T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLUTENSİZ BESLENME VE YÜKSEK YAĞLI BESLENMENİN RATLARDA UYGULANAN DENEYSEL ORTODONTİK DİŞ HAREKETİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ZEYNEP BALAT ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ŞENİZ KARAÇAY

ORTODONTİ ANA BİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI

DOKTORA TEZİ
EYLÜL/2022

İTHAF

“Sevgili anneme, babama, kardeşime ve yol arkadaşım değerli eşime ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Doktora hayatım boyunca her konuda yanımda olan, tez çalışmamda fikirleri ve yardımlarıyla bana yol gösteren ve sevgisini hissettiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY'a, eğitim hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerini aktaran Doç.Dr. Ersin YILDIRIM ve Dr. Öğr. Üyesi Derya DURSUN hocama ve bu süreçte varlıklarıyla doktora sürecimi renklendiren tüm doktora arkadaşlarıma, çalışmamızın histoloji aşamasında yanımızda olan Dr. Öğr. Üyesi Esra ÇİKLER ve doktora öğrencisi Seda KIRMIZIKAN'a, tez çalışmamda destekleriyle yanımda olan sevgili dönem arkadaşım Dt. Esra ERKAN'a, tez izleme komitesinde yer alan ve katkılarıyla bizlere destek olan Prof. Dr. Günseli GÜVEN POLAT hocama çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamızın gerçekleşmesinde bizlere destek sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve deney hayvanları bakım ve gözlem sürecinde yanımızda olan SBÜ Hamidiye Deney Hayvanları Laboratuvar ekibine teşekkür ederim.

Sevgili annem,babam,kardeşim ve değerli eşime bu süreçte elimi tuttukları ve beni canı gönülden destekleri için minnettarım. Doktora sürecimde ve hayatımın her alanında pozitif destekleriyle beni güçlendiren gönül dostlarıma ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xii
ÖZET xiii
ABSTRACT xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. ORTODONTİK DİŞ HAREKETİ 3
2.1.1 Diş Hareketi Teorileri 3
2.2. ORTODONTİK DİŞ HAREKETİNİN SAFHALARI 5
2.2.1.Başlangıç Fazı 5
2.2.2.Duraklama Fazı 5
2.2.3.Duraklama Sonrası Fazı 5
2.3. PERİODONSİYUM 6
2.3.1. Periodontal Ligament 6
2.3.2. Alveol Kemiği 7
2.3.3. Kemik Şekillenmesi, Yeniden Şekillenme ve Ortodontik Diş Hareketi 9
2.3.4. Osteoklast Formasyonu ve Kemik Rezorpsiyonu 10
2.3.5. Osteoblast Formasyonu ve Kemik Apozisyonu 12
2.3.6. Osteositlerin Rolü 13
2.4. KEMİK METABOLİZMASI BELİRTEÇLERİ 13
2.4.1. RANK/RANKL/OPG 14
2.4.2. Osteopontin (OPN) 15
2.4.3. Kemik Morfogenetik Protein-2 (BMP-2) 16
2.5. YÜKSEK YAĞLI BESLENME VE OBEZİTE 17
2.6. GLUTENSİZ BESLENME 20
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. ARAŞTIRMANIN DENEY SAFHASINDA KULLANILAN MALZEMELER 25

3.2. DENEY HAYVANLARININ BAKIMI VE GRUPLARIN OLUŞTURULMASI 27
3.3. APAREYİN UYGULANMASI 29
3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME 33
3.4.1. Tespit işlemleri, Dekalsifikasyon, Doku Takibi ve Kesit Alma 33
3.4.2. Hematoksilen-Eozin Boyama 34
3.4.3. İmmünohistokimyasal Boyama 34
4. BULGULAR 36
4.1. RATLAR VE KULLANILAN APAREYLE İLGİLİ GÖZLEMSEL BULGULAR 36
4.2. RATLARIN AĞIRLIK VE İNTRAORAL ÖLÇÜMLERİYLE İLGİLİ BULGULAR 36
4.3. HİSTOKİMYASAL BULGULAR 43
4.3.1. Kemik Yapım Alanındaki Histokimyasal Bulgular 43
4.3.1. Kemik Yıkım Alanındaki Histokimyasal Bulgular 44
4.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR 45
4.4.1. Kemik Yapım Alanı Anti-BMP2 İmmunhistokimyasal Bulguları 46
4.4.2. Kemik Yıkım Alanı Anti-BMP2 İmmunhistokimyasal Bulguları 47
4.4.3. Kemik Yapım Alanı Anti-OPN İmmunohistokimyasal Bulguları 48
4.4.4. Kemik Yıkım Alanı Anti-OPN İmmunhistokimyasal Bulguları 49
4.4.5. Kemik Yapım Alanı Anti-OPG İmmunhistokimyasal Bulguları 50
4.4.6. Kemik Yıkım Alanı Anti-OPG İmmunhistokimyasal Bulguları 51
4.4.7. Kemik Yapım Alanı Anti-RANKL İmmunohistokimyasal Bulguları 52
4.4.8. Kemik Yıkım Alanı Anti-RANKL İmmunohistokimyasal Bulguları 53
4.5. İMMUNHİSTOKİMYASAL BULGULARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ 54
5. TARTIŞMA 62
5.1. AMAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMİN TARTIŞILMASI 62
5.2. BULGULARIN TARTIŞILMASI 69
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 85
KAYNAKLAR 87
EKLER 101

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Deneyin uygulama aşamasında kullanılan malzemeler 25

Tablo 3.2: Deneyde kullanılan farmakolojik ajanlar 27

Tablo 3. 3: Deney grupları 28

Tablo 3.4: Deneyde kullanılan yem içeriği 28

Tablo 3.5: Boyama işlemine ait basamaklar 33

Tablo 3.6: Primer antikor dilüsyon oranları 35

Tablo 4.1: Gruplar arasında Kruskal Wallis Testi ile ve grup içinde Wilcoxon Sign Test ile beslenme başlangıç, deney başı ve deney sonu kilo değerlerinin karşılaştırılması…37

Tablo 4.2: Gruplar arası deney başı ve deney sonu kilo değerlerinin ikili karşılaştırılması 37

Tablo 4.3: Gruplar arası deney başı, beslenme başlangıç ve deney sonu kilo farklarının Kruskal Wallis Tesi ile karşılaştırılması 40

Tablo 4.4: Gruplar arası deney başı, beslenme başlangıç ve deney sonu kilo farklarının ikili karşılaştırılması 40

Tablo 4.5: Çalışma sonunda elde edilen diş hareket miktarları ve gruplar arasında karşılaştırılmaları 42

Tablo 4.6: Keser dişlerin hareket miktarının gruplar arasında ikili karşılaştırılması 42

Tablo 4.7: Kemik yapım tarafındaki immunohistokimya boyaması belirteçlerinin skorlaması 55

Tablo 4.8: Kemik yıkım tarafındaki immunohistokimya boyaması belirteçlerinin skorlaması 56

Tablo 4.9 : Kemik yapım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının yüzdelik dağılımları ve gruplar arası karşılaştırmaları 57

Tablo 4.10: Kemik yapım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının gruplar arası ikili karşılaştırmaları 57

Tablo 4.11: Kemik yıkım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının yüzdelik dağılımları ve gruplar arası karşılaştırmaları 59

Tablo 4.12: Kemik yıkım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının gruplar arası ikili karşılaştırmaları 59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1: Deneyde kullanılan yemler 29

Şekil 3.2: Kuvvet ölçer ile dişlere gelecek kuvvetin ayarlanması 30

Şekil 3.3: Apareyin ağız içerisindeki görüntüsü 31

Şekil 3.4: Deney sonu kesici dişler arası mesafenin kumpas ile ölçülmesi 31

Şekil 3.5: Deney sonu gruplar arası kilo değişimi 32

Şekil 3.6: Deney sonu grupların ağız içi görüntüleri ve örnek maksilla kesitleri 32

Şekil 3.7: Parafin bloklardan kesit alma işlemi 34

Şekil 3.8: İmmünohistokimya boyama aşaması 35

Şekil 4.1: Grupların beslenme başlangıç, deney başı ve deney sonu kilo dağılım grafiği…….. 39

Şekil 4.2: Grupların deney başı-beslenme başlangıç, deney sonu-beslenme başlangıç ve deney sonu-deney başı kilo farkı dağılım grafiği 41

Şekil 4.3: Çalışma sonu keser dişlerin hareket miktarlarının dağılım grafiği 43

Şekil 4.4: Kemik yapım (apozisyon) alanının genel morfolojisi 44

Şekil 4.5: Kemik yıkım (rezorpsiyon) alanının genel morfolojisi 45

Şekil 4.6: Kemik yapım alanında anti-BMP2 immünohistokimyası 46

Şekil 4.7: Kemik yıkım alanında anti-BMP2 immünohistokimyası 47

Şekil 4.8: Kemik yapım alanında anti-OPN immünohistokimyası 48

Şekil 4.9: Kemik yıkım alanında anti-OPN immünohistokimyası 49

Şekil 4.10: Kemik yapım alanında anti-OPG immünohistokimyası 50

Şekil 4.11: Kemik yıkım alanında anti-OPG immünohistokimyası 51

Şekil 4.12: Kemik yapım alanında anti-RANKL immünohistokimyası 52

Şekil 4.13: Kemik yıkım alanında anti-RANKL immünohistokimyası 53

Şekil 4.14: Negatif immünohistokimya kontrolü 54

Şekil 4.15: OPN ve BMP2 antikorları için genel boyanma şiddeti ve hücresel immünoreaktivite skorlarının dağılımı 61

Şekil 4.16: OPG ve RANKL antikorları için genel boyanma şiddeti ve hücresel immünoreaktivite skorlarının dağılımı 61

SİMGELER VE KISALTMALAR

BKİ : Beden Kitle İndeksi

BMP-2 : Kemik Morfogenetik Protein-2

CGRP : Kalsitonin Geni İlişkili Peptid

ÇH : Çölyak Hastalığı

COX : Siklooksijenaz

D : Dentin

GD : Glutensiz Diyet ile Beslenen Grup

H&E : Hematoksilen &Eozin

IL : İnterlökin

K : Kontrol Grubu

KM : Kemik Matriks

M-CSF : Makrojaf Koloni Uyarıcı Faktör

NÇGD : Non-Çölyak Gluten Duyarlılığı

OPG : Osteoprotegerin

OPN : Osteopontin

PDL : Periodontal Ligament

RANK : Nükleer Faktör Kappa B

RANKL : Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa B Ligandı

SD : Standart Diyet ile Beslenen Grup

TGF : Transforme Edici Büyüme Faktörü

VEGF : Vaskuler Endotelyal Büyüme Faktörü

YYD : Yüksek Yağlı Diyet ile Beslenen Grup

GLUTENSİZ BESLENME VE YÜKSEK YAĞLI BESLENMENİN RATLARDA UYGULANAN DENEYSEL ORTODONTİK DİŞ HAREKETİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı glutensiz beslenme ve yağlı diyetle beslenmenin ortodontik diş hareketi sırasında oluşan kemik yapımı ve yıkımı üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: 30 adet Sprague-Dawley rat kontrol, standart diyet (SD), yüksek yağlı diyet (YYD) ve glutensiz diyetle (GD) beslenenler olmak üzere 4 gruba ayrıldı. SD,YYD,GD gruplarına ortodontik aparey uygulandı. Hayvanlar 10 hafta süreyle beslendi ve 14 günlük ortodontik kuvvet uygulaması sonrası sakrifiye edildi. Gerilim ve basınç taraflarında BMP-2, OPN, RANKL ve OPG belirteçleri immunohistokimyasal olarak incelendi.

Bulgular: Gerilim bölgesinde; GD grubunda OPN oranı tüm gruplardan yüksek bulundu ($p<0,05$). SD grubu BMP2 oranı kontrol ve YYD gruplarından düşüktü ($p<0.05$). GD grubu BMP2 oranı tüm gruplardan daha yüksekti ($p<0.05$). Basınç bölgesinde; kontrol grubunun OPN oranı, SD, YYD ve GD gruplarına göre düşüktü ($p<0.05$). GD grubunun BMP2 oranı SD ve YYD gruplarından yüksek saptandı ($p<0.05$). YYD grubunda OPG oranı kontrol ve GD gruplarından daha düşük bulundu ($p<0.05$). Diş hareket miktarı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Sonuç: Ortodontik diş hareketi hızı ve tedavi süresi diyet farklılıklarına bağlı olarak değişebilmektedir. Bu çalışma glutensiz beslenme ve ortodontik diş hareketi açısından literatürdeki ilk çalışmadır. Glutensiz beslenen ratlarda kemik yıkımının daha az, yüksek yağlı beslenenlerde ise yıkımın daha şiddetli olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, bu konuda ileri deneysel ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Glutensiz Diyet, İmmunohistokimya, Kemik Remodelingi, Ortodontik Diş Hareketi, Yüksek Yağlı Diyet.

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF GLUTEN-FREE DIET AND HIGH-FAT DIET ON EXPERIMENTAL ORTHODONTIC TOOTH MOVEMENT IN RATS

ABSTRACT

Aim: To investigate the effects of gluten-free and high-fat diets on bone resorption and apposition during orthodontic tooth movement.

Materials and Methods: 30 Sprague-Dawley rats were divided into four groups: control, standard diet (SD), high-fat diet (HFD), and gluten-free diet (GFD). Orthodontic appliances were applied to SD, HFD, and GFD groups. Animals were fed for ten weeks and sacrificed after 14 days of the orthodontic force application. BMP-2, OPN, RANKL, and OPG markers were examined immunohistochemically on both tension and pressure sides.

Result: On the tension side, the OPN ratio was higher in the GFD group than in all groups ($p<0.05$). The BMP2 ratio in the SD group was lower than in the control and HFD groups ($p<0.05$). The BMP2 ratio in the GFD group was higher than in all groups ($p<0.05$). On the compression side, the OPN ratio of the control group was lower than that of the SD, HFD, and GFD groups ($p<0.05$). The BMP2 ratio of the GFD group was higher than the SD and HFD groups ($p<0.05$). There was no significant difference between the groups regarding the amount of tooth movement ($p>0.05$).

Conclusion: The rate of orthodontic tooth movement and treatment duration may depend on diet differences. This study is the first in the literature regarding gluten-free diet and orthodontic tooth movement. It was observed that bone resorption was less in gluten-free diet and more severe in high-fat diet in rats. However, further experimental and clinical studies are needed on this subject.

Key Words: Bone Remodeling, Gluten-Free Diet, High-Fat Diet, Immunohistochemistry, Orthodontic Tooth Movement

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Glutensiz beslenme ve obezite son yıllarda araştırıcıların ilgisini çeken iki önemli konu olmuştur. Yüksek yağlı beslenmenin adipoz hücrelerin birikmesiyle, kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet, insülin direnci ve metabolik sendrom gibi çeşitli sistemik rahatsızlıklara neden olduğu bilinmektedir (1–3) ve obezite, sağlığı olumsuz etkileyen, aşırı yağ birikimi ile karakterize metabolik bir bozukluktur (4).

Glutensiz beslenme, çölyak hastalığı (ÇH) başta olmak üzere, çeşitli otoimmun hastalıklarda tedavinin gidişatını olumlu yönde etkilemektedir. Diyetteki glutenin özellikle tip-1 diyabet gelişimini tetiklediği bilinmektedir (5). Bunun yanı sıra non-çölyak gluten duyarlılığı (NÇGD) olan bireylerde, aktif bir hastalık olmamasına rağmen, gluten alımı sonucu çeşitli şikayetler görülmektedir. Bu hastaların glutenle beslenmesi riskli olup, bağırsaklardan çeşitli vitamin ve minerallerin emilimi de etkilenmektedir. Emilimi azalan vitamin ve mineraller kemik metabolizmasını da etkileyebilmektedir (6,7).

Günümüzde obez yani yüksek vücut kitle indeksine sahip bireylerin sayısı her geçen gün artmaktadır ve obezite tedavi edilmesi gereken bir hastalık olarak görülmektedir. Obezitenin derecesine göre hipertansiyon, tip 2 diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalık riski de paralel olarak artmaktadır (8).

Yapılan literatür araştırmasında glutensiz beslenme ve yağlı diyetle beslenmenin birlikte ele alınarak ortodontik diş hareketi üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir çalışma tespit edilememiştir. Obezitenin diş hareketini yavaşlattığını bildiren çalışmalar mevcut olsa da (9–11), glutensiz beslenmenin diş hareketi üzerinde nasıl bir etki yarattığı bilinmemektedir. Gluten bağırsakta inflamasyon yaratarak başta D vitamini olmak üzere çeşitli vitamin ve minerallerin emilimini etkilemektedir (7). Bu çalışma ortodontik diş hareketi sırasında oluşan lokal inflamasyon sürecinin, glutene bağlı gelişen sistemik inflamasyon ve mineral-vitamin dengesinden etkilenebileceği, diş hareketinin gerçekleşmesinde temel prensip olan kemik yapım/yıkım dengesinin de glutene bağlı olarak değişebileceği öngörülerek planlanmıştır.

Çalışmamızın amacı glutensiz beslenme ve yağlı diyetle beslenmenin ortodontik diş hareketi sırasında oluşan kemik rezorbsiyonu ve apozisyonu üzerine etkilerini tespit etmektir. Çalışmamızın sonuçları glutenin ve yağlı diyetle beslenmenin ortodontik diş

hareketinin hızını etkileyip etkilemediğini ortaya koyacak, beslenme alışkanlıklarının ortodontik tedavi sırasında kemik remodellingi ve tedavi süresi üzerinde etkili olup olmadığı tespit edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORTODONTİK DİŞ HAREKETİ

Dişler; diş destek dokularından olan periodontal ligament aracılığı ile alveol kemiğine bağlıdır ve diş hareketinin temeli periodontal bir fenomene dayanmaktadır (12). Ortodontik diş hareketi biyolojik etkenler, beslenme, uygulanan ortodontik kuvvet sistemleri ve çevresel faktörlerden etkilenen alveol kemiğin yeniden şekillenmesi ve kemik döngüsü sonucunda gerçekleşir (13–15). Kemiğin yeniden şekillenme süreci, alveoler soketin basınç bölgesinde rezorpsiyonel, gerilme bölgesinde apozisyonel aktivite ile gerçekleşir. Dişe kuvvet uygulanmasıyla, lokal hipoksi ve sıvı akışı gerçekleşerek basınç alanlarında osteoklast ve gerilim alanlarında osteoblast birikimiyle karakterize bir dizi biyolojik olay başlar. Ortodonik kuvvete karşı periodontal dokularda başlayan inflamasyon, diş hareketinin gerçeklemesi için ilk basamaktır (16). Bu inflamasyon süreci ile kuvvet uygulanan bölgede osteoklastik aktivite artar ve diş hareketi için gereken kemik rezorpsiyonu meydana gelir (17).

Basınç ve gerilim, dişin yer değiştirmesi için kemiğin ve periodontal ligamentin yeniden şekillenmesini düzenlemek amacıyla belirli sinyal faktörleri ile ilişkilidir (18). İnflamasyon ve doku yenilenmesinin anahtar düzenleyicileri arasında reseptör aktivator nükleer kappa B ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) faktörleri, runt ilişkili transkripsiyon faktörü-2 (RUNX2), sitokinler, prostoglandinler, doku nekroz faktörleri ve proteazlar bulunur. Kontrolsüz inflamasyon ortodontik kaynaklı kök rezorpsiyonu ve periodontal hastalığa yol açabileceği için diş hareketi sırasında oluşan inflamasyonun iyi kontrol edilmesi gerekir (18).

2.1.1 Diş Hareketi Teorileri

Dişe uygulanan ortodontik kuvvet, yeniden şekillenme olarak adlandırılan alveolar kemiğin rezorpsiyon ve apozisyon mekanizması ile diş hareketine neden olur. Ortodontik kuvvetin biyolojik aktiviteye nasıl dönüştüğü tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, araştırıcılar tarafından üç olası diş hareketi teorisi savunulmaktadır (18).

2.1.1.1. Piezoelektrik teorisi: Bassett ve Becker (19) tarafından 1962'de önerilen bu teoriye göre, alveolar kemik eğildiğinde veya büküldüğünde piezoelektrik

sinyalleri yayar ve bu sinyaller diş hareketinden sorumludurlar. Kemik bükülmesinden sonra iyonlar elektrik alanı varlığında etkileşime girerek elektrik sinyallerine ve sıcaklık değişikliğine neden olur. "Akış potansiyeli" olarak adlandırılan küçük bir voltaj gözlemlenir. Piezoelektrik sinyallerinden farklıdırlar ve hücresel aktiviteyi değiştirebilen harici elektrik alanı tarafından üretilebilirler. Kemikte "biyoelektrik potansiyel" olarak adlandırılan başka bir sinyal türü vardır. Metabolik olarak aktif olan kemik, aktivitesiyle orantılı elektronegatif değişiklikler gösterir (19). Alveolar kemiğin ortodontik kuvvetler tarafından bükülmesine periodontal ligamantte meydana gelen değişiklikler eşlik eder (20).

Ortodontik kuvvetler sırasında kemik üzerinde stres oluşturan periodontal lifler, ortodontik kuvvet ile dentoalveolar kompleks arasındaki elektrokimyasal ilişkinin temeli olarak değerlendirilir. Elektronegatif yüklü alanın osteoklastik aktivite ile karakterize edildiği ve elektropozitif yüklü alanının osteoblastik aktivite ile karakterize edildiği belirtilir (21).

2.1.1.2. Basınç-Gerilim teorisi: Yapılan histolojik araştırmalar sonucunda, dişin periodontal boşlukta basınç ve gerilim tarafı oluşturarak hareket ettiği varsayılmaktadır (22,23). Kuvvet uygulamasıyla periodontal ligamentin kan akışında değişiklikler olmaktadır. Periodontal ligamentin sıkıştığı tarafta daha az oksijen seviyesi ve gerilim tarafında ise bunun tersi görülür. Düşük oksijen seviyesinin adenozin trifosfat (ATP) aktivitesinde azalmaya neden olduğu belirtilir (24). Doku cevabı ise uygulanan kuvvetin büyüklüğüyle ve kılcal kan basıncıyla ilişkilendirilir (22). Eğer uygulanan kuvvet kılcal kan basıncını aşarsa (20-25 g/cm2 kök yüzeyi), sıkışmış periodonsiyum nedeniyle doku nekrozu meydana gelebilir (25).

2.1.1.3. Kemik bükülme teorisi: Farrar (26), bir dişe ortodontik kuvvet uygulandığında, kuvvetin uygulama bölgesine yakın tüm dokulara iletildiğini belirtmiştir (27). Kemik diğer yapılara göre daha elastik olduğu için kolayca bükülür ve diş hareketi hızlanır. Bu durum, kemik kalsifikasyonunun daha az ve kemiğin daha esnek olduğu çocuk hastalarda çekim yerinde meydana gelen hızlı diş hareketini de açıklamaktadır (28). Kemiğin bükülmesinin ardından kemik remodelingi başlar. Remodeling yalnızca alveol kemiğin lamina durasında değil, kemiğin trabeküler kısmında da meydana gelmektedir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, ortodontik kuvvetle beraber tıpkı uzun kemiklerde görüldüğü gibi, alveoler kemikte de iç bükey ve dış bükey yüzeyler oluşturan

bükülmenin meydana geldiğini göstermiştir (21,29,30). Epker ve Frost (31), alveolar kemikte meydana gelen şekil değişikliğinin periodontal ligament fibrillerindeki gerilmeyle ilişkili olduğunu ve fibrillerin gerilim alanında kemik yapımını sağladığını belirtmişlerdir.

2.2. ORTODONTİK DİŞ HAREKETİNİN SAFHALARI

2.2.1.Başlangıç Fazı

Dişe kuvvet uygulandıktan hemen sonra gerçekleşir. Dişin periodontal boşlukta yer değiştirmesi nedeniyle hareket hızlıdır. Başlangıç fazı genellikle yirmi dört saat ile iki gün arasında gerçekleşir (32). Dişin hareketi öncelikle soket içinde gerçekleşir. Dişe uygulanan kuvvet nedeniyle, periodontal ligamentin sıkışması ve gerilmesi, sırayla damarların ekstravazasyonuna, inflamatuar hücrelerin kemo-çekimine ve osteoblast ve osteoklast progenitörlerinin toplanmasına neden olur.

2.2.2.Duraklama Fazı

Başlangıç fazından sonra, diş hareketinin minimum olduğu veya bazen hiç hareket etmediği bir duraklama fazı vardır. Bu fazın nedeni, sıkıştırılmış periodontal ligamentin hyalinizasyonudur. Nekrozlu doku hücreler tarafından alınana kadar hareket gerçekleşmeyecektir (27). Duraklama fazında diş hareketi yirmi ila otuz gün arasında durur ve bu süre zarfında tüm nekrotik doku bitişik kemik iliğinin rezorpsiyonuyla birlikte uzaklaştırılır. Sıkıştırılmış kemik ve sıkıştırılmış periodontal ligament alanlarından alınan nekrotik doku, makrofajlar, yabancı cisim dev hücreleri ve osteoklast hücreleri tarafından uzaklaştırılır.

2.2.3.Duraklama Sonrası Fazı

Diş hareketinin yavaş yavaş veya aniden arttığı ve genellikle ilk kuvvet uygulamasından kırk gün sonra görülen aşamadır (25). Dişin yer değiştirmesi sırasında sürekli bir gelişimin ve nekrotik doku uzaklaştırılmasının meydana geldiği öne sürülmüştür (33).

2.3. PERİODONSİYUM

Periodontal ligament (PDL), alveol kemiği ve sement, gelişim ve fonksiyon açısından birbiriyle ilişkili yapılar olup, sadece ortodontik diş hareketi için değil, aynı zamanda periodontal hastalık için de kritik öneme sahip olan periodonsiyumu oluştururlar.

2.3.1. Periodontal Ligament

PDL bir bağ dokusudur ve apendiküler iskeletteki tendonlar ve diğer bağlarla bazı benzerlikler taşır (34). Sementi Sharpey lifleri adı verilen tip I kollajen demetleriyle alveolar kemiğe bağlayan PDL'nin iki temel işlevi vardır: 1) mekanik gerilimleri iletmek ve absorbe etmek 2) semente, alveolar kemiğe ve kendisine (PDL) vasküler destek ve besin sağlamak (12). Homeostazda bir periodontal ligamanın genişliği, diş tipine bağlı olarak ~ 0,15-0,38 mm'dir (35).

2.3.1.1. Periodontal ligament hücreleri: Fibroblastlar toplam PDL hücresinin yaklaşık %50-60'ını oluşturur (36). PDL hücreleri, ortodontik diş hareketi gerçekleşirken olduğu gibi mekanik gerilmeler yaşar ve uygulanan kuvvetlere tepki verirler (37). Diğer PDL hücreleri ise; makrofajlar, lenfositler ve endotel hücreleridir (38). Dişe kuvvet uygulandığında, PDL fibroblastları, gerilime duyarlı kalsiyum Ca+2 geçirgen kanalları aktive ederek aktin polimerizasyonunu arttırır ve c-fos ekspresyonunda hızlı ve geçici bir artış sağlar (39). Aktifleşmiş fibroblastlar plazminojen aktivatörünün yanı sıra inhibitörü olan matriks metaloproteazları ve bunun inhibitörü olan prostaglandin E2 (PGE-2) ve İnterlökin-6 (IL-6) gibi sitokinleri salgılamaktadır (40). PDL ayrıca makrofajlar ve mast hücreleri gibi savunma hücrelerinden oluşur. Osteoblastlar, osteoklastlar ve sementoblastlar da PDL'de bulunur ve periodonsiyumun homeostazına katılırlar. PDL'deki osteoblastlar ve osteoklastlar, lamina dura yüzeyinde ve alveolar kemiğin endosteal yüzeylerinde bulunur, mekanik gerilmelere de cevap verir.

PDL ve alveoler kemik, homeostaz ve ortodontik diş hareketinde kolayca yeniden şekillenir. PDL ve alveolar kemikteki osteoblastlar birkaç ayda bir değiştirilir (41). Çoğu biyolojik doku adapte olur ve kendini yeniler. Bu durum periyodik olarak apoptoza giren, terminal olarak farklılaşmış hücreleri yenileyen ve değiştiren kök hücrelerin olması gerektiğinin bir göstergesidir. Olgunlaşmamış ve özelleşmemiş hücreler olan kök hücreler, kendini yenileyebilir ve asimetrik farklılaşmaya uğrayabilir. Gelişmekte olan

bir embriyoda, embriyonik kök hücreler vücuttaki her 200 özel hücre tipine farklılaşabilir ve bu nedenle pluripotent kök hücreler olarak adlandırılır (42). Erişkinlerde kök hücreler kısıtlıdır ve sınırlı sayıda hücre tipine farklılaşabilir. Buna rağmen apoptozla kaybolan olgun hücreleri yenileyebilir. Doğum sonrası kök/öncü hücrelerin sayısı daha kısıtlıdır. Tipik olarak, progenitör hücreler, homeostaz sırasında sadece bir tip olgun hücreye farklılaşır (43). Dental kök hücreler; epitelyal kök hücreler ve mezenkimal kök hücreler olmak üzere iki tiptir (44,45). Diş gelişimi sırasında epitelyal kök hücreler ameloblastlara, mezenkimal kök hücreler fibroblastlara, odontoblastlara, sementoblastlara, osteoblastlara ve periodontal ligamandaki diğer hücrelere farklılaşır (46).

PDL hücreleri, periodontal hastalıktaki önemleri ve ortodontik diş hareketleri nedeniyle yıllardır incelenmektedir. Nöral krest türevi mezenkimden köken alan dental folikül hücreleri, periodonsiyumu oluşturan hücrelere ayrılır ve kök oluşumundan önce gelişen diş germlerinde bulunur (47). Periodontal ligamentte fibroblast benzeri hücreler arasında kök/öncü hücreler tanımlanmıştır (48). Morfolojik olarak PDL fibroblastlarını PDL kök/öncü hücrelerinden ayırmak imkansızdır. Bununla birlikte, belirli PDL hücreleri, tek hücreli koloni üzerinde yeni nesiller verir ve in vitro olarak çoklu hücre soylarına farklılaşabilir. Kimyasal olarak tanımlanmış kültür koşullarında, spesifik PDL hücreleri, sementoblast benzeri hücrelere, adipositlere ve kollajen oluşturan hücrelere farklılaşır. Günümüzde PDL kök/öncü hücrelerin ortodontik diş hareketindeki gibi mekanik kuvvetlere nasıl tepki verdiği konusunda halen çok az şey bilinmektedir (35).

2.3.2.2. Fibröz matriks: Kollajen lifleri, retikulin lifleri ve oksitalan lifleri PDL fibröz matriksini oluştururlar. PDL liflerin %90'ından fazlasında kollajen bulunur (49). PDL kollajen lifleri kemik ve sement yüzeylerinden ayrı olarak gelişir ve yavaş yavaş uzayarak birbirlerine yaklaşırlar (50). Ortodontik kuvvetlerin uygulanması üzerine, PDL sinir lifleri, kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP) ve P maddesi salarlar (51). CGRP ve P maddesi vazodilatör olarak görev yapar ve plazma ekstravazasyonunu ve lökosit migrasyonunu stimüle ederler. Çalışmalar CGRP'nin osteoblast stimülasyonuyla kemik yapımını indüklediğini ve osteoklast aktivitesini inhibe ettiğini göstermiştir (52).

2.3.2. Alveol Kemiği

Diş kaybı alveol kemiğin yıkımına yol açar. Alveolar kemiğin esas kısmının trabeküler kemik olmasına rağmen, PDL'ye komşu kısmında lamina dura adı verilen ince bir tabaka halinde kompakt kemik içerir. PDL bir uçta lamina durayı delerek alveol

kemiğine tutunur, diğer uçta ise semente tutunur (53). İç (lingual) ve dış (labial) kortikal tabakalar da kompakt kemik ile birleşmiş haldedir. Alveolar kemiğin %23'ü mineralize doku, %37'si çoğunluğu kollajen olan organik matriks, diğer %40'ı sudur (54).

2.3.2.1.Alveol kemiği hücreleri: Alveolar kemiğin homeostazı ve fonksiyonlarından birçok hücre tipi sorumludur. En belirgin hücre tipleri osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır. Adipositler, kan damarlarının kaplamasını oluşturan endotel hücreleri ve makrofajlar gibi bağışıklık yetkin hücreler gibi diğer hücre tipleri de önemlidir. Osteoblastlar, kemik apozisyonundan sorumlu mononükleer ve özelleşmiş hücrelerdir. Osteoblastlar ve fibroblastların her ikisi de tip I kollajen matriksini sentezleseler de osteoblastlar, kök/öncü hücrelerin osteoblastlara ayrılması için bir ana anahtar olan çekirdek bağlama faktörü alt ünit alfa-1 (Cbfα1) veya Runt bağımlı trankripsiyon faktörü-2 (Runx2)'yi eksprese ederek fibroblastlardan ayrılırlar (55). Sayısız gen osteogenezin karmaşık sürecini kontrol etse de, Cbfα1 veya Runx2 en erken transkripsiyonel faktör olup kemik oluşumunun başladığını işaret eder (56). Diğer osteogenez genleri arasında kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-β), Indian hedgehog (IHH) ve osterix yer alır (56–59). Kemik dinamik bir dokudur ve birbirlerine zıt sinyaller ile çalışan osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından sürekli olarak yeniden şekillenir (56). Osteoblast sayısı yaşla birlikte azalır, kemik apozisyon ve rezorpsiyon dengesini etkiler ve potansiyel olarak osteoporoza yol açar (60).

Osteosit, olgun kemikte en çok sayıda bulunan hücredir ve organizmanın kendisi kadar yaşayabilir (61). Osteositler, kemik apozisyonu sürecinde mineralize kemiğe gömülmüş fonksiyonel osteoblastlardan türetilir. Bir osteositin kapladığı alana lakuna denir. Hidroksiapatit, kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat osteositlerin çevresinde birikmektedir (62,63).

Osteoblastlar ve osteositler mezenkimal/mezodermal kökenliyken, osteoklastlar hematopoetik/monosit kökenlidir (64,65). Osteoklastlar, birçok monositin füzyonu ile oluşurlar ve bu nedenle çok çekirdeklidirler (66,67). Benzersiz özellikleri arasında endosteal kemik yüzeylerine yapışma ve mineral ve protein yapılarını yok eden asit ve litik enzimleri bulunur. Bir dizi transkripsiyon faktörleri osteoklastların farklılaşmasını kontrol eder (67). Osteoklastlar, tartarat dirençli asit fosfataz (TRAP), özelleşmiş osteoprotegerin (OPG), katepsin K ve klorür kanalı 7'nin (ClCN7) güçlü ekspresyonu ile

karakterizedir (68). OPG, nükleer faktör kappa B (RANK) ve RANK ligand (RANKL) kenetlenmesini engeller; katepsin K, kemik matriks proteinlerini yok ederken, klorür kanalı 7, klorür iyonlarını hücre zarından sürükleyerek osteoklast nötralitesini korur. Osteoklast fonksiyonunun önemli bir regülatörü olan RANKL (66,67) osteoblastlar tarafından sentezlenir ve osteoklast farklılaşmasını teşvik eder, bu da osteoblastların osteoklast farklılaşmasını kontrol ettiğini ancak fonksiyonu kontrol etmediğini gösterir (69).

2.3.2.2 Matriks proteinleri: Alveolar kemikte en bol bulunan ekstrasellular matriks (ECM) bileşeni kollajen tip I'dir (70). Ek olarak, alveoler kemik, osteokalsin, osteopontin, osteonektin, kemik sialoprotein ve fibronektin gibi kolajen olmayan proteinlerin yanı sıra lumican, fibromodulin, decorin, biglycan ve versican gibi proteoglikanları içerir. Osteokalsin bir hormon gibi davranır ve pankreas beta hücrelerinden daha fazla insülin salgılanmasına neden olur ve aynı zamanda adipositleri adiponektini salmaya yönlendirerek, insüline duyarlılığı artırır (71). Osteopontin (OPN), kemiklerin ve dişlerin mineralize hücre dışı matrikslerinin önemli bir bileşeni olan, yüksek oranda fosforlanmış bir sialoproteindir(72). Matriks metalloproteinaz-1, 2 (70,73) ve katepsin (74,75) kemik rezorpsiyonunda önemli kabul edilir.

2.3.3. Kemik Şekillenmesi, Yeniden Şekillenme ve Ortodontik Diş Hareketi

Ortodontik diş hareketi sırasında kemik şekillenmesi inflamatuar bir süreçtir (76). Kemik remodelingi, osteoklast, osteoblast ve osteositlerin hücresel aktiviteleri ile kontrol edilir (77). Diş hareketi sırasında sıkışan tarafta meydana gelen osteoklastik aktivite ile alveolar kemik rezorpsiyonu meydana gelir ve kemikte düzensiz boşluklar oluşur. Bu boşluklar daha sonra osteoblast aktivitesi ile yeni oluşan kemik tarafından doldurulur. Kemik rezorpsiyonu, matriks metalloproteinaz ve lizozom sistein proteinazları içeren enzimler tarafından minerallerin çözünmesi ve tip I kollajenden oluşan organ matriksinin bozulması sonucunda meydana gelir (78). Ortodontik kuvvetler, kan damarlarının deformasyonuna ve çevre dokuların düzensizliğine neden olur. Kan akışı ve periodontal dokular sıkıştırma kuvvetine uyum sağlayamazsa hücre ölümü ve doku nekrozu görülür (79). Ortodontik kuvvetin şiddeti biyolojik olaylarla ilişkilendirilmiştir ancak bu ilişkilerin çoğu varsayımlardır. “Direkt rezorpsiyon” hafif kuvvetlerle, “indirekt rezorpsiyon” ise ağır kuvvetlerle ilişkilidir (80). Mekanik kuvvetler sıklıkla PDL'de nekroza yol açan hyalinizasyona ve gecikmiş kemik rezorpsiyonuna neden olur. PDL'de

meydana gelen hyalinizasyon, normal doku mimarisine sahip olmayan hiyalin benzeri doku oluşumunu ifade etmektedir. Diş hareketinin meydana gelmesinden önce hyalinize dokuların yıkılmasından makrofajlar sorumludur (81).

Ortodontik diş hareket hızı, dişlere veya kemiğe uygulanan mekanik kuvvetlerin şiddeti, sıklığı ve süresi gibi birçok faktörden etkilenir. Mekanik kuvvetler vaskülariteyi ve kan akışını değiştirerek nörotransmitterler, sitokinler, büyüme faktörleri, lökositleri regüle eden koloni stimüle edici faktörler, makrofajlar ve monositler gibi moleküllerin sentezine ve salınmasına neden olur (82,83).

