



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DİYABETİK RATLARDA DİŞ ÇEKİM SONRASI
KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE SİLDENAFİLİN ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Hatun ERCAN

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2020



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DİYABETİK RATLARDA DİŞ ÇEKİM SONRASI

KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE SILDENAFİLİN ETKİSİNİN

DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Hatun ERCAN

UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. İlker ÖZEÇ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

SİVAS

2020

“DİYABETİK RATLARDA DIŞ ÇEKİM SONRASI KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE SILDENAFİLİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı Uzmanlık Tezi, jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

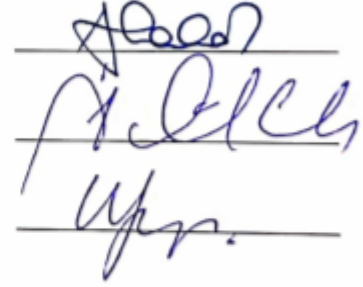
AD SOYAD

İMZA

Başkan Prof. Dr. Hasan YELER

Üye Prof. Dr. A. İlker ÖZEÇ

Üye Dr. Öğr. Üyesi O. Ufuk TAŞDEMİR



ONAY

Bu tez çalışması, 22/ 04/ 2020 tarihinde Fakülte Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İHSAN HÜBBEZOĞLU

DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

DEKAN



TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren danışmanım Prof. Dr. İlker ÖZEÇ'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ceylan HEPOKUR'a teşekkür ederim.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesine katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a teşekkür ederim.

Numunelerin histopatolojik değerlendirmesine katkıda bulunan Prof. Dr. Fahrettin GÖZE 'ye teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde büyük emekleri olan aileme sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

ÖZET

DİYABETİK RATLARDA DIŞ ÇEKİM SONRASI KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE SILDENAFİLİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hatun ERCAN

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Sivas

2020

Yara iyileşmesi, yara oluşumundan sonra başlayıp dokunun tekrar sağlıklı halini almasına kadar geçen süredeki mekanizmaları kapsar ve bu süreç sistemik, lokal ve çevresel faktörlerden etkilenir. Yeni oluşan kemiğin uygun şekilde ossifikasyonu için fonksiyonel bir vasküler destek gereklidir. Bir Fosfodiesteraz 5 (PDE5) antagonisti olan sildenafil, cGMP hidrolizini önler ve böylece yeni kan damarlarının oluşumunu teşvik eder. Diyabet hastalarındaki yara iyileşmesinin gecikmesinin önemli nedenlerinden biri büyüme faktörlerinin yeterince üretilmemesi veya yıkımındaki artıştır. Ayrıca yüksek glikoz ortamı insülin benzeri büyüme faktörleri ve vasküler endotel büyüme faktörü(VEGF) gibi büyüme faktörlerinin fonksiyonlarını da etkiler, böylece yeniden epitelizasyon veya anjiyogenez kötüleşir. Önemli büyüme faktörlerinden biri olan VEGF, damar oluşumunu indükleyerek yara iyileşmesinde rol oynar. VEGF, temel olarak osteoblastların farklılaşmasını destekleyerek ve rejenere olan kemiğin mineralizasyonunu artırarak osteoprogenitör hücreler üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir.

Bu çalışmanın amacı sistemik sildenafil sitrat (Viagra, Prizer, İstanbul) kullanımının diyabetik ratlarda dış çekim soketi iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik, immünohistokimyasal ve radyolojik olarak değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada 24 adet erkek Wistar albino cinsi rat kullanılmış ve 8'erli 3 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubunun birincisi sağlıklı ratlardan oluşurken (SK), ikincisi diyabetik ratlardan (DK) oluşturulmuştur. Deney grubunda ise diyabetik ratlara sistemik olarak sildenafil sitrat (10mg/kg) (DS) verilmiştir. Diyabet oluşturulan ratlara diyabete yönelik tedavi uygulanmamıştır. Her grup kendi içerisinde sakrifikasyon günleri açısından 14. ve 28. günler olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır. Diyabet oluşturulmak istenen ratlara 55 mg/kg dozunda streptozotosin verilmiş ve 72 saat sonra yapılan ölçümlerde kan glikoz seviyesi 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabet olarak kabul edilmiştir. Tüm gruplardan sağ alt birinci molar diş çekilmiştir. Ratlar 14. ve 28. günde sakrifiye edilerek diş çekim soketleri yara iyileşmesi açısından değerlendirilmiştir.

14. gün histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre; ossifiyasyon derecesi, fibrozis, enflamatuar hücre sayısı, nekroz açısından gruplar arası farklılık önemsiz bulunurken, anjiyogenez açısından gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında; SK ile DK, DK ile DS arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0,05$), SK ile DS arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

28. gün histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre; nekroz ve enflamatuar hücre sayısı açısından gruplar arası farklılık önemsiz bulunurken, ossifikasyon derecesi ve fibrozis açısından gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında; SK ile DK, DK ile DS arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0,05$), K ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Anjiyogenez açısından gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında, DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile DK ve SK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

14. gün immünohistokimyasal değerlendirme sonuçlarına göre; VEGF açısından gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DS ve DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. 28. güne ait VEGF açısından gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DK ve DK ile DS arasında farklılık bulunmuştur.

Yapılan mikrobilgisayarlı tomografi değerlendirmesinde gruplara ait 14. gün kemik hacmi [bone volume (BV)] lm yönünden SK ile DS ve DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Intersection surface(i.S) lm yönünden SK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Kemik yüzey densitesi [bone surface density(BS/TV)] lm yönünden SK ile DK arasındaki farklılık önemli bulunmuştur.

Gruplara ait 14. gün ve 28. gün Hounsfield units (HU) değerleri karşılaştırdığında DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunmuştur.

Sonuç olarak; sistemik olarak verilen sildenafilin diyabetin dişt çekim socketinin iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkisini azalttığı ve yara iyileşme sürecinin daha iyi sonulandığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Dişt ekimi, diyabet, streptozosin, sildenafil sitrat

ABSTRACT**EVALUATION OF THE EFFECT OF SILDENAFIL ON BONE HEALING
AFTER TOOTH EXTRACTION IN DIABETIC RATS****Dt. Hatun ERCAN****Department of Oral and Maxillofacial Surgery****Sivas****2020**

Wound healing covers the mechanisms that take place after the formation of the wound until the tissue becomes healthy again, and this process is affected by systemic, local and environmental factors.

A functional vascular support is required for proper ossification of the newly formed bone. Sildenafil, a Phosphodiesterase 5 (PDE5) antagonist, prevents cGMP hydrolysis and thereby, promotes the formation of new blood vessels. The high glucose environment also affects the interaction of growth factors such as insulin-like growth factors and vascular endothelial growth factors, thus resulting in poor re-epithelialization or angiogenesis.

Vascular endothelial growth factor (VEGF), one of the important growth factors, has been shown to play a role in wound healing by inducing vascular formation. VEGF could have a direct effect on osteoprogenitor cells, mainly by promoting the differentiation of osteoblasts and by increasing the mineralisation of the regenerated bone.

The aim of this study is to evaluate histopathological, immunohistochemical and radiological evaluation of the removal of healing effects of diabetes after tooth extraction with the positive effects of sildenafil citrate (Viagra, Prizer, Istanbul) agent on angiogenesis and bone healing.

In the study, 24 male Wistar albino rats were used to form 3 groups of 8 rats. While the first of the control group consisted of healthy rats, the second was composed of diabetic rats. In the experimental group, sildenafil citrate (10mg / kg) was given systemically to diabetic rats. No treatment was applied to diabetic rats. Each group is divided into 2 groups based on 14 and 28 days of sacrifice within themselves. Rats to be included in the diabetes group were given a streptozotocin at a dose of 55 mg / kg and in the measurements made after 72 hours, those with a blood glucose level above 200 mg / dl were considered diabetes. Lower right 1st molar tooth was extracted from all groups. Rats were sacrificed on the 14th and 28th days and tooth extraction sockets were evaluated for wound healing.

According to the results of histopathological evaluation on the 14th day; while the differences between groups were insignificant in terms of degree of ossification, fibrosis, number of inflammatory cells, necrosis, when the values belonging to the groups were compared in pairs in terms of angiogenesis; while the difference between SK and DK, DK and DS was significant, the difference between SK and DS was found insignificant.

According to the results of histopathological evaluation on the 28th day; While the differences between the groups were insignificant in terms of necrosis and inflammatory cell count, when the values belonging to the groups in terms of ossification degree and fibrosis were compared in pairs; While the difference between SK and DK, DK and DS was significant ($p < 0.05$), the difference between K and DS was found insignificant ($p > 0.05$). In terms of angiogenesis, when the values of the groups are compared in pairs, the difference between DK and DS is significant, whereas the difference between SK and DK and SK and DS is insignificant ($p > 0.05$).

According to the results of the 14th day immunohistochemical evaluation; In terms of VEGF, when the values of the groups are compared in pairs, the difference between SK and DS and DK and DS has been found significant. When the values of the groups in terms of VEGF for the 28th day were compared in pairs, there was a difference between SK and DK and DK and DS.

At microCT evaluation in terms of bone volume (BV) measurement on the 14th day of the groups, the difference between SK and DS and DK and DS was found to be significant. The difference between SK and DS was significant in terms of Intersection surface (i.S) measurement. The difference between SK and DK was significant in terms of bone surface density (BS / TV) measurement.

When the Hounsfield units (HU) values of the 14th and 28th days of the groups were compared, the difference between DK and DS was found to be significant.

As a result; It has been observed that sildenafil administered systemically reduces the negative effect of diabetes on tooth healing socket and wound healing process is better.

Keywords: Tooth extraction, diabetes mellitus, streptozotocin, sildenafil citrate

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
TABLolar DİZİNİ.....	xvii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Kemik Dokusu.....	4
2.1.1.Kemiğin Mikroskobik Yapısı	5
2.1.2.Kemik Hücreleri	7
2.1.3.Kemik Zarları	9
2.1.4.Osteogenezis(Kemik Gelişimi)	9
2.1.5.Kemik Modelasyonu ve Remodelasyonu	11
2.1.6.Alveoler Kemik.....	11
2.2.Yara İyileşmesi.....	12
2.2.1.Yara İyileşmesi Aşamaları.....	13
2.3.Diş Çekim Soketinde İyileşme.....	14
2.4.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	15
2.5.Diabetes Mellitus.....	16
2.5.1.Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	19
2.5.2.Epidemiyolojisi	20

2.5.3.Diabetes Mellitus'un Belirtileri ve Nedenleri	21
2.5.4.Diyabetin Neden Olduğu Komplikasyonları.....	22
2.5.5.Diyabet ve Yara İyileşmesi.....	23
2.5.6.Deneysel Diabetes Mellitus Modeli.....	25
2.6.Sildenafil Sitrat.....	27
2.7.Mikro CT Yöntemi.....	30
3. MATERYAL METOT.....	34
3.1.Deney Hayvanlarının Seçilmesi.....	34
3.2.Çalışma Gruplarının Tanımlanması.....	35
3.3.Deneysel Diyabet Oluşturma.....	36
3.4.Cerrahi Yöntem.....	37
3.5.Sildenafilin Hazırlanışı ve Uygulama Şekli.....	38
3.6.Deney Hayvanlarının Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması.....	39
3.7.Histopatolojik İnceleme.....	39
3.8.İmmunohistokimyasal İnceleme.....	41
3.9.Radyolojik Değerlendirme.....	41
3.10.İstatiksel Değerlendirme.....	42
4. BULGULAR.....	43
4.1.Klinik Bulgular.....	43
4.2.Histopatolojik Bulgular.....	43
4.3.İmmunohistokimyasal Bulgular.....	49
4.3.1.VEGF Miktarının Değerlendirilmesi.....	49

4.4.Radyolojik Değerlendirme Sonucu Ortaya Çıkan Bulgular.....	51
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
7.KAYNAKLAR.....	71
8.ÖZGEÇMİŞ.....	90

EKLER

EK-1.Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Ark	: Arkadaşları
BS	: Bone surface
BS/BV	: Bone surface/volume ratio
BS/TV	: Bone surface density
BVF	: Kemik hacim fraksiyonu
BV/TV	: Kemik hacim yüzdesi
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	: Hidroksiapatit kristalinin kimyasal yapısı
CaPO₄	: Kalsiyum fosfat
CCD	: Charge coupled device
CDC	: Centers for disease control and prevention
CYR-61	: Sistein açısından zengin 61
Cgmp	: Siklik guanozin monofosfat
DM	: Diabetes mellitus
DM1	: Tip 1 diabetes mellitus
DM2	: Tip 2 diabetes mellitus
DMED	: Diabetes mellitus erektil disfonksiyon
Enos	: Endotelial nitrik oksit sentaz
GLUT2	: Glukoz transport proteini 2
GC	: Guanilat siklaz
HA	: Hidroksiapatit
HbA1	: Hemoglobin A1

HDL	: Yüksek densiteli protein
HE	: Hemotoksilen-eozin
HPL	: İnsan plasental laktojen hormonu
HU	: Hounsfield units
İNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İS	: Intersection surface
NAD	: Nikotinamid
NO	: Nitrik oksit
LDL	: Düşük densiteli protein
PDE-5	: Fosfodiesteraz-5
SNR	: Sinyal gürültü oranı
STZ	: Streptozotosin
Tb.N	: Trabeküler sayı
Tb.Sp	: Trabeküler seperasyon
Tb.Th	: Trabeküler kalınlık
TCF7L2	: Transkripsiyon faktörü 7-benzeri-2
TMD	: Doku mineral densitesi
TMC	: Doku mineral içeriği
TS	: Tissue surface
TV	: Tissue volume
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
ZnT	: Çinko taşıyıcı protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2. 1:** Kemiğin mikroskopik yapısı
- Şekil 2.2:** Kortikal kemiğin morfolojik yapısı
- Şekil 2.3:** Spongiyöz kemiğin trabeküler yapısının görünümü
- Şekil 2. 4:** Osteoblastların periosteum altındaki dizilimi
- Şekil 2.5:** İntramembranöz kemikleşme
- Şekil 2.6:** Endokondral kemikleşme
- Şekil 2.7:** Diabetes mellitusun patofizyolojisi
- Şekil 2.8:** DM2'nin Patogenezi
- Şekil 2.9:**Sildenafil'in kimyasal yapısı
- Şekil 3.1:**Çalışmada kullanılan wistar albino ratlar
- Şekil 3.2:**Streptozosin
- Şekil 3.3:**STZ enjeksiyonu
- Şekil 3.4:** Şeker ölçüm cihazı
- Şekil 3.5:** Anestezi Aşaması
- Şekil 3.6:** Sildenafil sitrat ticari formu
- Şekil 3.7:** Oral gavajla sildenafil verilmesi
- Şekil 3.8:** Biyopsi alınması
- Şekil 3.9:** Işık mikroskobu
- Şekil 3.10:** Bruker SkyScan 1272 mikroCT tarama cihazı
- Şekil 4.1:** DS grubu 14. güne ait histopatolojik görüntü
- Şekil 4.2:** DS grubu 28. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.3: DS grubu 28. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.4: Diyabet Kontrol grubu (DK) 14. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.5: Diyabet Kontrol grubu (DK) 28. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.6: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 14. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.7: Diyabet Sildenafil grubu (DS) grubu 14. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.8: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28. güne ait histopatolojik görüntü

Şekil 4.9: Diyabet Kontrol grubu (DK) 14. güne ait mikroct görüntüsü

Şekil 4.10: Diyabet Sildenafil grubu(DS) 14. güne ait mikroct görüntüsü

Şekil 4.11: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28. güne ait mikroct görüntüsü

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Tablo 2.2: PDE'lerin substratları ve vücut dağılımları

Tablo 3.1: Deney grupları

Tablo 4.1: Histopatolojik skorlamada kullanılan kriterler

Tablo 4.2: 14.güne ait histopatoloji sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 4.3: 28.güne ait histopatolojik sonuçların karşılaştırılması

Tablo 4.4: 14.güne ait VEGF sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 4.5: 28.güne ait VEGF sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 4.6: Gruplara ait 14.gün mikroct sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 4.7: Gruplara ait 28.gün mikroct sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 4.8: Gruplara ait 14.gün Hounsfield(HU) değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 4.9: Gruplara ait 28.gün Hounsfield(HU) değerlerinin karşılaştırılması

1.GİRİŞ

Akut yara iyileşmesi aşamaları inflamasyon, proliferasyon ve remodelasyon olarak tanımlanır. Proliferatif faz anjiogenezis, kollajen birikimi, granülasyon dokusu oluşumu, epitelizasyon ve yara kontraksiyonu ile karakterizedir(1, 2). Endotel hücrelerinin aktivasyonu ve önceden varolan vasküler yapıdan yeni kılcal damarların filizlenmesi, anjiogenez olarak adlandırılan bir işlemdir. Anjiyogenezis, yara iyileşmesinde önemli bir yer tutar, yaranın gerilme direncini artırır ve doku onarımında önemli bir rol oynar(2, 3). Anjiyogenez inhibitörlerinin, yeni kan damarlarının oluşumunu bloke ettiği ve kırık bölgesinde yeni biriken kemiğin kalsifikasyonunu geciktirdiği gösterilmiştir(4, 5). Diş çekimi ağız diş ve çene cerrahisi alanında en çok yapılan işlemlerden birisidir. Diş çekim sonrası yara iyileşmesi kemik ve yumuşak dokuların dahil olduğu kompleks bir olaydır. Diş çekiminden hemen sonra oluşan fibrin pıhtı organize olur ve kök hücreden zengin bir bağ dokusu ile yer değiştirir. Enflamatuar sinyallere cevaben kök hücreler, anjiyogenik ve osteogenik hücreler farklılaşır ve sonuç olarak hücreler olaylar kemik depozisyonu ve maturasyonu ile sonuçlanır.

Diş çekim yarasının iyileşmesi esnasında birçok komplikasyon görülebilmekte ve çekim sonrası eksik dişlerin restore edilmesi için, implant cerrahisi başta olmak üzere, diş çekimi sonrası yapılacak restoratif işlemlerden önce yara iyileşmesinin mümkün mertebe hızlı bir şekilde tamamlanmış olması ve bu iyileşme döneminin komplikasyonsuz tamamlanması istenmektedir.

Yara iyileşmesini bozan sistemik etkenler arasında; ağır anemi, diyabet, immunsupresyon, bağ dokusu hastalıkları, beslenme bozuklukları, iyonize radyasyon, ağır sistemik hastalıklar, alkolizm ve sigara kullanımı önemli yer tutmaktadır(6).

Lokal faktörler arasında enfeksiyon, yaranın şekli ve büyüklüğü, kronik inflamasyon, bölgenin kanlanmasının yetersiz olması, yara içinde yabancı cisim varlığı, yara kenarlarının düzgün şekilde karşı karşıya getirilememesi, yara kenarlarının gergin olarak dikilmesi, yaranın mobil olması gibi durumlar yer almaktadır. Diş çekim iyileşmesinde, yara iyileşmesini geciktirici faktörler ortadan kaldırılarak hastanın

postoperatif dönemi sorunsuz geçirmesi ve yapılacak restoratif tedavilere daha kısa sürede başlanabilmesi sağlanmış olur.

Kontrolsüz diyabeti olan hastalarda diş çekim yarasının iyileşmesi çoğunlukla gecikir ve bu duruma ciddi enfeksiyon eşlik edebilir. Diabetes mellitusta, kollajen metabolizmasında (7), endotelyalizasyon oranında (8), membran kapiller taban kalınlığında (9) ve granülasyon dokusu miktarında (10) anormallikler tespit edilmiştir. Diyabetik ratta diş çekim yarasının iyileşmesi, düzensiz ve zayıf şekilde oluşan bol miktarda woven kemik ile karakterizedir (11).

Streptozotolin, deneysel diabetes mellitus oluşturmak için tercih edilen mevcut diyabetojenik ajandır (12). Toksin spesifik olarak pankreasın B hücrelerine etki eder ve rata enjekte edildiğinde ratta glikoza karşı azalan insülin cevabı, glikoz intoleransı ve yüksek bazal plazma glikoz seviyesinin olduğu bir tablo oluşur (13).

Sildenafil, 1980'lerde antianjinal olarak denenirken ereksiyon yan etkisi nedeniyle dikkati çekmiş ve erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Sildenafil vazodilatasyonu arttıran ve damarlardaki düz kasları gevşeterek ve trombosit agregasyonunu inhibe ederek doku kan akışını arttıran ve bu yüzden genellikle erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bir fosfodiesteraz-5(PDE-5) inhibitörüdür(14, 15).

Ereksiyonun fizyolojik mekanizması korpus kavernozumda nitrik oksitin serbest kalmasıyla başlamaktadır. Nitrik oksit guanilat siklazın aktive olmasını sağlar, guanilat siklaz düzeyinin artması cGMP'nin artmasını, korpus kavernozumdaki düz kasların da gevşemesini ve dolayısıyla kan akımının artmasını sağlamaktadır. PDE 5 kavernöz cismin dışında değişik dokularda da düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır.

Farmakolojik yan etkileri göz önüne alındığında, sildenafilin, vasküler düz kas üzerindeki kaçınılmaz yan etkileri nedeniyle yara iyileşmesine yardımcı olabileceği varsayılmaktadır. Son zamanlarda, çeşitli çalışmalar sildenafilin farklı proanjiojenik büyüme faktörlerinin düzenlenmesi yoluyla anjiyojenik eylemler yaptığını göstermiştir(16). Önceki çalışmalar, vasküler endotel büyüme faktörü(VEGF) ve sistein açısından zengin 61(CYR-61) gibi anjiyojenik ve osteojenik faktörlerin, kemik

oluşumu ve kırık iyileşmesi sürecine dahil olduğunu göstermiştir. Sildenafil sitrat, oksidasyon ve antioksidasyon işlemleri arasında bir denge sağlayarak enflamatuar olaylarda oksidatif stresi azaltmaktadır (17).

Bu çalışmadaki amacımız son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda kemik yapımı üzerinde ve yara iyileşmesi üzerinde belirgin şekilde olumlu etkiye sahip olduğu gösterilen, sildenafilin sistemik olarak uygulanmasının dış çekim yarasının iyileşmesi üzerinde olan etkilerini incelemek ve oluşacak yeni kemik miktarı ve kalitesini arttırmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kemik Dokusu

Kemik dokusu en sert vücut dokularından birisidir. Kemik dokusu destek dokuları arasında gerçek manada destekleme görevi yapar. Diğer destek dokularda olduğu gibi bu doku da; hücreler, ara madde (matriks) ve fibrillerden oluşur. Diğer destek dokularından farklı olarak, hücre dışı elemanları kalsifiye yapıda olup, iskelet sisteminde destekleyici ve koruyucu bir işlev üstlenir. Kemik dokusu organizmaya şekil verip, organizmanın yükünü taşır. Vücudun iç organlarını korur. Üstüne gelen kuvvetin emilerek dağıtılmasından sorumludur. Ayrıca kas ve tendonların tutunma yerleri olup, hareket etmeye de yardım eder. İnsan iskeletinin ana bileşeni olan kemik dokusu, kalsifiye hücre dışı materyal ve hücrelerden oluşan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemiğin dış yüzünde kalan sert tabaka çoğunlukla proteinlerden ve hidroksiapatitten (HA) oluşur. Kemiğin içerisinde bulunan kemik iliğinin gözenekli ve yumuşak yapısı vardır; kan hücreleri bu bölgede üretilir. Damarlar, kemiğin içinden geçer ve etrafı sinir hücreleri tarafından çevrilmiştir. Kemiklerin merkezinde içinde kemik iliği bulunan geniş bir boşluk vardır. İlik; su, yağ, akyuvar ve alyuvarlardan oluşur. Kemik dokusu periost ile örtülüdür. Periost, dışta yoğun fibröz bağ dokusu ve içte osteoprogenitör hücreleri içeren hücresel bir tabakadan oluşur ve eklem içi sinoviyal yüzeylerde bulunmaz. Kemik dokusunda değişik nedenlerle oluşan defekt ve patolojilerin başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi için, bu dokunun özelliklerinin ve iyileşme mekanizmalarının iyi bilinmesi gerekir.

Kemik; organik ve inorganik elemanlardan oluşur. Kütlesinin yaklaşık % 20'si sıvıdır. Kemiğin %67'sini inorganik bileşenler (kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, karbonat ve fosfat), %33 ünü ise organik bileşenler oluşturur (18). Kalsiyum fosfat ($CaPO_4$), kemikte hidroksiapatit kristalleri $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ şeklinde bulunur. Kemik organik matriksi osteoid adı verilen ve osteoblastlar tarafından salgılanan mineralize olmamış organik yapıdan oluşur. %90'ını tip I kollajen; %10'unu ise glikoproteinler (osteonektin, osteokalsin, osteopontin, kemik sialoprotein), proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar (kondroitin sülfat, keratan sülfat ve hiyaluronik

asit), peptitler, karbonhidratlar ve lipidler meydana getirir. Nonkollajenöz proteinlerin (glikoproteinler, proteoglikanlar) büyüme faktörlerinin sekresyonundan, hücrelerin organik matrikse adezyonundan ve organik matriksin kalsifikasyonundan sorumlu oldukları düşünülür(19, 20). Organik kemik matriksinin temel yapısal birimini oluşturan kollajenin büyük bir kısmı tip I kollajen, daha az miktarda tip V kollajendir. Bu fibriller aslında hidroksiapatit kristallerinin oluşumu için organik bir çerçevedir. Kemiğin güçlü, esnek ve kırılmaya dayanıklı sağlam bir doku olmasını bu protein kristal kombinasyonu sağlar (18-20).

