC, Vantaa, Finlandiya) cihazında 590 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

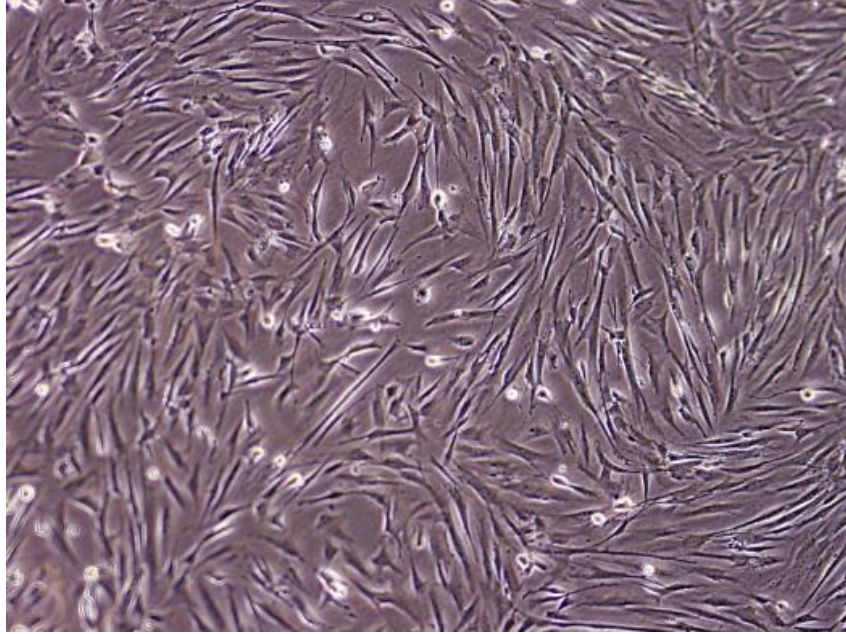
3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemleri

Bu çalışmada elde edilen veriler, Kruskal Wallis analizi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup, $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Mezenkimal Kök Hücrelerin (MKH) Geliştirilmesi

Önceki çalışmalarda B.30.2.GÜN.0.20-122 sayılı GÜ Etik Kurul Raporu alınmış 03/2012-21 nolu GÜ-BAP projesinde gerçekleştirilen izolasyonlar ile elde edilerek PEDISTEM Hücre Kültür Koleksiyonu'nda saklanan dental pulpa mezenkimal stromal kök hücreleri (DP-MSKH) kullanılmıştır. Pasaj 3-6 arasındaki hücreler kullanılmıştır (Resim 4.1).



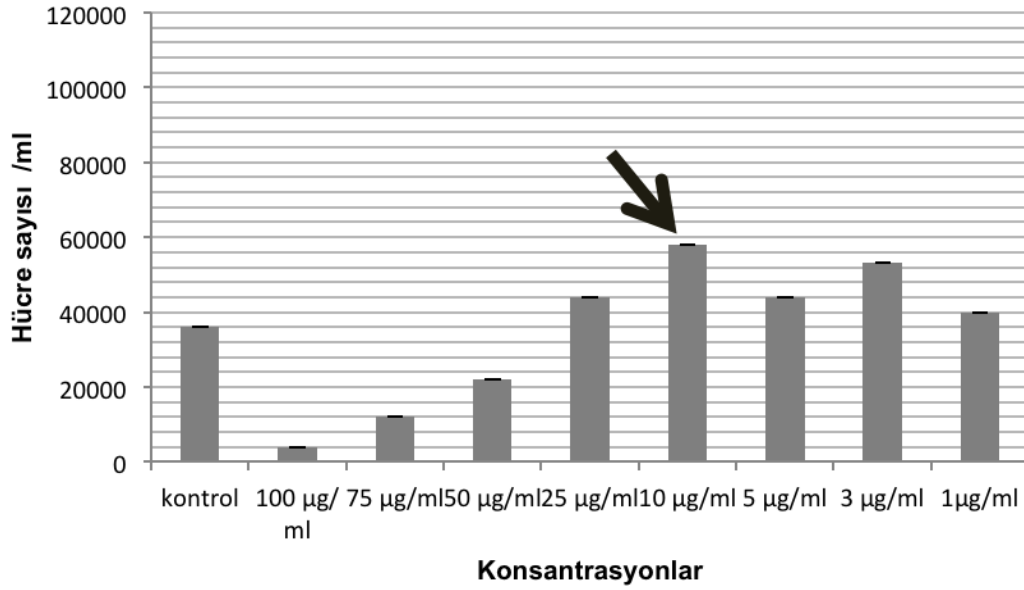
Resim 4.1. DP-MSKH, pasaj 4 geliştirilmiş hücreler (10x, Olympus CKX40, Japan)

4.2. Doğal Ekstraktların Mezenkimal Kök Hücre Proliferasyonu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

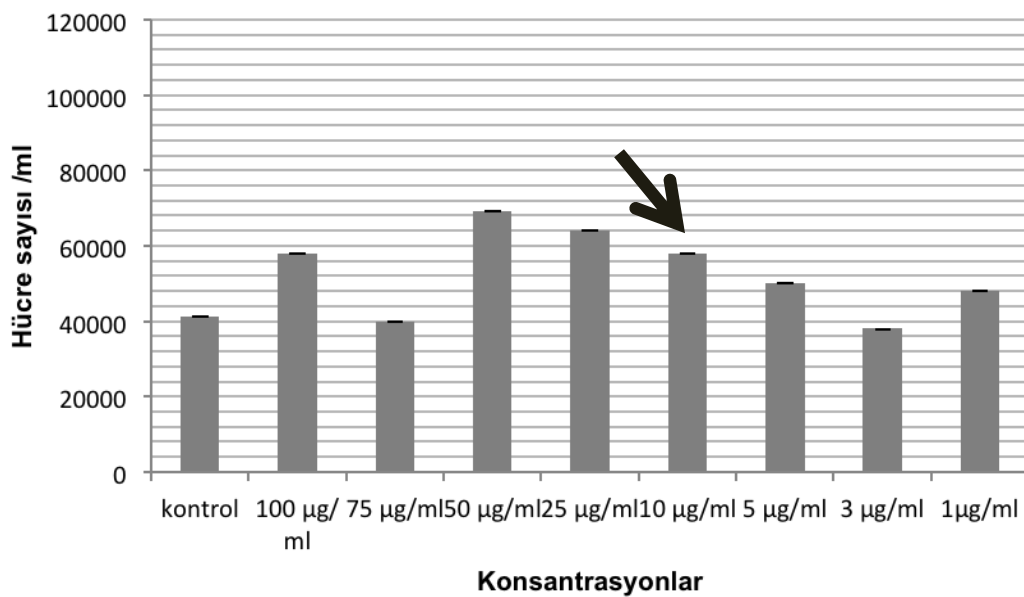
a. Sitotoksik etki varlığının araştırılması:

Farklı doğal ekstraktların DP-MSKH üzerinde sitotoksik etkisinin olup olmadığı tripan mavisi yöntemi ile araştırılmıştır (Şekil 4.1- 4.7). Çalışmada kontrol grubu hücreleri ortalama 6-7 günde tam yayılıma ulaşmıştır. Kontrol grubunun tam

yayılma gösterdiği gün hücreler tripsinize edilmiş ve hücre sayısı hesaplanmıştır. *H. perforatum* ekstraktında 10 µg/ml'ye kadar düzenli bir artış ya da azalma görülmezken 10 µg/ml'den sonra konsantrasyon artışına ters oranda hücre sayısında kontrol grubuna göre azalma belirlenmiştir (Şekil 4.1.). *O. basilicum* ekstraktında 10-50 µg/ml arasında hücre sayısında artış belirlenmiştir (Şekil 4.2.).

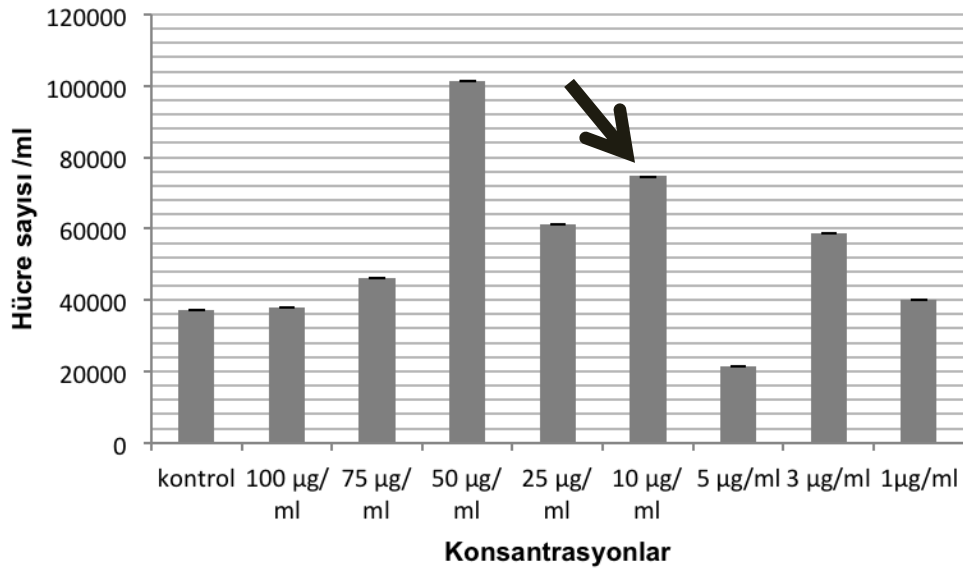


Şekil 4.1. *H. perforatum*'un metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi.

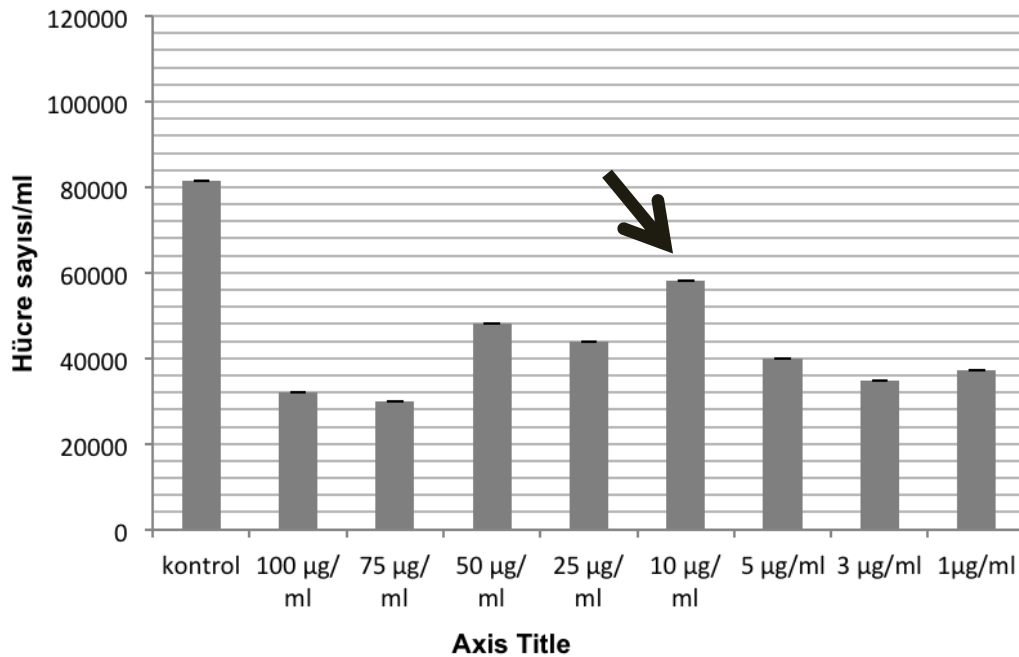


Şekil 4.2. *O. basilicum*'un metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi

P. ostreatus ekstraktında 100 µg/ml konsantrasyon'a kadar kontrol grubu ile aynı sayıda ya da daha fazla (50, 25, 10 µg/ml) sayıda hücre olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3.). *T. spicate var. intricate* ekstraktında 10 µg/ml konsantrasyon hücre canlılığının en iyi görüldüğü konsantrasyon olup, artan konsantrasyonlarda hücre sayısı azalmıştır (Şekil 4.4.).

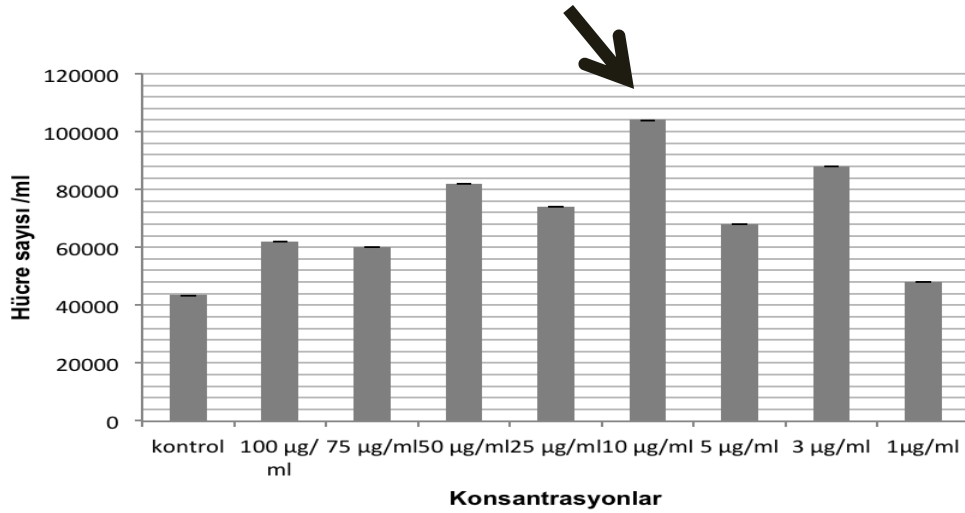


Şekil 4.3. *P. ostreatus*'un metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi

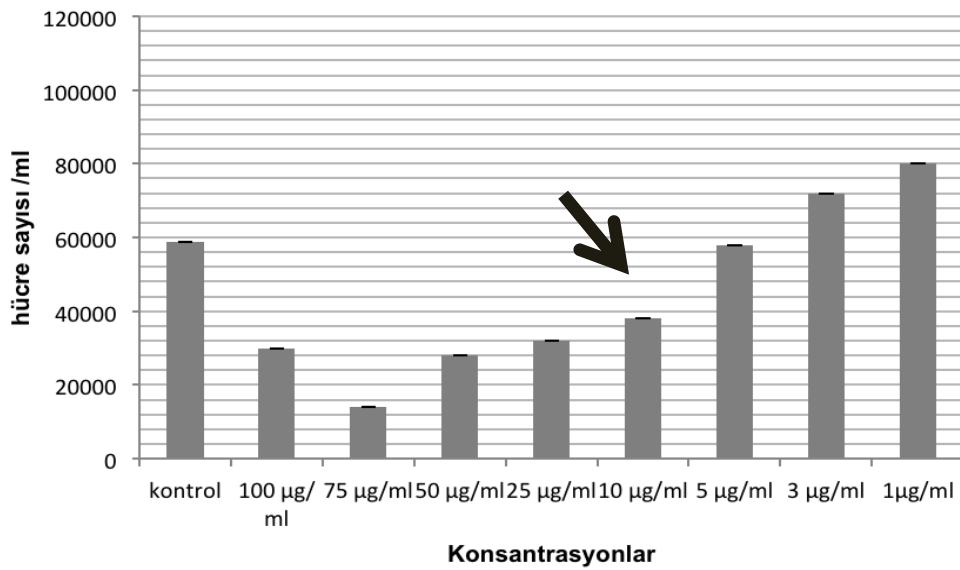


Şekil 4.4. *T. spicate var. intricate*'nin metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi

S. aromaticum ekstraktı, hücre sayısını en çok arttıran ekstrakt olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5.). *S. triloba* ekstraktında konsantrasyon arttıkça canlı hücre sayısının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.6.).



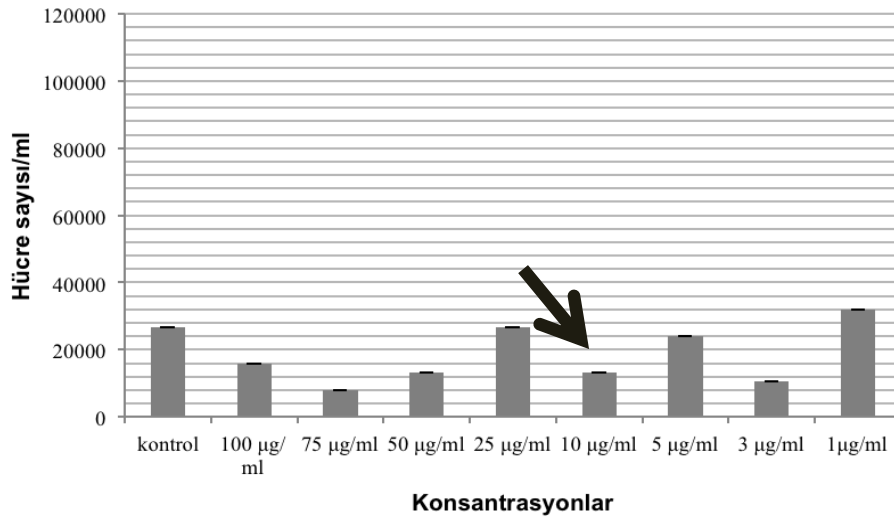
Şekil 4.5. *S. aromaticum*'un metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi



Şekil 4.6. *S. triloba*'nın metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi

C. zeylanicum ekstraktı hücre canlılığını negatif yönde etkilemiştir. Kontrol grubuna göre hücre sayısı az olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7.). Devam çalışmalarda kullanılacak konsantrasyon seçilirken hücre sayısının kontrol grubuna yakın olması tercih edilmiştir. Konsantrasyon arttıkça hücre sayısının arttığı görülen

gruplarda (*O. bacilicum*, *P. ostreatus*) hücre sayısının artmaya başladığı en düşük konsantrasyon seçilmiştir. Buna göre DP-MSKH üzerinde en iyi etki gösteren konsantrasyon, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 10 µg/ml olduğu görülmüş ve xCelligence çalışmasına 5, 10 ve 25 µg/ml konsantrasyonların uygulanmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.7. *C. zeylanicum*'un metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının DP-MSKH canlılığı üzerinde etkisi

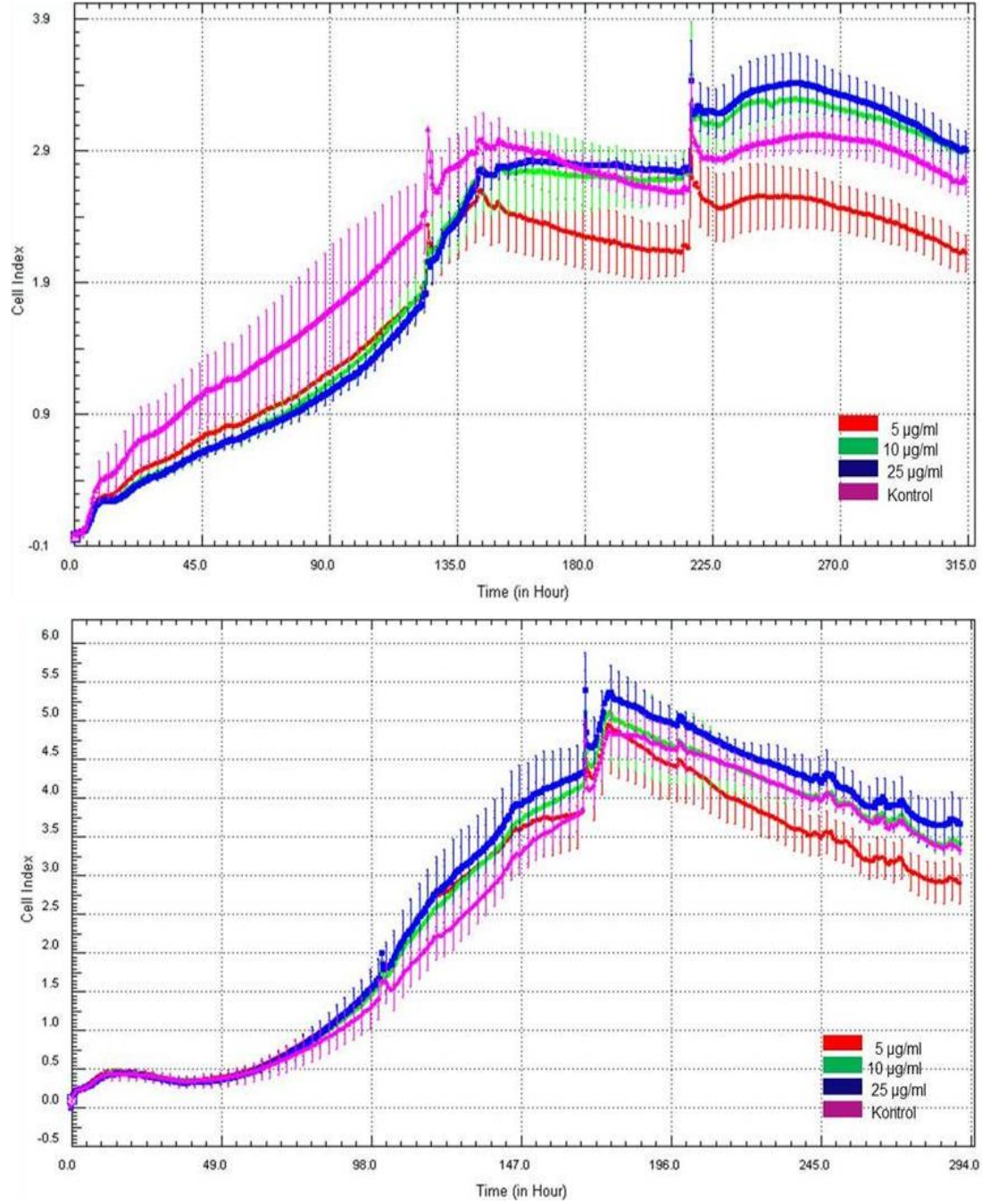
b. Seçilen konsantrasyonlar ile proliferasyon üzerindeki etkinin araştırılması: Bir önceki çalışmada belirlenen doğal ekstrakt konsantrasyonlar ile DP-MSKH ve Kİ-MKH hücreleri muamele edilmiş ve 12-13 gün süresince 30 dk'da bir alınan ölçümlerle eş zamanlı olarak hücre proliferasyonları gözlenmiştir. Analizlerde proliferasyon grafikleri ve ikiye katlanma süresi (Şekil 12-25) ile EC50 (Çizelge 1) değerleri hesaplanmıştır.

Maksimum etkinin %50'sini oluşturan konsantrasyon olan EC50 değeri ekstraktlarda 24, 120 ve 240. saatler olmak üzere farklı saatler için hesaplanmıştır (Çizelge 4.1.). *H. perforatum* ekstraktında DP-MSKH'lerde 24. saatte EC50 değeri 8,8 µg/ml iken, 120. saatte 2,4 µg/ml'ye düştüğü, 240. saatte 8 µg/ml'ye yeniden yükseldiği belirlenmiştir. Aynı ekstraktın Kİ-MKH'lerde EC50 değerinin 1 µg/ml (24. saat) olduğu, 120. saatte yaklaşık olarak 2 µg/ml'ye yeniden yükseldiği belirlenmiştir. *C. zeylanicum* ekstraktının EC50 değerinin yaklaşık olarak 2 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerin EC50 değerleri

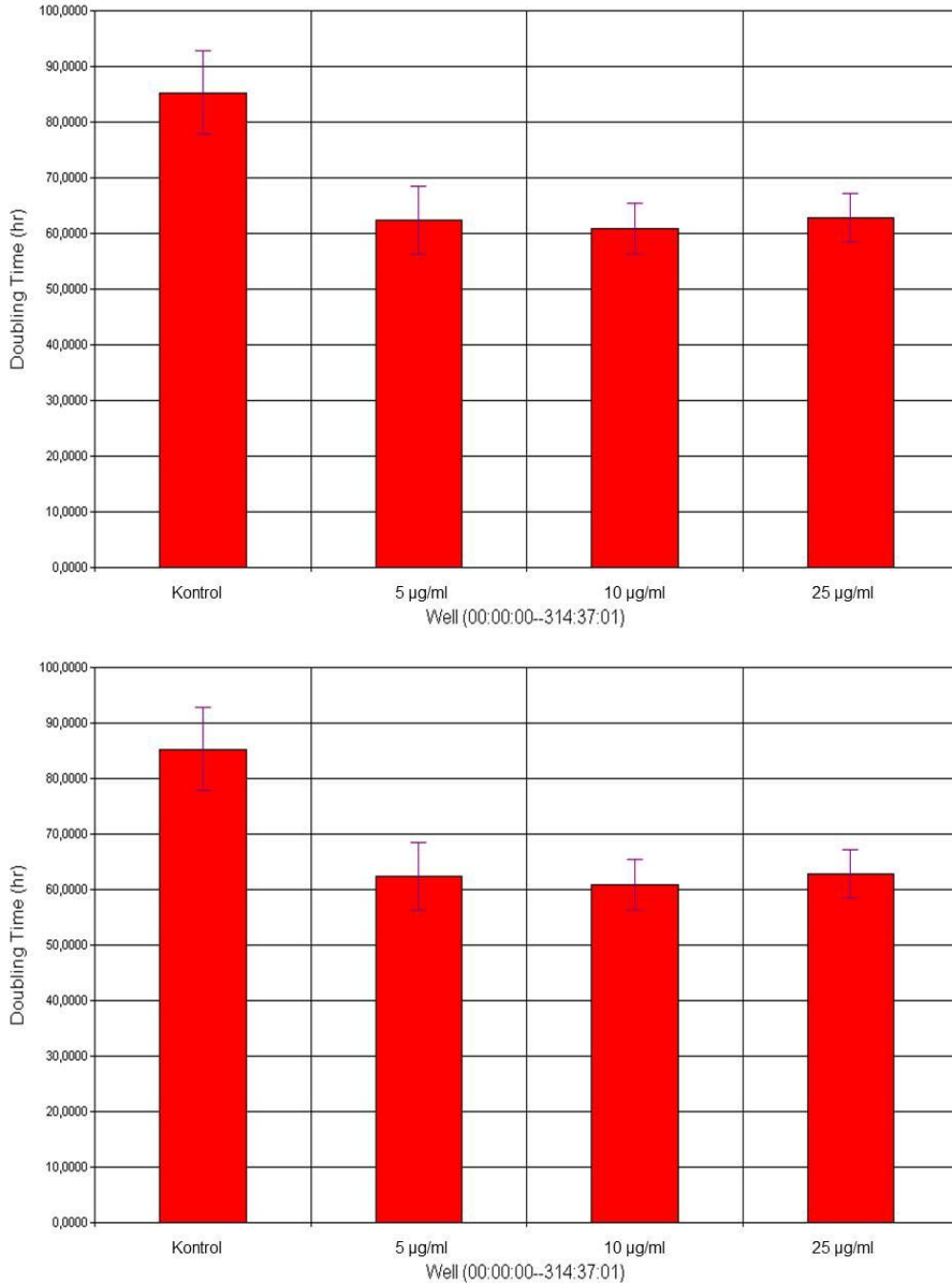
	Saat	DP-MSKH EC50 (g/ml)	Kİ-MKH EC50 değeri (g/ml)
<i>H.perforatum</i>	24s	$8,8 \times 10^{-6}$	1×10^{-6}
	120s	$2,4 \times 10^{-5}$	$1,8 \times 10^{-7}$
	240s	$8,0 \times 10^{-6}$	1×10^{-6}
<i>O. bacilicum</i>	24s	$2,2 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-5}$
	120s	$2,4 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-1}$
	240s	$2,4 \times 10^{-5}$	1×10^{-6}
<i>P. ostreatus</i>	24s	$5,4 \times 10^{-6}$	$2,8 \times 10^{-3}$
	120s	$5,2 \times 10^{-6}$	$4,5 \times 10^{-2}$
	240s	$8,7 \times 10^{-6}$	$1,4 \times 10^{-3}$
<i>T. spicata</i> var. <i>intricate</i>	24s	$8,7 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-6}$
	120s	$5,1 \times 10^{-6}$	$3,1 \times 10^{-4}$
	240s	$5,5 \times 10^{-6}$	1×10^{-6}
<i>S. aromaticum</i>	24s	$5,4 \times 10^{-6}$	$2,9 \times 10^{-1}$
	120s	$1,1 \times 10^{-5}$	$6,1 \times 10^{-5}$
	240s	$1,1 \times 10^{-5}$	$5,2 \times 10^{-6}$
<i>S. triloba</i>	24s	$5,1 \times 10^{-6}$	$6,6 \times 10^{-7}$
	120s	$2,2 \times 10^{-5}$	$1,8 \times 10^{-2}$
	240s	$5,2 \times 10^{-6}$	$6,3 \times 10^{-5}$
<i>C. zeylanicum</i>	24s	$2,1 \times 10^{-5}$	$7,8 \times 10^{-5}$
	120s	$5,2 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-2}$
	240s	$2,2 \times 10^{-5}$	1×10^{-6}

H. perforatum ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerin proliferasyonu üzerindeki etkisi Şekil 4.8.a ve 4.8.b'de gösterilmiştir.



