

 KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ <small>Akil - Ahlak - Adalet - Adap</small>	BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU	Doküman No	BAP.FR.008
		Yayın Tarihi	Temmuz 2018
		Revizyon No	01
		Revizyon Tarihi	Kasım 2023
		Sayfa No	1 / 12

PROJE NO:	KÜN.2024-BAGP-012	PROJE BAŞLIĞI:	Periodontitis Sıçan Modelinde Kinurenin Yolu Metabolitlerinin Değişimi Ve Bu Değişimin Glisemik Kontrol Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi			
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Adı-Soyadı	Unvanı	Birimi/Kurumu	Bölümü	Telefon	E-posta
	Ebru Afşar	Dr. Öğr. Üyesi	DHF	Biyokimya	05065400232	ebru.afsar@kapadokya.edu.tr
ARAŞTIRMACILAR <small>(Gerektiğinde yeni satır ekleyiniz.)</small>	Serdar Sütçü	Dr. Öğr. Üyesi	DHF	Periodonto loji	05324237078	serdar.sutcu@kapadokya.edu.tr
	Tayfun Ceylan	Dr. Öğr. Üyesi	DHF	Histoloji Embriyoloji	05052860524	tayfun.ceylan@kapadokya.edu.tr
	Kadirhan Doğan	Dr. Öğr. Üyesi	DHF	Anatomi	05059578994	kadirhan.dogan@kapadokya.edu.tr
	Mehmet Öz	Doç Dr. Üyesi		Fizyoloji	05526661923	mehmetoz@aksaray.edu.tr
	Erdem Aslan	Dr. Öğr. Üyesi		Farmakoloji	05335231860	erdemarslan@aksaray.edu.tr
PROJE TÜRÜ	Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Projesi (BAGP)					
PROJENİN YÜRÜTÜLDÜĞÜ AKADEMİK BİRİM	Diş Hekimliği Fakültesi					
PROJE BAŞLANGIÇ VE BİTİŞ TARİHİ	18 /04 /2024			20 /05 /2025		
DESTEKLEYEN DİĞER KURULUŞ <small>(Varsa)</small>	Kapadokya Üniversitesi					

1. PROJE TEKNİK RAPORU

1.1. Özet
<p>Çalışmamızda Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis)'in neden olduğu bozulmuş ağız sağlığının pankreas kinenin yolu (KP) aracılığıyla glikoz homeostazında meydana getireceği değişim ile timokinon (TQ) uygulamasının bu değişimler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. P. gingivalis'in neden olduğu bozulmuş ağız sağlığı modeli 10 µl P. gingivalis lipopolisakkaridi (P. gingivalis-Lps) (1 mg/ml)'nin 48 saatlik aralıklarla altı kez sıçanların palatal dişetine enjekte edilmesi ile oluşturuldu. TQ uygulaması 2 hafta boyunca oral gavaj yoluyla (günde 10 mg/kg) uygulandı. Glikoz homeostazi, homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR) ve β hücre fonksiyonu (HOMA-β düzeyleri) kullanılarak değerlendirildi. Kinurenin (KYN), triptofan (Trp), kinurenik asit (KYNA), kinolinik asit (QA), kinurenin 3-monooksijenaz (KMO), kinureninaz, interferon-γ (IFN-γ), insülin ve kaspaz-3 düzeyleri enzim bağlantılı immünosorbent testi (elisa) kullanılarak ölçüldü. Pankreastaki morfolojik değişiklikler hematoksilin ve eozin boyama ile belirlendi. Maksiller kemikteki kemik rezorpsiyonunu değerlendirmek için x-ışını radyografisi kullanıldı. LPS grubunda HOMA-IR, pankreatik KYN/Trp oranı, KYNA ve IFN-γ düzeyleri artarken, HOMA-β ve pankreatik QA düzeyleri azaldı. Ek olarak, pankreas dokusunun morfolojik yapısı bozuldu. TQ uygulaması pankreastaki morfolojik değişiklikleri iyileştirdi, pankreas QA düzeylerini artırdı ve LPS+TQ grubunda HOMA-β seviyelerini iyileştirdi. Ayrıca, TQ uygulaması LPS+TQ grubunun maksiller kemiğindeki kemik rezorpsiyonunu azalttı. Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen bulgular P. gingivalis-LPS'nin oral uygulaması pankreas dokusunda KP metabolitlerini KYNA'ya doğru değiştirdiğini, β hücre fonksiyonunu bozduğunu ve β hücre</p>

 KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ <small>Akil - Ahlak - Adalet - Adap</small>	BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU	Doküman No	BAP.FR.008
		Yayın Tarihi	Temmuz 2018
		Revizyon No	01
		Revizyon Tarihi	Kasım 2023
		Sayfa No	2 / 12

fonksiyonunu azalttığını göstermiştir. Ayrıca TQ uygulaması p. gingivalis tarafından indüklenen bu değişiklikleri tersine çevirmiş, böylece β hücre fonksiyonunun bozulmasını hafifletmiştir.

Anahtar Kelimeler:

Diyabet, Kinurenin, Pankreas, Porphyromonas gingivalis, Timokinon

1.2. Amaç:

Bu çalışmanın amacı Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis)'in neden olduğu bozulmuş ağız sağlığının pankreas kinenin yolu (KP) aracılığıyla glikoz homeostazında meydana getireceği değişim ile timokinon (TQ) uygulamasının bu değişimler üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

1.3. Kullanılan Yöntemler:

Hayvanlar

Erkek sıçanlar üzerinde yürütülen tüm deney protokolleri, Aksaray Üniversitesi Kurumsal Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi (2024/9-56) tarafından belirlenen standartlara uygun olarak gerçekleştirildi. Sıçanlar Aksaray Üniversitesi Hayvan Bakım Ünitesinden temin edildi. Tüm deneyler boyunca 3 aylık ve 200-300 g ağırlığında erkek albino Wistar sıçanları kullanıldı. Standart inek ve musluk suyu ad libitum olarak sağlandı ve hayvanlar her zaman 12:12 saatlik ışık-karanlık döngüsüyle standart koşullar altında (23 ± 1 °C ve $\%50 \pm 5$ nem) paslanmaz çelik kafeslerde barındırıldı.