2.3.4. Osteoklast Formasyonu ve Kemik Rezorpsiyonu

Osteoklast oluşumu, stromal ve osteoblastik hücre kaynaklı faktörlerin osteoklast öncüleri üzerindeki etkilerine bağlıdır. Bu faktörlerden biri, RANK'a bağlanan, nükleer faktör kappa B ligandıdır (RANKL). RANKL/RANK bağlanması osteoklastların farklılaşması, fonksiyonu ve hayatta kalması için çok önemlidir. Öte yandan, bir başka osteoblastik hücre kökenli faktör olan osteoprotegerin (OPG), osteoklastogenezi inhibe ederek RANKL/RANK bağlanmasını RANKL'ın tuzak reseptörü olarak keser. Bu nedenle, osteoblastik hücreler tarafından eksprese edilen RANKL/OPG oranı ve osteoklast öncü hücreleri tarafından RANK ekspresyonu fonksiyonel osteoklastların oluşumunu ve kemik yeniden şekillenmesinin ilk adımının aktivasyonunu belirler (84). Dişeti oluğu sıvısındaki RANKL seviyesi 24 saat sürekli sıkıştırma kuvvetinden sonra kontralateral kontrol tarafına gore daha çok yükseldiği tespit edilmiştir (85). PDL ve alveolar kemikteki osteoblastlarda, osteositlerde ve fibroblastlarda, özellikle sıkıştırma kuvveti ile ortodontik kuvvet uygulamasından 3 saat sonra RANKL ekspresyonu artar ve en az 5 gün yükselmeye devam eder (86–92). Çekme gerilimi, osteoblastik hücre kültürlerinde RANKL'ın mRNA seviyesini önemli ölçüde azaltır (93). RANKL'ın gen terapisi ile lokal olarak uygulanması ile osteoklast oluşumunun önemli ölçüde arttığı ve ortodontik diş hareketinin hızlandığı bildirilmiştir (94,95).

Adolesan hastalarda ortodontik kuvvet uygulamasından 1 saat sonra sıkışma tarafında gingival oluk sıvısındaki OPG konsantrasyonu bazal seviyeye kıyasla azalır (96) ve 24 saat sonra kontralateral taraftakinden daha düşük hale gelir (97). Yapılan çalışmalar RANKL'ın aksine, OPG ekspresyonunun ortodontik diş hareketi sırasında basınç kuvveti ile azaldığını, gerilme kuvveti ile arttığını göstermiştir (90,91,93,98). Lokal OPG

uygulamasının kemik yeniden şekillenmesini ve ortodontik diş hareketini önemli ölçüde engellediği bildirilmiştir (94,99).

Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), osteoklastların erken öncüllerinin iyileşmesi ve farklılaşması için çok önemli olan başka bir stromal ve osteoblastik hücre kökenli faktördür (100). M-CSF ekspresyonu, ortodontik diş hareketinin erken safhalarında osteoblastlarda ve PDL'deki fibroblastlarda tespit edilir (92,101). Basınç kuvvetinin osteoblastik MC3T3-E1 hücre kültürlerinde M-CSF ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (102). Fareler üzerinde yapılan çalışmada M-CSF'nin lokal uygulaması ile ortodontik diş hareketinin hızlandığı tespit edilmiştir (103). Bir diğer çalışmada, M-CSF reseptörü olan c-Fms'ye günlük antikor enjeksiyonlarının sınırlı osteoklast oluşumu ile diş hareketini önemli ölçüde engellediği bildirilmiştir. (104).

M-CSF'nin erken düzenlenmesi ortodontik diş hareketi açısından önemlidir. Bu nedenle, osteoblastlar tarafından M-CSF, RANKL ve OPG ekspresyon paternleri diş hareketinde kilit rol oynar. Osteoblastik hücrelerdeki M-CSF ve RANKL'in mekanik kuvvet indüksiyonuna diğer faktörler aracılık eder. Basınç kuvveti, prostaglandin (PG) üretiminin çoğundan sorumlu baş enzim olan siklooksijenaz (COX)-2'nin PDL ve osteoblastik hücrelerde (94,102) ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığı ve PGE2 üretimini arttırdığı belirtilmiştir (90,94). PGE2'nin, osteoklast oluşumunu uyararak RANKL'ı arrtıran ve OPG ekspresyonunu azaltan bir faktör olduğu, ayrıca COX-1 ve COX-2 inhibitörleri veya COX-2'nin spesifik inhibitörleri, RANKL ekspresyonunu osteoblastik hücreler (94,102) ile azalttığı ve ortodontik diş hareketini bozduğu bildirilmiştir (105,106). COX-2 stimülasyonu ve PGE2 üretimi, RANKL'ın basınç kuvveti ile indüksiyonuna aracılık eder. Basınç kuvveti ayrıca IL-17 ve bunun reseptörlerinin osteoblastlardaki ekspresyonunu arttırır. Sıkıştırma kuvvetinin yokluğunda, hücre kültürlerine IL-17 eklenmesi, sıkıştırma kuvvetinin etkilerini taklit ederek M-CSF ve RANKL ekspresyonunu arttırdığı ve OPG ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiştir (90). Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve reseptörü VEGFR-1, ortodontik diş hareketi sırasında mekanik kuvvetlerle yoğunlaştığı gözlemlenmiştir (101,107,108). VEGF'ye karşı nötralize edici bir antikor mekanik stres ile RANKL ve VEGFR-1 indüksiyonunu kısmen inhibe ettiği ve bu durumun VEGF'nin bir otokrin yolunda RANKL indüksiyonuna aracılık ettiği belirtilmiştir (109).

Ortodontik diş hareketine inflamatuar yanıt, çeşitli sitokinlerin üretimi ve salınması ile ilişkilidir. 24 saatlik ortodontik kuvvet uygulamasından sonra, IL-1, IL-6 ve doku nekroz faktörü TNF-α'nın protein seviyelerinin insanlarda dişeti oluğu sıvısında önemli ölçüde arrttığı gösterilmiş (110) ve İnterferon-γ,'nın diş hareketi ile önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (111). Basınç ve gerilim taraflarında salınan sitokinlerin farklı olduğu; basınç tarafında daha yüksek seviyelerde TNF-α ve matriks metalloproteinaz-1, gerilim tarafında ise daha yüksek IL-10, doku inhibitor metalloproteinaz-ve kollajen-1 salınımı olduğu gösterilmiştir (91).

Ren ve ark. (112) ortodontik kuvvet uygulandıktan 24 saat sonra TNF-α, IL-1β, IL-6 ve IL-8 seviyelerinin arttığını bildirmiştir. Benzer şekilde çeşitli araştırmaların sonuçları TNF-α, IL-1β ve IL-6'nın osteoklast farklılaşmasını ve işlevini teşvik ederek, kemiğin yeniden şekillenmesine ve diş hareketine olanak tanıdığını göstermiştir (113–115). Yoshimatsu ve ark. (111) da TNF-α ekspresyonu olmayan farelerde diş hareketinin yavaşladığı tespit edilmişler ve TNF-α'nın ortodontik diş hareketindeki önemini vurgulamışlardır (116). Karacay ve ark. (117) sürekli ve şiddetli kesikli kuvvet uygulamasının TNF-α seviyeleri üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada, şiddetli kesintili kuvvet uygulamasının TNF-α salınımını indüklediğini ve doku yanıtının daha uzun süre devam ettiğini bulmuşlardır.

2.3.5. Osteoblast Formasyonu ve Kemik Apozisyonu

Osteoblast proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonu, büyüme faktörleri, sitokinler ve hormonlar dahil olmak üzere bir dizi hücre dışı faktör ve osteoklastik hücrelerle olan etkileşimle düzenlenir. Transforme edici büyüme faktörü (TGF)-b1, osteoblastik hücreler üzerindeki kemotaktik etkilerle kemik oluşumunu arttıran, RANKL'ı azaltarak ve OPG ekspresyonunu arttırarak osteoklast oluşumunu inhibe ederken, osteoblast proliferasyonunu ve erken evrelerde farklılaşmayı teşvik eden bir proteindir. Dişeti oluğu sıvısında TGF-b1 protein konsantrasyonunun, insanlarda ortodontik diş hareketinden 24 saat sonra önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (110).

VEGF ekspresyonu ortodontik diş hareketinin erken aşamasında artar. Street ve Lenehan (118), VEGF'nin kültürlenmiş primer insan osteoblastlarının apoptozunu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini, nodül oluşumunu ve alkalin fosfataz salınımını teşvik ettiğini tespit etmişlerdir.

Kemik morfogenetik proteinlerinin (BMP'lerinin) mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasında önemli olduğu gösterilmiştir (119,120). Optimum büyüklükteki basınç kuvvetlerinin, BMP'lerin ekspresyonunu ve Runx2 ve Osterix'in osteoblastlara farklılaşması için önemli olan transkripsiyon faktörlerini indükleyebileceği bildirilmiştir (121).

2.3.6. Osteositlerin Rolü

Osteositler M-CSF, RANKL ve OPG'yi eksprese ederek osteoklast oluşumunu ve fonksiyonunu düzenlerler (122). Bu faktörlerin osteositler tarafından ekspresyonunun, kemikteki mikro hasardan ve ortodontik diş hareketi sırasında kemikte oluşan basınçtan kaynaklandığı bildirilmiştir (123). Yapılan hücre kültür çalışmasında da osteosit hasarının M-CSF ve RANKL üretiminin artmasına neden olduğu ve osteoklast oluşumunun arttığı gösterilmiştir (124). Ayrıca ortodontik diş hareketi uygulanan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, osteoklast oluşumundan önce osteosit apoptozunun indüklendiği tespit edilmiştir (125).

Sklerostin, osteositler tarafından üretilen bir protein faktörüdür ve osteoblastik hücrelerde kanonikal Wnt sinyal yolunu antagonize ederek kemik oluşumunu engellemektedir. Yapılan in vivo çalışmada mekanik yüklemenin sklerostin ekspresyonunu azalttığı ve böylece kemik oluşumunun desteklendiği bildirilmiştir (126). Matsuda ve ark. (127), sklerostin ekspresyonunun, kemik oluşumunun meydana geldiği gerilim tarafında alveolar kemiğin yüzeysel bölgesinde önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Fibroblast büyüme faktörü-23, osteoblast farklılaşmasını ve matriks mineralizasyonunu inhibe eden osteositten türetilen bir başka faktördür (127). Bu çalışmalar, ortodontik diş hareketi sırasında osteositlerin bölgeye özgü kemik oluşumunda anahtar rol oynadığını kuvvetle desteklemektedir. Ortodontik diş hareketi sırasında osteoklast oluşumunu, fonksiyonunu ve osteoblast farklılaşmasını düzenlemede osteositlerin önemli olduğu açıktır.

2.4. KEMİK METABOLİZMASI BELİRTEÇLERİ

Kemik metabolizmasının işleyişinde birçok sistemik ve lokal faktör etkilidir. Büyüme ve tiroid hormonları, gonadal ve adrenal steroidler, D vitamini, paratiroid hormon, kalsitonin, insülin ve leptin hormonu sistemik olarak etkilidir. Kemik hücrelerinin lokal olarak uyarılmasında TNF süper ailesi , reseptör aktivator nükleer

kappa B (RANK) ve ligandı (RANKL), osteoprotegerin (OPG), osteopontin (OPN) ve BMP-2 de önemli etkilere sahiptir (128–132).

2.4.1. RANK/RANKL/OPG

Kemiğin yeniden şekillenmesini indüklemede RANK, RANKL ve OPG sisteminin rolü birçok çalışmada gösterilmiştir. RANKL, birçok hormonun ve sitokinin osteoresorptif etkisi üzerinden osteoklast oluşumu ve aktivasyonunu düzenlemektedir. Kemik sisteminde RANKL, osteoblast hücre soyundan eksprese edilir ve etkisini osteoklast soy hücrelerinde RANK reseptörüne bağlanarak gösterir. Bu bağlanma, hematopoetik osteoklast öncüllerinin olgun osteoklastlara hızlı bir şekilde farklılaşmasına yol açar. OPG, osteoblastik hücreler tarafından üretilen bir tuzak reseptördür ve RANKL bağlanması için RANK ile rekabet eder. OPG'nin kemik hücreleri üzerindeki biyolojik etkileri arasında osteoklast farklılaşmasının terminal aşamalarının inhibisyonu, matriks osteoklastlarının aktivasyonunun baskılanması ve apoptozun indüksiyonu yer alır. Bu nedenle, kemiğin yeniden şekillenmesi, RANK-RANKL bağlanması ve OPG üretimi arasındaki bir denge ile kontrol edilir (84,111).

Dişeti oluğu sıvısındaki RANKL seviyesi 24 saat sürekli sıkıştırma kuvvetinden sonra kontralateral kontrol tarafına gore daha çok yükseldiği tespit edilmiştir (85). PDL ve alveolar kemikteki osteoblastlarda, osteositlerde ve fibroblastlarda, özellikle sıkıştırma kuvveti ile ortodontik kuvvet uygulamasından 3 saat sonra RANKL ekspresyonu artar ve en az 5 gün yükselmeye devam eder (86–92). Çekme gerilimi, osteoblastik hücre kültürlerinde RANKL'ın mRNA seviyesini önemli ölçüde azaltır (93). RANKL'ın gen terapisi ile lokal olarak uygulanması ile osteoklast oluşumunun önemli ölçüde arttığı ve ortodontik diş hareketinin hızlandığı bildirilmiştir (94,95).

RANK/RANKL/OPG sisteminin dengeli çalışması kemik yapım yıkım dengesi açısından oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışmada OPG ekspresyonu yetersiz olan farelere ortodontik kuvvet uygulandıktan 5 gün sonra alveoler kemikte aşırı rezorpsiyonlar, perforasyonlar ve şiddetli hasarlar gözlenirken, RANKL expresyonunda normal deneklere göre istetistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (88). Bu bulgu da RANKL/OPG oranının kemik yıkımında asıl önemli faktör olduğunu doğrulamaktadır. Ortodontik diş hareketi süreci direkt olarak kemik yapım ve yıkımına bağlı gerçekleşen biyolojik bir süreçtir. Artmış RANKL/OPG oranı kemik yapım-yıkım miktarının arttığını gösterir ve bu durum diş hareketinin daha hızlı geçekleşmesi ile

sonuçlanır (95). Oshiro ve ark. (88) ortodontik tedavi sırasında, rezorpsiyon tarafında RANKL ekspresyonunda artış olduğunu, diş hareketinde olduğu gibi küçük bir alanda gerçekleşen yapım-yıkım sürecinde bile RANKL/OPG sisteminin aktif olduğunu göstermişlerdir. Kazanki ve ark. (94,133) periodontal aralığa lokal olarak OPG ve RANKL genleri transfer ettikleri çalışmalarında, lokal OPG gen transferinin diş hareketini 21. günde %50 oranında inhibe ettiğini ve lokal RANKL transferinin de 21. günde diş hareketinde %150 oranında artış sağladığını göstermişlerdir. Hızlı diş hareketi gerçekleşen vakalarda RANKL/OPG oranındaki artış genel bir bulgudur. Bu oranın artışı, diş hareket miktarının moleküler göstergelerinden biri olarak kabul edilebilir.

2.4.2. Osteopontin (OPN)

OPN, osteoblastlar, osteositler ve odontoblastlar dahil çeşitli hücre tipleri tarafından eksprese edilen yüksek oranda fosforile edilmiş ve glikosile edilmiş bir sialoproteindir (134). OPN, kollajen olmayan proteinler ailesine aittir (135). İnsanlarda OPN, 4. kromozom 22. bölgenin uzun kolunda bulunan Spp1 geni tarafından kodlanır. OPN, kemik ve dişlerin mineralize hücre dışı matrikslerinin önemli bir bileşenidir. Kemiğin yeniden şekillenmesi, biyomineralizasyon, yara iyileşmesi, apoptoz ve tümör metastazı dahil olmak üzere bir dizi patolojik ve fizyolojik olayla ilişkili olduğu bulunmuştur (136).

Ortodontik diş hareketi sırasında gerilim ve sıkışma görülen taraflarda sinyal yolları ve periodonsiyum cevabı farklılık gösterir ancak OPN kemiğin yeniden şekillenmesinde her iki tarafta da eksprese edilir (137). OPN'nin kemik yapım ve yıkımında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (138). Kemiğin yeniden şekillenmesinde çeşitli düzeylerde OPN aracılığı vardır. OPN'nin osteoklastların öncüsü üzerinde kemotaktik aktiviteye sahip olduğu (139) 10 nM ile 1 μM arasında bir konsantrasyonda olduğu gösterilmiştir (140). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada OPN eksikliğinin kemiğin yeniden şekillenmesini bozduğu tespit edilmiştir (141). Walker ve ark. (142) tarafından yapılan bir hayvan çalışması yükleme olmadan gerçekleşen mekanik streste RANKL ekspresyonunun ve osteoklast sayılarının aktivasyonu için OPN'nin gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, OPN'nin yükleme olmayan alveolar kemik duvarlarında osteoklast aktivitesine, RANKL ekspresyonuna ve kemik erimesine aracılık ettiği öne sürülmüştür. OPN eksikliği olan farelerde distal sürüklenme hareketi gösterilmemiştir.

Ortodontik diş hareketinin ilk aşamalarında OPN osteositlerde görülür (143). Yapılan bir çalışmada 48 saatlik mekanik stresin ardından basınç tarafında osteositleri eksprese eden OPN mRNA sayısının 72 saatte maksimum değere ulaştığı bildirilmiştir (144). Ayrıca ortodontik diş hareketinin sonraki aşamalarında OPN'nin, PDL hücrelerinden, osteoklastlardan, sementositlerdne, sementoblastlardan ve osteoblastlardan, sementten ve alveolar kemiğin semente komşu yüzeylerinden eksprese edildiği gösterilmiştir (143,145,146).

OPN ve RANKL, sıkıştırma kuvvetlerine yanıt olarak kemik rezorpsiyonunu indüklemek için birlikte çalışır (147). Osteoblastlar ve stromal kök hücreler RANKL'ı eksprese eder. Bu olay, öncüllerin çok çekirdekli osteoklastlara farklılaşmasını düzenler (148,149). Walker ve ark. (142) artan OPN ekspresyonunun hücre dışı matriks sinyal yoluyla RANKL ekspresyonunu artırdığını ileri sürmüşlerdir.

2.4.3. Kemik Morfogenetik Protein-2 (BMP-2)

BMP'ler yetişkin hayvanlarda ektopik kemik ve kıkırdak oluşumunu başlatma yetenekleriyle bilinen, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) süper ailesi içindeki çok işlevli büyüme faktörleridir (150–152). Kemik apozisyonu ve osteoblast aktivasyon yolları spesifik sinyallere bağlıdır (153). Bu bağlamda, kemik morfogenetik protein tip 2'nin (BMP-2), osteoblastların proliferasyonunu, farklılaşmasını ve kemik matriksi sekresyonunu kontrol etmede, embriyonik iskelet gelişimi ve doğum sonrası kemik yeniden şekillenmesi sırasında gerekli spesifik transkripsiyonel programları uyarmasıyla kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (154). Spesifik olarak, bu protein kemik dokularının yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynar.

Çok sayıda çalışma periodontal rejenerasyona BMP-2'nin aracılık ettiğini ve BMP'lerin osteojenik proteinlerin ekspresyonunu indüklediğini ve sement dahil kemik ve periodontal dokuların rejenerasyonunu desteklediğini göstermiştir (155–157). Gerilme tarafında veya sıkışma tarafında kortikotomi ile kombinasyon halinde BMP-2 uygulamasının ortodontik diş hareketini ve kemik oluşumunu sinerjik olarak artırma olasılığının değerlendirildiği hayvan çalışmasında, gerilim tarafında tek başına uygulanan BMP-2 enjeksiyonu ortodontik diş hareketi derecesinde önemli değişikliklere neden olmamıştır. BMP-2, sırasıyla gerilim ve basınç taraflarında kortikotomi ile kombine edildiğinde kontrollere göre anlamlı olmayan ortodontik diş hareketi oranları bildirilmiş; ancak kortikotomi artı BMP-2 grubunda osteoklast sayılarında azalma, kemik

rezorpsiyonu ve klinik sonuçlar gözlenmiştir (158). Bununla birlikte Mitsui ve ark.(121) BMP-2'nin lokal enjeksiyonunun ortodontik diş hareketinin hızını arttırmadığını göstermişler, diş hareketini hızlandırmada tek başına kemik oluşumunun arttırılmasının, kemik rezorpsiyonunu teşvik etmek kadar etkili olmayacağını vurgulamışlardır.

2.5. YÜKSEK YAĞLI BESLENME VE OBEZİTE

Yüksek yağlı beslenmenin adipoz hücrelerin birikmesiyle, kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet, insülin direnci ve metabolik sendrom gibi çeşitli sistemik rahatsızlıklara neden olduğu bilinmektedir (1–3). Obezite, sağlığı olumsuz etkileyen, aşırı yağ birikimi ile karakterize metabolik bir bozukluktur (4). Artan kalori alımı ve/veya hareketsiz yaşam tarzı, genetik faktörler ve hormonal işlev bozuklukları nedeniyle ortaya çıkar (159). Obeziteyi belirlemek için Beden Kitle İndeksi (BKİ) kullanılmaktadır. BKİ, bireyin vücut ağırlığının, boy uzunluğunun karesine (BKİ=kg/m2) bölünmesiyle elde edilen bir değerdir. Yetişkinlerde obezite, vücut kitle indeksi 30 kg/m2'den büyük veya buna eşit olarak tanımlanır (4). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, dünya çapında obezite prevalansı 1975 ile 2016 arasında neredeyse üç katına çıkmış olup, aşırı kilo ve obezite düşük kilolaya kıyasla daha fazla ölümle bağlantılıdır (4). Türk çocuklarını içeren bir çalışmada 13 yaşındaki erkeklerin %25'i ve kızların %14'ü; 15 yaşındaki erkeklerin %19'u ve kızların %7'si obez veya fazla kilolu olarak belirtilmiştir (160). Ayrıca obezite, kardiyovasküler hastalık, romatoid artrit, tip 2 diabetes mellitus ve belirli kanser türleri gibi birçok patolojiyle ilişkilidir (161).

Obezitede inflamatuar süreci başlatan tetikleyici durum tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, adipositler gibi metabolik hücrelerde bulunan fazla besin maddesinin, inflamatuar bir kaskadın aktivasyonunu teşvik ederek sitokin ve adipokin salınımının artmasına neden olduğuna dair bir hipotez mevcuttur (162). Ayrıca, adiposit hacmindeki artışın TNF-α, IL-6 ve IL-1b gibi sitokinleri uyararak inflamatuar sekresyona yol açması sonucunda hipoksi görüldüğü ve sonuç olarak, lokal ve sistemik iltihaplanmanın arttığını savunan araştırmacılar da vardır (163).

Obezitede inflamatuar süreci başlatan tetikleyici durum tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte bir hipotez; adipositler gibi metabolik hücrelerde bulunan fazla besin maddesinin, inflamatuar bir kaskadın aktivasyonunu teşvik ederek sitokin ve adipokin salınımının artmasına neden olmasıdır (162). Ek olarak, adiposit hacmindeki artış, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-

1beta (IL1b) gibi sitokinleri uyararak inflamatuar sekresyona yol açar ve hipoksi görülür. Sonuç olarak, lokal ve sistemik iltihaplanma artar (163).

Obezite, omurga kemiğinin yoğunluğunda ve boyutunda bir artışa ve sonuç olarak da iskelet büyümesinin artmasına neden olabilir. Bu büyüme erken çene olgunlaşmasına yol açarak maloklüzyonlara neden olur (159). Bu nedenle, obez kişiler için ortodontik tedavi genellikle gerekmektedir (164).

Aşırı kilolu hastalarda, dolaşımda artan adipokin seviyeleri nedeniyle bozulmuş bir kemik metabolizması vardır. Özellikle leptinin kemik fizyolojisinde anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Leptin, kan, tükürük ve dişeti oluk sıvısı dahil olmak üzere vücutta her yerde bulunur. Ortodontik kaynaklı kuvvetler sırasında sementoblastların reaksiyonunu etkileyip etkilemediği ve ne ölçüde etkilediğini değerlendirmek üzere yapılan in vitro çalışmada; leptinin, PGE2 salınımını teşvik eden sementoblastlar üzerindeki sıkıştırma kuvvetlerinin fizyolojik etkisini şiddetlendirdiğini, hücre apoptoz oranını arttırdığını ve dolayısıyla artan leptin seviyelerinin ortodontik olarak indüklenen diş hareketi sırasında inflamatuar yanıtı etkileyebileceği bildirilmiştir (165).

Ortodontik biyomekanik kuvvetler periodontal dokular üzerinde etki eder ve aseptik inflamasyona neden olarak, ağırlıklı olarak sıkışma tarafında kemik yıkımı ve gerilim tarafında kemik yapımına ve kemiğin yeniden şekillenmesine neden olur (166). Kemiğin yeniden şekillenmesi, fibroblastlar, osteoklastlar, osteoblastlar, lenfositler ve diğer immün hücreler varlığında meydana gelir (167). Bu süreç sırasında, IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi birkaç proinflamatuar sitokin salınır (168). Adipokinlerle ilgili olarak, obez olmayan hastaların dişeti oluk sıvısındaki leptin seviyeleri ortodontik diş hareketleriyle azalır (169). Buna karşılık, ortodontik tedavi sırasında obez hastaların tükürüğündeki ortalama leptin konsantrasyonunun, obez olmayanların tükürüğüne kıyasla daha yüksek olduğu ve leptin düzeyi ile diş hareketi arasında güçlü bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Hem normal hem de fazla kilolu bireylerde tükürük leptin konsantrasyonu ile diş hareket hızı arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Fazla kilolu bireylerde normal kilolu bireylere göre diş hareket hızının azaldığı bildirilmiştir. Bu durum, leptinin kemik uyarıcı etkilerinin, inhibitör etkilerinden daha belirgin olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Leptinin kemik inhibitör etkilerinin dolaylı olarak hipotalamusa bağlı olduğu ve kemik uyarıcı etkilerinin ise kemik kütlesini arttırarak ortodontik diş hareketini geciktirebileceği bildirilmiştir (9).

Saloom ve ark. (11) sabit ortodontik tedavi gören, ergenlik döneminde 28 normal kilolu ve 27 obez hasta üzerinde yaptıkları araştırmalarında, obez hastalarda özellikle ilk hafta ortodontik diş hareket hızında bir artış olduğunu, ancak seviyeleme aşamasının tamamlanma süresinin değişmediğini bildirmişlerdir. Obez grupta ilk haftadaki ortodontik hareket hızı önemli ölçüde artmış olmasına rağmen bir haftadan seviyelenmenin tamamlanmasına kadar geçen süre içinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilememiştir. Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada obezitenin ortodontik tedavi sonucu üzerindeki potansiyel etkileri araştırılmış, gruplar arasında tedavi süresi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte, obez hastaların normal kilolu hastalara kıyasla daha az randevuya ihtiyaç duydukları bildirilmiştir (11). Obez hastalarda ortodontik tedavi sırasındaki diş hareketini, orofasiyal ağrıyı ve dişeti oluk sıvılarındaki leptin, IL-1β ve TNF-α seviyelerinin değerlendirildiği çalışmada ortodontik diş hareketi miktarları her iki grupta da benzer bulunmuştur. Obez grubun, ortodontik tedavi öncesinde ve sırasında daha yüksek bir IL-1β konsantrasyonuna sahip olduğu ve ortodontik tedavinin ilk haftasında obez ve kontrol hastaları arasında diş hareketi miktarlarında bir fark görülmediği bildirilmiştir (170).

2007 ve 2012 yılları arasında sabit ortodontik tedavisi başlayan ve biten hastaların tedavi öncesi BKİ'lerine göre normal kilolu, fazla kilolu veya obez şeklinde ayrılmıştır. Hasta kayıtları kullanılarak tedavi sırasındaki işbirliği ve tedavi süresi hesaplanmış ve tedavi öncesi ve sonrası fotoğraflar kullanılarak, tedavisi öncesi ve sonrası beyaz nokta lezyon oluşumu ve diş eti iltihap durumları değerlendirilmiştir. Çalışma bulgularına göre artmış BKİ sahip hastalarda tedavi sırasında daha az işbirliği, daha uzun tedavi süresi ve daha fazla ağız sağlığı ile ilgili sorunlar görüldüğü tespit edilmiştir. Ortodontik tedavi gereksinimi olan BKİ yüksek hastalara daha özenle ve dikkatle yaklaşılması gerektiği vurgulanmıştır (171).

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 90 gün boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlardaki obezite indüksiyonu; vücut ağırlığı, yağ dokusu ağırlığı ve serolojik analiz ile doğrulanmıştır. 15 gün boyunca ortodontik kuvvet uygulanmış ve obezite grubundaki ratlarda kemik hacim fraksiyonu, kemik mineral yoğunluğunda azalma ve daha hızlı diş hareketi görülmüştür. Ayrıca daha yüksek miktarda inflamatuar hücre ve daha yüksek Mmp1 ekspresyonu tespit edilmiş obezitenin ortodontik diş hareketi

sırasında periodontal dokunun yeniden şekillenmesini modüle ettiği ve obez olmayan hayvanlara göre daha fazla inflamasyon ve kemik kaybı görüldüğü sonucuna varılmıştır (164).

Obezitenin ortodontik kuvvet ile alveolar kemiğin doku ve moleküler reaksiyonları üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen grupta daha fazla ortodontik diş hareketi daha yüksek serum tartarat dirençli asit fosfataz (TRAP) ve TNF-α seviyeleri, hem basınç hem gerilim tarafında önemli alveolar kemik kaybı ve kemik yapısında bozulma görülmüştür. Bu sonuç, artan osteoklast sayıları ve fonksiyonel aktivite ile, ayrıca periodontal ligament, diş eti dokusu ve alveolar kemikte azalmış osteoblast aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenmenin neden olduğu obezite, osteoklastogenezi artırarak ve inflamatuar sitokin ekspresyonunu düzenleyerek mekanik olarak indüklenen alveolar kemiğin yeniden şekillenmesini ve alveolar kemik mikro yapısındaki değişiklikleri desteklemiş, hızlanmış ortodontik diş hareketine yol açmıştır (172).

Bir diğer çalışmada obez farelerde, yüksek serum leptin seviyesinin ortodontik diş hareketini yavaşlattığı ve osteoklast sayısını azaldığı görülmüş, leptinin osteoklastogenezi ve osteoklast fonksiyonel gen ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Leptin uygulaması ile molar dişlerin mezial hareketinin engellenebileceği ve leptinin ankraj güçlendirme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır (173).

Ortodontik tedavi için müracaat eden obez ve fazla kilolu hasta sayıları artmasına rağmen, sınırlı sayıda çalışma BKİ'nin ortodontik diş hareketini nasıl etkileyebileceğine odaklanmıştır ve olası mekanizmalar hala açıklanmayı beklemektedir.

2.6. GLUTENSİZ BESLENME

Son 10.000 yılda insan beslenmesindeki en önemli tahıllardan biri haline gelen buğday, günümüzde birçok işlenmiş gıda ürününde yaygın olarak tüketilmektedir. Çoğunlukla bir enerji kaynağı olarak kabul edilen buğday, lif, proteinler ve fitokimyasallar, vitaminler, lipitler ve mineraller gibi birlikte sağlıklı bir beslenmeyi destekleyen küçük bileşenler de dahil olmak üzere diğer temel besinleri de içerir. Buğday, besleyici özelliklerinin yanı sıra, temel teknik özellikler kazandıran, aynı zamanda çölyak hastalığı gibi ciddi bağışıklık aracılı hastalıkları tetikleyen gluten adlı bir dizi proteine

sahiptir. Şu anda, herhangi bir tıbbi ihtiyacın gerektirmediği glutensiz diyetlere bağlı kalan insan sayıda gün geçtikçe artmaktadır (174).

Gluten; buğday, çavdar ve arpa dahil olmak üzere çeşitli tahıllarda bulunan, glutenin polimerleri ve gliadin monomerlerinden oluşan karmaşık bir moleküldür (175). Glutenin, yüksek ve düşük molekül ağırlıklı proteinlere ayrılabilirken, gliadin α, β, γ ve ω tiplerinden oluşan geniş bir protein ailesine aittir (176). Hem glutenin hem de gliadin, yüksek oranda prolin (% 20) ve glutamin (% 40) içerir ve onları gastrointestinal sistemde çözünmeye karşı koruyarak sindirimlerinin yetersiz olmasına neden olur (176). Gliadin peptidleri arasında en belirgin olanları 57-89 peptid (33-mer) α-gliadin fragmanı (177), sitotoksik peptid, bağırsağa nüfuz eden peptidler ve IL-8 salgılayan peptiddir (178). Bu sindirilmemiş peptidlerin, artan bağırsak geçirgenliği ve sitotoksik ve immünomodülatör etkiler dahil olmak üzere gastrointestinal sistemde biyolojik etkileri olduğu bilinmektedir (179).

ÇH, tahıllı gıdalardaki gluten proteininin alt birimi olan gliadine karşı gelişen immun reaksiyonun ince bağırsaklarda hasar oluşturduğu ve malabsorbsiyonun görüldüğü otoimmun bir hastalıktır (180). Buğday alerjisi, buğdaya karşı gelişen IgE antikorlarının arttığı immünolojik bir reaksiyondur. NÇGD ise, herhangi bir çölyak hastalığı bulgusunun görülmediği (villus atrofisi, HLA değişiklikleri vb.) ancak gluten tüketimi ile semptomların ortaya çıktığı bir durumdur (181). Glutensiz diyet bu semptomların hafiflemesi için önerilen en etkin tedavi seçeneği (182) olup 1941'den beri ÇH tedavisinde glutensiz diyet uygulanmaktadır (183). Ancak genellikle glutensiz ürünler düşük oranda folat, demir, riboflavin, niyasin and tiyamin içermektedir ve eşdeğer glutenli ürünlere göre yüksek karbonhidrat ve yağ içerebilmektedir. Bu moleküllerin miktarının düşük olmasına bağlı olarak ortaya çıkabilecek beslenme yetersizliklerinin yanı sıra, ve yüksek karbonhidrat ve yağ içeriği de önemli bir dezavantajdır (184).

Günümüzde NÇGD, dermatit herpatiformis, huzursuz bağırsak sendromu ve diyabet gibi rahatsızlıkları olan hastalar için de glutensiz diyet önerilmektedir. Çölyak hastalığının en önemli bulgularından olan "gluten duyarlılığı" sadece çölyak hastalığı için değil, buğday alerjisi ve NÇGD'de de görülmektedir. NÇGD olan bireyler gluten içeren gıdalarla beslendiklerinde çeşitli intestinal ve ekstraintestinal semptomlar ortaya çıkmaktadır (185). En sık görülen bağırsak semptomları şişkinlik ve karın ağrısı iken, ishal ve kabızlık semptomları da görülmektedir. Sıklıkla epigastrik ağrı ve azalan

prevalansla bulantı, aerofaji, gastroözofageal reflü hastalığı ve aftöz stomatit gözlenmektedir. Ekstraintestinal semptomlar ise, yorgunluk, iyi olmama hali ve baş ağrısı, anksiyete, kol/bacak uyuşması ve depresyon gibi nöropsikiyatrik semptomlardır. Bunların yanı sıra, kas veya eklem ağrısı, kilo kaybı, dermatit ve deri döküntüsü de görülebilmektedir(186,187). Gluten ilişkili hastalıklar kategorisine gluten duyarlılığının da eklendiği birçok çalışma yapılmıştır. Ancak, gluten duyarlılığının epidemiyoloji, patofizyoloji, klinik ve tedavi açısından henüz tespit edilmeyen birçok yönü mevcuttur (181).

ÇH ve NÇGD her ikisinde de glutene duyarlılık görülse de bağışıklık tepkisinin başlangıç aşamasında farklılık gösterirler. ÇH'dan farklı olarak NÇGD, bağırsak epitel hücre hasarına yol açan adaptif immün yanıtı içeren otoimmün süreçle ilişkili değildir (188). Birçok çalışma NÇGD patogenezinde altta yatan mekanizmalara ışık tutmuş olsa da hala doğrulanmış bir mekanizma bilinmemektedir. Farklı çalışmalar NÇGD'da bağırsağın doğuştan gelen bağışıklık sisteminin rol oynadığı belirtilmiş ve toll benzeri reseptör-2 (TLR2), TNF-α, IL-8 ve IL-12 ekspresyonundaki artış bu durumun kanıtı olarak göstermiştir (185,189–191). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda anti-gliadin antikorlarında ve IFN-γ ekspresyonunda da bir artış gözlenmiştir (192–194). Obez olmayan diyabetik farelerde, gluten içeren bir diyetin hiperglisemi prevalansını arttırdığı, glutensiz diyetin ise azalttığı bulunmuştur (195). Üç haftalık bir gözlem çalışmasında, standart bir diyette obez olmayan diyabetik farelerin % 47'sinde diyabet artışı görülürken, glutensiz diyetteki farelerin %5'inde diyabet artışı olmuştur (196). Obez olmayan diyabetik fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada, diyetteki glutenin doğal öldürücü hücrelerde sitotoksiteyi arttırdığı ve mürin splenositlerinde IFN-γ düzeyini arttırdığı belirtilmiştir (5). Aynı çalışmada, pankreas adacık hücrelerinde IL-6 seviyesinin 9 kat arttığı bulunmuştur. Standard yani gluten içeren diyetle beslenen farelerin serumlarındaki sistemik sitokin seviyeleri incelendiğinde IL-2'nin 6,6 kat arttığı, IL-10 ve IFN-γ seviyesinin ise azaldığı bulunmuştur. IL-5, IL-12, CXCL1 ve TNF-α seviyelerinde anlamlı fark bulunamamıştır (5). Glutensiz ekmeğin rat serumundaki biyokimyasal parametreler ve antioksidan denge üzerine etkisi incelendiğinde, glutensiz beslenen farelerde trombosit sayısında artış, trigliserid ve kolesterol seviyesinde düşüş, superoksit dismutaz seviyesinde belirgin azalma ve antioksidan dengede artma gözlemlenmiştir (197).

İnsanlar üzerinde yapılan klinik çalışmada, 21 sağlıklı gönüllü glutensiz diyete tabi tutulmuş ve dört hafta boyunca gözlemlenmiştir. Takip döneminden sonra, bağırsak mikrobiyotasında farklılık saptanmış, clostridia sınıfının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (198). İnsan modellerinde, altı aylık bir takipten sonra, glutensiz diyet, tip 1 diyabet riski yüksek olan bireylerde otoantikor titrelerini etkilemese de insülin sekresyonu üzerinde faydalı bir etki göstermiştir (199). İspanya'da yapılan bir çalışmada, bir ay boyunca glutensiz diyetle beslenen 10 sağlıklı bireyin dışkı analizlerinde Bifidobacterium ve Lactobacillus gruplarında anlamlı bir azalma görülürken, E. coli ve Enterobacteriaceae grubunda kayda değer artış gözlenmiştir. Benzer şekilde, glutensiz diyetten sonraki sitokin analizinde, TNF-α, IFN-γ ve IL-8 sitokinlerinin titrasyonunun önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (200). İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalar glutensiz diyetin a gastrik pH'ı asidik yönde değiştirerek bağırsak mikrobiyotasında ve sitokin salgılayan hücrelerde değişikliğe yol açtığını ve inflamatuar sitokin üretiminde iyileşme olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, glutensiz diyet ve bağırsak mikrobiyota bileşimi arasındaki korelasyonu değerlendirmek ve klinik faydalarını kapsamlı bir şekilde belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (201).

