



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN TİP 2 DİYABET SONRASI DİŞ
ÇEKİM SOKETLERİNİN DEL-1 VE IL-17 PROTEİNLERİ
AÇISINDAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ VE KEMİK İYİLEŞMESİNİN MİKRO-
BT İLE İNCELENMESİ**

Dt. Kübra GÜLER

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2022



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN TİP 2 DİYABET SONRASI DİŞ
ÇEKİM SOKETLERİNİN DEL-1 VE IL-17 PROTEİNLERİ
AÇISINDAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ VE KEMİK İYİLEŞMESİNİN MİKRO-
BT İLE İNCELENMESİ**

Dt. Kübra GÜLER

UZMANLIK TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Emine PİRİM GÖRGÜN

Danışman Öğretim Üyesi

SİVAS

2022

ÖZET

RATLARDA OLUŞTURULAN TİP 2 DİYABET SONRASI DIŞ ÇEKİM SOKETLERİNİN DEL-1 VE IL-17 PROTEİNLERİ AÇISINDAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE KEMİK İYİLEŞMESİNİN MİKRO-BT İLE İNCELENMESİ

Kübra GÜLER

Periodontoloji Anabilim Dalı

SİVAS, 2022

Periodontal cerrahi ve implant cerrahisi açısından kemiğin durumu ve diş çekimi sonrası ya da augmentasyon işlemlerinden sonra iyi bir kemik iyileşme paterni olması önemlidir. Diş hekimliğinin rutin işlemlerinden olan diş çekimi, ardında iyileşmesi kompleks bir yara bırakır. Bu yaranın iyi bir iyileşme göstermesi, özellikle implant cerrahisi için çok önemlidir. Diyabette yara iyileşmesinde birtakım bozukluklar olduğu çalışmalarda gösterilmiştir, ancak hangi mekanizmaların rol oynadığı günümüzde de merak konusudur ve araştırılmaktadır. Gelişimsel olarak düzenlenen endotelyal lokus-1 (Del-1), embriyolojik damarsal gelişim sırasında endotelyal hücrelerden salınan bir glikoproteindir. Bununla zıt olarak çalıştığı gösterilen Interlökin 17 (IL-17) de özellikle akut fazda ortaya çıkıp enflamasyona teşvik eden bir proteindir. Osteoprotegerin (OPG) ve Nükleer Faktör-Kappa B Reseptör Aktivatörü Ligandı (RANKL) proteinleri de kemiğin deviniminde rol oynayan sitokinlerdir. Kemik yaralanmasında devreye giren tüm bu proteinlerin Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM) modelinde diş çekim yarasındaki ekspresyonlarını incelemeyi amaçladığımız çalışmamızda, özellikle Del-1 proteininin DM'deki yara iyileşmesinde hedef alınmaya aday olup olabilemeyeceğini araştırmak istedik.

Bu çalışma rat modelinde yapılmıştır. DM ve kontrol olarak iki gruba ayrılan hayvanlar daha sonra kendi aralarında 3 gruba ayrılmıştır. DM grupları iki hafta

boyunca yüksek yağlı diyet (YYD) tabi tutulmuşken, kontrol grupları normal diyet (ND) ile beslenmiştir. Ardından DM gruplarına 35 mg/kg Streptozotosin (STZ) uygulanmış ve üç gün sonrasında OGTT ile hiperglisemi ve insülin direnci (IR) test edildikten sonra tüm grupların sağ alt birinci molar dişleri çekilmiştir. Bundan sonra sırasıyla 7, 14 ve 28. günlerde önce kardiyak ponksiyon ile kan toplanmış ve ardından sakrifiye edilmişlerdir. Tüm gruplar trigliserit (TG), total kolesterol (Kol), high-density lipoprotein kolesterol (HDL-C), low-density lipoprotein kolesterol (LDL-C), Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), Del-1 immünpozitifliği, IL-17 immünpozitifliği, OPG immünpozitifliği ve RANKL immünpozitifliği açısından incelenmiştir. Bunun yanı sıra 28. günde sakrifiye edilen hayvanlar Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) ile kemik yara iyileşmesi açısından incelenmiştir.

