



MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ
“MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.”

<http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/sabed/index>



DeneySEL Periodontitis Çalışmalarında Alveoler Kemik Kaybı Ölçümlerinde Direkt ve İndirekt Yöntemlerin Karşılaştırılması *Comparison of Direct and Indirect Measurement Methods of Alveolar Bone Loss in Experimental Periodontitis Studies*

Burcu Bakır¹, Zuhale Yetkin Ay²

¹ Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, BURDUR, TÜRKİYE

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, İSPARTA, TÜRKİYE

Abstract: The aim of this study is to compare direct and indirect morphometric methods of the distance between cemento-enamel junction and alveolar bone crest measurement. Maxillary segments of 38 Wistar rats were used in the study. The distance between cemento-enamel junction and alveolar bone crest in maxillary segments was evaluated by a specific software program (v.3.5 Able Software Corp) on digital photography in Group 1, and by periodontal probe and a digital caliper using a dental loop in Group 2. Mann-Whitney U test was used for intergroup comparison ($p < 0.05$). The median values of the bone measurement were found as 0.47 (0.28-0.93) and 0.59 (0.29-1.10) mm in Group 1 and Group 2, respectively. There was no significant difference in measurements between two groups ($p = 0.45$). This result shows that direct method is a preferable method to determine bone loss, in conditions where a software program cannot be used.

Öz: Bu çalışmanın amacı mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki mesafenin ölçümünde direkt ve indirekt morfometrik yöntemleri karşılaştırmaktır. Çalışmada 38 adet Wistar sıçan maksiller segmenti kullanılmıştır. Maksiller segmentlerde mine-sement sınırıyla alveoler kemik kreti arasındaki mesafe 1. Grupta dijital fotoğraflar üzerinde özel bir yazılım programıyla (v.3.5 Able Software Corp) değerlendirilirken; 2. Grupta ölçümler dental loop altında periodontal sond (Williams Sond; Hu-Friedy, Chicago, IL) ve dijital kumpas (Astor; AS.KDK0150, İstanbul, Türkiye) aracılığıyla direkt görsel yöntemle yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanıldı ($p < 0,05$). Kemik ölçüm medyan değerleri Grup 1 ve Grup 2 için 0,47 (0,28-0,93) ve 0,59 (0,29-1,10) mm olarak bulundu. Yapılan ölçümlerde iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0,45$). Bu sonuç yazılım programı kullanma koşulları söz konusu olmadığında alveoler kemik yüksekliğinin direkt yöntemle belirlenmesinin tercih edilebilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Key words: Experimental periodontitis, direct visual method, measurement, morphometry.

Anahtar sözcükler: DeneySEL periodontitis, direkt görsel yöntem, morfometri, ölçüm.

Yazışma Adresi: Prof. Dr. Zuhale YETKİN AY

Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, İSPARTA, TÜRKİYE.

E-posta: zuhalay@sdu.edu.tr **Tel:** 0246 2118798

Geliş Tarihi: 23.02.2016

Kabul Tarihi: 27.06.2016

Kaynak göstermek için: Bakır B, Yetkin Ay, Z. 2016. DeneySEL periodontitis çalışmalarında alveoler kemik kaybı ölçümlerinde direkt ve indirekt yöntemlerin karşılaştırılması. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 4(1): 11-20.

Giriř

Periodontitis gingival sulkusun patolojik olarak derinleşmesi ile epitelyal ataçmanın apikale migrasyonu, alttaki destek bağ dokusu ve alveol kemiğın yıkımıyla karakterize, plak biyofilmine yanıt olarak oluşan kronik, bakteriyel, enfeksiyöz, enflamatuvar bir hastalıktır (Kinane ve ark., 2001; Matthews ve ark., 2007).