İskelet demineralizasyonu ve mineral metabolizması bozukluğu, tedavi edilmemiş ÇH'nin iyi bilinen özellikleridir. Çocukluk dönemindeki glutensiz beslenme iskelet demineralizasyonunu düzeltirken kemik kaybını önlüyor gibi görünse de yetişkinlikte teşhis edilen çölyaklarda kemik mineral yoğunluğunun normale dönmediğine dair kanıtlar bulunmaktadır (202). OPG ve RANKL kemik döngüsü sürecinde yer alır ve osteoporoz ve diğer metabolik kemik hastalıklarının patogenezinde rol oynar. OPG, RANKL, kemik mineral yoğunluğu ve kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçlerini, glutensiz diyetle beslenen ÇH'li 32 premenopozal ve aynı yaştaki otuz sağlıklı kadında inceleyen araştırmacılar OPG/RANKL oranını kemik kaybının şiddeti ile ilişkilendirmiştir (202). Aynı çalışmada, serum OPG ve RANKL seviyeleri ÇH hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede yüksek, OPG/RANKL oranı ÇH hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ve omurgadaki kemik mineral yoğunluğu ile pozitif korelasyon göstermiştir. ÇH hastalarında yüksek OPG'nin rolü belirsizdir, ancak kemik hasarını etkileyen diğer faktörlere karşı koruyucu bir mekanizması olduğu düşünülmektedir. Ancak, kalıcı osteopenisi olan optimal şekilde tedavi edilen çölyaklarda OPG'nin olası bir terapötik potansiyelini değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (202).

Gluten sadece besin yoluyla değil aynı zamanda plastikler, diş hekimliği ekipmanları ve kozmetikler gibi beslenme dışı kaynaklardan da alınabilmekte ve gluten intoleransı olan bireylerde hastalığı tetikleyebilmekte veya şiddetlendirebilmektedir. ÇH olan ve glutensiz beslenme kurallarına sıkıca uyan 9 yaşındaki bir çocukta aktif hastalık için pozitif serum belirteçleri görülmüş ve çocuğun, plastikleştirilmiş metakrilat polimer içeren hareketli ortodontik apareydeki glutene maruz kaldığı tespit edilmiştir. Ortodontik aparey kullanımının bırakılmasının ardından hasta semptomlarının düzeldiği ve serolojinin tamamen normalleştiğini görülmüştür (203). ÇH olan bireyler tedavi edilirken, diyet dışı gluten kaynakları da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, ÇH ve NÇGD olan ve ortodontik tedavi gören hastalarda, kullandığımız malzemelerin gluten içeriği açısından değerlendirilmesi oldukça önemlidir.

Glutensiz beslenmenin, bağırsak hücrelerindeki inflamasyonu ve bunu takiben sistemik inflamasyonu hafifletmesi, kemik remodelingi için gereken inflamasyon sürecinin daha yavaş başlayabileceğini ve ortodonti tedavisi gören hastalarda diş hareket hızının daha yavaş olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, ortodontik tedavi sürecini ve kemik remodelingini nasıl ve ne yönde etkilediğine dair herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu konudaki ilk çalışma olarak bilim dünyasına önemli katkı sağlayacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 25.06.2020 tarihli 2020-03/06 sayılı toplantısında onay alındı (Sayı 46418926-605.02) ve projemiz Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklendi (Proje No: 2020/137). Çalışmanın bütün deneysel aşamaları, SBÜ Hamidiye Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Histolojik kesitlerin alınması ve immunohistokimya değerlendirmesi SBÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.1. ARAŞTIRMANIN DENEY SAFHASINDA KULLANILAN MALZEMELER

Deneyin uygulama aşamasında kesici dişlere yerleştirilmesi planlanan aparey tasarımının yapılması, ağız içerisine yerleştirilmesi ve ağız içi ölçümlerin yapılabilmesi amacıyla Tablo 3.1 de gösterilen malzemeler kullanıldı.

Tablo 3.1: Deneyin uygulama aşamasında kullanılan malzemeler

Kullanılan Malzemeler	Ticari İsmi	Üretim Yeri
Led Işın Cihazı	I-Led, Guilin Woodpecker Medical Instrument Co. Ltd.	Guangxi, P.R. China
0.012 inç paslanmaz çelik ortodontik tel	Tru-chrome S.S. Orthodontic Wire 0.012 inch (0.356 mm), Rocky Mountain Orthodontics	Colorado, A.B.D.
Ligatür teli	0.010 inch S.S. preformed ligature wire, Rocky Mountain Orthodontics	Colorado, A.B.D.

Tablo 3.1 (devam)

Kesici Pens	Ligatur kesici uzun sap, MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. Ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye
Portegü	Portegü, MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. Ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye
Işıkla Sertleşen Cam İyonomer Liner	Light Curing Compomer Liner, i-Liner, i-dental	Siauliai, Litvanya
Kumpas	MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye
Laboratuvar Mikromotoru	Marathon-3, Saeyang Microtech, Korea Cord Co. LTD	Kore
Piyasemen için paslanmaz çelik disk	Interproximal Stripping-Double Sided Mesh Diamond Disc with Mandrel (0,20 mm), Orto Leibinger GmbH	Darmstadt, Almanya
Kuvvet ölçer	Tensiometro De 25 gr-250gr, Morelli Ortodontia	Sorocaba, Brezilya
Ayna, sond, presel	MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye
Piyasemen	Straight Handpiece, Prima Dental	Çin Halk Cumhuriyeti
Klemp	MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye

Tablo 3.1 (devam)

Cerrahi makas	Tesssier, MF 295, MEFA, Onur Diş Deposu Tıbbi Gereçler San. Ve Tic. Ltd. Şti.	İstanbul, Türkiye
Bird Beak Pens	Bird Beak Pensi, Task INC	Tokyo, Japonya
Steril 1 ml'lik insülin enjektörü (1 Cc)	1 ml tek kullanımlık steril şırınga, Setecoject, Set Medikal San. ve Tic. A.Ş.	İstanbul, Türkiye

Deney hayvanlarının anestezi altına alınması ve sakrifikasyon aşamasında Tablo 3. 2' de gösterilen farmakolojik ajanlar kullanıldı.

Tablo 3.2: Deneyde kullanılan farmakolojik ajanlar

Farmakolojik ismi	**Ticari İsmi**	**Üretim Yeri**
Ksilazin Hidroklorür	Xylazinbio %2, Bioveta A. S.	South Moravian, Çek Cumhuriyeti
Ketamin Hidroklorür	Ketasol %10, Richter Pharma AG	Wels, Avusturya

3.2. DENEY HAYVANLARININ BAKIMI VE GRUPLARIN OLUŞTURULMASI

Ağırlıkları ortalama 50±10 g olan 3 haftalık 30 tane Sprague-Dawley cinsi dişi ratlar SBÜ Hamidiye Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Standart pelet yemle gerçekleştirilen 1 haftalık alışma periyodunun ardından hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı (Tablo 3.3). Deney hayvanları

çalışma sonuna kadar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, 22±3°C oda sıcaklığı ve 50%±5% nem oranı olan özel odalarda bulunduruldu. Tüm hayvanların yem ve suya sınırsız erişimi vardı. Hayvanlar her hafta tartıldı ve kilolarındaki değişim not edildi.

Tablo 3. 3: Deney grupları

Gruplar	Hayvan sayısı	Yem içeriği
Kontrol	6	Standart yem
SD (Standart diyet)	8	Standart yem
YYD (Yüksek yağlı diyet)	8	Yüksek yağlı yem
GD (Glutensiz diyet)	8	Glutensiz yem

Deney aşamasında kullanılacak olan yemler MBD Yem Ticareti firması tarafından uluslararası Altromin firmasının özel içerikleri referans alınarak hazırlandı (Şekil 1). Standart yemin metabolize enerjisi 3460 kcal olup, karbonhidrat %60,4, Ham protein %20 ve ham yağ %19,6'dır. Yüksek yağlı yem bonkalit, mısır ve özellikle yüksek miktarda don yağı desteğiyle ham yağ içeriği %34 olacak şekilde, karbonhidrat %47 ve ham protein %19 şeklinde üretildi ve metabolize enerjisi 4044 kcal'dir. Glutensiz yem hazırlanırken kazein, soya kuspesi, yonca unu, kepek gibi gluten içermeyen ham maddeler kullanılarak karbonhidrat %59, ham protein %22 ve ham yağ %19 olacak şekilde üretildi ve glutensiz yemin metabolize enerjisi 2983 kcal'dir (Tablo 3.4).

Tablo 3.4: Deneyde kullanılan yem içeriği

	Standart yem	Yüksek yağlı yem	Glutensiz yem
Ham protein	%20	%19	%22
Karbonhidrat	%60,4	%47	%59
Ham yağ	%19,6	%34	%19
Metabolik enerji	3460 kcal	4044 kcal	2983 kcal

4 haftalık ratlar belirli olgunluğa ulaşmaları ve gruplar arası kilo farkının net bir şekilde görülebilmesi amacıyla 10 hafta beslendi. Hayvanlar ortalama 180 ±30 gr 14 haftalık olduğunda deneyin uygulama aşamasına geçildi.



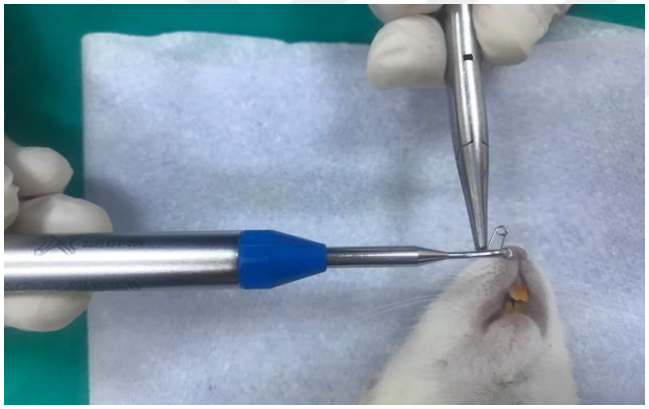
Şekil 3.1: Deneyde kullanılan yemler

Not-1: A: Standart yem B: Yüksek yağlı yem C: Glutensiz yem

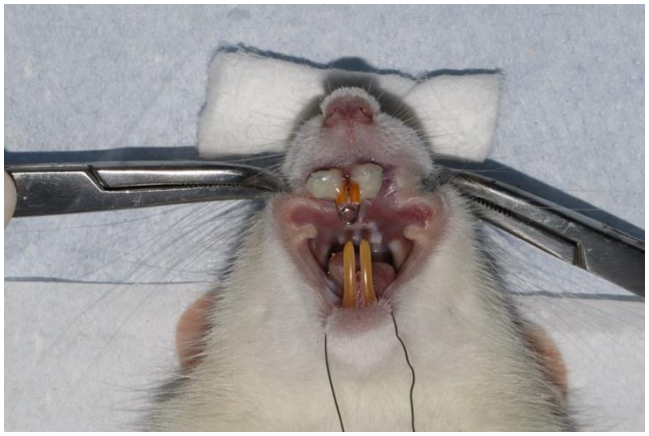
3.3. APAREYİN UYGULANMASI

0,012 inç kalınlığında paslanmaz çelik ortodontik telden 3 adet spiral yay içeren apareyler hazırlandı. Açık olarak hazırlanan yaylar, keser dişlerin distal yüzeyleri arasındaki mesafe kadar kapatıldıklarında, kuvvet ölçer yardımıyla 35 gr kuvvet uygulayacak şekilde ayarlandı (Şekil 3.2). Ratlar, ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra intraperitonal olarak ketamin (Ketasol %10, Richter Pharma AG, Wels, Avusturya) (1 ml'de 100 mg ketamin hidroklorür içerir.) ve ksilazin (Xylazinbio %2, Bioveta A. S. South Moravian, Çek Cumhuriyeti) (1 ml'si 20 mg ksilazine eşdeğer 23,3 mg ksilazin

hidroklorür içerir.) enjeksiyonu (90 mg/kg ketamin, 10 mg/kg ksilazin) ile anestezi altına alındı. Enjeksiyonlar, steril 1 ml/cc'lik insülin enjektörü ile yapıldı. Ağrı kontrolü yapıldıktan sonra ratların yanakları klemp yardımıyla, dil ve mandibular keser dişler ise uzun tel ligatür kullanılarak ekarte edildi. Mekanik retansiyon sağlamak amacıyla piyasemen ve paslanmaz çelik disk kullanılarak, keser dişlerin distal yüzeylerine dişeti papili seviyesinde sığ oluklar hazırlandı. Spiral yaylar, 0,010 inçlik paslanmaz çelik ligatür telleri ile keser dişlere bağlanarak sabitlendi ve üzeri akışkan cam iyonomer rezin ile kapatıldı (Şekil 3.3). Apareyin yerleştirilmesi tamamlandıktan sonra, deney hayvanlarının anesteziden uyanmaları takip edildi ve sonrasında gruplar kafeslerine konuldu. 14 gün süreyle kuvvet uygulanan ratlar her gün kontrol edildi ve apareyi çıkanların apareyleri aynı gün içerisinde yenilendi. Deney periyodu süresince aparey aktivasyonu yapılmadı.



Şekil 3.2: Kuvvet ölçer ile dişlere gelecek kuvvetin ayarlanması

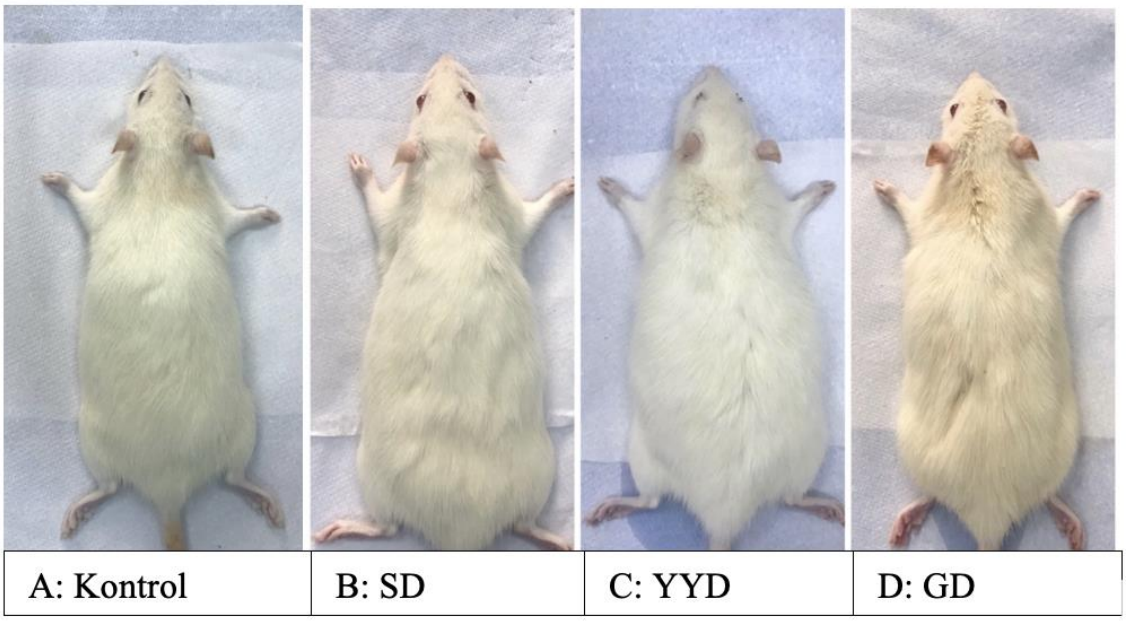


Şekil 3.3: Apareyin ağız içerisindeki görüntüsü

14 günlük kuvvet uygulamasını takiben, xylazin (10 mg/kg) ve ketamin (90 mg/kg) kombinasyonu kullanılarak overdose anestezi verilen ratlar servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Keserler arasındaki mesafe kumpas yardımıyla ölçülerek not edildi (Şekil 3.4). Gruplardaki her hayvan sakrifikasyon öncesi tartıldı ve her hayvanın kilosu not edildi (Şekil 3.5). Ardından yumuşak dokular diseke edildi ve ratların maksillaları cerrahi makas kullanılarak çıkartıldı. Apareyler çıkarılarak ratların ön iki kesici dişi içeren bölgesi histolojik inceleme için kesilerek çıkarıldı (Şekil 3.6E) ve formaldehit solüsyonu içeren kaplara konuldu.

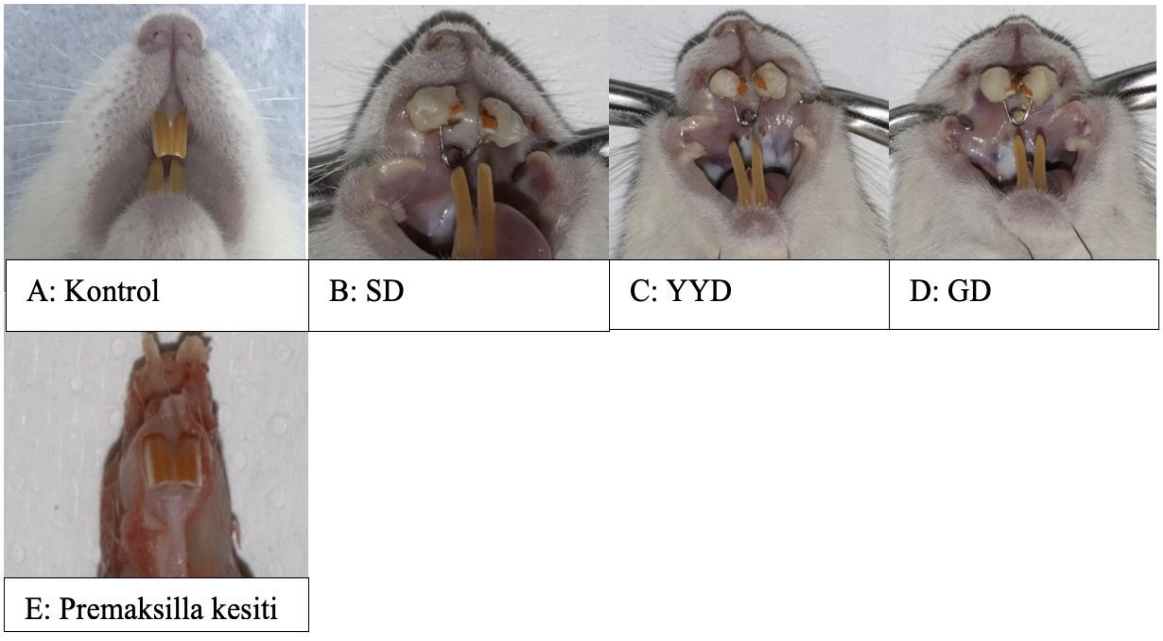


Şekil 3.4: Deney sonu kesici dişler arası mesafenin kumpas ile ölçülmesi



Şekil 3.5: Deney sonu gruplar arası kilo değişimi

Not-1: A: Kontrol grubu, B: SD (standart diyet), C: YYD (yüksek yağlı diyet), D: GD (glutensiz diyet)



Şekil 3.6: Deney sonu grupların ağız içi görüntüleri ve örnek maksilla kesitleri

Not-1: A: Kontrol grubu, B: SD (standart diyet), C: YYD (yüksek yağlı diyet), D: GD (glutensiz diyet) E: Histolojik değerlendirme için alınan maksilla bölgesi

3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME

Deneyin uygulama aşamasının gerçekleştirilmesinin ardından immunohistokimya çalışması için ön iki kesici dişi içeren premaksilla bölgesi çıkarıldı ve formalin solüsyonunun içine koyulan örnekler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Histoloji Anabilimdalı'nda histolojik incelemeye alındı.

3.4.1. Tespit işlemleri, Dekalsifikasyon, Doku Takibi ve Kesit Alma

Sakrifikasyon sonrası zarar vermeden çıkarılan diş dokuları %10'luk nötral formalin solüsyonuna alınarak bir gece bekletildi. Diş dokularına fiksasyon işlemlerinin ardından dekalsifikasyon işlemi yapıldı. Tespit solüsyonundan çıkarılan dokular bir gece akarsu altında yıkandıktan sonra %10 formik asit çözeltisine alındı. Üç hafta boyunca %10'luk formik asit solüsyonu değiştirilerek kontrollü gözlem altında dokuların dekalsifikasyon işlemi takip edildi.

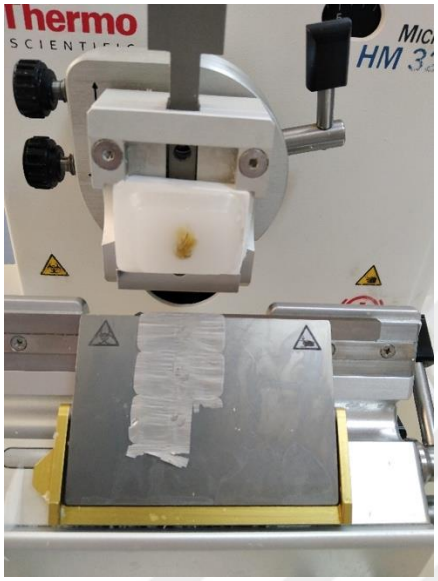
Dekalsifikasyon işleminin ardından dokular bir gece akarsu altında yıkandıktan sonra Tablo 3.5'te belirtildiği şekilde doku takibine alındı. Doku takibinin ardından dokular parafin bloklara gömüldü.

Tablo 3.5: Boyama işlemine ait basamaklar

Doku Takip Materyali	Süre
%70 alkol	1 gece
%80 alkol	1 saat
%96 alkol	1 saat
Absolu alkol	1 saat
Absolu alkol	1 saat
Ksilen	30 dakika
Ksilen	30 dakika
Parafin (sıvı)	1 saat
Parafin (oda ısısı)	1 gece
Parafin (sıvı)	1 saat
Parafin (sıvı)	1 saat

Parafin bloklara gömülen dokulardan ön çalışma için bir bloktan maksiller kesici dişler primer rehber olarak kullanılarak kesici dişler ve premaksillayı içerecek şekilde mikrotomda (Microm HM325, Thermo Scientific, Germany) transvers kesit alındı. Ön çalışma ile analiz edilecek bölgenin yeri belirlendi ve tüm parafin bloklardan kesit alma

işlemi yapıldı (Şekil 3.7). Morfolojik analiz için kesitler 1/10 örnekleme aralığı ile 5µm kalınlığında alındı. İmmünohistokimyasal analiz için kesitler 4 farklı pozitif şarjlı lama 5 µm alındı. Kesit alma işleminin ardından dokular bir gece boyunca 60°C etüvde bekletildi ve dokuların lamlara yapışması sağlandı.



Şekil 3.7: Parafin bloklardan kesit alma işlemi

3.4.2. Hematoksilen-Eozin Boyama

Morfolojik analiz için dokular hematoksilen-eozin boyası ile boyandı. Kimyasal deparafinizasyon işlemi için kesitler 15'er dakika 2 farklı ksilende, rehidratasyon işlemi için sırasıyla; %100, %96, %80, %70'lik alkol serilerinde 5'er dakika bekletildikten sonra akarsu altında 5 dakika yıkandı. Daha sonra 5 dakika hematoksilen boyasında bekletilen kesitler akarsu altında 5 dakika yıkandıktan sonra 2 dakika eosin boyasında bekletildi. Kesitler artan alkol serilerinde (%70, %80, %96, %100) 5'er dakika bekletildikten sonra ksilene alınarak burada 15 dakika tutuldu. Boyama işlemi sonrasında lamların üzerine entallan damlatılıp lamel ile kapatıldı.

3.4.3. İmmünohistokimyasal Boyama

BMP-2, OPG, RANKL, OPN protein imnnünoeskpresyonu immünohistokimya ile gösterildi. Kesitler 30'ar dakika 2 farklı ksilende ve daha sonra azalan alkol serilerinde (%100, %96, %80, %70) 10'ar dakika bekletildi. Ardından 10 dakika distile suda

bekletilen kesitler 3’er dakika 3 farklı fosfat tamponu (PBS) ile yıkandı. Antijen geri kazanım işlemi için kesitler sitrat tamponu içerisinde 200 W güçte 20 dakika bekletildi. Kesitler oda ısısında 30 dakika soğutulduktan sonra 3 ayrı PBS ile 3 dakika yıkandı. %3 lük hidrojen peroksit (H2O2) solüsyonuna alınan kesitler 10 dakika bekletilerek endojen peroksidaz aktivitesi baskılandı. PBS ile yıkanan kesitlere spesifik boyamayı önlemek için oda ısısında 30 dakika protein blokaj yapıldı. Blokaj peçete yardımı ile uzaklaştırıldı ve kesitlere Tablo 3.6’da verilen dilüsyon oranlarında primer antikorları [anti-BMP2 (GTX64355, GeneTex Inc., California, USA) anti-OPN (ab26402, Abcam plc., Cambridge, UK) anti-RANKL (ab239607, Abcam plc., Cambridge, UK) anti-OPG (ab203061, Abcam plc., Cambridge, UK)] damlatılarak 40C’de bir gece bekletildi. Üç ayrı PBS ile 3’er dakika yıkanan kestiler horseradish peroxidase (HRP) ile 20 dakika inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkanan kesitler Diaminobenzidin (DAB) kromojeninde 3 dakika bekletilerek hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Kesitler yükselen alkol serilerinden geçirilerek 10 dakika ksilende tutuldu. Lamların üzerine entallan damlatılıp lamel ile kesitlerin üzeri kapatıldı.

Tablo 3.6: Primer antikor dilüsyon oranları

Primer Antikor	Dilüsyon Oranı
BMP-2	1:750
OPG	1:250
RANKL	1:400
OPN	1:500



Şekil 3.8: İmmünohistokimya boyama aşaması

4. BULGULAR

4.1. RATLAR VE KULLANILAN APAREYLE İLGİLİ GÖZLEMSEL BULGULAR

Deney süresi boyunca tüm ratların genel sağlık durumları, yem ve su tüketimleri, ağırlıkları ve apareylerin stabiliteleri düzenli olarak her gün kontrol edildi. Aparey uygulanan ratların gıda ve su tüketimlerinde ilk gün azalma oldu, ancak sonraki günlerde normal gıda ve su tüketimine döndükleri gözlemlendi.

Aparey takıldıktan sonra hayvanlar tüm deney süresince gözlemlenerek apareylerin tutuculuğu incelendi. 3 hayvanda apareyin tek dişteki ligatürünün çıktığı görüldü ve aynı gün içerisinde yenilenip dişlerin hareket ettiği gözlemlendi.

Çalışmadaki 30 hayvandan standart yem grubundan ve yüksek yağlı yem grubundan 1'er hayvan ex olduğu ve yüksek yağlı yem grubunda 1 hayvan doğum yaptığı için çalışma dışında kaldı. Çalışma 27 hayvan ile tamamlandı.

4.2. RATLARIN AĞIRLIK VE İNTRAORAL ÖLÇÜMLERİYLE İLGİLİ BULGULAR

Ratların deney başlangıcında ve sonunda ölçülen ağırlıklarının istatistiksel değerlendirmesi yapıldı. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistiksel metodların yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn's testi kullanıldı. Normal dağılım dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon Signed Ranks test kullanıldı. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Spearman's rho korelasyon analizi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiksel metodların yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare testi ve Fisher Freeman Halton test kullanıldı. Anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Tablo 4.1: Gruplar arasında Kruskal Wallis Testi ile ve grup içinde Wilcoxon Sign Test ile beslenme başlangıç, deney başı ve deney sonu kilo değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Beslenme başlangıç kilo	Deney başı kilo	Deney sonu kilo	Beslenme başlangıç -Deney başı p2	Beslenme başlangıç -Deney sonu p2	Deney başı-Deney sonu p2
	(Min-Max)-(Ort±SS) (medyan)	(Min-Max)-(Ort±SS) (medyan)	(Min-Max)-(Ort±SS) (medyan)			
Kontrol	(48-55)-(51,67±2,73 (51,5))	(181-200)-(189,33±6,19) (189)	(190-212)-(200,5±7,23) (200,5)	0,028*	0,028*	0,043*
Standart diyet	(48-55)-(52,25±2,31) (52,5))	(176-205)-(191,43±12,63 (194)	(175-233)-(196,43±20,79) (195)	0,018*	0,018*	0,735
Yüksek yağlı diyet	(48-56)-(52,38±2,56) (52)	(196-221)-(206,14±10,62) (203)	(197-225)-(209,33±9,18) (209)	0,018*	0,028*	0,893
Glutensiz diyet	(47-57)-(52,13±2,95) (52,5)	(162-187)-(177,63±9,3) (181)	(170-189)-(180,75±7,09) (182,5)	0,012*	0,012*	0,345
Total	(47-57)-(52,13±2,95) (52,5)	(162-221)-(190,71±14,25) (189)	(170-233)-(195,56±16,02) (197)	0,000*	0,000*	0,064
p1	0,959	0,002*	0,004*			

[1]Kruskal Wallis Testi *[2]Wilcoxon Sign Test *p<0,05*

Tablo 4.2: Gruplar arası deney başı ve deney sonu kilo değerlerinin ikili karşılaştırılması

	Post-Hoc Test	
	Deney başı kilo	**Deney sonu kilo**
Kontrol-Standart diyet	p>0.05	p>0.05
Kontrol-Yüksek yağlı diyet	p>0.05	p>0.05
Kontrol-Glutensiz diyet	p>0.05	p>0.05
Standart diyet-Yüksek yağlı diyet	p>0.05	p>0.05
Standart diyet-Glutensiz diyet	p>0.05	p>0.05
Yüksek yağlı diyet-Glutensiz diyet	0,001*	0,004*

Gruplar arasında beslenme başlangıç kilo değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken (p=0,959; p>0,05); gruplar arasında deney başı kilo değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.002; p<0,05) (Tablo 4.1). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Glutensiz diyet grubunun deney başı kilo değerleri, yüksek yağlı diyet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,001; p<0,01). Deney başı kilo değerleri açısından diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.2).

Gruplar arasında deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0,004; p<0,01) (Tablo 4.1). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; glutensiz diyet grubunun deney sonu kilo değerleri, yüksek yağlı diyet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,004; p<0,01). Deney sonu kilo değerleri açısından diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.2).

Kontrol grubunda beslenme başlangıç kilo değerlerine göre deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde görülen artış ile deney başı-deney sonu kilo değerlerinde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.028, p=0.028, p=0.043; p<0.05) (Tablo 4.1)

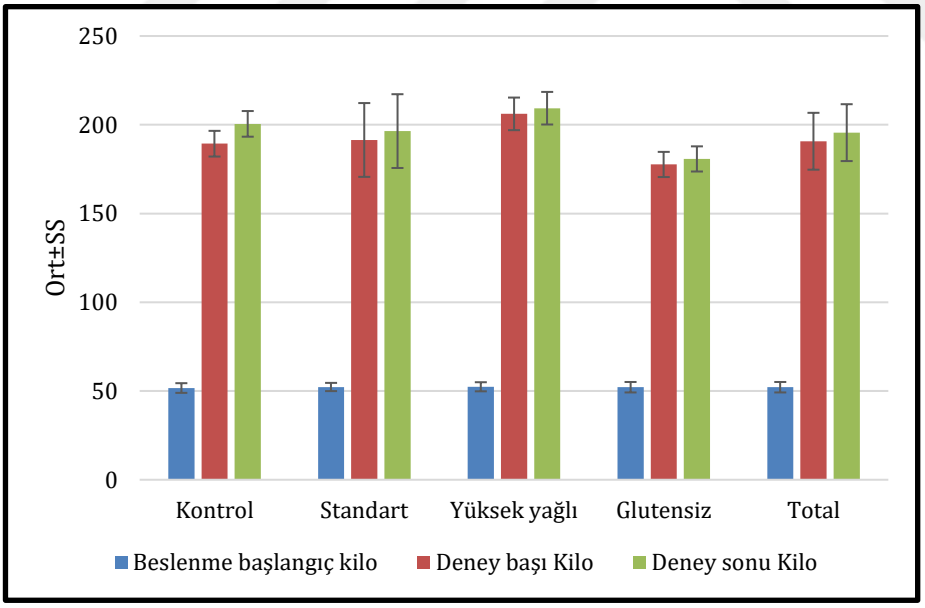
Standart diyet grubunda beslenme başlangıç, deney başlangıç ve deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında; deney başlangıç kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre (p=0,018; p<0,05) ve deney sonu kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunurken (p=0,018; p<0,05), deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlenmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.1).

Yüksek yağlı diyet grubunda beslenme başlangıç, deney başlangıç ve deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında; deney başlangıç kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre (p=0,018; p<0,05) ve deney sonu kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunurken (p=0,028; p<0,05), deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlenmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.1).

Glutensiz diyet grubunda beslenme başlangıç, deney başlangıç ve deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında; deney başlangıç kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre ($p=0,012$; $p<0,05$) ve deney sonu kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunurken ($p=0,012$; $p<0,05$), deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.1).

Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanların beslenme başlangıç, deney başlangıç ve deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında; deney başlangıç kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre ($p=0,000$; $p<0,001$) ve deney sonu kilo değerlerinde, beslenme başlangıç kilo değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunurken ($p=0,000$; $p<0,001$) deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.1).

Grupların beslenme başlangıç, deney başı ve deney sonu kilo dağılım grafikleri Şekil 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1: Grupların beslenme başlangıç, deney başı ve deney sonu kilo dağılım grafiği

Tablo 4.3: Gruplar arası deney başı, beslenme başlangıç ve deney sonu kilo farklarının Kruskal Wallis Tesi ile karşılaştırılması

Grup	Deney başı-Beslenme başlangıç kilo farkı	Deney sonu-Beslenme başlangıç kilo farkı	Deney sonu- deney başı kilo farkı
	(Min-Max)- (Ort±SS) (medyan)	(Min-Max)- (Ort±SS) (medyan)	(Min-Max)- (Ort±SS) (medyan)
Kontrol	(128-152)- (137,67±8,24) (137)	(140-159)- (148,83±6,37) (148)	(0-31)- (11,17±11,23) (10)
Standart diyet	(125-152)- (139,57±11,18) (142)	(122-180)- (144,57±21,15) (144)	(-29)-28)- (5±21,77) (17)
Yüksek yağlı diyet	(143-170)- (154,14±10,9) (149)	(149-174)- (157,67±8,96) (155,5)	(-11)-25)- (1,67±13,08) (0,5)
Glutensiz diyet	(108-135)- (125,5±9,41) (129)	(118-136)- (128,63±6,57) (130)	((-9)-19)- (3,13±8,66) (1,5)
Total	(108-170)- (138,79±14,27) (137)	(118-180)- (143,7±16,1) (146)	*((-29)-31)-* *(5,07±14,11)* *(4)*
p	**0,002***	**0,004***	**0,487**

Kruskal Wallis Test

Tablo 4.4: Gruplar arası deney başı, beslenme başlangıç ve deney sonu kilo farklarının ikili karşılaştırılması

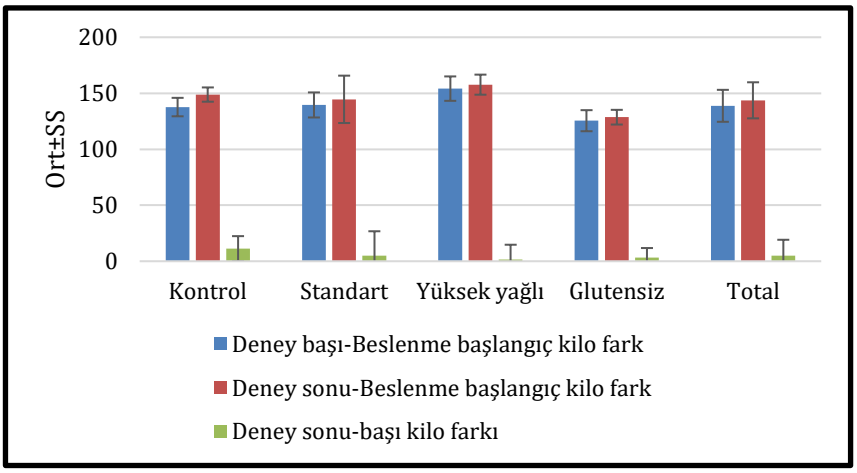
	Post-Hoc	
	Deney başı-Beslenme başlangıç kilo farkı	**Deney sonu-Beslenme başlangıç kilo farkı**
Kontrol-Standart diyet	p>0.05	p>0.05
Kontrol-Yüksek yağlı diyet	p>0.05	p>0.05
Kontrol-Glutensiz diyet	p>0.05	0,019*
Standart diyet-Yüksek yağlı diyet	p>0.05	p>0.05
Standart diyet-Glutensiz diyet	p>0.05	p>0.05
Yüksek yağlı diyet-Glutensiz diyet	0,000*	0,000*

Beslenme başlangıç ve deney başı kilo değerlerindeki değişim miktarları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüş ($p=0,002$; $p<0,01$) (Tablo 4.3), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda glutensiz diyet grubunun kilo değişim miktarları, yüksek yağlı diyet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,000$; $p<0.01$) (Tablo 4.4). Diğer gruplar arasında kilo değerlerindeki değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4).

Beslenme başlangıç ve deney sonu kilo değerlerindeki değişim miktarları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüş ($p=0,004$; $p<0,01$) (Tablo 4.3), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda glutensiz diyet grubunun beslenme kilo değişim miktarları, kontrol ve yüksek yağlı diyet gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,019$, $p=0,000$; $p<0,05$, $p<0,01$) (Tablo 4.4). Diğer gruplar arasında kilo değerlerindeki değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$)(Tablo 4.4).

Deney başı ve göre deney sonu kilo değerlerindeki değişim miktarları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4).