P. gingivalis, periodontal hastalığa (PD) aracılık eden patojenlerden biridir; bu nedenle, önceki çalışmalarda açıklandığı gibi bozulmuş periodontal sağlık modeli oluşturmak için dişetine P. gingivalis-LPS enjekte edildi [1-4]. TQ'nun (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) suda çözünürlüğünün 0,5 mg/mL'den fazla olduğu bildirilmektedir; bu, farmakolojik etki göstermek için yeterlidir [5]. Hayvanlar rastgele dört gruba ayrıldı (grup başına n = 8). Oral enjeksiyonlar, sağ ve sol birinci ve ikinci üst azı dişleri arasına, damak dişetine 48 saatlik aralıklarla altı kez 10 μ L P. gingivalis-LPS veya tuzlu su uygulandı. Musluk suyu veya TQ solüsyonu (10 mg/kg/gün) 2 hafta boyunca oral gavaj yoluyla uygulandı. TQ uygulaması enjeksiyon gününde başlatıldı ve 14 gün boyunca devam etti. Kontrol grubuna tuzlu su enjeksiyonları ve musluk suyu; LPS grubuna (LPS) P. gingivalis-LPS enjeksiyonları ve musluk suyu; TQ grubuna (TQ) tuzlu su enjeksiyonları ve TQ; LPS+TQ grubuna (LPS+TQ) ise P. gingivalis-LPS enjeksiyonları ve TQ verildi. Deneysel periyodun sonunda sıçanlar ağızdan muayene edildi ve şişlik, kızarıklık ve dişeti kanaması gibi periodontitisin klinik özellikleri değerlendirildi [2]. Sonrasında sıçanlar ketamin (80 mg/kg) ve ksilazin hidroklorür (5 mg/kg) karışımı ile intraperitoneal olarak anestezi altına alındı ve sakrifiye edildi.

Doku toplama ve hazırlama

Maksiller çene kemiği X-ışını analizi için ayrıldı. Bazı pankreas dokuları biyokimyasal analiz için -80 °C'de saklanırken, diğerleri hematoksin ve eozin boyama için ayrıldı. Çıkarılan pankreas soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) içinde homojenize edildi ve daha sonra biyokimyasal analiz kullanmak için $10.000 \times g$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Plazma örnekleri 15 dakika boyunca $1.500 \times g$ 'de santrifüj edilerek ayrıldı.

Biyokimyasal analizler

 KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ <small>Akil - Ahlak - Adalet - Adap</small>	BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU	Doküman No	BAP.FR.008
		Yayın Tarihi	Temmuz 2018
		Revizyon No	01
		Revizyon Tarihi	Kasım 2023
		Sayfa No	3 / 12

KYN, TRP, KYNA, QA, IFN- γ , kaspaz-3, KMO ve Kinuraninaz düzeyleri pankreas dokusunda ölçüldü. İnsülin düzeyleri ayrıca plazma örneklerinde ölçüldü. Bu parametreler, üreticinin talimatlarına göre Bioassay Technology Laboratory'den (BT Lab) ticari kitler kullanılarak enzim bağlantılı immünosorbent deney tekniği kullanılarak analiz edildi.

Analiz sonuçları, örneklerdeki toplam protein düzeylerinin belirlenmesiyle ölçülen, doku başına analit miktarı (mg) veya gram (g) olarak ifade edildi. Doku örneklerinin protein konsantrasyonları, standart olarak sığır serum albümini kullanılarak Coomassie Plus reaktifi ile modifiye edilmiş bir Bradford deneyi kullanılarak 595 nm'de belirlendi (Pierce Chemical Company, Rockford, IL)[6].

KYN/TRP oranındaki (KTR) değişim, TRP'nin bozunma oranını yansıtır. Bu nedenle,IDO aktivitesini belirlemek için TRP/KYN oranı kullanılmıştır [7].

Glikoz homeostazının analizi: Hayvanların ölçüm gününden önceki akşam yiyecek erişimi kısıtlandı ve 8-10 saat sonra kuyruk bölgesinden kan alınarak bir glukometre (PlusMED Kan Glikoz Ölçer, Accuro, pM1-300, Bionime Corporation, Tayvan) kullanılarak ölçüldü.

İnsülin direnci, insülin (mIU/L) ile açlık kan şekeri (mmol/L) çarpımı ve 22,5'e bölünmesiyle hesaplanan Homeostatik Model Değerlendirmesi (HOMA-IR) kullanılarak değerlendirildi [8]. β -hücre fonksiyonu, $(360 \times \text{açlık plazma insülin})/(\text{açlık plazma glikozu} - 63)$ (%) denklemiyle hesaplanan HOMA- β düzeylerinin analizi kullanılarak değerlendirildi [9].

Pankreas dokularının histopatolojik incelemeleri

Pankreas dokuları %10 paraformaldehit/fosfat tamponlu tuzlu su solüsyonunda sabitlendi ve ardından standart bir parafine gömme işlemine tabi tutularak 5-6 μ m kesitler elde edildi. Son olarak kesitler Hematoksilin-eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskobu altında değerlendirildi (Leica DFC450, Almanya) [10, 11].

Periodontal dokunun röntgen filmleri

Diseke edilen maksiller kemik, alveolar kemik seviyesini belirlemek için 10x büyütmede periapikal bir X-ışını cihazı (KaVo Focus, KaVo Dental, Bieberich, Almanya) kullanılarak incelendi. Semento-mine birleşimi (CEJ) ile alveolar kemik tepesi (ABC) arasındaki mesafe medial ve distal olarak ölçüldü. CEJ, silico olarak çizilen ve dişin mezial ve distal projeksiyonlarında gösterilen bir çizgiyle bağlandı. Daha sonra, CEJ boyunca alveolar kemik tepesine dik çizgiler çizildi ve mesafe bilgisayar destekli sistem tarafından otomatik olarak ölçüldü (CLINIVIEW™ software, Instrumentarium Dental, Tuusula, Finland) [12, 13].