İnsanlar üzerinde yapılan periodontitis çalışmalarında hastalığa yatkınlık, hastalığın aktivite düzeyi, ilerleyişi ve süresi gibi bireysel farklılıklarla gelişebilecek doku yanıtındaki çeşitliliğın yanısıra; sigara kullanımı, oral hijyen, sistemik durum, stres ve cinsiyet çelişkili sonuçlara yol açmaktadır (Dumitrescu ve ark., 2004). Bu nedenle araştırmacılar deneysel çalışmalara yönelmiştir. Periodontal hastalığın deneysel modelleri insanlardakine benzer bir enfeksiyöz süreç oluşturmak, hastalık patogenezinin fizyolojisini taklit etmek ve hastalık sürecini daha iyi anlamak için kullanılan yöntemlerdir (Molon ve ark., 2014). Deneysel modellerde maymunlar, köpekler, tavşanlar, domuzlar, hemstırlar ve gelincikler gibi çeşitli hayvanlar kullanılmakla birlikte sıçanlar; diğeri hayvanlara göre daha ucuz olmaları, kolay temin edilmeleri, kullanımlarının kolay olması, farklı genom ve mikrobiyal durumlara sahip olmaları gibi özellikleri nedeniyle periodontal hastalık patogenezinin değerlendirmede tercih edilmektedir (Oz ve Puleo, 2011). Bu hayvanların molar bölgelerinin periodontal anatomileri, sığ gingival sulkusları ve birleşim epitelinin diş yüzeyine ataçmanı, biyofilm gelişimi ve içeriği, periodontal lezyonların histopatoloji ve immünobiyolojisi de insanlardakine benzerlik göstermektedir (Azambuja ve ark., 2012).

Periodontal hastalığı indüklemek için kullanılan deneysel yöntemler inaktif bakterinin veya patojen komponentin (LPS vb) maksiller palatal gingival dokuya lokalize enjeksiyonu, oral gavaj modeli ve ligatür modelidir (Struillou ve ark., 2010). Mikroorganizmaların akümülyasyonuna ve kolonizasyonuna izin veren ligatür modeli kemirgenlerde deneysel periodontal hastalığı oluşturmak için en sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu model bakteri plağı varlığına bağımlıdır ve doğal plak oluşumuna en yakın model olarak kabul edilir (Bezerra ve ark., 2002; Azambuja ve ark., 2012).

Deneysel dönemi takiben hastalığın deneysel gelişimine neden olan faktörün etkisini anlamak için yıkım miktarını belirlemek önemlidir. Hayvan modelleri, insan modellerinde yapılması mümkün olmayan ölçümlerin yapılmasını, sonucun ve enflamatuvar sürecin metrik olarak değerlendirilmesini sağlar. Bu amaçla literatürde deneysel periodontitis çalışmalarında

alveoler kemik kaybı miktarının histolojik, morfometrik ve radyografik olarak doğrusal ve iki boyutlu olarak ölçüldüğü; mikrokompüterize tomografi (mikro-BT) ile kemik yıkımının üç boyutlu değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır (Rivaldo ve ark., 2007; Li ve Amar, 2007). Bu yöntemlerden histolojik analiz metodu alveol kemik yıkımının ölçümünde geniş çapta kullanılmaktadır (Li ve Amar, 2007). Ancak periodontisteki kemik yıkım paterninin uniform olmaması bu yöntemde problemlere yol açmaktadır. Yöntemin invaziv iki boyutlu doğası, histolojik işlemler sırasında oluşabilecek problemler, yüksek maliyet ve uzun süre gerektirmesi histolojik analizlerin diğer önemli dezavantajlarıdır (Fernandes ve ark., 2007; Chang ve ark., 2012). Oldukça sık kullanılan bir başka yöntem olan iki boyutlu radyografik yöntemlerle interproksimal kemik kretindeki değişiklikler belirlenebilirken, fasiyal ve lingual alanlardaki kemik kayıp miktarı tam olarak değerlendirilememektedir (Björnsson ve ark., 2003; Fine ve ark., 2009; Chang ve ark., 2014). Radyografik yöntemler anatomik yapıların süperpozisyonu ve zaman içerisinde ışınlama açılarının tekrarlanamaması gibi ciddi sınırlamalara sahiptir (Misch ve ark., 2006). Diğer dezavantajları arasında kemik yıkım miktarını olduğundan daha az gösterme, kemik içi defektlerin morfolojisinin değerlendirilmesindeki zorluk, dehissens ve fenestrasyonların saptanmasında zorluk bulunmaktadır (Akeson ve ark., 1992; Pepelassi ve Diamanti, 1997). Periodontal hastalıklar sırasında oluşan üç boyutlu (3B) kemik içi değişikliklerle ilgili bilgi verebilen bir yöntem olan mikro BT, kemik kütlesi ve kemik mikroyapısı ölçümünde hassas, invaziv olmayan bir yöntemdir (Barou ve ark., 2002; Gielkens ve ark., 2008; Liu ve ark., 2010). Bu yöntemin dezavantajı ise pahalı oluşu, görüntülerin oluşturulması ve kemik kaybının ölçümünün uzun sürmesidir (Liu ve ark., 2010).