Grupların deney başı-beslenme başlangıç, deney sonu-beslenme başlangıç ve deney sonu-deney başı kilo farkı dağılım grafikleri Şekil 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.2: Grupların deney başı-beslenme başlangıç, deney sonu-beslenme başlangıç ve deney sonu-deney başı kilo farkı dağılım grafiği

Çalışmanın son günü ratların maksiller keser dişleri arasında oluşmuş olan diastema miktarlarının ölçülmesiyle tespit edilmiş olan diş hareket miktarları, gruplar arasında Kruskal Wallis Testi ile karşılaştırılmış (Tablo 4.5) daha sonra gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapılmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.5: Çalışma sonunda elde edilen diş hareket miktarları ve gruplar arasında karşılaştırılmaları

Grup	**Keser Dişlerin Hareket Miktarı (mm)**
	(Min-Max)-(Ort±SS) (medyan)
Kontrol	(0-0)-(0±0) (0)
Standart diyet	(0,7-2,3)-(1,3±0,59) (1,2)
Yüksek yağlı diyet	(1,1-2,4)-(1,67±0,51) (1,6)
Glutensiz diyet	(0,9-2,1)-(1,45±0,42) (1,6)
Total	*(0-2,4)-(1,14±0,76) (1,2)*
p	**0,002***

*Kruskal Wallis Test *p<0,05*

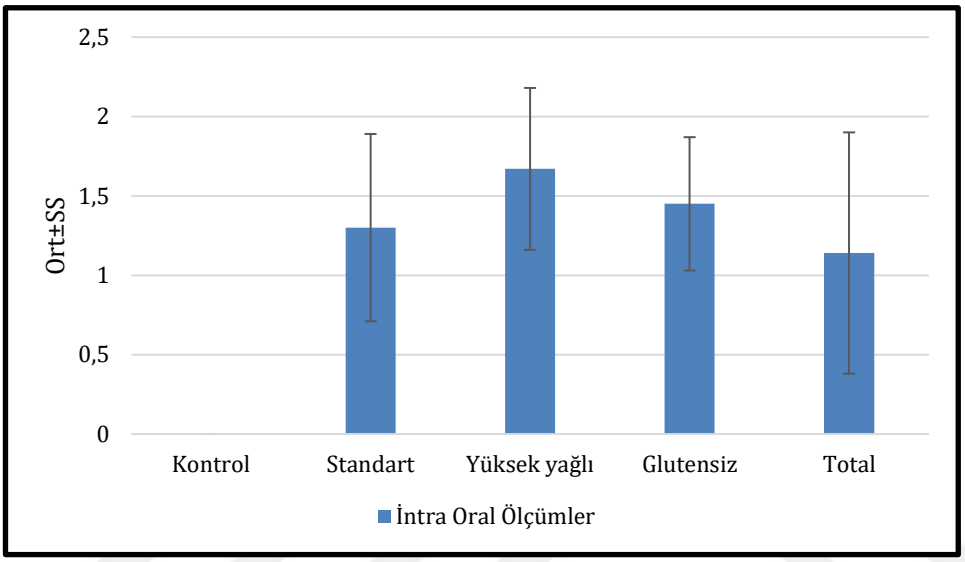
Tablo 4.6: Keser dişlerin hareket miktarının gruplar arasında ikili karşılaştırılması

	Post-Hoc
	Keser Dişlerin Hareket Miktarı (mm)
Kontrol-Standart diyet	0,010*
Kontrol-Yüksek yağlı diyet	0,001*
Kontrol-Glutensiz diyet	0,001*
Standart diyet -Yüksek yağlı diyet	p>0.05
Standart diyet -Glutensiz diyet	p>0.05
Yüksek yağlı diyet -Glutensiz diyet	p>0.05

Keser dişlerin hareket miktarı karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0,002; p<0,01) (Tablo 4.5), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda standart diyet, yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyet gruplarının tümünde diş hareket miktarları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,010, p=0,001, p=0,001; p<0,05, p<0,01, p<0,01) (Tablo 4.6). Standart diyet, yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyet gruplarının diş hareket ortalamaları incelendiğinde yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyet

gruplarının medyan değerlerinin (1,6 mm), standart diyet grubuna göre (1,2 mm) daha yüksek olduğu görülmüşse de (Tablo 4.5) gruplar arası ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4.6).

Grupların çalışma sonunda keser dişlerde görülen hareket miktarı dağılımları Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3: Çalışma sonu keser dişlerin hareket miktarlarının dağılım grafiği

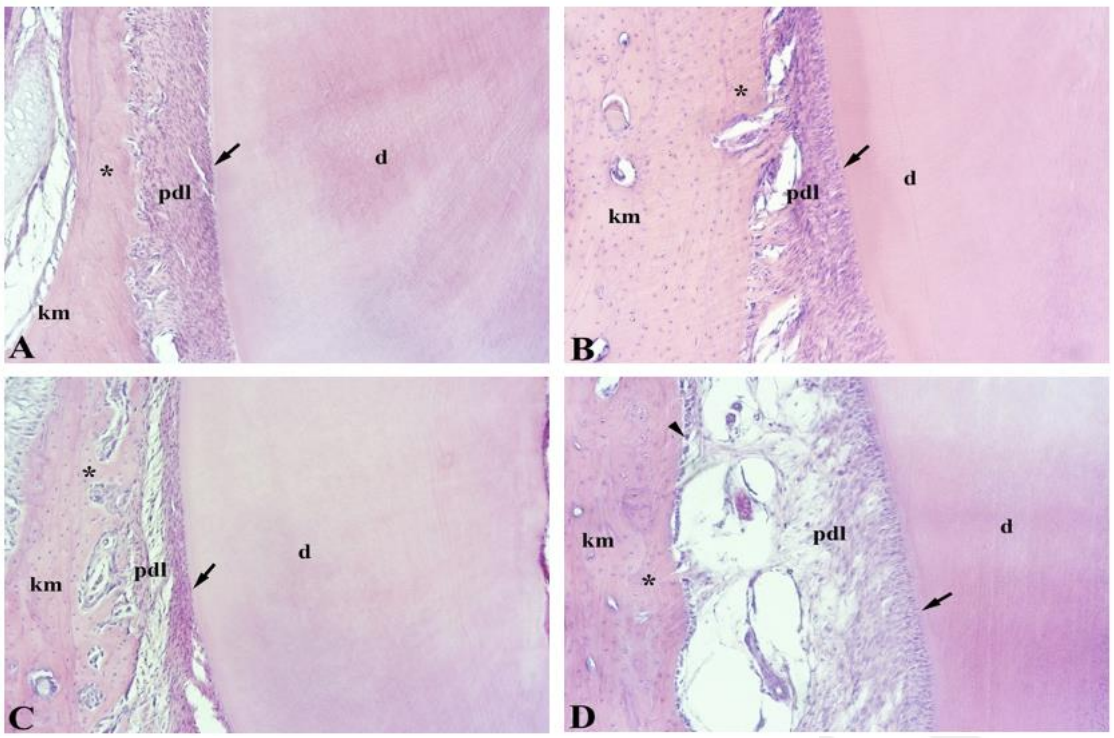
4.3. HİSTOKİMYASAL BULGULAR

Genel morfolojiyi ortaya koymak üzere kesitlere hematoksilen&eozin (H&E) boyaması uygulanmış ve ratların keser dişlerine uygulanan ortodontik kuvvet ile sıkışma alanlarında ortaya çıkan kemik yıkım (rezorbsiyon) ve gerilim alanlarında ortaya çıkan kemik yapım (apozisyon) bölgelerinden, kemik matriks (km), periodontal ligament (pdl) ve sementum ile dentin (d)'in yer aldığı alanlardan x100 mikroskop büyütmesinde görüntüler alınmıştır.

4.3.1. Kemik Yapım Alanındaki Histokimyasal Bulgular

Kemik yapım alanındaki histolojik incelemeler sonucunda kontrol grubunda km'nin pdl'ye yakın alanlarında yeni kemikleşme bölgeleri gözlenmiş ve pdl-sementum hattının devamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.4-A). SD, YYD ve GD gruplarının yapım alanınları kemikleşme ve pdl-sementum hattı açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında

SD ve YYD'nin kontrole benzer olduğu (Şekil 4.4-B,C) ancak GD'nin km yüzeyinde osteoblastik aktivitenin arttığı görülmüştür (Şekil 4.4-D).



Şekil 4.4: Kemik yapım (apozisyon) alanının genel morfolojisi

Not-1: **(A)** Kontrol grubu: Yeni kemikleşme bölgeleri (*), sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı. **(B)** Standart diyet grubu (SD): Yeni kemikleşme bölgeleri (*), sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı. **(C)** Yüksek yağlı diyet grubu (YYD): Yeni kemikleşme bölgeleri (*), sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı. **(D)** Glutensiz diyet grubu (GD): Genişlemiş yeni kemikleşme bölgeleri (*) ve komşuluğunda belirgin osteoblastlar (ok başı), sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı.

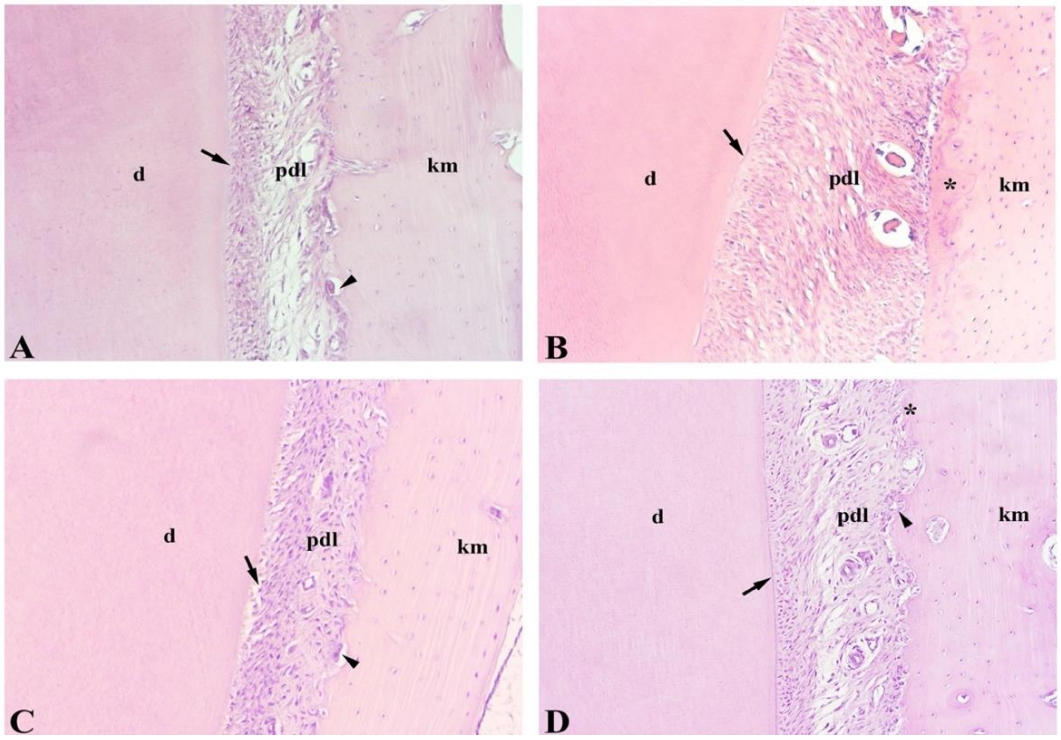
Not-2: H&E boyama, x100 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament).

4.3.1. Kemik Yıkım Alanındaki Histokimyasal Bulgular

Kemik yıkım alanındaki histolojik incelemeler sonucunda kontrol grubundaki kemikleşmenin yapım kontrol grubuna göre daha az olduğu, km yüzeyinde az sayıda osteoklastlar bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5-A). SD grubunda ince bir kemikleşme bölgesi görülmekle birlikte, kemikleşme aynı grubun yapım alanına göre daha azdır. Ayrıca pdl-sementum hattında yer yer ayrılmalar dikkat çekmektedir (Şekil 4.5-B). YYD grubunda yeni kemikleşme bölgesi seçilememiş, km yüzeyinde osteoklastlara rastlanmıştır. Pdl-sementum hattında ise oldukça belirgin bir ayrılma izlenmiştir (Şekil

4.5-C). GD grubunda km bölgesinde ince bir kemikleşme alanı görülmüştür. Km yüzeyinde osteoblast ve osteoklastların varlığı dikkat çekmiştir.

SD ve YYD gruplarında pdl-sementum hattındaki ayrılmaların bu grupta tamamen kapandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5-D).



Şekil 4.5: Kemik yıkım (rezorpsiyon) alanının genel morfolojisi

Not-1: **(A) Kontrol grubu:** Kemik matriks yüzeyinde osteoklast (ok başı), sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı. **(B) Standart diyet grubu (SD):** Lokal yeni kemikleşme bölgesi (*), sementum sınırında periodontal ligament hattında yer yer ayrılmalar (ok). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Kemik matriks yüzeyinde osteoklast (ok başı), sementum sınırında periodontal ligament hattından ayrılmalar (ok). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Lokal yeni kemikleşme bölgesi (*), kemik matriks yüzeyinde osteoklast (ok başı) ve sementum sınırında (ok) kesintisiz periodontal ligament hattı.

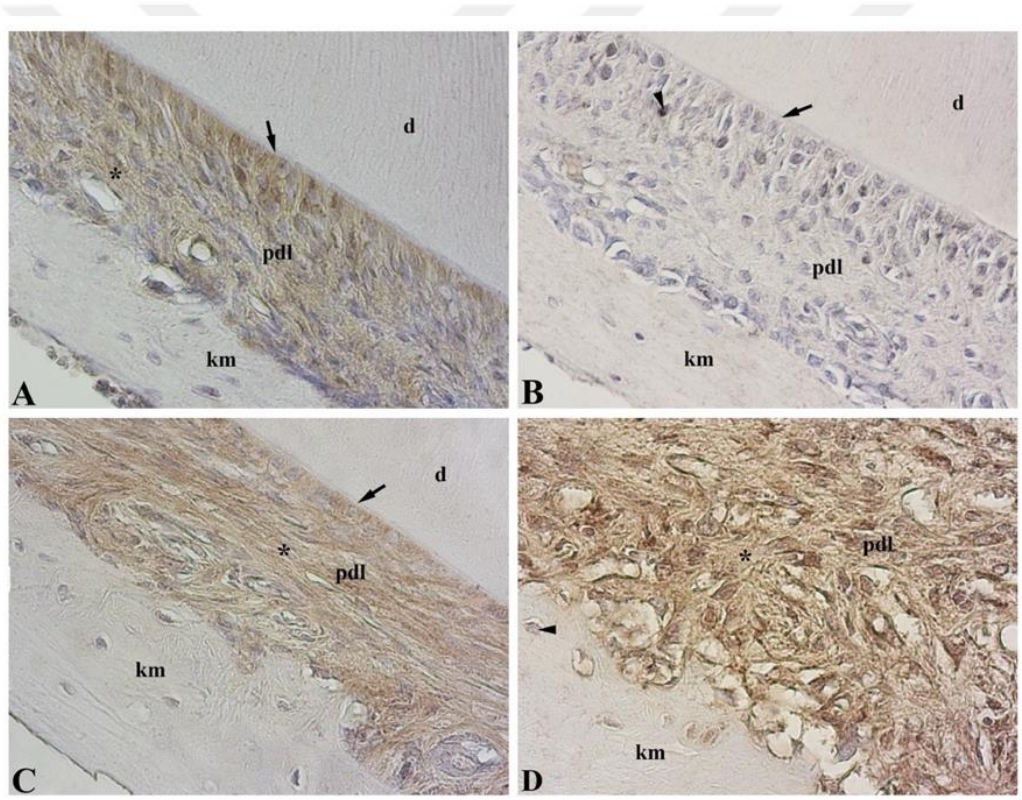
Not-2: H&E boyama, x100 mikroskop büyütmesi. (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament).

4.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Kemik yapım ve yıkım alanlarındaki hücresel aktivite ve doku yapım-yıkım düzeyini ortaya koymak üzere dokulara anti-BMP2, anti-OPN, anti-OPG ve anti-RANKL immünohistokimyasal işaretlemeleri yapılmıştır. Rastgele seçilen gruplara tüm antikorlar için negatif kontrol immünohistokimyası yapılarak, yapılan immünohistokimya tekniğinin doğruluğu kontrol edilmiştir.

4.4.1. Kemik Yapım Alanı Anti-BMP2 İmmunhistokimyasal Bulguları

Anti-BMP2 immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yapım alanında kontrol grubunda orta şiddette hafif işaretlenme görülmüştür. Kemik matriks tarafında az sayıda osteoblastların hafif immünopozitiflik gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.6-A). SD grubunda pdl içerisinde az sayıda immünopozitif olduğu, bu grupta genel olarak sadece km'de çok hafif şiddette işaretlenmenin olduğu görülmüştür (Şekil 4.6-B). YYD grubunda pdl'de yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar ile km'de osteositlerde hafif pozitiflik göze çarpmaktadır (Şekil 4.6-C). En yaygın ve şiddetli immünopozitiflik gösteren grup GD'dir. Pdl'de ve osteositlerde şiddetli reaksiyon gözlenmiştir (Şekil 4.6-D).



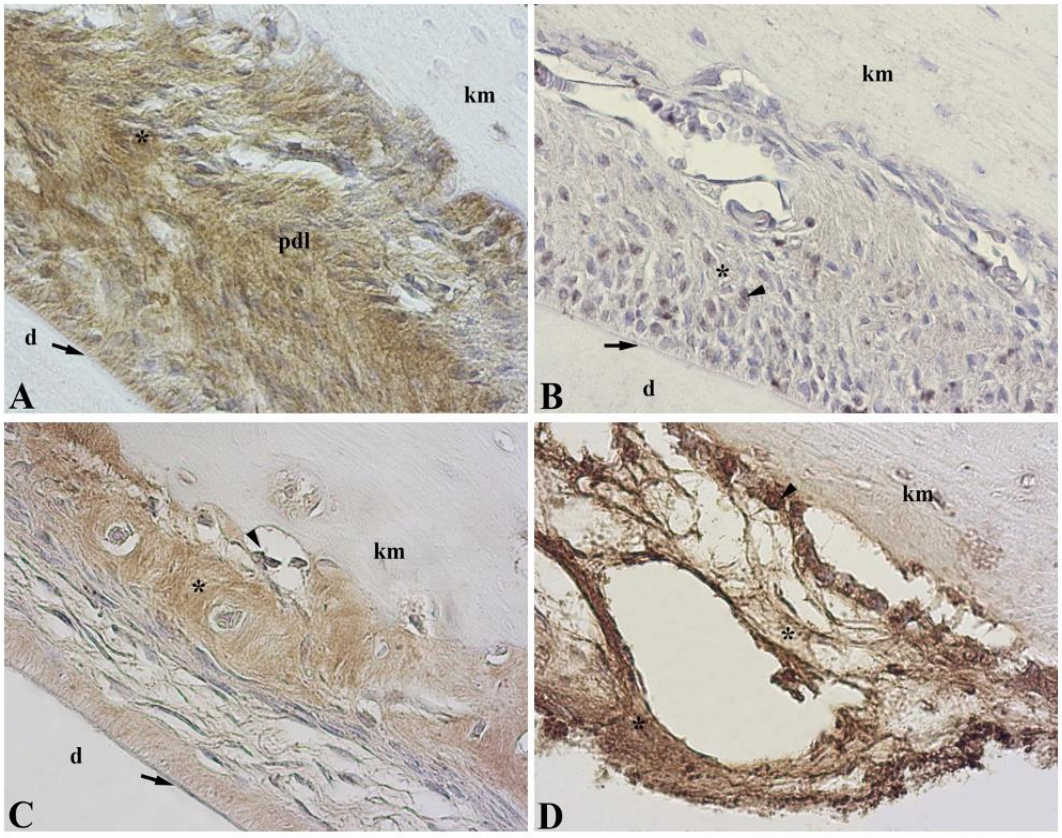
Şekil 4.6: Kemik yapım alanında anti-BMP2 immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yer yer immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte az sayıda immünopozitif hücreler (ok başı). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal ligamentte yaygın immünopozitif alanlar (*) **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentte yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*), kemik matrikste immünopozitif osteositler (ok başı).

Not-2: Anti-BMP2 immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.2. Kemik Yıkım Alanı Anti-BMP2 İmmunhistokimyasal Bulguları

Anti-BMP2 immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yıkım alanında kontrol grubunda orta şiddette ve yaygın immünopozitiflik gözlenirken; SD grubunda yapımdakine benzer şekilde pdl'de oldukça zayıf immünopozitiflik görülmüş ancak hem kontrol hem de SD gruplarına ait km'de osteositlerde immün reaksiyon gözlenmemiştir (Şekil 4.7-A ve B). YYD grubunda yer yer orta şiddette immünopozitif alanlar gözlenirken, km yüzeyindeki osteoklastların varlığı dikkat çekmektedir (Şekil 4.7-C). GD grubunda ise pdl'de yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar görülmüş, km yüzeyinde yoğun reaksiyon gösteren osteoblastlar dikkati çekmiştir (Şekil 4.7-D).



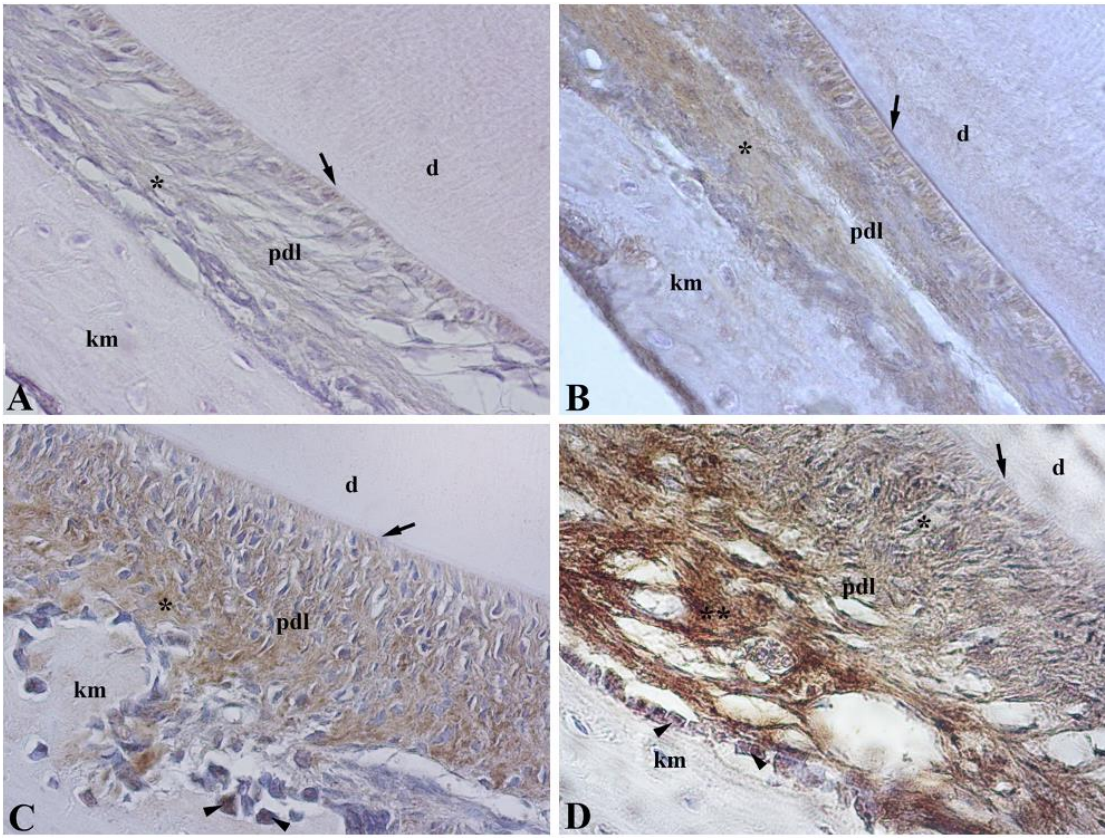
Şekil 4.7: Kemik yıkım alanında anti-BMP2 immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yaygın immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte az sayıda immünopozitif hücreler (ok başı). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal ligamentte yer yer hafif reaksiyon vermiş immünopozitif alanlar (*) ve osteoklast (ok başı). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentte yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*), kemik matriks yüzeyinde immünopozitif osteoblastlar (ok başı).

Not-2: Anti-BMP2 immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.3. Kemik Yapım Alanı Anti-OPN İmmunohistokimyasal Bulguları

Anti-OPN immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yapım alanında kontrol ve SD gruplarında yer yer hafif reaksiyon izlenmiştir (Şekil 4.8-A ve B). YYD grubunda reaksiyonun daha şiddetli ve yaygın olduğu (Şekil 4.8-C), en şiddetli immünoreaktivitenin ise GD grubunda olduğu görülmüştür (Şekil 4.8-D).



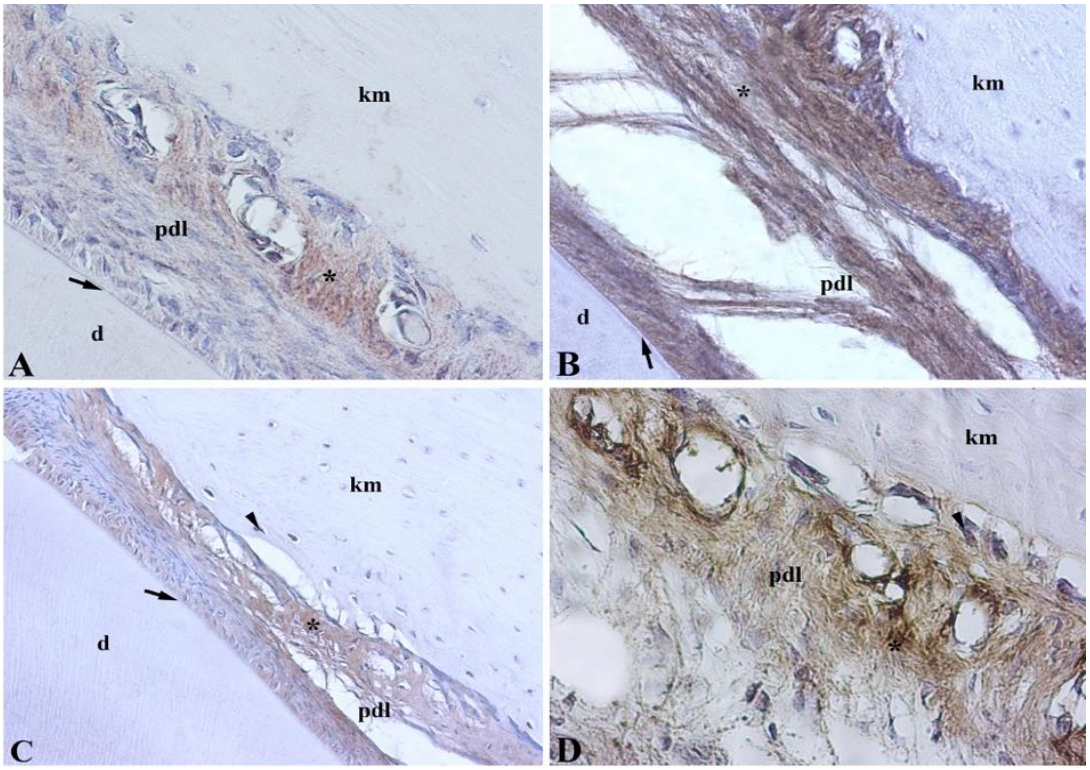
Şekil 4.8: Kemik yapım alanında anti-OPN immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte hafif şiddette immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte hafif ve yaygın immünopozitif alanlar (*). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddetli immünopozitif alanlar (*) ve osteoblastlar (ok başı). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentte yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*), kemik matriks yüzeyinde immünopozitif osteoblastlar (ok başı).

Not-2: Anti-OPN immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.4. Kemik Yıkım Alanı Anti-OPN İmmunhistokimyasal Bulguları

Anti-OPN immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yıkım alanında kontrol grubunda oldukça düşük şiddette ve dar bir alanda immünopozitiflik izlenirken (Şekil 4.9-A), en şiddetli ve yaygın reaksiyon SD grubunda görülmüştür (Şekil 4.9-B). YYD grubunun immünoreaktivite şiddetti ve yaygınlığı açısından kontrole bezer olduğu ancak osteositlerin yapım gruplarındaki gibi immünopozitiflik gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.9-C). GD grubunda ise immünoreaktivite yaygın ve şiddetli olmakla birlikte osteoblast ve osteositlerde işaretlenme görülmemiştir (Şekil 4.9-D).



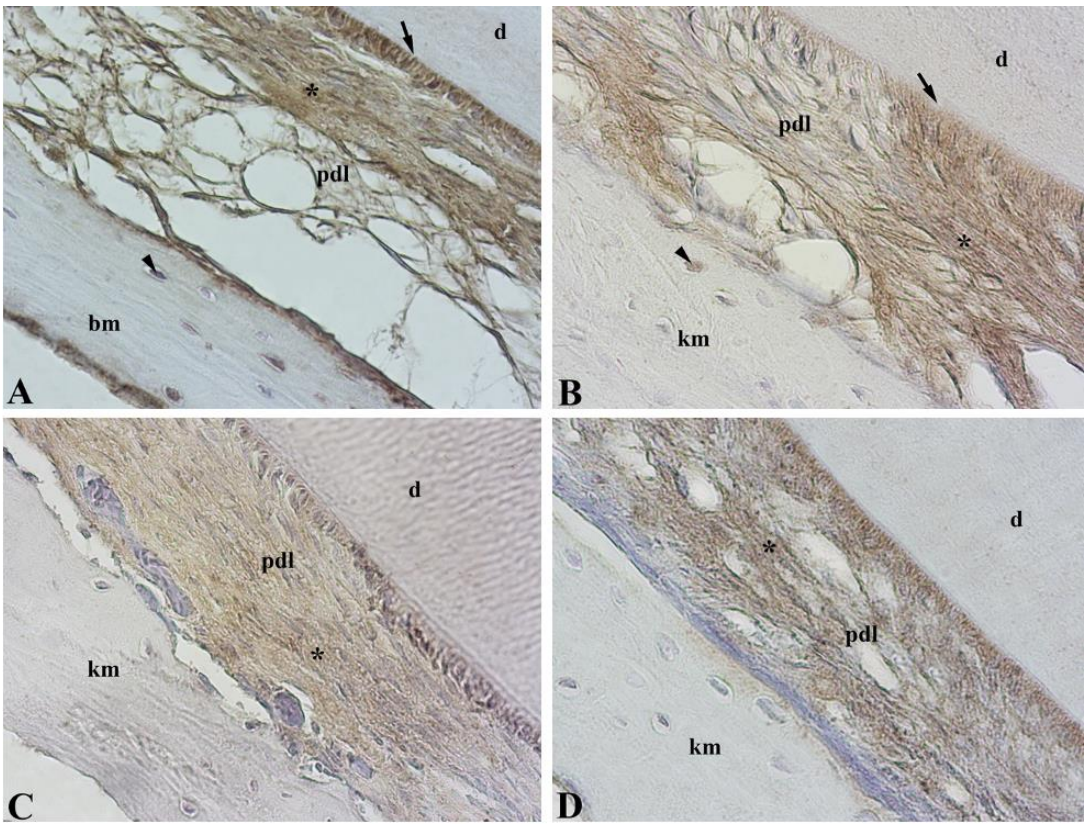
Şekil 4.9: Kemik yıkım alanında anti-OPN immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte sınırlı alanda, hafif şiddette immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte orta şiddette ve yaygın immünopozitif alanlar (*). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal ligamentte yer yer hafif şiddette immünopozitif alanlar (*) ve osteositler (ok başı). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentin kemik matriks yüzünde yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*), kemik matriks yüzeyinde immünopozitif osteoklastlar (ok başı).

Not-2: Anti-OPN immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.5. Kemik Yapım Alanı Anti-OPG İmmunhistokimyasal Bulguları

Anti-OPG immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yapım alanlarında kontrol grubunda en yüksek ve yaygın immünoreaktivite ile osteoblast ve osteositlerde yoğun işaretlenme olduğu görülmüştür (Şekil 4.10-A). SD grubunda hafif ve yer yer reaksiyon görülmüştür (Şekil 4.10-B). YYD grubunda SD grubundakine benzer immünoreaksiyon saptanmıştır (Şekil 4.10-C). GD grubunda ise yaygın ve diğer deney gruplarına göre daha şiddetli bir immünoreaktivite görülmüş, ancak kontrole göre yine de zayıf kalmıştır (Şekil 4.10-D).



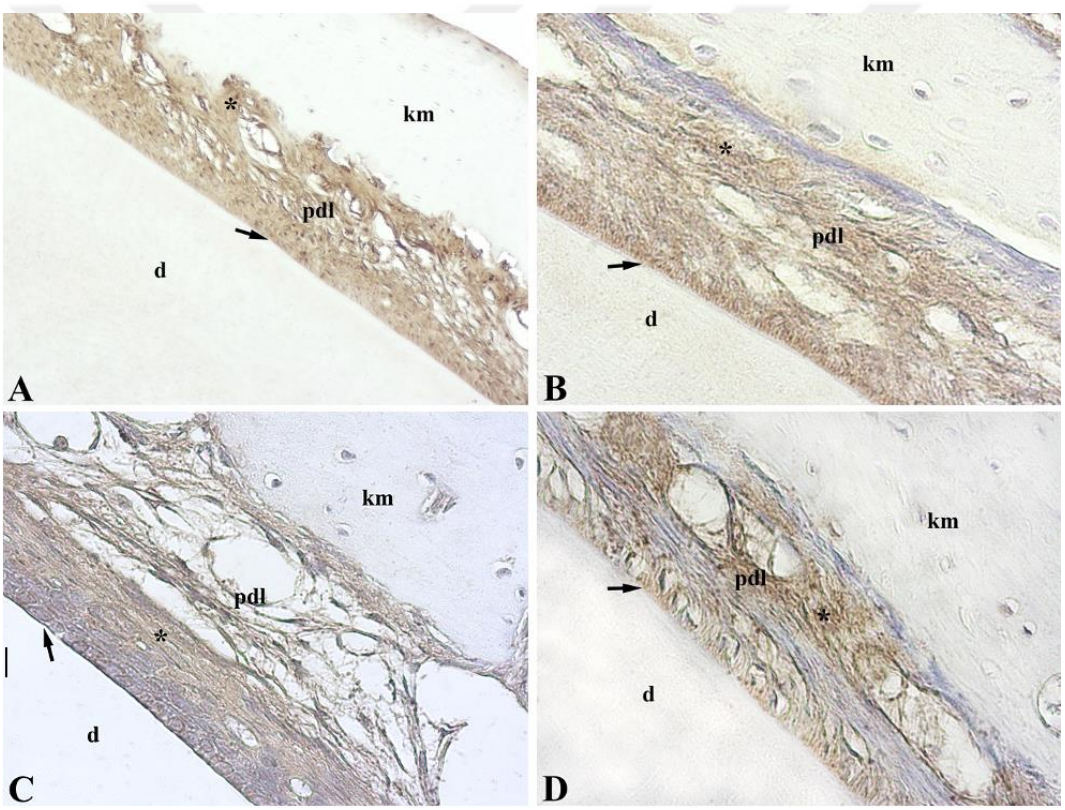
Şekil 4.10: Kemik yapım alanında anti-OPG immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yaygın ve yoğun şiddette immünopozitif alanlar, osteositler (ok başı) (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*), osteoblastlar (ok başı). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*) ve osteoblastlar (ok başı). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*).

Not-2: Anti-OPG immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.6. Kemik Yıkım Alanı Anti-OPG İmmunhistokimyasal Bulguları

Anti-OPG immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yıkım alanlarında kontrol grubunda yaygın ve yüksek immünoreaktivite görülmüştür (Şekil 4.11-A). SD grubunda reaksiyonun şiddeti daha az ve kontrole oranla daha sınırlı bir alanda kalmıştır (Şekil 4.11-B). YYD grubunda reaksiyon şiddetinin kontrol ve SD gruplarına oranla azaldığı ve reaksiyonun daha sınırlı bir alanda olduğu görülmüştür (Şekil 4.11-C). GD grubunda ise reaksiyon şiddetinin kontrole benzer şekilde arttığı, yaygınlığının ise kontrol kadar olmamakla birlikte YYD grubundan fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.11-D).



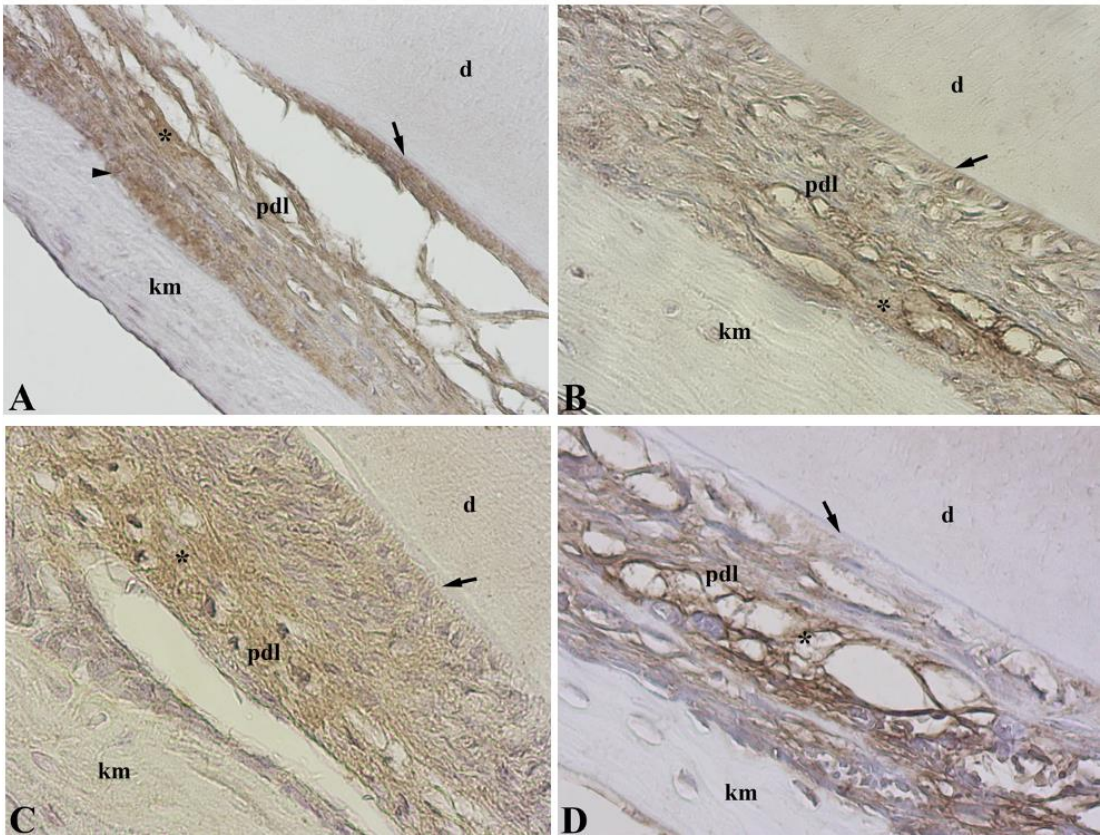
Şekil 4.11: Kemik yıkım alanında anti-OPG immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD):** Periodontal ligamentte orta şiddette ve yaygın immünopozitif alanlar (*). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD)**: Periodontal ligamentte yer yer ve orta şiddetli immünopozitif alanlar (*) ve osteoblastlar (ok başı). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD)**:Periodontal ligamentte yer yer ve şiddetli immünopozitif alanlar (*).

Not-2: Anti-OPG immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.7. Kemik Yapım Alanı Anti-RANKL İmmunohistokimyasal Bulguları

Anti-RANKL immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yapım alanlarında kontrol grubunda yaygın ve orta şiddette immünopozitiflik görülmüştür (Şekil 4.12-A). SD ve YYD gruplarında kontrol grubuna benzer şekilde orta şiddette ve yaygın immünopozitiflik görülmüştür (Şekil 4.12-Bve C). GD grubunda diğer gruplarla benzer olarak orta şiddette RANKL immünopozitif işaretlenme görülmüş ancak işaretlenme diğer gruplardan farklı olarak sınırlı alanda kalmıştır (Şekil 4.12-D).