Diyabet oluşturana kadar YYD ile beslenen grupta kontrol gruplarına göre hızlı bir kilo alımı gözlenmiştir. STZ enjeksiyonu ile birlikte kilo kaybı yaşanmış, bundan sonra daha yavaş bir hızda tekrar kilo alımı gözlenmiştir. STZ uygulanması yapılan grupların su tüketimleri kontrol gruplarının yaklaşık 4 katına çıkmıştır. Kol ve TG değerleri DM gruplarında kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. LDL-C açısından anlamlı farka rastlanmamışken, HDL-C seviyesi DM grup ortalaması kontrol grubu ortalamasından anlamlı şekilde daha yüksektir. DM gruplarının HOMA-IR değerinin kontrol gruplarından anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir ve bu değer deney süresi uzadıkça artmıştır. Mikro-BT açısından Bone Volume/Tissue Volume (BV/TV), Trabecular Separation (Tb.Sp) ve Total Porosity (Po(tot)) değerleri D28 grubunda C28 grubuna oranla anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. İmmünohistokimyasal incelemelerde tüm proteinlerin ekspresyonları DM gruplarında daha düşük gözlenmiştir. Gruplar içinde de, sadece Del-1 ekspresyonunun C28'de C14'e göre anlamlı şekilde daha yüksek salgılandığının gözlenmesi haricinde, tüm proteinlerin ekspresyonları zamanla azalmıştır.

Sonuç olarak, diyabette görülen mikrovasküler hasarların yara iyileşmesini sekteye uğrattığı bilinmektedir. Anjiyogenez ve anti-enflamasyon ile ilişkili olan Del-1 proteini ise bu açıdan daha önce incelenmemiştir. Çalışma sonuçlarımızda Del-1 immünpozitifliğinin DM gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde az olması DM'ye bağlı yara iyileşme bozukluklarında Del-1 proteinini tıpkı kanser tedavilerinde

olduğu gibi hedef alınmaya aday kılmaktadır. Bununla birlikte, diyabette farklı yara modellerinde Del-1 proteininin incelendiği ve rekombinant olarak uygulanmasının sonuçlarının araştırıldığı kontrollü çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, deneysel; Diyabet komplikasyonları; Tip 2 diabetes mellitus; İnsülin direnci; OGTT; Diş çekimi; Yara iyileşmesi; X-ışınlı mikrobilgisayarlı tomografi; İmmünohistokimya; Gelişimsel endotelyal lokus-1; Del-1; İnterlökkin 17; IL-17; Osteoprotegerin; OPG; RANKL protein



ABSTRACT

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF THE TOOTH EXTRACTION SITES IN TERMS OF DEL-1 AND IL-17 PROTEINS AFTER EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES AND INVESTIGATION OF BONE HEALING BY MICRO-CT

Dt. Kübra GÜLER

Department of Periodontology

SİVAS, 2022

In terms of periodontal and implant surgery, it is important to have a good bone healing pattern after tooth extractions or augmentation procedures. Tooth extraction, one of the most routine procedures of dentistry, leaves behind a complex wound to heal. It is very important for this wound to heal well, especially for implant surgery. It has been shown in studies that there are some wound healing disorders in diabetes, but which mechanisms play a role is still a matter of curiosity and research. Developmentally regulated endothelial locus-1 (Del-1) is a glycoprotein released from endothelial cells during embryological vascular development. Interleukin 17 (IL-17), which has been shown to work contrary to Del-1, is a protein that is secreted especially in the acute phase of the inflammation and promotes it. Osteoprotegerin (OPG) and Receptor Activator of the Nuclear Factor Kappa Beta Ligand (RANKL) proteins are also cytokines that play a role in bone turnover. In our study, we wanted to examine the expressions of all these proteins in the tooth extraction wounds of the experimental Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) models and we aimed to investigate whether, particularly, the Del-1 protein could be a target candidate to promote wound healing in DM.

This study was carried out in a rat model. The animals, which were divided into two main groups as DM and control, were then divided into 3 subgroups among themselves. While the DM group was placed on a high-fat diet (HFD) for two weeks,

the control group was fed a normal diet (ND). At the end of two weeks, 35 mg/kg Streptozotocin (STZ) was administered to the DM group, and three days later, after testing for hyperglycemia and insulin resistance (IR) with OGTT, the lower right first molars of all groups were extracted. On days 7, 14, and 28, blood was drawn from the animals by cardiac puncture and they were euthanized. Triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), Del-1 immunopositivity, IL-17 immunopositivity, OPG immunopositivity, and RANKL immunopositivity levels were investigated. In addition to that, animals sacrificed on the 28th day were examined in terms of bone wound healing by Micro-Computed Tomography (Micro-CT).