Bu çalışmada alveol kemik kaybı miktarı ölçümünde direkt (alveoler kemik üzerinden dental loop ve dijital kumpas yardımıyla manuel ölçüm) ve indirekt (dijital fotoğraf üzerinden özel yazılım programı aracılığıyla ölçüm) yöntemler karşılaştırıldı. Direkt ölçüm yönteminin indirekt yöntemden daha yüksek değer vereceği hipotezinin test edilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları

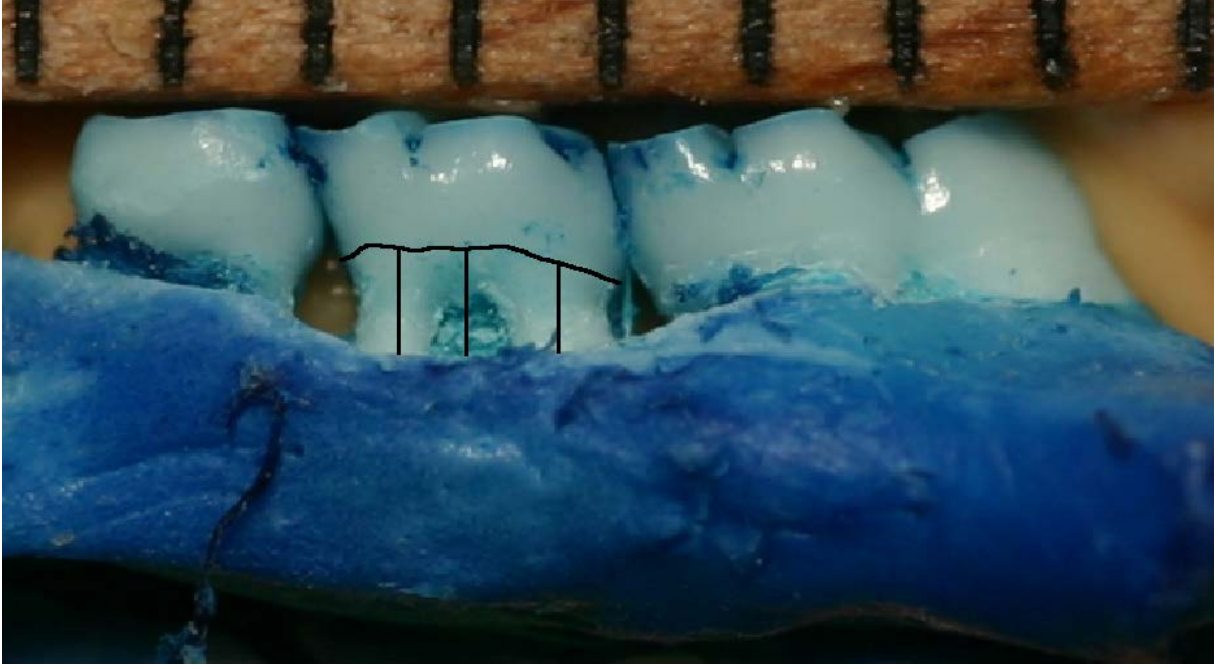
Bu çalışmada kullanılan alveoler kemik örnekleri daha önce tarafımızca yürütölen 07.11.2013 tarihli, 04 sayılı karar ile Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onaylı, 3849-D1-14 numaralı (SDÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi destekli projede kullanılan 38 adet Wistar albino sıçana aittir.

Mine-Sement Sınırı ile Alveoler Kemik Kreti Arası Mesafenin Belirlenmesi ve Dijital Fotoğraflar Üzerinde Yazılım Programı ile Değerlendirilmesi

Sıçanlardan elde edilen maksiller segmentlerde mine-sement sınırıyla alveoler kemik kreti arasındaki mesafenin belirlenmesi amacıyla tüm maksiller segmentler, +4 C’de 24 saat %3’lük hidrojen peroksitte bekletildikten sonra +4 C’de %10’luk formolde saklandı. Mine-sement sınırını belirlemek amacıyla %1’lik metilen mavisinde (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) 1 dakika bekletildikten sonra akan su altında yıkayıp, basınçlı havayla kurutuldu. Daha sonra alveoler kemik yıkımının değerlendirilebilmesi için 8.5 megapiksel dijital kamera (Canon EOS 300D, Canon Inc., Japan) ve 100 mm’lik lensle (Canon Macro 2.8 EXES, Canon Inc., Japan) maksiller segmentlerin fotoğrafları çekildi.