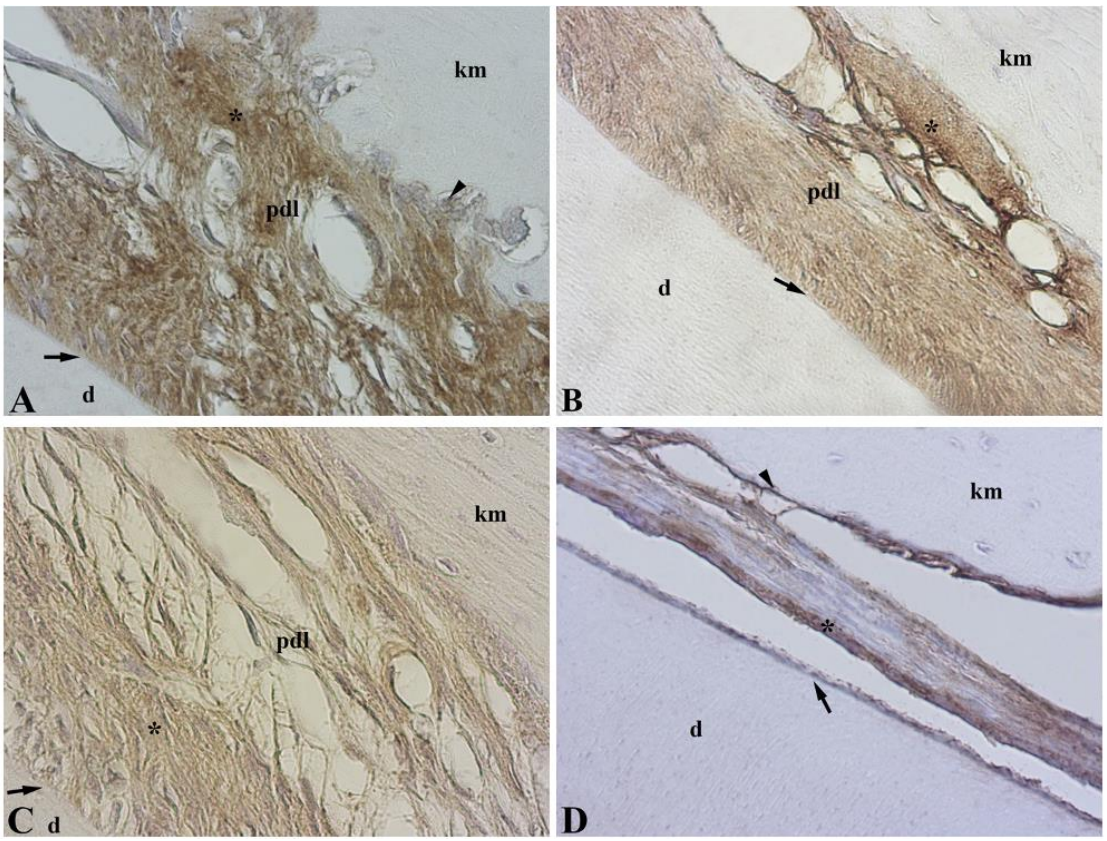
Şekil 4.12: Kemik yapım alanında anti-RANKL immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*), osteoblastlar (ok başı). **(B) Standart diyet grubu (SD** Periodontal ligamentte yer yer ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD)**: Periodontal ligamentte yer yer ve hafif şiddette immünopozitif alanlar (*). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD)**:Periodontal ligamentte yer yer ve orta şiddette immünopozitif alanlar (*)

Not-2: Anti-RANKL immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

4.4.8. Kemik Yıkım Alanı Anti-RANKL İmmunohistokimyasal Bulguları

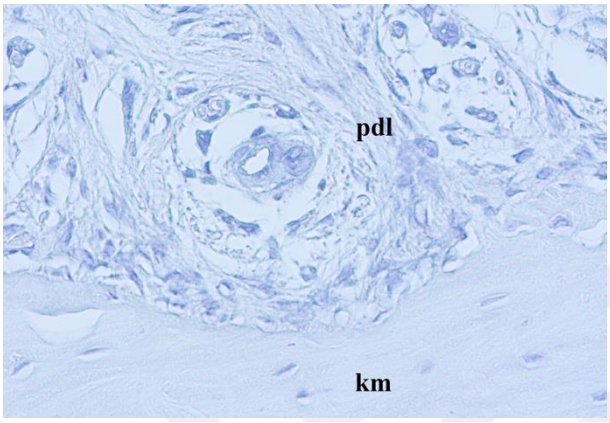
Anti-RANKL immünoişaretlemesi açısından incelendiğinde, kemik yıkım alanlarında kontrol, SD ve YYD gruplarında, kemik yapım alanlarına oranla anti-RANKL immünoreaksiyonunun daha şiddetli ve yaygın olduğu görülmüştür (Şekil 4.13-A, B ve C). GD grubunun yıkım alanlarında anti-RANKL immünopozitifliği diğer gruplara benzer şekilde orta şiddette bulunmuş ancak farklı olarak sınırlı alanda kaldığı görülmüştür (Şekil 4.13-D).



Şekil 4.13: Kemik yıkım alanında anti-RANKL immünohistokimyası

Not-1: **(A) Kontrol:** Periodontal ligamentte yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*). **(B) Standart diyet grubu (SD** Periodontal ligamentte yaygın ve şiddetli immünopozitif alanlar (*). **(C) Yüksek yağlı diyet grubu (YYD):** Periodontal ligamentte yaygın ve orta şiddetli immünopozitif alanlar (*). **(D) Glutensiz diyet grubu (GD):** Periodontal ligamentte yer yer ve şiddetli immünopozitif alanlar (*), kemik matriks yüzeyinde immünopozitif osteoblastlar (ok başı).
Not-2: Anti-RANKL immün işaretleme, x400 mikroskop büyütmesi (d: dentin, km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament, ok: periodontal ligament-sementum sınırı).

İmmünohistokimya protokolündeki primer antikor basamağının çıkarılması ile son ürünün işaretlenmemesi temeline dayanan negatif kontrol immünohistokimyası tüm antikorlar için, her gruba uygulanmış ve primer antikor kullanılmadığı için sonuçta immünite görülmemiştir. Böylece kesitlerde yanıltıcı bir yalancı pozitiflik olmadığı sonucuna varılmıştır (Şekil 4.14-E).



Şekil 4.14: Negatif immünohistokimya kontrolü
Not-1: İmmünonegatif km ve pdl bölgeleri, x400 mikroskop büyütmesi (km: kemik matriks, pdl: periodontal ligament). Tüm gruplar.

4.5. İMMUNHİSTOKİMYASAL BULGULARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

İmmunhistokimya boyaması sonucunda Anti-OPN, Anti-BMP2, Anti-OPG ve Anti-RANKL belirteçleri boyanma çokluğuna göre az (+), orta (++), çok (+++) şeklinde tek bir araştırmacı tarafından skorlanmıştır. Bazı histoloji kesitlerinin geçen aşamalar sonucunda hasar görmesi ve değerlendirmeye uygun olmaması sebebiyle kontrol grubunda 6 (%23.1), SD grubunda 7 (%26.9), YYD grubunda 6 (%23.1) ve GD grubunda 7 (%26.9) hayvan kesiti olmak üzere 4 grup altında 26 hayvanın immunohistokimya skorlaması ortodontik kuvvete bağlı kemik yapım ve yıkım taraflarında ayrı ayrı yapılmış ve Tablo 4.7 ve Tablo 4.8 de sunulmuştur. Bu skorlamaları değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (frekans) yanı sıra, niteliksel verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare testi ve Fisher Freeman Halton testi kullanılmış, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir (Tablo 4.9, Tablo 4.10, Tablo 4.11, Tablo 4.12).

Tablo 4.7: Kemik yapım tarafındaki immunohistokimya boyaması belirteçlerinin skorlaması

YAPIM TARAFI	Anti-OPN	Anti-BMP2	Anti-OPG	Anti-RANKL
Kontrol	++ + + + + ++	++ ++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++ +++	++ ++ + ++ + ++
SD	++ ++ ++ + ++ + +	+ + + + + + +	++ + + ++ + ++ ++	++ ++ ++ + ++ + ++
YYD	++ ++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++ ++	+ ++ ++ ++ + ++	++ + ++ ++ ++ +
GD	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ ++ +++ ++ +++ +++ +++	++ ++ +++ ++ +++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++ ++ ++

Tablo 4.8: Kemik yıkım tarafındaki immunohistokimya boyaması belirteçlerinin skorlaması

YIKIM TARAFI	Anti-OPN	Anti-BMP2	Anti-OPG	Anti-RANKL
Kontrol	+ + + + + +	++ ++ ++ ++ ++ ++	+++ ++ ++ ++ +++ ++	+++ +++ +++ +++ +++ +++
SD	+++ +++ ++ ++ ++ +++ ++	+ + + + + + +	+ ++ ++ + + ++ ++	+++ +++ ++ ++ +++ ++ ++
YYD	++ ++ + + ++ ++	+ + ++ + ++ +	+ + + + + +	+++ +++ ++ ++ +++ +++
GD	+++ ++ ++ ++ +++ ++ ++	+++ ++ +++ ++ +++ +++ ++	++ ++ +++ ++ +++ ++ ++	+++ ++ ++ ++ +++ ++ ++

Tablo 4.9 : Kemik yapım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının yüzdelik dağılımları ve gruplar arası karşılaştırmaları

Yapım		**Kontrol**	**SD**	**YYD**	**GD**	***Total***	**p**
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**	***n (%)***	
Anti-OPN	**Az**	4 (%66,7)	3 (%42,9)	0 (%0)	0 (%0)	*7 (%26,9)*	**[1]0,000***
	Orta	2 (%33,3)	4 (%57,1)	6 (%100)	0 (%0)	*12 (%46,2)*	
	Çok	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	7 (%100)	*7 (%26,9)*	
Anti-BMP2	**Az**	0 (%0)	7 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	*7 (%26,9)*	**[1]0,000***
	Orta	6 (%100)	0 (%0)	6 (%100)	2 (%28,6)	*14 (%53,8)*	
	Çok	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	5 (%71,4)	*5 (%19,2)*	
Anti-OPG	**Az**	0 (%0)	3 (%42,9)	2 (%33,3)	0 (%0)	*5 (%19,2)*	**[1]0,001***
	Orta	0 (%0)	4 (%57,1)	4 (%66,7)	5 (%71,4)	*13 (%50)*	
	Çok	6 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	2 (%28,6)	*8 (%30,8)*	
Anti-RANKL	**Az**	2 (%33,3)	2 (%28,6)	2 (%33,3)	0 (%0)	*6 (%23,1)*	**[2]0,468**
	Orta	4 (%66,7)	5 (%71,4)	4 (%66,7)	7 (%100)	*20 (%76,9)*	

*[1]Ki-Kare Test [2]Fisher Freeman Halton Test *p<0,05*

Tablo 4.10: Kemik yapım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının gruplar arası ikili karşılaştırmaları

Yapım	**Post-Hoc Test**			
	Anti-OPN	**Anti-BMP2**	**Anti-OPG**	**Anti-RANKL**
Kontrol-SD	p>0.05	p>0.05	0,001*	p>0,05
Kontrol-YYD	0,030*	p>0.05	0,002*	p>0,05
Kontrol-GD	0.001*	0,016*	0,016*	p>0,05
SD-YYD	p>0.05	0,001*	p>0.05	p>0,05
SD-GD	0,001*	0,001*	p>0.05	p>0,05
YYD-GD	0,001*	0,016*	p>0.05	p>0,05

Kemik yapım tarafındaki anti-OPN düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0,000; p<0,01) (Tablo 4.9), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda GD grubu anti-OPN oranı kontrol, SD ve YYD gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş (tüm gruplar için p=0.001; p<0,01), benzer şeklide YYD grubu anti-OPN oranının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu

görülmüştür (p=0.030; p<0,05)(Tablo 4.10). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.10).

Kemik yapım tarafındaki anti-BMP2 düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0.000; p<0,01) (Tablo 4.9), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; GD grubu anti-BMP2 oranı kontrol, SD ve YYD gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,001, p=0,016 p=0,001; p<0,05) (Tablo 4.10). YYD grubu anti-BMP2 oranının SD grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür (p=0,001; p<0,01) (Tablo 4.10). SD ve YYD gruplarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir (p>0,05) (Tablo 4.10).

Kemik yapım tarafındaki anti-OPG düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0.001; p<0,01) (Tablo 4.9), en çok boyanan grup kontrol grubudur (Tablo 4.10). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.10).

Kemik yapım tarafındaki anti-RANKL düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.9).

Tablo 4.11: Kemik yıkım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının yüzdelik dağılımları ve gruplar arası karşılaştırmaları

YIKIM TARAFI		Kontrol	SD	YYD	GD	*Total*	p
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	*n (%)*	
Anti-OPN	**Az**	6 (%100)	0 (%0)	2 (%33,3)	0 (%0)	*8 (%30,8)*	[1]**0,001***
	Orta	0 (%0)	4 (%57,1)	4 (%66,7)	5 (%71,4)	*13 (%50)*	
	Çok	0 (%0)	3 (%42,9)	0 (%0)	2 (%28,6)	*5 (%19,2)*	
Anti-BMP2	**Az**	0 (%0)	7 (%100)	4 (%66,7)	0 (%0)	*11 (%42,3)*	[1]**0,000***
	Orta	6 (%100)	0 (%0)	2 (%33,3)	3 (%42,9)	*11 (%42,3)*	
	Çok	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	4 (%57,1)	*4 (%15,4)*	
Anti-OPG	**Az**	0 (%0)	3 (%42,9)	6 (%100)	0 (%0)	*9 (%34,6)*	[1]**0,003***
	Orta	4 (%66,7)	4 (%57,1)	0 (%0)	5 (%71,4)	*13 (%50)*	
	Çok	2 (%33,3)	0 (%0)	0 (%0)	2 (%28,6)	*4 (%15,4)*	
Anti-RANKL	**Orta**	0 (%0)	4 (%57,1)	2 (%33,3)	5 (%71,4)	*11 (%42,3)*	[2]**0,057**
	Çok	6 (%100)	3 (%42,9)	4 (%66,7)	2 (%28,6)	*15 (%57,7)*	

[1]*Ki-Kare Test* [2]*Fisher Freeman Halton Test* **p<0,05*

Tablo 4.12: Kemik yıkım tarafındaki immünoreaktivite skorlarının gruplar arası ikili karşılaştırmaları

Yıkım	Post-Hoc Test			
	Anti-OPN	**Anti-BMP2**	**Anti-OPG**	**Anti-RANKL**
Kontrol-SD	0,001*	0,001*	p>0.05	p>0.05
Kontrol-YYD	0,030*	0,030*	0,002*	p>0.05
Kontrol-GD	0,001*	0,049*	p>0.05	p>0.05
SD-YYD	p>0.05	p>0.05	0,049*	p>0.05
SD-GD	p>0.05	0,001*	p>0.05	p>0.05
YYD-GD	p>0.05	0,023*	0,001*	p>0.05

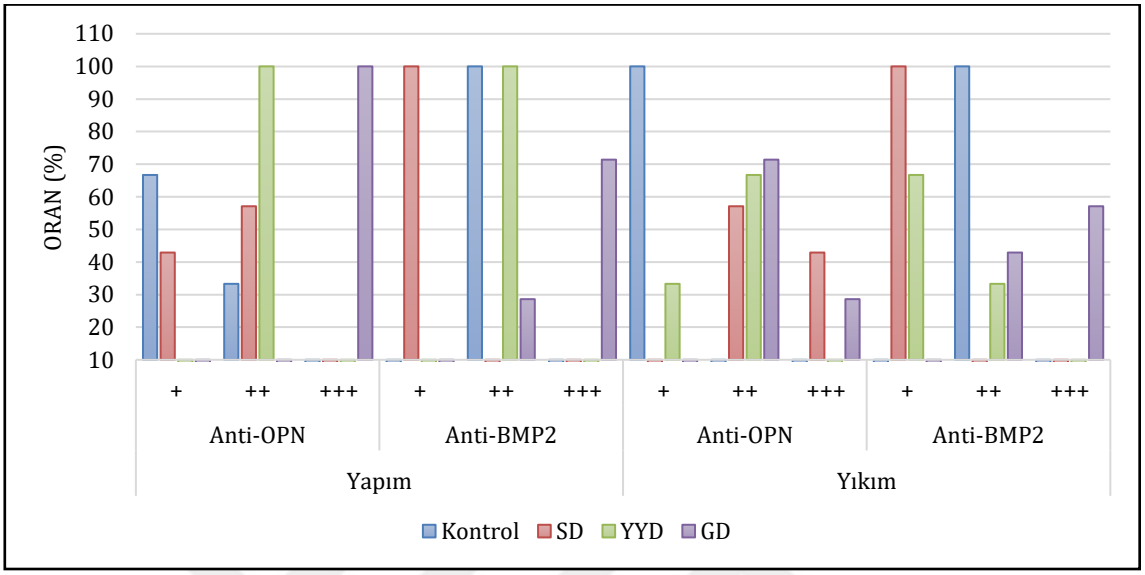
Kemik yıkım tarafındaki anti-OPN düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0,0001; p<0,01) (Tablo 4.11), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda SD, YYD ve GD gruplarının anti-OPN oranları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,001, p=0,03, p=0,001; p<0,05) (Tablo 4.12). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.12).

Kemik yıkım tarafındaki anti-BMP2 düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0.003; p<0,01) (Tablo 4.11), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SD, YYD ve GD gruplarının anti-BMP2 oranları kontrol grubuna göre (sırasıyla p=0,001, p=0,03, p=0,049; p<0,05), GD grubunun oranları SD ve YYD gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,001, p=0,023; p<0,05) (Tablo 4.12). SD veYYD grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.12).

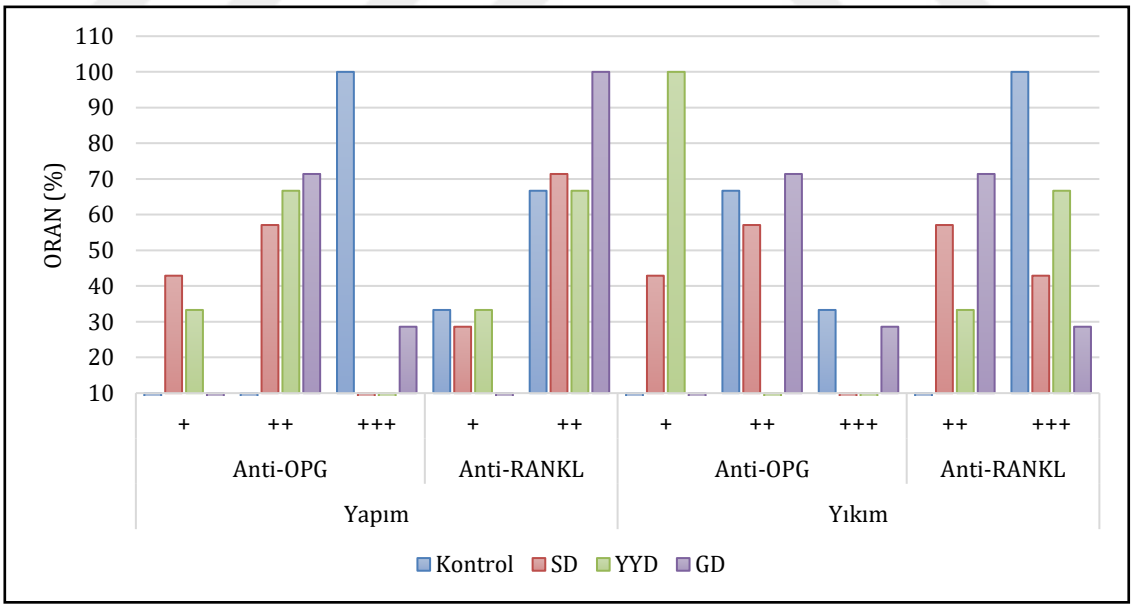
Kemik yıkım tarafındaki anti-OPG düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş (p=0.001; p<0,01) (Tablo 4.11), yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; YYD grubunun anti-OPG oranları kontrol, SD ve GD gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,002, p=0,049, p=0,001; p<0,05) (Tablo 4.11). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.11).

Kemik yıkım tarafındaki anti-RANKL düzeyleri yüzdelik dağılım oranları karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.10).

OPN, BMP-2, OPG ve RANKL antikorlarının yapım ve yıkım tarafındaki boyanma şiddetleri ve hücresel immünoreaktivite skorlarının dağılımı Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



Şekil 4.15: OPN ve BMP2 antikorları için genel boyanma şiddeti ve hücresel immünoreaktivite skorlarının dağılımı



Şekil 4.16: OPG ve RANKL antikorları için genel boyanma şiddeti ve hücresel immünoreaktivite skorlarının dağılımı

5. TARTIŞMA

5.1. AMAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMİN TARTIŞILMASI

Glutensiz beslenme, ÇH ve gluten ile ilgili diğer bozuklukların temel tedavisi olarak kabul edilse de, günümüzde glutene bağlı herhangi bir rahatsızlığı olmasa da glutensiz beslenmeyi uygulayan kişilerin sayısı artmaktadır (204). Genel yetişkin popülasyonunda glutensiz beslenmeye olan bağlılık prevelansı bazı ülkelerde %7'ye ulaşmıştır (205,206). Genel nüfusun glutensiz gıdaları satın almasının başlıca nedeni, gluten içeren muadillerinden daha sağlıklı olduğunu varsaymalarıdır (207). Çok sayıda kitaptan, ünlülerden ve diğer medyadan gelen öneriler, glutenden kaçınmanın kilo kaybı gibi potansiyel sağlık yararları konusundaki önemini tartışmasız bir şekilde desteklemiştir (208).

Çölyak hastalığı, kronik ishal ve kilo kaybı gibi klasik özelliklerinin yanı sıra, subklinik olarak gastrointestinal semptomlar olmadan izole besin eksikleriyle beraber de görülebilir. Malign olmayan klinik komplikasyonlar arasında sıklıkla demir eksikliği anemisi ve osteoporoz görülmektedir. Hastalığın erken teşhis edilmesi önemlidir, çünkü glutensiz bir diyet ile bu komplikasyonlar önlenebilir (209). Tedavi edilmemiş çölyak hastalığı olan çocuk ve ergenlerde, klinik tablodan bağımsız olarak azalmış kemik mineral içeriği ve kemik mineral yoğunluğu tekrarlayan çalışmalarda bulunmuştur (210,211). Diyet tedavisinin etkisi oldukça hızlı olarak ortaya çıkmakta ve glutensiz beslenen çocuklarda sadece 1 yıllık tedaviden sonra bile normal kemik mineral içeriği ve kemik mineral yoğunluğu görülmektedir (211–214).

Glutensiz beslenmenin kemik metabolizması üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada hastaların tedavi öncesi kemik rezorbsiyon hızı son derece yüksek bulunmuş ve glutensiz diyet uygulamasıyla beraber kemik mineralizasyonunda önemli bir belirteç olan kemiğe spesifik alkalen fosfataz (ALP) konsantrasyonlarında belirgin ve sabit bir artış gözlemlenmiştir. Sadece 2 aylık glutensiz beslenmeyle, kemik oluşturan hücrelerin tedaviye verdiği hızlı yanıt oldukça dikkat çekici bulunmuştur (209). Yapılan çalışmalar glutensiz diyet uygulanmasını takiben biyokimyasal kemik metabolizması belirteçlerinin normalleştiğini göstermiştir (215,216). Bu verilerden yola çıkarak, çalışmamızda

glutensiz beslenen bireylerde ortodontik diş hareketi sırasında kemik metabolizmasının nasıl etkilendiğini incelemeyi amaçladık.

Yaptığımız literatür araştırmasında glutensiz beslenmenin ortodontik diş hareketi üzerine olan etkisini gösteren bir çalışma bulunamamış olmakla birlikte, yüksek yağlı beslenme sonucu görülen obezitenin kemik remodelingi üzerindeki etkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ortodontik hareket sırasında, periodontal dokular mekanik kuvvete maruz kaldıklarında karmaşık biyolojik değişikliklere uğrarlar ve basınç tarafında kemik rezorpsiyonu ve gerilim tarafında kemik apozisyonu görülür. Son dönemde yapılan bir çalışmada obezitenin bu durumu arttırabileceği ve artan inflamatuar yanıt ile kemiğin yeniden şekillenmesini bozabileceği bildirilmiştir. Çalışmada ortodontik diş hareketi sırasında obezite grubunda kontrol gurubuna göre daha fazla inflamatuar hücre ve daha fazla alveoler kemik kaybı görülmüştür. Obez hayvanlarda azalmış kemik mineral yoğunluğu, artan inflamasyon ve kemik rezorpsiyonuna bağlı olarak daha hızlı diş hareketi görülmüştür (164).

Obezitenin ortodontik diş hareketi üzerindeki etkisini değerlendiren araştırmalar adipokinler ve kemik doku tepkileri arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Bir anti-inflamatuar adipokin olan adiponektin, yağ asidi oksidasyonunu ve insülin duyarlılığını arttıran bir moleküldür(217). Yağ hücrelerinden dolaşıma bırakılan adiponektin, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antidiyabetik ve antitümör özelliklere sahiptir ve çeşitli kalp ile karaciğer hasarlarına karşı organizmayı korumaktadır(218) Adiponektin serum konsantrasyonu; beden kitle endeksi, glukoz, insülin, insülin direnci ve viseral yağ birikimi ile ters orantılıdır ve kilo kaybı ile artış gösterir(219). Yüksek adiponektin seviyesi olan bireylerde tip 2 diyabet gelişme riskinin adiponektin seviyeleri düşük olan kişilerden daha az olduğu bildirilmiştir (220). Haugen ve ark. (224) ratlar üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda adiponektinin lokal olarak uygulanmasının ortodontik diş hareketini engelleyebildiğini bildirmişlerdir.

Yüksek yağlı beslenmenin adipoz hücrelerin birikmesine bağlı olarak, kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet, insülin direnci ve metabolik sendrom gibi çeşitli sistemik rahatsızlıklara neden olduğu bilinmektedir (1–3). Ancak, yüksek yağlı beslenme ve obezitenin kemik remodelingi üzerine etkisi tam olarak tanımlanmamıştır (221–223). Bazı sonuçlar aşırı kilonun neden olduğu mekanik yüklenmenin kemik kütlesinin korunması üzerinde olumlu etkisi olduğunu öne sürerken (224) bazı çalışmalar vücut yağ

birikiminin kemik rezorpsiyonunu artırdığını göstermiştir (222,223,225). Günümüzde hareketsiz yaşam ve yüksek kalorili beslenme etkisiyle kliniklerde karşılaştığımız obez birey sayısı artmaktadır. Yüksek yağlı beslenen obez bireylerde ortodontik diş hareket hızı ve kemik metabolizmasının ne şekilde etkilendiği üzerine ise literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu konuyu aydınlatabilmek ve beslenmenin ortodontik diş hareketi sırasında gerçekleşen kemik remodelingine olan etkisini hücresel düzeyde inceleyebilmek adına bu çalışmayı gerçekleştirdik.

Ortodontik diş hareketi sırasında gelişen biyolojik cevabın ve ortodontik diş hareketine etki eden faktörleri araştırmak amacıyla pek çok hayvan deneyi ve klinik araştırma yapılmaktadır. Diş hareket mekanizmasının anlaşılabilmesi için maymun (226), köpek (227), kedi (228), tavşan (229), kobay (230) ve rat (164) gibi çeşitli hayvanlar üzerinde deneyler yapılmıştır. Değişkenleri daha iyi kontrol etmek, genetik faktörleri elimine edebilmek ve çalışmayı etkileyebilecek faktörleri azaltmak amacıyla hayvan deneyleri tercih edilmektedir (231).

Ratlar insanlarla karşılaştırıldığında bazı yapısal farklılıklara sahip olsalar da ortodontik diş hareketi çalışmalarında en çok tercih edilen hayvanlardır. Ratların alveol kemiği ve PDL'sine uygulanan kuvvetlere karşı verdikleri biyolojik cevap insanlara göre daha hızlı gerçekleşse de temel mekanizmaları oldukça benzerdir (232,233.) Çalışma grupları için çok sayıda örnek oluşturulabilmesi, uzun süreli barındırılabilmeleri, dayanıklı olmaları, diğer hayvanlara göre nispeten ucuz olmaları, gözlem periyodunu azaltmaları ve üreme yeteneklerinin fazla olması en önemli tercih sebepleridir (234). Maymun ve kedi dokularının birçok özelliği insana benzese de ortodontik kuvvet uygulamasıyla meydana gelen değişikliklerin ratlarda daha iyi takip edildiği bildirilmiştir (12). Rattan alınan kesitlerin histolojik olarak değerlendirilmesi köpek gibi diğer hayvanlara göre daha kolaydır. Rat materyalinin histolojik olarak çalışılması diğer deney hayvanlarına göre daha kolaydır. Ayrıca, hücresel ve moleküler biyolojik teknikler için kullanılan birçok antikor sadece rat ve farelerde kullanılabilmektedir (234). Deney çalışmaları için en küçük hayvanlar fareler olsa da ortodontik apareylerin yerleştirilmesi açısından çok küçüktürler, bu nedenle ortodontik diş hareketlerinin incelendiği çalışmalarda sıklıkla ratlar tercih edilmektedir (234,164,172). Bu avantajlar göz önünde bulundurularak, çalışmamız ratlar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Ratlarda kemik metabolizması, cinsel olgunluk sonrası cinsellik hormonlarından etkilenebilse de RANKL ve OPG gibi belirteçlerin seviyeleri bu durumdan etkilenmemektedir (235–237). Bunun yanı sıra, çalışmamız hayvanların davranışlarını değerlendiren bir çalışma olmadığı ve dişi ratların temini erkek ratlardan daha kolay olduğu için çalışmamızda dişi ratlar kullanılmıştır. Gruplar içinde erkek rat olmamasına rağmen, yüksek yağlı beslenen gruptaki bir rat sakrifikasyondan 1 gün önce doğum yapmış ve çalışma dışında bırakılmıştır. Her ne kadar dişi ratların temini daha kolaysa da, hamile kalma ihtimalleri çalışmalar için dezavantaj olabilmektedir.

Ratlarda, alveoler kemik, periodontal ligament, sement ve dentin formasyonu 8 haftada tamamlanmakta (238) ve ilerleyen yaşlarda alveoler kemik döngüsü azalmaktadır (226,239). Ayrıca yaşla birlikte PDL'deki organik matriks üretimi, hücrelerin mitotik aktivitesi ve çözünebilir kollajen miktarları azalmaktadır (240). Erişkin ratlarda periodontal aralık genç ratlara göre daha dardır (241) ve ortodontik kuvvetin uygulandığı basınç tarafında genç ratlara nazaran daha kolay hiyalize doku oluşmaktadır (242). Genç ratlarda kuvvet uygulamasıyla gerçekleşen ilk diş hareketi miktarının fazla, gecikme periyodunun daha kısa ve geç diş hareketi miktarının daha fazla olduğu belirtilmiştir (243). Ortodontik diş hareketi çalışmalarında 13 haftalık genç erişkin ratların güvenilir deney modeli olduğu bildirilmiştir (244). Çalışmamızda, 3 haftalık ratlar sütten kesildikten sonra 1 hafta standart pelet yemle alıştırma dönemi gerçekleştirilmiştir. Beslenmenin kemik metabolizmasına etkisini değerlendirmek ve gruplar arası kilo farkını gözlemlemek amacıyla ratlar kontrol grubu, standart diyetle beslenen grup, yüksek yağlı diyetle beslenen grup ve glutensiz diyetle beslenen grup olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar arasında farklılık olmaması açısından, tüm ratlar 10 hafta boyunca tek bir araştırıcı tarafından beslenmiş ve hayvanların sağlık durumu her gün kontrol edilmiştir. Ratların araştırıcının kokusuna alışması ve hayvanların güvende hissetmesi etik kurallar gereğince önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra araştırmanın da güvenilirliği açısından deneyin başından sonuna kadar gerçekleştirilen tüm aşamalar tek bir araştırıcı tarafından gerçekleştirilmiştir. Ratlar her hafta aynı gün tartılmış ve kilolarındaki değişim not edilmiştir. Yukarıdaki avantajların yanısıra genç erişkin ratlara aparey yerleştirilmesinin daha kolay olduğu göz önüne alınarak, 14 haftalık ratlarla deneyin ortodontik kuvvet uygulama aşaması gerçekleştirilmiştir.

Ratlar üzerinde gerçekleştirilen deneysel ortodontik diş hareketi çalışmalarında kemik metabolizması remodeling döngüsünün 10-31 gün arasında değiştiğini belirten çeşitli araştırmacılar bulunmaktadır (245,246). Yapılan bir araştırmada ratlarda diş hareketi döngüsünün, erken (1-4 gün), gecikmiş (4-7 gün) ve geç (10-14 gün) diş hareketi şeklinde 3 karakteristik aşaması olduğu ve bu döngünün 14 günde tamamlandığı bildirilmiştir (247). Diş hareketinin karakteristik özelliklerini incelemek isteyen araştırmalarda deneysel ortodontik diş hareketi süresinin en az 2 hafta olması gerektiği savunulmaktadır (234,248,249). Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda glutensiz beslenen ve yüksek yağlı beslenen ratlarda ortodontik diş hareketi sırasındaki kemik remodelingini değerlendirebilmek adına deney süremizi 14 gün olarak belirledik. 14 haftalık ratlarla çalışmanın uygulama aşamasına geçildi ve 14 günlük deneysel ortodontik diş hareketi süresinin tamamlanmasının ardından sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ratlar üzerinde gerçekleştirilen bazı deneysel ortodontik diş hareketi çalışmalarında kullanılan apareyin üst keser (250,251) ve üst 1. molar dişlere (164,172) uygulandığı görülmektedir. Kemirgen canlıların üst keser dişlerinde devam eden bir uzama ve bu uzamaya bağlı olarak devamlı remodeling aktivitesinin olduğu belirtilmiştir (252). Ratlar üzerinde gerçekleştirilen deneysel ortodontik diş hareketi çalışmalarını planlarken, çalışmada göz önünde bulundurulması gereken konulardan birisinin ratlarda molar dişlerin fizyolojik olarak sürekli distale sürüklenmesi ve keser dişlerin sürekli erüpsiyonudur. Distale sürüklenme hareketi, molar dişlerdeki deneysel meziyalizasyonun gözardı edilmesine neden olabilirken, keser dişlerde meydana gelen sürekli erüpsiyon ise kuvvet yönü kontrolünün zorluğuna ve ankraj kaybına neden olabilmektedir (234). Molar dişlerde gerçekleştirilmek istenen deneysel çalışmalarda, çalışma alanının küçük oluşu, apareylerin yerleştirilmesi ve uygulanmasının zor oluşu, uygulama sırasında gerçekleşen bukkal ve palatal mukoza irritasyonları, keser dişlerdeki ligatür telinin hayvanlar tarafından çıkarılabilmesi ve alveolar kemikte patolojik değişikliklerin izlenebilmesi gibi dezavantajların olduğu bildirilmiştir (252). Bunun yanı sıra, maksiller keser dişlere distal yönde kuvvet uygulamasının keser erüpsiyonunu önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Üst keser dişlere uygulanan deneysel ortodontik diş hareketi modeli; distal yönde kuvvet uygulayan apareyin yerleştirme ve uygulama kolaylığı, dayanıklılığı, ağız içi yumuşak dokulardaki adaptasyonun iyi oluşu ve patolojik durumların oluşma ihtimalinin daha az olması gibi avantajları sebebiyle tercih edilmektedir (253–255). Bu durumlar ve özellikle

apareyin uygulama ve yerleştirme kolaylığı göz önüne alınarak, çalışmamızda keser dişlere distal yönde kuvvet uygulayan aparey modeli tercih edilmiştir.

Deneysel çalışmalarda dişlere ortodontik kuvvet uygulamak için kapalı yaylar (256), elastik bantlar (257), simante edilen apareyler (258) ve çelik telden bükülerek hazırlanan zemberekler (250,251) kullanılmıştır. Maksiller birinci ve ikinci molar dişler arasında elastik bant yerleştirilmesiyle gerçekleştirilen çalışmalarda, uygulama kolaylığına rağmen kuvvetin kısa süre içerisinde ortadan kalması, elastiğin yerinden çıkması ve kontrollü kuvvet uygulamaması gibi dezavantajları olduğu belirtilmiştir (234,259). Yapılan diğer deneysel çalışmalarda, kesikli kuvvet uygulaması, kuvvet miktarının değişmesi ve kuvvet-diş ilişkisinin açıklanmasındaki güvenilirliğin kaybolma ihtimali sebebiyle, sabit ve devamlı kuvvet uygulaması tavsiye edilmiştir (227,260). Ağız içerisinde yerleştirme kolaylığı, dayanıklığı (234) ve inflamasyon oluşturma ihtimalinin az olması (254) sebebiyle çalışmamızda sabit ve devamlı kuvvet uygulayan, 0,012 inç kalınlığında yuvarlak paslanmaz çelik telden 3 adet spiral yay içeren apareyler hazırlanmış ve ratların üst keser dişlerine yerleştirilmiştir.

Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen deneysel ortodontik diş hareketi çalışmalarında uygulanan kuvvet miktarı ile ilgili pek çok araştırma mevcuttur (164). Ratlar üzerinde gerçekleştirilen diş hareketi çalışmalarının %37'sinde 20-50 g, %12'sinde 50-100 g, %20'sinde 20 g'dan az ve %1'in de ise 100 g'dan büyük kuvvetler uygulanmıştır (234). Ancak, uygulanması gereken en uygun kuvvet miktarı hakkında net bir görüş birliği bulunmamaktadır. Çalışmamızda periodontal bölgelerde yoğun hiyalinize alanlar meydana getirmemek amacıyla en sık uygulanan kuvvet miktarlarından olan 35 g kuvvet uygulanmıştır ve deney süresince aparey aktivasyonu tekrarlanmamıştır. Çalışmamızda kuvvet uygulamadığımız kontrol grubu haricindeki tüm ratlarda kesici dişler arasında diestema görülmüştür ve 35 g kuvvet miktarı ratlarda ortodontik diş hareketi oluşturma açısından yeterli olmuştur.