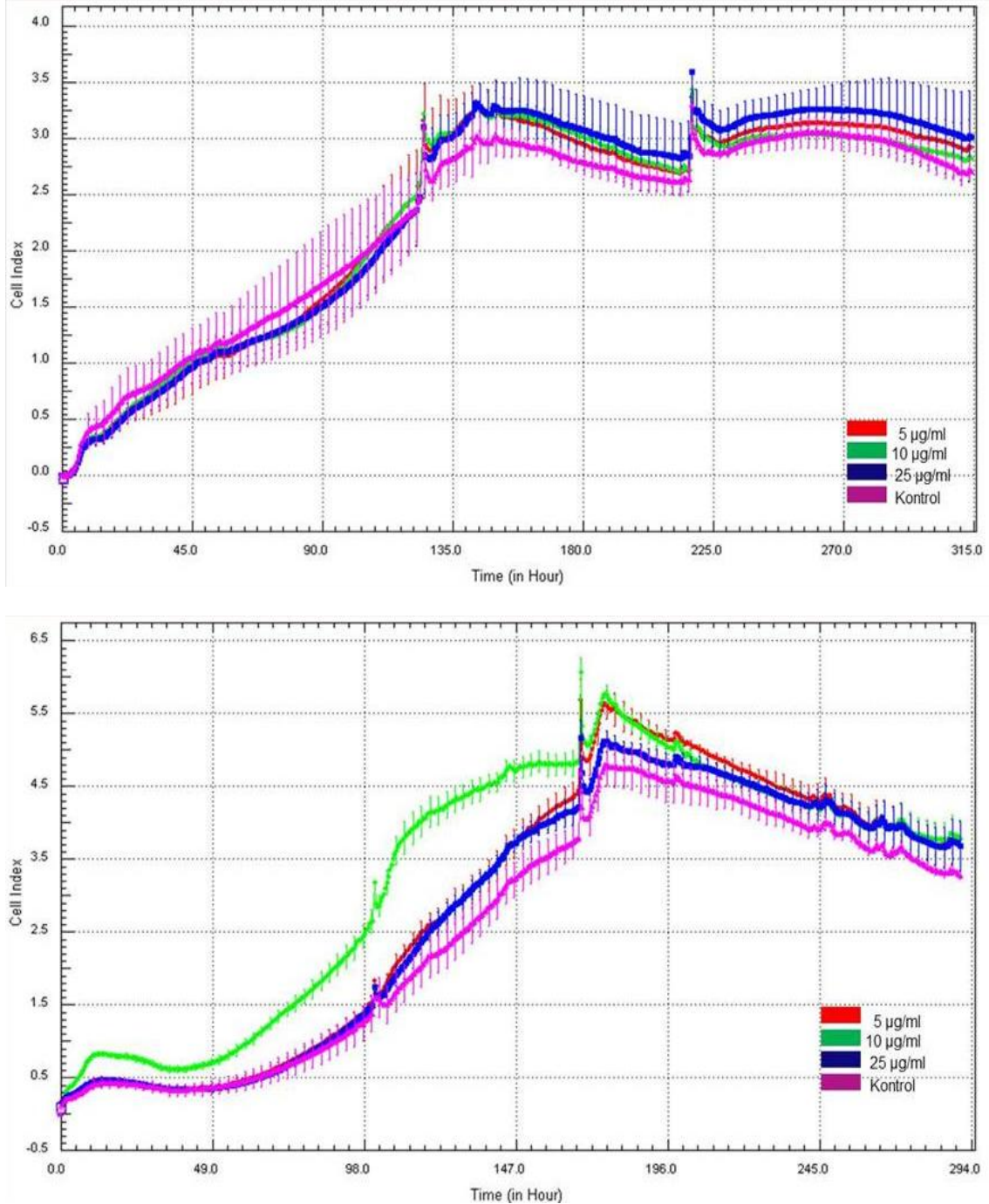
Şekil 4.8. *H. perforatum* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a) Hücrelerin kontrol grubuna göre daha az sayıda adezyon gösterdiği, ancak tam tutunmanın olmasını takiben konsantrasyona göre proliferasyon olduğu görülmüştür. Buna göre 25 ve 10 µg/ml *H. perforatum*'a maruz bırakılan hücrelerin sayılarını 5. günden itibaren kontrol grubuna göre arttırdığı görülmüştür. (b) Kİ-MKH'lerin adezyonunun *H. perforatum* ekstraktından etkilenmediği görülmektedir. En iyi konsantrasyonun 25 ve 10 µg/ml olduğu bu grupta da görülmüştür. Ancak hücre sayısındaki azalmanın DP-MSKH'lere göre daha erken başladığı tespit edilmiştir.

Hücre popülasyonunun ikiye katlanma süresi *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH'lerde kontrol grubuna göre düştüğü (Şekil 4.9.a) Kİ-MKH'lerde hemen hemen aynı olduğu görülmektedir (Şekil 4.9. b).



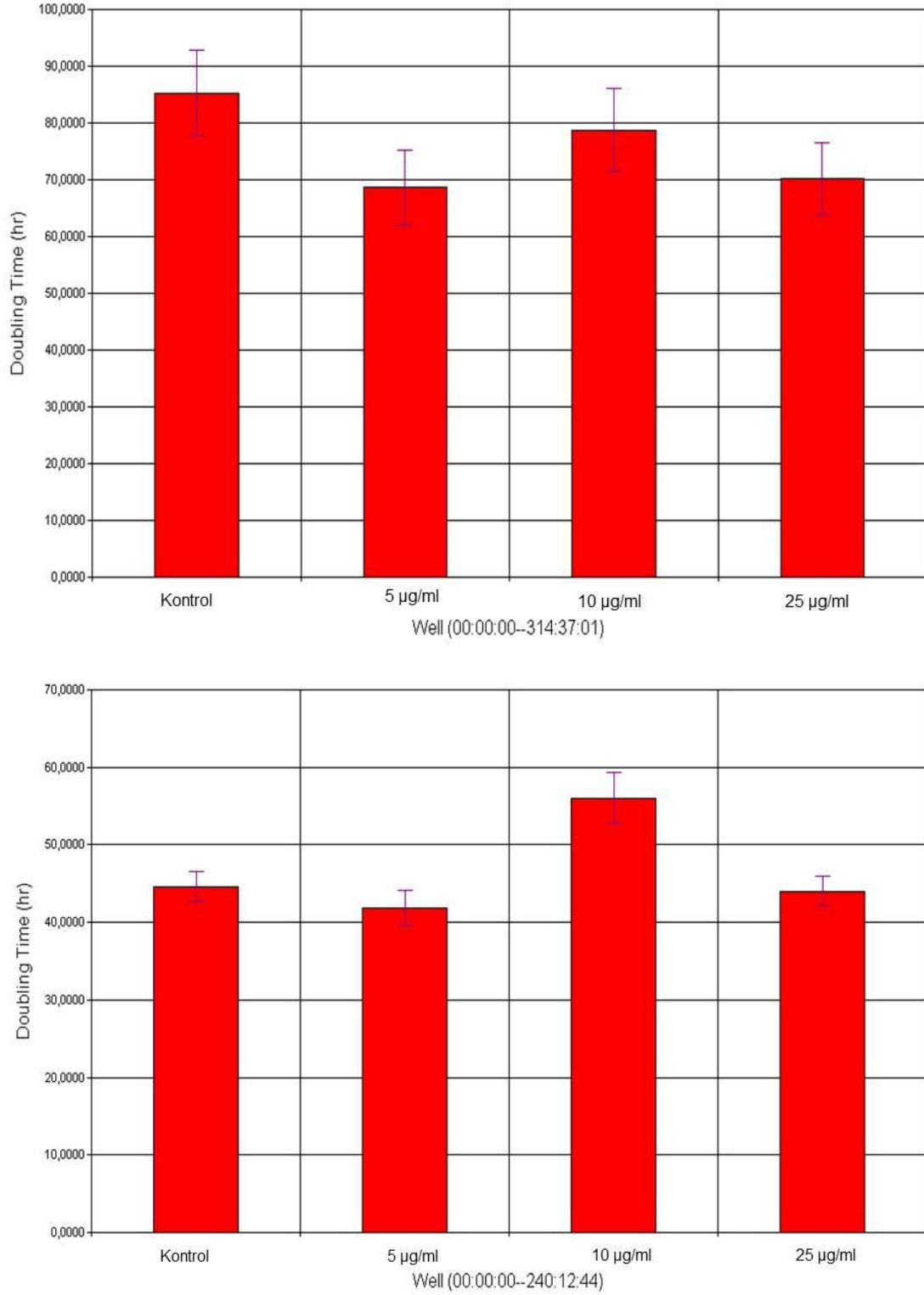
Şekil. 4.9. *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri. DP-MSKH'lerde doubling time sürelerinin kısaldığı görülürken, Kİ-MKH'lerde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

O. basilicum ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH'ler üzerindeki proliferatif etkisi Şekil 4.10.a ve 4.10.b'deki gibidir.



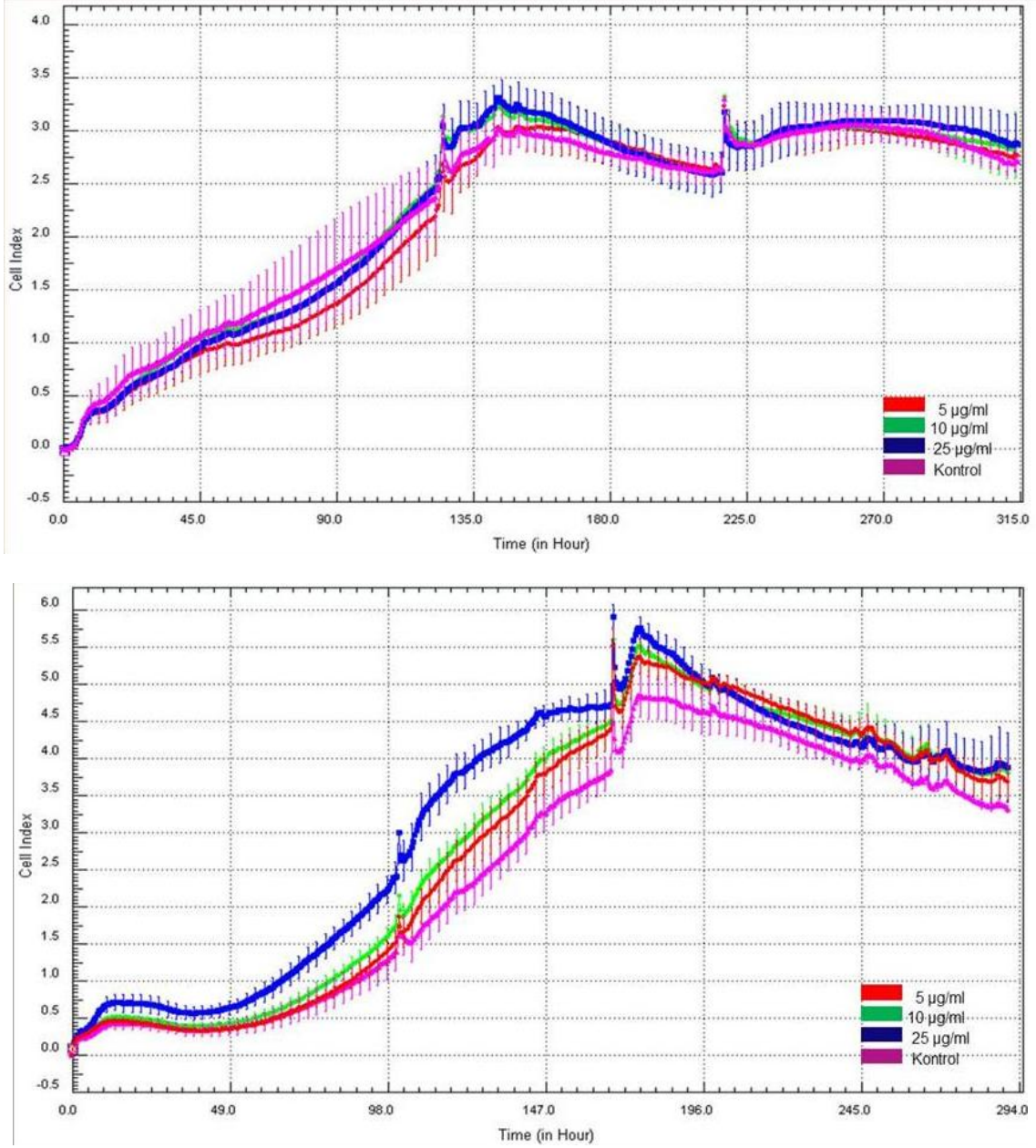
Şekil 4.10. *O. basilicum* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a) Farklı konsantrasyondaki ekstrakta maruz kalan hücrelerin adezyonu ile kontrol grubu arasında bir farklılık görülmemiştir. Proliferasyon hızı kontrol grubu ile paralellik göstermiş, hücre indeksinde konsantrasyona bağlı olarak az denecek kadar bir artış grülmüştür. (b) 10 µg/ml *O. basilicum*'a maruz kalan hücrelerin adezyonu diğer gruplara göre daha kuvvetli bulunurken hücre indeksi de yüksek olarak tespit edilmiştir. Proliferasyon süresinde diğer gruplara göre bir farklılık belirlenmemiştir.

10 $\mu\text{g/ml}$ *O. basilicum* ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerde ikiye katlanma süresi üzerinde pozitif etki gösterdiği aşağıdaki tabloda belirlenmiştir (Şekil 4.11.).



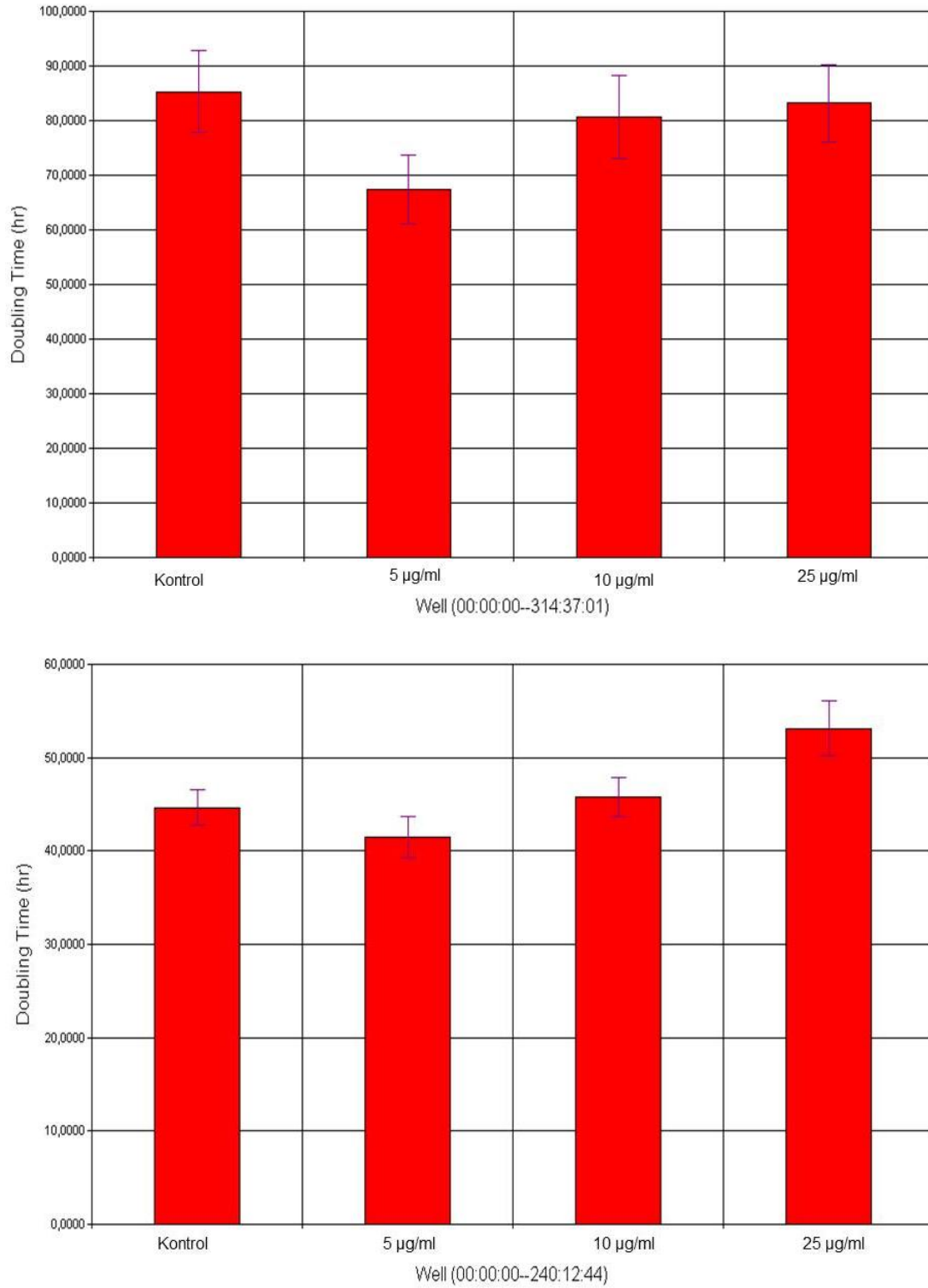
Şekil 4.11. *O. basilicum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri Her iki hücre tipinde de 10 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon süreyi arttırmıştır.

P. ostreatus ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH/ler üzerindeki proliferatif etkisi Şekil 4.12.a ve 4.12.b'deki gibidir.



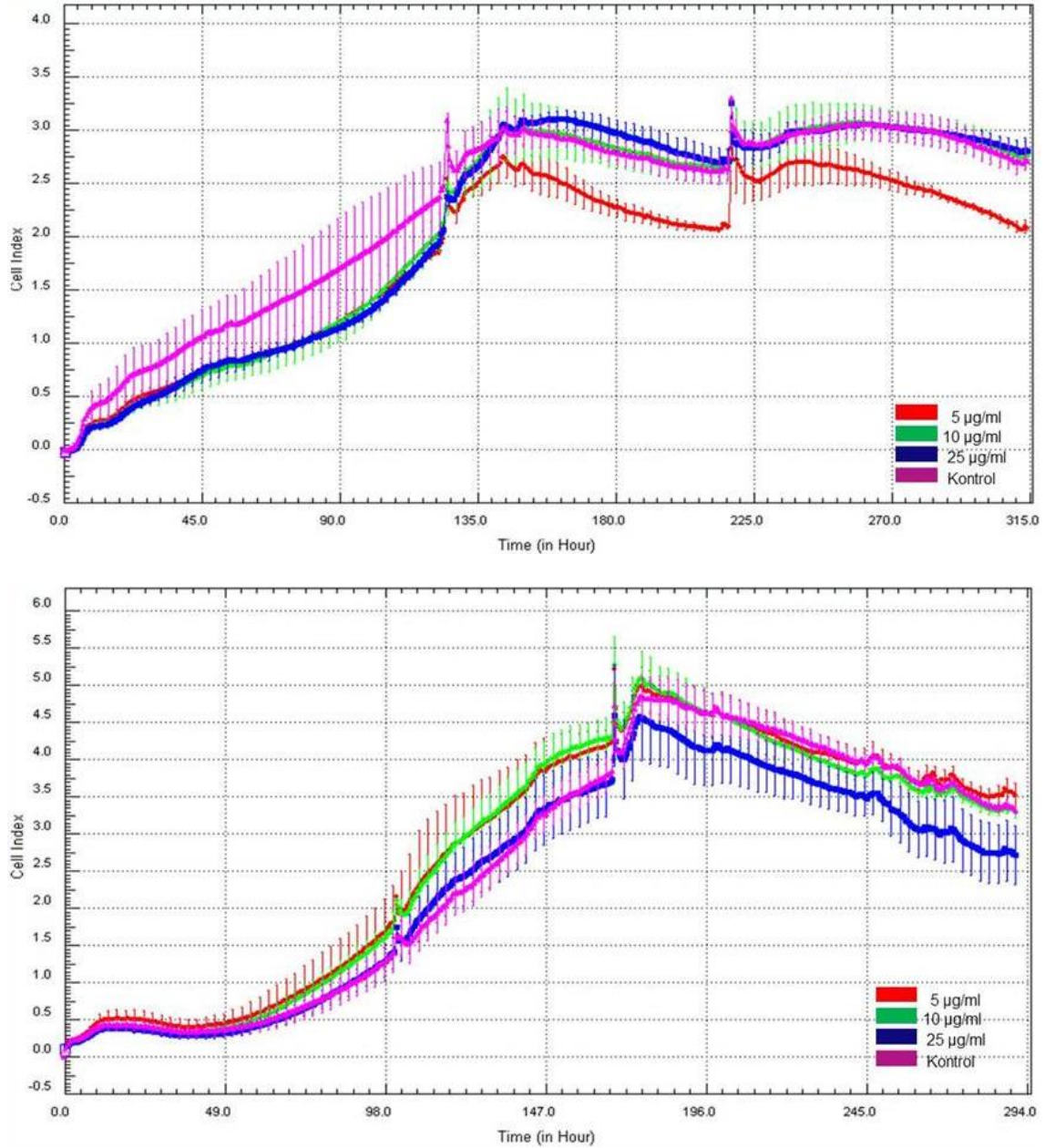
Şekil 4.12. *P. ostreatus* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a) Hücre adezyonu ve hücre indeksinde kontrol grubuna göre farklılık görülmemiştir. (b) Hücre adezyonu ve proliferasyonunda belirgin bir farklılık görülmemiştir.

Tripan mavisi ile sayım yöntemindekine benzer olarak *P. ostreatus* ekstraktının hücre popülasyonunu ikiye katlama hızı konsantrasyonla doğru orantılıdır (Şekil 4.13).



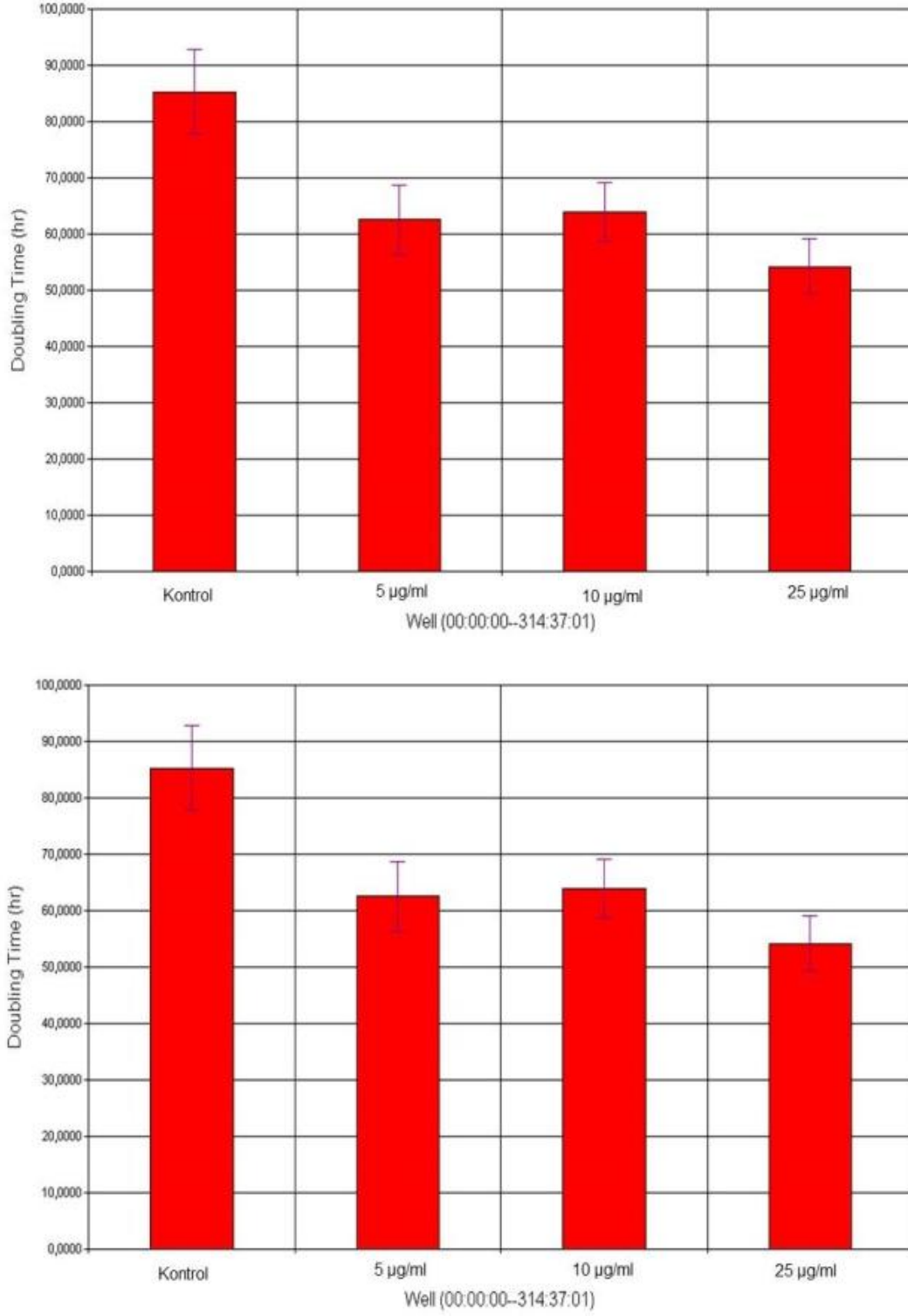
Şekil 4.13. *P. ostreatus* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri

T. spicata var *intricate* ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH/ler üzerindeki proliferatif etkisi Şekil 4.14.a ve 4.14.b'deki gibidir.