A rapid weight gain was observed in the subgroups fed with HFD compared to the control group. Weight loss was experienced with STZ injection, after which weight regain was observed at a slower rate. The water consumption of the groups treated with STZ increased approximately 4 times that of the control groups. TC and TG values were statistically significantly higher in the DM groups than in the control groups. While no significant differences were found in terms of LDL-C and HDL-C levels of the subgroups, the control group's mean levels were significantly higher than the DM group. It was observed that the HOMA-IR value of the DM groups was significantly higher than that of the control groups, and this value increased as the duration of the experiment increased. Bone Volume/Tissue Volume (BV/TV), Trabecular Separation (Tb.Sp), and Total Porosity (Po(tot)) values in terms of Micro-CT were found to be significantly lower in the D28 group than in the C28 group. Expressions of all proteins were observed to be lower in DM groups in the immunohistochemical examinations. Within groups as well, expression of all proteins decreased over time, except that Del-1 expression was observed to be significantly higher in C28 than in C14.

It is known that microvascular damage seen in diabetes interferes with wound healing. Del-1 protein, which is associated with angiogenesis and anti-inflammation, has not been studied before in this respect. We concluded that the fact that Del-1 immunopositivity being significantly lower in the DM groups compared to the control groups in our study results makes Del-1 protein a candidate to be targeted in wound

healing disorders due to DM, just as it is in cancer treatments. However, controlled studies are needed to examine the Del-1 protein in different diabetic wound healing models and to investigate the results of its recombinant applications.

Key Words: Diabetes Mellitus, Experimental; Diabetes Complications; Type 2 Diabetes Mellitus; Insulin Resistance; OGTT; Tooth Extraction; Wound Healing; X-Ray Micro-Computed Tomography; Immunohistochemistry; Developmental endothelial locus-1; Del-1; Interleukin 17; IL-17; Osteoprotegerin; OPG; RANKL Protein



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER.....	xiii
RESİMLER	xv
TABLolar	xvi
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	2
2.1 Normal Periodonsiyum.....	2
2.1.1 Dişeti (Gingiva).....	2
2.1.2 Periodontal Ligament.....	3
2.1.3 Sement.....	4
2.1.4 Alveolar Kemik.....	4
2.2 Çekim Soketi İyileşmesi.....	9
2.2.1 Hemostaz ve Pıhtı Aşaması.....	11
2.2.2 Enflamatuvar Aşama.....	11
2.2.3 Proliferatif Aşama	11
2.2.4 Kemik Modelasyon/Remodelasyon Aşaması	12
2.3 Diabetes Mellitus.....	13
2.3.1 Hastalık Tanısı	13
2.3.2 Hastalık Sınıflaması	16
2.3.3 Hastalık Patofizyolojisi	19
2.3.4 Hastalık Komplikasyonları.....	21
2.4 Gelişimsel Endotelyal Lokus-1 (Del-1)	28
2.5 İnterlökin-17	29
3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	30

3.1	Grupların Oluşturulması ve Deneye Hazırlanması.....	30
3.2	Tip 2 Diyabet Oluşturulması	32
3.3	Cerrahi Yöntem	35
3.4	Deneyin Sonlandırılması	36
3.5	ELISA Yöntemi.....	36
3.6	İmmünohistokimyasal Yöntem	37
3.7	Mikro-Bilgisayarlı Tomografi Yöntemi	38
3.8	İstatistiksel Yöntem	40
4	BULGULAR.....	42
4.1	Deney Süresince Yapılan Ölçümlerin Sonuçları	42
4.2	Biyokimya ve ELISA Sonuçları	45
4.3	Mikro-BT Analiz Sonuçları.....	48
4.4	İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları	49
5	TARTIşMA	54
6	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
7	KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Del-1	:Gelişimsel Endotelyal Lokus-1
IL-17	:İnterlökin 17
Mikro-BT	:Mikro-Bilgisayarlı Tomografi
YYD	:Yüksek Yağlı Diyet
STZ	:Streptozotosin
ND	:Normal Diyet
DM	:Diyabetes Mellitus
IDF	:Uluslararası Diyabet Federasyonu
ADA	:Amerikan Diyabet Derneği
HbA1c	:Hemoglobin A1c
AKŞ	:Açlık Kan Şekeri
OGTT	:Oral Glikoz Tolerans Testi
IGT	:Bozulmuş Glikoz Toleransı
g	:Gram
BMU	:Basic Multicellular Unit
OPG	:Osteoprotegerin
RANKL	: Nükleer Faktör-Kappa B Reseptör Aktivatörü Ligandı
TNF	:Tümör Nekroz Faktör
PTH	:Parathormon