Günümüzde obez ve aşırı kilolu bireylerin görülme sıklığındaki artışın nedenlerinde, yüksek enerjili gıdaların tüketilmesi ve günlük hareket miktarındaki azalma gösterilmektedir (261). Aşırı kilolu bireylerin diyetlerindeki fazla enerjiyi yağdan sağladıkları bildirilmiştir (262). Yapılan obezite araştırmalarında, obezitenin indüklenebilmesi amacıyla değişik diyet uygulamaları yapıldığı görülmektedir. Obezite ile ilgili hayvan çalışmalarında yem içeriklerine bakıldığında yüksek oranda hayvansal

yağ kullanımı görülse de, soya yağı, süt, fruktoz ve sukroz içerikli yemlerin de kullanımı belirtilmiştir (263–265). Ayrıca, kurabiye, şeker, peynir ve işlenmiş et seçenekleri olan kafeterya diyet uygulaması ile de çalışmalar yapılmıştır (266). Ancak, hayvanların her gün farklı gıdayı seçebileceği ve bu tip diyet uygulamasıyla doğru cevap alınamayacağı bildirilmiştir (267). Yüksek yağlı diyetin uygulandığı çalışmalarda farklı yağ yüzdelerinin kullanıldığı görülmektedir. Yan ve ark.(173) obezite indüklenmesi amacıyla 3 haftalık fareleri enerjinin %45'i yağdan olacak şekilde 5 hafta boyunca beslemişlerdir. Yüksek yağlı diyetle beslenme kaynaklı insulin direncinde oksidatif stres mediyatörlerinin incelendiği çalışmada da yine %45 oranında yüksek yağlı diyet kullanılmıştır (268).Yüksek yağlı diyet ile indüklenen obezitenin alveoler kemik remodelingine etkisinin değerlendirildiği güncel bir çalışmada 3 haftalık ratlar 8 hafta boyunca standart diyet içeriği %19,2 ham protein, %4,5 ham yağ, %2,7 ham lif ve %5,4 ham kül ve yüksek yağlı diyet ise %41 karbonhidrat, %24 protein, %24 yağ olacak şekilde beslenmiştir (172). Obezitenin ortodontik diş hareketi sırasındaki remodeling sürecine etkisinin incelendiği bir diğer güncel çalışmada kullanılan yüksek yağlı diyet yaklaşık 3820 kcal/kg olup, 100 gr diyet başına 20 gr protein, 20 gr toplam yağ, 48 gr karbonhidrat ve 4 gr lif içermektedir. Buna karşılık, standart diyet yaklaşık 2250 kcal/kg olup, 100 gr'da 22 gr protein, 48 gr karbonhidrat, 4 gr toplam yağ, 8 gr lif ve 200 mg sodyum içerdiği gözlemlenmiştir(164). Bir başka çalışmada ise 4 haftalık erkek farelerde 16 hafta boyunca enerjinin %20 si yağdan ve %10 u yağdan olacak şekilde 2 farklı diyet kullanılmıştır (221). Yüksek yağlı diyet ve aşırı kompresif mekanik kuvvetin temporomandibular eklemin patolojik değişiklikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada ise farelere %60 oranında yağ içeren bir diyet uygulanmıştır (269). Farelerde obezite ve yaşlanmanın krestal alveolar kemik yüksekliğine etkisinin incelendiği çalışmada yüksek yağlı diyetin yağ oranı %60 olup, protein oranı %19 ve karbonhidrat oranı %20'dir (270). Aynı çalışmadaki standart diyet içeriği ise %13 yağ, %20 protein ve %67 karbonhidrat şeklindedir. Çalışmamızda kullanılan yüksek yağlı diyet, bonkalit, mısır ve özellikle yüksek miktarda don yağı desteğiyle ham yağ içeriği %34 olacak şekilde, karbonhidrat %47 ve ham protein %19 şeklinde üretilmiştir. Çalışmamızda kullanılan yüksek yağlı diyetin metabolik enerjisi ise 4044 kcal/kg'dır.

Glutensiz diyet ve ortodontik diş hareketi üzerine literatürde bir çalışma olmasa bile, glutensiz diyetin etkileri üzerine yapılan çalışmalarda farklı şekillerde glutensiz diyet hazırlandığı görülmektedir. 4 haftalık 32 wistar rat üzerinde gerçekleştirilen çalışmada

glutensiz ekmekler laboratuvar koşullarında pişirilmiş, kurutulmuş ve toz haline getirilmiştir. Tüm deneysel glutensiz diyetler dl-Metionin, soya fasulyesi yağı, Ca içermeyen mineral karışımı ve vitamin karışımı ile desteklenmiştir (271). Glutensiz diyet ve ratlar üzerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada, glutensiz diyet kazeinden hazırlanmış (% 22) ve glutensiz un (%64), soya fasulyesi yağı (%2), selüloz tozu (%4), mineral karışımı (%6) ve tam vitamin karışımı (%2) kullanılmıştır (272). Glutensiz ekmeklerin rat serumundaki biyokimyasal parametrelere ve antioksidan durumu üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, glutensiz ekmekler pirinç unu, patates unu, mısır, nişasta, tuz, yaş maya, sakkaroz ve kolza yağından üretilmiştir. Ürünü zenginleştirmek için piyasada yaygın olarak bulunan süt tozu, haşhaş tohumu, ay çekirdeği, keten tohumu, kabak çekirdeği, yumurta sarısı, fındık, amarant vb. bileşenler kullanılmıştır (197). Obez olmayan diyabetik farelerde glutensiz bir diyetin erken uygulanmasının diyabetin yanı sıra insülit ve bağırsak mukozal lenfositlerinin insidansını etkileyip etkilemediği üzerine yapılan çalışmada glutensiz ve standart olmak üzere iki farklı diyet uygulanmıştır. Glutensiz ve standart diyetlerin toplam protein içeriği sırasıyla %22,7 ve %22,9 idi. Standart diyet %8,4 et hidrolizatından, %6,5 soya fasulyesi proteini, %1 süt proteini, %3,2 mısır nişastası, %2,5 buğday ve %1 yulaf proteinlerinden oluşuyordu. Glutensiz diyet hazırlanırken süt ve soya fasülyesi proteinlerini aynı oranda tutmak ve gluten içeren içerikleri benzer protein, yağ ve lif içeriği elde etmek amacıyla et proteini ile değiştirmişlerdir. Kalori değeri standart diyet için 3745,6 kcal/kg ve glutensiz diyet için 3308.5 kcal/kg idi. Çalışmamızda kullanılan standart diyetin metabolize enerjisi 3460 kcal/kg olup, karbonhidrat %60,4, ham protein %20 ve ham yağ %19,6'dır. Çalışmamızdaki glutensiz diyet hazırlanırken diğer çalışmalara benzer olarak kazein ve soya safülyesi kullanılmış, ayrıca yonca unu ve kepek gibi gluten içermeyen ham maddeler kullanılarak karbonhidrat %59, ham protein %22 ve ham yağ %19 olacak şekilde hazırlanmıştır ve glutensiz diyetin metabolize enerjisi 2983 kcal/kg'dir. Çalışmamızdaki yemlerin protein yüzdeleri diğer çalışmalardaki protein yüzdeleriyle benzerlik göstermektedir.

5.2. BULGULARIN TARTIŞILMASI

Çalışmamızda glutensiz beslenme ve yüksek yağlı beslenmenin ortodontik diş hareketi sırasında sıkışma ve gerilme alanlarında kemikte meydana gelen değişikliklerin incelenmesi planlanmış olup, deney grupları farklı yem içerikleri ile beslenmiştir.

Yemlerin kalori değerlerinin farklı olması hayvanların kilo artışlarında değişikliklere sebep olmuştur. Yapılan grup içi karşılaştırmalarda kontrol grubu ve SD grubundaki ratlar aynı yemle beslenmiş olmalarına rağmen kontrol grubundaki ratların beslenme başı, deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilirken, SD grubunda sadece deney başı ve deney sonu kilo değerlerinde, beslenme başına göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görülmüş, deney başı ve deney sonu dönemleri arasındaki hafif kilo artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Deney başı döneminde kontrol grubundan farklı olarak SD grubundaki ratların kesici dişlerine ortodontik kuvvet uygulanmıştır. Bu gruptaki ratların dişlerinde oluşan ağrıya bağlı olarak hayvanların beslenme miktarlarının azaldığı ve buna bağlı olarak, SD grubunda deney başı-deney sonu dönemlerinde anlamlı bir kilo artışı olmadığı düşünülmektedir. Benzer şeklide GD ve YYD gruplarının grup içi karşılaştırmalarında deney başı ve deney sonu dönemlerinde beslenme başına göre anlamlı kilo artışı bulunmuş ancak deney başı-deney sonu değerlendirmelerindeki kilo artışlarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Gruplar arasında beslenme başlangıç kilo değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken; deney başı kilo değerleri ve deney sonu kilo değerleri karşılaştırıldığında her iki dönemde de GD grubunun, YYD grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük kilo değerine sahip olduğu bulunmuştur. Gruplar arasında kilo değişim miktarları karşılaştırıldığında ise deney başı ve beslenme başlangıç kilo değerlerindeki değişim, glutensiz diyet grubunda yüksek yağlı diyet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Deney sonu ve beslenme başlangıç kilo değerlerindeki değişim miktarları karşılaştırıldığında da yine glutensiz diyet grubunun kilo değişim miktarları, kontrol ve yüksek yağlı diyet gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu durum çalışmamızda kullanılan glutensiz yemlerin en düşük (2983 kcal) ve yüksek yağlı yemlerin en yüksek (4044 kcal) metabolik enerji miktarına sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Deney süremiz 14 gün olduğu için deney başı ve deney sonu kilo değerlerindeki değişim miktarları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir .

Yüksek yağlı diyet uygulamasının yapıldığı deneysel çalışmalarda, yüksek yağlı yem ile beslenen gruplarda obezite indüklenmiş ve standart diyetle beslenen gruplara göre

beden kitle indeksleri daha yüksek bulunmuştur (164,273). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyet ve normal diyet ile beslenen hayvanların 5 haftalık beslenme sonucu kilo değerlerine bakıldığında obez farelerde vücut ağırlığının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (173). Çalışmamızda yüksek yağlı diyetle beslediğimiz hayvanların günlük aldığı kalori miktarının diğer gruplardan yüksek olması sonucunda bu grupta diğer çalışmalara benzer şekilde daha yüksek kilo değeri elde edilmiştir.

Son dönemde yapılan bir araştırmada 326 çölyak teşhisi konan ve ardından 15.7 ay glutensiz diyet uygulanan çocukların beden kitle indeksleri incelenmiş ve glutensiz diyetin ÇH'li çocuklarda beden kitle indeksini önemli ölçüde etkilemediği bildirilmiştir (274). 42 rat üzerinde gerçekleştirilen 14 günlük bir çalışmada, gluten içermeyen karabuğday ekmekleri haşhaş, karum, amarant, ayçiçeği ve balkabağı tohumları ve kuruyemişlerle zenginleştirilmiş ve vücut biyokimyasal parametreleri ve antioksidan durumu üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Kuruyemiş ve tohumlarla güçlendirilmiş ekmeklerin, yağ ve kalorisi düşük standart karabuğday ekmeklerine göre hayvanların vücut kitle indeksinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Bu durum kuruyemiş ve tohum eklenmesinin alınan kalori miktarını arttırdığını ve bu sebeple kilo artışına neden olabileceği bildirilmiştir (275). Fareler üzerinde yapılan çalışmada ise, 20 fare standart diyetle diğer 20 fare ise glutensiz diyet ile beslenmiş ve çalışma sonunda standart ve glutensiz beslenen hayvanlar arasında kilo alımı veya kan şekeri açısından önemli bir fark tespit edilmemiştir (196). Çalışmamızda ise önceki araştırmalardan farklı olarak glutensiz yemle beslenen gruptaki hayvanlar, daha düşük kalori alımı sebebiyle YYD ve SD grubuna göre daha az kilo almış ve en düşük kilo değerleri GD grubunda görülmüştür.

Çalışmamızda kontrol grubu dışındaki tüm ratların kesici dişlerine 14 gün ortodontik kuvvet uygulandıktan sonra dişlerin hareket miktarlarını tespit etmek amacıyla, kesici dişlerin meziyal kenarları arasındaki mesafe kumpasla ölçülerek gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır. Ortodontik kuvvet uygulanan tüm ratların kesici dişlerinde hareket görülmüş ancak bu hareket miktarları gruplar arasında fark göstermemiştir. Standart diyet, yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyet gruplarının diş hareket ortalamaları incelendiğinde yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyet gruplarının medyan değerlerinin (1,6 mm), standart diyet grubuna göre (1,2 mm) daha yüksek olduğu görülmüşse de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Diş hareketlerinin dağılımları incelendiğinde en fazla dağılımın YYD

grubunda olduğu, bunu sırasıyla GD ve SD gruplarının takip ettiği görülmüştür. Çalışmamızdaki denek sayıları çalışma başında kontrol grubunda 6 rat, SD, GD ve YYD gruplarında ise 8 rat olacak şekilde planlanmıştır. Ancak çalışma sırasında 2 rat anestezi sonrasında kaybedilmiş, SD ve YYD gruplarından birer rat azalmıştır. Deneysel diş hareketi sırasında da 1 hayvan doğum yapması nedeniyle çalışma dışı bırakılmış ve sakrifiye edilmemiştir. Toplamda 3 rat çalışma dışı kaldığı için gruplardaki rat sayıları eşit olamamış; kontrol grubunda 6, standart diyet grubunda 7, yüksek yağlı diyet grubunda 6 ve glutensiz diyet grubunda 8 olmak üzere toplam 27 hayvan ile çalışmamız tamamlanmıştır. Gruplar arasında diş hareket miktarlarının ortalama değerlerinde ve hareket miktarlarının dağılımında farklılıklar olmasına rağmen gruplardaki denek sayılarının az olması ve birbirlerine eşit olmaması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunamadığını düşünmekteyiz.

Jayachandran ve ark. (9) fazla kilolu bireyler ve normal kilolu bireylerin ortodontik diş hareket hızlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında fazla kilolu bireylerde diş hareket hızının azaldığını tespit etmişlerdir. Fazla kilolu veya obez bireylerde, artan yağ kütlesi, normal kilolu bireylerle karşılaştırıldığında kemik metabolizması üzerinde güçlü bir etkiye sahip olabilen serum leptin düzeylerinin artmasına neden olabileceğini ve bu bireylerde ortodontik diş hareket hızının azalabileceğini ifade etmişlerdir. Yine bizim bulgularımızın aksine obez farelerde gerçekleştirilen bir çalışmada yüksek serum leptin seviyesinin ortodontik diş hareketini yavaşlattığı ve osteoklast sayısının azaldığı görülmüş, leptinin osteoklastogenezi ve osteoklast fonksiyonel gen ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (173). Çalışmamızda gruplar arasında ortodontik diş hareket miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunamamış olsa da bu çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda daha fazla ortodontik diş hareketi olduğu tespit edilmiştir.

Luo ve ark.nın (172) yaptıkları çalışmada 64 rat standart ve yüksek yağlı diyet gruplarına ayrılarak 8 hafta boyunca beslenmiş ve sol üst birinci molar ve kesici diş arasına nikel-titanyum yaylar yerleştirerek ortodontik kuvvet uygulanmıştır. Standart diyet ve yüksek yağlı diyetle beslenen ratların sol üst birinci molar ve kesici dişleri arasına nikel-titanyum yaylar yerleştirilerek ortodontik kuvvet uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda YYD grubunda daha fazla ortodontik diş hareketi görülmüştür. Yüksek yağlı diyetle indüklenen obezitenin alveolar kemik remodelingini arttırdığı ve bu durumun

daha hızlı diş hareketine yol açtığını bildirilmiştir. Bu çalışma ile benzer olarak Marcantonio ve ark.nın (164) 32 rat üzerinde yaptıkları araştırmada obezite grubundaki ratlarda kemik hacim fraksiyonunda ve kemik mineral yoğunluğunda azalma tespit edilmiş ve standart diyetle beslenen gruplara göre daha hızlı diş hareketi görülmüştür. Bizim çalışmamızda da YYD grubunda SD grubuna göre daha hızlı diş hareketi tespit edilmişse de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Marcantonio ve ark.nın yaptıkları çalışmada obezite indüksiyonu, ratların vücut ağırlığı, adipoz hücre miktarı ve serolojik analiz ile doğrulanmıştır. Bizim çalışmamızda serolojik analiz yapılmamış olmasına rağmen, YYD grubundaki ratlarda diğer gruplara göre kilo artışı daha fazla olmuş ancak bu artış sadece GD grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Marcantonio ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada ratlar 90 gün boyunca yüksek yağlı diyetle beslenirken, çalışmamızda bu süre 10 hafta (70 gün) olarak planlanmıştır. Bizim çalışmamızda da deney öncesi beslenme süresi daha uzun tutulmuş ve grupların kilo değerleri arasındaki farklar daha belirgin olmuş olsaydı, diş hareketleri arasındaki farkların anlamlı çıkabileceğini düşünmekteyiz.

Saloom ve ark. (11) obez ve normal kilolu olan 55 hastayı sabit ortodontik tedavi başlangıcından diş hizalamasının tamamlanmasına kadar takip etmiştir. Diş diziliminin tamamlanması için geçen süre, diş hareket hızı ve klinik parametrelerdeki değişiklikleri (plak/diş eti indeksleri, uyarılmamış tüm ağız tükürük akış hızı, diş eti oluğu sıvısı biyobelirteçleri) değerlendirilmiştir. Tedavi başlangıcı, sabit ortodontik tedavi başladıktan 1 saat ve 1 hafta sonrası ve hizalamanın tamamlanmasından sonra olacak şekilde veriler toplanmıştır. Çalışma sonucuna göre diş dizilimini sağlamak için geçen sürede gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bununla birlikte, 1 haftada, obez grupta ilk diş yer değiştirmesinin önemli ölçüde arttığı ve obez hastalarda, hizalama süresi boyunca normal kilolu hastalara kıyasla daha yüksek diş hareketi oranı tespit edilmiştir. Obezite varlığında periodontal dokuların ortodontik kuvvete tepkisindeki farklılıkların kısa ve uzun vadeli klinik etkileri olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışma ile benzer olarak Bonato ve ark. nın (170) obez ergenlerde ortodontik tedavi sırasındaki diş hareketini, orofasiyal ağrıyı ve dişeti oluğu sıvısındaki leptin, IL-1β ve TNF-α sitokin düzeylerini değerlendirdikleri çalışmada; obez bireylerin ortodontik tedavi öncesinde ve sırasında daha yüksek bir IL-1β konsantrasyonuna sahip olduğu, ortodontik tedavinin ilk haftasında obez ve kontrol hastaları arasında diş hareketi miktarlarında ise bir fark görülmediği bildirilmiştir. Tedavi süresinde anlamlı bir fark bulamamalarına rağmen araştırmacılar,

obez hastaların daha hızlı diş hareketi eğilimi gösterdiklerini belirtmişlerdir. Bulgularımız bu çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda da erken dönem diş hareketi değerlendirilmiş olup, gruplar arası diş hareketi miktarlarında ortalamalar baz alındığında YYD grubunda diş hareketi hızında artış olsa da, anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Literatürde yüksek yağlı beslenen ve obez bireylerin ortodontik diş hareket hızında görüş ayrılıkları bulunmaktadır, bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda hematoksilen&ezoin boyaması ile kemik yapım (apozisyon) alanında gerçekleştirilen histolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubunda kemik matriksin periodontal ligamente yakın alanlarında yeni kemikleşme bölgeleri gözlenmiş ve periodontal ligament-sementum hattının devamlı olduğu görülmüştür. SD, YYD ve GD gruplarının yapım alanları kemikleşme ve periodontal ligament-sementum hattı açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında SD ve YYD gruplarının kontrole benzer olduğu ancak GD grubunda kemik matriks yüzeyinde osteoblastik aktivitenin arttığı görülmüştür. Bu bulgumuz ortodontik kuvvet uygulanmasını takiben yapım alanında oluşan kemikleşmenin glutensiz beslenen ratlarda yüksek yağlı diyetle ve standart diyetle beslenen ratlara göre daha hızlı olduğunu göstermektedir. Yaptığımız literatür araştırmasında ortodontik diş hareketi ve glutensiz beslenme üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olmamakla birlikte, glutensiz beslenmenin kemik yapım belirteçlerini olumlu yönde etkilediğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Çölyak hastalığı olan 22 kız hastanın kemik metabolizması ve kemik kütlesi değerlerinin 428 sağlıklı çocukla karşılaştırıldığı bir araştırmada, kemiğe özgü alkalin fosfataz (bir kemik oluşum indeksi) ve tip I kollajenin N-terminal telopeptidi (NTx; bir kemik rezorpsiyon belirteci) tanı anında ve glutensiz beslenmenin 2, 6 ve 12. ayından sonra ölçülmüştür. Kemik mineral içeriği lomber omurgada ve tüm iskelet için ölçülmüştür. Hastaların kemik mineral içeriği, teşhis sırasında kontrol deneklerinden önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Hastaların alkalin fosfataz konsantrasyonları, tanı anında kontrol deneklerinden önemli ölçüde düşük bulunmuş ve glutensiz beslenme sırasında kademeli olarak önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bunun tersine, tedavi edilmemiş çölyak hastalığı olan çocuklarda, sağlıklı kontrol deneklerinden önemli ölçüde daha yüksek idrar NTx konsantrasyonları görülmüş, ancak glutensiz diyet sonrasında NTx'in idrar konsantrasyonlarında önemli ölçüde değişiklik olmamıştır (209).

Çölyak hastalığı olan 32 hasta ve 82 sağlıklı kontrol grubu üzerinde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada çölyak hastalığı olan yeni tanı konmuş 16 hasta ve diyetini sıkı bir şekilde uygulayan 16 hasta olmak üzere 2 gruba ayrılmışlardır. Çölyak hastalarında çalışma başlangıcında ve 12. ayda kemik mineral yoğunluğu ve kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz ve intakt paratiroid hormonunun konsantrasyonları belirlenmiş ve bu değerler sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Yeni tanı konan hastalarda kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriği kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yeni tanı konan hastalarda 1 yıllık glutensiz diyet sonrası kemik mineral yoğunluklukları anlamlı olarak artmıştır. Osteopeni, yeni tanı alan hastalarda, glutensiz diyet uygulayan hastalara göre daha fazla görülmüştür. Yeni tanı konan hastaların ortalama kalsiyum düzeyleri diyetini sıkı bir şekilde uygulayan hastalara göre daha düşük bulunmuştur. Kalsiyum düzeyi ile kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriği arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Çocukluk çağında yeni tanı konmuş çölyak hastalarında kemik mineral yoğunluğunun hemen hemen her zaman düşük olduğu ve kemik mineral yoğunluğunun çölyak hastalığı olan hastalarda mutlaka değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (210).

Güncel bir çalışmada 46 hastaya glutensiz diyete başlamadan önce alansal kemik mineral yoğunluğu ölçümü yapılmış ve veriler tedavi başlangıcı ve altıncı ayında karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları çölyak hastalığı olan çocuklarda tanı anında düşük kemik mineral yoğunluğunun yaygın olduğunu ve sıkı bir glutensiz diyet ve yeterli kalsiyum ve D vitamini takviyesi ile altı ay gibi kısa bir sürede kemik mineral yoğunluğunun düzelebileceğini göstermiştir (276). Çalışmamızda glutensiz beslenen gruptaki ratlarda kemik yapım alanında osteoblastik aktivitenin artması, bu çalışmaların sonuçları ile benzer olarak glutensiz beslenmenin kemik üzerindeki olumlu etkilerini doğrular niteliktedir.

Çalışmamızda hematoksilen&ezoin boyaması ile kemik yıkım (rezorpsiyon) alanında gerçekleştirilen histolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubunda kemik matriks yüzeyinde az sayıda osteoklast olduğu tespit edilmiştir. SD grubunda yıkım alanında ince bir kemikleşme bölgesi görülmekle birlikte kemikleşmenin aynı grubun yapım alanına göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca periodontal ligament-sementum hattında yer yer ayrılmalar dikkat çekmektedir. Kontrol ve SD grupları arasında periodontal ligament-sementum ayrılması ve yeni kemikleşme alanları açısından

farklar mevcuttur. Periodontal ligament-sementum ayrılması ve yeni kemikleşme alanları SD grubunda kontrole oranla belirgin ve geniş olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna ortodontik kuvvet uygulanmayışından ötürü, SD grubunda görülen periodontal ligament-sementum ayrılmasının kontrol grubunda görülmemesi beklenen bir durumdur. YYD grubu yıkım alanında yeni kemikleşme bölgesi seçilememiş, kemik matriks yüzeyinde osteoklastlara rastlanmıştır. Periodontal ligament-sementum hattında ise oldukça belirgin bir ayrılma dikkati çekmiştir. Bu ayrılmanın inflamasyon ve ödemden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Marcantonio ve ark. (164), 32 rat üzerinde yaptıkları araştırmada denekleri kontrol grubu, obezite grubu, ortodontik diş hareketi ve obezite grubu, yalnızca ortodontik diş hareketi hareketi grubu olacak şekilde 4 gruba ayırmışlar ve hayvanların molar ve santral dişleri arasına yerleştirdikleri açık sarmal tel aracılığı ile ortodontik kuvvet uygulamışlardır. Çalışmanın sonunda molar dişlerin interproksimal alanındaki lineer alveolar kemik kaybını histometrik olarak ölçmüşler ve ortodontik kuvvet uygulanan obez ratlarda, kuvvet uygulanmayan obez gruba göre daha fazla kemik kaybı tespit etmişlerdir. Sterometrik analize göre de ortodontik kuvvet uygulanan obez hayvanlarda, standart diyetle beslenen kontrol grubuna göre daha fazla sayıda enflamatuar hücre ve alveoler kemik kaybı olduğu tespit edilmiştir. Luo ve ark (172) da 64 rat üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada yüksek yağlı diyet grubunun hem yapım hem yıkım tarafında önemli alveolar kemik kaybı ve kemik yapısında bozulma tespit etmişlerdir. Bu durum, artan osteoklast sayıları ve fonksiyonel aktiviteye, ayrıca periodontal ligament, dişeti dokusu ve alveolar kemikte azalmış olan osteoblast aktivitesine bağlanmıştır. Çalışmamızda yüksek yağlı yemle beslenen ratlarda yıkım alanında osteoklastların varlığı ve yeni kemikleşme bölgesinin seçilememiş olması, yüksek yağlı beslenen grupta ortodontik diş hareketi sonrasında alveolar kemik yıkımının daha şiddetli olduğunu göstermektedir. Bulgularımız bu çalışmalarla uyum içerisindedir. Ancak, bizim sonuçlarımızla çelişkili olarak Yan ve ark. (173) obez farelerde, yüksek serum leptin seviyesinin osteoklast sayısını ve ortodontik diş hareketini azalttığını bildirmişler, leptinin osteoklastogenezi ve osteoklast fonksiyonel gen ekspresyonunu inhibe ettiği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda hematoksilen&ezoin boyaması ile gerçekleştirilen histolojik incelemeler sonucunda, GD grubunda kemik yıkım (rezorpsiyon) bölgesinde, kemik matriks yüzeyinde osteoblast ve osteoklastların varlığı dikkat çekmiş, kemik matrikste ince bir kemikleşme alanı görülmüştür. Yıkım bölgesindeki kemikleşmenin, yapım bölgesine oranla daha dar olduğu tespit edilmiştir. Yıkım alanında ince bir kemikleşme alanının izlenmiş olması, GD grubunda yıkım alanında yeni matriks yapımının başladığını göstermektedir ve fizyolojik kemik remodelinginin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. SD ve YYD gruplarında yıkım alanlarında görülen periodontal ligament-sementum hattındaki ayrılmaların GD grubunda tamamen kapandığı izlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları glutensiz beslenen çölyak hastaları ile glutensiz diyet uygulamayan çölyak hastalarının osteoklastik aktivitelerinin karşılaştırıldığı klinik bir araştırmanın sonuçları ile uyumludur (277). Bu çalışmanın sonuçları glutensiz beslenmeyen hastalarda osteoklastik aktivitenin arttığını, glutensiz beslenenlerde ise osteoklastik aktivitenin daha az olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda da glutensiz diyetle beslenen ratlarda, osteoklastik aktivitenin azalması sonucunda yıkım alanında kemik matrikste ince bir kemikleşme alanı oluşmuş ve diğer gruplara göre daha hızlı gerçekleşen kemik remodellingi sonucunda SD ve YYD gruplarında periodontal ligament-sementum hattında görülen ayrılmalar bu grupta izlenmemiştir.

Çalışmamızda kemik yapım (apozisyon) ve kemik yıkım (rezorbsiyon) alanlarındaki hücresel aktiviteyi değerlendirmek için anti-BMP2, anti-OPN, anti-OPG ve anti-RANKL immünohistokimyasal işaretlemeleri yapılmıştır. BMP-2'nin osteoblastların proliferasyonu, farklılaşması ve kemik matriks sekresyonunu kontrol etmede kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (154). Bu protein kemik dokuların yeniden şekillenmesinde oldukça önemlidir. Gerilim kuvvetleri altındaki insan PDL hücre kültüründe yapılan çalışmada BMP-2 ve BMP-6 eskpresyonunun arttığını ve ortodontik diş hareketi sırasında yapım bölgesinde BMP-2 nin önemli rolü olduğu belirtilmiştir (278,121). BMP'lerin osteojenik proteinlerin ekspresyonunu başlattığı, sement de dahil olmak üzere kemik ve periodontal dokuların rejenerasyonunu uyardığı ve periodontal rejenerasyonun BMP-2 tarafından yönlendirildiği gösterilmiştir (279). BMP-2 çok işlevli bir büyüme faktörü olup birçok hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozunu stimüle ederek dokuların yenilenmesi ve onarımında görev almaktadır. Kemik dokuların remodelinginde önemli role sahiptir (280). Ayrıca mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını ve osteoblast proliferasyonunu uyararak kıkırdak ve kemik

oluşumunu arttırır. Bununla birlikte BMP-2, osteoklastların farklılaşmasını ve maturasyonunu engelleyen OPG sentezi ve sekresyonunu stimüle eder. Literatürde BMP-2'nin, intramembranöz ossifikasyon ile kemik oluşumunu indüklediği bildirilmiştir (281).

Çalışmamızda kemik yapım tarafındaki anti-BMP2 düzeyleri GD grubunda diğer tüm gruplara göre yüksek bulunmuştur. YYD grubu anti-BMP2 oranının SD grubundan yüksek olduğu görülmüştür. SD ve YYD gruplarındaki artışın kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Kemik yıkım tarafında ise SD, YYD ve GD gruplarının anti-BMP2 oranları kontrol grubuna göre, GD grubunun oranları SD ve YYD gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. SD ve YYD grupları arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiş olmasına rağmen YYD grubunda anti-BMP2 düzeyinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmamızın sonuçları ortodontik kuvvet uygulanan ratlarda hem apozisyon hem rezorbsiyon tarafında BMP2 oranının belli oranlarda arttığını göstermiştir. Bu durum ortodontik diş hareketine bağlı olarak gerçekleşen kemik remodeling döngüsüne bağlıdır. Bu bulgumuzla BMP2'nin kemik dokuların remodelinginde önemli bir role sahip olduğunu bildiren Han ve He'nin (280) bulguları ile uyumludur. Ayrıca çalışmamızda BMP2 artış oranlarının diyet içeriğine göre değiştiği tespit edilmiş, hem yapım hem yıkım tarafında en fazla anti-BMP2 oranları glutensiz diyetle beslenen ratlarda görülmüş, bunu sırasıyla YYD ve SD grupları izlemiştir. YYD grubunda her ne kadar inflamasyon artışına bağlı olarak matriks sentezinde azalma olsa da SD grubuna oranla hücresel olarak BMP-2 açısından daha aktif olduğu görülmüştür. En yaygın ve şiddetli immünopozitiflik gösteren grup ise GD grubu olmuştur. Glutensiz beslenme grubunda gerek kemik matriks artışı, gerekse BMP-2 reaksiyonu göz önüne alındığında; kemik remodellingi açısından en aktif grubun GD grubu olduğu söylenebilir. Nitekim, çok sayıda araştırmada BMP-2'nin periodontal rejenerasyona aracılık ettiği ve osteojenik proteinlerin ekspresyonunu indüklediği ve sement dahil kemik ve periodontal dokuların rejenerasyonunu desteklediği gösterilmiştir (155–157). GD grubunda BMP-2 seviyesinin diğer gruplardan hem yapım hem yıkım tarafında daha fazla olması glutensiz beslenmenin kemik mineralizasyonuna olan olumlu etkisini doğrular niteliktedir ve glutensiz beslenmenin kemik metabolizması üzerindeki olumlu etkilerinin gösterildiği araştırmalarla uyumludur (209,215,216).

Yüksek yağlı diyet ile ilgili yapılan deneysel bir çalışmada, yüksek yağlı beslenmenin kemik ALP, BMP-2 ve osteokalsin seviyelerinde azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek yağlı beslenme sonucunda bozulmuş kemik mikromimarisi, düşük kemik mineral yoğunluğu ve değişmiş kemik döngüsü tespit edilmiştir (282). Çalışmamızda yüksek yağlı beslenen ratların BMP-2 seviyesi glutensiz beslenen ratlara göre düşük bulunmuştur. Histolojik olarak bakıldığında yüksek yağlı diyet grubunda periodontal ligament-sementum ayrılmaları ve yıkımlar daha şiddetlidir. Glutensiz beslenen grupta ise daha sağlıklı kemik dokusu görülmektedir. Bu açıdan bakıldığında yüksek yağlı diyetin BMP-2 seviyesini sağlıklı kemik dokusuna sahip glutensiz beslenen ratlara göre azalttığı söylenebilir. Han ve Hu (280) ortodontik diş hareketini hızlandırmada piezocerrahinin etkilerini ve BMP-2'nin ekspresyon mekanizmasını inceledikleri çalışmada, deney grubunda kontrol grubuna kıyasla hem BMP-2 ekpresyonunun arttığını hem de ortodontik diş hareketinin hızlandığını, diş hareketindeki bu hızlanmanın da artmış BMP-2 seviyesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise BMP-2 düzeyi en çok glutensiz beslenen grupta görülmüş, ardından yüksek yağlı diyet grubu gelmiştir. Ortodontik diş hareketi uygulanan tüm grupların BMP-2 seviyesi kontrole göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak diş hareket miktarı açısından glutensiz beslenen ve yüksek yağlı beslenen ratların hareket hızları benzer iken, BMP-2 seviyesi daha düşük olan standart diyet grubunda diş hareket miktarı GD ve YYD gruplarına göre istatiksel olarak anlamlı olmasa da daha az bulunmuştur.

Çalışmamızda kemik yapım tarafındaki anti-OPN düzeyleri GD grubunda diğer tüm gruplara göre yüksek bulunmuştur, benzer şekilde YYD grubu anti-OPN oranının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür, SD ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Kemik yıkım tarafında ise SD, YYD ve GD gruplarının anti-OPN oranları kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, yıkım tarafında beslenme farkından kaynaklanan bir fark tespit edilememiştir. OPN'nin kemik yapım ve yıkımında önemli bir rol oynadığı (138), ortodontik diş hareketi sırasında gerilim ve sıkışma görülen taraflarda sinyal yolları ve periodonsiyum cevap farklılığı olduğu ve OPN'nin kemiğin yeniden şekillenmesinde her iki tarafta da eksprese edildiği gösterilmiştir (137). Apozisyon bölgelerinde YYD ve GD gruplarında kemik matriks üzerinde osteoblastların ve az da olsa osteositlerin immünopozitiflik göstermesi diyetteki değişikliklerin kemik yapımını etkilediğini göstermektedir. Morfolojik olarak kemik yapımının yüksek olduğu glutensiz beslenen

grupta osteoblast ve osteositlerin daha yaygın olması, diğer gruplara göre BMP2 ve OPN immünoreaktivitesinin daha yüksek olması, GD grubunda kemik yapım-yıkım döngüsünün optimum sınırlar içinde olduğunun ve kemik remodellinginin daha fazla olduğunun bir göstergesidir. Çalışmamızda kemik yapım bölgesinde, hem BMP2 hem de OPN düzeylerinin en yüksek immünoreaktiviteyi GD grubunda göstermesi, birbirini destekler nitelikte olup; bu alanda kemik remodellinginin glutensiz beslenme ile arttığının bir göstergesidir. OPN'nin kemik remodelingindeki önemini de ortaya koymaktadır. Yıkım alanlarında da ortodontik kuvvet uygulanan SD, YYD ve GD gruplarında kontrole göre daha yüksek anti-OPN immunreaktivitesi görülmüştür. Bu bulgumuz OPN'nin ortodontik diş hareketi sırasında kemiğin yeniden şekillenmesine bağlı olarak hem rezorpsiyon hem de apozisyon bölgelerinden eksprese edildiğini belirten Kim ve ark.'nın (137) sonuçları ile uyumludur. Ancak çalışmamızda yıkım alanında SD, YYD ve GD grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bu bulgular yıkım alanında OPN düzeyindeki artışın ortodontik kuvvet ve diş hareketi ile ilişkili olduğunun, yıkım tarafında beslenme farkından kaynaklanan bir değişiklik olmadığının göstergesidir. Glutensiz beslenme apozisyon bölgesinde kemik remodellingini arttırıken, rezorpsiyon bölgesinde kemik remodellingi yüksek yağlı diyetle beslenen ve standart diyetle beslenen ratlar ile aynı seviyede kalmıştır.

Literatürde OPN'nin kemik metabolizması üzerindeki etkilerini ve rolünün tespit etmek için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Walker ve ark. (142) tarafından yapılan bir hayvan çalışmasında OPN eksikliği olan farelerde distal sürüklenme hareketi olmadığı gösterilmiştir. Fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada da OPN eksikliğinin kemiğin yeniden şekillenmesini bozduğu tespit edilmiştir (141). Çalışmamızda ortodontik aparey uygulanan grupların hepsinde OPN seviyesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ve bu grupların hepsinde diş hareketiyle beraber kemik remodelingi gerçekleşmiştir. Bu durum, OPN eksikliği olan ve diş hareketi gerçekleşmeyen deneysel çalışmaları destekler niteliktedir.