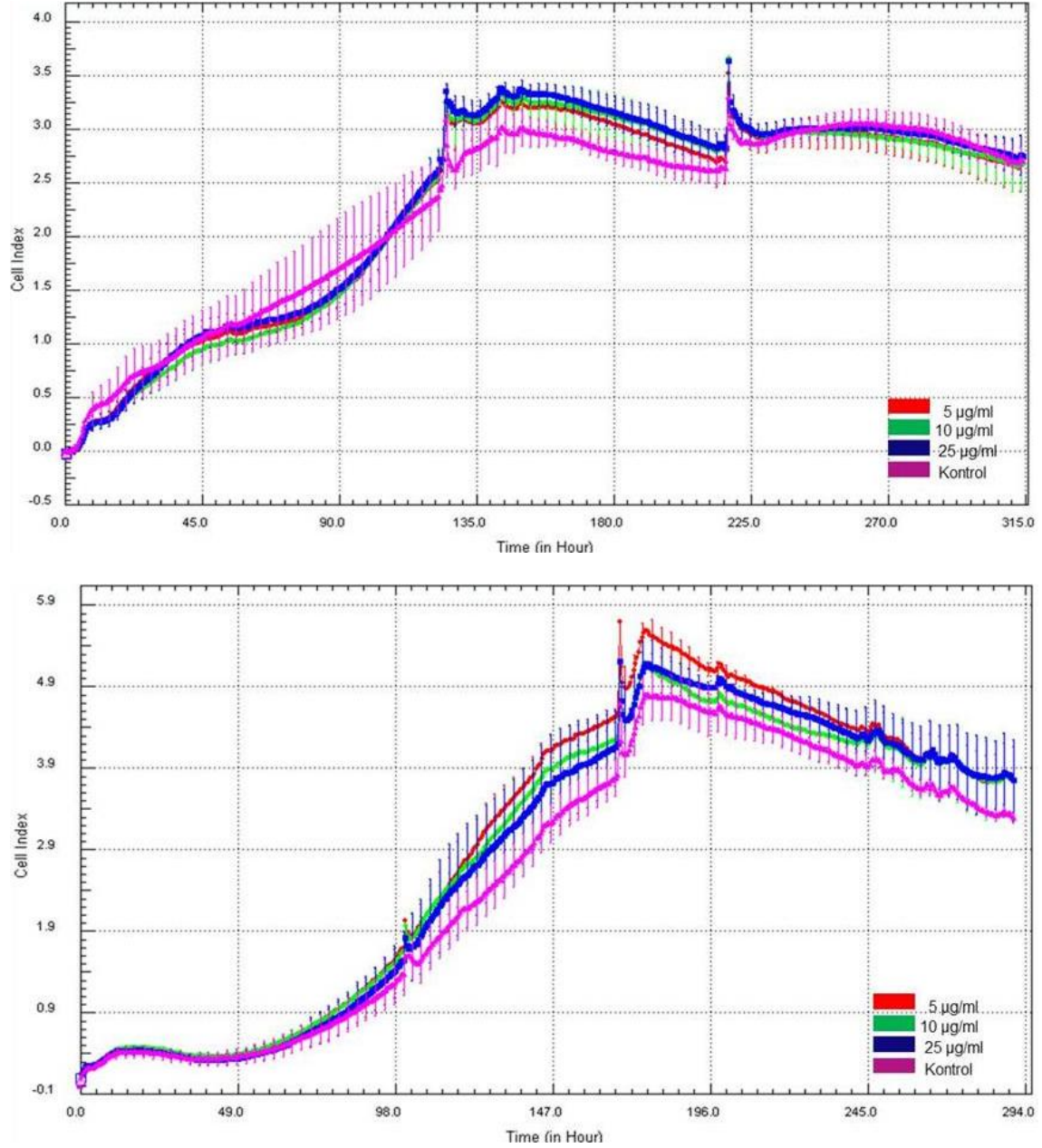
Şekil 4.14. *T. spicata* var *intricate* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a) Hücre adezyonunun kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu görülmüştür. 10 ve 25 µg/ml konsantrasyonlardaki hücre proliferasyonunun kontrol grubu ile paralel gittiği gözlenirken, 5 µg/ml konsantrasyonundaki ekstrakt ile muamele edilen hücrelerde azalma belirlenmiştir. (b) Hücre adezyonunda kontrol grubu ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

T. spicata var *intricate* ekstraktı kontrol grubuna göre popülasyonu ikiye katlama hızını düşürmüştür (Şekil 4.15.).



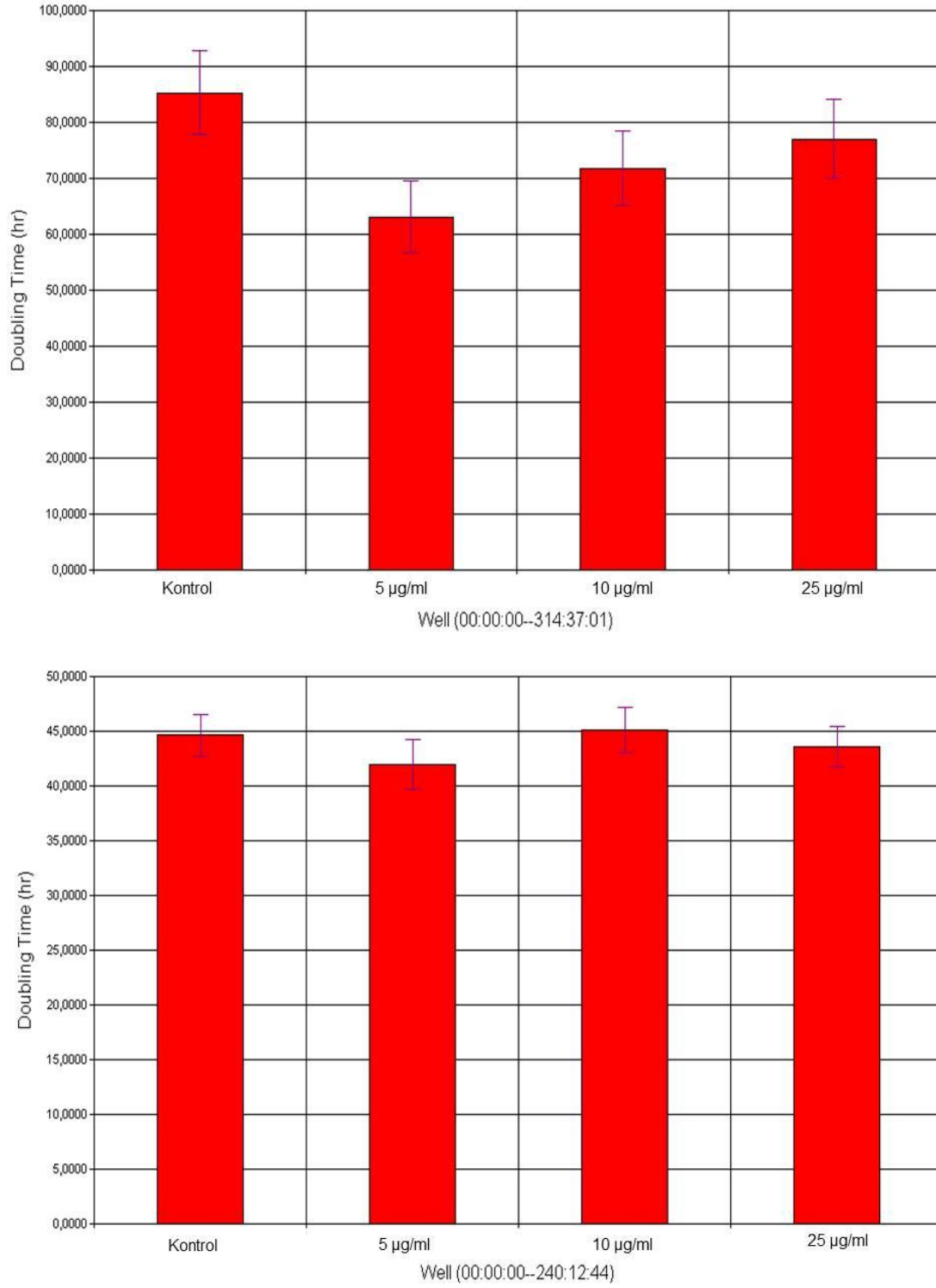
Şekil 4.15. *T. spicata* var *intricate* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri

S. aromaticum ekstraktının DP-MSKH ve Kİ-MKH/ler üzerindeki proliferatif etkisi Şekil 4.16.a ve 4.16.b'deki gibidir.



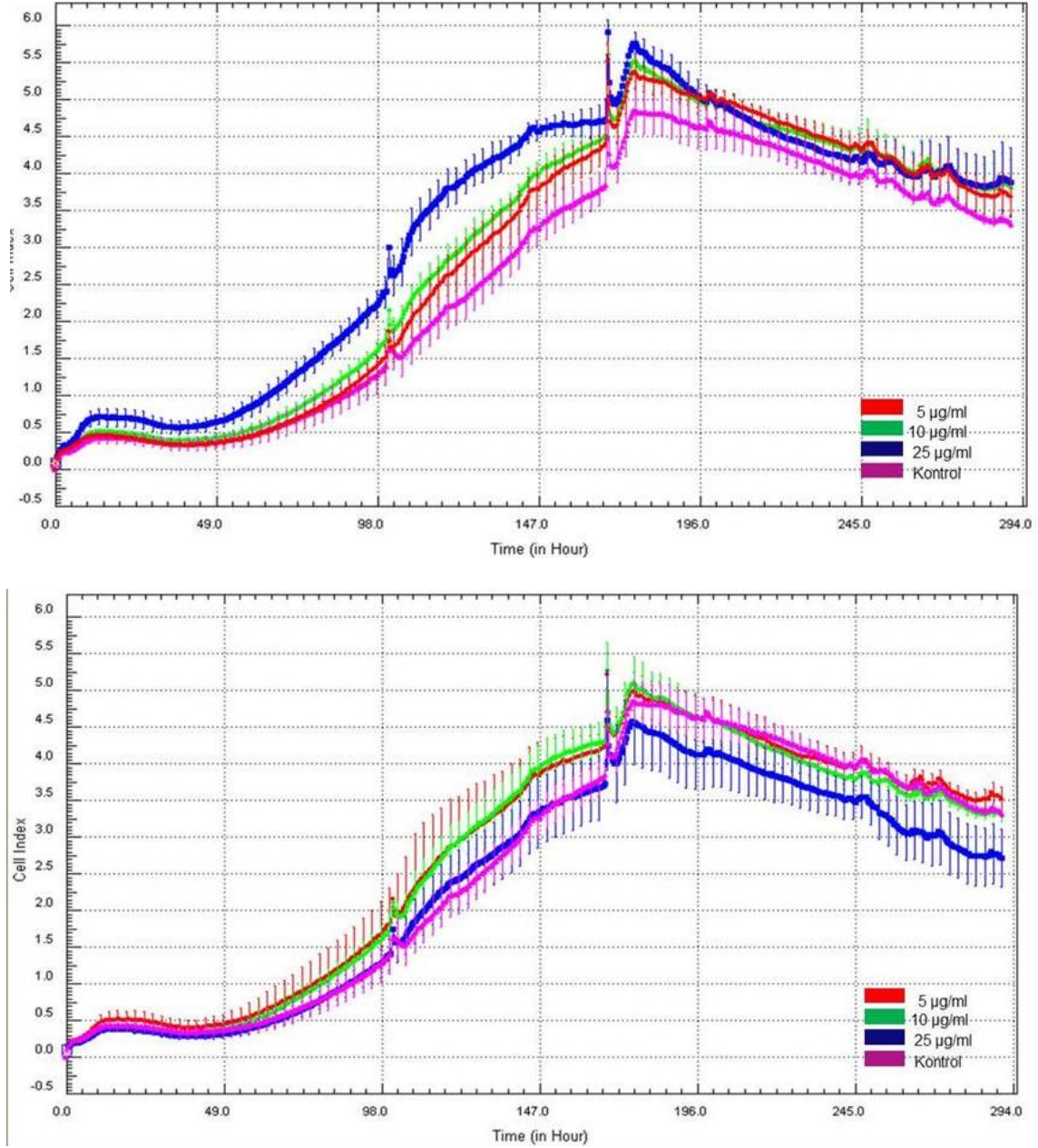
Şekil 4.16. *S. aromaticum* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a) Hücre adezyonunda kontrol grubuna göre bir farklılık belirlenmemiştir. Hücre proliferasyonu konsantrasyonların artışına paralel olarak yükselmiştir. (b) Hücre adezyonunda değişiklik görülmezken, hücre proliferasyonu 5 µg/ml 'de en yüksek bulunmuştur.

Tripan mavisi ile sayım yöntemindekine benzer *S. aromaticum* ekstraktının hücre popülasyonunu ikiye katlama süresi konsantrasyon arttıkça artmıştır (Şekil 4.17).



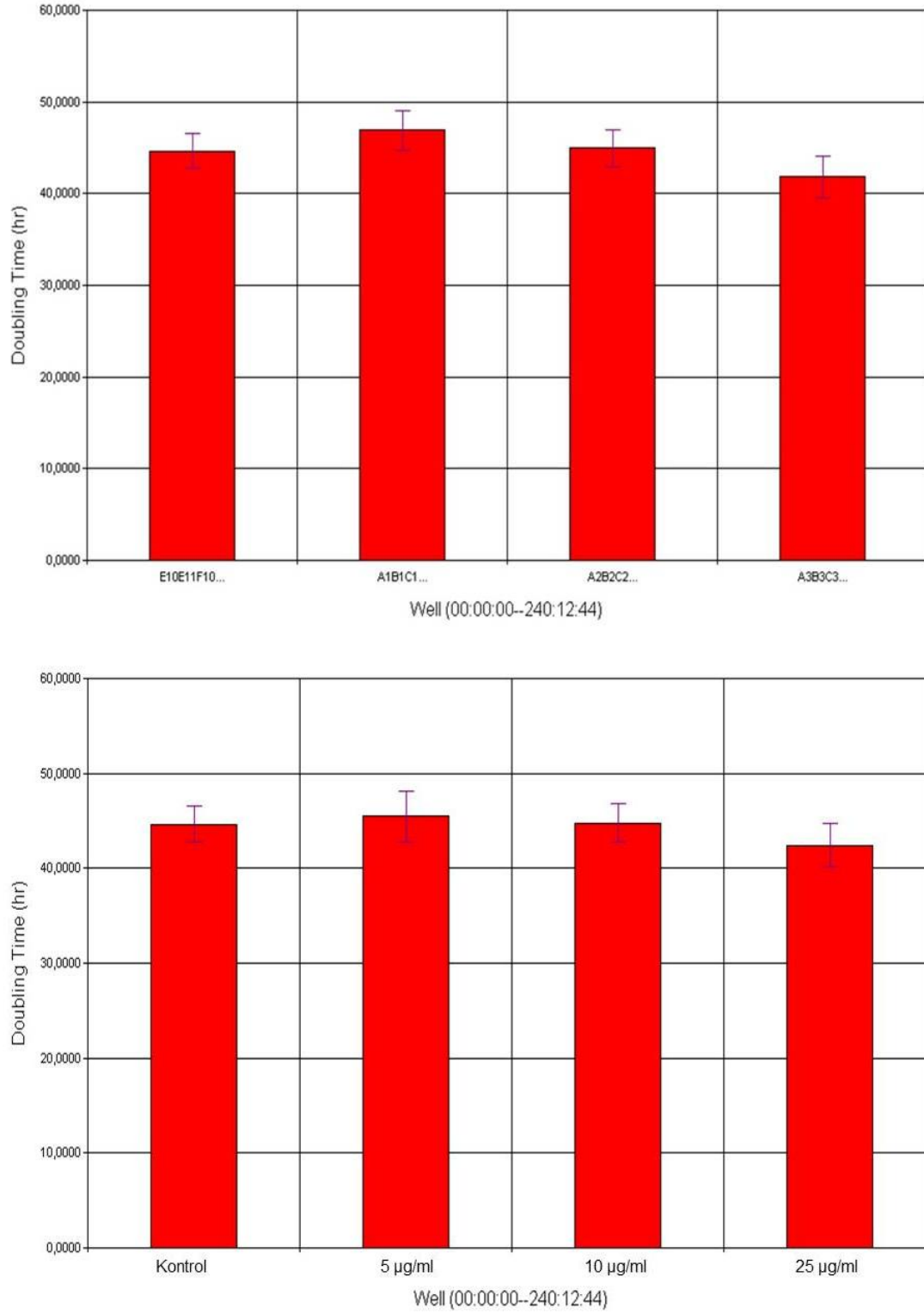
Şekil 4.17. *S. aromaticum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri

S. triloba ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi Şekil 4.18.a ve 4.18.b'deki gibidir.



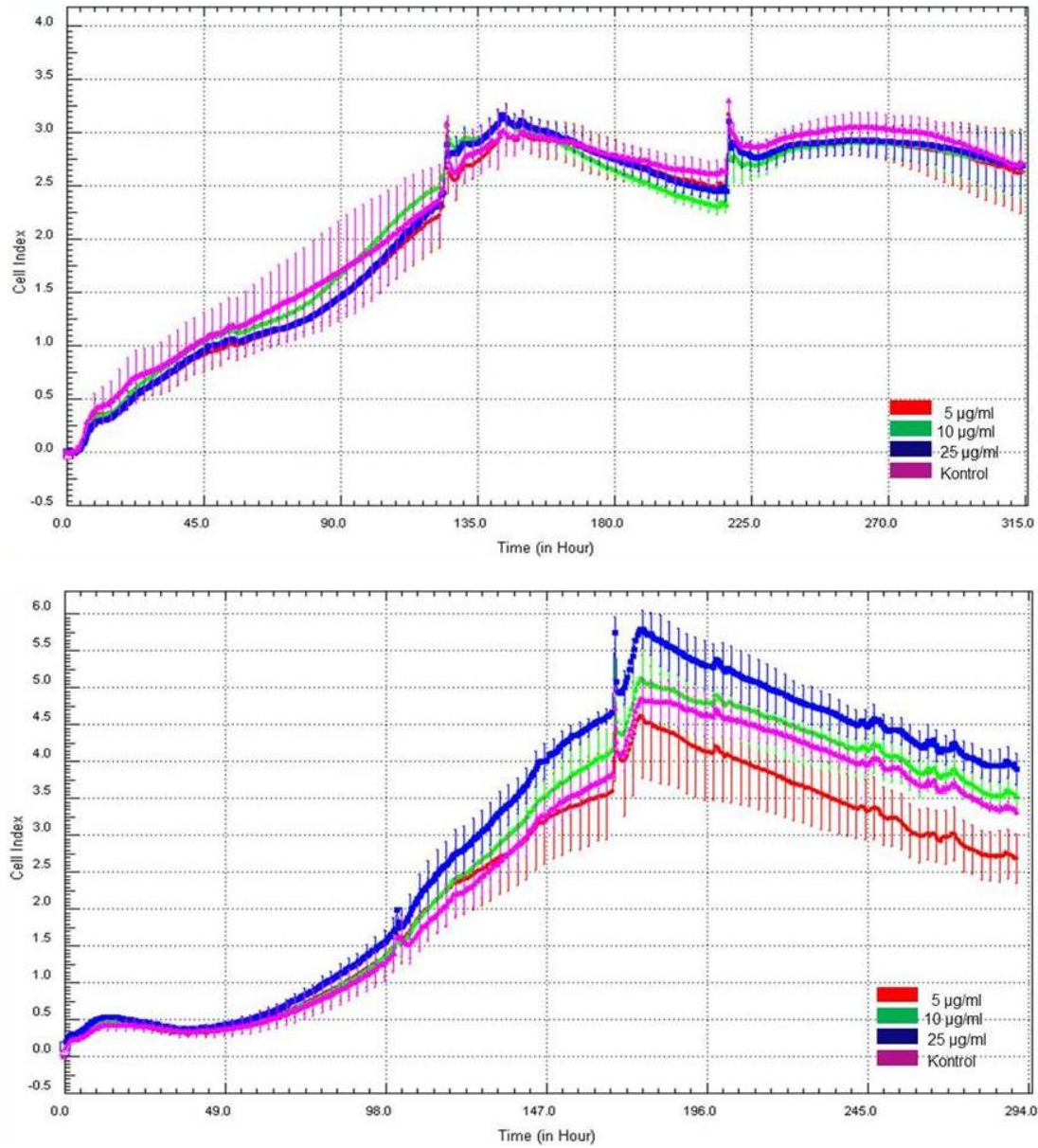
Şekil 4.18. *S. triloba* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi. (a,b) Hücre adezyonunda kontrol grubuna göre bir farklılık belirlenmemiştir. Hücre proliferasyonu konsantrasyonların artışına paralel olarak yükselmiştir.

S. triloba ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri Şekil 4.19.a ve 4.19.b'deki gibidir.



Şekil 4.19. *S. triloba* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri

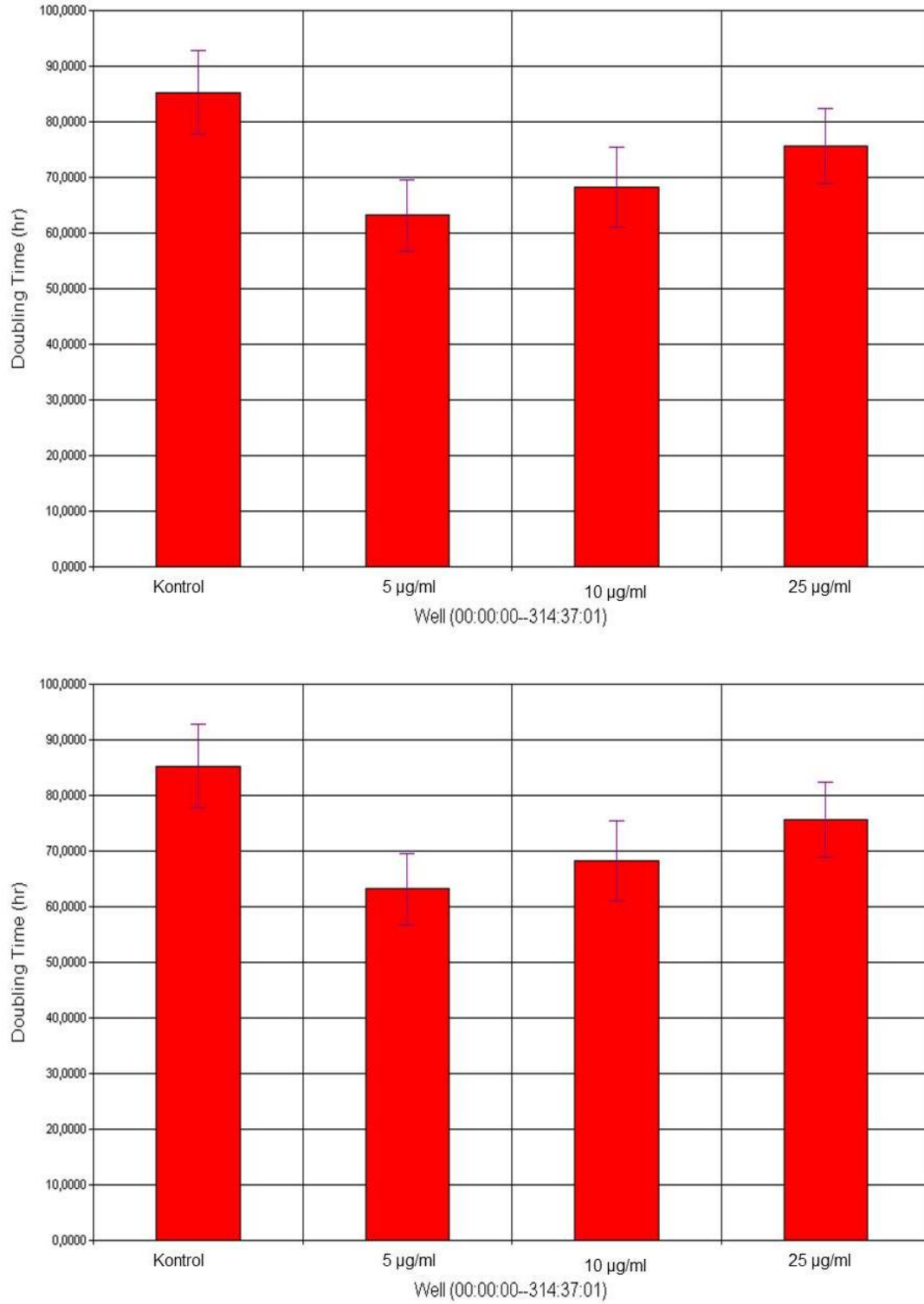
C. zeylanicum ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi Şekil 4.20.a ve 4.20.b'deki gibidir.



Şekil 4.20. *C. zeylanicum* ekstraktının DP-MSKH (a) ve Kİ-MKH (b) proliferasyonu üzerinde etkisi (a) Kontrol grubuna göre hücre adezyon ve proliferasyonu daha yavaş gelişmiştir. (b) 5µg/ml konsantrasyon ekstrakt ile muamele edilen hücreler kontrol grubuna göre daha az gelişmiştir.

C. zeylanicum ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH'lerin popülasyonunu ikiye katlama süresi konsantrasyon arttıkça kontrol grubuna yakın seviyeye geldiği, Kİ-

MKH'lerde ise dikkat çekici bir artış ya da azalma olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. *C. zeylanicum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (a) ve KI-MKH (b) ikiye katlanma süresi değerleri

Devam çalışmalarda, hücre popülasyonunu ikiye katlayan değer (10 µg/ml) dikkate alınmıştır. Hücre popülasyonunun hızlı artması hücrelerin kök hücre özelliğinden uzaklaşabileceğini de göstereceğinden, konsantrasyon seçilirken proliferasyon, hücre sayısı ve ikiye katlanma sürelerinde ortalama değerler ve buna yol açan bitkiler seçilmeye gayret gösterilmiştir.

4.3. Doğal Ekstraktların Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması Üzerindeki Etkisi

xCelligence sistemi kullanılarak yapılan proliferasyon ve ikiye katlanma süresi analizlerine göre devam çalışmalarda 10 µg/ml konsantrasyon kullanılmıştır. Hücreler farklılaşma ortamı içinde kültüre edildikten sonra her gün düzenli olarak 21 gün boyunca kontrol edilmiştir (Olympos CKX40, Japan). İğ şeklindeki hücrelerin iğsi yapılarını kaybettiği ve uzantılı yapılı görünüm kazandığı görülmüştür. Süre sonunda elde edilen görüntüler Resim 4.3 ve Resim 4.4'de gösterilmektedir.

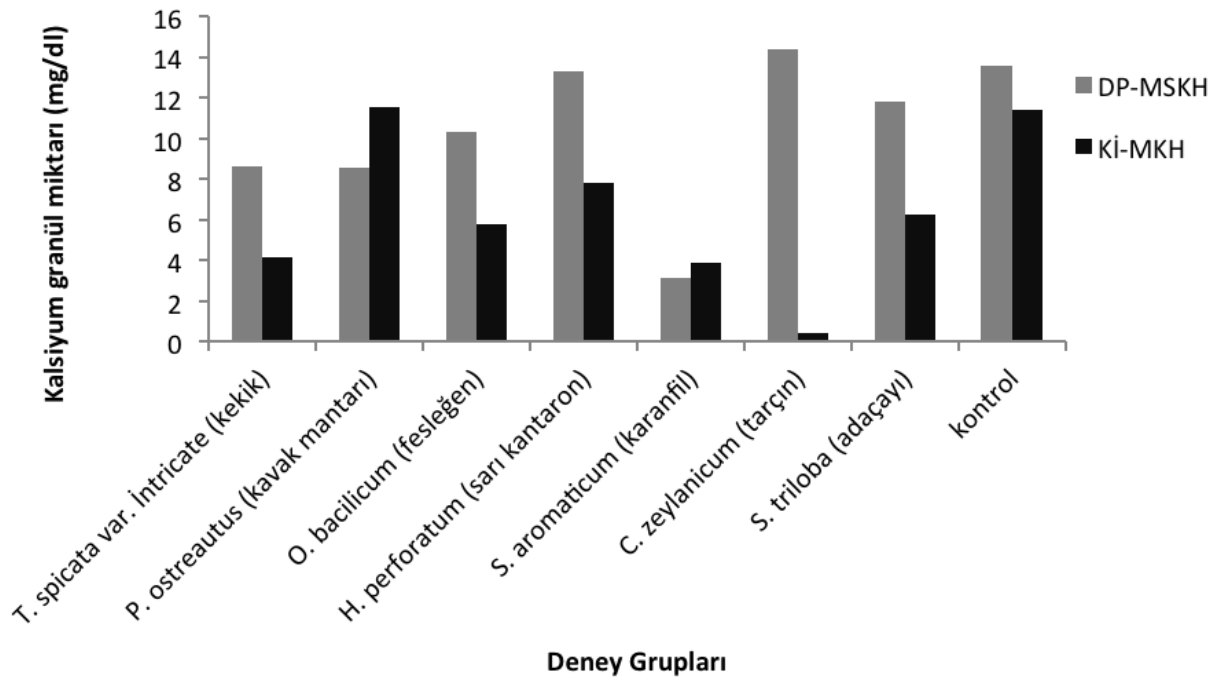
DP-MSKH hücrelerinin, adipojenik farklılaşma göstermediği, 21. günde Alizarin kırmızısı boyamalarında reaksiyon vermediği görülmüştür (Resim 4.3.a). Bitki ekstraktlarının adipojenik farklılaşma yönünde de bir uyarıcı etkisi olmadığı belirlenmiştir (Resim 4.3.1-8a).

DP-MSKH osteojenik farklılaşması kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir (Resim 4.3.1-8b). Kalsiyum granül, osteokalsin ve osteonektin miktarları sunulmuştur (Şekil 4.22 ve 4.23). *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde ilk 3-4. günlerde kalsiyum granülleri gözlenirken (Resim 4.2) *S. aromaticum* ekstraktı ile muamele edilenlerde 18-21. günlerde kalsiyum granülleri olduğu tespit edilmiştir. Osteojenik farklılaşmanın nihai bulgularından biri olarak gösterilen (Lock ve Liu, 2011) kalsiyum granülleri belirleme testi DICA 500 ticari kiti ile gerçekleştirilmiştir. Osteojenik hücre ekstraselüler matriksinde yer alan osteokalsin ve osteonektin proteinleri ise ELISA KİT yöntemi ile belirlenmiştir.