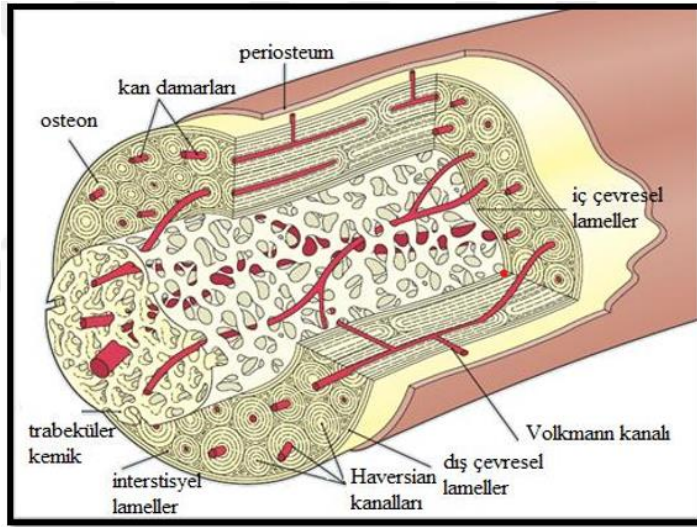
İnorganik maddeler %85 oranında kalsiyum fosfat, %10 oranında kalsiyum karbonat, daha az miktarlarda kalsiyum florid, magnezyum florid, magnezyum hidroksit ve magnezyum sülfat bileşikleriyle sitrat iyonları ve karbonat iyonlarıdır. Kalsiyum fosfat kemikte ilk aşamada şekilsiz olarak depolanır. Daha sonra hidroksiapatit kristalleri olarak yeniden şekillenir. En son evrede ise ya çok ince plakalar ya da çubuk şeklindeki kristaller halinde depolanır (18-20).

2.1.1. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Primer Kemik Dokusu (immatür, nonlameller veya woven kemik): Embriyonik gelişim ve kırık iyileşmesinde ilk ortaya çıkan kemik dokusudur. Primer kemiğin yapısı tip 1 kolajen liflerinin gelişigüzel yerleşimi ile karakterizedir. Ayrıca primer kemik daha düşük oranda mineral içeriğine ve sekonder kemiğin aksine daha fazla sayıda osteosite sahiptir (21).

Sekonder Kemik Dokusu(Matür kemik, lameller kemik): Yapısı lamellidir. Her lamelde yer alan kollajen fibriller kendi aralarında paraleldir, ancak diğer lamellerdeki fibrillere çapraz yönde ve spiraller yaparak devam eder. Lameller kemik içindeki kollajenlerin son derece düzenli yerleşimi lameller kemiğin dayanıklılığına büyük ölçüde katkıda bulunur(21). Sekonder ve primer kemik dokularında hidroksiapatit kristalleri genel olarak kollajen fibrillerin üzerlerine oturur. Bu da kemiğe sertlik kazandırır. Sekonder kemikte birim alana düşen hücre sayısı primer kemikten daha azdır. Sekonder kemik osteonlardan oluşur. Osteon kemiğin boyuna uzunlaşmasına dizilmiş silindirik şeklindedir. Ortasında havers kanalı bulunur. Havers kanalı kan

damarları ve sinir yapılarını ihtiva eder. Havers kanalı çevresindeki osteositler sirküler şekilde yerleşmiştir. Osteositlerin yerleştiği bölgeler lakuna adını alır. Lakunalar, kanaliküller aracılığı ile havers kanalı ve diğer lakunalar ile bağlantı kurar. Havers kanallarını diğerleri ile birleştiren oblik kanallar vardır. Bu kanallar ise volkmann kanalları olarak adlandırılır (21, 22).



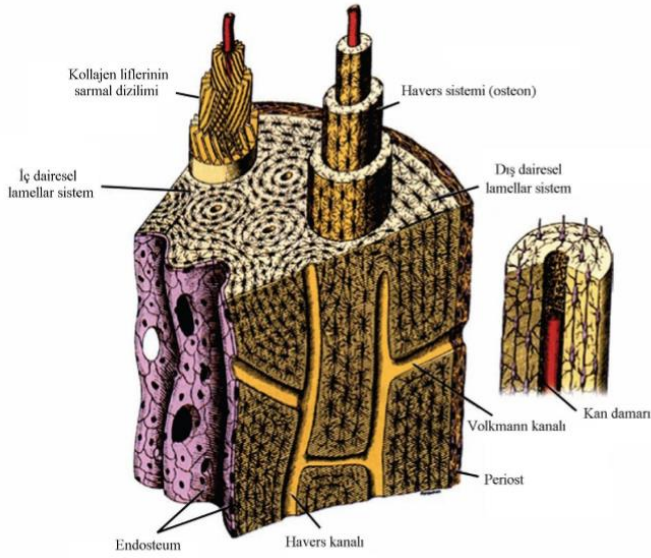
Şekil 2. 1: Kemiğin mikroskopik yapısı (23)

Sekonder kemik yapısal organizasyona göre iki tiptir.

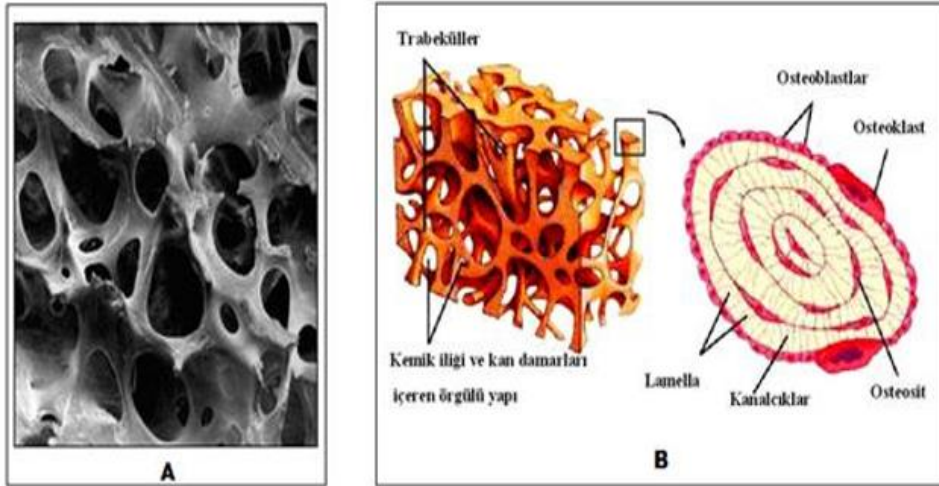
1. Spongioz (Süngerimsi, Kansellöz)
2. Kortikal(Kompakt, Lameller)

Kansellöz kemik, uzun ve kısa kemiklerin epifizlerinin iç kısımları, metafiz ve yassı kemiklerde bulunur (24). Trabeküllerin aralarında kemik dokusu iliği ile dolu, düzensiz boşluklar mevcuttur. Bunlar kemik iliğinde bolca bulunan damarlardan, besin maddelerini sitoplazma uzantıları aracılığıyla alırlar(25).

Kortikal kemiğin ana yapısı "Harvesian sistem" olarak adlandırılan osteondur. Osteon; uzunlamasına olarak dizili vasküler harvesian kanalları saran, silindirik şekilli vasküler kemikten oluşur. Horizontal dizimli volkman kanalları ise komşu osteonları birleştirir. Kortikal kemiğin mekanik direnci osteonların sıkı dizilimine bağlıdır(24).



Şekil 2.2:Kortikal kemiğin morfolojik yapısı(26)

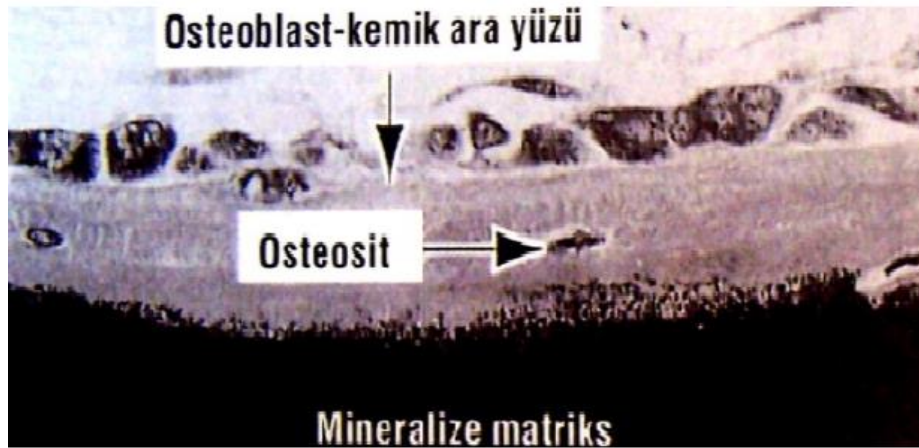


Şekil 2.3: Spongiyöz kemiğin trabeküler yapısının görünümü

2.1.2. Kemik Hücreleri

Prekürsör ve ya Osteoprogenitör Hücreler: Periostun iç yüzünde, volkman ve havers kanallarındaki bağ dokusunda ve endosteumda bulunurlar. Periost vasküler konnektif(bağ) dokudur. Endeosteumda ise fibröz içerik bulunmaz. Bu yüzden osteojenik hücre içeren tek tabakadır (24). Kemik hücresi olmaya koşullanmış mezenkimal hücrelerdir. Mitozla bölünerek çoğalırlar ve çoğalan bu hücrelerin bir kısmı osteoblastlara dönüşür(27, 28).

Osteoblastlar: Osteoblastlar; matür, metabolik açıdan aktif, osteoid salgılayan, kübik veya silindirik şekilli hücrelerdir. Kemik matriksinin organik kısmının; kollajen liflerin, glikoproteinlerin ve proteoglikanların sentezinden sorumlu olan bu hücreler, mineralize olmamış organik matriksin (osteoid) kalsifikasyonunu başlatır ve bu süreci kontrol ederler. Osteoblastlar kemik oluşumu tamamlandıktan sonra sert matriks(osteoid) içine gömülerek osteosite dönüşürler ve kendi çevrelerine az miktarda matriks sentezleyerek bölünemez bir yapıya dönüşürler (29). Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücrelerine benzer şekilde yan yana dizilirler (24). Osteoblastların komşu osteoblastlar ile etkileşimini sağlayan sitoplazmik uzantıları bulunur. Yeni matriksin sekresyonu, daha önce sentezlenmiş kemik matriksi ile temas eden osteoblast yüzeylerinde gerçekleşir (25).



Şekil 2. 4: Osteoblastların periosteum altındaki dizilimi. Kübik ya da alçak prizmatik şekilli bu hücrelerin çekirdekleri iri ve sitoplazmaları bazofiliktir. Hücreler arasında sıkı bir bağlantı yoktur ve kemik matriksini osteoblast-kemik ara yüzü boyunca salgıladıktan sonra osteosite dönüşürler (30).

Osteoklastlar: Kemik dokunun rezorpsiyonunu ve remodelasyonunu sağlayan, sitoplazmik uzantıları bulunan dev ve çok çekirdekli hücrelerdir. Kemik iliğindeki monosit-makrofaj projenitör hücrelerden köken alırlar. Kemiği rezorbe eden bu hücreler, enzimatik yolla oluşturdukları Howship lakünası adı verilen yüzeyel çukurlarda yerleşirler(29)(30). Osteoklastların kemik matriksine bakan yüzünde

düzensiz yapıda fırçamsı kenarları bulunur. Osteoklastların aktive olabilmesi için ile pH'nın yaklaşık 3,5 olduğu asidik bir çevre gerekir. Osteoklastlar salgıladıkları kollajenaz, asit, hidrofilik ve proteolitik enzimleri ile kemiğin inorganik, organik matriksini ve kalsifiye kartilajını rezorbe eder ve kemik rezorpsiyonu sonucunda oluşan atıkları ortadan kaldırır (27, 31).

Osteosit: Osteositler; matür osteoblastlardır. Osteositler kalsifiye kemik içinde laküna denen küçük boşluklarda yerleşirler. Komşu lakünalar kanaliküli adı verilen ince tüneller ile birbirleri ile bağlantı kurarak besin maddelerinin hücreden hücreye geçişini sağlarlar (24, 27).

2.1.3. Kemik Zarları

Periosteum: Periosteum 2 tabakadan oluşur. Dış tabakası tip 1 kolajen demetleri, fibroblastlar ve kan damarlarından oluşan kalsifiye olmayan düzensiz sıkı bağ dokusudur. Dış tabakadan ayrılan Sharpey lifleri adı verilen kolajen lifler kemik matriksine nüfuz ederek periostla kemiği birbirine bağlar. İç tabaka ise osteoprogenitör hücreler olarak adlandırılan mezenkimal kök hücrelerden oluşur. Periost, damarsal yönden çok zengindir. Bu damarların bir bölümü foramen nutrisyum vasıtasıyla kemiği besler (21, 32).

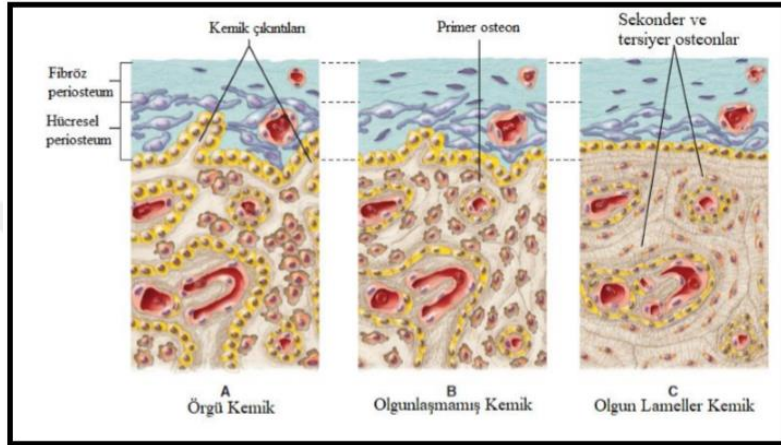
Endosteum: Endosteum, kemiğin içerisindeki bütün boşlukları örter. Bu tabaka tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile az miktarda bağ dokudan oluşur. Kemik iliği dokusunun devamı olan retiküler bağ dokusudur.

2.1.4. Osteogenezis (Kemik Gelişimi)

İntramembranöz Kemikleşme

Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı bölümleri intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Ayrıca kısa kemiklerin büyümesinde uzun kemiklerin kalınlaşmasında, kemik defektlerinin rejenerasyonu ve kırık iyileşmesi sırasındaki periosteal iyileşmede de rol oynar (33, 34). İntramembranöz kemikleşmede kırık form oluşmaz. Kemikleşmenin başlayacağı bölgede mezenkimal yoğunlaşma olur ve bölgenin

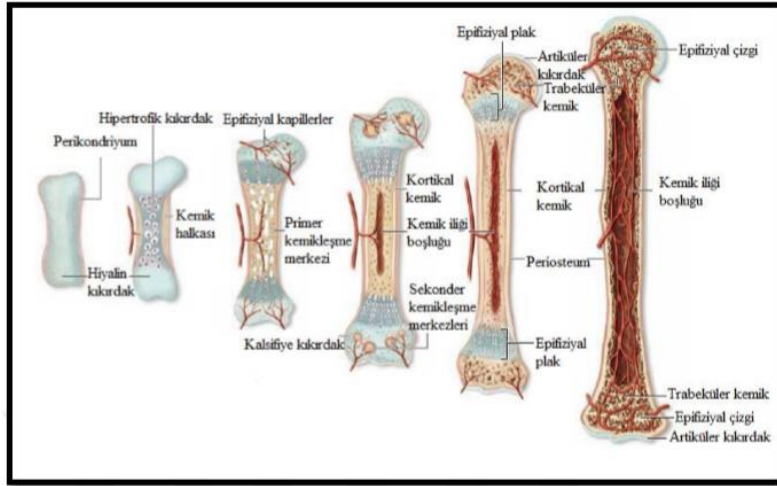
kanlanması artar. Mezenşim hücrelerinin hızlı bölünme kapasitesi vardır. Bu hücreler önce osteoprogenitör hücreye sonra da osteoblastlara dönüşerek daha sonra mineralize olacak olan organik kemik matriksini salgırlar. Osteoblastların kontrolünde osteoid içerisinde kalsiyum tuzları birikir. Osteoidle çevrelenen osteoblastlar osteositlere dönüşür. Böylece mineralize olan osteoid matriks matür kemik halini alır (35).



Şekil 2.5: İntramembranöz kemikleşme (36)

Endokondral kemikleşme

Endokondral kemikleşmede öncelikle kıkırdak oluşur. Bölgede ilk önce mezenkimal hücre yoğunlaşması olur ve bu hücreler kondrositlere dönüşerek kıkırdak matriksi üretirler. Bazı bölgelerde kıkırdak matriks kalsifiye olurken vasküler invazyon ile alana gelen hücreler kıkırdağın orta kısmını rezorbe ederek kemik medullasını meydana getirir. Alandaki osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek mineralize kıkırdak üzerinde kemik matriksi üretirler. Sonra osteoklastlar kalsifiye kıkırdağı ve olgunlaşmamış kemiği rezorbe ederler. Bu olayın takiben osteoblastlar rezorbe olan kalsifiye kıkırdak ve immatür kemik yerine matür kemiği oluştururlar (33, 37).



Şekil 2.6: Endokondral kemikleşme (38)

2.1.5. Kemik Modelasyonu Ve Remodelasyonu

Kemiğin şekillenmesine modelling denir. Modelling süreci osteoklast ve osteoblastların birbirlerinden bağımsız aktivitelerini içerir. Kemik modelasyonu, kemiğin hem boyutunu hem şeklini değiştirebilir (39).

Kemiğin şeklinin değişmeden yapılıp yıkılması olayına remodeling denir. Remodelling ise osteoklast ve osteoblastların birbiriyle bağlantılı ve ardışık hareketlerini kapsar. Bu süreçte eski kemiğin yerini yeni kemik dokusu alır. Kemiğin densitesi ve şekli bu süreçte değişmez. Büyüme durduktan sonra kemik modelasyonu yavaşlar fakat remodelasyon hayat boyu devam eder (39, 40).

2.1.6. Alveoler Kemik

Alveoler kemik, çene kemiğinin diş soketlerini kapsayan ve dişleri destekleyen bölümüdür (41). Alveolar kemik embriyonik gelişim döneminde intramembranöz kemikleşme ile oluşur (42).

Alveoler kemik 3 kısımdan oluşur (43):

1. Kortikal kemik: Haversian kemik ve kompakt lamellerden oluşan dış katmandır.
2. Soketin iç duvarındaki radyografilerde lamina dura olarak takip edilen ince, kompakt yapıdaki kemik / Demetsi (Bundle, Kribriform) Kemik: Soket duvarının içini kaplayan ince kompakt kemiktir. Radyografteki görüntüsüne lamina dura denir. Histolojik olarak sharpey lifleri de denilen kolajen lif demetleri tarafından delindikleri için kribriform yapıda görülür.
3. Bukkal ve lingualde/palatinaldeki iki kompakt kemik arasında alveoler kemiği destekleyen interdental septum olarak adlandırılan kansellöz trabeküla Kansellöz Kemik: İki kompakt tabaka arasında uzanan trabeküllerin bulunduğu kısımdır. İnterdental septum kompakt sınırla çevrelenmiş kansellöz kemikten oluşur.

Alveoler kemik, dens lameller kemik, diş soket duvarı ve çok sayıda Sharpey lifi içeren periodontal ligamente komşu kemik dokusu olarak tanımlanan demet kemikten oluşur (43).

Alveoler kemik, dış kuvvetlere cevap olarak basınç alanlarında rezorpsiyon, gerilim alanlarında yeni kemik oluşumunu kapsayan fizyolojik remodelasyona uğrar. Böylece kemik yüksekliği, densitesi ve şekli değişir. Alveoler kemiğin konturunu, yüksekliğini ve densitesini etkileyen en önemli etken dişlerin varlığı ve fonksiyon görmeleridir (41, 42).

2.2. Yara İyileşmesi

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün fiziksel ve kimyasal yanma, basınç, hayvan ısırığı ya da sokması, diyabet hastalığı gibi metabolik bozukluklar, travma, ilaç etkileşimleri veya beslenme yetersizlikleri gibi nedenler sonucunda bozulmasıdır (44).

2.2.1. Yara iyileşmesi aşamaları

Bunlar; hemostaz ve inflamasyon, hücresel proliferasyon ve yeniden şekillenme (remodelling) aşamalarıdır (45).

Doku hasarına (kemikte ve yumuşak dokuda) karşı ilk tepki inflamasyondur. Damar hasarı sonucu subendotelial dokuyla temas eden trombositlerin adezyonu ve agregasyonu ile pıhtılaşma olur. Vazokonstrüksiyon ile bölgedeki ilk tıkaç oluşur ve hemostaz sağlanmış olur. Kemik dokuda iyileşme sırasında oluşan pıhtı, osteoid salgılayan osteoblastları ve osteoprogenitör hücreleri, osteoklast ve makrofajları bölgeye çeker (45, 46). İnflamasyon ortalama 4-7 gün sürer. Vazokonstrüksiyonu takiben mast hücrelerinin histamin salgılaması sonucu yara bölgesindeki arteriol ve venüllerde vazodilatasyon olur ve kılcıl damar geçirgenliği artar. Vazodilatasyon ve damar geçirgenliğindeki artış sonucu oluşan plazma sızıntısı ile yara bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem meydana gelir (46). Yara bölgesini debristen arındırmak için bölgeye ilk olarak nötrofiller, ardından makrofajlar ve lenfositler gelir. Nötrofiller fagositozdan, çeşitli enzim ve sitokinlerin salgılanmasından sorumludurlar.

24-48 saat sonra yara bölgesine ulaşan makrofajlar bölgeye hâkim olurlar ve hücre artıklarını fagosite ederler. Proliferasyon safası yara oluşuktan yaklaşık 4 gün-7 gün sonra başlar ve 21. güne kadar devam eder. Bu safha anjiyogenezis, granülasyon dokusu oluşumu, kollajen sentezi, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon olaylarını kapsar (45, 47). Kemik dokusunda ise inflamatuvar hücreler nekrotik dokuları rezorbe ederken fibroblastlar bölgeye gelerek bu dönemi başlatırlar. Kallus oluşumu için anjiyogenezis ve bütünlüğü bozulmamış periost varlığı mutlaka gereklidir. Kemik iyileşmesinde görev alan mezenşimal hücreler granülasyon dokusu, periost ve endosteum kaynaklıdır. Lokal mezenşimal hücreler; fibroblast, osteoblast ve kondroblastlara dönüşürler. Bu hücreler de kollajen, glikozaminoglikan, glikolipid ve glikoprotein içeren bir ekstraselüler matriks salgırlar. Oluşan zemin maddesi ve fibröz doku fibrokartilaj kallusa dönüşür. Böylece ilk oluşan kemik "örgü kemik" olarak adlandırılır. Bu kemik iyileşmenin 4-6. haftasına kadar kalır (48). Bu safhadan sonra

yeniden şekillenme (remodeling) fazı başlar. Bu safha insanda normal şartlar altında 4-16 hafta sürebilir fakat aylarca yıllarca da devam edebilir. Yumuşak dokuda bu fazın en önemli özelliği yara bölgesinde kollajen birikimi olmasıdır. Ayrıca inflamatuvar hücre sayısı azalır ve bir fibroblast türü olan miyofibroblastlar tarafından yaranın kontraksiyonu sağlanır. Remodelling sonucu oluşan skar dokusu hücre ve damardan fakir ve kollajen lif ihtiva eden, normal bağ dokudan daha yoğun fibröz bir yapıdır. Skar dokunun gerilme gücü remodeling boyunca artsa da hiçbir zaman normal dokunun gerilme gücüne ulaşamaz. Bir skarın ulaşabileceği maksimum gerilme gücü normal derinin yaklaşık olarak %70–80'i kadardır (45, 49).

Kemik iyileşmesinin bu safhasında, immatur bağ doku oluştuktan sonra osteogenez devam eder. Oluşan örgü kemik osteoklastlar tarafından yıkılır ve primer osteonlar yerini lameller kemiğe ve kemik iliğine bırakır ve sekonder osteonlar oluşur. Primer kemik birkaç hafta gibi kısa sürede oluşur fakat primer kemiğin lameller kemiğe dönüşmesi aylar sürer (50, 51).

2.3. Diş Çekim Soketinde İyileşme

Diş çekim soketinde iyileşme, diş çekiminden hemen sonra sokette pıhtı oluşumuyla başlar; olgun sert ve yumuşak dokuların şekillenmesiyle sonlanır. Çekim soketindeki yara iyileşmesi, yumuşak doku yara iyileşmesine benzer ve kemik dokusunu da içeren, pıhtı oluşumu, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu formasyonu ve kemik formasyonu evrelerini içerir. Bu da çekim soketi yara iyileşmesinin, hem yumuşak doku iyileşmesini hem de kemik doku iyileşmesini kapsadığını gösterir (52). Diş çekimi sonrasında ilk 24-48 içinde soket içinde vasküler değişiklikler başlar (53). Bu damarsal değişimleri lökositlerin pıhtıya doğru diapedezi izler. 3.günde fibroblastlar periodontal membrandan diş çekim yarasının merkezine geçer. Serbest diş eti kenarları çekim bölgesine doğru göç eder. Epitelin soket içerisine migrasyonu ilk bir hafta epitel granülasyon dokusuna temas edene kadar devam eder. Soketteki inflamatuvar hücreler epitel hücreleri tarafından bağ dokusu olarak algılandığı için hücresel migrasyon yüzeyde kalır. Cilt iyileşmesinde ise bu olayın tam tersine, epitelyal hücreler pıhtı altından migrasyon gösterir ve böylece kan pıhtısı epiteli

korur. 5.gün sonunda yara tabanında fibroblastlardan ve damar endotelinden oluşmuş bir doku vardır. 7-14. günlerde, çekim soketinin içinde fibroblast sayısı artar ve anjiyogenezis başlar. Yüzeydeki epitelizasyon bu arada tamamlanmış olur. 21. günden sonraki süreç iyileşmenin son safhası ve kemikleşmenin tamamlanma süresinin başlangıcıdır (54). Farklılaşan osteogenik hücreler, soket tabanından ve duvarlarından granülasyon dokusuna doğru migrasyona uğrar. Amler, 1969'da insanlarda yaptığı çalışmada çekim soketlerinden aldığı örneklerdeki histolojik çalışmada, iyileşmenin ilk gününde pıhtı formasyonunun olduğunu, 7. gününde pıhtının yerini granülasyon dokusuna bıraktığını ve tabanda osteoid gelişiminin izlendiğini belirtmiştir (55). İyileşmenin 20. gününde ise granülasyon dokusunun bağ dokusu ile yer değiştirdiği, 38. gün histolojik incelemelerinde ise soketin minimum 2/3'ünün trabeküler kemikle dolmuş olduğu gösterilmiştir.