Çekimler sırasında tripod kullanılarak kamera minimal odak uzaklığında yere paralel hale getirildi. Örnekler ölçü maddesi içerisine gömölerek, okluzal yüzeyleri ölçeklendirme için referans olarak yerleştirilen milimetrik cetvele bakacak ve cetvelle maksimum temasa gelecek şekilde sabitlendikten sonra bukkal ve palatinal yüzeyler fotoğraflandı.

Software 3D-Doctor (v.3.5 Able Software Corp, Lexington, MA, USA) kullanılarak mine-sement sınırı ile kemik kreti arasındaki doğrusal mesafe 2. molarların bukkal ve palatinal yüzeylerinde mesial kök, furkasyon bölgesi ve distal kök üzerinde olmak üzere 6 ölçümün ortalaması alınacak şekilde değerlendirildi (Resim 1).



Resim 1. Dijital fotoğraflarda milimetrik cetvele sabitlenen maksiller segmentte bukkal yüzeyde yapılan doğrusal ölçüm.

Direkt Görsel Yöntemle Değerlendirilmesi

Maksiller segmentlerin tümünde kemik kaybı miktarları dental loop ile periodontal sond (Williams Sond; Hu-Friedy, Chicago, IL) ve dijital kumpas (Astor; AS.KDK0150, İstanbul, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Mine-sement sınırı ile kemik kreti arasındaki doğrusal mesafe dijital fotoğraf üzerinde yapılan ölçümlerde kullanılan bölgelerden (2. molarların bukkal ve palatinal yüzeylerinde mesial kök, furkasyon bölgesi ve distal kök üzerinde) olmak üzere 6 ölçümün ortalaması alınacak şekilde değerlendirildi. Periodontal sond defekt tabanına yerleştirilerek kök yüzeyinin dikey eksenine paralel hale getirildi ve mine-sement sınırındaki nokta küçük bir endodontik plastik halkayla işaretlendi. Periodontal sond ucu ve plastik halka arasındaki mesafe dijital kumpasla değerlendirilerek kemik kayıp miktarı ölçüldü (Scaf ve ark., 2006).

İstatistiksel Analiz

Grupların veri dağılımı normal ve homojen olmadığı için (Anderson-Darling ve Levene testi) istatistiksel analizlerde parametrik olmayan testlerden yararlanıldı. Parametrelerin tanımlayıcı istatistikleri medyan (minimum-maksimum) olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanıldı ($p < 0,05$). Tüm istatistiksel

analizler ticari bir yazılım paketi kullanılarak yapıldı (<https://www.minitab.com/en-us/products/minitab/>).

Bulgular

Grupların tanımlayıcı istatistiklerine göre Grup 1 (dijital fotoğraflar üzerinde özel bir yazılım programı ile değerlendirme) ve Grup 2' nin (dental loop altında periodontal sond ve dijital kumpas aracılığıyla direkt görsel yöntemle değerlendirme) medyan (minimum-maksimum) ölçüm değerleri sırasıyla 0,47 (0,28-0,93) ve 0,59 (0,29-1,10) mm' dir. Yapılan analiz sonucunda Grup 1 ile Grup 2 arasında ölçüm değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p=0,45$). Başka bir deyişle dijital kumpas ve dental loopla yapılan ölçüm, yazılım programı ile dijital fotoğraf üzerinden yapılan ölçümden farklı bulunmadı ($p=0,45$).

Tartışma

Bu çalışmada deneysel periodontitis modelinde mine-sement sınırıyla alveoler kemik kreti arasındaki mesafe indirekt ve direkt ölçüm yöntemleri aracılığıyla ölçüldü. Çalışmada mine-sement sınırıyla alveoler kemik kreti arasındaki mesafenin direkt ölçüm yöntemleriyle (dijital kumpas ve dental loopla) belirlenmesinin indirekt ölçüm yöntemlerinden (yazılım programı ile dijital fotoğraf üzerinden) daha fazla miktar ortaya koyacağı hipotezi test edildi ve hipotezimiz doğrulanmadı.