Resim 4.2. *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH'de osteojenik farklılaşmada 4. gün (10x, Olympos CKX40)

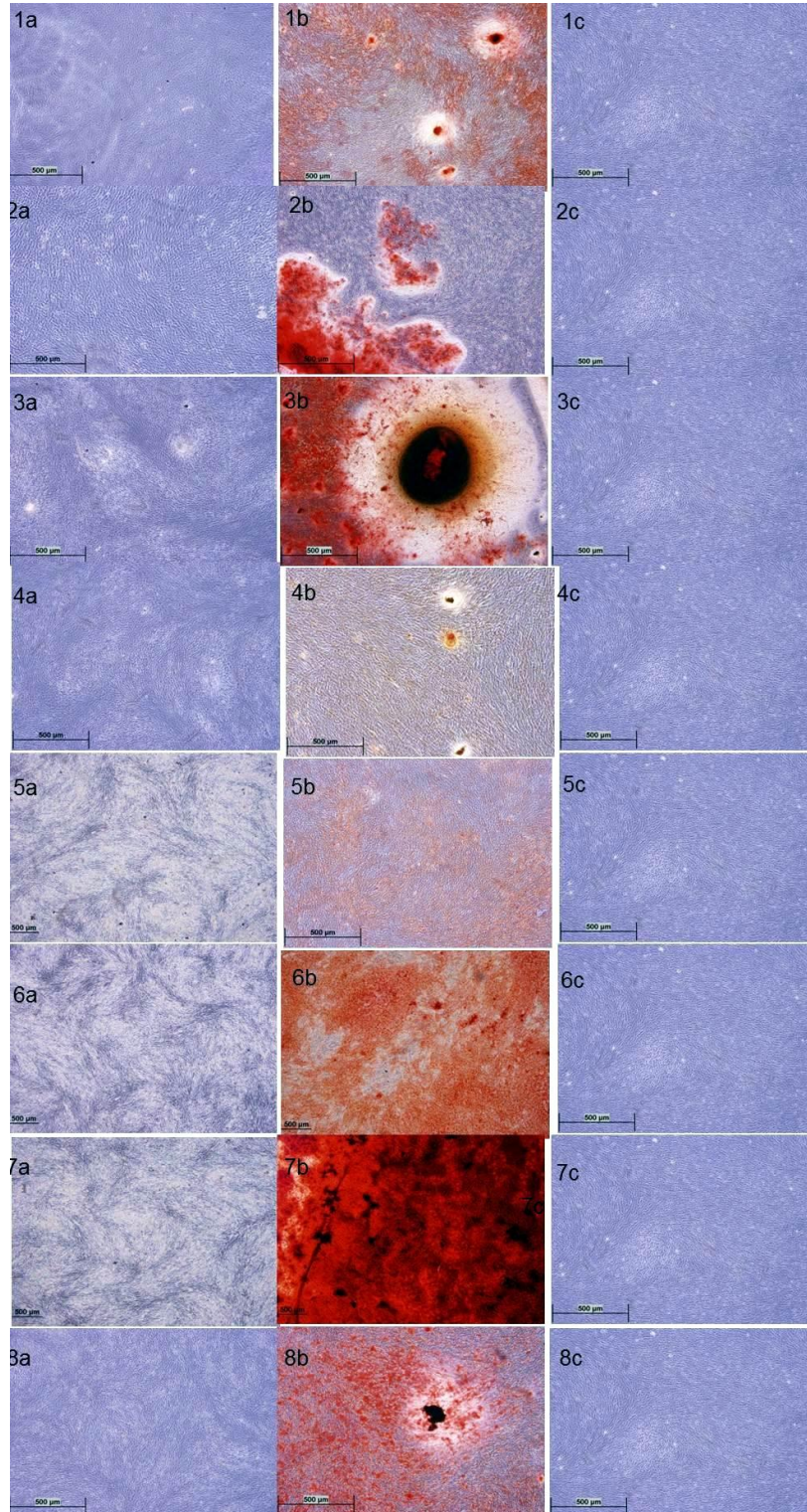
Bitki ekstraktlarının osteojenik farklılaşma üzerindeki etkisinin türlere göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen görüntüler ve kantitatif değerler (Şekil 4.22) birbirini doğrulamıştır. Buna göre, *S. aromaticum* ekstraktının (Resim 4.4b) osteojenik farklılaşmayı azalttığı, *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarının (Resim 4.7-8b) kontrol grubu ile hemen hemen aynı oldukları belirlenmiştir. Osteojenik farklılaşma nitelik olarak mikroskop görüntüleri ile karşılaştırıldığında *H. perforatum* ve *O. basilicum* ekstraktlarına maruz kalan hücrelerde kalsiyum granülleri birikimi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, anılan bitki ekstraktlarının kontrol grubuna göre daha erken osteojenik farklılaşmayı 4. günde başlattığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.22. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerde kalsiyum granülleri birikimi üzerine etkisi

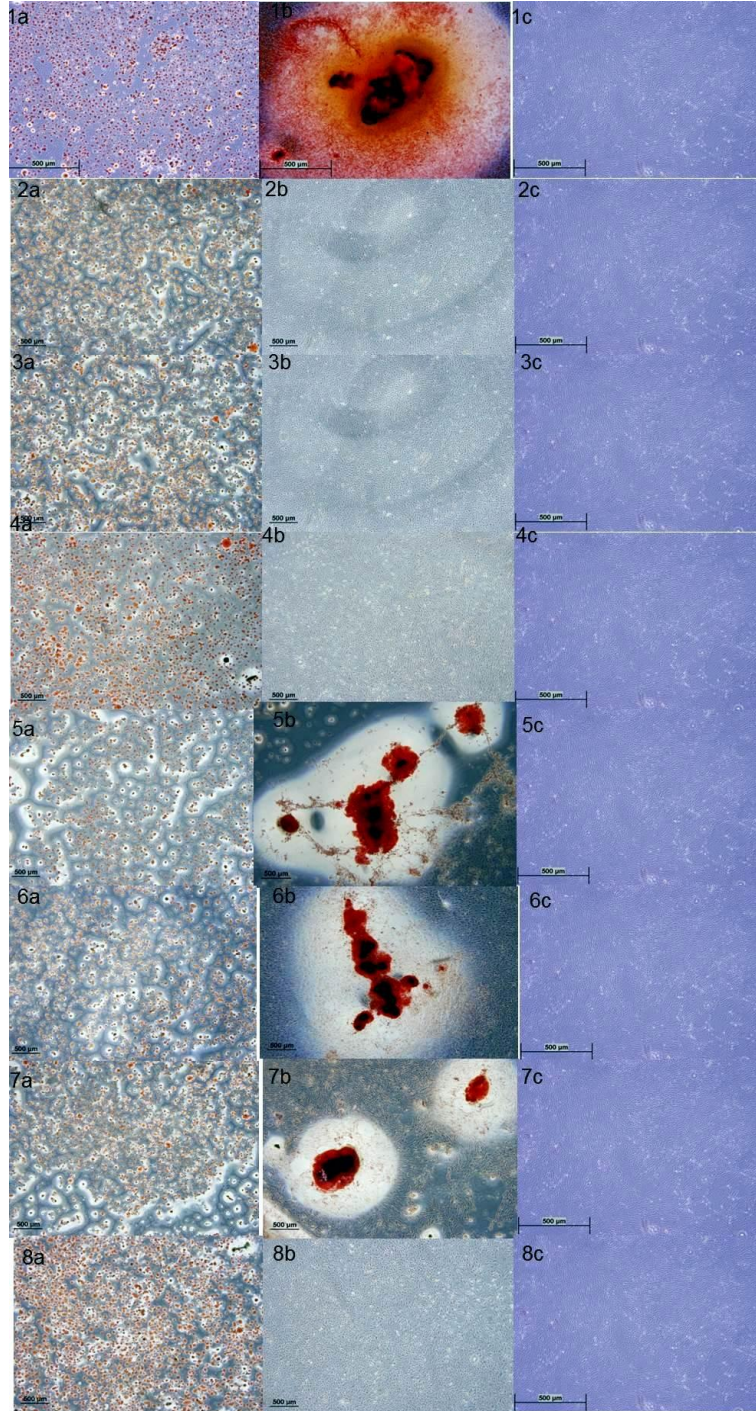
Kİ-MKH'lerinde adipojenik ve osteojenik farklılaşma beklenildiği gibi yüksek bulunmuştur (Resim 4.4.1.a,b). Adipojenik farklılaşmada bitki ekstraktları ile muamele edilmiş hücrelerde herhangi bir azalma gözlenmemiştir (Resim 4.4.2-8a). Osteojenik farklılaşma bitki türleri arasında değişkenlik göstermiştir. Kontrol grubunda kalsiyum granül miktarı 11,39 mg/dl iken, *S. triloba*, *O. basilicum* ve *S. aromaticum* ekstraktlarında sırası ile 6,27; 5,8 ve 3,85 mg/dl olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.22). Anılan ekstraktlar DP-MSKH'de de osteojenik farklılaşmayı negatif yönde ve aynı etkide azaltmışlardır. Farklı olarak *C. zeylanicum*, Kİ-MKH'lerde osteojenik farklılaşmayı uyaramamıştır.

Yapılan 3 tekrarlı deneylerde osteojenik farklanmayı stimüle eden ekstraktlı kültür vasadı eklendiğinde hücrelerde tutunduğu yüzeyden ayrıldığı gözlenmiştir. Bu etki yalnızca Kİ-MKH'lerde görülmüştür. DP-MKH'lerden farklı olarak *P. ostreatus* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde kalsiyum granül miktarı 11,54 mg/dl olarak tespit edilmiştir. Ancak mikroskop görüntüleri incelendiğinde belli alanlarda kalsiyum granül birikimi olduğu, birikimin olmadığı yerlerde hücrelerin kalktığı belirlenmiştir (Resim 4.4.5b).



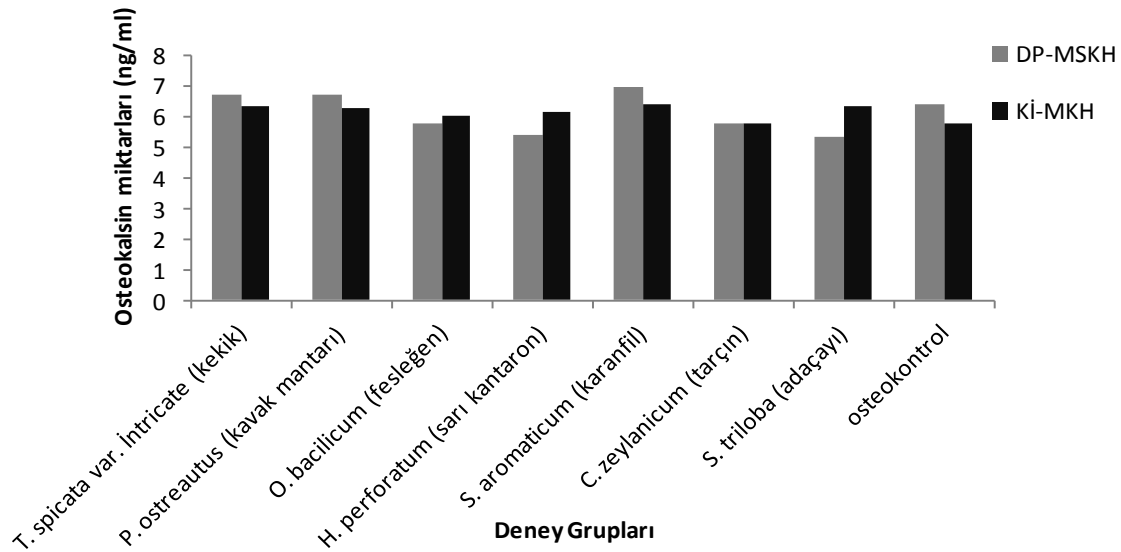
Resim 4.3. DP-MSKH adipojenik (a) ve osteojenik farklılaşma (b) ile kontrol görüntüleri (c) (4x, Olympos CKX40, Tokyo, Japan). 1: Bitki ekstraktı ile muamele edilmemiş DP-MSKH, 2: *S. triloba*, 3: *O. bacilicum*, 4: *S. aromaticum*, 5: *P. ostreatus*, 6: *T. spicata* var. *intricate*, 7: *H. perforatum*, 8: *C. zeylanicum*

Buna karşılık, *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde osteojenik farklılaşma kantitatif olarak daha belirgin görülmekte ve hücre adezyonu inhibisyonuna rastlanmamıştır (Resim 4.4.7b).



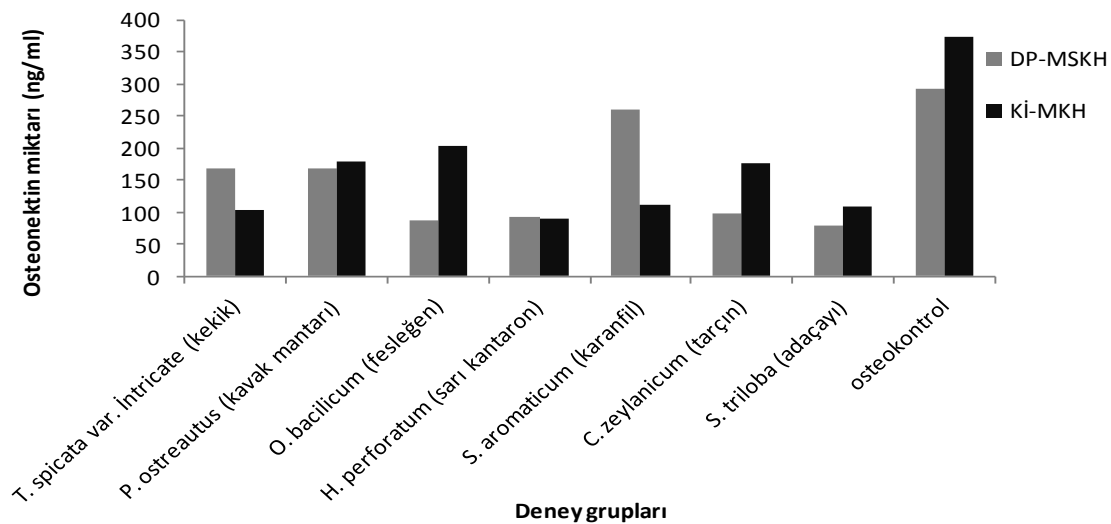
Resim 4.4. Kİ-MKH adipojenik (a) ve osteojenik farklılaşma (b) ile kontrol görüntüleri (c) (4x, Olympos CKX40, Tokyo, Japan). 1: Bitki ekstraktı ile muamele edilmemiş Kİ-MKH, 2: *S. triloba*, 3: *O. bacilicum*, 4: *S. aromaticum*, 5: *P. ostreatus*, 6: *T. spicata* var. *intricata*, 7: *H. perforatum*, 8: *C. zeylanicum*

Osteojenik farklılaşma yönünde uyarılan hücre kültür supernatantlarında osteokalsin ve osteonektin miktarları ELISA KİT (eBioscience) yöntemi ile araştırılmıştır (Şekil 4.23 ve 4.24).



Şekil 4.23. DP-MSKH ve Kİ-MKH osteokalsin miktarları

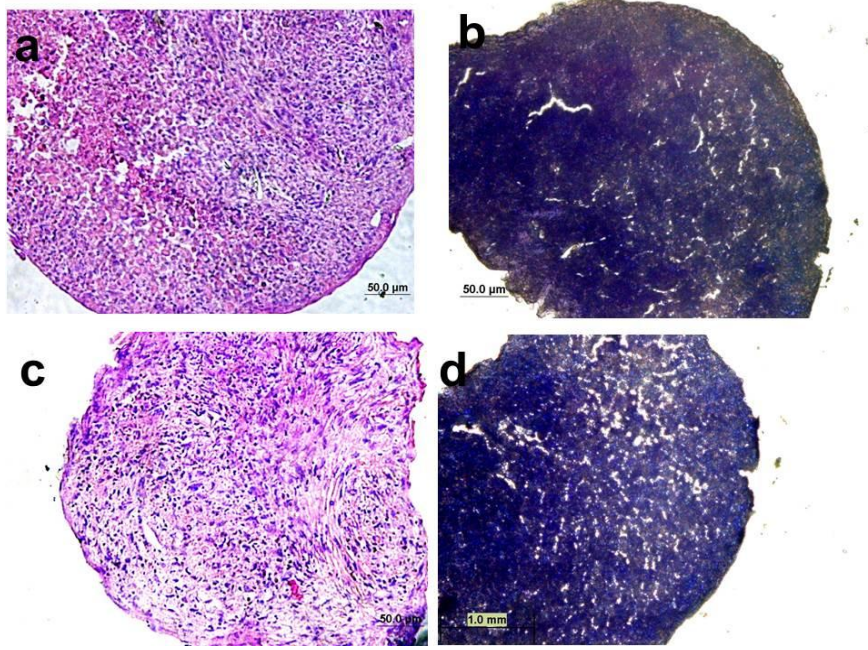
Kalsiyum granül birikiminde (Şekil 4.22) görülen farklılık osteokalsin miktarlarında (Şekil 4.23) tespit edilememiştir. Buna karşılık DP-MSKH'lerin osteonektin miktarı Kİ-MKH'lere göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.24). Bitki ekstraktları ile muamele edildiğinde, osteonektin miktarlarında kontrol grubuna göre azalma olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.24. DP-MSKH ve Kİ-MKH osteonektin miktarları

Kıkırdak farklılaşması, çalışmanın sonunda seçilen, *H. perforatum* bitki ekstraktı üzerinde değerlendirilmiştir. Yapılan mikroskopik değerlendirmelerde DP-

MSKH'lerin de kıkırdak hücrelerine dönüşebildiği ve *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edildiğinde matris proteinlerinin yoğun bir şekilde boyandığı görülmüştür (Resim 4.5). Elde edilen bu veri ümit vaat edici olsa da kesin kanaat verebilmek için devam çalışmalarda kantitatif sonuçların elde edilmesi beklenmektedir.



Resim 4.5. DP-MSKH (a) ve KI-MKH (c) kıkırdak farklılaşması üzerinde *H. perforatum* ekstraktının etkisi (40x, Olympus CKX40). *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH (b) ve KI-MKH'de (d) alsiyan mavisi ile boyanmış matris proteinleri

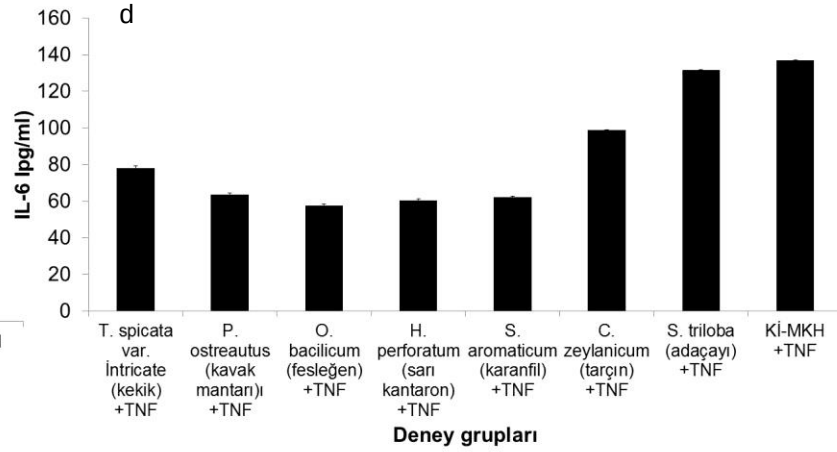
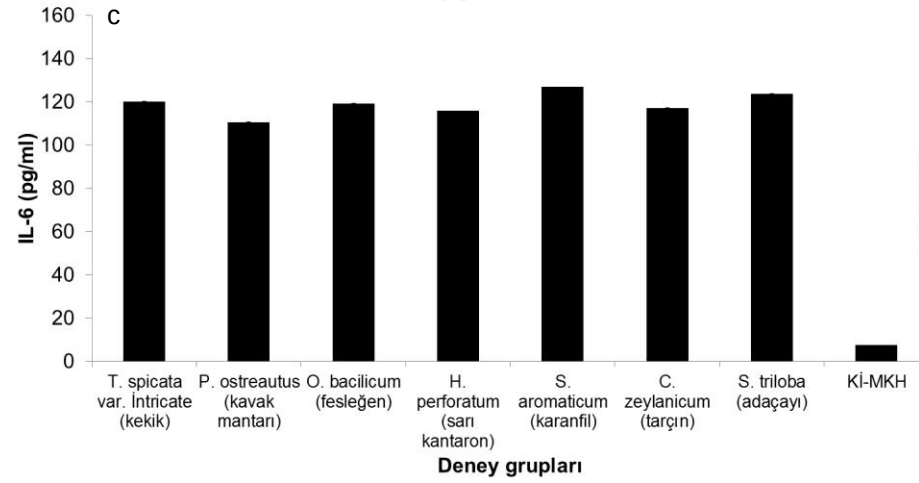
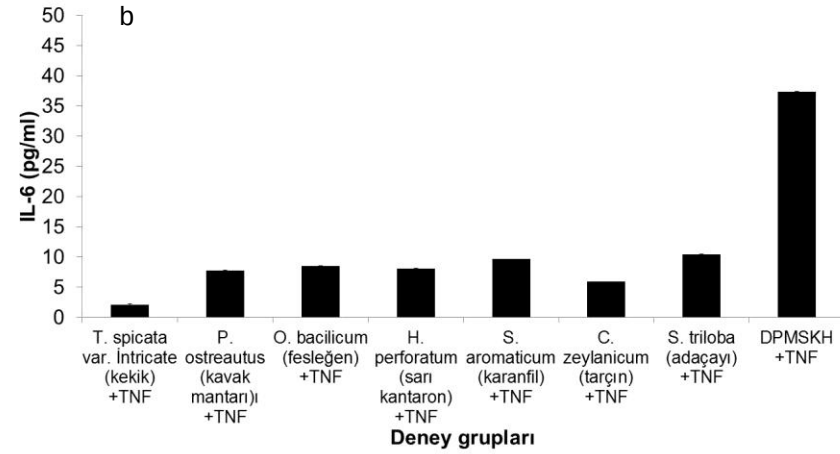
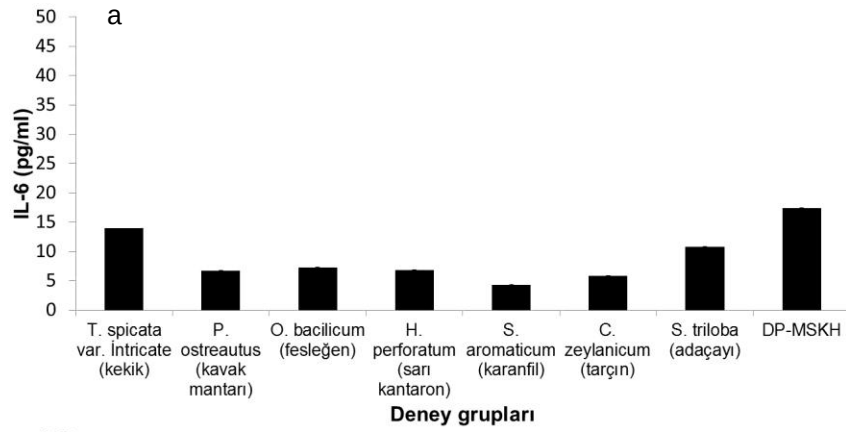
4.4. Doğal Ekstraktların İnflamasyon Yanıt Üzerindeki Etkileri

Çalışmada elde edilen sonuçlar Şekil 4.25-4.29'da gösterilmektedir. Elde edilen veriler incelediğinde bitki ekstraktlarının uyarım olmadan kullanıldığında, DP-MSKH'lerde proinflatuvar etki göstermedikleri belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.25.a ve 4.26.a). DP-MSKH'lerin bitki ekstraktı ya da inflamatuvar uyarı olmadan IL-6 salgılayabildikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.25.a). Bitki ekstraktları ile muamele sonrasında IL-6 salınımının *S. triloba* ve *T. spicata* var *intricate* hariç azaldığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). *S. triloba* ile muamele edilen hücreler hemen hemen kontrol grubuna yakın miktarda IL-6 salınımı gerçekleştirmiştir (10,791 pg/ml). KI-MKH hücrelerinde ise DP-MSKH'lerin tam tersi olarak herhangi bir uyarının bulunmadığı durumda IL-6 salınımı düşük (7,534 pg/ml) olarak

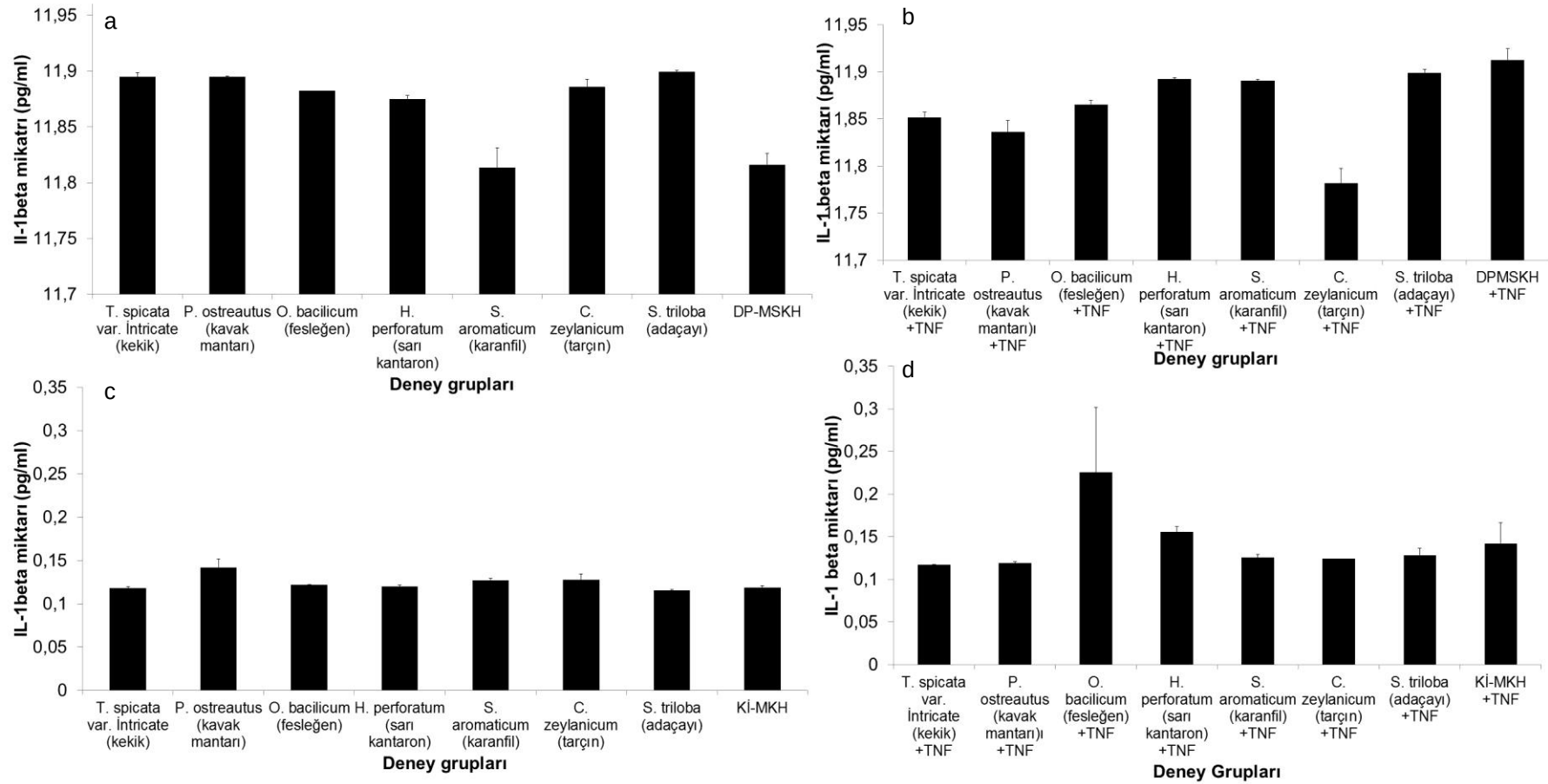
bulunmuştur (Şekil 4.25.c). Kİ-MKH hücrelerinde inflamatuvar ortam bulunmadığı takdirde ekstraktlar kullanıldığında IL-6 salınımı uyarılmıştır. İnflamatuvar yanıtı azaltıp azaltmadığının araştırıldığı ikinci deney modelinde ise, ekstraktlar önleyici amaca hizmet etmek için muameleden bir saat sonra uygulanan TNF- α 'nın yol açtığı inflamatuvar yanıtı azaltmakta başarılı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre, TNF- α uyarımı ile 37,305 pg/ml olan IL-6 miktarı, *T. spicata* var. *intricate* ön muamelesinde 2,100, *H. perforatum* 8,082, *C. zeylanicum* ile 5,80 pg/ml olarak tespit edilmiştir (Şekil 29b). TNF- α varlığında bitki ekstraktları Kİ-MKH'de de antiinflamatuvar yönde hücrelerin uyarılmasını sağlamıştır. Artmış inflamasyonun özellikle *O. basilicum* (57,716 pg/ml) ve *H. perforatum* (60,502 pg/ml) ekstraktlarında gerilediği tespit edilmiştir (Şekil 4.25.d). Enflamasyonlu ve enflamasyonsuz ortamda DP-MSKH'lere *H. Perforatum* ekstraktı eklendiğinde IL-6 seviyesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Bitki ekstraktları ile muamele edildiğinde IL-1 β miktarı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0,05$)(Şekil 4.26.a). Enflamasyonsuz ortamda DPMSKH'lere bitki ekstraktları eklendiğinde IL-1 β seviyesi *H. perforatum* ekstraktında DP-MSKH'lerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Buna karşılık ortama TNF- α 'nın eklenmesi IL-1 β 'yı *C. zeylanicum* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde düşürmüştür (Şekil 4.26.b). *H. perforatum*'un IL-1 β düzeyi *O. basilicum* ve *P. ostreatus*'tan anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$).