İstatistiksel analiz

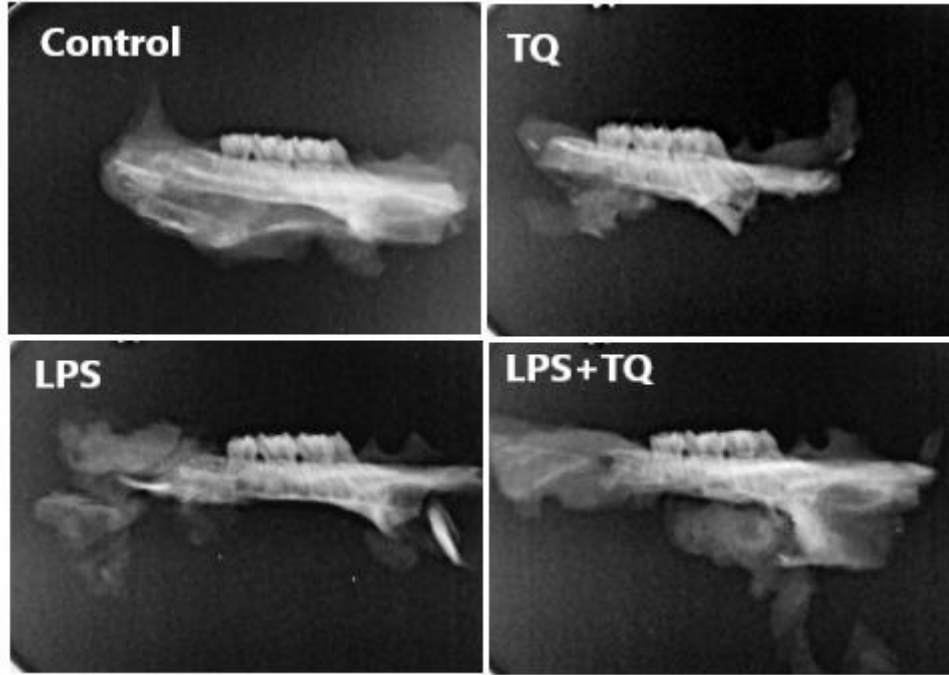
Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Windows için SPSS 23.0 (SPSS, Chicago, IL, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Biyokimyasal parametreler, normal dağılımlı değişkenler için Tukey post hoc testinin ardından tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve normal dağılımlı olmayan değişkenler için Kruskal-Wallis testinin ardından Mann-Whitney

U testi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar ortalama \pm SEM olarak ifade edilir. 0,05'ten küçük bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

1.4. Bilimsel Bulgular ve Sonuçlar:

Deney gruplarının oral muayene ve radyografi sonuçları

Sıçanların diş eti dokularının kırmızı ve şiş olduğunu, koyu kırmızı bir renk aldığını ve LPS enjeksiyonundan iki hafta sonra kendiliğinden kanama yaşadığını gözlemledik. Bu ön bulgular bozulmuş ağız sağlığının başarılı bir şekilde indüklendiğini gösterdi. TQ grubundaki sıçanların oral bulguları sağlıklı grupların bulgularına benzerdi. Ayrıca, LPS+TQ grubunun diş eti dokuları pembe görünürken, diş eti kenarları kırmızı ve şişti. Kanama tespit edilmedi. X-ışını filmleri, LPS enjekte edilen sıçanların ikinci maksiller molarında kontrol ve TQ uygulanan sıçanların aksine hafif alveolar kemik rezorpsiyonu gösterdi. Ayrıca, LPS+TQ grubunda alveolar kemik rezorpsiyonu hafifletildi (Şekil 1).



Şekil 1: Periodontal dokunun X-Ray filmleri.

Kısaltmalar: LPS, Porphyromonas gingivalis lipopolisakarit (P. gingivalis-LPS) enjekte edilen grup; TQ, Timokinon uygulanan grup; LPS+TQ, P. gingivalis-LPS enjekte edilen ve TQ uygulanan grup.

Glikoz homeostazının analizi

Öncelikle, çeşitli gruplardaki açlık glikoz ve insülin seviyelerini inceledik. Tablo 1'de gösterildiği gibi, kontrol grubunun açlık glikoz seviyeleri TQ grubunun ($p = 0,017$) ve LPS + TQ grubunun ($p = 0,007$) seviyelerinden önemli ölçüde düşüktü. Kontrol gruplarındaki açlık plazma insülin seviyeleri LPS ve LPS + TQ gruplarındakilerden düşüktü (sırasıyla $p = 0,048$ ve $p = 0,000$). Ardından, HOMA-IR ve HOMA- β seviyelerini belirledik. Kontrol gruplarının HOMA-IR seviyeleri LPS ve LPS + TQ

gruplarının seviyelerinden düştü (sırasıyla $p = 0,012$ ve $p = 0,006$). Ek olarak, HOMA- β düzeyleri kontrol gruplarında TQ ($p = 0,01$), LPS ($p = 0,014$) ve LPS + TQ ($p = 0,046$) gruplarına kıyasla daha yüksekti. LPS + TQ gruplarındaki HOMA- β düzeyleri LPS grubuna kıyasla arttı. Ancak, bu artış eğilimi anlamlı seviyelere ulaşmadı.

Pankreas dokusunda IFN- γ ve kaspaz-3 düzeylerinin analizi

Tablo 1'de gösterildiği gibi, kontrol grubunun pankreas örneklerindeki IFN- γ düzeyleri TQ grubundakilerden ($p = 0,055$), LPS grubundakilerden ($p = 0,025$) ve LPS+TQ grubundakilerden ($p = 0,037$) daha düşüktü. Ek olarak, LPS+TQ grubundaki pankreas örneklerindeki IFN- γ düzeyleri LPS grubundakilerden daha yüksekti. LPS grubunun pankreas örneklerindeki kaspaz-3 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldı ($p = 0,026$) ve LPS+TQ grubuna kıyasla belirgin şekilde azaldı ($p = 0,055$).