Alveoler kemik yıkımını değerlendirmede kesin ve tekrar edilebilir bir yöntem olan ve çalışmamızda da kullanılan morfometrik yöntem, değerlendirme sırasında oluşabilecek hataları en aza indirmektedir. Tekniğin dezavantajı ölçüm öncesi yumuşak dokuların uzaklaştırılmasının gerekmesidir, bu işlem sonrasında ise kemik yıkımı oldukça hızlı bir şekilde ölçülebilir (Li ve Amar, 2007). Klausen (1991) bu yöntemin diseke edilen rat maksillalarında alveol kemik kaybını ölçmek için en uygun yöntem olduğunu rapor etmiştir. Kemik kaybı morfometrik olarak çeşitli şekillerde değerlendirilmektedir. Çalışmamızda mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arası mesafe doğrusal yöntemle değerlendirildi. Literatürde kemik kaybını bu yöntemle değerlendiren çalışmaların yanısıra (Fernandes ve ark., 2007; Li ve Amar, 2007; Toker ve ark., 2008) farklı morfometrik yöntemler de kullanılmıştır. Rivaldo ve ark. (2005) kemik yüksekliğinde değişiklikleri değerlendirmek için 1. ve 2. molarların ekspoze kök yüzey alanını (mm^2) ölçmüştür. Kemik kaybı sınırları mezialde 1. moların mezial kökünde mine-sement sınırından kemik kretine çekilen bir çizgi:

distalde ikinci moların distal kökünde mine-sement sınırından kemik kretine çekilen bir çizgi; koronalde kemik kretinden mine-sement sınırının en apikal kısmına çekilen bir çizgi ve apikalde mine-sement sınırından kemik kretinin en apikal kısmına çekilen bir çizgi arasındaki alan olarak ölçülmüştür. Souza ve ark. (2010) ise sıçanlarda deneysel periodontitis modelinde mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki kemik kaybını morfolometrik olarak değerlendirerek; farklı bölgeleri (lingual mandibula, palatal maksilla ve bukkal maksilla) ve iki farklı yöntemi (mesafe ve alan) karşılaştırmıştır. Bu çalışmada hem alan hem de doğrusal morfolometrik yöntemlerin kemik kaybı miktarını ölçmede kullanılabileceği gösterilmiş ve aralarında anlamlı bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Azambuja ve ark. (2012) Wistar sıçanlarda üst azı dişlerinde bukkal/palatal ve proksimal yüzeylerde alveoler kemik kaybını değerlendirmiş ve ölçümler arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. Deney grupları arasındaki kemik kaybı miktarı farkının az olduğu durumlarda doğrusal yöntemin kemik kaybını değerlendirmede daha iyi bir yöntem olduğu ifade edilmiştir (Kuhr ve ark., 2004). Liberman ve arkadaşlarının (2011) çalışmasında alveol kemik yıkımı morfolometrik olarak doğrusal yöntemle ve alan hesaplaması olarak ölçülmüş; total alveoler kemik kaybı alanı doğrusal ölçüm değerleri kullanılarak matematiksel bir formülle elde edilmiştir. Bu çalışmayı Kuhr ve arkadaşlarının çalışmasına (Kuhr ve ark., 2004) benzer bir çalışma periyodunda (63 gün) tamamlayan yazarlar, her iki yöntemin de kemik seviyesi değişikliklerini tespit etmek için uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Literatürde deneysel periodontitis modellerinde kemik kayıp miktarını değerlendiren yöntemleri karşılaştıran çalışmalar bulunmaktadır. Fernandes ve ark. (2007) kemik yıkımı miktarlarının ölçümünde histometrik ve morfolometrik yöntemleri karşılaştırmıştır. Kemik kaybı bukkal ve lingual yüzeylerde, mine-sement sınırı ile kemik kreti arasındaki 3 doğrusal ölçümden en uzununu olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada iki yöntem arasında kemik kaybını değerlendirme açısından anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Çalışmanın tek amacı kemik yıkımını değerlendirmekse morfolometrik yöntemin daha hızlı, daha kolay ve daha ucuz olması nedeniyle histometrik analize alternatif olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (Li ve Amar, 2007). Li ve Amar (2007) çalışmalarında alveoler kemik kayıp miktarı ölçümlerinde histometrik, morfolometrik ve mikro-BT yöntemlerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada kemik kaybı ölçümlerinde mikro-BT ile histomorfoloji ve mikro-BT ile morfolometrik analiz sonuçları arasında anlamlı farklılık olmadığı, üç yöntemin de alveol kemik kaybını ölçmek için uygun olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada Fine ve ark. (2009) mine-sement sınırı ile alveoler