Farelerin sagital suturu üzerine ortodontik yaylar ile ekspansif kuvvet uygulanan bir başka çalışmada, sagital sutur içindeki parietal kemiklerin kenarlarında kemik oluşumu olduğu ve bu alanlarda OPN varlığı tespit edilmiştir. Gerilme stresine maruz kalan sutur içindeki osteoblastlar da yüksek seviyelerde OPN protein ekspresyonu bildirilmiştir. OPN'nin işlevini anlamak için, OPN geni çıkartılan farelerde ise gerilme

stresine karşı sutural kemik oluşumunun azaldığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, kemik oluşumu sırasında OPN ekspresyonunun arttığını ve OPN'nin mekanik stres altında kemik oluşumu için olumlu faktörlerden biri olduğunu bildirmişlerdir (283). Çalışmamızda gerilim stresinin gerçekleştiği yapım tarafında en şiddetli OPN immunreaktivitesi glutensiz beslenen grupta görülmüştür. Bu çalışmayla paralel olarak, OPN'nin kemik yapımı ve gerilim streslerinde önemli bir belirteç olduğu söylenebilir. Aynı zamanda, OPN'nin aşırı kemik mineralizasyonu engellemek ve kemik remodelinginin optimum sınırlar içerisinde kalması adına diş hareketine bağlı gerilim alanlarında arttığı da söylenebilir. OPN'nin kemik remodelingi üzerindeki kesin etkisini aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kemik yapım tarafındaki anti-OPG düzeyleri kontrol grubunda diğer gruplara oranla yüksek bulunmuştur. Kemik yıkım tarafında ise YYD grubunun anti-OPG oranları diğer gruplara göre düşük bulunmuştur. OPG'nin kemik hücreleri üzerindeki biyolojik etkileri arasında osteoklast farklılaşmasının terminal aşamalarının inhibisyonu, matriks osteoklastlarının aktivasyonunun baskılanması ve apoptozun indüksiyonu yer alır. Anti-OPG kemik rezorbsiyonunun inhibisyonunu gösteren bir antikordur. Yapım alanında bu faktörün yüksek oranda bulunması ilgili bölgede kemik yıkımının az olduğunu göstermektedir. Klinik çalışmalarda ortodontik kuvvet uygulamasından 1 saat sonra sıkışma tarafında (rezorbsiyon alanı) gingival oluk sıvısındaki OPG konsantrasyonunun azaldığı (96) ve 24 saat sonra kontralateral taraftakinden daha düşük hale geldiği gösterilmiştir (97). Birçok çalışmada OPG ekspresyonunun ortodontik diş hareketi sırasında basınç kuvveti ile rezorpsiyon alanında azaldığı, gerilme kuvveti ile apozisyon alanında arttığı gösterilmiştir (90,91,93,98). Çalışmamızda da bu çalışmalarla uyumlu olarak yapım alanında OPG düzeyleri yüksek, yıkım tarafında ise düşük bulunmuştur.

Lokal OPG uygulamasının kemiğin yeniden şekillenmesini ve ortodontik diş hareketini önemli ölçüde engellediği bildiren araştırmalar mevcuttur (94,99). Çalışmamızda kemik apozisyon bölgesindeki OPG seviyesinin kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olması, bu gruptaki ratlara herhangi bir ortodontik kuvvet uygulanmaması ve bu gruptaki hayvanların dişlerinde ortodontik hareket olmamasından kaynaklanmaktadır. Ortodontik kuvvet uygulanan gruplarda kemik yapım bölgesindeki OPG düzeylerinin kontrole göre azalmış olması, diş

hareketine bağlı olarak gerçekleşen kemik remodelinginin bir sonucudur. Çalışmamızda GD, SD ve YYD grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamamış olmasına rağmen GD grubunda kemik yapım alanında OPG düzeyinin daha yüksek olması, glutensiz beslenen grupta kemik yıkımının daha az olduğunu göstermekte ve glutensiz beslenme ile kemik remodelinginin daha hızlı olabileceği yönünde bir kanı oluşturmaktadır.

Anti-OPG immünoişaretlemesi açısından kemik yıkım alanları incelendiğinde YYD grubunda reaksiyon şiddetinin diğer gruplara göre daha az olduğu görülmüştür. YYD grubundaki azalmış ve lokal alana sıkışmış OPG reaksiyonu, yüksek yağlı diyetle beslenmenin diş hareketine bağlı kemik matriks mineralizasyonunu daha hızlı azalttığını yani kemik rezorbsiyonunun daha fazla olduğunu göstermektedir. GD grubunda OPG immünoreaktivitesi kontrole benzer bulunmuş, istatistiksel olarak anlamlı çıkmamış olmasına rağmen SD ve YYD gruplarına göre artmıştır. Bu bulgumuz glutensiz beslenmenin, ortodontik diş hareketi sırasında sıkışma tarafında kemik matriksin korunmasında etkili olacağı yani kemik rezorbsiyonunun daha az olacağı yönünde bir kanı oluşturmaktadır.

Kemiğin yeniden şekillenmesi, RANK-RANKL bağlanması ve OPG üretimi arasındaki bir denge ile kontrol edilir (84,111). Osteoblastik hücreler tarafından üretilen OPG, bir tuzak reseptördür ve RANKL bağlanması için RANK ile rekabet eder. Çalışmamızda kemik yapım ve yıkım tarafındaki anti-RANKL düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Anti-RANKL immünoişaretlemesi açısından hem yapım hem yıkım tarafında tüm gruplarda benzer şekilde orta şiddette ve yaygın immünopozitiflik tespit edilmiş olmasına rağmen, GD grubunda diğer gruplardan farklı olarak sınırlı alanda kalmıştır. GD grubunun yıkım alanında RANKL ekspresyonu kemik matriks komşuluğundaki osteoblastik hücre sınırında ve sınırlı bir alanda görülmüştür. OPG ekspresyonunun bu grupta yer yer de olsa şiddetli olması, yıkım alanında OPG ekspresyonunun RANKL'a oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durum GD grubunun rezorpsiyon alanında, kemik yıkımının SD ve YYD gruplarına göre azaldığını göstermektedir.

Kırk sekiz rat üzerinde yapılan bir çalışmada 24 hayvan yüksek yağlı yemle, 24 hayvan ise standart yemle beslenmiş, 30 gün boyunca deneysel periodontitis indüksiyonu yapılmış, tartrata dirençli asit fosfataz (TRAP), RANKL ve OPG düzeyleri değerlendirilmiştir. İnflamasyonun yüksek yağlı beslenen grupta daha yaygın olduğu

tespit edilmiş ve bu grupta daha fazla kemik kaybı görülmüştür. OPG immunboyanma her iki grupta da düşük olmuştur (284). Bu çalışma bulgularıyla paralel olarak çalışmamızda rezorpsiyon alanlarında yüksek yağlı diyetle beslenen grupta daha düşük OPG immunboyaması görülmüştür. Aynı çalışmada yüksek yağlı beslenen grupta daha çok RANKL immunboyanma tespit edilirken, standart diyetle beslenen grupta orta derecede immunboyanma görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise RANKL immunboyanması açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir.

Bir başka çalışmada ise 20 adet sütten yeni kesilmiş Wistar sıçan eşit olarak iki gruba ayrılarak standart ve yüksek yağlı diyet ile beslenmiştir. 5 haftalık diyet uygulamasından sonra kandaki OPG ve tümör nekroz faktörü ligand süper aile üyesi 11 (TNFSF11/RANKL), PPAR-y Runx-2, RANKL ve Cathepsin-K'nin gen ekspresyonları değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda osteoblastların ve osteoklastların farklılaşmasıyla ilgili gen ifadelerinde ve kemik apozisyonu ve kemik rezorpsiyonu belirteçlerinde hiçbir değişiklik olmamıştır (285). Çalışmamızda ise kemik apozisyon belirteçlerinden olan OPG, yüksek yağlı diyetle beslenen grubun yıkım bölgesinde diğer gruplara göre daha az görülmüştür. Kemik rezorpsiyon belirteçlerinden olan RANKL açısından ise gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir.

Kemik yıkımında RANKL/OPG oranın önemli bir faktör olduğu ve ortodontik tedavi sırasında, rezorpsiyon tarafında RANKL ekspresyonunun arttığı, diş hareketine bağlı yıkım-yapım sürecinde bile RANKL/OPG sisteminin aktif olduğu gösterilmiştir (88). Artmış RANKL/OPG oranı kemik yıkım/yapım oranının arttığını ve diş hareketinin daha hızlı gerçekleştiğini gösterir (95). Glutensiz diyetle beslenen ÇH'li 32 premenopozal ve aynı yaştaki otuz sağlıklı kadında OPG, RANKL, kemik mineral yoğunluğu ve kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçlerinin incelendiği çalışmada RANKL/OPG oranı glutensiz beslenen hastalarda daha yüksek bulunmuştur (202). Bizim çalışmamızda RANKL açısından gruplar arasında fark bulunmamış, OPG açısından ise en düşük grubun YYD, en yüksek grubun ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte GD olduğu görülmüştür. Gruplarımız arasında RANKL düzeyi benzer olduğu için OPG yoğunlukları referans alınarak RANKL/OPG oranına baktığımızda yüksek yağlı beslenen ratlarda kemik remodelinginin kemik yıkımı lehine, glutensiz beslenenlerde ise kemik yapımı lehine olduğu söylenebilir.

Bir diğer klinik çalışmada ise, 2 yıldır glutensiz diyetle beslenen ve çölyak hastalığı stabil durumda olan grup ile yeni tanı alan ve glutensiz diyete başlamayan hastalarda gerçekleştirilen araştırmada, glutensiz diyet yapmayan hastalarda RANKL/OPG oranı yüksek bulunmuştur. OPG düzeyleri ise glutensiz diyetle beslenmeyen çölyak hastalarında daha düşük bulunmuştur. Glutensiz beslenen hastalardan alınan serumların osteoklastojenik aktivitesi, çölyak hastalığından etkilenen ancak glutensiz diyet ile tedavi edilmeyen bireylere göre daha düşük bulunmuştur (277). Bu çalışma bulgularıyla paralel olarak, çalışmamızda glutensiz beslenen ratlarda RANKL/OPG oranı istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte SD ve YYD gruplarına göre daha düşük bulunmuş, osteoklastik aktivitenin bu grupta daha az olduğu kanısına varılmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, glutensiz beslenmenin ve yüksek yağlı beslenmenin ortodontik diş hareketi esnasında kemik metabolizması ve diş hareket hızına etkilerinin hem deneysel hem klinik çalışmalarla daha kapsamlı olarak araştırılmasına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Standart diyet, yüksek yağlı diyet ve glutensiz diyetle beslenen ratlarda, ortodontik diş hareketi ile ortaya çıkan kemik yapım-yıkım dengesi histolojik açıdan farklılıklar göstermektedir.
2. Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda artan osteoklast sayıları ve kemik mikro yapısındaki değişiklikler ortodontik diş hareketinin daha hızlı olmasına sebep olabilir. Ancak kemik mikro yapısındaki değişiklikler ve kemik remodelinginin sağlıklı sınırlar içerisinde gerçekleşememesi ortodontik tedavi sonunda relaps görülme ihtimalini arttırabilir, bu nedenle pekiştirme döneminin daha uzun tutulması gerekebilir.
3. Glutensiz beslenmenin kemik metabolizması üzerine olan olumlu etkileri çalışmamız tarafından da doğrulanmıştır. Glutensiz beslenen ve ortodontik diş hareketi uygulanan ratlarda daha yavaş diş hareketinin gerçekleşebileceği ön görülse de, kemik remodelinginin kontrollü ve hücresel düzeyde sağlıklı ilerleyişi ortodontik tedavi sonrası relaps olasılığını düşürebilir. Bu açıdan, glutensiz beslenme ortodontik tedavi sonuçlarının daha stabil olmasını sağlayabilir.
4. Araştırmamıza dahil edilen rat sayılarının sınırlı olması ve çalışma sırasında 2 ratın ölmesi ve 1 ratın doğum yapması sebebiyle çalışma dışı bırakılması sebebiyle gruplardaki hayvan sayılarımız azalmıştır. Bu nedenle bazı verilerimizin gruplar arasında farklılık göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı çıkmadığı kanısındayız. İlerleyen çalışmalarda gruplardaki hayvan sayıları arttırılarak daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.
5. Çalışmamız glutensiz beslenme açısından ortodonti alanındaki ilk çalışmadır. Bu konunun hem deneysel hem klinik çalışmalarla daha detaylı araştırılması gerekmektedir.
6. Yüksek yağlı diyetle beslediğimiz hayvanlardaki kilo artışının diğer gruplara göre daha fazla olması sebebiyle obezitenin indüklenmiş olduğunu düşünsek de, obezitenin serolojik testler ile doğrulanmamış olması çalışmamızın eksik yönüdür. İleriki araştırmalarda hayvan sayısının arttırılması ve yüksek yağlı diyet

sonucunda görülen obezitenin serolojik testler ile doğrulanması, verilerin yorumlanmasını kolaylaştıracak ve çalışmanın bilimsel kanıt düzeyini artıracaktır.

7. Çalışmamızın deneysel bir çalışma olması nedeniyle, elde ettiğimiz bulguların insanlara uyarlanması konusunda dikkatli olunmalı, glutensiz beslenme ve yüksek yağlı beslenmenin ortodontik diş hareketi üzerindeki etkileri klinik çalışmalarla da araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Hossain, P., Kawar, B., El Nahas, M. (2007). Obesity and Diabetes in the Developing World- A Growing Challenge. *New England Journal of Medicine*, 356, 213–215.
2. Ferreira, A. V. M., Menezes-Garcia, Z., Viana, J. B., Mário, É. G., Botion, L. M. (2014). Distinct metabolic pathways trigger adipocyte fat accumulation induced by high-carbohydrate and high-fat diets. *Nutrition*, 30, 1138–1143.
3. Pelton, K., Krieder, J., Joiner, D., Freeman, M. R., Goldstein, S. A., Solomon, K. R. (2012). Hypercholesterolemia Promotes an Osteoporotic Phenotype. *The American Journal of Pathology*, 181, 928–936.
4. WHO. (2018). *Obesity and overweight*. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight.
5. Larsen, J., Dall, M., Antvorskov, J. C., Weile, C., Engkilde, K., Josefsen, K., Buschard, K. (2014). Dietary gluten increases natural killer cell cytotoxicity and cytokine secretion. *European Journal of Immunology*, 44, 3056–3067.
6. Sapone, A., Lammers, K. M., Mazzarella, G., Mikhailenko, I., Cartenì, M., Casolaro, V., Fasano, A. (2010). Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: Gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *International Archives of Allergy and Immunology*, 152, 75–80.
7. Kaya, M., Şipal, S., Polat, U., Sezikli, M. (n.d.). *Çölyak Hastalarında D Vitamini Eksikliği ve Osteoporoz Sıklığı Frequency of Vitamin D Deficiency and Osteoporosis in Celiac Patients.*
8. Pi-Sunyer, F. X., Becker, D. M., Bouchard, C., Carleton, R. A., Colditz, G. A., Dietz, W. H., Foreyt, J. P., Garrison, R. J., Grundy, S. M., Hansen, B. C., Higgins, M., Hill, J. O., Howard, B. V., Kuczmarski, R. J., Kumanyika, S., Legako, R. D., Prewitt, T. E., Rocchini, A. P., Smith, P. L., … Chiquette, E. (1998). Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight in Adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 899–917.
9. Jayachandran, T., Srinivasan, B., Padmanabhan, S. (2017). Salivary leptin levels in normal weight and overweight individuals and their correlation with orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 87, 739–744.
10. Von Bremen, J., Wagner, J., Ruf, S. (2013). Correlation between body mass index and orthodontic treatment outcome. *Angle Orthodontist*, 83, 371–375.
11. Saloom, H. F., Papageorgiou, S. N., Carpenter, G. H., Cobourne, M. T. (2017). Impact of Obesity on Orthodontic Tooth Movement in Adolescents: A Prospective Clinical Cohort Study. *Journal of Dental Research*, 96, 547–554.
12. Storey, E. (1973). The nature of tooth movement. *American Journal of Orthodontics*, 63(3), 292–314.
13. Caputo, A. A., Chaconas, S. J., Hayashi, R. K. (1974). Photoelastic visualization of orthodontic forces during canine retraction. *American Journal of Orthodontics*, 65, 250–259.
14. Meikle, M. C. (2006). The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 Years after Carl Sandstedt. In *European Journal of Orthodontics*, 28,221-240.
15. Darendeliler, M. A., Darendeliler, H., Uner, O. (1997). The drum spring (DS) retractor: a constant and continuous force for canine retraction. *The European Journal of Orthodontics*, 19, 115–130.
16. Vandevska-Radunovic, V., Kvinnsland, S., Kvinnsland, I. H. (1997). Effect of experimental tooth movement on nerve fibres immunoreactive to calcitonin gene-related peptide, protein gene product 9.5, and blood vessel density and distribution in rats. *The European Journal of Orthodontics*, 19, 517–529.
17. Reitan, K. (1974). Initial tissue behavior during apical root resorption. *Angle Orthodontist*, 44, 68–82.
18. Li, Y., Jacox, L. A., Little, S. H., Ko, C.-C. (2018). Orthodontic tooth movement: The biology and clinical implications. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 34, 207–214.
19. Sabane, A., Patil, A., Swami, V., Nagarajan, P. (2016). Biology of Tooth Movement. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 16, 1–10.
20. Grimm, F. M. (1972). Bone bending, a feature of orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics*, 62, 384–393.
21. Zengo, A. N., Pawluk, R. J., Bassett, C. A. L. (1973). Stress-induced bioelectric potentials in the dentoalveolar complex. *American Journal of Orthodontics*, 64, 17–27.

22. Schwarz, A. M. (1932). Tissue changes incidental to orthodontic tooth movement. *International Journal of Orthodontia, Oral Surgery and Radiography*, 18, 331–352.
23. Oppenheim, A. (1911). Tissue changes, Particularly in the bone incident to tooth movement. *Am J Orthod*, 3, 113–132.
24. Tuncay, O. C. (2006). *Biologic elements of tooth movement. The Invisalign System.* Quintessence.
25. Krishnan, V., Davidovitch, Z. (2006). Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. In *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 129,469.
26. Farrar, J. N. (1988). Irregularities of the Teeth and Their Correction. *De Vinne Press,New York*, 658.
27. Kashyap, S. (2016). Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement: a brief overview. *NJDSR*, 1, 28–31.
28. Baumrind, S. (1969). A reconsideration of the propriety of the "pressure-tension" hypothesis. *American Journal of Orthodontics*, 55, 12–22.
29. Bassett, C. A. L., Becker, R. O. (1962). Generation of electric potentials by bone in response to mechanical stress. *Science*, 137, 1063–1064.
30. Pollack, S. R., Salzstein, R., Pienkowski, D. (1984). The electric double layer in bone and its influence on stress-generated potentials. *Calcified Tissue International*, 36.
31. Epker, B. N., Frost, H. M. (1965). Correlation of Bone Resorption and Formation with the Physical Behavior of Loaded Bone. *Journal of Dental Research*, 44, 33–41.
32. Burstone, C. J. (1962). The biomechanics of tooth movement. *Istas in Orthodontics*, 197–213.
33. Melsen, B. (1999). Biological reaction of alveolar bone to orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 69, 151–158.
34. Nanci, A., Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease*. *Periodontology 2000*, 40, 11–28.
35. Jiang, N., Guo, W., Chen, M., Zheng, Y., Zhou, J., Kim, S. G., Embree, M. C., Songhee Song, K., Marao, H. F., Mao, J. J. (2015). Periodontal Ligament and Alveolar Bone in Health and Adaptation: Tooth Movement. *Frontiers of Oral Biology*, 18, 1–8.
36. McCulloch, C. A. G., Bordin, S. (1991). Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *Journal of Periodontal Research*, 26, 144–154.
37. Phipps, R. P., Borrello, M. A., Blieden, T. M. (1997). Fibroblast heterogeneity in the periodontium and other tissues. *Journal of Periodontal Research*, 32, 159–165.
38. Naveh, G. R. S., Lev-Tov Chattah, N., Zaslansky, P., Shahar, R., Weiner, S. (2012). Tooth-PDL-bone complex: Response to compressive loads encountered during mastication - A review. In *Archives of Oral Biology*, 57, 1575-1584.
39. Yamaguchi, N., Chiba, M., Mitani, H. (2002). The induction of c-fos mRNA expression by mechanical stress in human periodontal ligament cells. *Archives of Oral Biology*, 47, 465–471.
40. Lekic, P. C., Rajshankar, D., Chen, H., Tenenbaum, H.,Mcculloch, C. A. G. (2001). Transplantation of labeled periodontal ligament cells promotes regeneration of alveolar bone. *Anatomical Record*, 262 193–202.
41. Davidovitch, Z. (1991). Tooth movement. In *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2, 411-450.
42. Boyer, L., Lee, T., Cole, M., Johnstone, S., cell, S. L. (2005).Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Elsevier*. Erişim 17.2.2021, https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867405008251.
43. Schöler, H. R. (2004). Das Potenzial von Stammzellen: Eine Bestandsaufnahme. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 47, 565–577.
44. Harada, H., Kettunen, P., Jung, H., … T. M.-T. J.(1999) Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *Rupress.Org*. Erişim 17.2.2022, https://rupress.org/jcb/article/147/1/105/31984.
45. 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*, 1.
46. Bluteau, G., Mitsiadis, T. Stem cells for tooth engineering. *Zora.Uzh.Ch*. Erişim 17.2.2011, https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/6570/.
47. Yao, S., Pan, F., Prpic, V., Wise, G. E. (2008). Differentiation of stem cells in the dental follicle. *Journal of Dental Research*, 87, 767–771.
48. Seo, B., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P., Lancet, S. B.(2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Elsevier*. Erişim 17.2.2021, https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673604166270?casa_token=aInshw7MapA

AAAAA:uAe9tYDLZ_u5DU0ouqkcAtoIe3n-lfgyiSeIJd4LnTqaN0ITeF6gK8BcrNkZmdfLt_mELFNNuw.
49. MacNeill, S., Walters, D. M., Dey, A., Glaros, A. G., Cobb, C. M. (1998). Sonic and mechanical toothbrushes: An in vitro study showing altered microbial surface structures but lack of effect on viability. *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 988–993.
50. Sawhney, R. K., Howard, J. (2004). Molecular Dissection of the Fibroblast-Traction Machinery. *Cytoskeleton*, 58, 175–185.
51. Hall, M., Masella, R., … M. M.-F. (2001). PDL neuron-associated neurotransmitters in orthodontic tooth movement: identification and proposed mechanism of action. *Europepmc.Org*. Erişim 17.2.2021,https://europepmc.org/article/med/15025038
52. Anderson, L. E., Seybold, V. S. (2004). Calcitonin gene-related peptide regulates gene transcription in primary afferent neurons. *J. Neurochem*, 91, 1417–1429.
53. 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.
54. Moss-Salentijn, L. (1997). Melvin L. Moss and the Functional Matrix. *Journal of Dental Research*, 76, 1814–1817.
55. Ehrlich, P. J., Lanyon, L. E. Mechanical Strain and Bone Cell Function: A Review. In *Citeseer*. Erişim 17.2.2021, http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.458.8165&rep=rep1&type=pdf.
56. Ducy, P., Schinke, T., Karsenty, G. (2000). The osteoblast: A sophisticated fibroblast under central surveillance. In *Science*, 289, 1501-1504.
57. Winkler, D. G., Sutherland, M. K., Geoghegan, J. C., Yu, C., Hayes, T., Skonier, J. E., Shpektor, D., Jonas, M., Kovacevich, B. R., Staehling-Hampton, K., Appleby, M., Brunkow, M. E., Latham, J. A. (2003). Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO Journal*, 22, 6267–6276.
58. Mackie, E. J. (2003). Osteoblasts: Novel roles in orchestration of skeletal architecture. In *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 35, 1301-1305.
59. Bu, R., Borysenko, C. W., Li, Y., Cao, L., Sabokbar, A., Blair, H. C. (2003). Expression and function of TNF-family proteins and receptors in human osteoblasts. *Bone*, 33, 760–770.
60. D'Ippolito, G., Schiller, P. C., Ricordi, C., Roos, B. A., Howard, G. A. (1999). Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14, 1115–1122.
61. Mullender, M., Meer, D. Van Der, Huiskes, R., Bone, P. L.(1996). Osteocyte density changes in aging and osteoporosis. *Elsevier*. Erişim 17.2.2021, https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/8756328295004440.
62. Noble, B. S. (2008). The osteocyte lineage. In *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 473,106-111.
63. Marotti, G., Ferretti, M., Muglia, M. A., Palumbo, C., Palazzini, S. (1992). A quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte relationships on growing endosteal surface of rabbit tibiae. *Bone*, 13, 363–368.
64. Nijweide, P. J., Burger, E. H., Feyen, J. H. M. (1986). Cells of bone: Proliferation, differentiation, and hormonal regulation. In *Physiological Reviews*, 66, 855-886.
65. Holtrop, M., research, G. K.-C. (1977). The ultrastructure of the osteoclast and its functional implications. *Europepmc.Org*. Erişim 17.2.2021,https://europepmc.org/article/med/856515.
66. Boyle, W. J., Simonet, W. S., Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. In *Nature*, 423,*337-342*.
67. Science, S. T.(2000). Bone resorption by osteoclasts. *Science.Sciencemag.Org*. Erişim 17.02.2021, https://science.sciencemag.org/content/289/5484/1504.
68. Harada, S. I., Rodan, G. A. (2003). Control of osteoblast function and regulation of bone mass. In *Nature*,423,*349-355*.
69. Karsenty, G. (2003). The complexities of skeletal biology. In *Nature*,423,316-318.
70. Delaisse, J., Eeckhout, Y., … L. N.-J. (1993). Preparation of antibodies to (pro)collagenase and immunoaffinity columns. In *jcs.biologists.org*. Erişim 17.2.2021, https://jcs.biologists.org/content/106/4/1071.short.
71. Lee, N. K., Sowa, H., Hinoi, E., Ferron, M., Ahn, J. D., Confavreux, C., Dacquin, R., Mee, P. J., McKee, M. D., Jung, D. Y., Zhang, Z., Kim, J. K., Mauvais-Jarvis, F., Ducy, P., Karsenty, G. (2007). Endocrine Regulation of Energy Metabolism by the Skeleton. *Cell*, 130, 456–469.
72. Sodek, J., Ganss, B., McKee, M. D. (2000). Osteopontin. *Critical Reviews in Oral Biology and*

Medicine : An Official Publication of the American Association of Oral Biologists, 11(3), 279–303.
73. Chambers, T. J., Revell, P. A., Fuller, K., Athanasou, N. A. (1984). Resorption of bone by isolated rabbit osteoclasts. *Journal of Cell Science*, 66.
74. Drake, F. H., Dodds, R. A., James, I. E., Connor, J. R., Debouck, C., Richardson, S., Lee-Rykaczewski, E., Coleman, L., Rieman, D., Barthlow, R., Hastings, G., Gowen, M. (1996). Cathepsin K, but not cathepsins B, L, or S, is abundantly expressed in human osteoclasts. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 12511–12516.
75. Bossard, M. J., Tomaszek, T. A., Thompson, S. K., Amegadzie, B. Y., Hanning, C. R., Jones, C., Kurdyla, J. T., McNulty, D. E., Drake, F. H., Gowen, M., Levyi, M. A. (1996). Proteolytic activity of human osteoclast cathepsin K: Expression, purification, activation, and substrate identification. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 12517–12524.
76. Verna, C., Dalstra, M., Melsen, B. (2000). The rate and the type of orthodontic tooth movement is influenced by bone turnover in a rat model. *European Journal of Orthodontics*, 22, 343–352.
77. Frost, H. M. (1990). Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's law: The bone modeling problem. In *Anatomical Record*,226,403-413.
78. Domon, S., Shimokawa, H., Matsumoto, Y., Yamaguchi, S., Soma, K. (1999). In situ hybridization for matrix metalloproteinase-1 and cathepsin K in rat root-resorbing tissue induced by tooth movement. *Archives of Oral Biology*, 44, 907–915.
79. Kitase, Y., Yokozeki, M., Fujihara, S., Izawa, T., Kuroda, S., Tanimoto, K., Moriyama, K., Tanaka, E. (2009). Analysis of gene expression profiles in human periodontal ligament cells under hypoxia: The protective effect of CC chemokine ligand 2 to oxygen shortage. *Archives of Oral Biology*, 54, 618–624.
80. Brudvik, P., Rygh, P. (1995). The repair of orthodontic root resorption: An ultrastructural study. *European Journal of Orthodontics*, 17, 189–198.
81. Von Böhl, M., Maltha, J. C., Von Den Hoff, J. W., Kuijpers-Jagtman, A. M. (2004). Focal hyalinization during experimental tooth movement in beagle dogs. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 125, 615–623.
82. Zainal Ariffin, S. H., Yamamoto, Z., Zainol Abidin, L. Z., Megat Abdul Wahab, R., Zainal Ariffin, Z. (2011). Cellular and molecular changes in orthodontic tooth movement. *TheScientificWorldJournal*, 11, 1788–1803.
83. Bartzela, T., Türp, J. C., Motschall, E., Maltha, J. C. (2009). Medication effects on the rate of orthodontic tooth movement: A systematic literature review. In *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 135, 16-26.
84. Theoleyre, S., Wittrant, Y., Tat, S. K., Fortun, Y., Redini, F., Heymann, D. (2004). The molecular triad OPG/RANK/RANKL: Involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. In *Cytokine and Growth Factor Reviews*,15,457-475.
85. Takano-Yamamoto, T., Kawakami, M., Kobayashi, Y., Yamashiro, T., Sakuda, M. (1992). The Effect of Local Application of 1,25-Dihydroxycholecalciferol on Osteoclast Numbers in Orthodontically Treated Rats. *Journal of Dental Research*, 71, 53–59.
86. Kook, S.-H., Jang, Y.-S., Lee, J.-C. (2011). Human periodontal ligament fibroblasts stimulate osteoclastogenesis in response to compression force through TNF-α-mediated activation of CD4+ T cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 112, 2891–2901.
87. Shiotani, A., Shibasaki, Y., Sasaki, T. (2001). Localization of receptor activator of NFκB ligand, RANKL, in periodontal tissues during experimental movement of rat molars. *Journal of Electron Microscopy*, 50, 365–369.
88. Oshiro, T., Shiotani, A., Shibasaki, Y., Sasaki, T. (2002). Osteoclast induction in periodontal tissue during experimental movement of incisors in osteoprotegerin-deficient mice. *Anatomical Record*, 266, 218–225.
89. Brooks, P. J., Nilforoushan, D., Manolson, M. F., Simmons, C. A., Gong, S. G. (2009). Molecular markers of early orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 79, 1108–1113.
90. Zhang, F., Koyama, Y., Sanuki, R., Mitsui, N., Suzuki, N., Kimura, A., Nakajima, A., Shimizu, N., Maeno, M. (2010). IL-17A stimulates the expression of inflammatory cytokines via celecoxib-blocked prostaglandin in MC3T3-E1 cells. *Archives of Oral Biology*, 55, 679–688.
91. Garlet, T. P., Coelho, U., Silva, J. S., Garlet, G. P. (2007). Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *European Journal of Oral Sciences*, 115, 355–362.
92. Baloul, S. S., Gerstenfeld, L. C., Morgan, E. F., Carvalho, R. S., Van Dyke, T. E., Kantarci, A. (2011). Mechanism of action and morphologic changes in the alveolar bone in response to selective alveolar decortication-facilitated tooth movement. *American Journal of Orthodontics and*

Dentofacial Orthopedics, *139*.
93. Tang, L., Lin, Z., Li, Y. ming. (2006). Effects of different magnitudes of mechanical strain on Osteoblasts in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344, 122–128.
94. Kanzaki, H., Chiba, M., Takahashi, I., Haruyama, N., Nishimura, M., Mitani, H. (2004). Local OPG gene transfer to periodontal tissue inhibits orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Research*, 83, 920–925.
95. Iglesias-Linares, A., Moreno-Fernandez, A. M., Yañez-Vico, R., Mendoza-Mendoza, A., Gonzalez-Moles, M., Solano-Reina, E. (2011). The use of gene therapy vs. corticotomy surgery in accelerating orthodontic tooth movement. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 14, 138–148.
96. Toygar, H. U., Kircelli, B. H., Bulut, S., Sezgin, N., Tasdelen, B. (2008). Osteoprotegerin in gingival crevicular fluid under long-term continuous orthodontic force application. *Angle Orthodontist*, 78, 988–993.
97. Nishijima, Y., Yamaguchi, M., Kojima, T., Aihara, N., Nakajima, R., Kasai, K. (2006). Levels of RANKL and opg in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement and effect of compression force on releases from periodontal ligament cells in vitro. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 9, 63–70.
98. Kobayashi, Y., Hashimoto, F., Miyamoto, H., Kanaoka, K., Miyazaki-Kawashita, Y., Nakashima, T., Shibata, M., Kobayashi, K., Kato, Y., Sakai, H. (2000). Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor β and osteoprotegerin expression. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15, 1924-1934.
99. Dunn, M. D., Park, C. H., Kostenuik, P. J., Kapila, S., Giannobile, W. V. (2007). Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement. *Bone*, 41, 446–455.
100. Udagawa, N., Takahashi, N., Akatsu, T., Tanaka, H., Sasaki, T., Nishihara, T., Koga, T., Martin, T. J., Suda, T. (1990). Origin of osteoclasts: Mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 7260–7264.
101. Kaku, M., Motokawa, M., Tohma, Y., Tsuka, N., Koseki, H., Sunagawa, H., Hernandes, R. A. M., Ohtani, J., Fujita, T., Kawata, T., Tanne, K. (2008). VEGF and M-CSF levels in periodontal tissue during tooth movement. *Biomedical Research*, 29, 181–187.
102. Sanuki, R., Shionome, C., Kuwabara, A., Mitsui, N., Koyama, Y., Suzuki, N., Zhang, F., Shimizu, N., Maeno, M. (2010). Compressive force induces osteoclast differentiation via prostaglandin E2 production in MC3T3-E1 cells. *Connective Tissue Research*, 51, 150–158.
103. Brooks, P. J., Heckler, A. F., Wei, K., Gong, S. G. (2011). M-CSF accelerates orthodontic tooth movement by targeting preosteoclasts in mice. *Angle Orthodontist*, 81, 277–283.
104. Kitaura, H., Yoshimatsu, M., Fujimura, Y., Eguchi, T., Kohara, H., Yamaguchi, A., Yoshida, N. (2008). An anti-c-Fms antibody inhibits orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Research*, 87 396–400.
105. Walker, J. B., Buring, S. M. (2001). NSAID impairment of orthodontic tooth movement. *Annals of Pharmacotherapy*, 35, 113–115.
106. Arias, O. R., Marquez-Orozco, M. C. (2006). Aspirin, acetaminophen, and ibuprofen: Their effects on orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 130, 364–370.
107. Miyagawa, A., Chiba, M., Hayashi, H., Igarashi, K. (2009). Compressive force induces VEGF production in periodontal tissues. *Journal of Dental Research*, 88, 752–756.
108. Kohno, T., Matsumoto, Y., Kanno, Z., Warita, H., Soma, K. (2002). Experimental tooth movement under light orthodontic forces: Rates of tooth movement and changes of the periodontium. *Journal of Orthodontics*, 29, 129–135.
109. Yoshimura. (2009). Mechanical stress up-regulates RANKL expression via the VEGF autocrine pathway in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Molecular Medicine Reports*, 2.
110. Uematsu, S., Mogi, M., Deguchi, T. (1996). Interleukin (IL)-1β, IL-6, tumor necrosis factor-α, epidermal growth factor, and β2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Research*, 75, 562–567.
111. Alhashimi, N., Frithiof, L., Brudvik, P., Bakhiet, M. (2000). Orthodontic movement induces high numbers of cells expressing IFN-γ at mRNA and protein levels. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 20, 7–12.
112. Ren, Y., Hazemeijer, H., de Haan, B., Qu, N., de Vos, P. (2007). Cytokine Profiles in Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement of Short and Long Durations. *Journal of Periodontology*,

78, 453–458.
113. Glantschnig, H., Fisher, J. E., Wesolowski, G., Rodan, G. A., Reszka, A. A. (2003). M-CSF, TNFα and RANK ligand promote osteoclast survival by signaling through mTOR/S6 kinase. *Cell Death and Differentiation*, 10, 1165–1177.
114. Yao, Z., Xing, L., Qin, C., Schwarz, E. M., Boyce, B. F. (2008). Osteoclast precursor interaction with bone matrix induces osteoclast formation directly by an interleukin-1-mediated autocrine mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 283, 9917–9924.
115. Kayamori, K., Sakamoto, K., Nakashima, T., Takayanagi, H., Morita, K. I., Omura, K., Nguyen, S. T., Miki, Y., Iimura, T., Himeno, A., Akashi, T., Yamada-Okabe, H., Ogata, E., Yamaguchi, A. (2010). Roles of interleukin-6 and parathyroid hormone-related peptide in osteoclast formation associated with oral cancers: Significance of interleukin-6 synthesized by stromal cells in response to cancer cells. *American Journal of Pathology*, 176, 968–980.
116. Yoshimatsu, M., Shibata, Y., Kitaura, H., Chang, X., Moriishi, T., Hashimoto, F., Yoshida, N., Yamaguchi, A. (2006). Experimental model of tooth movement by orthodontic force in mice and its application to tumor necrosis factor receptor-deficient mice. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 24, 20–27.
117. Karacay, S., Saygun, I., Bengi, A. O., Serdar, M. (2007). Tumor necrosis factor-α levels during two different canine distalization techniques. *Angle Orthodontist*, 77, 142–147.
118. Street, J., Lenehan, B. (2009). Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival - Evidence for an autocrine feedback mechanism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 4, 19.
119. Wozney, J. M., Rosen, V., Celeste, A. J., Mitsock, L. M., Whitters, M. J., Kriz, R. W., Hewick, R. M., Wang, E. A. (1988). Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 242, 1528–1534.
120. Katagiri, T., Takahashi, N. (2002). Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. In *Oral Diseases*, 8, 147-159.
121. Mitsui, N., Suzuki, N., Maeno, M., Yanagisawa, M., Koyama, Y., Otsuka, K., Shimizu, N. (2006). Optimal compressive force induces bone formation via increasing bone morphogenetic proteins production and decreasing their antagonists production by Saos-2 cells. *Life Sciences*, 78, 2697–2706.
122. Zhao, S., Kato, Y., Zhang, Y., Harris, S., Ahuja, S. S., Bonewald, L. F. (2002). MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17, 2068–2079.
123. Kogianni, G., Mann, V., Noble, B. S. (2008). Apoptotic bodies convey activity capable of initiating osteoclastogenesis and localized bone destruction. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23, 915–927.
124. Kurata, K., Heino, T. J., Higaki, H., Väänänen, H. K. (2006). Bone marrow cell differentiation induced by mechanically damaged osteocytes in 3D gel-embedded culture. *Journal of Bone and Mineral Research*, 21, 616–625.
125. Moin, S., Kalajzic, Z., Utreja, A., Nihara, J., Wadhwa, S., Uribe, F., Nanda, R. (2014). Osteocyte death during orthodontic tooth movement in mice. *Angle Orthodontist*, 84, 1086–1092.
126. Robling, A. G., Niziolek, P. J., Baldridge, L. A., Condon, K. W., Allen, M. R., Alam, I., Mantila, S. M., Gluhak-Heinrich, J., Bellido, T. M., Harris, S. E., Turner, C. H. (2008). Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *Journal of Biological Chemistry*, 283, 5866–5875.
127. Matsuda, K., Haga-Tsujimura, M., Yoshie, S., Shimomura-Kuroki, J. (2014). Characteristics of alveolar bone associated with physiological movement of molar in mice: A histological and histochemical study. *Odontology*, 102, 98–104.
128. Castroflorio, T., Gamerro, E. F., Caviglia, G. P., Deregibus, A. (2017). Biochemical markers of bone metabolism during early orthodontic tooth movement with aligners. *Angle Orthodontist*, 87, 74–81.
129. Hartman, C., Hochberg, Z., GAN-, R. S.(2003). Osteoporosis in pediatrics. In *ima.org.il*. Erişim 24.4.2021, https://www.ima.org.il/FilesUploadPublic/IMAJ/0/54/27193.pdf.
130. Yamaguchi, M. (2009). RANK/RANKL/OPG during orthodontic tooth movement. In *Orthodontics and Craniofacial Research*, 12,113-119.
131. Lademann, F., Hofbauer, L. C., Rauner, M. (2020). The Bone Morphogenetic Protein Pathway: The Osteoclastic Perspective. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology*,8.
132. Reinholt, F. P., Hultenby, K., Oldberg, A., Heinegard, D. (1990). Osteopontin - A possible anchor of osteoclasts to bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*

of America, 87, 4473–4475.
133. Kanzaki, H., Chiba, M., Arai, K., Takahashi, I., Haruyama, N., Nishimura, M., Mitani, H. (2006). Local RANKL gene transfer to the periodontal tissue accelerates orthodontic tooth movement. *Gene Therapy*, 13, 678–685.
134. Singh, A., Gill, G., Kaur, H., Amhmed, M., Jakhu, H. (2018). Role of osteopontin in bone remodeling and orthodontic tooth movement: a review. In *Progress in Orthodontics*,19.
135. Staines, K. A., MacRae, V. E., Farquharson, C. (2012). The importance of the SIBLING family of proteins on skeletal mineralisation and bone remodelling. In *Journal of Endocrinology*,214,241-255.
136. Sodek, J., Ganss, B., McKee, M. D. (2000). Osteopontin. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 11, 279–303.
137. Kim, J. Y., Kim, B. I., Jue, S. S., Park, J. H., Shin, J. W. (2012). Localization of osteopontin and osterix in periodontal tissue during orthodontic tooth movement in rats. *Angle Orthodontist*, 82, 107–114.
138. Butler, W. T. (1989). The nature and significance of osteopontin. *Connective Tissue Research*, 23, 123–136.
139. Standal, T., Borset, M., Sundan, A. (2004). Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling. In *Experimental Oncology*, 26,179-184.
140. Terai, K., Takano-Yamamoto, T., Ohba, Y., Hiura, K., Sugimoto, M., Sato, M., Kawahata, H., Inaguma, N., Kitamura, Y., Nomura, S. (1999). Role of osteopontin in bone remodeling caused by mechanical stress. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14, 839–849.
141. Foster, B. L., Ao, M., Salmon, C. R., Chavez, M. B., Kolli, T. N., Tran, A. B., Chu, E. Y., Kantovitz, K. R., Yadav, M., Narisawa, S., Millán, J. L., Nociti, F. H., Somerman, M. J. (2018). Osteopontin regulates dentin and alveolar bone development and mineralization. *Bone*, 107, 196–207.
142. Walker, C. G., Dangaria, S., Ito, Y., Luan, X., Diekwisch, T. G. H. (2010). Osteopontin is required for unloading-induced osteoclast recruitment and modulation of RANKL expression during tooth drift-associated bone remodeling, but not for super-eruption. *Bone*, 47, 1020–1029.
143. Kim JY, Kim BI, Jue SS, Park JH, Shin JW.(2012) Localization of osteopontin and osterix in periodontal tissue during orthodontic tooth movement in rats. *Angle Orthod*,82,107–14.
144. Terai, K., Takano-Yamamoto, T., Ohba, Y., Hiura, K., Sugimoto, M., Sato, M., Kawahata, H., Inaguma, N, Kitamura, Y, Nomura, S. (1999). Role of osteopontin in bone remodeling caused by mechanical stress. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14, 839–849.
145. Kuroda, S., Balam, T. A., Sakai, Y., Tamamura, N.,Takano-Yamamoto, T. (2005). Expression of osteopontin mRNA in odontoclasts revealed by in situ hybridization during experimental tooth movement in mice. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 23, 110–113.
146. Takano-Yamamoto, T., Takemura, T., Kitamura, Y., Nomura, S. (1994). Site-specific expression of mRNAs for osteonectin, osteocalcin, and osteopontin revealed by in situ hybridization in rat periodontal ligament during physiological tooth movement. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 42, 885–896.
147. Singh, A., Gill, G., Kaur, H., Amhmed, M., Jakhu, H. (2018). Role of osteopontin in bone remodeling and orthodontic tooth movement: a review. In *Progress in Orthodontics*,19.
148. Boyce, B. F., Xing, L. (2007). The RANKL/RANK/OPG pathway. In *Current Osteoporosis Reports*,5,98-104.
149. Udagawa, N., Takahashi, N., Jimi, E., Matsuzaki, K., Tsurukai, T., Itoh, K., Nakagawa, N., Yasuda, H., Goto, M., Tsuda, E., Higashio, K., Gillespie, M. T., Martin, T. J., Suda, T. (1999). Osteoblasts/stromal cells stimulate osteoclast activation through expression of osteoclast differentiation factor/RANKL but not macrophage colony-stimulating factor. *Bone*, 25, 517–523.
150. Science, M. U.(1965). Bone: formation by autoinduction. *Science.Sciencemag.Org*. Erişim 11.05.2021, https://science.sciencemag.org/content/150/3698/893.
151. Wozney, J., Rosen, V., Celeste, A., … L. M.(1988). Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science.Sciencemag.Org*. Erişim 11.05.2021, https://science.sciencemag.org/content/242/4885/1528.
152. V. R.-C. (2009). BMP2 signaling in bone development and repair. *Elsevier*. Erişim 11.05.2021,https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359610109000938?casa_token=13SGIj09GyEAAAAA:ROSDA2FprS_mtVTfIFPiOOzDwMx6_rS-IOO_fTW2Efwp7IriCHJRxJlWYdzEE2UNLwGYgIEtBg
153. Bonewald, L. F. (2011). The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26, 229–238.