Tablo 1

Gruplar arasında glikoz homeostazisi ve pankreas IFN- γ ve kaspaz-3 düzeylerinin değerlendirilmesi

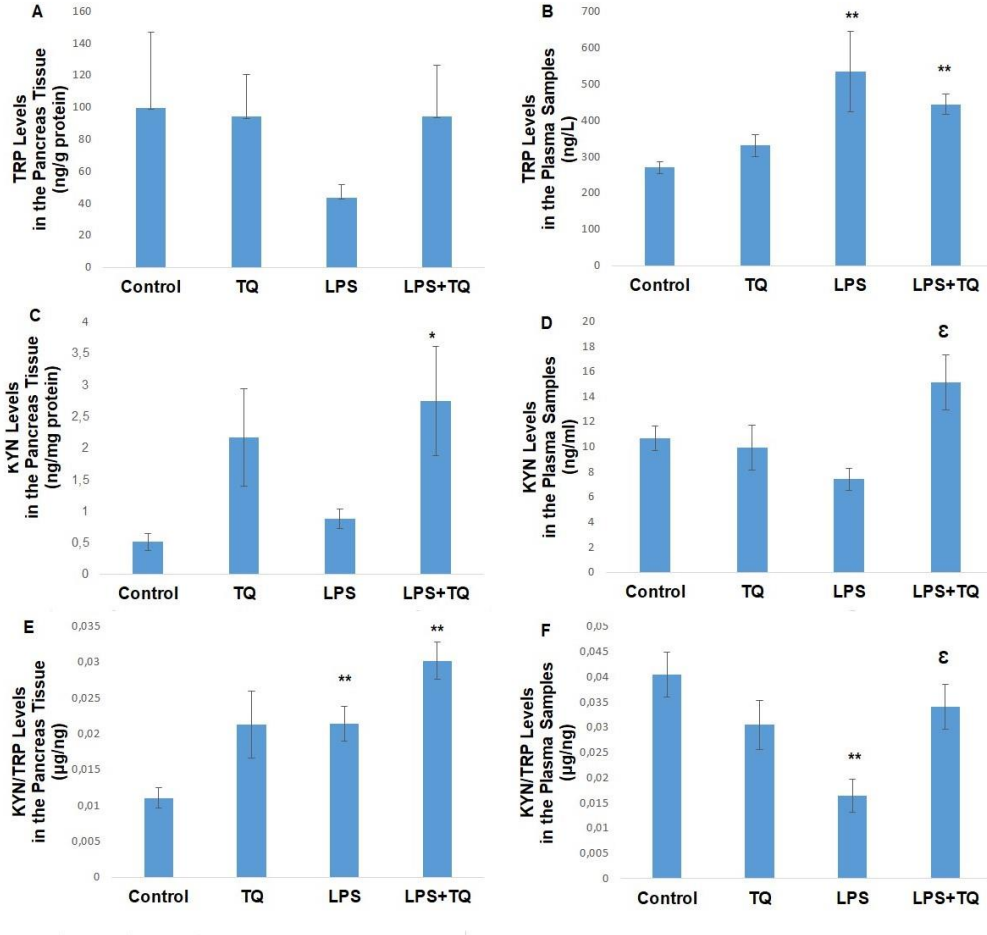
	Control	TQ	LPS	LPS+TQ
Body Weight Increase Levels (g)	52 \pm 5.328	48.75 \pm 3.886	9.37 \pm 3.295 ^{***###}	17.37 \pm 2.275 ^{***###}
Fasting Blood Glucose Levels (mg/dL)	90 \pm 2.909	105 \pm 3.876 [*]	101 \pm 4.305	107 \pm 2.542 ^{**}
Plasma Insulin Levels (IU/L)	26.55 \pm 0.880	30.423 \pm 2.397	33.536 \pm 1.552 [*]	38.648 \pm 1.819 ^{***#}
HOMA-IR Levels	5.7142 \pm 0.328	7.806 \pm 0.795	9.847 \pm 1.2870 [*]	10.229 \pm 0.685 ^{**}
HOMA-β Levels (%)	522.906 \pm 83.309	281.266 \pm 27.936 ^{**}	292.746 \pm 19.608 [*]	330.338 \pm 33.338 [*]
Pancreas IFN-γ levels (ng/g protein)	5.367 \pm 0.576	13.635 \pm 3.431	9.275 \pm 1.969 [*]	16.347 \pm 4.710 [*]
Pancreas Caspase-3 Levels (ng/mg protein)	0.874 \pm 0.327	0.841 \pm 0.348	0.185 \pm 0.021 [*]	0.673 \pm 0.2260

TRP, KYN ve KYN/TRP oranının analizi

Öncelikle, pankreas dokusu ve plazma örneklerinde çeşitli gruplar arasındaki TRP ve KYN seviyelerindeki farklılıkları araştırdık. Pankreas dokusunun TRP ve KYN seviyelerinde bir fark yoktu ($p = 0,567$; $p = 0,071$). Kontrol grubu için belirlenen TRP düzeyleri $99,727 \pm 47,40$ ng/g protein, LPS grubu için $43,495 \pm 8,16$ ng/g protein, LPS+TQ grubu için $9,369 \pm 31,75$ ng/g protein ve kontrol grubu için belirlenen KYN düzeyleri $0,510 \pm 0,132$ ng/mg protein, LPS grubu için $0,871 \pm 0,151$ ng/mg protein, TQ grubu için $2,156 \pm 0,770$ ng/mg protein ve LPS+TQ grubu için $2,737 \pm 0,868$ ng/mg proteindir (Şekil 2. A ve Şekil 2.C).