kemik kreti arasındaki mesafeyi iki farklı çalışmacı ve üç farklı yöntemle karşılaştırmıştır: (1) interproksimal kemik kaybının total miktarını radyografik olarak değerlendiren yöntem (total alan ölçümü), (2) mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki kemik kaybını ölçen doğrusal radyografik yöntem ve (3) mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki kemik kaybını metilen mavisiyle boyayarak dijital fotoğrafla değerlendiren görsel yöntem. Çalışmanın sonucunda araştırmacıların yaptıkları ölçümler arasındaki en iyi uyum görsel yöntemde sağlanırken, total alan ölçümü metodunda araştırmacılar arasında uyum sağlanamadığı bildirilmiştir. Wilensky ve ark. (2005) farelerde alveoler kemik yıkım hacmini doğrusal morfometrik yöntem ve mikro-BT kullanarak karşılaştırmıştır. Fareler üç gruba ayrılmış; iki grup *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 381 veya 53977 ile enfekte edilirken, üçüncü grup kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçları üç boyutlu analizle değerlendirildiğinde *P. gingivalis* ile enfekte edilen gruplar ile kontrol grubu arasında kemik kayıp değerleri anlamlı farklılık gösterirken, morfometrik ölçümlerde gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç

Deneysel periodontitis modellerinde çalışmanın tek amacı kemik yıkımını değerlendirmekse daha hızlı, daha kolay ve daha ucuz bir yöntem olması nedeniyle morfometri tercih edilebilir. Bu yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilirliği kemik kaybı ölçümlerinde oluşabilecek hataları minimize edebilmektedir (Fernandes ve ark., 2007). Doğrusal ölçümlerin kemik seviyesindeki değişimleri tespit etmek için kolay ve daha az zaman alıcı bir yol oluşturmalarının yanısıra, doğrusal yöntemlerden elde edilen verilerin alveolar kemik kayıp alanlarının hesaplanmasında da kullanılabileceği bildirilmiştir (Lieberman ve ark., 2011).

Bu çalışmada direkt (alveoler kemik üzerinden periodontal sond ve dijital kumpas ile manuel ölçüm) ve indirekt (dijital fotoğraf üzerinden özel yazılım programı ile ölçüm) yöntemler karşılaştırıldı. Çalışmamızın amacı gruplar arasında alveoler kemik kaybı miktarlarını ölçmek değil, mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki mesafeyi ölçüm yöntemleri açısından karşılaştırmaktır. Dolayısıyla yapılan ölçüm, kemik yıkım miktarı olarak belirtilmemiş ve bulgularımız da literatürle de bu yönüyle değil, ölçüm yöntemleri açısından tartışılmıştır.

Çalışmamızın bulgularına göre morfometrik yöntemin direkt veya indirekt oluşu, mine-sement sınırı ile alveoler kemik kreti arasındaki mesafenin ölçümünde farklılık yaratmadı. Bu sonuç yazılım programı kullanma koşulları söz konusu olmadığında direkt ölçümün tercih edilebilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Kaynaklar