M-CSF	:Mekrofaj Koloni Stimülan Faktör
1,25(OH)₂D₃	:1,25 Hidroksi D Vitamini
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
T1DM	:Tip 1 Diyabetes Mellitus
T2DM	:Tip 2 Diyabetes Mellitus
β	:Beta
IR	:İnsülin Direnci
SAID	:Şiddetli Otoimmün Diyabet
SIDD	:Şiddetli İnsülin-yetersiz Diyabet
SIRD	:Şiddetli İnsülin-dirençli Diyabet
MOD	:Hafif-şiddette Obezite İlişkili Diyabet
MARD	:Orta-şiddette Yaş İlişkili Diyabet
IFG	:Bozulmuş Açlık Glikozu
KVH	:Kardiyovasküler Hastalık
ICA	:Adacık Sitoplazmik Antikoru
IAA	:İnsülin Antikorları
GADA	:Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikorları
IA-2	:Anti-tirozin Fosfataz Antikorları
IA-2β	:Anti-fogrin Antikorları
ZnT8A	:Çinko Transporter Antikorları

LADA	:Latent Otoimmün Diyabet
DKA	:Diyabetik Ketoasidoz
HLA	:İnsan Lökosit Antijeni
HOMA-IR	:Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance
VKİ	:Vücut Kitle İndeksi
DAG	:Diaçil Gliserol
PKC	:Protein Kinaz C
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
AGE	:İleri Glikasyon Son Ürünleri
IL-1	:İnterlökin 1
PMN	:Polimorfonükleer Nötrofil
ECM	:Ekstrasellüler Matriks
eNOS	:Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
NO	:Nitrik Oksit
GDH	:Glikoz Dehidrogenaz
VC	:Vasküler Kalsifikasyon

ŞEKİLLER

Şekil 1 Sağlıklı periodonsiyum.	2
Şekil 2 Osteoklast gelişiminde RANKL ve OPG'nin RANK üzerindeki etkileri.	7
Şekil 3 HbA1c, AKŞ (FPG) ve OGTT sonuç aralıkları.	14
Şekil 4 NHANES 2005-2006'ya göre hazırlanan diyagram.	15
Şekil 5 Glisemik bozukluklar: etiyolojik tipler ve klinik evreler.	17
Şekil 6 Diyabette yara iyileşmesini kümülatif olarak etkileyen olaylar.	25
Şekil 7 Yüksek glikoz değerleri ve insülin sisteminin çöküşünün damarsal hücrelerdeki olumsuz etkileri.	26
Şekil 8 Yara iyileşmesinin aşamaları, her aşamada yer alan temel hücreler ve özellikle vurgulanmış olaylar.	28
Şekil 9 Deneyin tasarımı.	31
Şekil 10 Research diet d12451 yem içeriği ve kilokalori karşılıkları.	33
Şekil 11 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki haftalık kilo ortalamalarının grafik ve tablosu.	42
Şekil 12 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki günlük enerji alımının (kkal) her hafta için olan ortalamasının grafik ve tablosu.	43
Şekil 13 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki günlük su tüketimlerinin (ml) her hafta için olan ortalamasının grafik ve tablosu.	43
Şekil 14 2 haftalık YYD sonrası deney ve kontrol gruplarının açlık glikoz ortalamaları.	44
Şekil 15 STZ uygulamasından 48 saat sonra deney grubundaki hayvanların glikoz değerlerinin grafik ve tablosu.	44
Şekil 16 STZ uygulamasından 3 gün sonra C7, D7, D14 ve D28 gruplarına yapılan OGTT'nin şeker yüklemesinden önce ve 60 dakika ile 120 dakika sonraki glikoz değerlerinin grafiği.	45
Şekil 17 Total kolesterol, HDL-C ve LDL-C açısından kontrol ve deney gruplarının karşılaştırılması.	46

Şekil 18 Kontrol ve deney gruplarının TG açısından karşılaştırılması.....	47
Şekil 19 Kontrol ve deney gruplarının HOMA-IR açısından karşılaştırılması.....	47
Şekil 20 C28 ve D28 gruplarının Mikro-BT sonuçlarının karşılaştırılması.	49
Şekil 21 Tüm çalışma gruplarının RANKL ve OPG ortalama değerlerinin oranları..	51