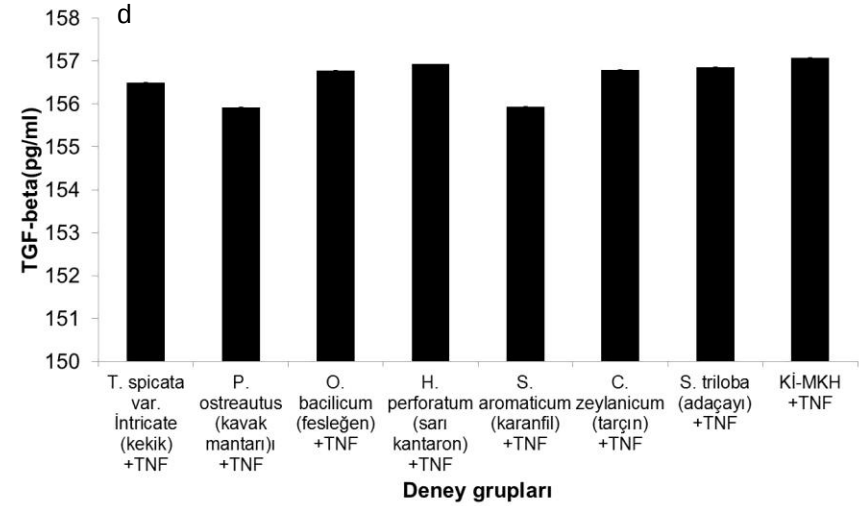
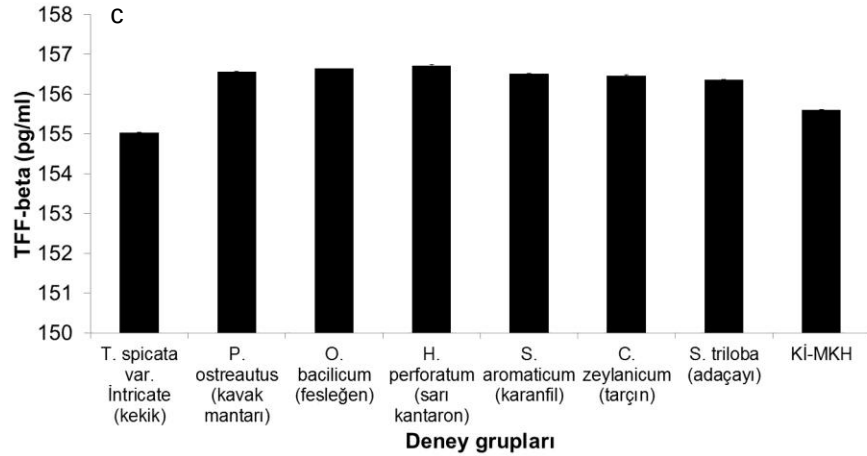
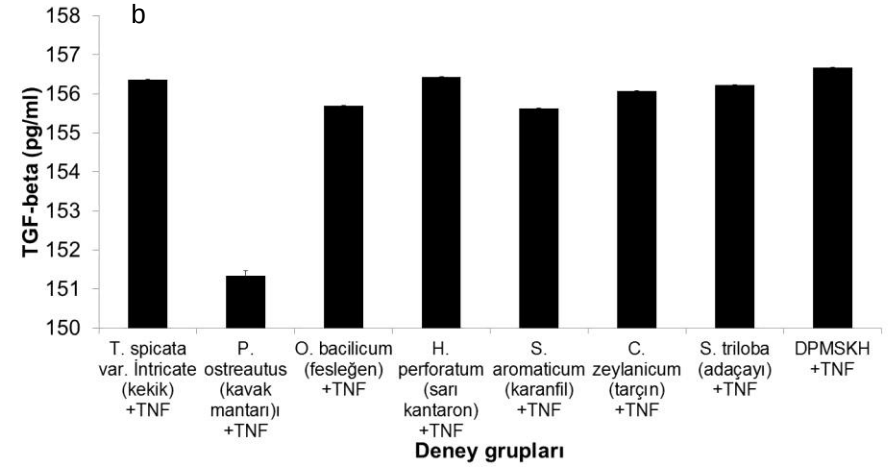
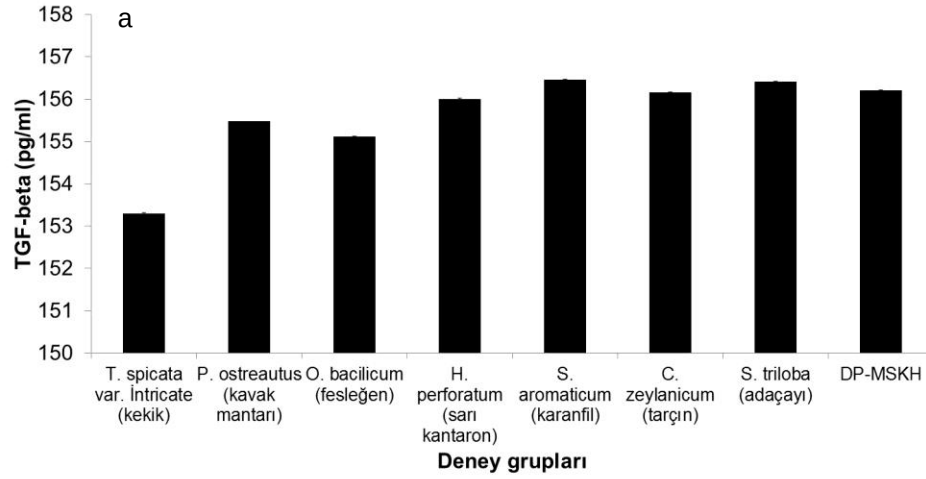
TGF- β değerleri incelendiğinde (Şekil 4.27), *T. spicata* var *intricate* ve *O. basilicum* ekstraktları ile muamele edilen DP-MSKH hücrelerinde belirgin bir azalma görülmüştür (Şekil 4.27.a). Ancak, *T. spicata* var *intricate* ekstraktı kullanıldığında görülen azalmanın, inflamasyonlu ortamda artmış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.27.b). İnflamasyonlu ortamda *P. ostreatus* ekstraktı ile muamele edilen DP-MSKH'lerin kültür supernatantlarında TGF- β miktarı diğer bitki ekstraktlarına göre düşük (151,345 pg/ml) bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.27.b). *T. spicata* var *intricate* ekstraktı ile muamele edilen Kİ-MKH kültür supernatantlarındaki TGF- β miktarı DP-MSKH'lerde olduğu gibi daha düşük seviyede bulunmuştur (Şekil 4.27.c).



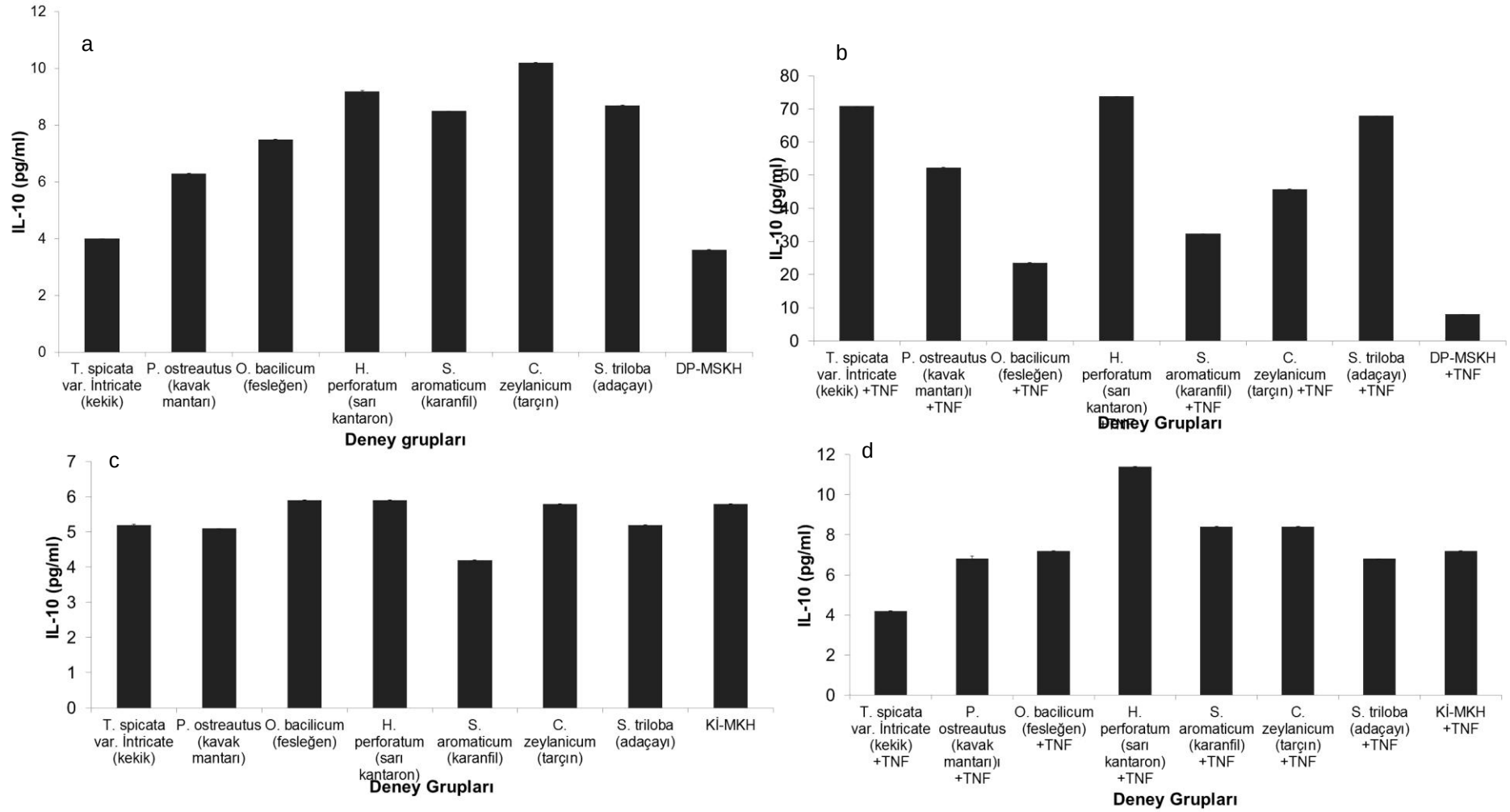
Şekil 4.25. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve KI-MKH'lerinde IL-6 salınımı üzerindeki etkileri (a), (c): İnflamatuvar uyarım olmadan. (b), (d): Bitki ekstraktları eklendikten bir saat sonrasında TNF- α ile inflamatuvar uyarım gerçekleştirildiğinde.



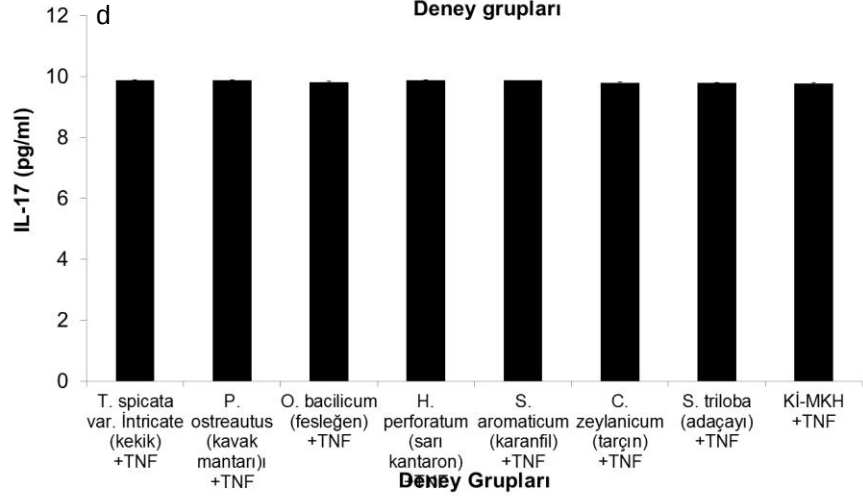
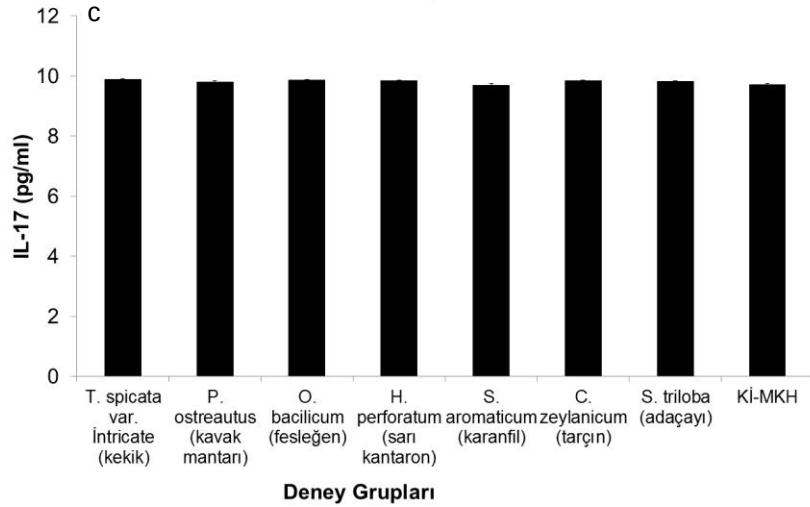
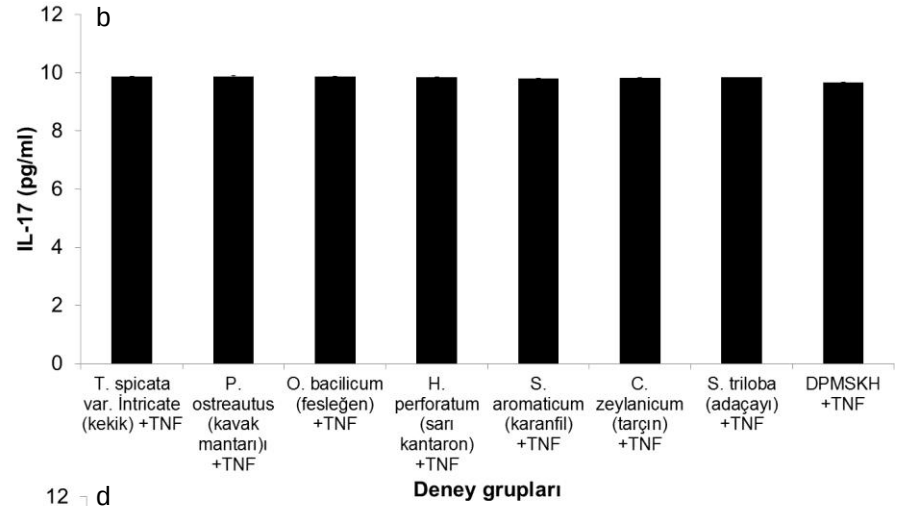
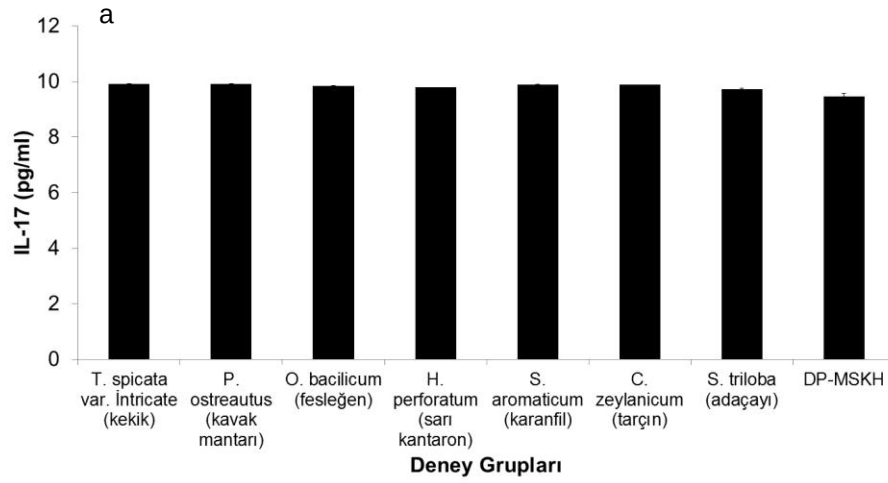
Şekil 4.26. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve KI-MKH'lerinde IL-1 β salınımı üzerindeki etkileri (a), (c): İnflamatuvar uyarım olmadan. (b), (d): Bitki ekstraktları eklendikten bir saat sonrasında TNF- α ile inflamatuvar uyarım gerçekleştirildiğinde.



Şekil 4.27. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve KI-MKH'lerinde TGF- β salınımı üzerindeki etkileri (a), (c): İnflamatuvar uyarım olmadan. (b), (d): Bitki ekstraktları eklendikten bir saat sonrasında TNF- α ile inflamatuvar uyarım gerçekleştirildiğinde.



Şekil 4.28.Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerinde IL-10 salınımı üzerindeki etkileri (a), (c): İnflamatuvar uyarım olmadan. (b), (d): Bitki ekstraktları eklendikten bir saat sonrasında TNF- α ile inflamatuvar uyarım gerçekleştirildiğinde.



Şekil 4.29. Bitki ekstraktlarının DP-MSKH ve KI-MKH'lerinde IL-17 salınımı üzerindeki etkileri (a), (c): İnflamatuvar uyarım olmadan. (b), (d): Bitki ekstraktları eklendikten bir saat sonrasında TNF- α ile inflamatuvar uyarım gerçekleştirildiğinde.

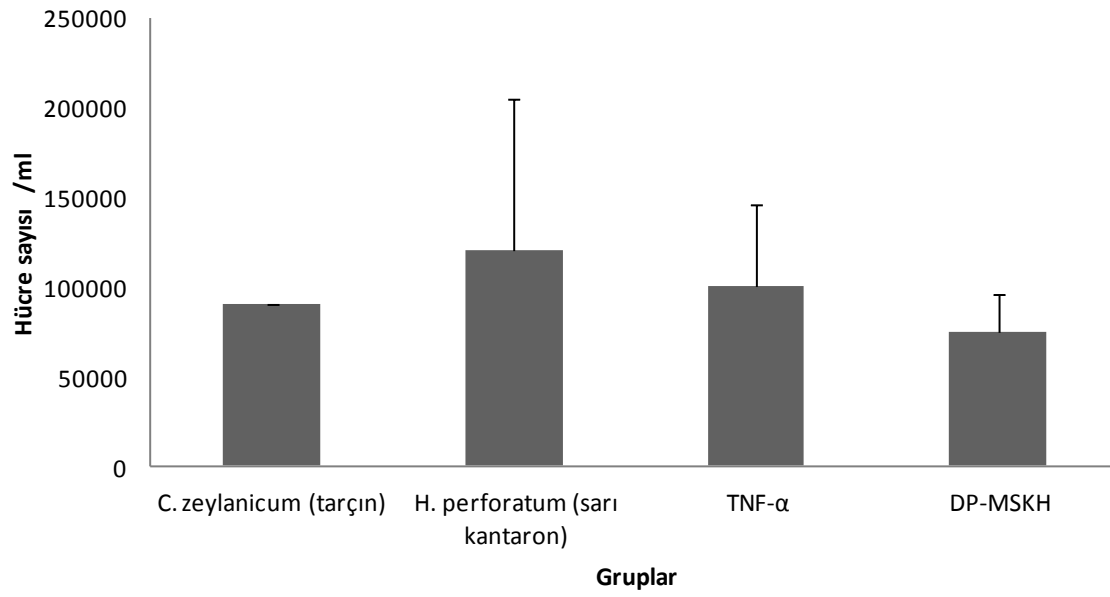
Kültür supernatantlarında antiinflamatuvar sitokin salınımları incelendiğinde, DP-MSKH'lerin herhangi bir uyarım olmaksızın IL-10 salınımı 4 pg/ml olarak belirlenirken, bitki ekstraktları ile muamele edildiğinde IL-10 miktarının arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.28.a). İnflamasyonlu ortamda IL-10 miktarının *T. spicata* var *intricate*, *H. perforatum*, *S. triloba* ekstraktları ile muamele edilen DP-MSKH'lerde belirgin şekilde arttığı görülmüştür (Şekil 4.28.b). Kİ-MKH'ler inflamasyonsuz ortamda DP-MSKH'lere göre daha düşük IL-10 salınımı gerçekleştirmesi belirlenirken, inflamasyonlu ortamda özellikle *H.perforatum* ile muamele edilmiş hücrelerin IL-10 salınımları yüksek bulunmuştur (Şekil 4.28.c,d).

Antiinflamatuvar sitokinlerden biri olarak yeni araştırılmaya başlanan IL-17 salınımı araştırılmıştır (Şekil 4.29). DP-MSKH için inflamasyonsuz ortamda bitki grupları arasında IL-17 düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). DP-MSKH bitki ekstraktları eklendiğinde IL-17 seviyesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

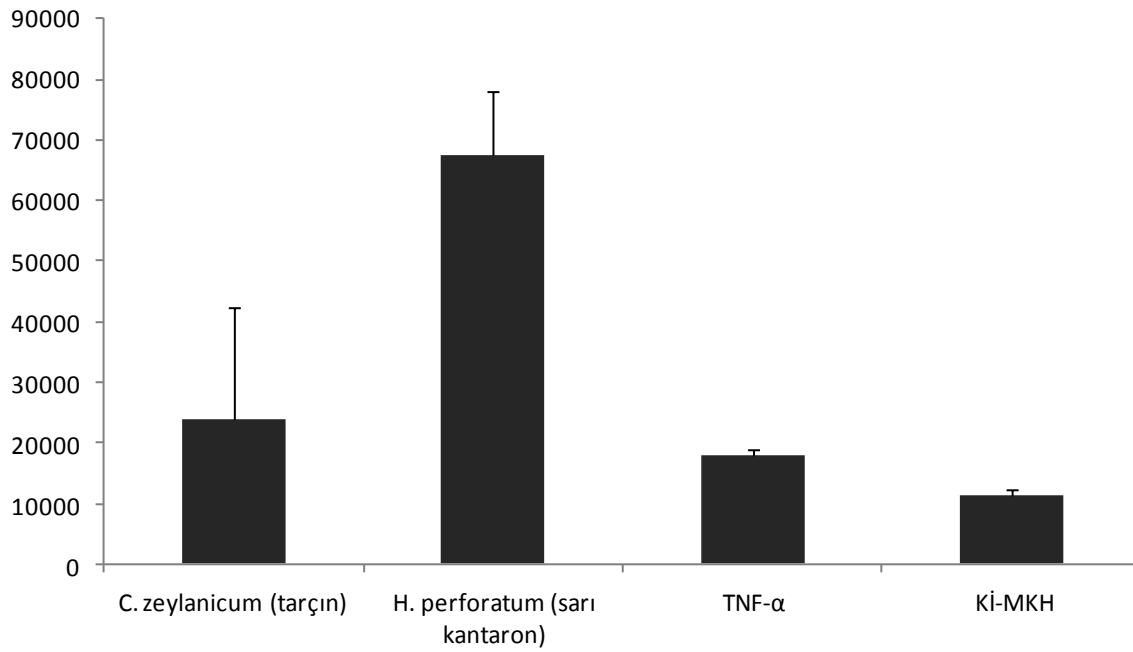
4.5. Doğal Ekstraktların MKH Migrasyon Yeteneği Üzerindeki Etkileri

Bulundukları nişlerden ayrılarak hasarlı dokuya kök hücrelerin hareketi (migrasyon); farklılaşma ve yara iyileşmesinin gerçekleşebilmesi için önemlidir. Bundan dolayı osteojenik farklılaşması en iyi olan, yüksek proliferatif özellik gösteren, ikiye katlanma süresi kısa olan ve IL-10 salınımı yüksek *H. perforatum* ile *C. zeylanicum* ekstraktları çalışmaya alınmıştır. Kontrol grubu olarak TNF- α kullanılmıştır.

Şekil 4.30'da *H. perforatum*'un DP-MSKH'leri kontrol grubuna göre daha yüksek oranda (120000 h/ml) migrasyon için uyardığı gösterilmektedir. *C. zeylanicum* 90000 h/ml ile TNF- α uyarımına yakın olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.31'de *H.perforatum* ve *C. zeylanicum*'un Kİ-MKH'lerinde migrasyon uyarma miktarı gösterilmiştir.



Şekil 4.30. *C. zeylanicum* ve *H. perforatum* bitki ekstraktlarının DP-MSKH migrasyonu üzerindeki etkisi



Şekil 4.31. *C. zeylanicum* ve *H. perforatum* bitki ekstraktlarının Kİ-MKH migrasyonu üzerindeki etkisi

4.6. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi

Bakteri kültürlerinin üzerinde, çalışmada kullanılan ekstraktların bakteriyel etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan disk difüzyon çalışmalarının sonuçları Çizelge 4.2'de gösterilmektedir. Kontrol grubu olarak diş hekimliğinde operasyonları takiben hastalara kullanılması önerilen Amoksisilin diskler (10µg) kullanılmıştır. Çalışmada NCCLS standartlarına göre, Gram pozitif bakteriler için; Çizelge 4.2'de belirtilen standartlar göz önünde bulundurularak değerlendirme yapılmıştır.

Çizelge 4.2. Seçilmiş Bitki Ekstraktlarının ve Antibiyotiğin Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri

Bakteri suşları	<i>H. perforatum</i>	<i>C. zeylanicum</i>	Amoksisilin
	(sarı kantaron)	(tarçın)	
<i>Streptococcus gordonii</i> ATCC 10558	41	0	53
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	35	0	42
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0	0	37

H. perforatum ekstraktı ile muamele edilen *S. gordonii* ATCC 10558 (Resim 4.6), *S. mutans* ATCC 25175 (Resim 4.7), suşlarının gelişiminin inhibisyonunu gösteren zon çapları ölçüldüğünde bakterisidal etkinliğin ne denli yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak *S. aureus* (Resim 4.8) üzerinde inhibisyon etkisi görülmemiştir. *C. zeylanicum* ekstraktının test bakterileri üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisi görülmemiştir. Bundan dolayı minimum inhibisyon konsantrasyon belirleme çalışmasında yalnızca *H.perforatum* ekstraktı kullanılmıştır.

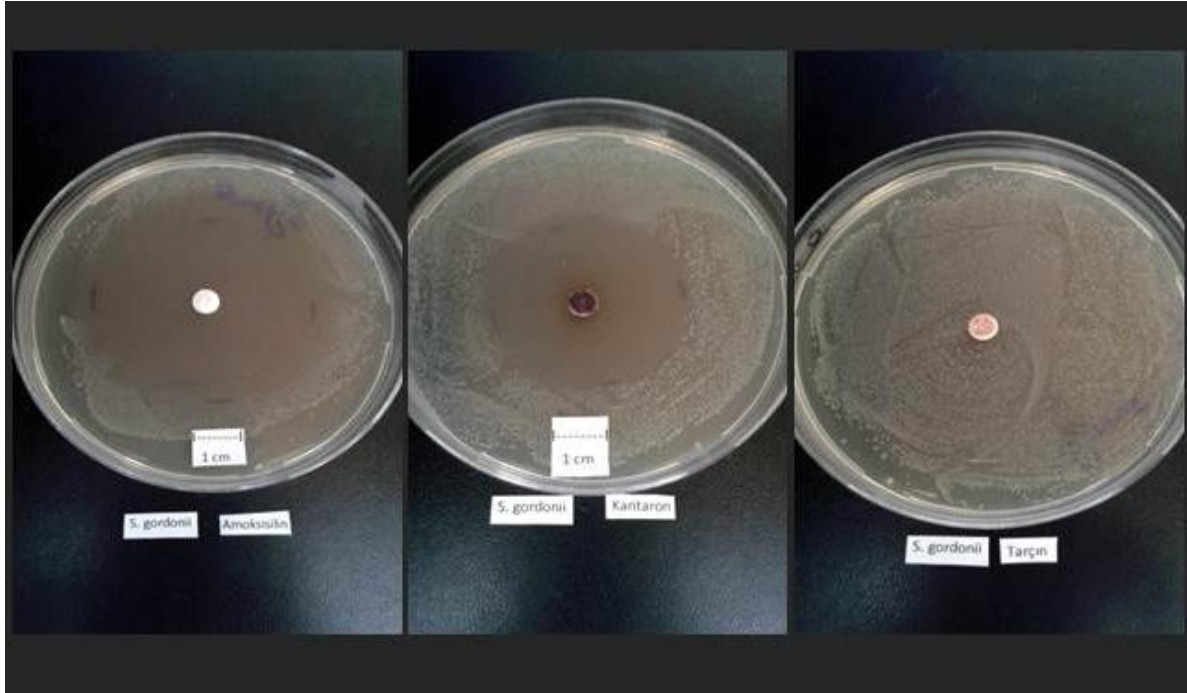
Çizelge 4.3. NCCLS standartlarına göre Amoksisilin disk difüzyon zon çapı değerlendirmesi

Bakteri adı	Zon çapı değerlendirmesi			MİK değerlendirmeleri		
	Duyarlı	Orta	Dirençli	Duyarlı	Orta	Dirençli
<i>Staphylococcus</i> sp.	≥ 29	-	≤ 28	≤ 0.25	-	≥ 0.5
<i>Streptococcus</i> sp.	≥ 26	19 - 25	≤ 18	≤ 0.25	0.5 to 4	≥ 8

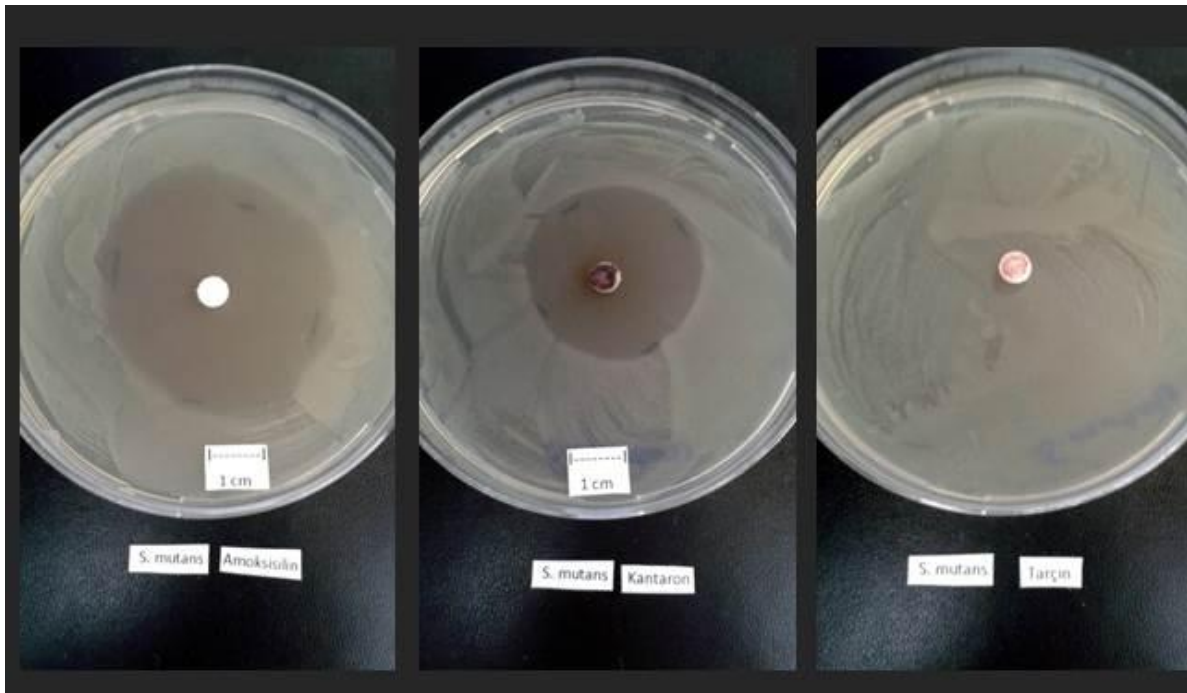
H. perforatum ve Amoksisilin için MİK değerleri Çizelge 4.4'de gösterilmektedir. Elde edilen verilere göre *H. perforatum* MİK değeri, *S. mutans* ATCC 25175 için Amoksisilin ile aynı değerdedir.