2.4.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesinin başarılı olabilmesi için; hasar gören bölgeye yeterli miktarda kanın ve besinin ulaşması gerekir. Yara iyileşmesini olumsuz etkileyen faktörler lokal, sistemik nedenler ya da sistemik bir hastalığın lokal etkileri de olabilir (Tablo 2.1), (56).

Yara iyileşmesini bozan sistemik metabolik hastalıkların arasında en sık görüleni diabetes mellitus'tur. Diyabetik hastalardaki mikroanjiopati ve ateroskleroza bağlı gelişen hipoksi yara iyileşmesini olumsuz etkiler (56-58).

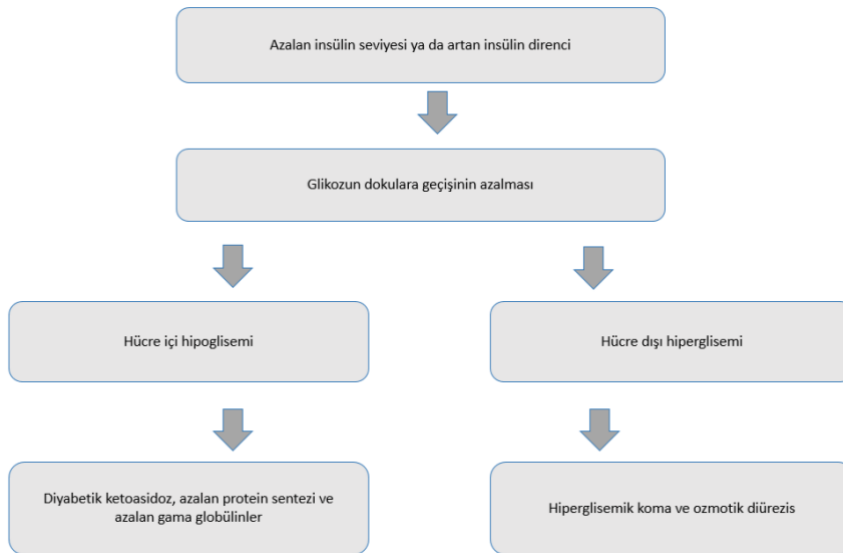
Tablo 2.1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Enfeksiyon	Metabolik Hastalıklar
Yabancı Cisim	Beslenme Bozukluğu
İskemi	Konjenital Yara İyileşme Bozuklukları
Malignite	Alkolizm
Sigara	Steroid Kullanımı
Venöz Yetmezlik	Kanser Kemoterapisi
Mekanik Travma	İleri Yaş
Toksinler	Uzak Malignite
Radyasyon	Diyabet

2.5. Diabetes mellitus

İnsülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize kronik ve metabolik bir hastalıktır. Özellikle kan damarları, gözler, böbrek, kalp, sinirler gibi çeşitli organ ve sistemler bu bozukluk sonucunda zarar görebilir (59, 60).

Diabetes mellitus(DM)'un etyopatogenezi ile ilgili yapılan araştırmalar, hastalığın heterojen, hiperglisemi ile karakterize birçok durumu içine alan bir sendrom olduğunu ortaya koymuştur (61). Diyabette klinik olarak poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi klasik belirtiler ve hiperglisemiye bağlı gelişen retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik komplikasyonlar görülür (62). Yetersiz insülin ya da insülin direnci dokuların yetersiz glikoz almasına neden olur ve sonuçta hücre içi hipoglisemi ve hücre dışı hiperglisemi gelişir. Bu durum DM'nin patofizyolojisinin temelini oluşturur (Şekil 2.7) (63).



Şekil 2.7: Diabetes mellitusun patofizyolojisi (63)

DM, insülin sentezine bağımlı yani tip 1 diabetes mellitus (DM1), insülin sentezine bağımlı olmayan tip 2 diabetes mellitus (DM2) ve gebelik sırasında görülebilen gestasyonel DM olmak üzere başlıca üç tipte sınıflandırılır (64, 65).

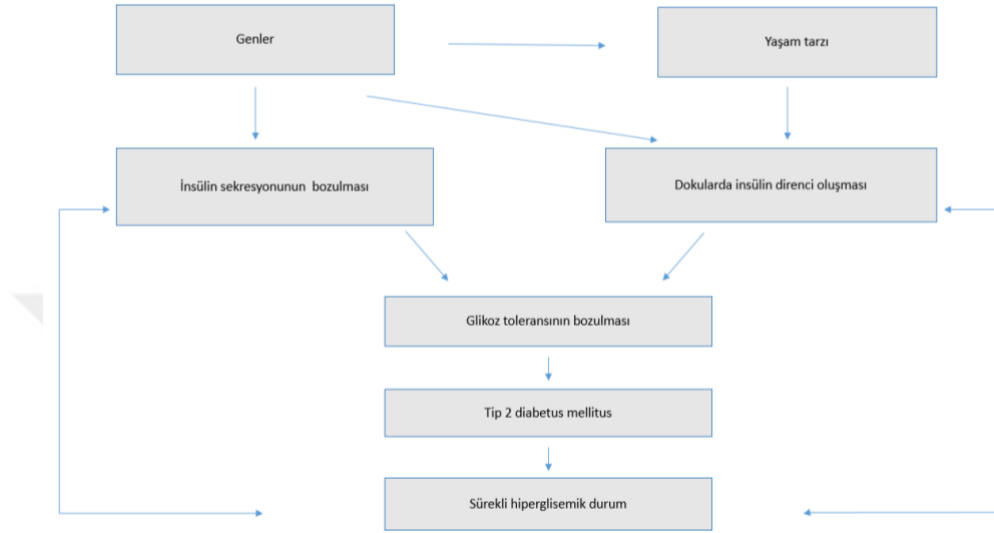
Tip 1 Diyabet, pankreatik beta hücrelerinin otoimmün hasarı sonucu, insülin yetmezliği nedeniyle ortaya çıkar. Tüm diyabet popülasyonunun yaklaşık %5-10'unda görülür.

Genellikle 35 yaşın altında, en sık 8-14 yaş grubunda ortaya çıkmasına karşın, otoimmünite tanı testleri tip I diyabetin her yaşta ortaya çıkabileceğini göstermiştir(63). Bundan dolayı juvenil diyabet terimi terminolojiden çıkartılmıştır. Tip I diyabette ani olarak başlayan semptomlar belirgin ve şiddetlidir.

Ketoasidoza eğilim vardır. Kilo kaybı ile beraber polifajinin görülmesi çok tipiktir. Tip I diyabetin tedavisi insülin replasmanı ile sağlanır (66).Tip I diyabette pankreasın langerhans adacıklarındaki hücrelere karşı oluşan otoantikolar arasında adacık hücresi otoantikoları, insülin otoantikoları, glutamik asit dekarboksilaz, tirozin fosfataz IA-2 (ada hücresi antijeni), tirozin fosfataz IA-2 β ve çinko taşıyıcı protein (ZnT) otoantikoları bulunur (67). Bu pankreatik otoantikolar, tip I diyabetin karakteristiğidir ve tip I diyabet hastalarının serumunda, hastalığın başlangıcından aylar veya yıllar önce saptanabilir (64, 68). Çoğunlukla genetik yatkınlık sonucu oluşan tip I diyabet etiolojisinde virüsler, vitamin D yetersizliği, anne karnında kimyasal ajanlara maruz kalma, hijyen yetersizliği, obezite gibi bazı çevresel faktörler de yer alabilir (69).

Tip 2 diyabet, tüm diyabet tiplerinin %90-95'ini oluşturur. Tip 2 diyabet yaşamın daha geç evrelerinde genellikle 40 yaşın üzerinde görülür. Tip 2 diyabet insülin direnci yanında, pankreasın yeterli düzeyde insülin salgılayamaması sonucunda gelişir. Pankreas insülin üretir, ancak insüline duyarlı dokuların insüline direnç kazanması sonucu insülin aktivitesi azalır. Tip 2 DM'nin gelişmesi yavaştır. Tip 2 diyabet insülin sekresyonunun bozulması, dokularda insülin direncinin oluşması ile ilgili genetik faktörlerin yanında obezite, aşırı beslenme, egzersiz yapılmaması, stres ve yaşlanma gibi çevresel faktörlerin birleşiminden kaynaklanan heterojen bir bozukluktur (70). Otoimmün bir bozukluk olmamasının yanında sorumlu genlerin karmaşıklığından dolayı çoğu hastada bu tipe yatkınlık gösteren duyarlı genler tanımlanmamış (63) olsa

da Transkripsiyon faktörü 7-benzeri-2 (TCF7L2) geni türevlerinin bu diyabete yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (71). DM2'nin patogenezi insülin sekresyonunun bozulması ve insülin direnci oluşması ile karakterizedir (Şekil 2.8) (63).



Şekil 2.8: DM2'nin Patogenezi (63, 72)

Tip 2 diyabet genellikle obez bireylerde meydana gelir, hipertansiyon ve dislipidemi ile ilişkilidir. Bu hastaların %85'i obez, kalan %15'i non-obezdir. Diyabetten etkilenen bireylerden %50'sinden fazlasının tanısının konmadığı tahmin edilmektedir. Çünkü hiperglisemi yavaş yavaş meydana gelir ve hipergliseminin klasik semptomlarına yol açacak kadar şiddetli değildir. Ancak ileri dönemlerde klinik olarak poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi klasik belirtiler ve hiperglisemiye bağlı retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik komplikasyonlar görülebilir (62). Ayrıca kontrolsüz diyabeti olan hastalarda yara iyileşmesinde bozulma gözlenir (73). Yara iyileşmesini olumsuz etkileyen etkenlerin başında diyabette görülen venöz kan dolaşım bozukluğuna bağlı hipoksi gelir. Uzamış hipoksi durumunda başarısız perfüzyon ve zayıf vaskülarizasyon gözlenir. Hipoksi durumunda erken enflamatuvar cevap şiddeti artar, böylece oluşan oksijen radikallerinin miktarında da fazla bir artış gözlenir (74). Diyabetik bireylerdeki yaralarda ayrıca hücre fonksiyonlarında da düzensizlikler gözlenir. Bu durum diyabetik hastalarda bakterilerin eliminasyonunda başarısızlık ve tamir sürecinde bozulmayla sonuçlanır (75). Ayrıca diyabetik hastalarda

görülen nöropati de yara iyileşmesinin kötü yönde etkileyebilir. Çünkü birçok nöropeptit; hücre kemotaksisini düzenleme, büyüme faktörlerinin yapımını indüklenmesi, hücre proliferasyonunu stimüle etmesi dolayısıyla yara iyileşmesi ile bağlantılıdır (75).

Gestasyonel Diabetes Mellitus, Gebelik sırasında ilk kez kendini belli eden bir glikoz tolerans bozukluğudur (76). Genellikle gebeliğin son trimesterinde insan plasental laktojen hormonunun (HPL) insülinin dokular üzerindeki etkisini inhibe etmesi ile oluşur (77). Gestasyonel diyabetin etkisi doğum sonrasında düzelmektedir. Fakat sonraki gebeliklerde de tekrarlayabilir ve ilerleyen yaşlarda tip 2 diyabete neden olabilir (78).

2.5.1. Diabetes mellitus tanı kriterleri

1997 yılında ADB'nin ve 1999 yılında DSÖ'nün sunmuş oldukları raporlarda belirttikleri DM tanı kriterlerine göre;

1- Klinik semptomlar ile birlikte günün herhangi bir vaktinde, kişinin açlık durumu önemsenmeden ölçülen plazma glukoz seviyesinin ≥ 200 miligram/desilite (mg/dl) olması,

2- Açlık plazma glukoz seviyesinin, en az 8 saatlik tam açlık sonrası, ≥ 126 mg/dl olması,

3- 75 gramlık glikoz yüklemesi sonrasında OGTT testinin 2. saat kan glukoz seviyesinin ≥ 200 mg/dl olması durumlarından herhangi birinin iki farklı günde pozitif bulunması diyabet tanısı için yeterlidir (79).

Glukoz toleransının sınıflaması aşağıdaki gibidir (80):

Açlık Plazma Glukozu;

- Normal < 110 mg/dl
- Bozulmuş açlık glukozu ≥ 100 mg/dl ve < 126 mg/dl
- DM ≥ 126 mg/d

OGTT sırasında 2.saat plazma glukozu;

- Normal < 140 mg/dl
- Bozulmuş açlık glukozu \geq 140 mg/dl ve < 200 mg/
- DM \geq 200 mg/dl

Diyabet tanısında bu testlere ek olarak son 30-90 günlük metabolik kontrolü belirlemek için hemoglobin A1 (HbA1) seviyesi testi de kullanılabilir. HbA1 testi kanda hemoglobin molekülüne geri dönüşümsüz şekilde bağlanan glukoz düzeyini gösterir. Ortalama kan glukoz düzeyi artınca HbA1c düzeyi de artar (81).

HbA1c < % 6 olması durumunda kişi sağlıklı kabul edilir. Diyabetli bireylerde HbA1c < % 7 olması metabolik kontrollerinin iyi olduğunu gösterirken, diyabetli bireylerde HbA1c > % 7 olması ise metabolik kontrollerinin kötü olduğuna işaret eder. HbA1c seviyesinin ölçümü ile geçmiş 1-3 aylık döneme ait ortalama kan glukoz seviyesi tahmin edilir. Fakat HbA1c düzeyi kan glukoz düzeyindeki anlık değişimleri göstermez (66).

2.5.2.Epidemiyoloji

Diabetes mellitus en sık görülen kronik hastalıklardandır. Tüm diyabet vakalarının % 85'ini oluşturan, Tip II diyabetin prevalansının batı toplumundaki erişkin popülasyonunun yaklaşık % 5- 10unu oluşturduğu tahmin edilmektedir.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) verilerine göre 2005 yılında ABD'de tüm yaş gruplarındaki diyabet prevalansı %7'dir (82).

Diyabette son yıllarda yaşanan kaygı verici artıştan dolayı 1997 yılında 143 milyon olan tüm dünyadaki diyabetli erişkin vaka sayısının, 2025 yılına kadar iki katına çıkarak, 300 milyonu aşması beklenmektedir (79, 83).

2.5.3. Diabetes Mellitusun Belirtileri ve Nedenleri

DM Belirtileri:

- Aşırı miktarda susamak (polidipsi)
- Fazla miktarda idrar yapmak (poliüri)
- Çok fazla miktarda yemek yemek (polifaji)
- Ani kilo kaybı
- İyileşmeyen yaralar
- Kuru kaşıntılı cilt
- Sık enfeksiyon gelişmesi
- Cinsel sorunlar
- Bulanık görme

DM Nedenleri:

- Obezite
- Ailede DM olan kişiler
- Yorgunluk
- Pankreasa zarar veren virüsler
- Fiziksel ve emosyonel stres
- İleri yaşlarda risk artar (Tip 2)

2.5.4.Diyabetin Neden Olduğu Komplikasyonlar

- Mikrovasküler bozukluklar
- Makrovasküler bozukluklar
- Kardiyovasküler bozukluklar
- Karaciğer perfüzyon düşüklüğü
- Enfeksiyona yatkınlık
- Nöropati
- Göz komplikasyonları
- Solunum komplikasyonları
- Gastrointestinal komplikasyonlar
- Glomerüler bazal membranda değişiklikler
- Hematolojik ve biyokimyasal komplikasyonlar
- Gut ve benzeri hastalıklar çabuk gelişir.

Diyabet komplikasyonlarının oluşumunda başlıca 3 mekanizmanın etkin olduğu kabul edilir (84).

a) Polioid Yol

Glikoz, aldoz redüktaz enzimi ile retina, böbrek papillası, lens, Schwann hücreleri ve aortada sorbitole dönüştürülür. Aldoza redüktaz enzim aktivitesi için NADPH gerekir. Bu nedenle hücre içi NADPH tükenir. NADPH yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesini düşürür. Diyabetik hastada katarakt, retinopati, nöropati, aort hastalığı polioi yol ile gelişir (84, 85).

b)Değişmiş Mikrovasküler Hemodinami

Diabetes mellitus damar yapısını belirgin şekilde değiştirir. Hidrostatik basınçtaki artış damarlarda fiziksel zarara yol açar, bazal membranın yapısını değiştirir ve fonksiyonlarını bozar (84).

c)Proteinlerin Non-Enzimatik Glikasyonu

Vücutta enzimatik yolla glikasyonu yapılan proteinler yüksek glikoz düzeylerine uzun süre maruz kalırsa düzenli olmayan bir glikozillenme ile non enzimatik yolla glikoz protein molekülüne bağlanır. Diyabet olmayan bireylerde ise ortamda yeterli düzeyde insülin olması protein yapısını ve fonksiyonunu değiştiren glikasyon önler. Plazma yarılama ömrü yavaş olan eritrosit membranları, hemoglobin, albümin, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) diyabet hastalarında aşırı miktarda glikasyona uğrar. Lens, kollajen, glomerül bazal membran, aorta, koroner arterler, femoral sinir proteinleri de sıklıkla glikasyona uğrarlar (84).

2.5.5. Diyabet ve Yara İyileşmesi

Diabetes mellitus (DM), pankreasın insülin salgısının yetersizliği veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla gelişen, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen; kronik, yavaş seyirli metabolik bir hastalıktır. Tip I diyabette insülin salgılanmazken, Tip II diyabet de ise insülin azlığı ve/veya reseptör duyarlılığının azlığı söz konusudur (86).

Diyabetik hastalarda hücrelerin glikoz alımının ve kullanımının engellendiği için hücreler enerji kaynağı olarak yağ ve proteinleri kullanır.

Yara iyileşmesi için risk faktörü olan bu hastalıkta, yara iyileşmesinde görülen problemler; etkilenen bölgede gelişen perfüzyon bozukluğu, inflamatuvar cevaptaki yetersizlik, fibröz protein sentezinin azalması ve bozulmasıdır (87, 88).

Diyabetlilerde görülen yetersiz yara iyileşmesinin inflamatuvar faz sırasındaki anormal doku cevapları ile ilgili olduğu düşünülmektedir (89, 90). Yara iyileşmesinin başlangıç evresi olan inflamatuvar fazın tipik özellikleri, diyabetli hastalarda anormallikler gösterir. Yara bölgesinde inflamatuvar hücre yoğunluğunun az olması inflamatuvar medyatörlerin ortamda daha az bulunmasına yol açar. Bu da fibroblast göçünün yavaşlamasına ve kollajen sentezinde azalmaya neden olur. Diyabette dolaşım sisteminde erken gelişen ve ağır seyirli ateroskleroz vardır. Aynı düzey

ateroskleroza sahip nondiyabetiklerde yara iyileşmesinin iskemi kaynaklı aynı şekilde geciktiği bilinmektedir. Diyabetik hastalarda ateroskleroza eklenen başka olumsuz koşullar durumu daha da ağırlaştırır (88, 91). Anjiogenezisin azalmasının neden olduğu hipoksi ve enfeksiyon riskinde artışın dışında diyabetik yara iyileşmesindeki sorunların birçoğu inflamatuvar evrededir. Diyabette enfeksiyon çoğunlukla polimikrobiyal karakterde olmakla beraber, hipoperfüzyonlu ve dolayısıyla hipoksik diyabetik şartlar özellikle anaerobik enfeksiyona zemin oluşturur. Enfeksiyon hipoksiyi daha da derinleştirdiği için yara iyileşmesi belirgin şekilde bozulur (88, 91). Diyabetli hastalarda kapiller endotelin bazal membranının fonksiyonu bozulduğu için vazodilatasyon istenilen düzeyde olmaz (92).

Hasar görmüş endotel onarılrken yüksek intrasellüler glikoz endotel hücrelerince bazal membran sentezini indükler. Yeni oluşan bazal membran aşırı protein biriktiği için kalınlaşır ve kapiller geçirgenlik azalır. Bu durum lökosit ve eritrosit göçünü de azaltır (92). Lökositlerde fagositoz kusurları oluşur. Yara bölgesine gelen enflamatuvar hücrelerin yara bölgesinden ayrılma süresi uzar ve enflamasyon kronikleşir (93, 94). Ayrıca lökositin fagositik işlevinin oksidatif patlama reaksiyonunda oksijen ihtiyacı 10-15 kat artar. Ayrıca fagositoz fonksiyonu da enerji gerektirdiğinden, fagositoz işlevi hipoksik şartlarda belirgin şekilde bozulur (91, 95). Lökosit aktivitesi bozulunca fibroblast çoğalması ve kollajen sentezi de bozulur (96). Granülasyon dokusu oluşumu bozuktur (97, 98). Doku zedelenmesine verilen vasküler cevap, otonom nöropatiye bağlı gelişen sempatektomi nedeniyle azalır. Zedelenme bölgesinde başlangıç vasküler cevap (kapiller, arterioler dilatasyon ve lokal permeabilite artışı) aksonal refleksin kaybolması nedeniyle bozulur. Diyabette yara iyileşmesinin bozulmasına bir neden de yüksek kan glikoz düzeyinin kollajen yapımını engellemesidir. Kollajenin çapraz bağlanma oranını karbohidrat metabolizması belirler (59). Kollajen sentezinin engellenmesine bağlı olarak diyabette yaranın kopma kuvvetinde azalma görülür.

2.5.6. Deneysel Diabetes Mellitus Modeli

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunmanın ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygın bir yöntemdir. Diyabet yara iyileşmesini olumsuz etkileyen kronik bir hastalık olup, uzun dönem incelemeler veri toplama açısından zaman alabilir. Bu yüzden hayvan modelleri üzerinde çalışılması daha uygun olabilir. Deneysel diyabet modelleri sıçan, hamster, fare, kobay, tavşan, kedi ve köpek gibi deney hayvanları kullanılarak oluşturulabilir. İlk deneysel diyabet modeli yaklaşık 100 yıl önce pankreası çıkarılan bir köpekte diyabet benzeri tablonun gözlenmesi ile elde edilmiştir.

Diabetes Mellitus Oluşturmak İçin Kullanılan Yöntemler

a) Alloksan aracılı diyabet: Vücut hücrelerinin çoğunun kendilerini koruyan antioksidan enzimleri varken pankreas β hücrelerinin antioksidan enzimleri yoktur. Alloksan askorbat ve tiollerle reaksiyona girerek, onların antioksidan etkilerini engeller. Böylece hücre içinde oksidan madde birikir ve β hücrelerini oksidan etkisi ile tahrip ederek hayvanlarda diyabet oluşturur (99, 100).

b) Transgenik fare modeli: Bu hayvanlarda otoimmün mekanizma ile pankreas β hücrelerine antikor oluşturarak diyabet oluşturulur (100, 101).

c) Çinko Şelatörleri: 8-hidroksikinolin gibi bazı çinko şelatörleri sıçan ve farelerde diyabet modeli oluşturmak için kullanılmışlardır. Fakat yaygın bir teknik değildir (102).

d) DNA virüsü aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli: Kilham's sıçan virüsü otoimmün mekanizma ile deneysel diyabet oluşturulabilir (103).

e) RNA virüsleri aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli: Coxsackie B4, Mengovirüs ve Retrovirüs otoimmün mekanizma ile deneysel diyabete neden olur (103).

f) Streptozotosin (STZ) aracılığıyla oluşturulan deneysel diyabet modeli: STZ ilk kez 1959 yılında Streptomyces griseus adlı mantarın kültüründen elde edilmiştir. Bu

kültürden STZ eldesi güç olduğu için sentetik olarak elde edilmeye başlanmıştır (104). STZ antibakteriyel bir maddedir. STZ nin antitümoral, tümorojenik ve diyabetojenik etkileri üzerine pek çok araştırma mevcuttur. STZ antioksidan enzim sisteminin bulunmadığı pankreas β hücrelerini oksidan etkisi ile tahrip ederek insülin salınımını azaltır (105). STZ, glikoz molekülü içeren zararlı bir glikoz analogudur ve glikoza benzer şekilde glikoz transport proteini 2 (GLUT2) aracılığı ile pankreasın β hücrelerine alınır (106, 107). STZ'in sitotoksik etkisi, NAD seviyelerinin azaltılması ve intrasellüler serbest radikallerin oluşturulması aracılığıyla olur. Bu konuda bir diğer düşünce DNA zincir kırılmalarıdır (108).

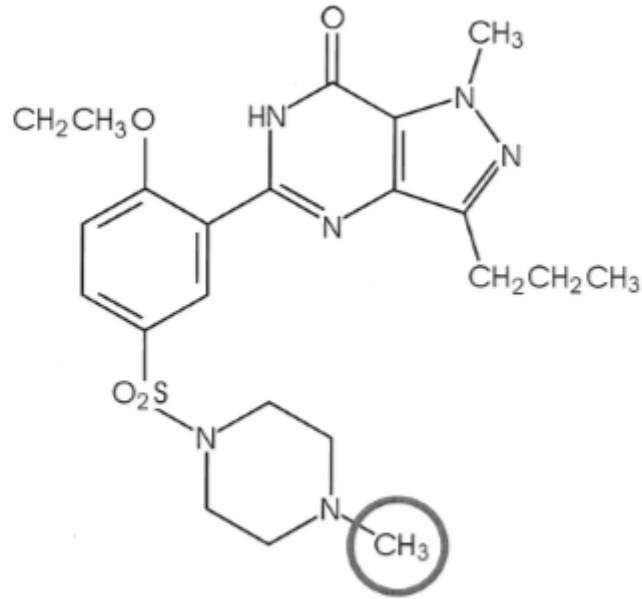
Pankreas β hücrelerinin NAD seviyeleri düşüktür ve STZ toksitesisi ile kolayca hasarlanabilirler (109). GLUT-2 glukoz taşıyıcı reseptörlerinin kan beyin bariyerinde olmaması nedeniyle, sistemik uygulamayı takiben beyinde STZ'nin direkt etkileri oluşmaz. Ayrıca bunların dışında, STZ'nin uygun olmayan NO cevapları meydana getirerek diyabete sebep olduğu fikri de ortaya atılan görüşler arasında yer alır.