LPS grubunun (533.428 ± 110.32 ng/L) ve LPS+TQ grubunun (444.428 ± 27.94 ng/L) plazma örneklerindeki TRP düzeyleri, kontrol grubuna (270.023 ± 15.63 ng/L) kıyasla anlamlı şekilde artmıştır ($p=0.004$; $p=0.004$) TQ grubunun plazma örneklerindeki TRP düzeyleri (330.5 ± 31.17 ng/L) ile kontrol grubu ve LPS-TQ grubunun plazma örneklerindeki TRP düzeyleri arasında LPS grubu ile karşılaştırıldığında bir fark görülmemiştir (Şekil 2. B). KYN düzeyleri, LPS grubunun plazma örneklerinde (7.426 ± 0.880 ng/mL) kontrol grubuna (10.706 ± 0.974 ng/mL) kıyasla azalmıştır; Ancak, bu azalan eğilim istatistiksel öneme ulaşmadı ($p = 0,467$). TQ uygulaması, LPS+TQ grubunun plazma örneklerindeki KYN seviyelerini ($15,106 \pm 2,192$ ng/mL) LPS grubuna kıyasla önemli ölçüde artırdı ($p = 0,012$) (Şekil 2D).

Bunun ardından, pankreas dokusunda çeşitli gruplar arasında KTR oranında önemli farklılıklar gözlemlendi. Pankreas KTR oranı, kontrol grubunda ($0,0110 \pm 0,0013$ µg/ng) LPS grubuna ($0,0213 \pm 0,0024$ µg/ng) ve LPS+TQ grubuna ($0,0301 \pm 0,0026$ µg/ng) kıyasla sırasıyla daha düşüktür ($p = 0,010$; $p = 0,004$). TQ uygulaması, LPS+TQ grubu sıçanların pankreasındaki KTR oranını LPS grubuna göre artırdı. Ancak bu artış eğilimi istatistiksel olarak anlamlı düzeylere ulaşmadı ($p = 0,078$) (Şekil 2E). Ayrıca, LPS gruplarının plazma örneklerinde KTR oranının kontrol grubuna ($0,0404 \pm 0,0044$ µg/ng) göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ($p = 0,004$). TQ uygulaması, LPS+TQ grubunun plazma örneklerindeki KTR oranını ($0,0341 \pm 0,0044$ µg/ng) LPS grubuna ($p = 0,039$) göre artırdı (Şekil 2F).



Şekil 2: TRP, KYN Ve KYN/TRP Oranının Analizi.

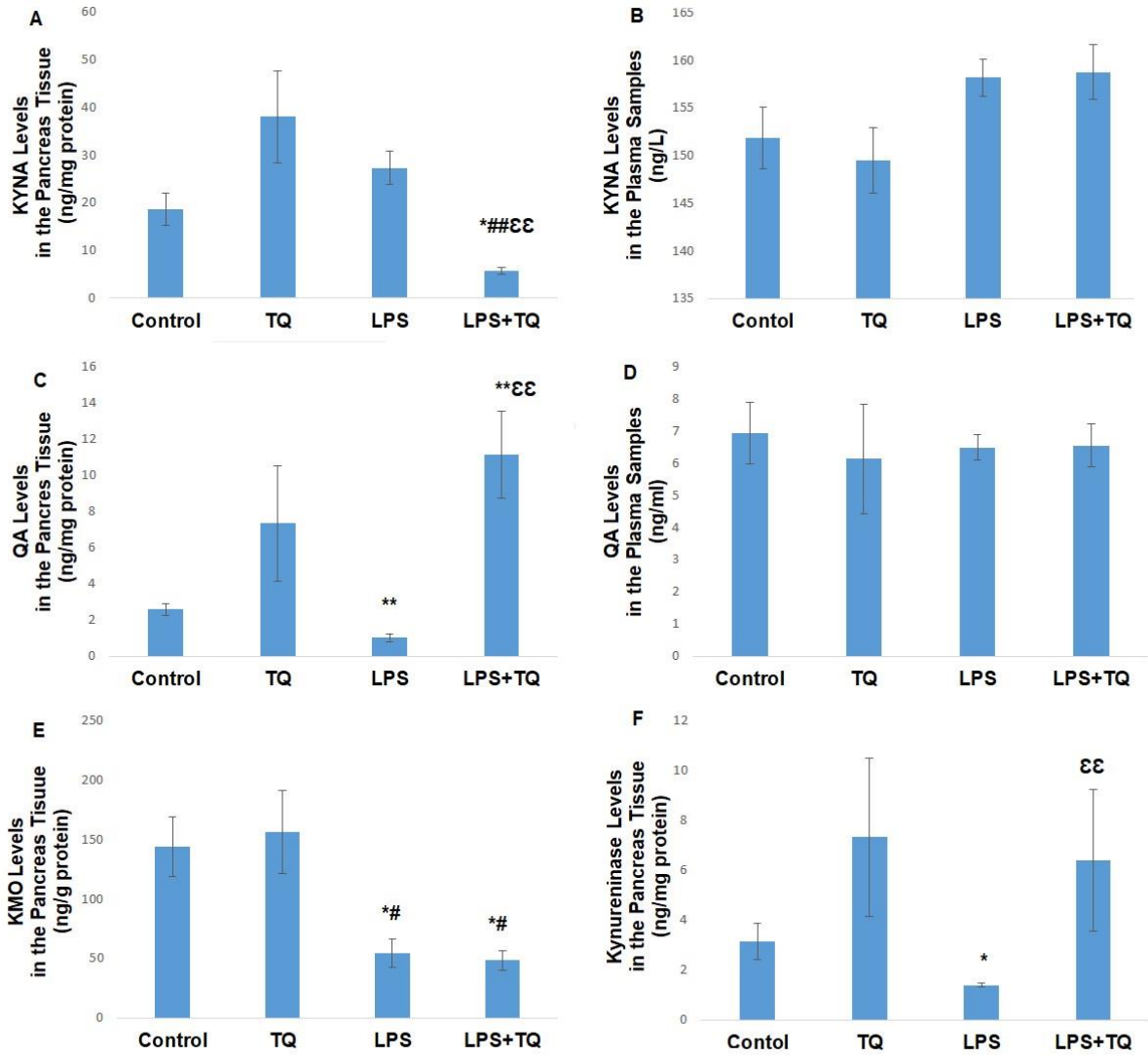
A: Pankreas dokusunun Trp seviyeleri; **B:** Serum örneklerinin Trp seviyeleri; **C:** Pankreas dokusunun KYN seviyeleri; **D:** Serum örneklerinin KYN seviyeleri; **E:** Pankreas dokusunun KYN/TRP seviyeleri **F:** Serum örneklerinin KYN/TRP seviyeleri. Pankreas dokusunun Trp seviyelerinin, serum örneklerinin KYN seviyelerinin ve serum örneklerinin KYN/TRP seviyelerinin istatistiksel analizi, Tukey'in Post Hoc Testi'ni izleyen tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapıldı. Serum örneklerinin Trp seviyelerinin, pankreas dokusunun KYN seviyelerinin ve pankreas dokusunun KYN/TRP seviyelerinin istatistiksel analizi, Kruskal Wallis'in Sıralamalarda Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılarak yapıldı. Tüm çiftler halinde çoklu karşılaştırma prosedürleri Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Tüm değerler her grup için ortalama \pm SEM ve n=6'dır. *, p<0,05 kontrole karşı; **, p<0,01 kontrole karşı; ***, p<0,001 kontrole karşı; #, p<0,05 TQ'ya karşı; ##, p<0,01 TQ'ya karşı; ###, p<0,001 TQ'ya karşı; E, p<0,05 EE; p<0,01 LPS'ye karşı EEE; p<0,001 LPS'ye karşı. **Kısaltmalar:** TRP, Triptofan; KYN, Kinurenin.