154. Chen, D., Zhao, M., Mundy, G. R. (2004). Growth Factors Bone Morphogenetic Proteins. *Bone Morphogenetic Proteins, Growth Factors*, 22, 233–241.
155. King, G. N., King, N., Cruchley, A. T., Wozney, J. M., Hughes, F. J. (1997). Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 promotes wound healing in rat periodontal fenestration defects. *Journal of Dental Research*, 76, 1460–1470.
156. Takiguchi, T., Kobayashi, M., Nagashima, C., Yamaguchi, A., Nishihara, T., Hasegawa, K. (1999). Effect of prostaglandin E2 on recombinant human bone morphogenetic protein-2-stimulated osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontal Research*, 34, 431–436.
157. Jung, R. E., Glauser, R., Schärer, P., Hàmmerle, C. H. F., Sailer, H. F., Weber, F. E. (2003). Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans: A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, 14, 556–568.
158. Iglesias-Linares, A., Yañez-Vico, R. M., Moreno-Fernandez, A. M., Mendoza-Mendoza, A., Solano-Reina, E. (2012). Corticotomy-assisted orthodontic enhancement by bone morphogenetic protein-2 administration. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 70.
159. Giuca, M. R., Pasini, M., Tecco, S., Marchetti, E., Giannotti, L.,Marzo, G. (2012). Skeletal maturation in obese patients. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 142, 774–779.
160. Health Organization, W., Office for Europe, R. (2013). *Nutrition, Physical Activity And Obesity Turkey Demographic Data Prevalence Of Overweight AND Obesity Among Turkish Adults Based on Who 2008 Estimates Monitoring And Surveillance*. http://www.euro.who.int/en/nutrition-country-profiles.
161. Chang, Y. H., Chang, D. M., Lin, K. C., Shin, S. J., Lee, Y. J. (2011). Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: A meta-analysis and systemic review. In *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 27, 515–527.
162. Gregor, M. F., Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, 29, 415–445.
163. Ye, J., Gao, Z., Yin, J., He, Q. (2007). Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 293, 1118–1128.
164. Marcantonio, C. C., Nogueira, A. V. B., Leguizamón, N. D. P., de Molon, R. S., Lopes, M. E. S., Silva, R. C. L., Cerri, P. S., Deschner, J., Cirelli, J. A. (2021). Effects of obesity on periodontal tissue remodeling during orthodontic movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 159, 480–490.
165. Ruiz-Heiland, G., Yong, J. W., Von Bremen, J., Ruf, S.(2021).*Leptin reduces in vitro cementoblast mineralization and survival as well as induces PGE2 release by ERK1/2 commitment*. *Clin Oral Investig*, 25:1933-1944.
166. Krishnan, V., Davidovitch, Z. (2009). On a path to unfolding the biological mechanisms of orthodontic tooth movement. In *Journal of Dental Research*, 88, 597–608).
167. Meikle, M. C. (2006). The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 Years after Carl Sandstedt. In *European Journal of Orthodontics*,28,221-240.
168. Bakhiet, M., Alhashimi, N., Frithiof, L., Brudvik, P. (2001). Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 119, 307–312.
169. Dilsiz, A., Kiliç, N., Aydin, T., Nesibe Ates, F., Zihni, M., Bulut, C. (2010). Leptin levels in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 80, 504–508.
170. Bonato, R. C. S., Mapengo, M. A. A., de Azevedo-Silva, L. J., Janson, G., de Carvalho Sales-Peres, S. H. (2022). Tooth movement, orofacial pain, and leptin, interleukin-1β, and tumor necrosis factor-α levels in obese adolescents. *The Angle Orthodontist*, 92,95-100.
171. Bremen, J. von, Lorenz, N., of, S. R.-E. (2016). Impact of body mass index on oral health during orthodontic treatment: an explorative pilot study. *Academic.Oup.Com*. Erişim 8.8.2022, 2022, https://academic.oup.com/ejo/article-abstract/38/4/386/1748778.
172. Luo, H., Wu, H., Tan, X., Ye, Y., Huang, L., Dai, H., Mei, L. (2021). Osteopenic effects of high-fat diet-induced obesity on mechanically induced alveolar bone remodeling. *Oral Diseases*, 27, 1243–1256.
173. Yan, B., Liu, D., Zhang, C., Zhang, T., Wang, X., Yang, R., Liu, Y., He, D., Zhou, Y. (2018). Obesity attenuates force-induced tooth movement in mice with the elevation of leptin level: a preliminary translational study. *American Journal of Translational Research*, 10, 4107.

174. Sabença, C., Ribeiro, M., de Sousa, T., Poeta, P., Bagulho, A. S.,Igrejas, G. (2021). Wheat/Gluten-Related Disorders and Gluten-Free Diet Misconceptions: A Review. *Foods*, *10*.
175. Fasano, A., Catassi, C. (2012). clinical practice Celiac Disease. *Mass Medical Soc*, 367, 2419–2426.
176. Skovbjerg, H., Koch, C., Anthonsen, D., Sjöström, H. (2004). Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1690, 220–230.
177. Shan, L., Molberg, Ø., Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G. M., Sollid, L. M., Khosla, C. (2002). Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue. *Science*, 297, 2275–2279.
178. Camarca, M. E., Mozzillo, E., Nugnes, R., Zito, E., Falco, M., Fattorusso, V., Mobilia, S., Buono, P., Valerio, G., Troncone, R., Franzese, A. (2012). Celiac disease in type 1 diabetes mellitus. In *Italian journal of pediatrics*,38,10.
179. Anderson, R., Degano, P., Godkin, A., medicine, D. J.(2000). In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. In *nature.com*. http://medicine.nature.com.
180. Rubio-Tapia A, Jansson-Knodell CL, Rahim MW, See JA, M. J. (2016). *[Influence of gender on the clinical presentation and associated diseases in adults with celiac disease] - PubMed*. Gaceta Medica de Mexico. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27792715/
181. Catassi, C., Bai, J. C., Bonaz, B., Bouma, G., Calabrò, A., Carroccio, A., Castillejo, G., Ciacci, C., Cristofori, F., Dolinsek, J., Francavilla, R., Elli, L., Green, P., Holtmeier, W., Koehler, P., Koletzko, S., Meinhold, C., Sanders, D., Schumann, M., … Fasano, A. (2013). Non-celiac gluten sensitivity: The new frontier of gluten related disorders. In *Nutrients*, 5, 3839–3853.
182. Leonard, M. M., Vasagar, B. (2014). US perspective on gluten-related diseases. In *Clinical and Experimental Gastroenterology*,7,25–37.
183. Van Berge-Henegouwen, G. P., Mulder, C. J. J. (1993). Pioneer in the gluten free diet: Willem-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. In *Gut*,34,1473–1475.
184. Di Liberto, D., Carlisi, D., D'Anneo, A., Emanuele, S., Giuliano, M., De Blasio, A., Calvaruso, G., Lauricella, M. (2020). Gluten Free Diet for the Management of Non Celiac Diseases: The Two Sides of the Coin. *Healthcare*, 8, 400.
185. Sapone, A., Lammers, K. M., Mazzarella, G., Mikhailenko, I., Cartenì, M., Casolaro, V., Fasano, A. (2010). Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: Gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *International Archives of Allergy and Immunology*, 152, 75–80.
186. Tanpowpong, P., Broder-Fingert, S., Katz, A. J., Camargo, C. A. (2012). Age-Related Patterns in Clinical Presentations and Gluten-Related Issues Among Children and Adolescents With Celiac Disease. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 3, 9.
187. Sapone, A., Bai, J. C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P. H. R., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Rostami, K., Sanders, D. S., Schumann, M., Ullrich, R., Villalta, D., Volta, U., Catassi, C., Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: Consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine*, 10.
188. Elli, L., Roncoroni, L., Bardella, M. T. (2015). Non-celiac gluten sensitivity: Time for sifting the grain. *World Journal of Gastroenterology*, 21, 8221–8226.
189. Junker, Y., Zeissig, S., Kim, S. J., Barisani, D., Wieser, H., Leffler, D. A., Zevallos, V., Libermann, T. A., Dillon, S., Freitag, T. L., Kelly, C. P., Schuppan, D. (2012). Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *Journal of Experimental Medicine*, 209, 2395–2408.
190. Sapone, A., Lammers, K. M., Casolaro, V., Cammarota, M., Giuliano, M. T., De Rosa, M., Stefanile, R., Mazzarella, G., Tolone, C., Russo, M. I., Esposito, P., Ferraraccio, F., Cartenì, M., Riegler, G., de Magistris, L., Fasano, A. (2011). Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: Celiac disease and gluten sensitivity. *BMC Medicine*, 9.
191. Vazquez-Roque, M. I., Camilleri, M., Smyrk, T., Murray, J. A., Marietta, E., O'Neill, J., Carlson, P., Lamsam, J., Janzow, D., Eckert, D., Burton, D., Zinsmeister, A. R. (2013). A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome-diarrhea: Effects on bowel frequency and intestinal function. *Gastroenterology*, 144.
192. Carroccio, A., Mansueto, P., Iacono, G., Soresi, M., D'Alcamo, A., Cavataio, F., Brusca, I., Florena, A. M., Ambrosiano, G., Seidita, A., Pirrone, G., Rini, G. B. (2012). Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: Exploring a new clinical entity. In *American Journal of Gastroenterology*,107,1898–1906.

193. Brottveit, M., Beitnes, A. C. R., Tollefsen, S., Bratlie, J. E., Jahnsen, F. L., Johansen, F. E., Sollid, L. M., Lundin, K. E. A. (2013). Mucosal cytokine response after short-term gluten challenge in celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *American Journal of Gastroenterology*, 108, 842–850.
194. Volta, U., Bardella, M. T., Calabrò, A., Troncone, R., Corazza, G. R., Bagnato, C., Belcari, C., Bellantoni, A., Caio, G., Calella, F., Cappello, M., Ciacci, C., D'Agate, C., De Vitis, I., Di Sabatino, A., Fava, G., Frau, M. R., Fugazza, A., Grassi, S. A., … Satta, P. U. (2014). An Italian prospective multicenter survey on patients suspected of having non-celiac gluten sensitivity. *BMC Medicine*, 12.
195. Marietta, E. V., Gomez, A. M., Yeoman, C., Tilahun, A. Y., Clark, C. R., Luckey, D. H., Murray, J. A., White, B. A., Kudva, Y. C., Rajagopalan, G. (2013). Low incidence of spontaneous type 1 diabetes in non-obese diabetic mice raised on gluten-free diets is associated with changes in the intestinal microbiome. *PLoS ONE*, 8.
196. Hansen, A. K., Ling, F., Kaas, A., Funda, D. P., Farlov, H., Buschard, K. (2006). Diabetes preventive gluten-free diet decreases the number of caecal bacteria in non-obese diabetic mice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 22, 220–225.
197. Świeca, M., Reguła, J., Sulibursk a, J., Złotek, U., Gawlik-Dziki, U. (2015). Effects of gluten-free breads, with varying functional supplements, on the biochemical parameters and antioxidant status of rat serum. *Food Chemistry*, 182, 268–274.
198. Bonder, M. J., Tigchelaar, E. F., Cai, X., Trynka, G., Cenit, M. C., Hrdlickova, B., Zhong, H., Vatanen, T., Gevers, D., Wijmenga, C., Wang, Y., Zhernakova, A. (2016). The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. *Genome Medicine*, 8.
199. Pastore, M. R., Bazzigaluppi, E., Belloni, C., Arcovio, C., Bonifacio, E., Bosi, E. (2003). Six months of gluten-free diet do not influence autoantibody titers, but improve insulin secretion in subjects at high risk for type 1 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88, 162–165.
200. De Palma, G., Nadal, I., Collado, M. C., Sanz, Y. (2009). Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *British Journal of Nutrition*, 102, 1154–1160.
201. Çakır, E., Ataoğlu, E., Yenigün, M. (2017). The role of gluten-free diet and intestinal microbiota on glycemic control and diabetes development. In *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*,21,127-130.
202. Fiore, C. E., Pennisi, P., Ferro, G., Ximenes, B., Privitelli, L., Mangiafico, R. A., Santoro, F., Parisi, N., Lombardo, T. (2006). Altered osteoprotegerin/RANKL ratio and low bone mineral density in celiac patients on long-term treatment with gluten-free diet. *Hormones et Metabolisme*, 38, 417–422.
203. Z, M., SS, B., A, K., H, H., D, G. (2013). An orthodontic retainer preventing remission in celiac disease. *Clinical Pediatrics*, 52, 1034–1037.
204. Kim, H. S., Patel, K. G., Orosz, E., Kothari, N., Demyen, M. F., Pyrsopoulos, N., Ahlawat, S. K. (2016). Time trends in the prevalence of celiac disease and gluten-free diet in the US population: Results from the national health and nutrition examination surveys 2009-2014. *JAMA Internal Medicine*, 176, 1716–1717.
205. Ontiveros, N., Rodríguez-Bellegarrigue, C. I., Galicia-Rodríguez, G., Vergara-Jiménez, M. de J., Zepeda-Gómez, E. M., Arámburo-Galvez, J. G., Gracia-Valenzuela, M. H., Cabrera-Chávez, F. (2018). Prevalence of Self-Reported Gluten-Related Disorders and Adherence to a Gluten-Free Diet in Salvadoran Adult Population. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15.
206. Cabrera-Chávez, F., Dezar, G. V. A., Islas-Zamorano, A. P., Espinoza-Alderete, J. G., Vergara-Jiménez, M. J., Magaña-Ordorica, D., Ontiveros, N. (2017). Prevalence of Self-Reported Gluten Sensitivity and Adherence to a Gluten-Free Diet in Argentinian Adult Population. *Nutrients*, 9(1).
207. Marcason, W. (2011). Is there evidence to support the claim that a gluten-free diet should be used for weight loss? *Journal of the American Dietetic Association*, 111, 1786.
208. Hasselbeck, E. (2009). *The G-free diet: a gluten-free survival guide*. (İnternette) https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=tTw2AQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT1&ots=joYBN7BcAQ&sig=Gu3Cjsb8SdN8mEegnmPdG_j2yNE
209. Barera, G., Beccio, S., Proverbio, M. C., Mora, S. (2004). Longitudinal changes in bone metabolism and bone mineral content in children with celiac disease during consumption of a gluten-free diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 148–154.
210. Kalayci, A. G., Kansu, A., Girgin, N., Kucuk, O., Aras, G. (2001). Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. *Pediatrics*, *108*(5).

211. Mora, S., Weber, G., Barera, G., Bellini, A., Pasolini, D., Prinster, C., Bianchi, C., Chiumello, G. (1993). Effect of gluten-free diet on bone mineral content in growing patients with celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 224–228.
212. Mora, S., Barera, G., Beccio, S., Menni, L., Proverbio, M. C., Bianchi, C., Chiumello, G. (2001). A prospective, longitudinal study of the long-term effect of treatment on bone density in children with celiac disease. *The Journal of Pediatrics*, 139, 516–521.
213. Szathmári, M., Tulassay, T., Arató, A., Bodánszky, H., Szabó, A., Tulassay, Z. (2001). Bone mineral content and density in asymptomatic children with coeliac disease on a gluten-free diet. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13, 419–424.
214. H Karkoszka, B. K. W. S. S. K. S. (2000). Influence of gluten free diet on bone mineral density (BMD) in children with celiac disease. *Przegl Lek.*, 57, 330–333.
215. PraticO', G., Caltabiano, L., Bottaro, G., Palano, G. M., Rotolo, N., Spina, M. (1997). Serum levels of osteocalcin and type I procollagen in children with celiac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 24, 170–173.
216. Jansson, U. H. G., Kristiansson, B., Magnusson, P., Larsson, L., Albertsson-Wikland, K., Bjarnason, R. (2001). The decrease of IGF-I, IGF-binding protein-3 and bone alkaline phosphatase isoforms during gluten challenge correlates with small intestinal inflammation in children with coeliac disease. *European Journal of Endocrinology*, 144, 417–423.
217. Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Mori, Y., Ide, T., Murakami, K., Tsuboyama-Kasaoka, N., Ezaki, O., Akanuma, Y., Gavrilova, O., Vinson, C., Reitman, M. L., Kagechika, H., Shudo, K., Yoda, M., Nakano, Y., … Kadowaki, T. (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Medicine*, 7, 941–946.
218. Altıner, A., Şahin, I., Bilal, T., Vural, H. (2016). Kan Leptin, Grelin ve Adiponektin Düzeylerini Etkileyen Faktörler. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 7(1), 15–23.
219. Ma, W., Huang, T., Zheng, Y., Wang, M., Bray, G. A., Sacks, F. M., Qi, L. (2016). Weight-loss diets, adiponectin, and changes in cardiometabolic risk in the 2-year pounds lost trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101, 2415–2422.
220. Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M. M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A. F. H. (2003). Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*, 361, 226–228.
221. Muluke, M., Gold, T., Kiefhaber, K., Al-Sahli, A., Celenti, R., Jiang, H., Cremers, S., Van Dyke, T., Schulze-Späte, U. (2016). Diet-Induced Obesity and Its Differential Impact on Periodontal Bone Loss. *Journal of Dental Research*, 95, 223–229.
222. Yarrow, J. F., Beggs, L. A., Conover, C. F., McCoy, S. C., Beck, D. T., Borst, S. E. (2012). Influence of Androgens on Circulating Adiponectin in Male and Female Rodents. *PLOS ONE*, 7, 47315.
223. Soares, E. A., Novaes, R. D., Nakagaki, W. R., Fernandes, G. J. M., Garcia, J. A. D., Camilli, J. A. (2015). Metabolic and structural bone disturbances induced by hyperlipidic diet in mice treated with simvastatin. *International Journal of Experimental Pathology*, 96, 261–268.
224. Ogden, C. L., Carroll, M. D., Curtin, L. R., McDowell, M. A., Tabak, C. J., Flegal, K. M. (2006). Prevalence of Overweight and Obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*, 295, 1549–1555.
225. Montalvany-Antonucci, C. C., Zicker, M. C., Ferreira, A. V. M., Macari, S., Ramos-Junior, E. S., Gomez, R. S., Pereira, T. S. F., Madeira, M. F. M., Fukada, S. Y., Andrade, I., Silva, T. A. (2018). High-fat diet disrupts bone remodeling by inducing local and systemic alterations. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 59, 93–103.
226. Murakami, T., Yokota, S.,Takahama, Y. (1989). Periodontal changes after experimentally induced intrusion of the upper incisors in Macaca fuscata monkeys. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 95, 115–126.
227. Van Leeuwen, E. J., Maltha, J. C., Kuijpers-Jagtman, A. M. (1999). Tooth movement with light continuous and discontinuous forces in beagle dogs. *European Journal of Oral Sciences*, 107, 468–474.
228. Guajardo, G., Okamoto, Y., Gogen, H., Shanfeld, J. L., Dobeck, J., Herring, A. H., Davidovitch, Z. (2000). Immunohistochemical localization of epidermal growth factor in cat paradental tissues during tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 118, 210–219.
229. Roche, J. J., Cisneros, G. J., Acs, G. (1997). The effect of acetaminophen on tooth movement in rabbits. *The Angle Orthodontist*, 67, 231–236.

230. Wong, A., Reynolds, E. C., West, V. C. (1992). The effect of acetylsalicylic acid on orthodontic tooth movement in the guinea pig. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 102, 360–365.
231. Foo, M., Jones, A., Darendeliler, M. A. (2007). Physical properties of root cementum: Part 9. Effect of systemic fluoride intake on root resorption in rats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 131, 34–43.
232. Michaeli, Y., Steigman, S., Harari, D. (1985). Recovery of the dental and periodontal tissues of the rat incisor following application of continuous intrusive loads: A long-term study. *American Journal of Orthodontics*, 87, 135–143.
233. Steigman, S., Michaeli, Y., Yitschaky, M., Schweizer, B. (1991). Dynamics of tissue changes found after mechanical loading of the rat incisor. I. A three-dimensional longitudinal study of the morphologic aspects. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 99, 533–542.
234. Ren, Y., Maltha, J. C., Kuijpers-Jagtman, A. M. (2004). The rat as a model for orthodontic tooth movement--a critical review and a proposed solution. *European Journal of Orthodontics*, 26, 483–490.
235. *Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement - PubMed*. Erişim 26.6.2022, from https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4992550.
236. Meikle, M. C. (2006). The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*, 28, 221–240.
237. *[Collagen as a basic element of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 1. Gingiva and alveolar bone] - PubMed*. Erişim 26.6.2022, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2100682/.
238. Matias, M. A., Li, H., Young, W. G., Bartold, P. M. (2003). Immunohistochemical localisation of extracellular matrix proteins in the periodontium during cementogenesis in the rat molar. *Archives of Oral Biology*, 48, 709–716.
239. Misawa, Y., Kageyama, T., Moriyama, K., Kurihara, S., Yagasaki, H., Deguchi, T., Ozawa, H., Sahara, N. (2007). Effect of age on alveolar bone turnover adjacent to maxillary molar roots in male rats: A histomorphometric study. *Archives of Oral Biology*, 52, 44–50.
240. Van der Velden, U. (1984). Effect of age on the periodontium. *Journal of Clinical Periodontology*, 11, 281–294.
241. Abiko, Y., Shimizu, N., Yamaguchi, M., Suzuki, H., Takiguchi, H. (1998). Effect of aging on functional changes of periodontal tissue cells. *Annals of Periodontology*, 3, 350–369.
242. *Effect of age on physiologic and mechanically stressed rat alveolar bone: a cytologic and histochemical study - PubMed*. Erişim 26.6.2022, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9456608.
243. Bridges, T., King, G., Mohammed, A. (1988). The effect of age on tooth movement and mineral density in the alveolar tissues of the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics : Official Publication of the American Association of Orthodontists, Its Constituent Societies, and the American Board of Orthodontics*, 93, 245–250.
244. Shimpo, S., Horiguchi, Y., Nakamura, Y., Lee, M., Oikawa, T., Noda, K., Kuwahara, Y., Kawasaki, K. (2003). Compensatory bone formation in young and old rats during tooth movement. *European Journal of Orthodontics*, 25, 1–7.
245. Van, P. T., Vignery, A., Baron, R. (1982). Cellular kinetics of the bone remodeling sequence in the rat. *The Anatomical Record*, 202, 445–451.
246. Baron, R., Tross, R., Vignery, A. (1984). Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: morphology, dynamic histomorphometry, and changes during skeletal maturation. *The Anatomical Record*, 208, 137–145.
247. King, G. J., Fischlschweiger, W. (1982). The Effect of Force Magnitude on Extractable Bone Resorptive Activity and Cemental Cratering in Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dental Research*, 61, 775–779.
248. Keklikci, H. B. Farklı dalga boylarındaki düşük doz lazer uygulamalarının sıçanlarda diş hareketi üzerine olan etkilerinin incelenmesi. *Acikbilim.Yok.Gov.Tr*. Erişim 14.7.2022, https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/127693
249. Öğrenim, G. Omega-3 yağ asitlerinin ortodontik diş hareketi üzerine etkilerinin deneysel olarak araştırılması.*Acikbilim.Yok.Gov.Tr*.Erişim14.7.2022,https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/583327.

250. Alhasyimi, A. A., Rosyida, N. F. (2019). Cocoa administration may accelerate orthodontic tooth movement by inducing osteoclastogenesis in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22, 206.
251. Miresmaeili, A., Mollaei, N., … R. A.(2015). Effect of dietary vitamin C on orthodontic tooth movement in rats. *Ncbi.Nlm.Nih.Gov*. Erişim 28.6.2022, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4754566.
252. *Caniklioğlu C, Kırlıç Y, Olgaç V. Lokal paratiroid...* - *Google Akademik*.. Erişim 14.7.2022, https://scholar.google.com/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=Caniklioğlu+C%2C+Kırlıç+Y%2C+Olgaç+V.+Lokal+paratiroid+uygulamasının+ortodontik+diş+hareketi+üzerine+olan+etkisinin+incelenmesi.+Türk+Ortodonti+Dergisi+1999%3B+12%281%29%3A+11-+17.&btnG=.
253. Boisson, M., Gianelly, A. A. (1981). Collagen synthesis in rat gingiva during tooth movement. *American Journal of Orthodontics*, 80, 289–299.
254. Wood, D. C., Wood, J. (1975). Pharmacologic and biochemical considerations of dimethyl sulfoxide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 243, 7–19.
255. Atak, A. Obez ratlarin kraniyofasiyal yapilarinin ve ortodontik diş hareketlerinin değerlendirilmesi. *Acikbilim.Yok.Gov.Tr*. Erişim 14.7.2022, https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/270265
256. Akbulut, S., Yagci, A., Yay, A. H., Yalcin, B. (2019). Experimental investigation of effects of platelet-rich plasma on early phases of orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 155, 71–79.
257. Yamasaki, K., Miura, F., Suda, T. (1980). Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. *Journal of Dental Research*, 59, 1635–1642.
258. Kvinnsland, S., Heyeraas, K., øfjord, E. S. (1989). Effect of experimental tooth movement on periodontal and pulpal blood flow. *European Journal of Orthodontics*, 11, 200–205.
259. Çağlaroğlu M.(2006) *Farklı yöntemlerle uygulanan prostaglandin E2'nin diş hareketi ve kemik metabolizması üzerine etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi: Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.
260. Drevenek, M., Volk, J., Sprogar, S., Drevenek, G. (2009). Orthodontic force decreases the eruption rate of rat incisors. *European Journal of Orthodontics*, 31, 46–50.
261. Semerci CN.(2004). *Obezite ve genetik. Gülhane Tıp Dergisi*, 46, 353-359.
262. Birch, L. L., Davison, K. K. (2001). Family environmental factors influencing the developing behavioral controls of food intake and childhood overweight. *Pediatric Clinics of North America*, 48, 893–907.
263. So, M., Gaidhu, M. P., Maghdoori, B., Ceddia, R. B. (2011). Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rats. *Lipids in Health and Disease*, 10, 1–12.
264. Panchal, S. K., Poudyal, H., Iyer, A., Nazer, R., Alam, A., Diwan, V., Kauter, K., Sernia, C., Campbell, F., Ward, L., Gobe, G., Fenning, A., Brown, L. (2011). High-carbohydrate high-fat diet–induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 57, 51–64.
265. Pritchett, C. E., Hajnal, A. (2011). Obesogenic diets may differentially alter dopamine control of sucrose and fructose intake in rats. *Physiology & Behavior*, 104, 111–116.
266. Simch, R. P., Gaio, E. J., Rösing, C. K. (2008). Effect of body weight in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. *Acta Odontologica Scandinavica*, 66, 130–134.
267. Moore, B. J. (1987). The cafeteria diet--an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *The Journal of Nutrition*, 117, 227–231.
268. Tian, Y. F., Hsia, T. L., Hsieh, C. H., Huang, D. W., Chen, C. H., Hsieh, P. S. (2011). The importance of cyclooxygenase 2-mediated oxidative stress in obesity-induced muscular insulin resistance in high-fat-fed rats. *Life Sciences*, 89, 107–114.
269. Du, J., Jiang, Q., Mei, L., Yang, R., Wen, J., Lin, S., Li, H. (2020). Effect of high fat diet and excessive compressive mechanical force on pathologic changes of temporomandibular joint. *Scientific Reports*, 10, 17457.
270. Damanaki, A., Memmert, S., Nokhbehsaim, M., Sanyal, A., Gnad, T., Pfeifer, A., Deschner, J. (2018). Impact of obesity and aging on crestal alveolar bone height in mice. *Annals of Anatomy, 218*, 227–235.
271. Krupa-Kozak, U., Markiewicz, L. H., Lamparski, G., Juśkiewicz, J. (2017). Administration of Inulin-Supplemented Gluten-Free Diet Modified Calcium Absorption and Caecal Microbiota in Rats in a Calcium-Dependent Manner. *Nutrients*, 9.
272. Soule, J. C., Neale, G., Peters, T. J. (1976). Functional and biochemical evidence of damage to

enterocytes induced by triparanol: role of lysosomes and the effect of gluten-free diet. *Clinical Science and Molecular Medicine*, 51, 19–25.
273. HF, S., R, B., J, S., SN, P., GH, C., MT, C. (2021). The impact of obesity on orthodontic treatment outcome in adolescents: a prospective clinical cohort study. *European Journal of Orthodontics*, 43, 165–172.
274. Anafy, A., Cohen, S., Ben Tov, A., Amir, A., Weintraub, Y., Moran-Lev, H., Dali Levy, M., Ankona Bussel, M., Yerushalmy Feler, A. (2021). The effect of gluten-free diet on body mass index in paediatric celiac disease. *Acta Paediatrica*, 110, 2233–2239.
275. Świeca, M., Regula, J., Suliburska, J., Zlotek, U., Gawlik-Dziki, U., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2020). Safeness of Diets Based on Gluten-Free Buckwheat Bread Enriched with Seeds and Nuts—Effect on Oxidative and Biochemical Parameters in Rat Serum. *Nutrients*, 12.
276. Kırmızıbekmez, H., Gerenli, N., Çeltik, C., Dursun, F. (2020). Significant improvement in bone mineral density in pediatric celiac disease: even at six months with gluten-free diet. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 34, 341–348.
277. Taranta, A., Fortunati, D., Longo, M., Rucci, N., Iacomino, E., Aliberti, F., Facciuto, E., Migliaccio, S., Bardella, M. T., Dubini, A., Borghi, M. O., Saraifoger, S., Teti, A., Bianchi, M. L. (2004). Imbalance of osteoclastogenesis-regulating factors in patients with celiac disease. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19, 1112–1121.
278. King, G. N., Cochrant, D. L. (2002). Factors that modulate the effects of bone morphogenetic protein-induced periodontal regeneration: a critical review. *Journal of Periodontology*, 73, 925–936.
279. Xue, H., Zheng, J., Cui, Z., Bai, X., Li, G., Zhang, C., He, S., Li, W., Lajud, S. A., Duan, Y., Zhou, H. (2013). Low-intensity pulsed ultrasound accelerates tooth movement via activation of the BMP-2 signaling pathway. *PloS One*, 8.
280. Han, J., He, H. (2016). Effects of piezosurgery in accelerating the movement of orthodontic alveolar bone tooth of rats and the expression mechanism of BMP-2. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12, 3009–3013.
281. Zhao, S., Wang, X., Li, N., Chen, Y., Su, Y., Zhang, J. (2015). Effects of strontium ranelate on bone formation in the mid-palatal suture after rapid maxillary expansion. *Drug Design, Development and Therapy*, *9*, 2725.
282. Nirwan, N., Vohora, D. (2022). Linagliptin in Combination With Metformin Ameliorates Diabetic Osteoporosis Through Modulating BMP-2 and Sclerostin in the High-Fat Diet Fed C57BL/6 Mice. *Frontiers in Endocrinology*, 13.
283. Morinobu, M., Ishijima, M., Rittling, S. R., Tsuji, K., Yamamoto, H., Nifuji, A., Denhardt, D. T., Noda, M. (2003). Osteopontin expression in osteoblasts and osteocytes during bone formation under mechanical stress in the calvarial suture in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 18, 1706–1715.
284. Zuza, E. P., Garcia, V. G., Theodoro, L. H., Ervolino, E., Favero, L. F. V., Longo, M., Ribeiro, F. S., Martins, A. T., Spolidorio, L. C., Zuanon, J. A. S., de Toledo, B. E. C., Pires, J. R. (2018). Influence of obesity on experimental periodontitis in rats: histopathological, histometric and immunohistochemical study. *Clinical Oral Investigations*, 22, 1197–1208.
285. Yanagihara, G. R., Shimano, R. C., Atsuko Tida, J., Suzuki Yamanaka, J., Yasuyo Fukada, S., Issa, J. P. M., Shimano, A. C., Tavares, J. M. R. S. (2017). Influence of High-Fat Diet on Bone Tissue: An Experimental Study in Growing Rats. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 21, 1337–1343.

EKLER

EK-1.Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 06/07/2020-E.21515

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 46418926-605.02
Konu : Etik Kurul Kararı (2020-03/06)

Sayın Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY
(SBÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi)

Yürütücüsü olduğunuz **"Glutensiz Beslenme ve Obezitenin Ratlarda Uygulanan Deneysel Ortodontik Diş Hareketine Etkilerinin İncelenmesi"** başlıklı bilimsel çalışma önerisi, SBÜ Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.06.2020 tarih ve **2020-03/06** sayılı toplantısında görüşülerek, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde ve sunulan prosedürlere uygun olarak, 3 yıllık bir süre içerisinde gerçekleştirilmesinin etik açıdan **"uygun"** olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Ülkan KILIÇ
HADYEK Başkanı

EK-2.Etik Kurul Tez Başlığı Değişikliği Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 03.10.2022-12295

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 27.09.2022
Toplantı Sayısı : 09
Karar Sayısı : 01

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Ortodonti Ana Bilim Dalı **Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY**'ın 09.09.2022 tarihli dilekçesi incelenmiş olup, 25.06.2020 tarih ve 2020-03/06 sayılı kararı ile Etik Kurul onayı verilmiş olan "Glutensiz Beslenme ve Obezitenin Ratlarda Uygulanan Deneysel Ortodontik Diş Hareketine Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı bilimsel çalışmanın proje başlığını değiştirme talebi 27.09.2022 tarihli 09 sayılı toplantıda Etik Kurulumuz tarafından görüşülmüş olup, çalışmanın başlığının "Glutensiz Beslenme ve Yüksek Yağlı Beslenmenin Ratlarda Uygulanan Deneysel Ortodontik Diş Hareketine Etkilerinin İncelenmesi" olarak değiştirilmesinin etik açıdan **"uygun"** olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Aslı Gibidir
Prof. Dr. Ülkan KILIÇ
HADYEK Başkanı