STZ-diyabetik ratlar hipoinsülinemiktirler ancak sağ kalım için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. DM'lu insanlarda olduğu gibi, STZ-diyabetik ratlarda da gözler, böbrekler, kan damarları ve sinir sisteminde hasarlar gelişir. STZ-diyabetik rat modeli, kronik hiperglisemi etkilerinin çalışmasında da kullanılışlıdır. Bu modelin endokrinolojik özellikleri ne sadece tip 1'i ne de tip 2'yi yansıtmaktadır ancak tip 1'e daha yakın bir diyabet benzeri tablo gelişir (102, 109). Tekrarlayan küçük dozlarda veya 50-100 mg/kg tek doz olarak kullanıldığında diyabet oluşturabilir. İntravenöz, subdermal, intramüsküler ve intraperitoneal olarak uygulanabilir. Tekrarlayan küçük dozlarda verildiğinde diyabet yavaş olarak gelişir ve toksik mekanizmalardan daha çok otoimmün bir mekanizma ile meydana gelir. Tek doz enjeksiyondan sonra kandaki insülin seviyesi normalin %10-30 düzeyine kadar düşer ve 20-30 mmol/L (200-300 mg/dL) düzeylerinde bir hiperglisemiye yol açar. Bu kan şekeri düzeyinde hayvanda poliüri, polidipsi, kilo kaybı olur, fakat bu dozda ciddi ketozis gelişmez ve hayvan yaşamını insülin ihtiyacı olmaksızın haftalarca sürdürebilir (110). Daha yüksek dozlarda daha derin bir insülin yetersizliği oluşur ve eğer insülin verilmezse bu

spontan ketoasidoz ve ölümlere yol açar (102). STZ enjeksiyonundan sonra oluşan diyabetin 2 saat içinde nikotinamid (NAD) verilerek inhibe olduğu görülmüştür. Bu sayede STZ'nin hücrelerinde NAD seviyesini azaltarak etki ettiği anlaşılmıştır (111, 112).

2.6.Sildenafil Sitrat

Sildenafil; C₂₂H₃₀N₆O₄S₁ kimyasal yapısında, moleküler ağırlığı 474,6 g/mol olan PDE 5 enzim inhibitörüdür. Sildenafil, 1980'li yıllarda antianjinal olarak denenirken ereksiyon yan etkisi nedeniyle dikkati çekmiş ve erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (113). Sildenafil, yapısal olarak sentetik bir bronkodilatör olan zaprinasta benzeyen pirazolomidion derivativesidir. Oral alımında emilimi oldukça hızlıdır. Yarılanma ömrü insanlarda 2.4 saat, ratlarda 0.3 saattir.



Şekil 2.9:Sildenafil'in kimyasal yapısı

Fosfodiesteraz inhibitörleri çok sayıda fizyolojik olayda rol alırlar. Trombosit agregasyonu, düz kas gevşetilmesi, sıvı hemostazı, immün cevap ve kardiyak kontraktile bunlar arasında sayılabilir (114).

Vasküler düz kasların kontrolü, ana işlevi çözünür guanil siklazı aktive etmek olan endotelial NO'dadır. Çözünebilir guanilat siklaz, fizyolojik olarak NO ve karbon monoksit tarafından aktive edilir.

Çözünebilir guanil siklazı stimüle eden farmakolojik ajanlar NO donörleridir. NO'nun aynı zamanda cGMP-bağımsız yollarla iyon kanallarını direk aktive ederek de etki ettiğini bilmek önemlidir (115, 116).

Endotel hücrelerinden NO salındıktan sonra mikrodolaşım sistemini saran düz kas hücrelerine diffüze olur. Sonrasında guanilat siklaz (GC) enzimine bağlanır ve sonuçta GC aktive olur ve cGMP oluşur (117). cGMP, düz kas kasılmasından sorumlu miyozin proteinini fosforiller ve miyozinin gevşemesine ve damarların gevşemesine neden olur. PDE- 5, cGMP için yüksek seviyede spesifiktir ve vasküler sistemi de içeren düz kasta bol miktarda bulunur. PDE-5 inhibitörleri, enzime bağlanmak için substrat olan cGMP ile yarışarak inhibisyon oluştururlar. PDE-5 inhibitörleri miyozinin defosforilasyonunu engeller ve vazodilatasyonun daha uzun süre oluşmasını sağlar (118, 119). Sildenafil cGMP yıkımını azaltarak birikimine neden olan, NO'nun cGMP aracılı etkilerini güçlendirir (120, 121). Bundan dolayı, sildenafil hem fizyolojik gevşeme sağlar hem vasküler sistemde guanil siklazı aktive eden herhangi bir ilacın farmakolojik aktivitesini güçlendirir (122). Sildenafil ayrıca iNOS ve eNOS'un mRNA ve protein düzeyinde ekspresyonunu uyararak NO salınımını artırır (123, 124).

Günümüzde tanımlanmış PDE'nin 11 izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar vücutta birçok farklı yere dağılmışlardır. Örneğin; PDE 5 kan damarları, vasküler düz kas ve trombositlerde lokalizedir.

Tablo 2.2: PDE'lerin substratları ve vücut dağılımları (113)

PDE	Substrat	Doku lokalizasyonu
1	c(GMP)/c(AMP)	Beyin, kalp, böbrek, karaciğer, iskelet kası, vasküler ve visseral düz kaslar
2	c(AMP)/c(GMP)	Adrenal korteks, beyin, korpus kavernozum, kalp, böbrek, karaciğer, visseral düz kas, iskelet kası
3	c(AMP)/c(GMP)	Korpus kavernozum, kalp, trombosit, vasküler ve visseral düz kas, karaciğer, yağ doku, böbrek
4	c(AMP)	Böbrek, akciğer, mast hücresi, beyin, kalp, iskelet kası, vasküler ve visseral düz kas, tiroid, testis
5	c(GMP)	Korpus kavernozum, trombosit, vasküler ve visseral düz kas
6	c(GMP)	Retinal rod ve kon hücreleri
7	c(AMP)	İskelet kası, kalp, lenfosit
8	c(AMP)	Testis, over, ince barsak, beyin
9	c(GMP)	Dalak, ince barsak, beyin
10	c(AMP)/c(GMP)	Putamen, nüklous kaudatus, testis, tiroid
11	c(AMP)/c(GMP)	Korpus kavernozum, vasküler düz kas, testis, hipofiz, karaciğer, böbrek, prostat, kalp

PDE inhibitörleri, NO etkisini cGMP üzerinden indükleyerek pulmoner arterlerde sistolik ve diastolik basınçları düşürür, arterlerde ve venlere dilatasyona neden olur, trombositlerde agregasyonu azaltır ve düz kaslarda relaksasyonu sağlar (125). PDE inhibitörlerinin diyabetik nöropati, raynaud fenomeni, sistemik skleroz ve dijital iskemide de klinik kullanım alanları bulunur (126, 127).

NO'dan farklı olarak PDE 5 inhibitörleri yüksek oranda spesifik enzimlerdir ve etkilerini sadece belirli hedef hücrelerde gösterirler (114).

Trombositlerin PDE'lere verdiği cevap da araştırılmıştır ve cGMP bağımlı protein kinazın NO vasıtası ile trombosit inhibisyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (128). Nitrik oksit'in deneysel sıçan modellerinde, vazodilatasyon sağladığı, trombosit agregasyonunu inhibe ettiği, anjiyogeneze yardım ettiği ve flap yaşayabilirliği üzerine koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (129, 130).

Sildenafil yara iyileşmesi üzerindeki yararlı etkilerini, vasodilatasyon (131), trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe etmek suretiyle mikrosirküler hemodinamiyi desteklemek (113), anjiyogenezisi uyarmak (114), apoptozis ve fibroblastların adezyonunu uyarmak ve enflamatuvar cevabı azaltmak (132) gibi değişik mekanizmalarla gösterir.

Sildenafil'in yıkılımı primer olarak karaciğerde N-metilasyon, hidrosilasyon ve halka açılımı ile olur. Karaciğer tarafından metabolik klirens ve ilk geçiş etkisi nedeniyle oral alınan sildenafil'in %38-41'i biyoyararlanım gösterir (133). Sildenafil'in en önemli metaboliti yine kendisi olup, plazma konsantrasyonunun %47' sini oluşturur. Oral alınan sildenafil'in %79'u feçesle, %19'u idrarla atılır (134).

Sildenafil'in en yaygın yan etkileri; baş ağrısı, yüz kızarması ve burun tıkanıklığı gibi semptomlar, vazodilatasyonun temel semptomlarıdır (135). Ek olarak trombositler PDE 5 içerdiği için sildenafil bu hücrelerin fonksiyonlarını etkileyebilir. Bundan dolayı sildenafil trombosit agregasyonunu değiştirebilir ve peptik ülserlere neden olabilir (136). Fakat literatürde kanama zamanlarını etkilediği veya mikro dolaşım bozukluklarına neden olduğuna ait bir kanıt yoktur (122, 136).

Bununla birlikte; ilacın herhangi bir bileşenine karşı aşırı duyarlılığı olanlarda, nitrat içeren ilaçlar alanlarda, ciddi karaciğer yetmezliğinde, ciddi hipotansiyon (< 90/50 mmHg) varlığında, yakın dönem geçirilmiş miyokard enfarktüsü öyküsü bulunanlarda ve retinitis pigmentosa gibi kalıtsal dejeneratif retinal bozukluğu olanlarda sildenafil kullanılmamalıdır (137).

2.7.Mikro CT Yöntemi

Bilgisayarlı tomografinin bulunmasından 10 yıl sonra Elliot ve Dover (138) ilk yüksek çözünürlüklü X ışınli mikro bilgisayarlı tomografi (mikro-BT) cihazını geliştirdi. Elliot ve Dover, *Biomphalaria glabrata* salyangozunun kabuğunun görüntüsünü 12 µm çözünürlükle elde etti. Mikro terimi, kesitlerin piksel boyutlarının mikrometre aralığında olduğunu ifade etmektedir. Bu insan versiyonuna kıyasla mikro-BT'nin tasarımının daha küçük olduğu ve daha küçük nesnelere veya hayvanları incelemek için kullanılabileceği anlamına gelmektedir.

Geleneksel medikal tomografi gibi, Mikro-BT de geleneksel medikal tomografi gibi üç boyutlu bir nesnenin orijinal modelini bozmadan sanal modelini oluşturmak için kullanılabilecek kesitlerini X-ışınlarını kullanarak oluşturur. Mikro-BT genellikle canlı olmayan nesnelere kullanıldığı için, tarayıcılar incelenecek nesnelere hareket

etmemesinden ve X-ışınlarından zarar görmemesinden kaynaklı avantajlarından yararlanacak şekilde tasarlanmıştır.

Mikro-BT teknolojisi, geleneksel BT'ye göre 4 optimizasyon kullanır:

1.Yoğun materyallere nüfuz edebilecek yüksek enerjili X-ışınları kullanır.

2.Uzun ışınlama süresi zayıflamış çıkış gücünü kompanse edip sinyal-gürültü oranını artırır. Böylece kaynak ve dedektörlerin etkisini artırır.

3.X ışını odak noktaları daha küçüktür ve bu da artan bir çözünürlük sağlar.

4.Dedektörler daha hassas ve daha yoğun şekilde paketlenmiştir. Bu da çözünürlük ve tespit verimliliğinde artış sağlar (139).

Son yıllarda birçok araştırma alanında mikro-BT rutin mikroskopi tekniği halini almıştır. Mikro-BT tarayıcılarının dişhekimliği kullanım alanları:

-Morfometrik ölçümlerin yapılması,

-Kök kanal morfolojisinin incelenmesi,

-Kök kanal tedavisinin değerlendirilmesi,

-Modelleme,

-Kraniofasiyal kemik yapının değerlendirilmesi,

-Diş doku mühendisliği,

-Diş sert dokularının mineral yoğunluklarının incelenmesi,

-Dental implantların değerlendirilmesi olarak bildirilmiştir (140).

Mikro-BT, bir nesneden bir eksen etrafında birçok açıdan X-ışını izdüşüm görüntüleri elde edip, tomografik devamlı bir transaksiyel (incelenen numunenin uzun aksına dik) görüntü dizisi oluşturmak için yeniden yapılandırılan üç boyutlu

görüntüleme yöntemidir (141). Mikro-BT nin çalışma prensibi numunenin üzerine birden fazla X-ışını gönderip bu ışınların bir sensör tarafından yakalanmasıdır. Sensörün yakaladığı X-ışınları dijital görüntüye dönüştürülür (142).

X-ışını kaynağı ile dedektör arasında rotasyon yapan numune taşıyan bir parça yer alır. Kaynak-obje ve kaynak-dedektör mesafeleri uygun geometrik büyütme sağlayabilmek için ayarlanır. Genel olarak kaynak-dedektör mesafesi yaklaşık 20 cm, kaynak-örnek mesafesi 7-18 cm aralığında olur. X-ışını izdüşümleri fiber optik küçültmeli Charge Coupled Device(CCD) sensöre bağlı bir dedektör ile yakalanır. Fiber optik küçültme görüntünün boyutunu küçültür. Görüntünün elde edilirken bilgisayar x-ışını tüpünü ve örnek yerleştirilen parçayı yüzlerce açısız pozisyonda x-ışını izdüşümü elde etmek için kontrol eder (143). Mikro-BT uygulamasındaki önemli nokta en kısa zamanda tam bir veri seti yakalayıp uygun matematiksel algoritmalar ile üç boyutlu hacimsel görüntüyü oluşturabilmektir (144).

Aksiyel tarama adımları arasındaki mesafe yazılım tarafından önceden ayarlanabilir. Bu ayarlama, hem görüntünün çözünürlüğünü hem de x-ışınının ekspoz süresini etkiler. Bu adım aralığının azaltılması tarama süresini uzatır. Sinyal-gürültü oranı (SNR) radyolojide gerçek anatomiyi yansıtan doğru sinyalin, gürültü sinyaline oranıdır (142). Yüksek çözünürlükte tarama yapılmak istenen izole örneklerde tarayıcı çoğunlukla numunenin çapına uygun düşük X-ışını foton enerjisi ile çalıştırılarak, sinyal-gürültü oranı optimize edilir. Tarama süresini kısaltılmak için ise x-ışını hızı örnekte düşük tutulur. Buna bağlı olarak görüntüyü oluşturan foton sayısını arttırdığı için yüksek enerjili x-ışınları kullanılır ancak görüntünün kontrastı da düşer (141). Fakat elde edilen çoklu görüntülerin bilgisayar ortamında depolaması için daha fazla yer gerekir (145).

X-ışını görüntülerini kaydettikten sonra rekonstrüksiyon algoritması ile iki boyutlu projeksiyon görüntülerine dayanarak, nesnenin iç kısmının üç boyutlu bir görüntüsü hesaplanır (146). Elde edilen volumetrik görüntüler daha sonra özel yazılımlar kullanılarak görüntü segmentasyonuna tabi tutulur. Görüntü

segmentasyonu ile nesne yoğunluğuna göre istenmeyen yapılar görüntüden manuel veya otomatik olarak kaldırılır.

Bir görüntü yığınına uygulandığında görüntü segmentasyonundan sonra ortaya çıkan konturlar, farklı yazılımlar kullanılarak görselleştirilebilen veya analiz edilebilen enterpolasyon algoritmaları yardımıyla 3D modeller oluşturmak için kullanılabilir.



3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul 25.10.2018 tarihli toplantısında alınan, 166 sayılı karar ile hayvan etiği açısından uygunluk onayı ile yürütülmüştür. Çalışma sırasında Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. Maddesinde belirtilen "Etik kurallara uygunluk esası" kararına uyulmuştur.

Bu çalışma; deneysel, radyolojik ve histopatolojik olarak üç bölüm altında gerçekleştirilmiştir. Deney kısmı, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, radyolojik değerlendirilmesi Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Laboratuvarı'nda histopatolojik değerlendirmesi ise Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Deney hayvanlarının seçilmesi

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Çalışma, veteriner kontrolü ile sağlıklı olduğu belirlenen ağırlıkları yaklaşık 300-350 gr olan, ortalama 5 aylık yetişkin 24 adet erkek Wistar albino rat (Şekil3.1) üzerinde yapılmıştır. Denekler 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır. Oda ısısı 22 ± 2 °C'de sabit tutulmuştur. Buldukları odanın nispi nem oranı %30-45 arasında tutularak, odanın havalandırması filtre edilerek, kontaminasyon riski önlenmiştir. Ratlar kafeslerde ve altlarında talaş olacak şekilde barındırılmıştır.



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan wistar albino ratlar

3.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Çalışmaya dahil edilen 24 adet rat sağlıklı kontrol grubu (SK), diyabet kontrol grubu (DK) ve diyabet sildenafil grubu olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Bu gruplar da kendi aralarında 14 ve 28 gün yaşatılan gruplar olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır (n=4).

Tablo 3.1: Deney grupları

Gruplar		n	
1	Sağlıklı Kontrol Grubu (SK)	14. günde sakrifiye edilecekler.	4
		28. günde sakrifiye edilecekler	4
2	Diyabet Kontrol Grubu (DK)	14. günde sakrifiye edilecekler.	4
		28. günde sakrifiye edilecekler.	4
3	Diyabet Sildenafil Grubu (DS)	14. günde sakrifiye edilecekler.	4
		28. günde sakrifiye edilecekler.	4

3.3.Deneysel Olarak Diyabet Oluşturma

Çalışmada streptozotosin (STZ) kullanılarak, deneysel olarak diyabet oluşturulmuştur. STZ nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın Ph'sı 4-4,5 olmalıdır. STZ % 0.9'luk sodyum klorür (NaCl) içerisinde çözülmüş ve hayvanın ağırlığına göre 55 mg/kg olacak şekilde doz hesaplanarak, ratlara tek doz STZ (Cayman Chemical, USA)(şekil 3.2) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir (şekil 3.3). STZ uygulamaları günlük taze hazırlanan solüsyondan uygulanmıştır.



şekil 3.2:Streptozosin



şekil 3.3:STZ enjeksiyonu

STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, kuyruk veninden alınan kan ile kan-glukoz düzeyleri saptanmıştır. Kan glikoz konsantrasyonu 200 mg/dl seviyesini açan ratlar diyabetik olarak kabul edilmiştir. Diyabet olmayan ratlara ilk verilen dozun yarısı kadar STZ intraperitoneal olarak uygulanıp 72 saat sonra tekrar ölçüm yapılarak diyabet tanısı doğrulanmıştır. Kandaki glikoz konsantrasyonu şeker ölçüm cihazı (şekil 3.4) kullanılarak ölçülmüştür. Diyabet oluşturulduktan sonra deneklerin kafes sayısı 2 katına çıkarılmış ve dörütlü gruplar halinde barındırılmaya başlanmıştır.



Şekil 3.4:Şeker ölçüm cihazı

3.4.Cerrahi Yöntem

Deneyel diyabet teyidini takiben ertesi gün deney hayvanlarının anestezisi intramuskuler enjeksiyon yöntemi ile 3mg/kg xylazine ve 90 mg/kg Ketamin HCL kullanılarak sağlanmıştır (Şekil 3.5). Yeterli bir anestezi derinliği için göz kapağı refleksinin kaybolması beklenilmiştir.



Şekil 3.5:Anestezi Aşaması

Anestezi sağlandıktan sonra ratlar steril örtü üzerine supin pozisyonda yatırılıp kollarından ani hareket ihtimaline karşı sabitlenmiştir. Çekimin yapılacağı sağ alt molar bölge ekarte edilmiş ve bütün gruplardan tüm çekimler aynı cerrah tarafından aynı teknik ile gerçekleştirilmiştir. Her sıçan supin pozisyonda konumlandırılarak ince uçlu bir sond ile sağ alt 1.molar diş hareketlendirildikten sonra hemostat yardımıyla

çekilmiştir. Çekim yapılan deneklerin çekim soketleri hazırlanan küçük steril gaz tamponla tampone edilip kanama kontrolü sağlanmıştır

3.5.Sildenafilin Hazırlanışı ve Uygulanma Şekli

Sildenafil tedavisi verilecek gruba(DS); Sildenafil (Viagra®, Pfizer İlaç San., İstanbul) (Şekil 3.6) tablet steril kapta ezilerek toz haline getirilmiş ve toz halde bulunan sildenafille serum fizyolojik ilave edilmiştir. Ardından karıştırılarak homojen çözelti hazırlandı. Bu çözelti 10 mg/kg/gün dozunda günlük hazırlanarak operasyon gününden itibaren, DS grubu ratlara (n=8), oral gavaj yöntemi ile sistemik olarak günde bir defa ve aynı saatte uygulanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.6:Sildenafil sitrat ticari formu



Şekil 3.7: Oral gavajla sildenafil verilmesi

3.6.Deney Hayvanlarının Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması

Postoperatif süreçte deney hayvanlarına herhangi bir analjezik ya da antibiyotik ilaç uygulanmamıştır. Deney hayvanları 14. ve 28. günlerde 200 mg/kg sodyum pentobarbital kullanılarak sakrifiye edildikten sonra mandibula yumuşak ve sert doku ile birlikte bilateral olarak alınmıştır (Şekil 3.8)



Şekil 3.8:Biyopsi alınması

Çıkarılan rat mandibulaları çevresindeki yumuşak doku ile beraber inceleme için %10'luk formol içerisine koyularak fikse edilmiştir.

3.7.Histopatolojik inceleme

Fiksasyon amacıyla % 10'luk formaldehitte 24 saat bekletilen doku örneklerine dekalsifikasyon işlemi uygulanmıştır. Dekal solüsyonunda (%10formik asit, %8 Hidrocloric asit ve distile su) 72 saat bekletilen doku örnekleri doku takip işlemine alınmış ve sacura marka Doku Takip Cihazı ile 15 saat süren doku takip işleminde alkol, ksilen ve parafin aşamalarından geçirilerek dehidratasyon, şeffaflandırma ve doku sertleştirme işlemi tamamlanmıştır. Takiben Thermo Shandon marka doku gömme cihazında parafine gömme işlemi yapılarak dokular blok haline getirilmiştir. Bloklar buzdolabında soğutulduktan sonra Leica marka mikrotom cihazında 2.5 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır.

Hematoksilen Eozin boyama için kesit alınan preparatlar deparafinizasyon işlemi için etüve kaldırılarak 65 derecede 1,5 saat bekletildi. Etüvden çıkarılan

preparatlar ksilende 20 dakika bekletildi. Etil alkol serilerinde (%100, %90, %80) 10 dakika tutularak çeşme suyunda yıkandı. Yıkama işleminden sonra Hematoksilen boyasında (Facepath marka) 2,5 dakika bekletildi. Tekrar çeşme suyunda yıkandıktan sonra asit alkol solüsyonuna 1 defa batırılıp tekrar çeşme suyuna alındı. Amonyaklı suya 3 defa batırılarak tekrar çeşme suyunda yıkamaya alındı. Yıkama işleminden sonra Eozin solüsyonuna 1,5 dakika bekletildi. Alkol serilerine (%80, %90, %10) 4-5 defa batırılarak boyama işlemi tamamlandı. Preparatlar kurutulmak üzere etüve kaldırıldı. Etüvden çıkarıldıktan sonra ksilende şeffaflanması için 10 dakika bekletildi. Ksilenden çıkarılan preparatlara entellan damlatılarak lam üzerine lamel kapatıldı. İncelemelerde defektin orta kısımlarındaki alanların seçilmesine dikkat edildi. Kesitler ışık mikroskobunda (Nikon eclipse 80i) ossifikasyon, anjiyogenez, nekroz, enflamatuar hücre ve fibrozis bakımından incelenerek diş çekim bölgesindeki kemik iyileşmesi değerlendirildi. (Şekil 3.9)



Şekil 3.9: Işık mikroskobu

3.8.İmmunhistokimyasal inceleme

Mikrotom cihazında 2.5 mikron kalınlığında alınan kesitlerin bir kısmı da immünohistokimyasal boyama için pozitif yüklü lama alındı. Pozitif yüklü lamlara alınan preparatlara Ventana Benchmark XT cihazında DAB DETECTION KİTİ ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. VEGF (Biogenex, polyclonal, 6 ml, 32 dk inkübasyon süresi) antikoru ile immünohistokimya boyamaları yapılan preparatlara daha sonra entellan damlatılarak kapama işlemi yapıldı ve mikroskopik değerlendirme aşamasına geçildi.

İmmünohistokimyasal inceleme sonuçlarının değerlendirilmesinde semikantitatif yöntem kullanıldı ve skorlamada; negatif (0), hafif pozitiflik (1), orta şiddette pozitiflik (2) ve şiddetli pozitiflik (3) olarak değerlendirildi.

3.9.Radyolojik Değerlendirme

Taramalar Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Taramalar Skyscan 1272 (Bruker, Kontich, Belçika) cihazı kullanılarak yapıldı.

Taramalarda kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir:

Kamera piksel boyutu:7.4µm

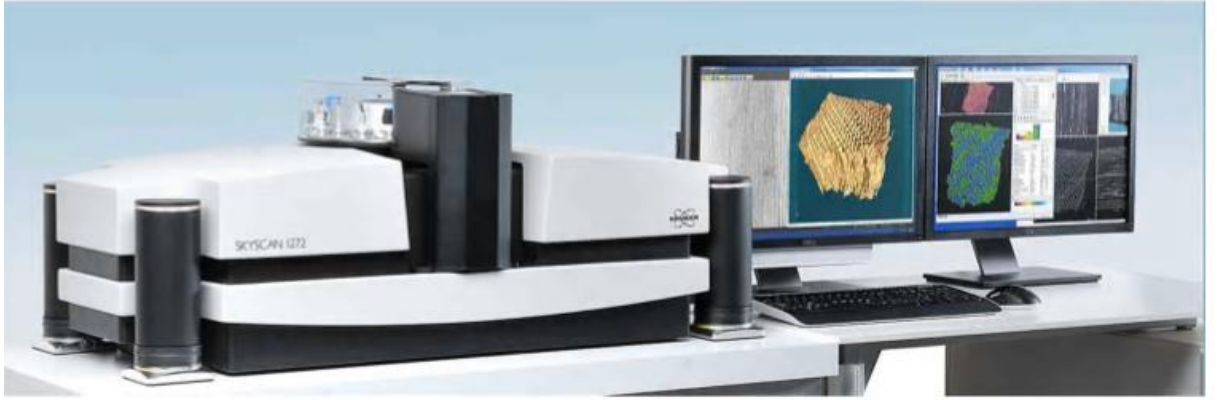
Kamera kaynak mesafesi: 223mm

Objektif kaynak mesafesi: 141mm

Kaynak voltajı: 70kV

Akım değeri: 142µa

Piksel boyutu: 14µm



Şekil 3.10: Bruker SkyScan 1272 mikro CT tarama cihazı.