Pankreas dokusu ve plazma örneklerinde KYNA ve QA düzeylerinin analizi

LPS grubundaki pankreas KYNA düzeyleri ($27,328 \pm 3,553$ ng/mg protein) kontrol grubundaki düzeylerden ($18,601 \pm 3,319$ ng/mg protein) daha yüksekti; ancak bu artış eğilimine rağmen anlamlı bir fark yoktu ($p = 0,078$). LPS+TQ grubunun KYNA düzeyleri ($5,679 \pm 0,643$ ng/mg protein) kontrol grubu, TQ grubu ($38,023 \pm 9,697$ ng/mg protein) ve LPS grubuyla karşılaştırıldığında azalmıştı ($p:0,016$, $p=0,004$, $p=0,004$) (Şekil 3 A).

Çeşitli gruplar arasında plazma örneklerindeki KYNA seviyelerinde anlamlı bir fark yoktu ($p = 0,087$) ve kontrol grubu için belirlenen KYNA seviyeleri $151,818 \pm 3,213$ ng/ml; TQ grubu $149,491 \pm 3,397$ ng/ml; LPS grubu $158,193 \pm 1,939$ ng/ml; LPS+TQ grubu $158,746 \pm 2,855$ ng/ml idi (Şekil 3 B).

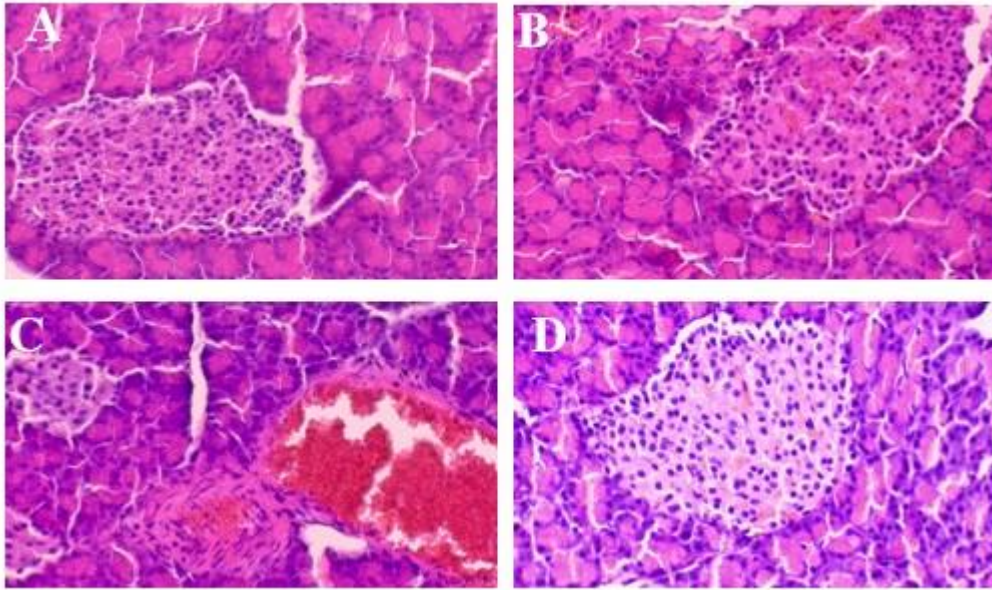
LPS grubunun pankreas QA düzeyleri (1.029 ± 0.207 ng/mg protein), kontrol grubuna (2.585 ± 0.317 ng/mg protein) ve LPS+TQ grubuna (11.109 ± 2.400 ng/mg protein) göre daha düşüktü ($p=0.004$, $p=0,004$) (Şekil 3.C). Plazma örneklerindeki QA düzeylerinde çeşitli gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ve kontrol grubu için belirlenen QA düzeyleri 6.940 ± 0.952 ng/ml; TQ grubu için 6.13 ± 1.693 ng/ml; LPS grubu için 6.483 ± 0.399 ng/ml; LPS+TQ grubu için 6.55 ± 0.676 ng/ml idi (Şekil 3.D).