1. Akesson L, Håkansson J, Rohlin M. 1992. Comparison of panoramic and intraoral radiography and pocket probing for the measurement of the marginal bone level. *J. Clin. Periodontol.* 19(5): 326-332.
2. Azambuja CB, Cavagni J, Wagner MC, ve ark. 2012. Correlation analysis of alveolar bone loss in buccal/palatal and proximal surfaces in rats. *Braz. Oral Res.* 26(6): 571-577.
3. Barou O, Valentin D, Vico L ve ark. 2002. High resolution three-dimensional micro-computed tomography detects bone loss and changes in trabecular architecture early: comparison with DEXA and bone histomorphometry in a rat model of disuse osteoporosis. *Invest. Radiol.* 37: 40-46.
4. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, ve ark. 2002. Lowdose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35: 613-616.
5. Björnsson MJ, Velschow S, Stoltze K, ve ark. 2003. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J. Periodontal Res.* 38(6): 543-550.
6. Chang PC, Liang K, Lim JC, ve ark. 2012. A comparison of the thresholding strategies of micro-CT for periodontal bone loss: a pilot study. *Dentomaxillofac. Radiol.* 42(2):66925194. doi: 10.1259/dmfr/66925194. Epub
7. Chang CY, Fu E, Chiang CY, ve ark. 2014. Effect of Paeonol on tissue destruction in experimental periodontitis of rats. *Am. J. Chin. Med.* 42(2): 361-374.
8. Dumitrescu AL, Abd-El-Aleem, Morales-Aza B, ve ark. 2004. A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. *J. Clin. Periodontol.* 31(8): 596-603.
9. Fernandes MI, Gaio EJ, Oppermann RV, ve ark. 2007. Comparison of histometric and morphometric analyses of bone height in ligature-induced periodontitis in rats. *Braz. Oral Res.* 21(3): 216-221.
10. Fine DH, Schreiner H, Nasri-Heir C, ve ark. 2009. An improved cost-effective, reproducible method for evaluation of bone loss in a rodent model. *J. Clin. Periodontol.* 36(2): 106-113.
11. Gielkens PF, Schortinghuis J, de Jong JR ve ark. 2008. A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Arch. Oral Biol.* 53: 558-566.
12. Kinane DF, Podmore M, Murray MC, ve ark. 2001. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontol.* 2000. 26: 54-91.
13. Klausen B. 1991. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: A review article. *J. Periodontol.* 62: 59-73.
14. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, ve ark. 2004. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J. Periodontal Res.* 39(2): 101-116.
15. Li CH, Amar S. 2007. Morphometric, histomorphometric and microcomputed tomographic analysis of periodontal inflammatory lesions in a murine model. *J. Periodontol.* 78(6): 1120-1128.
16. Liberman DN, Pilau RM, Orlandini LF, ve ark. 2011. Comparison of two methods for alveolar bone loss measurement in an experimental periodontal disease model in rats. *Braz. Oral Res.* 25(1): 80-84.

17. Liu YF, Wu LA, Wang J, ve ark. 2010. Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine- induced experimental periodontitis in rats. *J. Periodontal Res.* 45(6):714-719.
18. Matthews JB, Wright HJ, Roberts A, ve ark. 2007. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin. Exp. Immunol.* 147: 255-264.
19. Misch KA, Yi ES, Sarment DP. 2006. Accuracy of cone beam computed tomography for periodontal defect measurements. *J. Periodontol.* 77(7): 1261-1266.
20. Molon RS, de Avila ED, Boas Nogueira AV, ve ark. 2014. Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice. *J. Periodontol.* 85(3): 465-477.
21. Oz HS, Puleo DA. 2011. Animal models for periodontal disease. *J. Biomed. Biotechnol.* 754857. doi: 10.1155/2011/754857. Epub
22. Pepelassi EA, Diamanti-Kipioti A. 1997. Selection of the most accurate method of conventional radiography for the assessment of periodontal osseous destruction. *J. Clin. Periodontol.* 24(8): 557-567.
23. Rivaldo EG, Padilha DP, Hugo FN. 2005. Alveolar Bone Loss and Aging: A Model for the Study in Mice. *J. Periodontol.* 76(11): 1966-1971.
24. Rivaldo EG, Padilha DM, Hugo FN, ve ark. 2007. Reproducibility of a hemi mandible positioning device and a method for measuring alveolar bone loss area in mice. *J. Oral Sci.* 49(1): 13-17.
25. Sartori R, Li F, Kirkwood KL. 2009. MAP kinase phosphatase-1 protects against inflammatory bone loss. *J. Dent. Res.* 88(12): 1125-1130.
26. Scaf G, Sakakura CE, Kalil PFD, ve ark. 2006. Comparison of simulated periodontal bone defect depth measured in digital radiographs in dedicated and non-dedicated software systems. *Dentomaxillofac. Radiol.* 35: 422-425.
27. Souza DM, Prado FA, Prado MA, ve ark. 2010. Evaluation of two morphometric methods of bone loss percentages caused by periodontitis in rats in different locations. *J. Appl. Oral Sci.* 18(5): 493-497.
28. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, ve ark. 2010. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent. J.* 4: 37-47.
29. Toker H, Ozan F, Ozer H, ve ark. 2008. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.* 79(6): 1089-1094.
30. Wilensky A, Gabet Y, Yumoto H, ve ark. 2005. Three-dimensional quantification of alveolar bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-infected mice using micro-computed tomography. *J. Periodontol.* 76(8): 1282-1286.