Çizelge 4.4. Bitki ekstraktlarının bakteri suşları için MİK değerleri

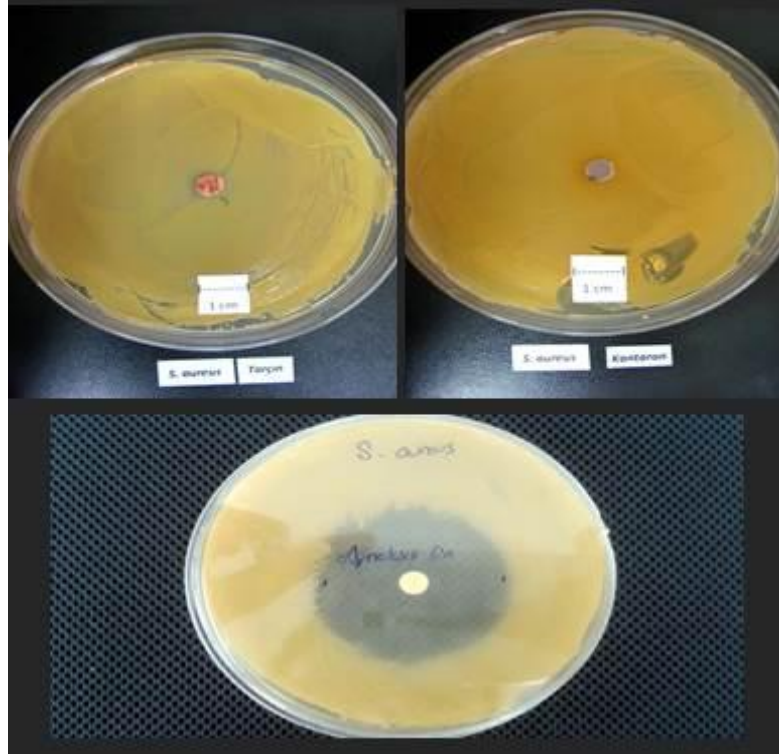
Bakteri suşları	MİK değerleri (mg/ml)	
	<i>H. perforatum</i>	Amoksisilin
<i>Streptococcus gordonii</i> ATCC 10558	0,1	0,05
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	0,1	0,1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	5	0,1



Resim 4.6. Amoksisilin, *H. perforatum*, *C. zeylanicum* ekstraktlarının *S. gordonii* üzerinde gösterdiği antimikrobiyal etkiler



Resim 4.7. Amoksisilin, *H. perforatum*, *C. zeylanicum* ekstraktlarının *S. mutans* üzerinde gösterdiği antimikrobiyal etkiler



Resim 4.8. Amoksisilin, *H. perforatum*, *C. zeylanicum* ekstraktlarının *S. aureus* üzerinde gösterdiği antimikrobiyal etkiler

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kolay veya zor çekimlerde, minimal travmatik metodların kullanılması durumunda bile ortaya çıkabilen bir patoloji olan alveolitis için literatürde çok çeşitli etiyolojiler öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda tüm klinik ve histolojik deliller alveolitisin bozulmuş iyileşme gösteren çekim yarasından kaynaklandığını desteklemektedir. Alveolitise neden olan birçok etiyolojik faktörün açıklanmasına ve alveolitisin etiyopatogenezi ile ilgili birçok teorinin öne sürülmesine rağmen önemli deliller alveolitisin travmatik girişim, cerrahi öncesi kötü oral hijyen ve buna bağlı olarak bakteriyel invazyon ve bunların plazmin ve fibrinolitik sistem ile etkileşiminden kaynaklandığını göstermektedir (Penarrocha, Sanchis, Saez, Gay ve Bagan, 2001; Cheung, Chow, Tsang ve Tung, 2001).

Alveolitis insidansı literatürde, çok değişik oranlarda rapor edilmiştir. Tuncay, alveolitis vakalarının %51.3'ünün çekim nedeninin apikal periodontitis, %15'inin periodontitis, %33.7'sinin ise derin çürüklü dişlerden oluştuğunu bildirmiş olsa da periodontal hastalık, çürük vs. çekim endikasyonlarının soket komplikasyonu gelişmesinde etkisinin olmadığını; ayrıca çekimlerin deneyimli ve deneyimsiz hekim tarafından yapılmasının soket komplikasyonu açısından farkının olmadığı da rapor edilmiştir (Tuncay, 1989). Poor ve ark., alveolitis insidansının 3. molarların gömülülüğünün tipine göre değiştiğini, oral kontraseptif kullanan hastalarda alveolitis insidansının arttığını ifade ederken (Poor, Hail ve Poor, 2002) Delilbaşı ve ark., dişin konumu ve alveolitis insidansı arasında önemli bir ilişki bulamamışlardır (Delilbaşı ve diğerleri, 2002). Ögütçen ve Yılmaz, gömülü alt 3. molar dişlerin çekimi sonrasında toplam alveolitis insidansını %29 oranında bulmuşlardır (Ögütçen ve Yılmaz, 1989). Diğer yandan Tuncay tüm çekimler için alveolitis sıklığını %1,6 olarak bildirmiştir. Güngörmüş ve ark., 4104 normal diş çekiminden sonra %1,3 sıklıkla alveolitis oluştuğunu belirlemişlerdir. Verilere dayanarak alveolitis insidansının, rutin dental ekstraksiyonlar sonrasında %3-4 olduğu ve mandibuler 3. molarların ekstraksiyonundan sonra da bu oranın %1 ile yaklaşık olarak %29 arasında değiştiği görülmektedir (Güngörmüş, Yıldırım, Gürbüz ve Ertuş, 2000). Bildirilen alveolitis insidansındaki bu büyük farklılık büyük ölçüde, diagnostik kriterlerdeki ve değerlendirme yöntemlerindeki farklılıklara bağlı olmakla birlikte, popülasyondaki bireylerin ağrı eşiklerindeki değişiklikler de söz

konusudur. İnsidansın %1 olduğunu iddia eden çalışmalar klinik güvenilirlikten yoksunken olağanüstü yüksek oranların (%29 gibi) bildirildiği çalışmalar, henüz ortaya konmamış yani çözümlenememiş başka değişkenlerin söz konusu olabileceğini veya örnek büyüklüğünün yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Alveolitis oluşumunun önlenmesi için farklı yöntemlerin kullanıldığı, ancak kesin sonuç alınamadığı görülmektedir. Swanson (1989), gömülü alt 3. molar dişlerin çekimi sonrasında alveolit insidansını kaviteye profilaktik olarak tetrasiklin süspansiyonu uygulanan grupta %3,9, plasebo grubunda ise %20,4 olarak tespit etmiştir (Swanson, 1989). Poor ve ark., klindamisin emdirilmiş Gelfoam ile alveoler kemik üzerine yerleştirilen Salicept Patch'i karşılaştırmışlardır (Poor ve diğerleri, 2002). 2095 diş çekiminden sonra Gelfoam uygulanan grupta %8, patch uygulanan grupta da %1,1'inde alveolitis gelişmiştir. Ragno ve Szkutnik, alt 3. molarların cerrahi çekiminden hemen önce ve postoperatif 7 gün boyunca %0,12'lik klorhekzidin gargaranın alveolitis oluşumunu azalttığını göstermişlerdir (Ragno ve Szkutnik, 1991). Delilbaşı ve ark. (2002), alveolitisin önlenmesinde postoperatif %0,2'lik klorhekzidin gargara (KHz), KHz ve amoksisilin+klavulanik asit ile serum fizyolojinin etkinliğini karşılaştırdıkları araştırmalarında alveolitis insidansını KHz grubunda %20,9, KHz ve amoksisilin+klavulanik asit grubunda %8,9, serum fizyolojik grubunda ise %23,7 bulmuşlardır. Antibiyotik grubunda alveolitis insidansının önemli derecede az olduğunu; alveolitisin azaltılmasında klorhekzidin postoperatif irrigasyon olarak serum fizyolojiktan daha etkili olmadığını, beta laktamaz içeren bir antibiyotikle birlikte kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edildiğini rapor etmişlerdir. Bloomer, alt 3. molarların çekiminden hemen sonra Peru balsamı ve öjenol içeren pat konulmasının alveolitis oluşma insidansını önemli derecede azalttığını göstermiştir. Alveolitis oranının kontrol grubunda %36, deney grubunda %17,5 oranında olduğunu tespit etmişlerdir (Bloomer, 2000). Ancak, günümüzde bakterilere karşı gelişen antibiyotik direnci, çözümlenmesi gereken bir sorun olarak mevcudiyetini korumaktadır. Öjenol, *S. aromaticum*'un etken maddesi olup doğal terapötik ajanlar arasında sayılabilmektedir. Bu yönüyle önleyici veya tedavi edici olarak yan etkisi en az olan ajanlar arasında sayılabilir.

Çekim soketinde oluşan pıhtının mikroorganizma invazyonu ya da herhangi bir neden ile bozularak inflamasyonun başlaması ve sonucunda osteojenik farklılaşmanın meydana gelememesi ile oluşan alveolitisin antibiyotik ya da gargaralar ile engellenmeye/ tedavi edilmeye çalışılması soruna kesin çözüm getirememektedir. Diş ve periodonsiyumun immünohistokimya çalışmalarında, ekstraksiyon sonrasında periodontal ligament ve dokuyu çevreleyen ilikteki progenitör hücrelerin varlığı görülmüş ve bu hücrelerin ekstraksiyon soketinin iyileşmesine katkıda bulunduğu önerilmiştir (Hosokawa, Sakakura, Irie, Kudo ve Kashiwakura, 2010). Ancak alveolitis durumunda mikrobiyal invazyon ve inflamasyon sebebi ile progenitör hücrelerin etkinliklerinin zayıfladığı düşünülmektedir.

Devlin ve ark., diş ekstraksiyonunu takiben farklı olgunlaşma evresine göre değişen şekilde osteonektin, osteopontin ve osteokalsin eksprese eden osteoprogenitor hücrelerin diş çekim soketine göç ettiğini tespit etmişlerdir. Diş çekim soketinde osteojenik farklılaşmanın markırı olan Runx2 'nin osteoprogenitörler ve olgun endosteal osteoblastlar tarafından eksprese edildiğini belirtmişler ancak iyileşme soketindeki osteoblastlar arasında Runx2, osteokalsin ve diğer markırların ekspresyonunun heterojenitesi ile karşılaşmışlardır. Bu heterojenitenin soketteki mevcut mikro çevredeki durumdan dolayı osteoblastların apoptozisinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (Devlin ve Sloan, 2002). Böyle bir durumda, dışarıdan uygulanacak ve alveolitis sonucu oluşan etkileri hafifletecek gargara, antibiyotik, patlar yerine, konakta bulunan dental stromal kök hücre davranışlarının yerinde yönlendirilmesinin alveolitis sürecinin daha oluşmadan önlenmesinde sonuç verebileceği sunulan çalışmamızda önerilmektedir. Soket bölgesine, kök hücrelerin göç etmelerini uyan, doku iyileşmesi ve hücrelerin kemik farklılaşmasını olumlu yönde etkileyen, antiinflamatuvar ve antibakteriyel etkiye yol açabilecek doğal ekstraktlar alveolitisin önlenmesi ve tedavisinde kullanılabileceği gibi diş hekimliğinin tüm alanlarında faydalı olacağı düşünülmektedir.

Bitkiler yüzyıllardır hastalıkları önlemek ve onlardan korunmak için kullanılmaktadır. Bitki ekstraktları vücuttaki spesifik kimyasal reseptörler ile etkileşime geçerek, farmakodinamik duyarlılıkta drug olarak işlev görmektedir.

Tıbbi bitkiler, hastalarda geleneksel tedavilerin yol açtığı yan etkileri kaldırmak amacıyla kullanılıyor olsa da, kendilerinin de spesifik yan etkilerinin olmadığı düşünülememektedir. Tıbbi bitkiler bugüne kadar her kültürde kullanılmış olsa da farmasötik şirketler bugüne kadar tıbbi bitkilerin kullanılmasını reddetmiştir. Son yıllarda, “alternatif tedavi” adı altında tıbbi bitkiler yeniden ilgi çekmeye başlamıştır. Diş hekimliğinde, tıbbi bitkilerde en büyük bilgi eksikliği ve problem, oral doku ve hücreler üzerindeki araştırma ve rapor eksikliğidir. Aspirin (beyaz söğüt kabuğu), sudafed (Ephedra bitkisinin ekstraktı) gibi marketlerde kolaylıkla bulunabilen pek çok ilacın kökeninin bitkiler olduğu ve etkinlik alanının genişliği göz önünde bulundurulduğunda yeni bitkilerin keşfedilmesi, etkinliklerinin araştırılması önem kazanmaktadır (Taheri ve diğerleri, 2011). Sunulan çalışmada antimikrobiyal özelliği literatürden bilinen *Pleurotus ostreatus*; *Syzygium aromaticum*; *Ocimum basilicum*; *Thymbra spicata* var *intricate* ile bu özelliklere ilave olarak antiinflamatuvar yetenekleri olduğu rapor edilmiş *Cinnamomum zeylanicum*; *Hypericum perforatum*; *Salvia triloba* bitkilerine ait ekstraktların DP-MSKH'lerin gelişme, farklılaşma, migrasyon yetenekleri yanısıra antibakteriyel ve inflamatuvar ortamda hücre yanıtı üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Bitki ekstraktlarının hücreler üzerindeki etkinliğini araştırmadan önce DP-MSKH'lerin biyoloji ve davranışlarının iyi bilinmesi, referans olarak kullanılan Kİ-MKH'lere ne kadar benzediği ve hangi noktada ayrıldığı belirlenmesi gerekmektedir. Dental pulpa kök hücreleri ilk olarak Gronthos ve ark. tarafından tanımlanmış (Gronthos ve diğerleri, 2000) ve diş hekimliğinde, dental kaynaklı kök hücre biyolojisi ve doku mühendisliği ile ilgili araştırmalar artan hızla devam etmiştir. İlk çalışmalar oral ve maksillofasiyal bölgede kök hücre kaynaklarının araştırılmasına yöneliktir (Gronthos ve diğerleri, 2000; Miura ve diğerleri, 2003; Seo ve diğerleri, 2004; Matsubara ve diğerleri, 2005; Morsczeck ve diğerleri, 2005b; Izumi ve diğerleri, 2007). Bu çalışmada, yüksek proliferasyon gösterebilmesi, klonlanabilmesi, yüksek plastisite özelliğine sahip olması, sürme sonrası dönemde yok olmaması sayesinde kök hücre miktarını koruduğu bildirilen (Yang ve Fan, 2005) 20 yaş diş pulpalarından elde edilen stromal kök hücreler (DP-MSKH) kullanılmıştır. Oromaksillofasiyal kaynaklardan elde edilen hücrelerin tanımlanmasında referans olarak kemik iliği kaynaklı kök hücreler (Kİ-MKH) kullanılmaktadır (Huang, Gronthos ve Shi, 2009). Sunulan çalışmada, önceki

çalışmalarda ekstrakte edilen yirmi yaş diş pulpalarından elde edilmiş, fiziksel ve immünolojik özellikleri stromal karakterde olan, *in vitro* ortamda indüklendiğinde osteositlere ve kondrositlere dönüşen DP-MSKH'ler elde edilmiştir. DP-MSKH'lerin yüzey analizlerinden elde edilen sonuçlarda, bu hücrelerin MKH'ler için tanımlanmış yüzey antijenlerine (Horwitz ve diğerleri, 2005; Dominici ve ark., 2006) sahip olduğu ve dental pulpa, periodontal ligament, dental folikül dokusu kaynaklı MKH ve bukkal mukoza kaynaklı fibroblastların karakterizasyon yapıları ile uyum gösterdiği belirlenmiştir (Lindroos ve diğerleri, 2008).

Literatürde sıkça tartışılan bir konu, MKH'leri tanımlamak için belirlenen kriterlerin spesifik olmadığı, stromal karakterde diğer hücrelere benzerlik gösterebileceğidir. Dental pulpa dokusu fibroblast hücrelerinin yoğun olarak bulunduğu bir dokudur. Her iki hücre tipi (MKH ve fibroblast) de mezoderm kökenlidir ve birçok dokudan izole edilebilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar fibroblastların fenotip (morfoloji ve spesifik yüzey antijenleri) veya büyüme kapasitelerine göre MKH'den ayırt edilmelerinin zorluğuna işaret etmektedir. Bu ayrımda MKH'lerin fibroblastlardan farklı olarak geniş bir farklılaşma kapasitesine sahip olmasının önemli olduğu bildirilmiştir (Barry ve Murphy, 2004; Javazon, Beggs ve Flake, 2004). Dental kök hücrelerin, osteo/odontojenik, adipojenik ve nörojenik olmak üzere en az 3 farklı hücre kökenine çoklu farklılaşabilme potansiyeli gösterebildiği çalışmalarda gösterilmiştir (Parker, 2004). Ancak ilk ya da ileri pasajlarda bunun gerçekleştiği hakkında bir veri yoktur. Ayrıca, mikroskop ile objektif alanında yapılan farklılaşma değerlendirmeleri kantitatif olmayıp görecelidir. Dental dokular, yeniden şekillenme sürecini durdurmuş özelleşmiş dokular olduğundan dolayı, dental doku kaynaklı kök/progenitör/stromal hücreler Kİ-MKH'ler ile karşılaştırıldığında daha kısıtlı ya da sınırlı kapasitede farklılaşma özelliğine sahiptirler. Sunulan çalışmada DP-MSKH'lerde yalnızca kemik ve kıkırdak farklılaşmalarının olduğu görülmüş, adiposit hücrelere dönüşümün gerçekleşmediği belirlenmiştir. Kİ-MKH'ler ile karşılaştırıldığında osteojenik hücrelere dönüşümün daha fazla olması da bu hipotezi doğrular niteliktedir.

Dental dokularda yer alan stromal kök hücreler, genellikle sağlam ve dayanıklı kompleks bir yapıyla çevrilidir. Ancak bu yapılar, travma ve mikrobiyal maruziyete karşı son derece hassastır. Diş ekstraksiyonu gibi cerrahi travmatik bir girişimde,

hastanın oral hijyeninin de iyi olmadığı durumlarda alveolitis oluşmakta ve iyileşme gecikmektedir. Bunun önüne geçmek için bölgede stromal kök hücre sayısının korunması önemlidir. Bu amaçla sunulan çalışmada bitki ekstraktları ile muamele edilen DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerin proliferasyon kapasiteleri araştırılmıştır. Proliferasyon, tripan mavisi canlılık sayım yöntemine göre belirlenen 3 konsantrasyon ile xCelligence cihazı ile eş zamanlı olarak takip edilmiştir. DP-MSKH ve Kİ-MKH'ler karşılaştırıldığında Kİ-MKH'lerin ikiye katlanma süreleri DP-MSKH'lerden daha kısa bulunmuştur. *C.zeylanicum*, *S. aromaticum*, *P. ostreatus* ekstraktları DP-MSKH'lerde artan konsantrasyonlarda (5, 10, 25 µg/ml) ikiye katlanma süresini arttırırken, Kİ-MKH'lerde yalnızca 10 µg/ml konsantrasyon yüksek bulunmuştur. Benzer sonuç DP-MSKH'lerde *O. basilicum* ve *T. spicate var. intricate* ekstraktlarında gözlenmiştir. Anılan iki ekstrakt Kİ-MKH'lerde de aynı konsantrasyonda yüksek sonuç vermiştir. *H. perforatum*'un DP-MSKH ikiye katlanma süresini azalttığı görülmüştür.

MKH'lerin proliferasyon kapasitesi ve yaşlanması bu hücrelerin hücre terapisi ve doku mühendisliğinde kullanılmaları nedeni ile önemlidir. Bundan dolayı farklı dokulardan elde edilen MKH'lerin proliferasyon kapasitelerinin bilinmesi gerekmektedir. Kİ-MKH'ler ile kordon kanı MKH'leri karşılaştırıldığında kordon kanı MKH'lerinin daha yüksek proliferasyon kapasitesine sahip olduğu rapor edilmiştir (Balsh, Song ve Tuan, 2004; Lu ve diğerleri, 2006; Balsh ve diğerleri, 2007). Yağ dokusu MKH'lerinde de ikiye katlanma süreleri Kİ-MKH'lerinden yüksek bulunmuştur (Kern, Eichler, Stoeve, Kluter ve Bieback, 2006). DP-MSKH'ler incelendiğinde artmış ikiye katlanma süresi olduğunu bildiren raporlar mevcuttur (Schanek ve diğerleri, 2007). Ayrıca, süt dişi pulpasından elde edilen stromal kök hücrelerin ikiye katlanma süresinin, 3. molar pulpasından elde edilenlere göre daha kısa olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar dokunun yaşlandıkça kök hücre sayısı ve potansiyellerinin azaldığını doğrulamaktadır (Abdullah ve diğerleri, 2014). İlginç olarak çalışmalarda erkek donörlerden elde edilen DP-MSKH'lerin kadın donörlerden alınan DP-MSKH'ler ile karşılaştırıldığında daha ikiye katlanma süresinin uzun olduğu bildirilmiştir (Crisostomo ve diğerleri, 2007). Kadın donörlerden elde edilen hücrelerin telomerazı upregüle eden östrojene daha fazla maruz kalması ile de açıklanabilecek olan bu durum, yine de doku yaşlanmasına bağlı olarak hücrelerin rejeneratif kapasitelerinin azaldığını göstermektedir (Kyo,

Takakura ve Tanaya, 1999). Bu sonuçlar, hücrelerin orjininin kaynaklandığı dokunun farklılaşmasından ve değişik kültür vasatlarından kaynaklanabilmektedir. Sunulan çalışmada bitki ekstraktlarından, özellikle *H. perforatum* ekstraktının ikiye katlanma sürelerini kısaltmış olması bahsedilen değerlendirmelere göre doku yaşlanmış bile olsa rejeneratif özelliğini hızlandırabileceğini göstermektedir. Ancak devam çalışmaların yapılması gereklidir.

Bitki ekstraktlarının yalnızca hücre indeksini artırması ve ikiye katlanma süresini azaltması değil dış ekstraksiyonunu takiben soket bölgesinde osteojenik farklılaşmayı uyarması da önemlidir. Bu amaçla sunulan çalışmada DP-MSKH ve Kİ-MKH'ler bitki ekstraktları ile muamele edilerek farklılaşma kapasiteleri incelenmiştir. Osteojenik farklılaşma DICA 500 spektrofotometrik kit ile kalsiyum granül miktarına göre değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, *S. triloba*, *O. bacilicum*, *S. aromaticum*, *P. ostreatus*, *T. spicata* var *intricate*'nin kontrol grubuna göre DP-MSKH'lerde osteojenik farklılaşmayı azaltmıştır. *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarının osteojenik farklılaşmayı olumlu yönde etkilediği görülmüştür.

MKH'ler osteojenik uyarıcı kültür içine alındıkları zaman matriks ve kemik oluşumundan sorumlu osteoblastlar tarafından eksprese edilen markırları sentezlemektedirler. *In vitro* ortamda MKH'lerin osteojenik farklılaşması 3 ana safhada gerçekleşmektedir (Huang, Nelson, Smith ve Goodman, 2007). İlk safhada osteojenik kültür vasadı ile muamele edildikten sonraki 1-4. günler hücre sayısında gözlenen artışın en fazla olduğu zamandır. 5-14. günlerde erken hücre diferansiyasyonu gerçekleşmektedir. Bu süreçte alkalın fosfataz (ALP) enzimi transkripte edilmekte ve sentezlenmektedir (Aubin, 2001). Bu süreçten sonra ALP azalmaya başlamaktadır. Son safha olan 14-28. günlerde ise osteokalsin, osteopontinin yüksek oranda ekspresyonu kalsiyum ve fosfat depolanması ile son bulmaktadır (Hoemann, El-Gabalawy ve Mckee, 2009).

Kalsiyum granüllerinin oluşumu osteokalsin ve osteonektin ile birlikte osteojenik farklılaşma belirteçlerinin en önemlilerinden biridir. Sunulan çalışmada osteokalsin ve osteonektin miktarları ELISA kit yöntemi ile kültür supernatantlarında araştırılmıştır. Kemik matriksinin kollajen olmayan ana komponentlerinden birisi

olan osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir. Osteojenik yönde uyarılmış rat Kİ-MKH'lerinde kültür supernatantında osteokalsinin 8. günden 16. güne kadar tespit edilebildiği bildirilmiştir (Nakamura ve diğerleri, 2009). Buna karşılık, 13. günde ekstraselüler matriksteki osteokalsin miktarı düşük bulunurken, kalsiyum granül miktarı yüksek bulunmuştur. Osteokalsin mRNA'sının *in vitro* histolojik ekspresyonunun 6. ve 9. günlerde görüldüğü ve bu günlerden sonra osteoblastik hücrelerin olgunlaştığı belirtilmiştir. Transkripsiyon faktörü *core-binding-1* ve *osteorix* gibi osteogenez spesifik genlerinin ekspresyonunun sekretuar osteokalsinden sonra gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar osteokalsin sekresyonundan sonra mineralizasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Yapılan bu çalışmada, osteokalsin miktarı kalsiyum granülleri oluştuktan sonra (21. günde) aranmış ve miktarları, kontrol grubu ile hemen hemen aynı bulunmuştur. Osteonektin, osteoblastlar tarafından sentezlenen ve kollajen olmayan matriks proteinlerinden bir tanesidir. Choi ve ark.'ının yapmış olduğu bir çalışmada MC3T3-E1 hücre hattı osteojenik yönde uyarılmış ve osteonektin mRNA'sı 10. günde tespit edilmiş, 16. güne kadar ekspresyonunu koruduğu bildirilmiştir. Matriks mineralizasyonunu takiben, osteonektin ekspresyonunun downregüle olduğu görülmüştür. Benzer sonuçların, aynı kültür koşullarının kullanıldığı başka çalışmalarda da görüldüğü belirlenmiştir (zur Nieden, Kempka ve Ahrr, 2003). İnsan MKH'leri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, 7. günde osteonektin gen ekspresyonunun en yüksek seviyede olduğu ve 14-21. günler arasında downregüle olduğu görülmüştür. Osteokalsin gen ekspresyonunun ise kültür süresince arttığı tespit edilmiştir (Ardehshirylajimi, Soleimani, Hosseinkhani, Parivar ve Yaghmaei, 2013). Çalışmamızda bitki ekstraktları ile muamele edilen hücrelerin mineralizasyonunun kontrol grubuna göre daha erken başlaması ve farklılaşmanın tamamlanması sebebi ile osteonektin miktarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve literatürü desteklediği düşünülmektedir. Osteokalsin miktarında ise bitki ekstraktları ile birlikte muamele edilen hücrelerde kontrol grubu ile hemen hemen aynı bulunmuştur. Bu sonuçlara göre bitki ekstraktlarından *H. perforatum*, *C. zeylanicum*, *O. basilicum* DP-MSKH'lerde osteojenik farklılaşmayı en iyi uyaran ekstraktlar olarak belirlenmiştir. Kİ-MKH'lerde osteojenik farklılaşmada özellikle *C. zeylanicum* ekstraktının kalsiyum granül miktarını azaltması ve *P. ostreatus*

ekstraktının arttırması ekstraktların etken maddelerinin farklı mekanizmalar üzerinden etkilediğini düşündürmektedir.

Diş hekimliğinde osteojenik farklılaşmayı olumlu yönde etkileyecek ajanlar tercih edilmektedir. Osteojenik farklılaşmayı uyarmanın yanında, immünolojik reaksiyonlarda hücreler üzerinde ne gibi etkilere sebep olduğunun da bilinmesi gerekmektedir.