Şekil 3: Kinurenin yollarının metabolitlerinin analizi. **A:** Pankreas dokusunun KYNA düzeyleri; **B:** Serum örneklerinin KYNA düzeyleri; **C:** Pankreas dokusunun QA düzeyleri; **D:** Serum örneklerinin QA düzeyleri; **E:** Pankreas dokusunun KMO düzeyleri; **F:** Pankreas dokusunun kinureninaz düzeyleri. Serum örneklerinin KYNA ve QA düzeyleri ile pankreas dokusunun KMO düzeylerinin istatistiksel analizi, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey Post Hoc kullanılarak yapıldı. Pankreas dokusundaki KYNA, QA ve kinureninaz düzeylerinin istatistiksel analizi Kruskal Wallis'in Sıralamalarda Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılarak yapıldı. Tüm çiftler halinde çoklu karşılaştırma prosedürleri Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Tüm değerler her grup için ortalama \pm SEM ve $n = 6$ 'dır. *, kontrole kıyasla $p < 0,05$; **, kontrole kıyasla $p < 0,01$; ***, kontrole kıyasla $p < 0,001$; #, TQ'ya kıyasla $p < 0,05$; ##, TQ'ya kıyasla $p < 0,01$; ###, TQ'ya kıyasla $p < 0,001$; ε., $p < 0,05$ εε; $p < 0,01$ vs LPS εεε; $p < 0,001$ vs LPS. **Kısaltmalar:** KYNA, kinurenik asit; QA, kinolinik asit; KMO, kinurenin 3-monooksijenaz.

Pankreas Dokusunda KMO ve Kinureninaz Düzeylerinin Analizi

Kontrol grubunun pankreas KMO düzeyleri (144.022 ± 25.075 ng/g protein), LPS grubunun (54.046 ± 11.874 ng/g protein) ve LPS+TQ grubunun (48.342 ± 8.306 ng/g protein) düzeylerinden daha yüksekti ($p = 0.048$, $p = 0.033$). Ek olarak, TQ grubundaki KMO düzeyleri (156.276 ± 34.649 ng/g protein), LPS grubundakilerden daha yüksekti ($p = 0.021$, $p = 0.015$) (Şekil 3E). LPS grubunda pankreas kinüreninaz düzeylerinin (1.399 ± 0.059 ng/mg protein), kontrol grubuna (3.136 ± 0.712 ng/mg protein) ve LPS+TQ grubuna ($6.401 \pm 2,848$ ng/mg protein) göre azaldığı gözlemlendi ($p=0.025$, $p=0.004$). TQ uygulaması TQ grubunda kinüreninaz düzeylerini artırdı (7.328 ± 3.171 ng/mg protein). Ancak bu artış eğilimiyle anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 3.F).

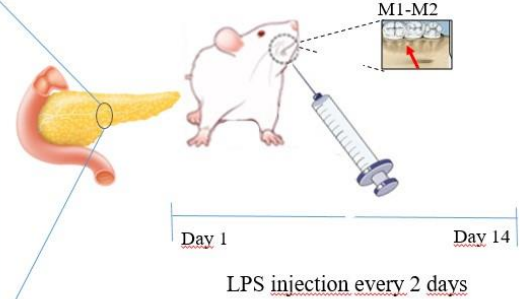
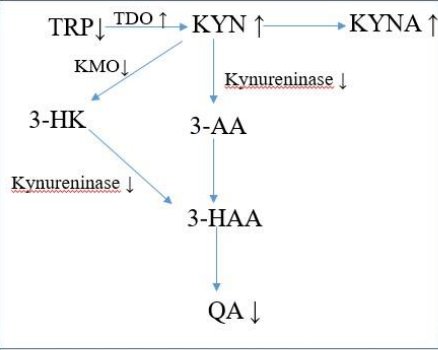


Şekil 4: Hematoksilin ve eozin boyası ile pankreastaki histolojik değişiklikler (büyütme $\times 40$). **A:** Kolajen fibrilleri olan normal parankimal hücreleri gösteren kontrol sıçanlarından alınan pankreasın fotomikrografisi. **B:** Tipik doku mimarisini gösteren TQ kontrol sıçanlarından alınan pankreasın fotomikrografisi. **C:** Mononükleer hücre infiltrasyonu, inflamasyon ve hemoraji ile anormal asiner hücreleri gösteren LPS gruplarından alınan pankreasın fotomikrografisi. **D:** Hafif inflamatuvar değişikliklerle tipik doku mimarisinin sayısız alanını gösteren LPS+ TQ gruplarındaki sıçanlardan alınan pankreasın fotomikrografisi.

Grafiksel Özet

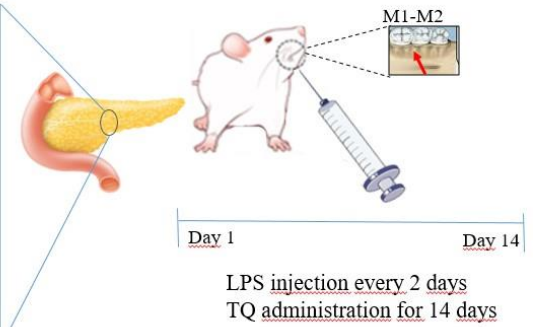
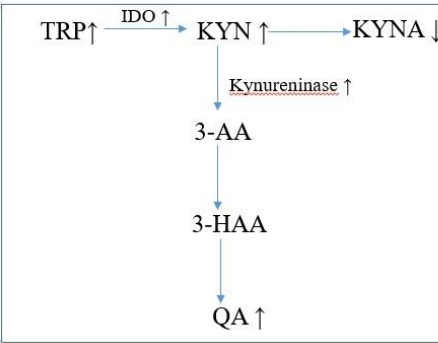
A)

HOMA IR levels ↑
HOMA β levels ↓



B)

HOMA IR levels
(unchanged)
HOMA β levels ↑



A: P.gingivalis-LPS enjeksiyonunun pankreas KP ve glikoz homeostazisi üzerindeki etkisi

B: TQ uygulamasının P.gingivalis-LPS kaynaklı pankreas KP ve glikoz homeostazisi değişiklikleri üzerindeki etkisi

Kısaltmalar: P. gingivalis-LPS, Porphyromonas gingivalis lipopolisakarit; TRP, triptofan; KYN, Kinurenin. KP, Kinurenin yolu; KYNA, kinurenik asit; QA, kinolinik asit; KMO, Kinurenin 3-monooksijenaz, IDO, indolamin 2,3-dioksijenaz

1.5. Sonuçların Değerlendirilmesi:

Sonuç olarak, sonuçlarımız P. gingivalis-LPS'nin oral uygulamasının pankreas dokusunda IFN-γ ve QA seviyelerinde azalmaya ve KYNA seviyelerinde artışa yol açtığını ve bunun sonucunda β hücre fonksiyonunun bozulduğunu göstermektedir. TQ uygulaması, P. gingivalis tarafından indüklenen değişiklikleri tersine çevirerek β hücre fonksiyonunun bozulmasını hafifletir.