3.10. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver: 22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde (Kolmogorou-Simirnov) ölçümle elde edilmiş bir değişken yönünden bağımsız ikiden fazla gruptan elde edilen veriler karşılaştırılırken varyans analizi (One Way Anova) sonucunda önemlilik kararı farklılık yapılan grup ya da grupları bulabilmek için Tukey testi, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinde ölçümle elde edilmiş değişken yönünden bağımsız ikiden fazla gruptan elde edilen veriler karşılaştırılırken Kruskal Wallis analiz testi sonucunda önemlilik kararı verildiğinde farklılık yapan grup ya da grupları bulabilmek için Man Whitney U testi kullanılmış, verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değer olarak belirtilip yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

Deneysel çalışma boyunca ratlar yapılan cerrahi işlemi iyi tolere etmiştir. Hayvanların beslenmeleri açısından herhangi bir sorunla karşılaşılmağı olup, operasyona bağı olarak gelişen bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu izlenmiştir.

4.2 Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik olarak gruplara ait kesitlerin mikroskopik değerlendirilmesinde; ossifikasyon, anjiyogenez, nekroz, enflamatuvar hücre, fibrozis durumları incelenerek skorlanmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Histopatolojik skorlamada kullanılan kriterler

Skor	Ossifikasyon	Anjiyogenez	Nekroz	Enflamatuvar Hücre	Fibrozis
0	Kemikleşme yok	Yok	Yok	Yok	Yok
1	Yetersiz kemikleşme	Bir mikroskop sahasında 1-3 adet kapiller	Bir mikroskop sahasında 1-2 adet fokal nekroz alanı	Bir mikroskop sahasında 0-5 hücreden oluşan fokal hücre infiltrasyonu	Fibrosit sayısı fibroblast sayısına oranla daha az
2	Orta derecede kemikleşme	Bir mikroskop sahasında 3-6 adet kapiller	Bir mikroskop sahasında üçten fazla fokal nekroz alanı	Bir mikroskop sahasında 10 dan fazla hücreden oluşan birden fazla fokal hücre infiltrasyonu	Fibrosit sayısı fibroblast sayısına oranla daha fazla
3	Normal histolojik yapıya benzer kemik yapımı	Bir mikroskop sahasında 6 adetten fazla kapiller	Mikroskop sahasında yaygın nekroz alanları	Mikroskop sahasında yaygın yangısal hücre infiltrasyonu	Yoğun fibrosit ve kollajen doku oluşumu

Tablo 4.2:14.güne ait histopatoloji sonuçlarının karşılaştırılması

		N	Mean	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Ossifikasyon	Sağlıklı Kontrol	4	2,00	2,00	2,00	2,00	KW=2,98
	Diyabetik Kontrol	4	1,00	1,0	,00	2,00	P=0,225
	Diyabet Sildenafil	4	2,25	2,50	1,00	3,00	
Anjiyogenez	Sağlıklı Kontrol	4	2,66	3,00	2,00	3,00	KW=8,29
	Diyabetik Kontrol	4	1,25	1,00	1,00	2,00	P=0,016*
	Diyabet Sildenafil	4	3,00	3,00	3,00	3,00	
Nekroz	Sağlıklı Kontrol	4	,33	0,00	,00	1,00	KW=0,50
	Diyabetik Kontrol	4	,50	0,50	,00	1,00	P=0,776
	Diyabet Sildenafil	4	,25	0,00	,00	1,00	
Enflamatuar hücre	Sağlıklı Kontrol	4	,66	1,0	,00	1,00	KW=4,86
	Diyabetik Kontrol	4	2,25	2,50	1,00	3,00	P=0,097
	Diyabet Sildenafil	4	,75	0,50	,00	2,00	
Fibrosiz	Sağlıklı Kontrol	4	2,33	2,00	2,00	3,00	KW=4,47
	Diyabetik Kontrol	4	1,50	1,50	1,00	2,00	P=0,107
	Diyabet Sildenafil	4	2,50	2,50	2,00	3,00	

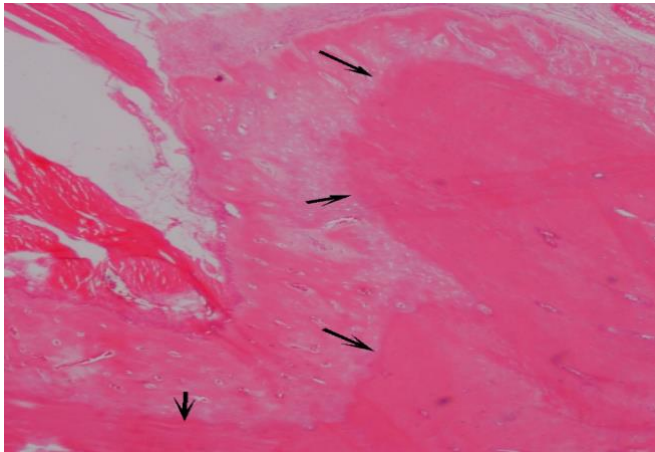
KW: Kruskal Wallis Testi *: (p<0,05)

Tablo 4.3:28.güne ait histopatolojik sonuçların karşılaştırılması

		N	Mean	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Ossifikasyon	Sağlıklı Kontrol	4	2,75	3,00	2,00	3,00	KW=8,55
	Diyabetik Kontrol	4	1,50	1,50	1,00	2,00	P=0,014*
	Diyabet Sildenafil	4	3,00	3,00	3,00	3,00	
Anjiyogenez	Sağlıklı Kontrol	4	2,25	2,50	1,00	3,00	KW=6,51
	Diyabetik Kontrol	4	1,50	1,50	1,00	2,00	P=0,038*
	Diyabet Sildenafil	4	3,00	3,00	3,00	3,00	
Nekroz	Sağlıklı Kontrol	4	,25	0,00	,00	1,00	KW=2,44
	Diyabetik Kontrol	4	,50	0,50	,00	1,00	P=0,295
	Diyabet Sildenafil	4	,00	0,00	,00	,00	
Enflamatuar hücre	Sağlıklı Kontrol	4	,75	1,00	,00	1,00	KW=1,96
	Diyabetik Kontrol	4	1,50	1,50	,00	3,00	P=0,375
	Diyabet Sildenafil	4	,50	0,50	,00	1,00	
Fibrosiz	Sağlıklı Kontrol	4	2,50	2,50	2,00	3,00	KW=6,41
	Diyabetik Kontrol	4	1,25	1,00	1,00	2,00	P=0,040*
	Diyabet Sildenafil	4	2,50	2,50	2,00	3,00	

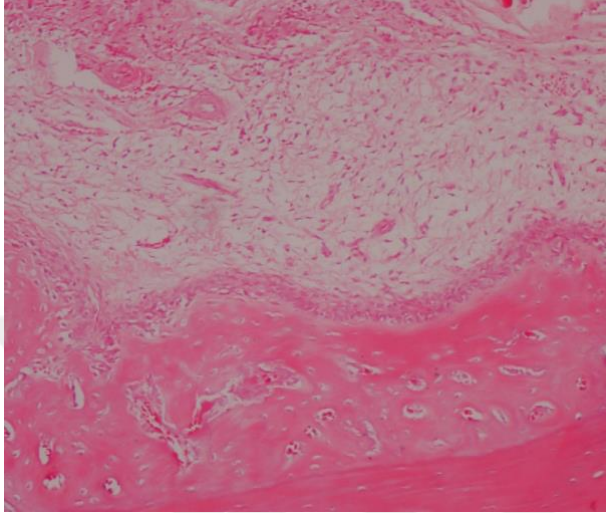
KW: Kruskal Wallis Testi *: ($p < 0,05$)

Gruplar 14.güne ait ossifikasyon değerleri yönünden karşılaştırıldığında (Tablo 4.2), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 4.1: Dişabet Sildenafil grubu (DS) 14. güne ait histopatolojik görüntü. Yeni kemik yapımı (siyah oklar), HE x 40

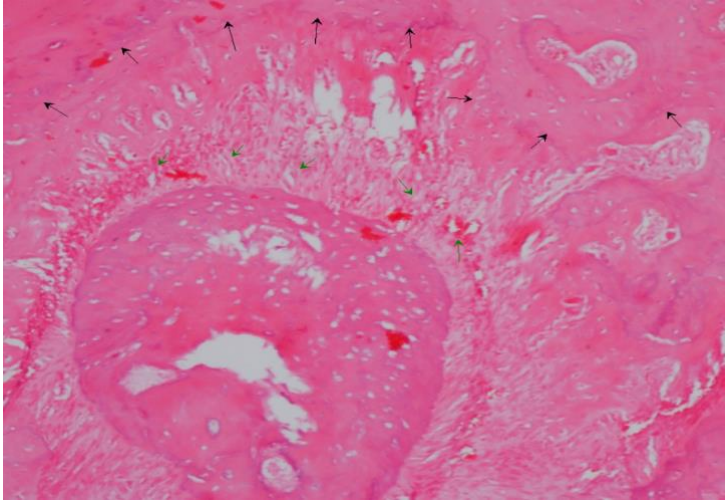
Gruplara ait 28. gün ossifikasyon değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 4.3), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında; SK ile DK, DK ile DS arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0.05$), SK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$).



şekil 4.2: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28. güne ait histopatolojik görüntü. Diş çekim bölgesinde yeni kemik yapımı ve çevresinde damardan zengin genç bağ dokusu. HE x 100

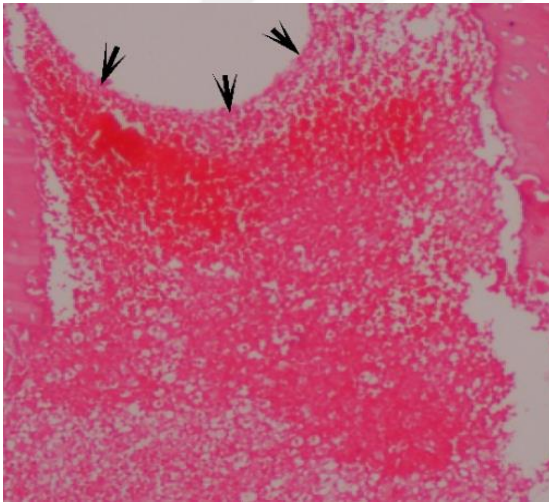
Gruplar 14.güne ait anjiyogenez değerleri yönünden karşılaştırıldığında (Tablo 4.2), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında; SK ile DK, DK ile DS arası farklılık önemli bulunurken, SK ile DS arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$).

Gruplara ilişkin 28. gün anjiyogenez skorları karşılaştırıldığında (Tablo 4.3), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında, DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile DK ve SK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$).



Şekil 4.3: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28. güne ait histopatolojik görüntü. Yeni kemik yapımı (siyah oklar),anjiogenezis(yeşil oklar). HE x 100

Gruplar 14.güne ait nekroz değerleri yönünden karşılaştırıldığında (Tablo 4.2), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

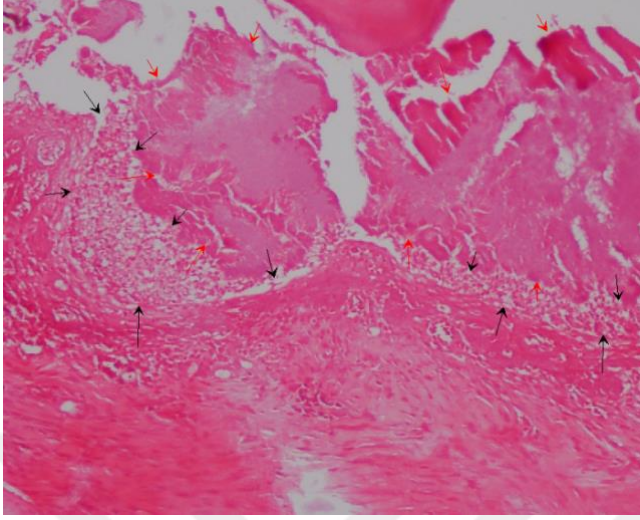


Şekil 4.4: Diyabetik Kontrol grubu (DK) 14. güne ait histopatolojik görüntü. Çekim yerinde nekroz sahası (siyah oklar), HE x 100

Gruplara ait 28. gün nekroz skorları değerlendirildiğinde(Tablo 4.3), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$)

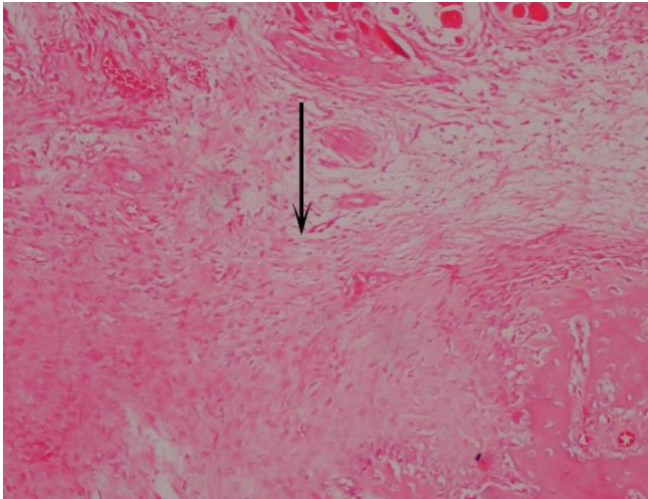
Gruplar 14.güne ait enflamatuar hücre skorları yönünden karşılaştırıldığında (Tablo4.2), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Gruplara ait 28. gün enflamatuar hücre skorları değerlendirildiğinde (Tablo 4.3), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.5: Diyabetik Kontrol grubu (DK) 28. güne ait histopatolojik görüntü. Nekroz sahası (kırmızı oklar), iltihabi infiltrasyon (siyah oklar), HE x 100

Gruplar 14.güne ait fibrozis değerleri yönünden karşılaştırıldığında (Tablo 4.2), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.6: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 14. gün histopatolojik görüntü. Fibrozis (siyah ok), HEx 100

Gruplara ait 28. gün fibrozis skorları değerlendirildiğinde (Tablo 4.3), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler ikiyeşerli olarak

karşılaştırıldığında; SK ile DK ve DK ile DS arası farklılık önemli bulunurken, SK ile DS arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal olarak VEGF miktarı değerlendirilmiştir.

4.3.1. VEGF Miktarının Değerlendirilmesi

Tablo 4.4: 14.güne ait VEGF sonuçlarının karşılaştırılması

	N	Mean	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Sağlıklı Kontrol	4	1,00	1,00	1,00	1,00	KW=8,43
Diyabetik Kontrol	4	,50	0,50	,00	1,00	P=0,015*
Diyabet Sildenafil	4	2,75	3,00	2,00	3,00	

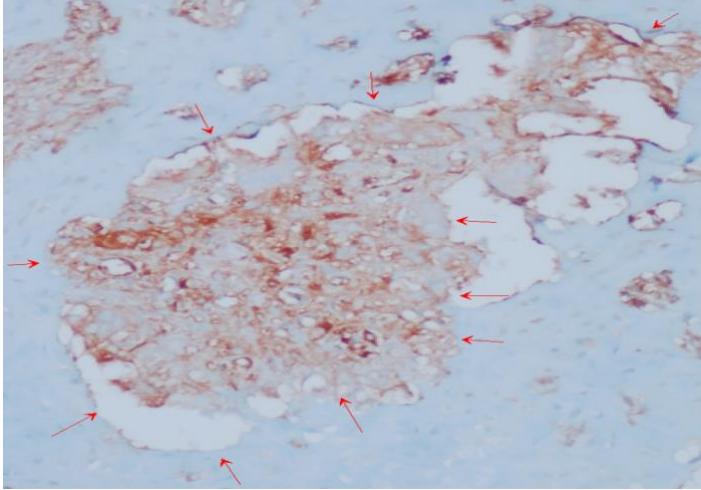
KW: Kruskal Wallis Testi *: ($p<0,05$)

Tablo 4.5: 28.güne ait VEGF sonuçlarının karşılaştırılması

	N	Mean	ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Sağlıklı Kontrol	4	2,50	2,50	2,00	3,00	KW=7,10
Diyabetik Kontrol	4	1,25	1,00	1,00	2,00	P=0,029*
Diyabet Sildenafil	4	2,75	3,00	2,00	3,00	

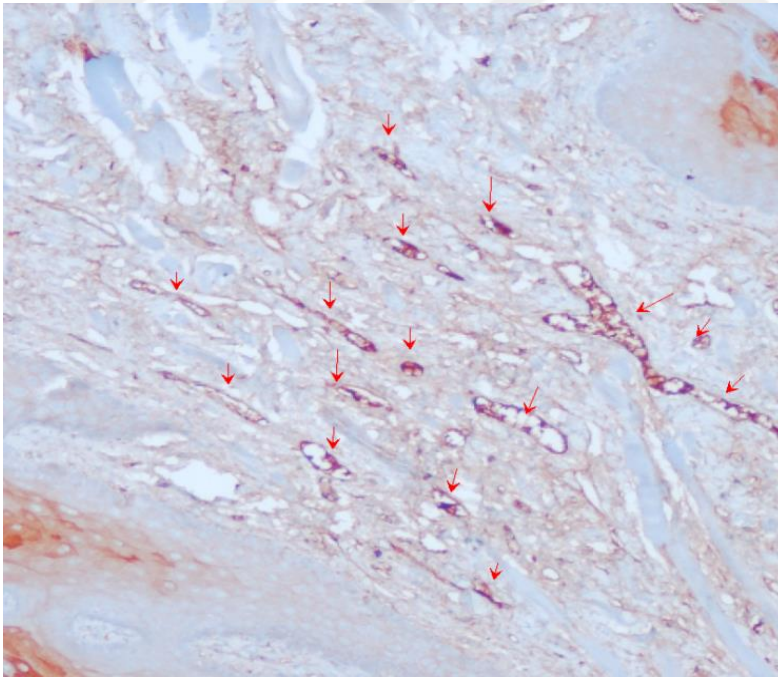
KW: Kruskal Wallis Testi *: ($p<0,05$)

Gruplara ait 14.gün VEGF ölçümleri karşılaştırıldığında (Tablo 4.4), farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler ikiyeşerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DS ve DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken SK ile DK arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).



Şekil 4.7: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 14. güne ait histopatolojik görüntü. Diş çekim alanında yoğun VEGF boyanması (kırmızı oklar). IHK x 200

Gruplara ilişkin 28.gün VEGF değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 4.5) farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DK ve DK ile DS arasında farklılık bulunurken, SK ile DS arasında farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$).



Şekil 4.8: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28. güne ait histopatolojik görüntü. Diş çekim bölgesinde yoğun VEGF boyanması (kırmızı oklar). IHK x 100

4.4. Radyolojik Değerlendirme Sonucu Ortaya Çıkan Bulgular

Tablo4.6: Gruplara ait 14.gün mikroct sonuçlarının karşılaştırılması

		N	Ortalama	Standart sapma	Sonuç
TV	Sağlıklı Kontrol	4	22,72	7,24	F=0,67
	Diyabetik Kontrol	4	19,01	4,63	P=0,537
	Diyabet Sildenafil	4	23,10	4,66	
BV	Sağlıklı Kontrol	4	8,80	,510	F=9,33
	Diyabetik Kontrol	4	10,03	,41129	P=0,008*
	Diyabet Sildenafil	4	12,22	1,64	
BV/TV	Sağlıklı Kontrol	4	40,80	9,73	F=1,20
	Diyabetik Kontrol	4	56,94	15,91	P=0,350
	Diyabet Sildenafil	4	55,12	15,91	
İS	Sağlıklı Kontrol	4	14,18	15,50	F=6,88
	Diyabetik Kontrol	4	32,92	5,73	P=0,018*
	Diyabet Sildenafil	4	38,45	3,74	
TS	Sağlıklı Kontrol	4	50,39	8,35	F=1,23
	Diyabetik Kontrol	4	48,08	8,75	P=0,342
	Diyabet Sildenafil	4	57,39	8,81	
BS	Sağlıklı Kontrol	4	97,84	17,77	F=3,83
	Diyabetik Kontrol	4	132,77	21,26	P=0,068
	Diyabet Sildenafil	4	140,17	22,56	
BS/BV	Sağlıklı Kontrol	4	11,06	1,66	F=0,67
	Diyabetik Kontrol	4	13,18	1,61	P=0,535
	Diyabet Sildenafil	4	11,78	3,44	
BS/TV	Sağlıklı Kontrol	4	4,53	1,48	F=7,01
	Diyabetik Kontrol	4	7,14	1,26	P=0,005*
	Diyabet Sildenafil	4	6,12	,56	

F:Varyans analizi(ANOVA)*: $p < 0,05$

TV: Tissue volume(doku hacmi)

BV: Bone volume(kemik hacmi)

TS: Tissue surface(doku yüzeyi)

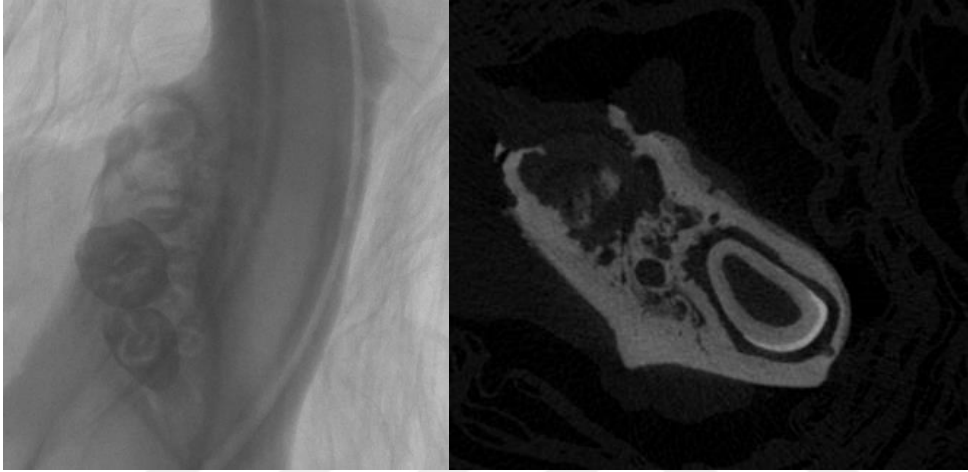
BS: Bone surface(kemik yüzeyi)

IS: Intersection surface

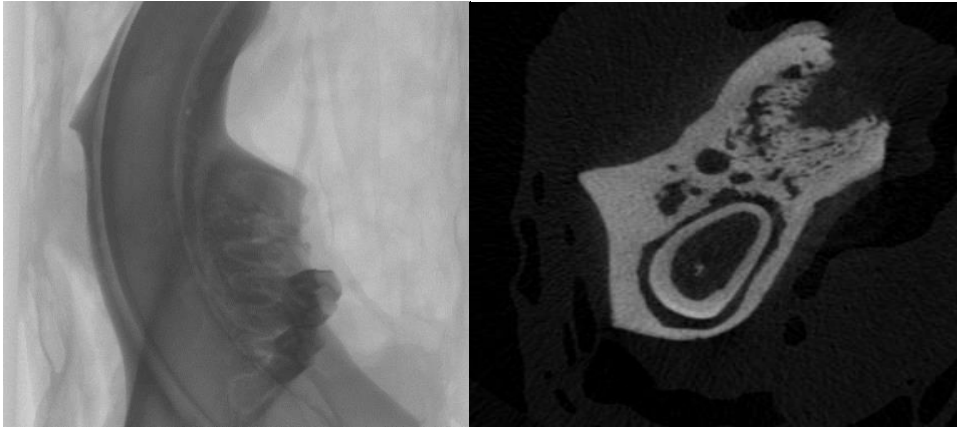
BS/BV: Bone surface/volume ratio(kemik yüzeyinin hacmine oranı)

BS/TV: Bone surface density(kemik yüzey yoğunluğu)

BV/TV: Kemik hacim yüzdesi



Şekil 4.9: Diyabetik Kontrol grubu (DK) 14.gün mikroct görüntüsü



Şekil 4.10: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 14.gün mikroct görüntüsü

Tablo 4.7: Gruplara ait 28.gün mikroct sonuçlarının karşılaştırılması

		N	Ortalama	Standart sapma	Sonuç
TV	Sağlıklı Kontrol	4	21,75	7,11	F=0,37
	Diyabetik Kontrol	4	17,81	4,89	P=0,696
	Diyabet Sildenafil	4	22,52	11,31	
BV	Sağlıklı Kontrol	4	14,22	4,90	F=0,61
	Diyabetik Kontrol	4	11,58	1,85	P=0,564
	Diyabet Sildenafil	4	15,70	7,64	
BV/TV	Sağlıklı Kontrol	4	65,40	13,19	F=0,29
	Diyabetik Kontrol	4	66,56	9,65	P=0,750
	Diyabet Sildenafil	4	70,41	3,27	
İS	Sağlıklı Kontrol	4	36,53	9,46	F=0,84
	Diyabetik Kontrol	4	31,07	1,02	P=0,461
	Diyabet Sildenafil	4	39,83	13,67	
TS	Sağlıklı Kontrol	4	53,80	14,42	F=0,48
	Diyabetik Kontrol	4	46,03	8,03	P=0,631
	Diyabet Sildenafil	4	56,50	21,43	
BS	Sağlıklı Kontrol	4	114,58	24,19	F=0,19
	Diyabetik Kontrol	4	112,40	23,92	P=0,826
	Diyabet Sildenafil	4	127,30	53,09	
BS/BV	Sağlıklı Kontrol	4	8,49	1,93	F=0,98
	Diyabetik Kontrol	4	9,67	1,01	P=0,409
	Diyabet Sildenafil	4	8,35	1,26	
BS/TV	Sağlıklı Kontrol	4	5,38	,56	F=2,13
	Diyabeti Kontrol	4	6,37	,39	P=0,126
	Diyabet Sildenafil	4	5,86	,79	

F:Varyans analizi(ANOVA)

TV: Tissue volume(doku hacmi)

BV: Bone volume(kemik hacmi)

TS: Tissue surface(doku yüzeyi)

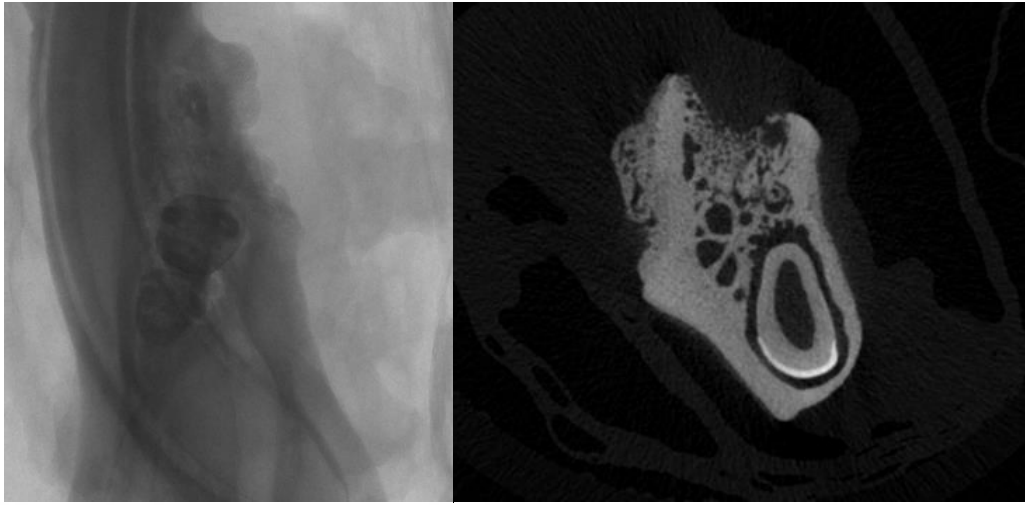
BS: Bone surface(kemik yüzeyi)

İS: Intersection surface

BS/BV: Bone surface/volume ratio(kemik yüzeyinin hacmine oranı)

BS/TV: Bone surface density(kemik yüzey yoğunluğu)

BV/TV: Kemik hacim yüzdesi



Şekil 4.11: Diyabet Sildenafil grubu (DS) 28.gün mikroct görüntüsü

Gruplara ait 14.gün Tissue volume(TV), Percent bone volume(BV/TV), Tissue surface(TS), Bone surface(BS), Bone surface / volume ratio(BS/BV) ölçümleri yönünden (Tablo 4.6), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Gruplara ait 14.gün Bone volume(BV) ölçümü yönünden (Tablo 4.6), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DS ve DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile D arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Gruplara ait 14.gün Intersection surface(i.S) ölçümü yönünden (Tablo 4.6), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile DK ve DK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Gruplara ait 14.gün bone surface density(BS/TV) ölçümü yönünden (Tablo 4.6), gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında SK ile DK arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile DS ve DK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur($p>0.05$).