MKH'ler, organ transplantasyonları ve graft-vs-host hastalığı tedavisinde, inflamatuvar hastalıklarda ve diğer otoimmün hastalıklarda immünsupresif olarak kullanılan mükemmel bir ajandır (Rasmusson, 2006; Uccelli, Moretta ve Pistoia, 2006; Uccelli ve diğerleri, 2007). Yapılan çalışmalarda varılan ortak kanı, özellikle Kİ-MKH'lerin immün yanıtları, hücre hücre etkileşimleri ve parakrin etkilerle düzenlediğidir (Loftinegad, 2014). Kİ-MKH'ler doğal ve kazanılmış immün yanıtın her ikisine birden etki ederek immün yanıtın kuvvetini azaltabilirler (Ben-Ami, Berrih-Aknin, Miller, 2011). Kİ-MKH'ler doğal immün yanıt hücrelerini (dendritik hücreler, doğal öldürücü hücreler, monosit, nötrofil) ve kazanılmış immün sistem hücrelerini (B, TH1 ve T-CTL) inhibe edebilirler. Kİ-MKH'ler aracılığı ile sekrete edilen çözünebilir faktörler prostaglandin- E_2 (PGE_2) (Agaugue, Perrin-Cocon, Coutant, Andre ve Lotteau, 2006), transforme edici gelişme faktörü $-\beta$ ($TGF-\beta 1$) (Groh, Maitra, Szekely ve Koc, 2005), interlökin-6 (IL-6) (Najar ve diğerleri, 2009), nitrik oksit (NO) (Ren ve diğerleri, 2008), indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) (Meisel ve ark., 2004), ve IL-10'u (Batten ve diğerleri, 2006) içermektedir. Medyatör salgıların tümör nekroz faktör $-\alpha$ (TNF- α) ve interferon-gama (IFN- γ) tarafından stimule edildiği ve inflamatuvar mikro çevrelerde yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir (Ren ve diğerleri, 2008). Yapılan bu çalışmada TNF- α 'nın dahil edilme nedeni plazminojen tip ürokinaz aktivatörünün etkisini arttırması ve tip 1 plazminojeni inhibe etmesidir. IFN- γ ile muamele edilen fare ve rat MKH'lerinin aktive olduğu ve graft versus host hastalığını baskılayabildiği *in vivo* olarak gösterilmiştir (Polchert ve diğerleri, 2008). Benzer olarak yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin IFN- γ ile muamele edildiğinde T-hücre proliferasyonunu, IFN- γ ile muamele edilmeyenlere göre daha fazla inhibe edebildiği rapor edilmiştir (Crop ve diğerleri, 2010). Bu veriler bize MKH'lerin immünsupresif olabilmeleri için proinflamatuvar medyatörler tarafından aktive olmaları gerektiğini göstermektedir.

DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerin proliferasyon ve farklılaşma kapasitelerinde görülen farklılıkların immünolojik özelliklerinde de olduğu düşünülmektedir. Kİ-MKH'ler immün korumalı ve floradan uzak kemik iliği içerisinde bulunurken, korumalı bir dentin ve mine içinde bulunuyor olsa da karmaşık bir floranın olduğu oral mukoza elemanlarının toksin ve metabolitleri enamel yüzeyinde yer alabilecek çatlaktan difüzyon yolu ile hücrelere ulaşabilmektedir. Böyle bir durumun da hücre yüzey reseptörleri ve hücrelerin salgıladığı sitokin ve kemokinlerin miktarlarında farklılık yaratacağı düşünülmektedir. Literatür incelendiğinde, yapılan ilk çalışmalarda, DP-MSKH'lerin stimüle olmuş T hücrelerinin proliferasyonunu Kİ-MKH'lerden daha iyi inhibe ettiği belirlenmiştir (Krampera ve diğerleri, 2003; Sonoyama ve diğerleri, 2006). Wada ve ark., DP-MSKH'lerin mitojen ya da allojenik karışık lenfosit reaksiyonu ile stimüle olmuş periferik kan mononükleer hücre proliferasyonunu çözünebilir faktörler aracılığı inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (Wada, Menicanin, Shi, Bartold ve Gronthos, 2009). DP-MSKH'lerin periferik kan mononükleer hücrelerini TGF- β salınımı ile baskıladığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, immün sistem hücreleri yüzeyinde yer alan ve patojen olan ve olmayan mikroorganizmaları ayırt eden toll-like reseptörler (TLR) aracılığı ile TGF- β ve IL-6 ekspresyonlarının arttırılması ile immünsupresyonun başlatıldığını bildirmişlerdir (Iwasaki ve Medzhitov, 2004).

Çalışmamızda DP-MSKH'lerin IL-6 ve TGF- β salınımlarının yüksek bulunması literatürdeki verilerle benzerdir. Ayrıca, kültür supernatantlarında tespit edilen IL-6 ve IL-1 β miktarları Kİ-MKH'lerden yüksek bulunmuştur. IL-6, T hücrelerinden salgılanan önemli bir mediatör ailesinin üyesi olup, makrofaj, T hücreleri ve osteoblastlar tarafından sekrete edilmektedir. Akut faz enfeksiyon ve hasarlara yanıt olarak salgılanmaktadır (Heinrich ve diğerleri, 2003). Çalışmada TNF- α ile uyarılan DP-MSKH'lerde artmış bulunan IL-6 ve IL-1 β miktarının, uyarımdan önce bitki ekstraktları ile muamele edilen hücrelerde düşük seviyelerde bulunduğu görülmüştür. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin dengesi tahtırevelli düzeneğine benzetilecek olursa antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 miktarı bitkilerle muamele edilen DP-MSKH'lerde özellikle *H. perforatum* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde yüksek bulunmuştur. Alvolitisin, TNF- α ve IL-1 β iflamatuvar sitokinlerinin plazminojen tipürokinaz aktivatörünün ve tip 1 plazminojen aktivatör inhibitörünün aktivasyonunun artması ile oluştuğu (Serrati ve diğerleri, 2006) göz

önünde bulundurulduğunda artmış inflamasyonun gerilemesi çalışma için önemli bir bulgudur.

TGF- β immüdüzenleyici olma özelliğinin yanında osteoblast aktivitesini de uyarmaktadır. Kollajen, proteoglikan, osteopontin, osteonektin ve alkalen fosfataz gibi ekstraselüler proteinlerin üretimini ve aynı zamanda MKH'lerin, preosteoblastların, kondrosit ve osteoblastların proliferasyonunu uyarmaktadır (Younis, Al-Rawi, Mohamed ve Yaseen, 2013). Sunulan çalışmada tek başına *T. spicata* var. *intricate* ekstraktının DP-MSKH'lerde TGF- β miktarını düşürdüğü, inflamasyonlu ortamda arttırdığı tespit edilmiştir. *P. ostreatus*, *S. aromaticum* ve *S. triloba* ekstraktının ise inflamasyonlu ortamda TGF- β miktarının azalmasına yol açtığı görülmüştür. Bu sonuca göre ekstraktların etken maddelerinin hücre davranışını farklı etkilediğini göstermektedir. *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarının inflamasyonlu ve inflamasyonsuz ortamda hücrelerden salınan TGF- β miktarını değiştirmedığı görülmüştür. TGF- β 'nın aynı zamanda pulpa stromal kök hücrelerinin hasarlı bölgeye göç etmesini uyardığı da öne sürülmüştür (Smith, Muraay, Sloan, Matthews ve Zhao, 2001; Magloire ve diğerleri, 2001). Hücre göçü (migrasyon) doku homeostasisinin sağlanması ve hasarlı dokuların rejenerasyonu için önemli bir özelliktir (Gilbert, 2003). Hücre migrasyonunda görülecek aksaklık kronik inflamasyon ve farklı immün disfonksiyonlarına yol açmaktadır (Singer, 1999).

Hasarlı erişkin dokuların rejeneratif potansiyeli, birçok dokuda yer alan kök/progenitör hücrelerin hasarlı bölgeye ekstraselüler matriksten (ECM) göç edebilmesi, ve göç ettiği yerde farklılaşabilmesi ile tanımlanmaktadır (Crisan ve diğerleri, 2008). Yara iyileşme kaskadı sırasında yaranın bulunduğu yere perivasküler nişten ve ya diğer doku nişlerinden hücrelerin gelip gelemeyeceği literatürde tartışma konusudur (Penn ve Mangi, 2008; Fong, Chan ve Goodman, 2011). Diş çekimi sonrasında oluşan yarada ya da alveolitisi bölgeye göç eden hücrelerin dental pulpa, periodontal ligament, dental folikül, mandibula kemik iliği ya da kemik iliği kök/progenitör hücreleri olup olmadığı bilinmemektedir. Ayrıca erişkinlerde hasarlı bölgeye yeterli sayıda kök hücre popülasyonunun ulaşmasının zorluğu etkin olmayan hücre göçüne sebep olmaktadır (Chute, 2006; Lapidot, Dar ve Kollet, 2005). Alveolitisi bölgede yer alabilen patojen mikroorganizmaların da

göç eden kök hücrelerin canlılığını ve etkinliğini olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, DP-MSKH'lerde osteojenik ve kıkırdak farklılaşmasını olumlu yönde etkileyen, hücrelerle ön muamele yapıldığında TNF- α varlığında oluşan proinflamatuvar sitokin miktarının düşük sentezlenmesini sağlayan en iyi ekstrakt olan *H. perforatum* ile *C. zeylanicum* ekstraktlarının DP-MSKH migrasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada inflamatuvar medyatörlerin MKH migrasyonunu etkilediği öne sürülmüştür. Bundan dolayı, hücrelerin kontrol grubu TNF- α ile muamele edilmiştir. Elde edilen verilere göre DP-MSKH'lerin, Kİ-MKH'lere göre daha fazla göç etme özelliği olduğu görülmüştür. Bu sonucun oral mukozada rejenerasyon hızının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. DP-MSKH ve Kİ-MKH'lerde en iyi aktiviteyi *H. perforatum* ekstraktının gösterdiği tespit edilmiştir. TNF- α , DP-MSKH'lerde migrasyonu Kİ-MKH'lere göre daha fazla arttırmıştır.

Alveolitiste bakterilerin rolü uzun zamandan beri bilinmektedir. Başlıca etmenlerden biri hastanın zayıf oral hijyene sahip olmasıdır (Penarrocha ve diğerleri, 2001; Sheikh, Kıyani, Mehdi ve Musharaf, 2010). Sistemik antibakteriyallerin alveolitisin önlenmesinde kullanılabileceğini gösteren raporlar bulunmaktadır. Penisilin, Klindamisin, Eritromisin ve Metranidazol ile yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmıştır (Ren ve Malstrom, 2007). Ancak, bazı çalışmalarda sistemik antibiyotik kullanımı ile alveolitis insidansı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Siddiqi ve diğerleri, 2010). Antibiyotik kullanımına bağlı oluşan yan etkiler ve ayrıca mikroorganizmaların kazandığı/kazanabileceği çarpraz direnç de göz ardı edilmemelidir. Bundan dolayı supra enfeksiyonlara yol açmayacak, doğal ve toksisitesi az olan yeni ajanlara ihtiyaç vardır. Tıbbi bitkilerin esansiyel yağları ya da ekstraktları kuvvetli bir antimikrobiyal ajan kaynağıdır. Sunulan bu çalışmada antimikrobiyal aktiviteleri alveolite neden olduğu raporlarda yayınlanmış *Streptococcus gordonii* ve *Streptococcus mutans* ATCC 25175 türleri ve oral biofilm içerisinde yer alan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 çalışmaya kullanılmış ve yukarıda anılan bitki ekstraktlarıyla etkileşimleri değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan *S. gordonii* ATCC 10558, *S. aureus* ATCC 6538 ve *S. mutans* ATCC 25175 ticari firma aracılığı ile ATCC kültür bankasından temin

edilmiştir. Seçilen *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktlarının *S. mutans*, *S. gordonii* ve *S. aureus* suşları üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri ve minimum inhibisyon konsantrasyonları belirlenmiştir. Disk difüzyon sonuçlarına göre *H. perforatum*, 2 suş üzerinde bakterisidal etki gösterirken *C. zeylanicum* 'a karşı bakteriler direnç gözlenmiştir. MİK değerleri incelendiğinde *H. perforatum* MİK değeri disk difüzyon sonucunu desteklemiş ve 0.25 mg/ml olarak bulgulanmıştır. Ancak *H. perforatum* ile muamele edilen *S. aureus* kültürleri için MİK değeri 5mg/ml olarak belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde, *H. perforatum*'un etken maddesi Hypericum'un kullanıldığı *S. aureus* infeksiyonlarına ilişkin çalışmalarda, Hypericum'un Novoimanine'den daha etkin olduğu ve MİK değerinin 0,1 µg/ml olduğu belirlenmiştir (Saddiqe, Naemm, Maimoona, 2010). Schempp ve ark (2003) *H. perforatum* içeren (%1,5 hiperforin standardize ekstrakt) kremi placebolarla karşılaştırıldığında atipik dermatitlerde etkinliğinin anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (Schempp, Windeck, Hezel ve Simon, 2003). Peeva-Naumovska (2010) *H. perforatum* yağlarını (%30, %40, %50) içeren lipofilik formülasyonların vajinal veya dermal uygulamalarda *Streptococcus pyogenes*, *S. viridans*, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Moraxella catarrhalis* ve *Lactobacillus acidophilus* türlerinin gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Peeva-Naumovska, Panovski, Grdanovska ve Fredro-Kumbaradzi, 2010). *In vitro* çalışmalar incelendiğinde, *H. perforatum* ekstraktlarının staphylococci, *Shigellae*, *Escherichia coli* türleri üzerinde daha etkin olduğu (Kolesnikova, 1986) ve gram pozitif bakteriler üzerindeki etkinliğinin gram negatiflere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (Reichling, Weseler ve Saller, 2001; Avato, Raffo, Guglielmi, Vitali ve Rosato, 2004; Mazandarani, Yassaghi, Rezaei, Mansorian ve Ghaemi, 2007). Anılan çalışmalarda *H. perforatum*'un çiçeklerinin etanol ekstraktının özellikle Gram pozitif bakterilerde (*E. faecalis* ve *S. aureus*) antibakteriyel aktivitesinin daha yüksek olduğu, inhibisyon zon çaplarının 25-26 mm arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada, *S. aureus* için inhibisyon etkisi görülmemiştir. Bu farklılığın, bitkinin yetiştiği coğrafik konumdan dolayı içeriğinin ve etken maddelerinin değişikliğinden kaynaklanabileceği öngörülmektedir. Etken maddelerin belirleneceği devam çalışmaların yapılması gerekliliği vardır.

Sunulan çalışmada *H. perforatum*, *C. zeylanicum*, *O. basilicum*, *S. aromaticum*, *S. triloba*, *P. ostreatus*, *T. spicata* var. *intricate* ekstraktlarının DP-MSKH üzerinde proliferasyon, farklılaşma, immün yanıt üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre, en iyi sonuç veren *H. perforatum* ve *C. zeylanicum* ekstraktları seçilerek DP-MSKH migrasyon (göç) ve oral patojen mikroorganizmalarından *S. aureus*, *S. mutans* ve *S. gordonii* üzerindeki antibakteriyal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmamızda *H. perforatum* ekstraktının, DP-MSKH üzerindeki kemik ve kıkırdak farklılaşmasını uyardığı, proliferasyonu artırdığı, antiinflamatuvar özellikte olduğu, DP-MSKH migrasyonu için kemotaktik özelliğini ve antibakteriyel etkide olduğu belirlenmiştir. Diş hekimliği alanında DP-MSKH üzerinde gösterdiği özellikler bakımından özellikle alveolitis vakalarında önleyici ajan olarak kullanılabilirliği önerilmektedir. Hayvan deneylerini de içeren ilave araştırmalar bu ekstraktın kullanılabilmesine olanak sağlayacaktır.

H. perforatum anksiyete, depresyon, yanıklar, kanser, bakteriyel ve viral hastalıklar için kullanılan bir bitkisel ajan olup, antioksidan, analjezik ve nöroprotektan özellikleri çalışmalarda gösterilmiştir (Tanideh ve diğerleri, 2014). *H. perforatum* aynı zamanda sunulan çalışmadaki verilerin desteklendiği şekilde antiinflamatuvar özelliklere de sahiptir (Süntar ve diğerleri, 2010). Araştırmalarımıza göre diş hekimliği alanında *H. perforatum*'un terapötik etkilerinin araştırıldığı çalışma sayısı çok azdır. Oral mukozit modeli oluşturulmuş Golden hamsterlarda *H. perforatum* uygulaması sonrası, oral mukozal hasarda ve inflamatuvar yanıtta azalma olduğu görülmüştür. Oral yolla verilen ekstraktın topikal jel uygulamasına göre daha başarılı olduğu belirlenmiştir (Tanideh ve diğerleri, 2014). *H. perforatum* etken maddelerinden *Hypericum*'un gingiva-mukoza dokusunda polimorfonükleer hücrelerin infiltrasyonunu ve plazma ekstravazasyon etkisini azalttığı rapor edilmiştir (Paterniti ve diğerleri, 2010). *H. perforatum*'un cerrahi yaralarda doku rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Lavagna ve diğerleri, 2001). *H. perforatum* ekstraktının fibroblast kollajen üretimini uyardığı ve buna bağlı olarak hasarlı alanda yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Ozturk, Korkmaz ve Ozturk, 2007). Ancak araştırmalarımıza göre, literatürde *H. perforatum*'un stromal kök hücreler üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

H. perforatum'un tıbbi bitki olarak kullanımı antik zamanlara dayanmaktadır. Bitkinin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri antibakteriyel etkileri ile desteklenmektedir. Gram pozitif bakteriler üzerindeki etkisi gram negatiflere nazaran daha yüksektir. Aynı zamanda alkol ekstraktları sulu çözeltilere göre daha etkin bulunmuştur. Antifungal aktivitesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bitki biyolojik olarak aktif bileşenlere geniş bir yelpazede sahip olmasına rağmen Hiperisin ve hiperforin bileşenleri antibakteriyel olarak tanımlanmıştır. Bitkinin geleneksel hazırlanışında (çaylar) hiperforin içereceğinden aktif içeriklerinin tanımlanması ihtiyacı vardır.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen veriler doğrultusunda,

1. DP-MSKH proliferasyonunu hızlandıran ve ikiye katlanma süresini kısaltan
2. Osteojenik farklılaşmayı arttıran ve hızlandırdığı düşünülen
3. Antiinflamatuvar özellikte
4. DP-MSKH migrasyonunu uyaran
5. Oral biofilimde yer alan *S. gordonii* ve *S. mutans* mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktiviteye sahip olan

Çalışma verileri, *H. perforatum* ekstraktının alveolitis tedavisinde önleyici ya da tedavi edici ajan olarak kullanılmaya aday olabileceğini göstermiştir.

Sonuç olarak, alveolitis diş hekimliği pratiğinde yaygın olarak gözlenen, morbidite artışı ve buna bağlı gelişen zaman, işgücü gibi maddi ve manevi kayıplara neden olan, diş hekiminin de prestijini sarsan bir komplikasyondur. Gerçekleştirilen bu çalışma ile bitki ekstraktlarının mezenkimal stromal kök hücrelerin proliferasyon ve osteojenik farklılaşması üzerindeki uyarıcı etkileri gösterilmiştir. Bu bulguları ile çalışmamızın, alveolitisin önlenmesinde/tedavisinde günümüzde kullanılan ürünlerin aksine, yan etkisiz ve milli ekonomiye katkısı olacağı düşünülen bir ilacın yapımı için gereken devam çalışmalarına güçlü bir zemin hazırladığını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abdul, N., Wahid A. (2009). "Evaluation of antibacterial activity of Cinnamomum zeylanicum extract on cariogenic microorganisms of the dental plaque in vitro study and scanning electron microscopic assesment", *Mustuansiria Dental Journal*, 6, 334-48.
- Abdullah, M.F., Abdullah, S.F., Omar, N.S., Mahmoud, Z., Fazlah Mohd Noor, S.N., Kannan, T.P., Mokhtar, K.I. (2014). "Prolfieration rate of stem cells derived from human dental pulp an identification of differetially expressed genes", *Cell Biology International*, 38, 582-590.
- Agaugue, S., Perrin-Cocon, L., Coutant, F., Andre, P., Lotteau, V. (2006). "1-methyl-tryptophan can interfere with TLR signalling in dendritic cells independently of IDO activity", *The Journal of Immunology*, 177, 2061-2071.
- Akintoye, S.O., lam, T., Shi, S., Ibrahim, J., Collins, M.T., Robey, P.G. (2006). "Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals", *Bone*, 38,758-68.
- Al-Belasy, F:A. (2004). "The relationship of 'shisha' (waterpipe) smoking to postextraction dry socket", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62,10-4.
- Alkaisi, A., İsmail A.K., Ahmad Z.A., Masudi S., Rozak N.H. (2013). "Transplantation of human dental pulp stem cells: enhance bone consolidation in mandibular distraction osteogenesis", *J. Oral Maxillofac Surg.*, 1758, 1-13.
- Alvarez-Dolado, M., Pardal, R., Garcia-Verdugo, J.M., Fike, J.R., Lee, H.O., Pfeffer, K., Lois, C., Morrison, S.J., Alvarez-Buylla, A. (2003). "Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons cardiomyocytes and hepatocytes", *Nature*, 30, 425:968-73.
- Anderson, D.J., Gage, F.H., Weismann, I.I. (2001). "Can stem cells cross lienageboundaries?", *Journal of Natural Medicines*, 7, 393-95.
- Ashton B.A., Allen T.D., Howlett C.R., Eaglesom C.C., Hattori A., Owen M., (1980). Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. . *Clin Orthop Relat Res* , 294-307.
- Ardeshirylajimi, A., Soleimani, M., Hosseinkhani, S., Parivar, K., Yaghmaei, P. (2013). "A comparative study of osteogenic differentiation human induced pluripotent stem cells and adipose tissue derived mesenchmal stem cells", *Cell Journal*, 16, 235-244.
- Atalayın, Ç., Ergücü, Z., Tezel, H. (2012). "Diş Hekimliğinde Kök Hücre ve Dental Pulpa Kök Hücreleri", *GÜ Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 29, 115-120.
- Aubin, J.E. (2001). "Regulation of osteoblast formation and function", *Reviews in Endocrne Metabolic Disorders*, 2, 81-94.
- Avato, P., Raffo, F., Guglielmi, G., Vitali, C., Rosato, A. (2004). "Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity", *Phytotherapy Research*, 18, 230-232.

Avecilla, S.T., Hattori, K., Heissig, B., Tejada, R., Liao, F., Shido, K., Jin, D.K., Dias, S., Zhang, F., Hartman, T.E., Hackett, N.R., Crystal, R.G., Witte, L., Hicklin, D.J., Bohlen, P., Eaton, D., Lyden, D., de Sauvage, F., Rafii, S. (2004). "Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis", *Natural Medicine*, 10, 64-71..

Awang, M.N. (1989). "The aetiology of dry socket: a review", *International Dental Journal*, 39, 236-40.

Balsh, D., Song, L., Tuan, R.S. (2004). "Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation and application in cell and gene therapy", *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 8, 301-316.

Balsh, D., Yao, R., Tuan, R.S. (2007). Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow", *Stem Cells*, 25, 1384-1392.

Barros, L., Baptista, P., Correla, D.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R. (2007a). "Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushroom", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4781-4788.

Barros, L., Baptista, P., Estevinho, L.M., Ferreira, I.C.F.R. (2007b). "Effect of fruiting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of *Lactarius* sp mushrooms", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8766-8771.

Barry, F.P., Murphy, J.M. (2004). "Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization", *International Journal of Cell Biology*, 36, 568-584.

Bartholomew, C.S., Siatskas, M., Ferrer, K. (2002). "Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo", *Experimental Haematology*, 30, 42-48..

Batten, P., Sarathchandra, P., Antoniow, J.W., Tay, S.S., Lowdell, M.W., Taylor, P.M., Yacoub, M.H. (2006). "Human mesenchymal stem cells induce T cell anergy and down regulate T cell allo-responses via the TH2 pathway: Relevance to tissue engineering human heart valves", *Tissue Engineering*, 12, 2263-2273.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method", *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.

Ben-Ami, E., Berrih-Aknin, S., Miller, A. (2011). "Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases", *Autoimmunity Reviews*, t 10, 410-415.

Birn, H. (1970). "Bacteria and fibrinolytic activity in dry socket", *Acta Odontologica Scandinavica*, 28, 773-83.

Birn, H. (1973). "Etiology and pathogenesis in fibrinolytic alveolitis (dry socket)", *International Journal of Oral Surgery*, 2, 211-63.

Bloomer, C.R. (2000). "Alveolar osteitis prevention by immediate placement of medicated packing", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontology*, 90, 282-284.

Blum, I.R. (2002). "Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review", *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 31, 309-317.

Buser D.A., Tonetti M., (1997). Clinical trials on implants in regenerated bone. *Ann Periodontol.* 2:329–42.

Byers, M.R., Kvinnsland, I., Bothwell, M. (1992). "Analysis of flow affinity nerve growth factor receptor during pulpal healing and regeneration of myelinated and unmyelinated axons in replanted teeth", *The Journal of Comparative Neurology*, 326, 470-484.

Cai, L., Wu, C.D. (1996). "Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens", *Journal of Natural Products*, 59, 987-90.

Can A., (2014). Kök hücre biyolojisi, türleri ve tedavide kullanımları. *Akademisyen tıp kitapçevi*, 40-44.

Caplan A.L. (1991). Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 9:641-50.

Cardoso, C.I., Rodrigues, M.T.V., Junior Ferreira, O., Garlet, G.P., de Carvalho, P.S.P. (2010). "Clinical concepts of dry socket", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 68, 1922-32.

Catellani, J.E. (1979). "Review of factors contributing to dry socket through enhanced fibrinolysis", *Journal of Oral Surgery*, 37, 42-46.

Chan, J., O'donoghue, K., de La Fuente, J., Roberts, I.A., Kumar, S., Morgan, J.E., Fisk, N.M. (2005). "Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery", *Stem Cells*, 23, 93-102.

Cheung, L.K., Chow, L.K., Tsang, M.H., Tung, L.K. (2001). "An evaluation of complications following dental extractions using either sterile or clean gloves", *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 30, 550-554.

Choi, J.Y., Lee, B.H., Song, K.B., Park, R.W.W., Kim, I.S., Sohn, K.Y., Jo, J.S., Ryoo, H.M. (1996). "Expression patterns of bone-related proteins during osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells", *Journal of Cellular Biochemistry*, 61, 609-618.

Chute, J.P. (2006). "Stem cell homing", *Current Opinion in Hematology*, 13, 399-406.

Cicconetti, A., Sacchetti, B., Bartoli, A., Michienzi, S., Corsi, A., Funari, A., Robey, P.G., Bianco, P., Riminucci, M. (2007). "Human maxillary tuberosity and jaw periosteum as sources of osteoprogenitor cells for tissue engineering", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontology* 104, 618.e1-12..

Colby, R.C. (1997). "The general practitioner's perspective of the etiology, prevention and treatment of dry socket", *General Dentistry*, 45, 461-467.

Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. (1995). "Microbiological methods", *Butterworths*.

Crisan, M., Yap, S., Casteilla, L., Chen, C.W., Corselli, M., Park, T.S., Andriolo, G., Sun, B., Zheng, B., Zhang, L., Norotte, C., Teng, P.N., Traas Schugar, R., Deas, B.M., Badylak, S., Buhring, H.J., Giacobino, J.P., Lazzari, L., Huard, J., Peault, B. (2008). "A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs", *Cell Stem Cell*, 11, 301-313.

Crisostomo, P.R., Markel, T.A., Wang, M., Lahm, T., Lillemoe, K.D., Meldrum, D.R. (2007). "In the adult mesenchymal stem cell population, source is a biologically relevant aspect of protective power", *Surgery*, 142, 215-221.

Crop, M.J., Baan, C.C., Korevaar, S.S., Ijzermans, J.N., Pescatori, M., Stubbs, A.P., van Ijcken, W.F., Dahlke, M.H., Eggenhofer, E., Weimar, W., Hoogduijn, M.J. (2010). "Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells", *Clinical Experimental Immunology*, 162, 474-486.

d'Aquino R., De Rosa A., Lanza V., Tirino V., Laino L., Graziano A., Desiderio V., Laino G., Papaccio G. (2009). Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater.* 18:75-83.

Delilbaşı, C., Saraçoğlu, U., Keskin, A. (2002). "Effects of 0.2% chlorhexidine gluconate and amoxicillin plus clavulanic acid on the prevention of alveolar osteitis following mandibular third molar extractions", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontology*, 94, 301-304.

Devlin, H., Sloan, P. (2002). "Early bone healing events in the human extraction socket", *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 31, 641-645.

Ding, X., Hou, Y., Hou, W. (2012). "Structure feature and antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from *Lactarius deliciosus* Gray", *Carbohydrate Polymer*, 89, 397-402.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D.J., Horwitz, E. (2006). "Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: The International Society for Cellular Therapy position statement", *Cytotherapy*, 8, 315-317.

Dore, C., Azevedo, T.C.G., de Souza, M.C.R., Rego, L.A., de Dantas, J.C.M., Silva, F.R.F. (2007). "Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of beta-

glucan rich extract from Geastrum saecatum mushroom", *International Immunopharmacology*, 7, 1160-69.

El-Backly, R.M., Massoud, A.G., El-Badry, A.M., Sherif, R.A., Marei, M.K. (2008). "Regeneration of dentine/pulp like tissue using a dental pulp stem cell/poly(lactic-co-glycolic) acid scaffold construct in New Zealand white rabbits", *Australian Endodontic Journal*, 34, 52-67.

Egusa H, Okita K, Kayashima H, Yu G, Fukuyasu S. (2010) Gingival Fibroblasts as a Promising Source of Induced Pluripotent Stem Cells. *Plos One*, 5:e12743.

Egusa H., Sonoyama W., Nishimura M., Atsura I., Akiyama K. (2012) Stem cells in dentistry-Part II:Clinical applications. *Journal Prosthodont Res.* 229-248.

El-Sayed NH., El-Eraky W., Ibrahim M.T., Mabry T. J.(2006). Antiinflammatory and ulcerogenic activities of Salvia triloba extracts .*Fitoterapia* 77:333–335

Endo, H., Rees,T.D. (2006). "Clinical features of cinnamon induced contact stomatitis", *Compendium of Continous Education in Dentistry*, 27, 403-9.