Çalışmamızda, ağız sağlığı bozulmasının KP yoluyla başladığı erken evrelerde periodontal hastalıklar ile diyabet arasındaki ilişki incelendi ve özellikle P. gingivalis'e odaklanıldı. Çalışmamızın sonuçlarına göre, P. gingivalis patojeni KP yoluyla diyabetojenik durumların gelişimine aracılık ederek ağız sağlığının bozulmasına katkıda bulunabilir. Araştırmamızdan elde edilen sonuçların bu bağlantıyı anlamaya katkıda bulunması beklenmektedir.

2. PROJE ÇIKTILARI (Kitap, Kitap Bölümü, Makale, Bildiri, Tez, Patent vb. Çıktılara İlişkin Bilgiler)

 KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ <small>Akıl - Ahlak - Adalet - Adap</small>	BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU	Doküman No	BAP.FR.008
		Yayın Tarihi	Temmuz 2018
		Revizyon No	01
		Revizyon Tarihi	Kasım 2023
		Sayfa No	11 / 12

3. PROJE ÇALIŞMA TAKVİMİ İLE İLGİLİ BİLGİLER (Gecikmeler, Sapmalar, Düzeltmeler ve Açıklamalar)

4. PROJE BÜTÇESİ

Bütçe Kalemi	Onaylanan Bütçe (TL)	Harcanan Bütçe (TL)	Kalan Bütçe (TL)
Personel Giderleri			
Seyahat Giderleri	25.000	25.386	0
Makine-Teçhizat Giderleri			
Tüketim Malzemesi Giderleri	203.000	216.454	0
Yazılım Giderleri			
Hizmet Alım Giderleri			
TOPLAM	228.000	241.840	0

5. DİĞER DEĞERLENDİRMELER (Varsa)


Proje başvurumuz 18/04/2024 tarihinde yapılmıştır, proje 21 aylık bir proje olarak tasarlanmıştır. Deneysel malzemelerimiz vaktinde gelmiştir. Dolayısıyla çalışmamızın özgünlüğünü kaybetmeden tamamlanması ve yayına dönüştürülebilmesi için deneysel süreçleri mümkün olduğunca hızlı tamamlanmaya çalışılmıştır.

Dr öğretim üyesi Işıl Eranil'in özverili çalışmaları neticesinde histolojik analizlerin sonuçlanması oldukça hızlı gerçekleşmiştir.

Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi proje yürütücüsü olarak tarafımca hafta sonları çalışmak suretiyle oldukça hızlı tamamlanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamız başarı ile tamamlanmış ve SCI indeksli ve Q2 sınıfta olan 'Biological trace element research' dergisinde değerlendirmeye alınmıştır.

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜNÜN:

Unvanı-Adı-Soyadı	Birimi-Bölümü/Programı	Tarih	İmza
EBRU AFŞAR	DHF	20/05/2025	

- Khuda, F., et al., *Effective Modalities of Periodontitis Induction in Rat Model*. Journal of Veterinary Dentistry, 2023.

 KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ <small>Akil - Ahlak - Adalet - Adap</small>	BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU	Doküman No	BAP.FR.008
		Yayın Tarihi	Temmuz 2018
		Revizyon No	01
		Revizyon Tarihi	Kasım 2023
		Sayfa No	12 / 12

2. Dumitrescu, A.L., et al., *A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation*. Journal of Clinical Periodontology, 2004. **31**(8): p. 596-603.
3. Khuda, F., et al., *Effective Modalities of Periodontitis Induction in Rat Model*. J Vet Dent, 2024. **41**(1): p. 49-57.
4. Dumitrescu, A.L., et al., *A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation*. J Clin Periodontol, 2004. **31**(8): p. 596-603.
5. Zhou, X.J., et al., *Thymoquinone Suppresses the Proliferation, Migration and Invasiveness through Regulating ROS, Autophagic Flux and miR-877-5p in Human Bladder Carcinoma Cells*. International Journal of Biological Sciences, 2021. **17**(13): p. 3456-3475.
6. Bradford, M.M., *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Anal Biochem, 1976. **72**: p. 248-54.
7. Strasser, B., K. Berger, and D. Fuchs, *Effects of a caloric restriction weight loss diet on tryptophan metabolism and inflammatory biomarkers in overweight adults*. Eur J Nutr, 2015. **54**(1): p. 101-7.
8. Yang, S., et al., *Pioglitazone ameliorates Abeta42 deposition in rats with diet-induced insulin resistance associated with AKT/GSK3beta activation*. Mol Med Rep, 2017. **15**(5): p. 2588-2594.
9. Beamish, C.A., et al., *Pretransplant HOMA- β Is Predictive of Insulin Independence in 7 Patients With Chronic Pancreatitis Undergoing Islet Autotransplantation*. Transplantation Direct, 2022. **8**(10).
10. Periyamayagam, S., et al., *Thymoquinone ameliorates NLRP3-mediated inflammation in the pancreas of albino Wistar rats fed ethanol and high-fat diet*. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 2015. **26**(6): p. 623-32.
11. Dur, A., et al., *The anti-inflammatory and antioxidant effects of thymoquinone on ceruleine induced acute pancreatitis in rats*. Bratisl Lek Listy, 2016. **117**(10): p. 614-618.
12. Wang, Y., et al., *Effect of Eucommia water extract on gingivitis and periodontitis in experimental rats*. BMC Oral Health, 2022. **22**(1): p. 326.
13. Parvaneh, M., et al., *Periodontitis induces endothelial dysfunction in mice*. Sci Rep, 2021. **11**(1): p. 14993.