Gruplara ait 28.gün Tissue volume(TV) , Bone volume(BV) , Percent bone volume(BV/TV), Intersection surface(i.S), Tissue surface(TS), Bone surface(BS), Bone surface/volüme ratio(BS/BV), Bone surface density(BS/TV) ölçümleri karşılaştırıldığında (Tablo 4.7), gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Tablo 4.8: Gruplara ait 14.gün Hounsfield units(HU) değerlerinin karşılaştırılması

	N	Ortalama	Standart sapma	Sonuç
Sağlıklı Kontrol	4	393,47	105,10	F=7,15
Diyabetik Kontrol	4	352,43	44,39	P=0,017*
Diyabet Sildenafil	4	521,83	46,26	

F:Varyans analizi(ANOVA)*: ($p<0,05$)

Tablo 4.9: Gruplara ait 28.gün Hounsfield(HU) değerlerinin karşılaştırılması

	N	Ortalama	Standart sapma	Sonuç
Sağlıklı Kontrol	4	291,56	44,08	F=4,28
Diyabetik Kontrol	4	302,77	38,72	P=0,048*
Diyabet Sildenafil	4	387,69	66,48	

F:Varyans analizi(ANOVA)*: ($p<0,05$)

Gruplara ait 14.gün ve 28.gün Hounsfield units (HU) değerleri karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$).Gruplara ilişkin değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında DK ile DS arasındaki farklılık önemli bulunurken, SK ile DK ve SK ile DS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

5.TARTIŞMA

Akut yara iyileşmesi aşamaları inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak tanımlanmaktadır. Proliferatif faz anjiyogenesis, kollajen birikimi, granülasyon dokusu oluşumu, epitelizasyon ve yara kontraksiyonu ile karakterizedir (1, 2). Diş çekim socketinin iyileşmesi de bir tür yara iyileşmesidir.

Genel olarak, diş çekim socketinin iyileşmesi oldukça normal ilerleyen bir süreçtir. Fakat diyabet gibi bazı durumlarda, hastalarda alveoler osteitis gelişebilir ve yara yeri geç iyileşebilir veya bozulmuş bir iyileşme olabilir (147). Ayrıca, diş çekim tedavisi sonrası alveoler kemik boyutu azalır (148).

Hayvan modeli kullanmanın anlamlı istatistiksel değerlendirme yapılabilecek sayıda örnekte çalışılabilmesi, çalışmanın çok daha kısa zamanda tamamlanabilmesi, çevresel faktörlerin etkilerini belirleyici kontrollerin yapılabilmesi şeklinde sıralanan avantajlarından ötürü bu çalışma deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılmıştır. Çalışmamızda barınma ve beslenmelerinin kolay, ucuz olması, yeteri kadar deney hayvanının temin edilebilmesi ve diğer deney hayvanlarına göre daha dayanıklı oldukları için ratlar kullanılmıştır. Yara iyileşmesi üzerine yapılan birçok çalışmada erkek ratlar kullanılmıştır. Biz de bu çalışmada dişi ratların menstruel döngülerine bağlı hormonal değişikliklerin çalışmanın sonucunu etkileyebileceğini düşünerek erkek ratları kullanmayı tercih ettik. Alloksan ve streptozotosin (STZ) deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan kimyasal ajanlardır. Bu çalışmada, ratlarda alveoler kemik formasyonunda hiperglisemi ve sildenafilin etkilerini araştırmak için STZ ile indüklenen in vivo diyabet modeli kullanılmıştır. Bu modelin endokrinolojik özellikleri ne sadece tip 1'i ne de tip 2'yi yansıtmaktadır ancak tip 1'e daha yakın bir diyabet benzeri tablo gelişir. Deneysel diyabet oluşturmak için STZ dozunun ratlarda 50-100 mg/kg aralığında olması yeterlidir ve STZ intravenöz veya intraperitoneal yolla uygulanabilir (149). Bu çalışmada diyabet oluşumunu belirlemek için STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, ratların kuyruk veninden alınan kandan kan-glukoz düzeyleri ölçüldü.

STZ uygulama dozunda olduğu gibi kan glukoz seviyesi konusunda da farklı görüşler vardır. Kan glukoz düzeyleri 200 mg/dl 'nin üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edilmiştir. Bu kan glukoz seviyesi ve belirtilen bu aralıktaki STZ dozu ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur (150).

Diyabet değişik etiyolojilere bağlı gelişen ve değişik komplikasyonlara yol açan, heterojen bir metabolik bozukluktur (151). Diyabetik hastalarda diş çekimi gerekli olduğunda yara iyileşmesindeki bozukluk nedeniyle hastalarda postoperatif komplikasyon riski artar. Bu yüzden diyabetin yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltacak prosedürler gerekmektedir. Kanda yüksek düzeyde glikoz bulunması diyabette görülen diyabetik retinopati, diyabetik deri komplikasyonları, diyabetik nefropatinin yanısıra osteopeni ve enfeksiyon gibi birçok kronik komplikasyona yol açar (152). Osteopeni ve enfeksiyon, diş çekimi sonrası yara iyileşmesinde gecikme, alveoler kemik rezorpsiyonunun aktivasyonu ve dental implantlar çevresindeki kemik oluşumunda bozulmanın da dahil olduğu, diyabetle ilişkili dental komplikasyonlarda rol oynar(153). Mishima ve ark.(154) STZ ile oluşturulan deneysel diyabette alveoler kemikteki rezorpsiyon ve apozisyon olaylarının azaldığını gözlemlemiştir.

Diyabetin polimorfonükleer lökosit fonksiyonunda bozukluğa neden olduğu, kollajen metabolizması ve vasküler geçirgenlik değişimine ve subgingival biyofilm tabakasını değiştirerek doku yıkımını hızlandırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (155). Diyabet, osteoid formasyonunda azalmaya ve defektli kemik mineral apozisyonu ve osteoklast ve osteoblastların fonksiyonlarının baskılanması ile karakterize olan, "diyabetik osteopati" olarak adlandırılan durum sebebiyle kemik yara iyileşmesini de olumsuz etkileyebilmektedir (156). Klinik olarak, diyabetli hastalarda kırık iyileşmesinde gecikme ve enfeksiyöz komplikasyon insidansında da artış bildirilmiştir (156). Diyabette osteogenezisin azalması iyileşme sahasına osteoprojenitör ve mezenkimal kök hücrelerin de dahil olduğu hücrelerin migrasyonundaki yetersizlikle alakalıdır. Yapılan çalışmalar ile diyabet hastalarında yapılan diş çekimi sonrası soket iyileşmesi değerlendirilmiştir. Power ve ark.(157) 56 insülin bağımlı diyabeti olan ve

49 diyabet olmayan hastanın dahil olduğu prospektif çalışmalarında çekim socketinin iyileşmesini değerlendirmişlerdir. Çalışma grubunda yedi hastada bozulmuş yara iyileşmesi görülürken, 2 hastada postoperatif enfeksiyon gelişmiştir.

Diyabetik hastalarda diş çekim sonrası postoperatif komplikasyonları olabildiğinde azaltabilmek, çekim bölgesindeki yara iyileşmesini hızlandırmak ve çekim socketini dolduran kemik kalitesini arttırmak için yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Marin ve ark.(158) kontrolsüz tip 2 diyabeti olan 30 hastada yaptıkları çalışmada her hastadan alt çeneden bilateral olarak aynı dişleri çekmişlerdir. Çalışma grubuna hyaluronik asit uygulanıp, kontrol grubu normal iyileşmeye bırakılmıştır. Hastalar diş çekimini takiben 5,10,15,20 ve 25.günlerde yara kapanma oranı, yara iyileşme skalasında klinik skorlama, görsel analog skalasında ağrı yoğunluğu açısından değerlendirilmiştir. Hyaluronik asit uygulanan çekim bölgelerinde WCR ve WHS anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Y. C. Shyng ve ark.(159) STZ ile deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda yapmış oldukları çalışmalarında çekim socketine lokal olarak uyguladıkları BMP-6'nın etkilerini diş çekiminden 3,5,7 ve 9.günde değerlendirmişler ve subperiosteal bölgede kırık dokü oluşumunu indüklediğini bulmuşlardır. Fang ve ark.(160) deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda sistemik olarak verdikleri IGF-I(insülin-like growth factor I) diş çekim socketinde yeni kemik oluşumuna etkisini radyografik ve histolojik açıdan değerlendirmiş ve sonuç olarak IGF-I(insülin-like growth factor I) uygulamasının diş çekim sonrası yeni oluşan kemik hacmini arttırdığı ve diyabetik ratlarda glikoz transporter 1 salınımını normalize ettiği görülmüştür.

Mevcut yapılan çalışmalar tip 2 diyabetten ziyade tip 1 diyabette kemik mineral yoğunluğunun azaldığını göstermiştir (161). Diyabetik hastalarda anjiyogenezin ve reepitelizasyonun geciktiği, kollajen birikiminin ve endotelial hücre proliferasyonunun azaldığı görülmüştür. Büyüme faktörlerinin yeterince üretilmemesi veya yıkımında artış olması bu durumun en önemli nedenlerinden biri olarak düşünülmektedir (162). Diyabet ile gingivitis, periodontitis ve diş eti ataçman kaybı riskindeki artış arasında bir bağlantı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (148, 163).

Doku onarım sürecindeki diğer kritik olaylar, kan akışının ve dokuya oksijen desteğinin sağlanması için gerekli olan remodelasyon ve anjiyogenezdir (164). Anjiyogenezis, yara iyileşmesinde önemli bir adımdır, yaranın gerilme direncini artırır ve doku onarımında önemli bir rol oynar (2, 3).

VEGF ilk keşfedildiğinde kobay derisinde vasküler sızıntı oluşturduğu için Vasküler Permeabilite Faktör(VPF) olarak adlandırılmıştır (165). VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, Plasental Büyüme Faktörü(PIGF) ve bir yılan zehiri olan VEGF(svVEGF, VEGF-F) dahil 7 üyeden oluşur. Endotelial büyüme faktörü olan VEGF, VEGF-A'yı temsil eder (165). VEGF makrofaj, keratinosit, nötrofil ve fibroblastların da dahil olduğu çok sayıda hücre tipinden salgılanır. Önemli büyüme faktörlerinden biri olan Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), özellikle endotel hücreleri için spesifik etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücresinin proliferasyonunu, migrasyonunu ve differansiyasyonunu sağlar. VEGF'nin damar oluşumunda ve endotel hücrelerinin yaptığı birçok fonksiyonda gerekli olduğu; özellikle yara iyileşmesi, tümör büyümesi ve birçok hastalığı kapsayan fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda rol oynadığı görülmüştür (166). Yara iyileşmesinde etkili olan VEGF, diyabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde rol alan çok fonksiyonlu bir sitokindir (162). Yara iyileşmesinde anjiogenezisi stimüle eden VEGF'ü artırmak suretiyle hızlandıran farklı ajanların kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Bitto ve ark. (167) derilerinde insizyonel yara yeri oluşturdukları diyabetik ratlarda simvastatinin VEGF ve NO (nitrik oksit) salımını arttırarak diyabette bozulan yara iyileşme sürecini düzelttiğini bildirmişlerdir. Literatürde VEGF nin anjiyogenezisin değerlendirildiği bir parametre olarak ya da anjiyogenezisi uyaran bir ajan olarak kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Yara bölgesine topikal VEGF uygulanmasının iyileşme oranının arttırılması üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır (168, 169). Kirchner ve ark.(168) deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda oluşturdukları yara yüzeyine topikal VEGF uygulayıp, yara yüzeylerini farklı zaman aralıklarında inflamasyon ve neovaskularizasyon açısından değerlendirmişlerdir. VEGF ile tedavi edilen hayvanların yara iyileşmesinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Sildenafil sitrat (Viagra, Pfizer) 1998 yılında yan etki olarak penis ereksiyonunu arttırdığından dolayı, erektil disfonksiyon tedavisi için piyasaya çıkan ilk fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) inhibitörüdür (170). Sildenafil, vazodilatasyonu arttırarak damarlardaki düz kasları gevşeterek ve trombosit agregasyonunu inhibe ederek doku kan akışını arttırmaktadır (14, 15). Salcido (15) sildenafilin hücrel ve endovasküler seviyede nitrik oksit (NO) salınımını uyardığını, böylece arter duvarlarını gevşetip kan akışını arttırdığını bildirmiştir. Salloum ve ark.(171), sildenafil'in, eNOS ve iNOS ekspresyonunu arttırabileceğini ve nitrik oksit etkisinin, sildenafil tedavisinin önemli bir moleküler mekanizmasını temsil ettiğini göstermiştir. İskemi kaynaklı anjiyojenik aktivitenin, eNOS ekspresyonu ve aktivitesi ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (172). Buna karşılık, Senthilkumar ve ark. (173), eNOS ve iNOS un yetersiz olduğu farelerde ve sildenafilin nitrik oksit sentazlardan bağımsız olarak iskemi kaynaklı anjiyogenezisi arttırdığını bulmuştur. Sildenafil, siklik guanozin monofosfatta artışa neden olan PDE-5'i inhibe ederek NO'nun yıkımını önlemektedir (174, 175). VEGF sinyalizasyon sisteminin diyabetik ratların penil dokularında daha az etkili olması azalan VEGF ekspresyonunu temsil eder. VEGF'deki azalma endotelial NO üretiminin azalmasına ve apoptozla ilişkili erektil doku hasarına yol açacaktır. VEGF sinyal sistemindeki anormallik Diabetes Mellitus Eretil Disfonksiyon (DMED)'in patofizyolojisine neden olabilir (176). VEGF nin bu çalışmada değerlendirme kriteri olmasının nedeni anjiogenezis, vaskulogenezis ve kemik oluşumundaki kritik rolünden ötürüdür. PDE-5 öncelikle vasküler ve visseral düz kaslarda, trombositlerde ve iskelet kasında bulunur ve cGMP degradasyonunun ayrılmaz bir parçasıdır (14, 15). Sildenafil fosfodiesteraz 5(PDE-5) inhibitörüdür ve güçlü bir anjiogenesis stimülatörüdür. PDE-5 çizgili kasların gevşemesini ve damarların vasodilatasyonu sağlayan ve doku kan akışını arttıran birincil faktör olan siklik guanozin monofsfat (cGMP) yıkımını katalizler (177). Sildenafil'in yapılan hayvan ve insan çalışmalarında antiplatelet etkisi ve yara iyileşmesi sırasındaki mikrosirkülasyonu arttıran etkisi gözlemlenmiştir (178).

Sildenafil, vazodilatasyon (175), trombosit agregasyonu ve adezyon inhibisyonu (113), anjiyogenezin uyarılması (114), yoluyla güçlendirilmiş mikrosirkülasyon

hemodinamiği adezyona uğramış fibroblastların apoptozisini uyarma ve inflamatuvar yanıtın azaltılması (132) gibi farklı mekanizmalarla yara iyileşmesi sürecine etki etmektedir. Sildenafil, in vitro olarak koroner arteriyoller endotel hücrelerinde (179) in vivo olarak da iskemik beyinde VEGF artışını indüklemektedir (51). Biz de bu çalışmamızda aynı amaçla sildenafil kullanmayı tercih ettik. Sildenafilin diyabetle bozulmuş olan anjiyogenezisi destekleyebileceği düşünülmüş ve diğ çekim bölgesindeki 14. ve 28. gün anjiyogenezisi histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak diyabet sildenafil grubunda, diyabet grubuna kıyasla anjiyogenezisin arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada da sildenafilin 14. ve 28. gün VEGF düzeyleri immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda diğer gruplara kıyasla diyabet sildenafil grubunda VEGF düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde sildenafil uygulanan gruplarda anjiyogenezisin yüksek olması, çalışmada incelenen VEGF seviyeleri ile örtüşmektedir ve sildenafilin diyabetik hastada anjiyogenezisi indüklediği yönündeki hipotezimizi desteklemektedir.

Literatürde sildenafilin yara iyileşmesi üzerine etkisi sıklıkla cilt yarası modeliyle değerlendirilmiştir. Çakmak ve ark.(180) 72 rat üzerinde yaptıkları çalışmalarında oral olarak verilen sildenafil sitratın sekonder yara iyileşmesine etkisini değerlendirmişlerdir. Sonuçta sildenafil sitrat verilen grupta defekt 7. günde % 25, 13. günde % 38 oranında küçülmüştür. Kontrol grubundaki ortalama yara iyileşme süresi 17.89 gün olarak sildenafil sitrat uygulanan grupta 14.56 gün olarak bulunmuştur.

Kemik iyileşmesi çevre dokulardan ve dolaşımdan yaralanma veya cerrahi bölgeye gelen birçok hücre tipi ve büyüme faktörü ile etkileşime giren lokal ve sistemik faktörün dahil olduğu karmaşık moleküler mekanizma tarafından kontrol edilen biyolojik bir süreçtir (181, 182). Bu süreçte, hasarlı dokunun vaskülarizasyonu başarılı kemik iyileşmesi için en önemli parametredir. Normal vaskülarizasyon süreçleri değıştiğinde veya bozulduğunda iyileşme için patolojik durumlar ortaya çıkar (183).

Tas ve ark. (132) , çalışmalarında sildenafilin, vazorelaksan etkisiyle yeni kılcal damarların proliferasyonunu arttırdığını da bulmuşlardır. Yeni kan damarları, oksijen ve besinleri kırık bölgesindeki rejenere olan kallusa getirir. Ayrıca enflamatuar ve öncül hücrelerin yaralanma bölgesine ulaşması için bir yol görevi görür (179, 184). Sildenafil'in periferik arterlerin yanı sıra venlerin dilatasyonuna ve trombositlerin trombüs oluşturma yeteneklerinin in vivo inhibe edilmesine neden olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda, çeşitli çalışmalar sildenafilin farklı proanjiyojenik büyüme faktörlerinin düzenlenmesi yoluyla anjiyojenik eylemler yaptığını göstermiştir (16, 179). Daha önceki çalışmalar, örneğin vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve sistein açısından zengin-61 (Cyr-61) gibi anjiyogenik ve osteogenik faktör, kemik oluşumu ve kırık iyileşmesi sürecinde rol oynadığını göstermiştir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sildenafilin azalmış kan akımı ve zayıf vaskülarizasyona bağlı durumlarda potansiyel yararlarını ortaya çıkarmıştır (114, 184).

VEGF'nin kemiği oluşumu ve anjiyogenez arasındaki bağlantıda rolü tam olarak anlaşılammıştır ve kırık iyileşmesinde rekombinant VEGF kullanımının klinik sonuçları henüz keşfedilmemiştir. Fakat Vidavalur ve ark. (179), sildenafilin insan koroner arteriyoller endotelial hücrelerinde anjiyogenik cevap üzerindeki etkisini incelemiş ve sildenafil'in VEGF ekspresyonunu indüklediğini bulmuşlardır. Önceki çalışmalar VEGF'nin osteoblastlarda CYR61'in yükselişini indüklediğini, endotel hücrelerinde proanjiyogenik etkilerle kırık iyileşmesini sağladığını göstermiştir (185). Histing ve ark. (186) sildenafil tedavisinin kemik oluşumunu artırarak kırık iyileşmesini hızlandırdığını gösteren ilk kişi olmuştur. Sildenafilin bunu sistein açısından zengin-61 (CYR61) ile ilişkili bir yolla kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. Histing ve ark. (186) sildenafil tedavisi sonrası kırık iyileşmesinin hızlanmasının yükselen CYR61 ekspresyonunun osteoblast proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırması nedeniyle olabileceğini belirtmiştir.

Orchard ve ark.(187) ratlarda oral olarak verilen sildenafilin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Elde edilen verilere göre sildenafille tedavi edilen grupta 2 ve 4. Günde kan pıhtısının erimesinde ve granülasyon dokusuyla yer

değiştirmesinde gecikme olduğunu, 8.günde ise iyileşme açısından gruplar arasında fark olmadığını tespit etmişlerdir. Bu bulgulara dayanarak sildenafilin alveoler kemik iyileşmesindeki erken olayları geçici olarak geciktirdiği sonucuna varmışlardır.

Fakat Bereket ve ark.(177) zoledronik asitle osteonekroz geliştirdikleri ratlarda sistemik olarak verdikleri sildenafilin mandibular kırık iyileşmesi üzerine olan etkisini histomorfometrik ve radyolojik açısından değerlendirmiş ve sildenafilin bisfosfonatın kemik doku üzerine olan negatif etkilerini önlediğini bulmuşlardır. Bu çalışmada yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda 14.günde gruplar arası farklılık anlamlı olmasa da sildenafil verilen grupta kontrol gruplarına kıyasla yeni kemik dolumu daha yüksek bulunmuştur. 28.günde ise sildenafilin yeni kemik dolumunu anlamlı olarak arttırdığı gözlemlenmiştir.

Yara iyileşmesi süreci hemostazla başlar ve polimorfonükleer hücreler ve makrofajlar gibi çeşitli enflamatuar hücreler, yara iyileşmesinin bu erken aşamasında kilit rol oynar (175, 188). Diş çekimi sonrası serbest radikallerin üretimi, monositler, makrofajlar ve nötrofiller de dahil olmak üzere birçok fagositik hücre tarafından arttırılır (189). Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılır. Diyabet, kronik metabolik bir hastalık olmasının yanı sıra artmış bir oksidatif stres durumudur. Oksidatif stresin de diyabetik hastada gelişen makro ve mikrovasküler komplikasyonların nedeni olduğu birçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (190, 191). Ayrıca hiperglisemi düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu ve serbest oksijen radikallerinin üretimini arttırarak düz kas fonksiyon bozukluğuna yol açar(192). Diyabetik hastalar diş çekimi yarasında gecikmiş iyileşmenin yanısıra enfeksiyondan dolayı da sorun yaşayabilir. Kontrol altında olmayan diabetes mellituslu hastalarda çekim soketinin gecikmiş iyileşmesi, hayvan çalışmalarında tarif edilene benzer şekilde ciddi inflamasyonla ilişkilidir. Yara iyileşmesinin gerçekleşebilmesi için inflamatuvar fazın başlaması fakat çok da uzun sürmemesi gerekmektedir. İnflamasyon evresinin süresinin uzaması iyileşme sürecinde gecikmeye sebep olur. İyileşme süresinin kısaltılması için antiinflamatuvar etki gereklidir. Sildenafilin yararlı anti-enflamatuar etkileri, akut kolitte ve ratlardaki

akciğer fibrozis modellerinde gösterilmiştir. Bu etkileri, lipid peroksidasyonunu, sitokin üretimini ve nötrofil birikimini önleyerek gösterir (17, 193). Sildenafil sitrat, oksidasyon ve antioksidasyon işlemleri arasında bir denge sağlar, böylece enflamatuvar olaylarda oksidatif stresi azaltır (17). Sildenafil'in, hiperkolesterolemik apolipoprotein E yetersiz farelerde iskemi kaynaklı neovaskülarizasyon üzerindeki etkisini analiz eden bir çalışmada, Dussault ve ark. sildenafilin oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığını ve sildenafilin antioksidan özelliklerinin hiperkolesterolemik durumlarda anjiyogenik aktiviteyi geri kazandırdığını bildirmiştir (194).

Deneysel yanıklara maruz kalan sıçanların akciğer dokusunda sildenafil oksidatif stresi önemli ölçüde inhibe etmiş ve enflamatuvar reaksiyonun şiddetini azaltmıştır(195).