Eroğlu T, U. İ. (2008). Dişeti ve dental folikül dokularında mezenkimal kök hücre araştırılması ve plastisitelerinin karşılaştırılması. Doktora tezi. *Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. 3-14

Estrela, C., Alencar, A.H.G., Kitten, G.T., Vencio, E.F. (2011). "Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration", *Brazilian Dental Journal*, 22, 91-98..

Fani, M.M., Kohanteb, J. (2010). "Inhibitory activity of Cinnamomum Zeylanicum and Eucalyptus globulus oils on Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus and Candida species isolated from patients with oral infections", *Shiraz Univerisy Dental Journal*, 11, 14-22..

Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. (2005). "Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and atipe activity", *Food Chemistry*,100, 1511-16.

Fong, E.L., Chan, C.K., Goodman, S.B. (2011). "Stem cell homing in musculoskeletal injury", *Biomaterials*, 32, 395-409.

Gao, Y.H., Tang, W.B., Gao, H., Chan, E., Lan, J., Li, X.T., Zhou, S.F. (2005). "Antimicrobial activity of the medicinal mushroom Ganoderma", *Food Reviews International*, 21, 211-29.

Gezer, K., Duru, M.E., Kivrak, I., Turkoğlu, A., Mercan, N., Turkoğlu, H., Gulca, S. (2006). "Free radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey" *African Journal of Biotechnology*, 5, 1924-28.

Gilbert, S.F. (2003). "The morphogenesis of evolutionar developmental biology", *International Journal of Development Biology*, 47, 467-477.

Graziano, A., d'Aquino, R., Laino, G., Papaccio, G. (2008). "Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration", *Stem Cell Reviews and Reports*, 4, 21-26.

Groh, M.E., Maitra, B., Szekely, E., Koc, O.N. (2005). "Human mesenchymal stem cells require monocyte-mediated activation to suppress alloreactive T cells", *Experimental Hematology*, 33, 928-934.

Gronthos, S., Mankani, M., Brahı́m, J., Robey, P.G., Shi, S. (2000). "Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo", *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 97, 13625-30.

Güngörmüş, M., Yıldırım, G., Gürbüz, G., Ertaş, Ü. (2000). "Alveolitisin görölme sıklığı (Klinik bir araştırma)", *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Faköltesi Dergisi*, 10, 49-52.

Haag S.F.,Tschersch K., Arndt S., Kleemann A., Gersonde I., Lademann J., Rohn S., Meinke MC.(2013),Enhancement of skin radical scavenging activity and stratum corneum lipids after the application of a hyperforin-rich cream, *Eur. J. Pharm. Biopharm*, Cilt 86:227–33

Hartnoll, G., Moore, D., Douek, D. (1993). "Near fatal ingestion of oil of cloves", *Archives of Disease in Childhood*, 69, 392-393.

Haynesworth S.E., Goshima J., Goldberg V.M., Caplan A.L. (1992). Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone*, 13: 81-88.

Heinrich, P.C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H.M., Müller-Newen, G., Schaper, F. (2003). "Principles of interlekin (IL)-6 -type ctokine signalling and its regulation", *Biochemical Journal*, 374, 1-20.

Helms JA, Della-Fera MA, Mott AE, Frank M (1995). Effects of chlorhexidine on human taste perception. *Arc Oral Biol*, 40:913–920.

Hibi, H., Yamada, Y., Ueda, M., Endo, Y. (2006). "Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material", *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 35, 551-555.

Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima, K., Takada, K. (1999). "Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (Shiitake, an edible mushroom)", *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11, 151-15.

Hoemann, C.D., El-Gabalawy, H., McKee, M.D. (2009). "In vitro osteogenesis assays: influences of the primary cell source on alkaline phosphatase activity and mineralization", *Pathologie Biologie*, 57, 318-323.

Horwitz, E.M., Le Blanc, K., Dominic, M., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C., Deans, R.J., Krause, D.S., Keating, A. (2005). "Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therpay position statement", *Cytotherapy*, 7, 393-395.

- Hosokawa, Y., Sakakura, Y., Irie, K., Kudo, K., Kashiwakura, I. (2010). "Effects of local and whole body irradiation on the appearance of osteoblasts during wound healing intooth extraction sockets in rats", *Journal of Radiation Research*, 51, 181-186.
- Houston, J.P., McCollum, J., Pietz, D., Schneck, D. (2002). "Alveolar osteitis: a review of its etiology, prevention, and treatment modalities", *General Dentistry*, 50, 457-63.
- Huang, G.T.J., Gronthos, S., Shi, S. (2009). "Mesemchymal stem cells derivedfrom dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine", *Journal of Dental Research*, 88, 792-806.
- Huang, Z., Nelson, E.R., Smith, R.L., Goodman, S.B. (2007). "The sequentil expression profiles of growth factors from osteoprogenitors (correction of osteoprogenitors) to osteoblasts in vitro", *Tissue Engineering*, 13, 2311-2320.
- Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. (2006). The Pharmacological Effects of Salvia species on the Central Nervous System . 20: 427-437.
- Inbaneson, S.J., Ravikumar, S., Suganthi, P. (2012). "In vitro antiplasmodial effect of ethanolic extracts of traditional medcinal plant Ocimum species against Plasmodium falciparum", *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5, 103-106.
- Iwasaki, A., Medzhitov, R. (2004). "Toll like receptor control of the adaptive immune reponses", *Nature Immunology*, 5, 987-995.
- Izumi, K., Tobita, T., Feinberg, S.E. (2007). "Isolation of human oral keratinocyte progenitor/stem cells", *Journal of Dental Research*, 86, 341-346.
- Javazon, E.H., Beggs, K.J., Flake, A.W. (2004). Mesenchymal stem cells: paradoxes of passaging", *Experimental Hematology*, 32, 414-425.
- Jo, Y.Y., Lee, H.J., Kook, S.Y., Choung, H.W., Park, J.Y., Ching, J.H., Coung, Y.H., Kim, E.S., Yang, H.C., Choung, P.H. (2007). "Isolation and characterisation of postnatal stem cells from human dental tissues", *Tissue Engineering*, 13, 767-73.
- Kabir, R., Gupta, M., Agagrwaal, A., Sharma, D., Sarin, A., Kola, M.Z. (2014). "Imperative role of dental pul stem ceclls in regenerative therapies: a systematic review", *Nigerian Journal of Surgery*, 20, 1-8.
- Karp JM, Leng Teo G (2009). Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 4:206–216.
- Kaya, İ., Yiğit, N., Benli, M. (2008). "Antimicrobial activity of various extracts of Ocimum basilicum L. and observation of the inhbition effect on bacterial cells by use of scanning electron microscopy", *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 5, 363-9.

Kern, S., Eichler, H., Stoeve, J., Kluter, H., Bieback, K. (2006). "Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue", *Stem Cells*, 24, 1294-1301.

Kızıl, S. (2010). Determination of essential oil variations of *Thymbra spicata* var. *spicata* L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey. *Industrial Crops and Products*:593-600.

Kim, S., Fung, D.Y.C. (2004). "Antibacterial effect of water-soluble arrowroot (*Puerariae radix*) tea extracts on foodborne pathogens in ground beef and mushroom soup", *Journal of Food Protection*, 67, 1953-1956.

Koga, H., Muneta, T., Nagase, T., Nimura, A., Ju, Y.J., Mochizuki, T. (2008). "Comparison of mesenchymal tissues-derived stem cells for in vivo chondrogenesis: suitable conditions for cell therapy of cartilage defects in rabbit", *Cell Tissue Research*, 333, 207-15.

Kolesnikova, A.G. (1986). "Bactericidal and immunocorrective properties of plant extracts", *Zhurnal Mikrob Epid I Immunology*, 3, 75-78.

Krampera, M., Cosmi, L., Angeli, R., Pasini, A., Liotta, F., Andreini, A., Santarlasci, V., Mazzinghi, B., Pizzolo, G., Vinante, F. (2006). "Role of interferon gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells", *Stem Cells*, 24, 386-98.

Krampera, M., Glennie, S., Dyson, J., Scott, D., Laylor, R., Simpson, E., Dazzi, F. (2003). "Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide", *Blood*, 101, 3722-3729.

Krause, D.S., Theise, N.D., Collector, M.I., Henegariu, O., Hwang, S., Gardner, R., Neutzel, S., Sharkis, S.J. (2001). "Multi-organ multi lineage engraftment by a single bone marrow derived stem cell", *Cell*, 105, 369-377.

Krause, D.S. (2002). "Plasticity of marrow-derived stem cells", *Gene Therapy*, 9, 754-758.

Krebsbach, P.H., Robey, P.G. (2002). "Dental and Skeletal Stem Cells. Potential Cellular Regeneration", *Journal of Dental Education*, 66:6.

Kyo, K., Takakura, M., Tanaya, T. (1999). "Estrogen activates telomerase", *Cancer Research*, 59, 5917-5921.

Langer R, Vacanti J.P. (1993). Tissue engineering. *Science*. 260:920–6.

Lapidot, T., Dar, A., Kollet, O. (2005). "How do stem cells find their way home?", *Blood*, 106, 101-110.

Lavagna, S.M., Secci, D., Chimenti, P., Bonsignore, L., Ottaviani, A., Bizzari, B. (2001). "Efficacy of Hypericum and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section", *Farmaco*, 56, 451-453.

Le Blanc, K., Rasmusson, I., Sundberg, B., Götherström, C., Hassan, M., Uzunel, M., Ringdén, O. (2004). "Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells", *Lancet*, 363, 1439-41.

Le Blanc, K., Ringdén, O. (2005). "Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation", *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 11, 321-34.

Lee, K.G., Shibamoto, T. (2002). "Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr Et Perry)", *Food Chemistry*, 74, 443-448.

Lemoli, R.M., Bertolini, F., Cancedda, R., de Luca, M., Del Santo, A., Ferrari, G., Ferrari, S., Martino, G., Mavilio, F., Tura, S. (2005). "Stem cell plasticity: time for a reappraisal?", *Haematology*, 90, 360-81.

Lindroos, B., Maenpää, K., Ylikomi, T., Oja, H., Suuronen, R., Miettinen, S. (2008). "Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 368, 329-35.

Lock, J., Liu, H. (2011). "Nanomaterials enhance osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells similar to a short peptide of BMP-7", *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2769-2777.

Loftinegad, P. (2014). "Immunomodulatory nature and site specific affinity of mesenchymal stem cells: a hope in cell therapy", *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4: 5.

Lu, L.L., Liu, Y.J., Yang, S.G., Zhao, Q.J., Wang, X., Gong, W., Han, Z.B., Xu, Z.S., Lu, Y.X. (2006) Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*. Aug;91(8):1017-26

Luna J, Masamunt M.C., Lawrance I.C., Sans M. (2011). Mesenchymal cell proliferation and programmed cell death: key players in fibrogenesis and new targets for therapeutic intervention. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 300: G703-708.

Liu, D., Chen, Z.Z., Han, Z.C. (2006). "Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials", *Hematology*, 91, 1017-1026.

Macgregor, A.J. (1968). "Aetiology of dry socket: a clinical investigation", *British Journal of Oral Surgery*, 6, 49-58.

Magloire, H., Romeas, A., Melin, M., Couble, M.I., Bleicher, F., Farges, J.C. 2(001). "Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury", *Advanced Dental Research*, 15, 46-50.

Majumdar M.K., Thiede M.A., Mosca J.D., Moorman M., Gerson S.L.(1998). Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow- derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol*, 176:57-66.

Marynka-Kalmani, K. T., Treves S., Yafee M., Rachima H., Gafni Y., Cohen M.A., Pitaru S. (2010). The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells*, 28:984–995.

Mathieu, S., El-Battari, A., Dejou, J., About, I. (2005). "Role of injured endothelial cells in the recruitment of human pulp cells", *Archives of Oral Biology*, 50, 109-113.

Matsubara, T., Suardita, K., Ishii, M., Sugiyama, M., Igarashi, A., Oda, R., Nishimura, M., Saito, M., Nakagawa, K., Yamanaka, K., Miyazaki, K., Shimizu, M., Bhawall, U.K., Tsuji, K., Nakamura, K., Kato, Y. (2005). "Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells", *Journal of Bone and Mineral Research*, 20, 399-409.

Mazandarani, M., Yassaghi, S., Rezaei, M.B., Mansorian, A.R., Ghaemi, E.O. (2007). "Ethnobotany and antibacterial activities of two endemic species of *Hypericum* in North-East of Iran", *Asian Journal of Plant Sciences*, 6, 354-358.

Meechan, J.G., Macgregor, I.D., Rogers, S.N., Hobson, R.S., Bate, J.P., Dennison, M. (1988). "The effect of smoking on immediate post-extraction socket filling with blood and on the incidence of painful socket", *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 26, 402-409.

Meisel, R., Zibert, A., Laryea, M., Gobel, U., Daubener, W., Dilloo, D. (2004). "Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase mediated tryptophan degradation", *Blood*, 103, 4619-4621.

Mercan, N., Duru, M.E., Türkoğlu, A., Gezer, K., Kıvrak, İ., Türkoğlu, H. (2006). "Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts from *Lepista nuda* (Bull.) Cooke", *Annals of Microbiology*, 56, 339-44.

Minamikawa, H., Deyama, Y., Nakamura, K., Yoshimura, Y., Kaga, M., Suzuki, K., Yawaka, Y. (2009). "Effect of mineral trioxide aggregate on rat clonal dental pulp cells: Expression of cyclooxygenase-2 mRNA and inflammation related protein via nuclear factor kappa B signalling system", *The Journal of Endodontics* 35, 843-846.

Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L.W., Rober, P.G., Shi, S. (2003). "SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth", *Proceedings of National Academic Sciences USA*, 100, 5807-12.

Moro, C., Palacios, I., Lozano, M., D'arrigo M., Guillamon, E., Villares, A., Martinez, J.A., Garcia-Lafuente, A. (2012). "Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages", *Food Chemistry*, 130, 350-355.

Morsczeck, C., Götz, W., Shierholz, J., Zeilhofer, F., Kühn, U., Moehl, C., Sippel, C., Hoffmann, K.H. (2005a). "Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth", *Matrix Biology*, 24, 155-65.

Morssceck, C., Moehl, C., Götz, W., Heredia, A., Schaffer, T.E., Eckstein, N., Sippel, C., Hoffman, K.H. (2005b) "Differentiation in vitro of human dental follicle cells with dexamethasone and insulin", *Cell Biology International*, 29, 567-75.

Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, N.A. (1995). "Manual of Clinic Microbiology", D.C, ASM, 1995.

Najar, M., Rouas, R., Ricevic, G., Boufker, H.I., Lewalle, P., Meuleman, N., Bron, D., Toungouz, M., Martiat, P., Lagneaux, L. (2009). "Mesenchymal stromal stem cells promote or suppress the proliferation of T lymphocytes from cord blood and peripheral blood: The importance of low cell ration and role of interleukin-6", *Cytotherapy*, 11, 570-583.

Nakamura, A., Dohi, Y., Akahane, M., Ohgushi, H., Nakajima, H., Funaoka, H., Takakura, Y. (2009). "Osteocalcin secretion as an early marker of in vitro osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells", *Tissue Engineering Part C Methods*, 15(2):169-80.

Nauta, A.J., Fibbe, W.E. (2007). "Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells", *Blood*, 110, 3499-3506.

Noroozi, A.R., Philbert, R.F. (2009). "Modern concepts in understanding and management of the "dry socket" syndrome: comprehensive review of the literature", *Oral surgery oral medicine oral pathology oral radiology endodontology*, 107, 30-35.

Ozturk, N., Korkmaz, S., Ozturk, Y. (2007). "Wound healing activity of St John's wort (*Hypericum perforatum* L) on chicken embryonic fibroblasts", *Ethnopharmacology*, 111, 33-39.

Öğütçen, M., Yılmaz, D. (1989). "Gömülü alt yirmi yaş dişlerinin çıkarılmasında kanama ve lokalize alveolitis oluşumunun değerlendirilmesi", *GÜ Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 6, 147-157.

Parker, G.C., Anastassova-Kristeva, M., Broxmeyer, H.E., Dodge, W.H., Eisenberg, L.M., Gehling, U.M. (2004). "Stem cells: shibboleths of development", *Stem Cells and Development*, 13, 579-84.

Paterniti, I., Briguglio, E., Mazzon, E., Galuppo, M., Oteri, G., Cordasco, G. (2010). "Effects of *Hypericum perforatum*, in a rodent model of periodontitis", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 73.

Peeva-Naumovska, V., Panovski, N., Grdanovska, T., Fredro-Kumbaradzi, E. (2010). "Formulations of St. John's Wort oil ointment and evaluation of its antibacterial effect".

Penarrocha, M., Sanchis, J.M., Saez, U., Gay, C., Bagan, J.V. (2001). "Oral hygiene and postoperative pain after mandibular third molar surgery", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology*, 92,: 260-264.

Penn, M.S., Mangi, A.A. (2008). "Genetic enhancement of stem cell engraftment, survival and efficacy", *Circulation Research*, 102, 1471-1482.

Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S., Marshak, D.R. (1999). "Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells", *Science*, 284, 1168-70.

Polchert, D., Sobinsky, J., Douglas, G., Kidd M, Moadsiri A, Reina E, Genrich K, Mehrota S, Setty S, Smith B, Bartholomew A (2008) IFN-gamma activation of mesenchymal stem cells for treatment and prevention of graft versus host disease [Dergi]. - [s.l.] *Eur J Immunol*,. - Cilt 38: 1745-1755.

Ponte Al Marais, E., Gallay, N., Langonne, A., Delorme, B., Herault, O., Charbord, P., Domenech, J. (2007). "The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities", *Stem Cells*, 25, 1737-1745.

Poor, M.R., Hail, J.E., Poor, A.S. (2002). "Reduction in the incidence of alveolar osteitis in patients with the Salicept Patch, containing Acemannan Hydrogel", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 60, 374-379.

Prashar, A., Locke, I.C., Evans, C.S. (2006). "Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells", *Cell Proliferation*, 39, 241-8.

Qvist, V. (1975). "Pulp reactions in human teeth to tooth colored filling materials", *Scandinavian Journal of Dental Research*, 83, 54-66.

Ragno, J.R., Szkutnik, A.J. (1991). "Evaluation of 0,12% chlorhexidine rinse on the prevention of alveolar osteitis", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, 72, 524-526.

Rasmusson, I. (2006). "Immune modulation by mesenchymal stem cells", *Experimental Cell Research*, 312, 2169-2179.

Ratajczak, M.Z., Kucia, M., Reca, R., Majka, M., Janowskawieczorek, A., Ratajczak, J. (2004). "Stem cell plasticity revisited: CXCR4-positive cells expressing mRNA for early muscle, liver and neural cells 'hide out' in the bone marrow", *Leukemia*, 18:29-40.

Ratajczak, M.Z., Reca, R., Wysoczynski, M., Yan, J., Ratajczak, J.(2006). "Modulation of the SDF-1-CXCR4 axis by the third complement component (C3)--implications for trafficking of CXCR4+", *Experimental Hematology*, 34, 986-995.

Reichling, J., Weseler, A., Saller, R.A. (2001). "Current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L", *Pharmacopeia*, 34, 116-118.

Ren, G., Zhang, L., Zhao, X., Xu, G., Zhang, Y., Roberts, A.L., Zhao, R.C., Shi, Y. (2008). "Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide", *Cell Stem Cell*, 2, 141-150.

Ren, Y.F., Malmstrom, H.S. (2007). "Effectiveness of antibiotic prophylaxis in third molar surgery; a meta-analysis of randomized controlled clinical trials", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 65, 1909-1921.

ROCHE Diagnostiks GMBH. (2008). "Introduction of the RTCA SP Instrument, RTCA SP Instrument Operator's Manual", A. Acea Biosciences, Inc, 14-16.

Rozanis, J., Sciofield, I.D.F., Warren, B.A. (1977). "Is dry socket preventable?", *Journal of Canadian Dental Association*, 43, 233-236.

Rutkowski, J.L., Fennell, J.W., Kern, J.C., Madison, D.E., Johnson, D.A. (2007). "Inhibition of alveolar osteitis in mandibular tooth extraction sites using platelet-rich plasma", *Journal of Oral Implantology*, 33, 116-121.

Saddiqe, Z., Naemm, I., Maimoona, A. (2010). "A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L.", *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 511-521.

Sasaki J, Asoh T.A., Matsumoto T., Egusa H., Sohmura T., Alsberg E., Akashi M., Yatani H.(2010). Fabrication of three-dimensional cell constructs using temperature-responsive hydrogel. *Tissue Eng Part A*. 16:2497–504.

Schanek, J., Soukup, T., Ivancakova, R., Karbanova, J., Hubkova, V., Pytlik, R., Kucerova, L. (2007). "Human dental pulp stem cells-isolation and long term cultivation", *Acta Medica*, 50, 195-201.

Schempp, C.M., Windeck, T., Hezel, S., Simon, J.C. (2003). "Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's Wort cream-a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparisom", *Phytomedicine*, 10, 31-37.

Schneider, I., Kressel, G., Meyer, A., Krings U., Berger RG., Hahn, A. (2011). "Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans", *Journal od Functional Foods*, 3, 17-24.

Seo, B.M., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P.M., Batouli, S., Brahim, J. (2004). "Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament", *Lancet*., 364, 149-55..

Serrati, S., Margheri, F., Bruschi, S., D'Alessio, S., Pucci, M., Fibbi, G., Tonelli, P., Del Rosso, M. (2006). "Plasminogen activators and inhibitor type-1 in alveolar osteitis", *European Journal of Oral Sciences*, 114, 500-503.

Sheikh, M.A., Kiyani, A., Mehdi. A., Musharaf, Q. (2010). "Pathogenesis and manageent of dr socket (alveolar osteitis)", *Pakistan Oral Dental Journal*, 30, 323-326.

Shi, S., Robery, P.G., Gronthos, S. (2001). "Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by cDNA microarray analysis", *Bone*, 29, 532-539.

Shizuko, I., Motoki, T., Takeshi, T., Ichiro, S. (2005). "Morphological examination during in vitro cartilage formation by human mesenchymal stem cells", *Cell Tissue Research*, 322, 271-26..

Siddiqi, A., Morkel, J.A., Zafar, S. (2010). "Antibiotic prophylaxis in third molar surgery: a randomized double blind placebo-controlled clinical trial split mouth technique", *International Journal of Oral Surgery*, 39, 107-114.

Singer, A.J. (1999). "Cutaneous wound healing", *The New England Journal of Medicine*, 341, 738-746.

Smith, A.J., Muraay, P.E., Sloan, A.J., Matthews, J.B., Zhao, S. (2001). "Trans-dentinal stimulation of tertiarydentinogenesis", *Advances in Dental Research*, 15, 51-54.

Sonoyama, W., Liu, Y., Fang, D., Yamaza, T., Seo, B.M., Zhang, C., Liu, H., Gronthos, S., Wang, C.Y., Shi, S., Wang, S. (2006). "Mesenchymal stem cell mediated functional tooth regeneration in swine", *Plos One*, 20.

Süntar, I.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kirmızıbekmez, H., Alper, M. (2010). "Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L.", *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 468-477.

Swanson, A.E. (1989). "A double-blind study on the effectiveness of tetracycline in reducing the incidence of fibrinolytic alveolitis", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 47, 165-167.

Sweeney L.C., Dave J., Chambers P.A., Heritage J. (2004). "Antibiotic resistance in general dental practise- a cause for concern?", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53,567-576.

Sweet, J.B., Butler, D.P. (1978). "Predisposing and operative factors: effect on the incidence of localized osteitis in mandibular third molar surgery", *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology*, 46, 206-15.

Taheri, J.B., Azimi, S., Rafieian, N., Zanjani, H.A. (2011). "Herbs in dentistry", *International Dental Journal*, 61, 287-296.

Tamaoki, N., Takahashi, K., Tanaka, T., Ichisaka, T., Aoki, H., Takeda-Kawaguchi, T., Iida, K., Kunisada, T., Shibata, T., Yamanaka, S., and Tezuka, K. (2010) Dental pulp cells for induced pluripotent stem cell banking, *J Dent Res* 89, 773-8.

Tanideh, N., Tadbir, A.A., Ebrahimi, H., Koohi-Hosseiniabadi, O. (2014). "Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of Hypericum perforatum extract on induced oral mucositis in golden hamsters", *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43, 1286-1292.

Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Marshall V.S., Jones J.M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* . 282:1145-7.

Torres-Lagares, D., Serrera-Figallo, M.A., Romero-Ruiz, M.M., Infante-Cossio, P., Garcia-Calderon, M., Gutierrez-Perez, J.L. (2005). "Alveolitis Seca. Actualización de Conceptos", *Medicina Oral Patología Oral Cirugía Bucal*, 10, 77-85.

Tuncay, Ü. (1989). Alvolitis ve etiyojisi , *Ege Üniversitesi DişHekimliği Fakültesi Dergisi*, 10, 65-72.

Türkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kıvrak, I., Gezer, K. (2007). "Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull) Murrill", *Food Chemistry*, 101, 267-73.

Uccelli, A., Moretta, L., Pistoia, V. (2006). "Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells", *European Journal of Immunology*, 36, 2566-2573.

Uccelli, A., Pistoia, V., Moretta, L. (2007). "Mesenchymal stem cells: a new strategy for immune suppression", *Trends in Immunology*, 28, 219-26.

Ueda M, Fujisawa T, Ono M, Hara ES, Pham HT, Nakajima R (2014). A short term treatment with tumor necrosis factor-alpha enhances stem cell phenotype of human dental pulp cells. *Stem Cell Res Ther* 5:31.

Vezeau, P.J. (2000). "Dental extraction wound management: medicating postextraction sockets", *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 58: 531-537.

Wada, N., Menicanin, D., Shi, S., Bartold, P.M., Gronthos, S. (2009). "Immunomodulatory properties of human periodontal ligament stem cells", *Journal of Cell Physiology*, 219: 667-676.

Wang, X., He, F., Tan, Y., Tian, W., Qiu, S. (2011). "Inhibition of Delta 1 promotes differentiation of odontoblasts and inhibits proliferation of human dental pulp stem cell in vitro", *Archives of Oral Biology*, 56: 837-845.

Waterman, R.S., Tomchuck, S.L., Henkle, S.L., Betancourt, A.M. (2010). "A new mesenchymal stem cell (MSC) Paradigm: polarization into a proinflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype", *PlosOne*, 5.

WINSLOW T. (2001). Stem Cells: Scientific progress and future research directions. *National Institutes of Health*.

WEISSMAN IL. (2000). Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: Barriers and opportunities. *Stem Cell Research and Ethics*, 287:1442-1446.

Wikler, M.A., Low, D.E., Cockerill, F.R., Sheehan, D.J., Craig, W.A., Tenover, F.C. (2006). "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard". *Wayne*, 29:2.

Wilson, A., Trumpp, A. (2006). "Bone-marrow haematopoietic-stem cell niches", *Nature Reviews Immunology*, 6, 93-106.

Wynn, R.F., Hart, C.A., Corradi-Perini, C., O'Neill, L., Evans, C.A., Wraith, J.E., Fairbairn, L.J., Bellantuono, I. (2004). "A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow", *Blood*, t 104, 2643-2645.

Yang, X.C., Fan, M.W. (2005). "Identification and isolation of human dental pulp stem cells", *Zhonghua Kou Qiang*, 40, 244-247.

Yeşilada, E., Gurbuz, I., Shibata, H. (1999). "Screening of Turkish anti-icerogenic folk remedies for anti-Hlicobacter pylori activity", *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 289-293.

Younis, W.H., Al-Rawi, N.H., Mohamed, M.A., Yaseen, N.Y. (2013). "Molecular events on tooth socket healing in diabetic rabbits", *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51, 932-936.

Zaidi, S.F., Muhammad, J.S., Shahryar, S., Usmanghani, K., Gilani, A.H., Jafri, W., Sugiyama, T. (2012). "Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in Helicobacter pylori infected gastric epithelial cells", *Journal of Ethnopharmacology*, 141, 403-10.

Zhang Q Shi S, iu Y., Uyanne J., Shi Y., Shi S., Le A.D. (2009). Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation related tissue destruction in experimental colitis, *Bone*, 183, 7787-98.

Zhu, M., Carvalho, R., Scher, A., Wu, C.D. (2011). "Short term germ killing effect of sugar sweetened cinnamon chewing gum on salivary anaerobes associated with halitosis", *Journal of Clinical Dentistry*, 22, 23-26.

Zhu, X., Wang, Z., Hu, C., Li, Z., Hu, J. (2014). "Honokiol suppresses TNF-alpha induced migration and matrix metalloproteinse expression by blocking NF-KB activation via the ERK signalling pathway in rat aortic smooth muscle cells", *Acta Histochemica*, 116, 588-595.

Zur Nieden, N., Kempka, G., Ahrr, H.J. (2003). "In vitro differentiation of embryonic stem cells into mineralized osteoblasts", *Differentiation*, 71, 18-27.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KIZILOĞLU, Mustafa
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.04.1987, Bulgaristan
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (554) 527 82 54
Faks : -
e-mail : mustafa.kiziloglu@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi /A.D.Ç Cerrahisi	Devam Ediyor
Yüksek lisans	Süleyman Demirel Üni. Diş Hekimliği	2010
Lise	Bursa Anadolu Lisesi	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010-Halen	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Hobiler

Sinema, Tiyatro, Kitap okuma



GAZİ GELECEKTİR...