Bu çalışmamızda diş çekim soketi iyileşme sürecinde enflamatuvar hücre yoğunluğu açısından kontrol ve deney grupları karşılaştırılmıştır. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre diğer gruplara nazaran diyabetik kontrol grubunda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır. Fakat yapmış olduğumuz bu çalışmada 14. ve 28. günde tüm gruplar arasında enflamasyon açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yine de elde ettiğimiz verilere dayanarak sildenafilin diş çekim yarasının iyileşme sürecinde diyabetle kronikleşebilen inflamatuvar fazı kısalttığını veya şiddetini azalttığını söylemek mümkündür.

Hsieh ve ark. ratlarda diş çekimi sonrası maksilladaki subperiosteal kemiğin erken oluşumunu daha önceden tanımlamıştır (196). Normal diş çekim soketlerinin iyileşmesinde, yoğun bir kollajen lifi ağı trabeküler çerçeve üzerinde oluşur. Aktif kemik oluşumu döneminde diş çekim yarasının toplam kollajen içeriği artar (197). Bu çalışmada, birçok farklı mekanizma, diyabetik hayvanların diş çekim soketlerinde trabeküler bir şablonun oluşumunu engellemiş olabilir. İn vitro çalışmalar, yüksek glukoz konsantrasyonlarının kollajen fibril oluşumunu ve akabinde çapraz bağlanmayı inhibe ettiğini göstermiştir (198). Diş çekim yarası iyileşme sürecinin ilk iki haftalık kısmında kollajen seviyesinin yüksek olması, akabinde kollajen miktarının yavaş yavaş azalarak yerini kemik dokuya bırakması beklenmektedir. Histopatolojik

değerlendirme sonuçlarına göre 14.günde kollajen seviyesi deney grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Fakat fibrosiz yönünden 14.günde gruplar arası farklılık anlamsız bulunmuştur. 28.gün sonuçlarına bakıldığında sildenafilin kollajen sentezini diyabetik kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttırdığı gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere dayanarak sildenafilin yara iyileşme sürecine kısa dönemde katkıda bulunduğunu söyleyebiliriz. Diyabetik ratlarda subperiosteal ekstraalveolar bukkal kemiğin artan rezorpsiyon ve depozisyon oranına, çekim soketinde gecikmiş kemik oluşumu eşlik etmiştir.

Sildenafilin oral biyoyararlanımı rat ve insanlarda benzerdir ve bu ilacın serumdaki maksimum konsantrasyona ulaştığı zaman her iki tür için de 3 saatten azdır (134). Literatürde, bildirilen sildenafil dozu, hayvan modellerinde 3 ila 20 mg / kg/gün arasında değişmektedir.

10 mg / kg sildenafil dozu, ratlarda sistemik koruyucu etkilere sahiptir. Ek olarak, Gokakin ve ark.(195) ratlarda şiddetli yanıkların neden olduğu akut akciğer lezyonlarında 10 ve 20 mg / kg / gün sildenafil sitrat'ı karşılaştırmıştır. Bulguları sildenafilin glutatyon peroksidaz, katalaz ve toplam antioksidan kapasitenin aktivitesini arttırdığını ve akciğerlerde oksidatif stres ve inflamasyon skorlarının azaldığını göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, ilacın inflamasyon ve oksidatif strese karşı koruduğunu ve akut akciğer lezyonların tedavisi için 10 mg / kg / günlük bir dozun 20 mg / kg / gün doza kıyasla daha üstün olduğunu göstermektedir. Gokakin ve ark. (195) göre 10 mg / kg / gün sildenafil uygulaması ile erektil disfonksiyon tedavisi için insanlarda düzenli olarak kullanılan 50 mg'lık sildenafil uygulaması yaklaşık olarak aynı plazma konsantrasyonuna yol açacaktır. Daha yüksek dozlar (20 mg / kg'ın üzerinde) daha fazla vasodilatör etki yaratabilir ve hipotansiyon, doku perfüzyonunda düşme ve aşırı antienflamatuar yanıt gibi yan etkileri de olabilir.10 mg / kg'dan düşük dozlar daha az etkili olur veya tamamen etkisizdir. Fakat başka hastalıklarda, 10 mg / kg / gün sildenafil sitrattan daha yüksek ya da daha düşük dozlar kullanıldığında olumlu sonuçlar gözlenmiştir. 40 mg / kg / gün sildenafil ile tedavi edilen ratlarda ateromatöz plak oluşumunda azalma olmuştur (199). Ayrıca, 5 mg / kg / gün sildenafilin, ratlarda oluşturulan kapalı femur kırığının başlangıç iyileşmesini

önemli ölçüde hızlandırdığı görülmüştür (186). Bu bulgular, bu çalışmada düşük inflamatuvar süreç ve alveoler sırt kemiğinin rezorpsiyonunun azalmasının 10 mg / kg / gün dozunda izlenmesi kullanılan dozu tercih etmeyi haklı kılar. Ek olarak, daha yüksek dozda sildenafil kullanımı baş ağrısı, burun tıkanıklığı, anormal görme, bradikardi, kızarma ve dispne gibi ilacın vazodilatör etkisi ile bağlantılı olan yan etki riskini artırabilir. Genel olarak, bildirilen yan etkiler geçicidir ve şiddeti hafif ila orta derecelidir (200). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda sildenafili günlük 10 mg / kg tek doz olarak vermeyi seçtik.

Diş çekim soketindeki kemik dokudaki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılacak radyografik görüntüleme yöntemleri konvansiyonel ve dijital radyografiler, densitometre, sintigrafiler ve mikro-tomografilerdir.

Kemik dokudaki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılacak radyografi yöntemlerinden birisi olan mikro-ct nin insan çalışmalarında kullanılabilmesi sadece kemikten biyopsisi alınarak yapılacak incelemelerle mümkün olduğu için mikro-ct daha çok deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır (201).

Histopatolojik değerlendirmeler kemiğin histolojik yapısı, hücresel düzeyde meydana gelen değişiklikler ve mikroanatomi hakkında bilgi verir. Fakat histopatolojik incelemeler tam sayısal veriler vermez. Kemiğin mikroanatomisini değerlendirebilmek ve sayısal veriler elde edebilmek için histomorfometrik ya da mikro-tomografik değerlendirmeler gereklidir. Mikro-ct ve histomorfometri ile kemik defektlerindeki yeni kemik oluşumunun sayısal olarak ölçmek mümkündür. Mikro-ct ile histomorfometriye nazaran daha hızlı, basit ve hassas ölçüm yapmak ve histomorfometri ile 2 boyutlu olarak değerler ölçülebilirken mikro-BT ile 3 boyutlu hacimsel ölçümlerin yapılması mümkündür (202). Biz de bu çalışmamızda diş çekimi sonrasında çekim soketinde oluşan kemiksel değişikliklerin farklı zaman noktalarındaki histopatolojik incelemeleri 3 boyutlu mikro-ct analizleri ile destekledik. Böylece yeni kemik oluşumu hem 3 boyutlu olarak hem de sayısal veriler ile değerlendirebilmiştir.

Literatürde kemiğin yapısını ve iyileşme sürecinin radyolojik açıdan incelenmesi amacıyla mikro-BT'nin kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Park ve ark.(203) 20 ratın dahil edildiği çalışmalarında Porphyromonas gingivalis ile deneysel periodontitis oluşturulan grup(n=12) ve kemik rejenerasyonu yapılan grup(n=8) olarak ratları iki gruba ayırmışlardır. Yazarlar alveoler kemikteki değişiklikleri doğrusal kemik yüksekliği, kemik hacmi (BV), kemik hacim fraksiyonu (BVF),kemik mineral içeriği (BMC), ve kemik mineral densitesi (BMD) parametrelerini kullanarak mikro-ct ile değerlendirmişlerdir. Müller ve ark.(204) post mortem dönemdeki 63 hastanın (27 kadın,36 erkek) iliak kemiğinden elde ettikleri kemik örneklerinin trabeküler yapısını konvansiyonel histomorfometri ve mikro-BT ile değerlendirmişlerdir.

Her iki yöntemle de sırasıyla iki ve üç boyutlu olarak hesaplanan morfometrik parametreler bone volume density(BV/TV), bone surface density(BS/TV), trabeküler kalınlık(Tb.Th), trabeküler seperasyon(Tb.Sp)dur. Sonuçta bu parametrelere göre her iki yöntemin bulguları arasında anlamlı düzeyle bağlantı olduğu tespit edilmiştir. Mikro-BT görüntüleme yönteminin spongiöz ve kortikal kemiğin morfolojisinin incelenmesi için daha hızlı, yıkıcı olmayan ve kesin sonuçlar sağlayan bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

Diş çekim bölgesinin yara iyileşmesi açısından değerlendirilmesi amacıyla mikro-BT görüntüleme yönteminin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Chang ve ark.(205) yaptıkları çalışmada streptozosinle deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda diş çekim bölgesindeki iyileşmeyi 7,14. Ve 21. günde mikro-ct ile değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirmede kullandıkları volumetrik parametreler kemik hacim fraksiyonu (BVF), kemik hacim yüzdesi (BV/TV), trabeküler sayı (Tb.N), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabeküler seperasyon (Tb.Sp) dur. Sonuç olarak diyabetin kemikteki iyileşmeyi inflamasyonu arttırarak, hücre proliferasyonunu bozarak ve kemik rezorpsiyonunu geciktirerek bozduğunu bulmuşlardır. Jee ve ark.(206) 20 adet ratın dahil olduğu çalışmalarında alendronatın ovariktomize edilmiş ratlardaki diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini diş çekiminden hemen sonra 2,4. Ve 6.haftada in vivo olarak mikro-ct ile değerlendirmişlerdir. Mikro-ct yöntemi kemik yapısındaki longitudinal değişimleri inceleme fırsatı sunmuştur. Kumasaka ve

ark.(207) 2014 yılında yaptıkları çalışmada 14 adet rata sistemik olarak insan rekombinant insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) vermişler ve IGF-I in diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesine ve yeni kemik oluşumuna etkisini mikro-ct incelemesi sayesinde diş çekiminden hemen sonra 1,2,3.ve 6.haftadaki longitudinal ve morfolojik değişimleri 3 boyutlu olarak değerlendirmişlerdir. Yazarlar sonuç olarak IGF-I tedavisinin yeni oluşan kemiğin hacmini arttırdığını ve diş çekimini takiben oluşan alveoler kret yüksekliğindeki kaybı azalttığını bildirmişlerdir. Farina ve ark.(208) 28 hastanın(13 erkek,15 kadın) dahil edildiği çalışmalarında büyüme faktörlerinden zengin plazmanın (PRGF) diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesine etkilerini çekim soketlerinden elde ettikleri mikro-BT görüntülerde kemik hacmi (BV), doku mineral içeriği (TMC), doku mineral densitesi (TMD) değerlerini inceleyerek değerlendirmişlerdir. Kuroshima ve ark.(209) 2013 yılında yapmış oldukları 32 adet ratın dahil olduğu çalışmalarında, sistemik olarak verilen paratiroid hormonun (PTH) greftli ve greftsiz diş çekim bölgelerindeki iyileşmeye etkilerini incelemişlerdir. Trabeküler yapıyı mikro-ct ile değerlendirmek için total kemik hacmi üzerinden kemik hacim fraksiyonu(BVF), trabeküler sayı (Tb.N), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabeküler seperasyon (Tb.Sp) ve doku mineral densitesine (TMD) parametrelerini kullanmışlardır. Sonuç olarak Parathormon(PTH)'nun greft yerleştirilmeyen çekim soketinde ve greft yerleştirilen çekim soketinde kemik dolumunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Biz de bu çalışmamızda sildenafilin çekim soketindeki yara iyileşmesine etkisini deney ve kontrol gruplarından elde ettiğimiz mikro-ct görüntülerinin analizleri sayesinde doku hacmi(TV), doku yüzey alanı(TS), yeni oluşan kemik hacmi (BV),kemik yüzey alanı(BS),kemik yüzey alanının kemik hacmine oranı(BS/BV), yeni oluşan kemik yüzey densitesi (BS/TV), yeni oluşan kemik alanı (I.S),hounsfield units(HU) ve yeni oluşan kemik yüzdesi (BV/TV) parametrelerini ölçüp kıyaslayarak soket içerisindeki yeni kemik oluşumunu 3 boyutlu olarak değerlendirdik. Bu değerlendirmenin sonuçlarına göre yeni kemik oluşumu açısından 14. gün ve 28. günde HU değerinde DS (diyabet-sildenafil) grubu lehine olacak şekilde anlamlı farklılık bulunmuştur. 14.günde BV ve İS değerlerinde gruplar arasında diyabet-sildenafil (DS) grubu lehine

farklılık anlamlı bulunmuştur. BS/TV parametresinde ise 14. günde sağlıklı kontrol(SK) ve diyabetik kontrol (DK) arasında kontrol grubu aleyhine farklılık anlamlı bulunmuştur. HU değeri dışındaki parametreler açısından 28.gündeki gruplar arası farklılık anlamsız bulunmuştur.

Diş çekim socketinin iyileşme süresince sildenafil ile tedavi edilen gruptaki ratların çekim socketlerinin 14. gün yeni kemik dolumu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. 28. gün takipleri sonucunda yeni kemik oluşumu bakımından farklılık anlamlı olarak yüksek olamasa da sildenafil verilen grupta kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Sistemik olarak verilen sildenafilin çekim socketinin iyileşmesine 3 boyutlu radyografik değerlendirme sonuçlarına dayanarak olumlu etkisinin olduğunu söylemek mümkündür.

Literatürde, sildenafilin cilt yaraları ve kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği çok sayıda çalışma olmasına rağmen diyabetik hastada diş çekim yarasının iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızın diyabetik hastada çekim yarasının iyileşmesinde yarattığı sonuçları doğrudan kıyaslayabileceğimiz benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre; sistemik olarak uygulanan sildenafil ratlarda diyabetin diş çekim yarasının iyileşmesi üzerindeki negatif etkilerini azaltmakla birlikte vaskülarizasyonu ve osteogenezisi artırıcı özellikte olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma ratlar üzerinde yapıldığı için diş çekim bölgesinin iyileşmesine dair sadece objektif bulgular değerlendirilebilmiştir. Ancak subjektif bulguların değerlendirilebilmesi için klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Diş hekimliğinde daha önce sildenafilin diyabetik diş çekim yarasında kullanılabilirliğini dair çalışmanın bulunmaması nedeniyle çalışmamız, bu etken maddenin oral cerrahi alanında farklı etkilerinin de değerlendirilebilmesi açısından ileride yapılacak olan çalışmalara rehber niteliğindedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1.Ratlar yapılan cerrahi işlemi iyi tolere etmiştir ve sildenafil ratlarda toksik bir etki oluşturmamıştır.
- 2.Sildenafilin dış çekimi sonrasında oluşan kemik ve yumuşak doku yarası üzerinde olumsuz bir etkisi tespit edilmemiştir.
- 3.Histopatolojik inceleme sonucunda 14.gün diyabet sildenafil anjiogenezis açısından daha iyi bir yara iyileşmesi olduğu görülmüştür.
4. 28.güne ait histopatolojik incelemeye göre diyabet sildenafil grubunda ossifikasyon, anjiogenezis, fibrozis açısından daha iyi yara iyileşmesi olduğu görülmüştür.
5. 14.ve 28.güne ait immünohistokimyasal değerlendirme sonuçlarına bakıldığında VEGF düzeyleri diyabet sildenafil grubunda daha yüksek bulunmuştur.
6. Gruplar arasındaki radyolojik değerlendirme sonucunda 14.günde sadece intersection surface(İS),bone volume (BV),bone surface density(BS/TV) ve hounsfield units(HU) açısından fark anlamlı bulunurken,28.günde gruplar arasında sadece hounsfield units(HU) değeri açısından fark anlamlı bulunmuştur.
7. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sildenafilin diyabetik hastada dış çekim sonrası gelişen komplikasyonları en aza indirmek adına literatüre katkı sağlayacağını düşündürmektedir.

7.KAYNAKLAR

1. Kamer E, Unalp H, Tarcan E, Diniz G, Atahan K, Ortac R ve ark. Effect of Hyaluronic Acid-carboxymethylcellulose Adhesion Barrier on Wound Healing: An Experimental Study. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 20(10), 265-72, 2008.
2. Diegelmann RF. From the selected works of Robert F. Diegelmann Ph.D. *Frontiers in Bioscience*, 9, 283-89, 2004.
3. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nature medicine*, 9(6), 653, 2003.
4. Hausman MR, Schaffler MB, Majeska RJ. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. *Bone*, 29(6), 560-64, 2001.
5. Mair B, Fuerst G, Kubitzky P, Tangl S, Bergmeister H, Losert U ve ark. The anti-angiogenic substance TNP-470 impairs peri-implant bone formation: a pilot study in the rabbit metaphysis model. *Clinical oral implants research*, 18(3), 370-75, 2007.
6. Gurtner GC, Wong V. Wound healing: normal and abnormal. *Grabb and Smith's plastic surgery*, 6, 15-22, 2007.
7. Schneir M, Ramamurthy N, Golub L. Skin collagen metabolism in the streptozotocin-induced diabetic rat: Enhanced catabolism of collagen formed both before and during the diabetic state. *Diabetes*, 31(5), 426-31, 1982.
8. Cooley BC, Hanel DP, Anderson RB, Foster MD, Gould JS. The influence of diabetes on free flap transfer: I. Flap survival and microvascular healing. *Annals of plastic surgery*, 29(1), 58-64, 1992.
9. Aagenaes Ö, Moe H. Light-and electron-microscopic study of skin capillaries of diabetics. *Diabetes*, 10(4), 253-59, 1961.
10. Broadley K, Aquino A, Hicks B, Ditesheim J, McGee G, Demetriou A ve ark. The diabetic rat as an impaired wound healing model: stimulatory effects of

- transforming growth factor-beta and basic fibroblast growth factor. *Biotechnology therapeutics*, 1(1), 55-68, 1989.
11. Devlin H, Garland H, Sloan P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 54(9), 1087-91, 1996.
 12. Kromann H. Experimentally induced glucose intolerance as model of insulin-dependent diabetes mellitus. *Danish medical bulletin*, 30(5), 309, 1983.
 13. Blondel O, Bailbé D, Portha B. Relation of insulin deficiency to impaired insulin action in NIDDM adult rats given streptozocin as neonates. *Diabetes*, 38(5), 610-17, 1989.
 14. Robson MC, Dubay DA, Wang X, Franz MG. Effect of cytokine growth factors on the prevention of acute wound failure. *Wound repair and regeneration*, 12(1), 38-43, 2004.
 15. Salcido R. *Viagra and wound healing: the NO connection*. LWW, 2008.
 16. Koneru S, Varma Penumathsa S, Thirunavukkarasu M, Vidavalur R, Zhan L, Singal PK ve ark. Sildenafil-mediated neovascularization and protection against myocardial ischaemia reperfusion injury in rats: role of VEGF/angiopoietin-1. *Journal of cellular and molecular medicine*, 12(6b), 2651-64, 2008.
 17. Karakoyun B, Uslu U, Ercan F, Aydin MS, Yuksel M, Ogunc AV ve ark. The effect of phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate on inflammation and apoptosis in rat experimental colitis. *Life sciences*, 89(11-12), 402-07, 2011.
 18. Fawcett DW. Bloom and fawcett. *A textbook of histology*, 12th ed. p.964, 1994.
 19. Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. . Mosby Inc., 2002. p. Chapter 5: 131.
 20. Sodek J, Mckee M, D. *Molecular and cellular biology of alveolar bone*. *Periodontology* 2000, 24(1), 99-126, 2000.
 21. Mescher AL. *Junqueira's basic histology: text and atlas*. New York, Mc Graw Hill., 2016. p. 14th Ed. 138-60.

22. Young B, Woodford P, O'Dowd G. Wheater's Functional Histology E-Book: A Text and Colour Atlas. Elsevier Health Sciences, 2013.
23. Lowe JS, Anderson PG. Stevens & Lowe's Human Histology. Philadelphia, Elsevier Mosby, 2015.
24. RR. R. Embryology, anatomy, and microstructure of bone. Disorders of bone and mineral metabolism New York: Raven, 219-40, 1992.
25. Ruimerman R. Modeling and remodeling in bone tissue. Eindhoven: University Press Facilities, 2005.
26. Khurana JS. Bone pathology. Humana Press, New York, 2nd ed. Chapter 1, 5, 2009.
27. Junquiera LC, Carneiro J. Temel Histoloji (Basic Histology). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul Çeviri Editörü: Y Aytekin, S Solakoğlu 141-59, 2006.
28. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R, Palme yayıncılık, Ankara, 118-45, 2006.
29. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology Pennsylvania, Philadelphia, WB Saunders Company, 2nd ed, 134-54, 2001.
30. Kierszenbaum AL. Histoloji Ve Hücre biyolojisi: Patolojiye Giriş. Mosby Inc, St Louis, Palme yayıncılık, 4. baslık, 120, 2006.
31. Hernandez-Gil IF-T, Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Jerez LB. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 11, 47-51, 2006.
32. Sqabita M, Neelam V. Inderbir Singh's Textbook of Human Histology: With Colour Atlas and Practical Guide. New Delhi, Jaypee, 7th Ed, 87-106, 2014.
33. Schenk R. Skeletal Trauma. Philadelphia: Saunders, 29-74, 2003.
34. Kierszenbaum AL. Histoloji ve hücre biyolojisi. Ankara, Palme Yayıncılık, 1th ed., 95-144, 2006.
35. Rodan GA. Introduction to bone biology. Bone, 13 Suppl1, 3-6, 1992.
36. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function. India, Elsevier, 8th ed., 165-83, 2012.

37. Buckwalter J, Glimcher M, Cooper R, Recker RR. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. Instructional course lectures AAOS, 41, 387-99, 1996.
38. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. New York, Mc Graw Hill, 14th Ed., 138-60, 2016.
39. Junqueira L, Carneiro J. Basic histology: text and atlas. Bone, 10 th Ed. Chapter 8. , 146-48, 2003.
40. Garg AK. Bone biology, harvesting, grafting for dental implants. Bone Physiology for Dental Implantology, Chapter 1, 3-20, 2004.
41. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. Periodontology 2000, 13, 76-90, 1997.
42. Newman MG, Takei H, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. Elsevier health sciences, Toronto, 11th ed., 87-99, 2011.
43. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. Saunders. Saunders Publishing, 9th ed, 45-50, 2001.
44. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, Margolis DJ, Percoraro RE, Rodeheaver G ve ark. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. Wound repair and regeneration, 2, 165-70, 1994.
45. Keast D, Orsted H. The basic principles of wound care. Ostomy wound management, 44, 24-8, 1998.
46. ALTUNATMAZ K. Kırık İyileşmesinin Biyolojisi ve Biyolojik Osteosentez. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30, 141-47, 2004.
47. Nursal TZ, Baykal A, Hamaloğlu E. Yaşlılarda yara iyileşmesi: Fark var mı. Turk J Geriatr, 2, 29-32, 1999.
48. Miloro M, Ghali G, Larsen P, Waite P. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery.: London, BC Decker Inc, 2nd ed, 2004.
49. Shetty V, Bertolami C. The physiology of wound healing. Principles of oral and maxillofacial surgery, Lippincott, Philadelphia, 3rd ed., 3-18, 1992.

50. Lindhe Ö, Brandt I, Christiansen JS, Ingebrigtsen K. Irreversible binding of o, p'-DDD in interrenal cells of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Chemosphere*, 50(9), 1249-53, 2003.
51. Zhang R, Wang L, Zhang L, Chen J, Zhu Z, Zhang Z. Nitric oxide enhances angiogenesis via the synthesis of vascular endothelial growth factor and cGMP after stroke in the rat. *Circulation research*, 92(3), 308-13, 2003.
52. Larjava H. Oral wound healing: cell biology and clinical management. Chichester, West Sussex: Blackwell Publishing, 1st Ed, 81-175, 2012.
53. Ahn J-J, Shin H-I. Bone tissue formation in extraction sockets from sites with advanced periodontal disease: a histomorphometric study in humans. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 23(6), 1133-8, 2008.
54. ÇÖLOĞLU A. Ağız yaralarının iyileşmesi. *Ü Dışhekimliği Fakültesi Dergisi*, 4(2), 112-20.
55. Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 27(3), 309-18, 1969.
56. Cotran K, Kumar V, T. C. Robbins pathologic basis of disease. Philadelphia: WB Saunders Corp, 6th Ed(Acute and Chronic inflammation Chapter 3), 50-89, 1999.
57. Engin A. Yara iyileşmesi . Temel Cerrahi. Güneş Kitapevi, Ankara, 185-96, 1993.
58. Hupp JR, Tucker MR, Ellis E, LJ. P. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. New York: Mosby, 3rd ed(Wound Repair), 57-68, 1998.
59. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615-25, 2005.
60. Ismail MYM, Yaheya M. Clinical evaluation of antidiabetic activity of Trigonella seeds and Aegle marmelos leaves. *World Applied Sciences Journal*, 7(10), 1231-4, 2009.
61. İliçin G, S. Ü, K. B, S. A, G S. Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, Ankara 1 Baskı,Cilt:2, 1-5, 1997.
62. Tunalı M, Erşahan Ş, Aydınbelge M. Periodontal Hastalık ile Diyabet Arasında Çift Yönlü İlişki. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23(1), 11, 2014.

63. Ozougwu J, Obimba K, Belonwu C, Unakalamba C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of physiology and pathophysiology*, 4(4), 46-57, 2013.
64. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 10, 3-12, 2009.
65. Daneman D. Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513), 847-58, 2006.
66. MC Y. Metabolik Kontrolleri İyi ve Kötü Diabetik Periodontitisli Hastaların ve Nondiabetik Periodontitisli Hastaların Dos Tükürük ve Serum Örneklerinde Visfatin Seviyelerinin Araştırılması ve Periodontitisin Klinik ve Biyokimyasal Parametreleri İle İlişkisinin Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2013.
67. Vermeulen I, Weets I, Asanghanwa M, Ruige J, Van Gaal L, Mathieu C ve ark. Contribution of antibodies against IA-2 β and zinc transporter 8 to classification of diabetes diagnosed under 40 years of age. *Diabetes Care*, 34(8), 1760-5, 2011.
68. Couper J, Donaghue KC. Phases of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 10, 13-16, 2009.
69. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6), 850, 2015.
70. Kohei K. Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. *JMAJ*, 53(1), 41-46, 2010.
71. Paramanick D, Sharma N. A review on herbs which are used in diabetes mellitus. *International Journal of Drug Development and Research*, 9, 12-7, 2017.
72. AD A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*, 41, 13-27, 2018.
73. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), 219-29, 2010.

74. Woo K, Ayello EA, Sibbald RG. The edge effect: current therapeutic options to advance the wound edge. *Advances in skin & wound care*, 20(2), 99-117, 2007.
75. Gary Sibbald R, Woo KY. The biology of chronic foot ulcers in persons with diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 24(1), 25-30, 2008.
76. Blumer I, Hadar E, Hadden DR, Jovanovič L, Mestman JH, Murad MH ve ark. Diabetes and pregnancy: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(11), 4227-49, 2013.
77. Al-Noaemi MC, Shalayer MHF. Pathophysiology of gestational diabetes mellitus: the past, the present and the future. *Gestational Diabetes: InTech*, 2011.
78. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*, 25(10), 1862-8, 2002.
79. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25(9), 1551-6, 2002.
80. Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M ve ark. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 55(1), 65-85, 2002.
81. Rohlfing CL, Wiedmeyer H-M, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c: analysis of glucose profiles and HbA1c in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*, 25(2), 275-8, 2002.
82. Report TWH. *Life in the 21st century: a vision for all: executive summary:WHO*, 1998.
83. Centers for Disease Control and Prevention: *National Estimates on Diyabetes*. 1996.
84. Gedik O, Akalın S. *Diabetes mellitus , Modern Tıp Seminerleri*. Güneş Kitapevi, Ankara, 1989.

85. Maritim A, Sanders a, Watkins Iii J. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 17(1), 24-38, 2003.
86. Quinn L. Mechanisms in the development of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(2), 1-16, 2002.
87. Alberti K, Press C. The biochemistry of diabetes mellitus. *The Complications of Diabetes London: Edward Arnold*, 2.baskı,Chapter 8, 232-70, 1982.
88. Faris I. Infection and wound healing. *The Management of the Diabetic Foot. Churchill Livingstone,Newyork*, Chap. 5, 38-46, 1982.
89. Fahey III TJ, Sady A, Jones II WG, Barber A, Smoller B, Shires GT. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *Journal of Surgical Research*, 50(4), 308-13, 1991.
90. Komesu MC, Tanga MB, Buttros KR, Nakao C. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. *Pathophysiology*, 11(2), 63-67, 2004.
91. Matos L, AA N. Enhancement of healing in selected problem wounds. *Hyperbaric medicine practice, Best Publishing Company, USA*, Chapter 30, 589-612, 1995.
92. King L. Impaired wound healing in patients with diabetes. *Nursing Standard*, 15(38), 39-45, 2001.
93. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *The Journal of clinical investigation*, 51(8), 2009-23, 1972.
94. Ahmed N. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes research and clinical practice*, 67(1), 3-21, 2005.
95. JR L, GS K, TC B. Infection of the Diabetic Foot. *Mosby Year Book, StLouis*, 5. baskı, Chapter 8, 181-98, 1993.
96. Spanheimer RG. Direct inhibition of collagen production in vitro by diabetic rat serum. *Metabolism*, 37(5), 479-85, 1988.

97. Grotendorst GR, Martin G, Pencev D, Sodek J, Harvey A. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. *The Journal of clinical investigation*, 76(6), 2323-9, 1985.
98. Noli C, Miolo A. The mast cell in wound healing. *Veterinary dermatology*, 12(6), 303-13, 2001.
99. Tomita T, Lacy PE, Matschinsky FM, McDaniel ML. Effect of alloxan on insulin secretion in isolated rat islets perfused in vitro. *Diabetes*, 23, 517-24, 1974.
100. Malaisse WJ. Alloxan toxicity to the pancreatic B-cell: A new hypothesis. *Biochemical pharmacology*, 31, 3527-34, 1982.
101. Nakhooda A, Like A, Chappel C, Murray F, Marliss E. The spontaneously diabetic Wistar rat: metabolic and morphologic studies. *Diabetes*, 26, 100-12, 1976.
102. Gwilliam D, Bone A. Animal models of insulin dependent diabetes mellitus. *Textbook of Diabetes*, 1998.
103. Leiter E, de Vries R, Cohen I, van Rood J. *Current Topics in Immunology and Microbiology. The Role of Microorganisms in Non-infectious Disease*. Springer Verlag Berlin, 1990. p. 39-55.
104. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 2.baskı,754, 1981.
105. Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science*, 193, 415-17, 1976.
106. McNeill JH. *Experimental models of diabetes*. Newyork:Routledge,1st ed., 2018.
107. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-26, 2008.
108. Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, Newgard CB. STZ transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*, 43(11), 1326-33, 1994.
109. Gispen WH, Biessels G-J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends in neurosciences*, 23(11), 542-49, 2000.

110. Kaputlu Ir, Özdem S, Şadan G, Gökalp O. Effects of diabetes on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the rat isolated duodenum. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 26, 724-28, 1999.
111. AS D, T A, M K, G E. Sıçanlarda multiple subdiabetojenik streptozotocin zerkleri ile oluşturulan diabet modeli hakkında. *Diyabet Yıllığı*, 1, 166-80, 1983, 1983.
112. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *The Journal of clinical investigation*, 48, 2129-39, 1969.
113. Ayyildiz A, Uysal A, Koçer U, Karaaslan Ö, Huri E, Germiyanoglu C ve ark. Effect of sildenafil citrate on viability of flaps: an experimental study in rats. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery*, 39(4), 204-08, 2005.
114. Hart K, Baur D, Hodam J, Lesoon-Wood L, Parham M, Keith K ve ark. Short-and long-term effects of sildenafil on skin flap survival in rats. *The Laryngoscope*, 116(4), 522-8, 2006.
115. Moon C, Jaber P, Otto-Bruc A, Baehr W, Palczewski K, Ronnett GV. Calcium-sensitive particulate guanylyl cyclase as a modulator of cAMP in olfactory receptor neurons. *Journal of Neuroscience*, 18, 3195-205, 1998.
116. Chen C-H, Houchi H, Ohnaka M, Sakamoto S, Niwa Y, Nakaya Y. Nitric oxide activates Ca²⁺-activated K⁺ channels in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *Neuroscience letters*, 248, 127-9, 1998.
117. Kulkarni S, Patil C. Phosphodiesterase 5 enzyme and its inhibitors: update on pharmacological and therapeutical aspects. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 26(10), 789-99, 2004.
118. Rybalkin SD, Yan C, Bornfeldt KE, Beavo JA. Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circulation research*, 93(4), 280-91, 2003.

119. Voelkel NF, Allard JD, Anderson SM, Burke TJ. cGMP and cAMP cause pulmonary vasoconstriction in the presence of hemolysate. *Journal of Applied Physiology*, 86(5), 1715-20, 1999.
120. Brock G. Sildenafil citrate (Viagra®). *Drugs Today*, 36(2), 125-34, 2000.
121. Glossmann H, Petrischor G, Bartsch G. Molecular mechanisms of the effects of sildenafil (VIAGRA®). *Experimental gerontology*, 34(3), 305-18, 1999.
122. Michelakis E, Tymchak W, Archer S. Sildenafil: from the bench to the bedside. *Cmaj*, 163(9), 1171-5, 2000.
123. Iimura O, Kusano E, Amemiya M, Muto S, Ikeda U, Shimada K ve ark. Dipyridamole enhances interleukin-1 β -stimulated nitric oxide production by cultured rat vascular smooth muscle cells. *European journal of pharmacology*, 296(3), 319-26, 1996.
124. Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T. Effect of combination therapy with dipyridamole and quinapril in diabetic nephropathy. *Diabetes research and clinical practice*, 59(2), 83-92, 2003.
125. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circulation research*, 101(11), 1084-95, 2007.
126. Fries R, Shariat K, von Wilmowsky H, Böhm M. Sildenafil in the treatment of Raynaud's phenomenon resistant to vasodilatory therapy. *Circulation*, 112(19), 2980-85, 2005.
127. Heymann WR. Sildenafil for the treatment of Raynaud's phenomenon. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(3), 501-02, 2006.
128. Wang G-R, Zhu Y, Halushka PV, Lincoln TM, Mendelsohn ME. Mechanism of platelet inhibition by nitric oxide: in vivo phosphorylation of thromboxane receptor by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(9), 4888-93, 1998.
129. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Kontos C, Zhong A ve ark. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and mechanism. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(5), R1219-R29, 2004.

130. Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F, Hallström S, Gasser H, Redl H. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/reperfusion injury in a rat epigastric flap model. *Wound repair and regeneration*, 11(1), 3-10, 2003.
131. Derici H, Kamer E, Ünalp HR, Diniz G, Bozdog AD, Tansug T ve ark. Effect of sildenafil on wound healing: an experimental study. *Langenbeck's archives of surgery*, 1-6, 2009.
132. Tas A, Atasoy N, Ozbek H, Aslan L, Yuksel H, Ceylan E ve ark. The effects of sildenafil citrate (Viagra) in the early phase of healing process in open wounds in dogs. *Acta Vet Brno*, 72, 273-77, 2003.
133. de Mey C. Opportunities for the treatment of erectile dysfunction by modulation of the NO axis-alternatives to sildenafil citrate. *Current medical research and opinion*, 14(4), 187-202, 1998.
134. Walker D. Pharmacokinetics and metabolism of sildenafil in mouse, rat, rabbit, dog and man. *Xenobiotica*, 29(3), 297-310, 1999.
135. Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *British journal of plastic surgery*, 57(8), 769-72, 2004.
136. Lim PH, Moorthy P, Benton KG. The clinical safety of Viagra. *Annals of the New York academy of sciences*, 962(1), 378-88, 2002.
137. Kayaalp S. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. *Pelikan Yayıncılık*, 12 Baskı 1 Cilt, 392-93, 2009.
138. Elliott JC, Dover S. X-ray microtomography. *Journal of microscopy*, 126(2), 211-13, 1982.
139. Ketcham RA, Carlson WD. Acquisition, optimization and interpretation of X-ray computed tomographic imagery: applications to the geosciences. *Computers & Geosciences*, 27(4), 381-400, 2001.
140. Swain MV, Xue J. State of the art of micro-CT applications in dental research. *International journal of oral science*, 1(4), 177-88, 2009.
141. Ritman EL. Current status of developments and applications of micro-CT. *Annual review of biomedical engineering*, 13, 531-52, 2011.

142. Wang G, Zhao S, Yu H, Miller CA, Abbas PJ, Gantz BJ ve ark. Design, analysis and simulation for development of the first clinical micro-CT scanner. *Academic radiology*, 12(4), 511-25, 2005.
143. Holdsworth DW, Thornton MM. Micro-CT in small animal and specimen imaging. *Trends in Biotechnology*, 20(8), 34-39, 2002.
144. Sarkar PS, Ray N, Pal MK, Baribaddala R, Agrawal A, Kashyap Y ve ark. Development of X-ray CCD camera based X-ray micro-CT system. *Review of Scientific Instruments*, 88(2), 2017.
145. Grande NM, Plotino G, Gambarini G, Testarelli L, D'Ambrosio F, Pecci R ve ark. Present and future in the use of micro-CT scanner 3D analysis for the study of dental and root canal morphology. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 48, 26-34, 2012.
146. Li L, Chen Z, Zhang L, Xing Y, Kang K. A cone-beam tomography system with a reduced size planar detector: A backprojection-filtration reconstruction algorithm as well as numerical and practical experiments. *Applied radiation and isotopes*, 65(9), 1041-47, 2007.
147. O'Ryan FS, Lo JC. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 70(8), 1844-53, 2012.
148. Araújo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clinical oral implants research*, 20(6), 545-49, 2009.
149. İrer SV, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 127-36, 2004.
150. Eleazu CO, Eleazu KC, Ironkwe A, Iroaganachi MA. Effect of Livingstone potato (*Plectranthus esculentus* NE Br) on diabetes and its complications in streptozotocin induced diabetes in rats. *Diabetes & metabolism journal*, 38(5), 366-74, 2014.
151. Gill GV, Pickup JC, Williams G. *Difficult diabetes*. Wiley Online Library, 2001.

152. Spravchikov N, Sizyakov G, Gartsbein M, Accili D, Tennenbaum T, Wertheimer E. Glucose effects on skin keratinocytes: implications for diabetes skin complications. *Diabetes*, 50(7), 1627-35, 2001.
153. Thrailkill KM, Liu L, Wahl EC, Bunn RC, Perrien DS, Cockrell GE ve ark. Bone formation is impaired in a model of type 1 diabetes. *Diabetes*, 54(10), 2875-81, 2005.
154. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Archives of oral biology*, 47(12), 843-49, 2002.
155. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 77(8), 1289-303, 2006.
156. Retzepi M, Donos N. The effect of diabetes mellitus on osseous healing. *Clinical oral implants research*, 21(7), 673-81, 2010.
157. Power D, Sambrook P, Goss A. The healing of dental extraction sockets in insulin-dependent diabetic patients: a prospective controlled observational study. *Australian dental journal*, 64(1), 111-16, 2019.
158. Marin S, Popovic-Pejicic S, Radošević-Carić B, Trtić N, Tatić Z, Selaković S. Hyaluronic acid treatment outcome on the post-extraction wound healing in patients with poorly controlled type 2 diabetes: A randomized controlled split-mouth study. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 2020.
159. Shyng Y, Chi C, Devlin H, Sloan P. Healing of tooth extraction sockets in the streptozotocin diabetic rat model: Induction of cartilage by BMP-6. *Growth Factors*, 28(6), 447-51, 2010.
160. Fang Y, Wang LP, Du FL, Liu WJ, Ren GL. Effects of insulin-like growth factor I on alveolar bone remodeling in diabetic rats. *Journal of periodontal research*, 48(2), 144-50, 2013.
161. Muñoz-Torres M, Jodar E, Escobar-Jiménez F, López-Ibarra P, Luna J. Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Calcified tissue international*, 58(5), 316-19, 1996.

162. Li H, Fu X, Zhang L, Huang Q, Wu Z, Sun T. Research of PDGF-BB gel on the wound healing of diabetic rats and its pharmacodynamics. *Journal of Surgical Research*, 145(1), 41-48, 2008.
163. Vernillo AT. Diabetes mellitus: relevance to dental treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 91(3), 263-70, 2001.
164. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *Journal of neuro-oncology*, 50(1-2), 139-48, 2000.
165. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280(6), C1358-C66, 2001.
166. Yazır Y, Gonca S, Filiz S, Dalçık H. Endotel hücreleri için önemli bir protein ailesi; vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), Ailenin üyeleri, yapısı ve sentezi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26, 181-84, 2004.
167. Bitto A, Minutoli L, Altavilla D, Polito F, Fiumara T, Marini H ve ark. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacological research*, 57(2), 159-69, 2008.
168. Kirchner LM, Meerbaum SO, Gruber BS, Knoll AK, Bulgrin J, Taylor R ve ark. Effects of vascular endothelial growth factor on wound closure rates in the genetically diabetic mouse model. *Wound repair and regeneration*, 11(2), 127-31, 2003.
169. Losi P, Briganti E, Errico C, Lisella A, Sanguinetti E, Chiellini F ve ark. Fibrin-based scaffold incorporating VEGF-and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice. *Acta biomaterialia*, 9(8), 7814-21, 2013.
170. Boolell M, Gepi-Attee S, Gingell J, Allen M. Sildenafil, a novel effective oral therapy for male erectile dysfunction. *British journal of urology*, 78(2), 257-61, 1996.
171. Salloum F, Yin C, Xi L, Kukreja RC. Sildenafil induces delayed preconditioning through inducible nitric oxide synthase-dependent pathway in mouse heart. *Circulation research*, 92(6), 595-97, 2003.

172. Amano K, Matsubara H, Iba O, Okigaki M, Fujiyama S, Imada T ve ark. Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression. *Hypertension*, 41(1), 156-62, 2003.
173. Senthilkumar A, Smith RD, Khitha J, Arora N, Veerareddy S, Langston W ve ark. Sildenafil promotes ischemia-induced angiogenesis through a PKG-dependent pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 27(9), 1947-54, 2007.
174. Diwan AD, Wang MX, Jang D, Zhu W, Murrell GA. Nitric oxide modulates fracture healing. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(2), 342-51, 2000.
175. Derici H, Kamer E, Ünalp HR, Diniz G, Bozdog AD, Tansug T ve ark. Effect of sildenafil on wound healing: an experimental study. *Langenbeck's archives of surgery*, 395(6), 713-18, 2010.
176. Jesmin S, Sakuma I, Salah-Eldin A, Nonomura K, Hattori Y, Kitabatake A. Diminished penile expression of vascular endothelial growth factor and its receptors at the insulin-resistant stage of a type II diabetic rat model: a possible cause for erectile dysfunction in diabetes. *Journal of molecular endocrinology*, 31(3), 401-18, 2003.
177. Bereket C, Sener I, Cakir-Özkan N, Önger M, Polat A. Beneficial therapeutic effects of sildenafil on bone healing in animals treated with bisphosphonate. *Nigerian journal of clinical practice*, 21(2), 217-24, 2018.
178. Ulusoy MG, Koçer U, Karaaslan Ö, Cuzdan SS, Ayyıldız A, Üstün H. Improved flap viability with site-specific delivery of sildenafil citrate using fibrin glue. *Annals of plastic surgery*, 55(3), 292-96, 2005.
179. Vidavalur R, Penumathsa SV, Zhan L, Thirunavukkarasu M, Maulik N. Sildenafil induces angiogenic response in human coronary arteriolar endothelial cells through the expression of thioredoxin, hemeoxygenase and vascular endothelial growth factor. *Vascular pharmacology*, 45(2), 91-95, 2006.
180. Cakmak E, Karasoy AY, Sevim K, Sumer O, Tatlıdede H, Sakiz D. Effect of sildenafil citrate on secondary healing in full thickness skin defects in experiment. *Bratislavske lekarske listy*, 115(5), 267-71, 2014.

181. Hausman M, Schaffler M, Majeska R. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. *Bone*, 29(6), 560-64, 2001.
182. Keramaris N, Calori G, Nikolaou V, Schemitsch E, Giannoudis P. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury*, 39, S45-S57, 2008.
183. Lienau J, Schell H, Epari DR, Schütze N, Jakob F, Duda GN ve ark. CYR61 (CCN1) protein expression during fracture healing in an ovine tibial model and its relation to the mechanical fixation stability. *Journal of orthopaedic research*, 24(2), 254-62, 2006.
184. Ghofrani HA, Osterloh IH, Grimminger F. Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. *Nature reviews Drug discovery*, 5(8), 689-702, 2006.
185. Athanasopoulos AN, Schneider D, Keiper T, Alt V, Pendurthi UR, Liegibel UM ve ark. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced up-regulation of CCN1 in osteoblasts mediates proangiogenic activities in endothelial cells and promotes fracture healing. *Journal of Biological Chemistry*, 282(37), 26746-53, 2007.
186. Histing T, Marciniak K, Scheuer C, Garcia P, Holstein JH, Klein M ve ark. Sildenafil accelerates fracture healing in mice. *Journal of orthopaedic research*, 29(6), 867-73, 2011.
187. Orchard E, Green W, Nair R, Abreo F, Sunavala-Dossabhoy G. Sildenafil Transiently Delays Early Alveolar Bone Healing of Tooth Extraction Sockets. *Clin Surg* 2017; 2, 1458.
188. Soneja A, Drews M, Malinski T. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. *Pharmacol Rep*, 57 Suppl, 108-19, 2005.
189. Babior B. The respiratory burst of phagocytes. *The Journal of clinical investigation*, 73(3), 599-601, 1984.
190. MEMİŞOĞULLARI R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 7(3), 30-39, 2005.

191. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25(4), 612-28, 2004.
192. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1), 1-9, 1999.
193. Yildirim A, Ersoy Y, Ercan F, Atukeren P, Gumustas K, Uslu U ve ark. Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 23(3), 215-21, 2010.
194. Dussault S, Maingrette F, Ménard C, Michaud S-E, Haddad P, Groleau J ve ark. Sildenafil increases endothelial progenitor cell function and improves ischemia-induced neovascularization in hypercholesterolemic apolipoprotein E-deficient mice. *Hypertension*, 54(5), 1043-49, 2009.
195. Gokakin AK, Deveci K, Kurt A, Karakus BC, Duger C, Tuzcu M ve ark. The protective effects of sildenafil in acute lung injury in a rat model of severe scald burn: a biochemical and histopathological study. *Burns*, 39(6), 1193-99, 2013.
196. Hsieh Y, Devlin H, Roberts C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Archives of oral biology*, 39(5), 425-28, 1994.
197. Kurita K, Hashimoto Y, Takei T, Kawai T, Hayakawa T. Changes in collagen types during the healing of rabbit tooth extraction wounds. *Journal of dental research*, 64(1), 28-32, 1985.
198. Lien Y-H, Tseng MM, Stern R. Glucose and glucose analogs modulate collagen metabolism. *Experimental and molecular pathology*, 57(3), 215-21, 1992.
199. A Leal M, M Balarini C, T Dias A, L Porto M, L Gava A, Pereira T ve ark. Mechanisms of enhanced vasoconstriction in the mouse model of atherosclerosis: the beneficial effects of sildenafil. *Current pharmaceutical biotechnology*, 16(6), 517-30, 2015.
200. Lim PHC, Li MK, Ng FC, Chia SJ, Consigliere D, Gooren L ve ark. Clinical efficacy and safety of sildenafil citrate (Viagra) in a multi-racial population in

- Singapore: A retrospective study of 1520 patients. *International journal of urology*, 9(6), 308-15, 2002.
201. Şahin FÜ, Topuz Ö. Diş hekimliği araştırmalarında mikrobilgisayarlı tomografi uygulamaları. *Acta Odontologica Turcica*, 31(2), 114-20, 2014.
 202. Gielkens PF, Schortinghuis J, de Jong JR, Huysmans MC, Leeuwen MB, Raghoobar GM ve ark. A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Arch Oral Biol*, 53(6), 558-66, 2008.
 203. Park CH, Abramson ZR, Taba M, Jr., Jin Q, Chang J, Kreider JM ve ark. Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. *J Periodontol*, 78(2), 273-81, 2007.
 204. Muller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van Der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T ve ark. Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone*, 23(1), 59-66, 1998.
 205. Chang PC, Chung MC, Wang YP, Chien LY, Lim JC, Liang K ve ark. Patterns of diabetic periodontal wound repair: a study using micro-computed tomography and immunohistochemistry. *J Periodontol*, 83(5), 644-52, 2012.
 206. Jee JH, Lee W, Lee BD. The influence of alendronate on the healing of extraction sockets of ovariectomized rats assessed by in vivo micro-computed tomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 110(2), e47-53, 2010.
 207. Kumasaka A, Iikubo M, Nishioka T, Kojima I, Shoji N, Sakamoto M ve ark. Insulin-Like Growth Factor I Inhibits Alveolar Bone Loss Following Tooth Extraction in Rats. *Clin Implant Dent Relat Res*, 17(6), 1174-9, 2015.
 208. Farina R, Bressan E, Taut A, Cucchi A, Trombelli L. Plasma rich in growth factors in human extraction sockets: a radiographic and histomorphometric study on early bone deposition. *Clin Oral Implants Res*, 24(12), 1360-8, 2013.
 209. Kuroshima S, Al-Salihi Z, Yamashita J. Parathyroid hormone related to bone regeneration in grafted and nongrafted tooth extraction sockets in rats. *Implant Dent*, 22(1), 71-6, 2013.

8.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hatun Ercan

Doğum Yeri ve Tarihi : ÇORUM, 01.09.1992

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dil : İngilizce

İletişim Adresi : Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 58140-SİVAS

E-posta Adresi : hatun_e_17@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise :İsklip Anadolu Lisesi, 2005-2009

Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2009-2014

Uzmanlık : Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2015-halen

İş Tecrübesi

Cumhuriyet Üniversitesi Uzmanlık Öğrencisi 2015-

Katıldığı Bilimsel Aktiviteler

- TAOMS 25th International Scientific Congress in 13-17 May 2018, Girne , Cyprus
- TAOMS 26th International Scientific Congress in 28 Apr-02 May 2019, Girne, Cyprus

EKLER

EK-1

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU







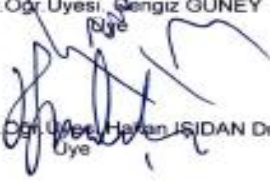
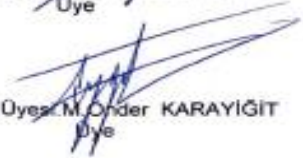

15.11.2018

Sayı : 65202830-050.04.04-211
Konu : Etik Kurul Kararı

Sayın Doç.Dr.İlker ÖZEÇ
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi

Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 15.11.2018 tarihinde Prof.Dr.Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Doç.Dr.İlker ÖZEÇ'in yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Prof.Dr.Fahrettin GÖZE Dr.Öğr.Üyesi.Ziynet ÇINAR Biolog.Hasan EKEER Uz Vet.Hek.Yücel YALMAN Arş.Gör.Hatun ERCAN'ın 25.10.2018 tarih ve 166 sayılı "Diyabetik Ratlarda Diş Çekim Sonrası Kemik İyileşmesi Üzerine Sildenafilin Etkisinin Değerlendirilmesi." İsimli Uzmanlık Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

 Prof.Dr.İhsan HÜSEYİN ZENGİN Uye	 Prof.Dr.Zübeyde Akın POLAT Uye	 Dr.Öğr.Üyesi.Ahmet Duran ATAŞ Uye
 Dr.Öğr.Üyesi.Gengiz GÜNEY Uye	 Dr.Öğr.Üyesi.Erhan YÜKSEL Uye	 Dr.Öğr.Üyesi.Erkan GÜMÜŞ Uye
 Dr.Öğr.Üyesi.Hakan İSİDAN Uye	(Katılmadı) Dr.Öğr.Üyesi.Mustafa ATABEY Uye	 Dr.Öğr.Üyesi.M.Önder KARAYIĞIT Uye
(Katılmadı) Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN Uye – Başkanvekili	(Katılmadı) Hilmi GÜL Sivil Uye	 Özcan KARATAŞ Sivil Uye

Prof. Dr. Haki KARA
Başkan