RESİMLER

Resim 1 Anestezi altına alınmış rat, ağız içi görüntüsü ve çekilmiş alt birinci molar dişi.....	35
Resim 2 İmmünohistokimyasal analizde kullanılan Zeiss Primo Star ışık mikroskobu.	38
Resim 3 Mikro-bilgisayarlı tomografi çekiminde kullanılan SkyScan 1272 Mikro-BT cihazı.	39
Resim 4 Analizi yapılacak olan diş çekim soketi bölgesi.....	40
Resim 5 D28 (sol) ve C28 (sağ) çekim soketi iyileşmesi, frontal kesit.....	48
Resim 7 Tüm gruplar için OPG antikor boyamasının ışık mikroskobu görüntüleri..	52
Resim 6 Tüm gruplar için RANKL antikor boyamasının ışık mikroskobu görüntüleri.	52
Resim 8 Tüm gruplar için IL-17 antikor boyamasının ışık mikroskobu görüntüleri.	53
Resim 9 Tüm gruplar için Del-1 antikor boyamasının ışık mikroskobu görüntüleri.	53

TABLÖLAR

Tablo 1 Normal yem içerik analizleri.....	33
Tablo 2 Tüm deney gruplarının OPG, RANKL, IL-17 ve DEL-1 açısından boyanma yoğunluğu ve boyanmış alan yüzdeleri üzerinden immünpozitiflik skorları.....	50
Tablo 3 Tüm deney gruplarının RANKL, OPG, IL-17 ve EDIL3 (DEL-1) açısından karşılaştırılması.	50



1 GİRİŞ

Periodontal cerrahi ve implant cerrahisi açısından kemiğin durumu ve diş çekimi sonrası ya da augmentasyon işlemlerinden sonra iyi bir kemik iyileşme paterni olması önemlidir. Diş hekimliğinin rutin işlemlerinden olan diş çekimi, ardında iyileşmesi kompleks bir yara bırakır. Bu yaranın iyi bir iyileşme göstermesi, özellikle implant cerrahisi için çok önemlidir. Diyabette yara iyileşmesinde birtakım bozukluklar olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (1). Diş çekim soketi iyileşmesinin de sekteye uğradığı aynı şekilde literatürde yer almaktadır (2–7).

Gelişimsel olarak düzenlenen endotelyal lokus-1 (Del-1), embriyolojik damarsal gelişim sırasında endotelyal hücrelerden salınan bir glikoproteindir ve EDIL3 olarak da bilinir (8). Başka bir takım hücrelerin yanında endotelyal hücrelerde de eksprese olan Del-1, anjiyogenez sürecinde kritik bir rol oynar ve yara iyileşmesinde de upregüle olur (9). Lokal endotelyal hücrelerden salınarak gingival ektravasküler alanlarda bulunduğu da raporlanmıştır (10). Del-1'in endotelyal hücre yapışmasını ve göçünü artırdığı ve anjiyojenik büyümeyi teşvik ettiği gösterilmiştir ve bu Del-1 aracılı olaylar reseptör antagonistleri ile ya da Del-1'in mutasyona uğratılmasıyla inhibe olur (11). Del-1 embriyonik damarsal gelişim sırasında salınıp, yaşlandıkça salınımı düşen bir protein olsa da, yetişkin farelerde, iskemi durumunda yoğun miktarda eksprese edildiği raporlanmıştır (12).

Diyabette iyileşmedeki bozukluklar gösterilmiş olmasına rağmen, DM'nin yara iyileşmesini ne gibi mekanizmalarla etkilediği günümüzde de araştırma ve merak konusudur. Diyabetin çeşitli yollarla vasıtasıyla vücutta yol açtığı farklı komplikasyon tabloları, olayların anlaşılmasını ve aralarında ilişki kurulmasını güçleştirmektedir. Biz de bu çalışmamızda diş çekimi yapılan diyabetli ratlarda diş çekim soketlerindeki iyileşmeyi Del-1 proteini açısından inceleyip, bu karışık iyileşme bozukluğu paternine bir nebze daha ışık tutabilmeyi ve DM'de kompleks yara iyileşme modelinde Del-1'in potansiyel bir hedef olup olamayacağını değerlendirmeyi amaçladık.

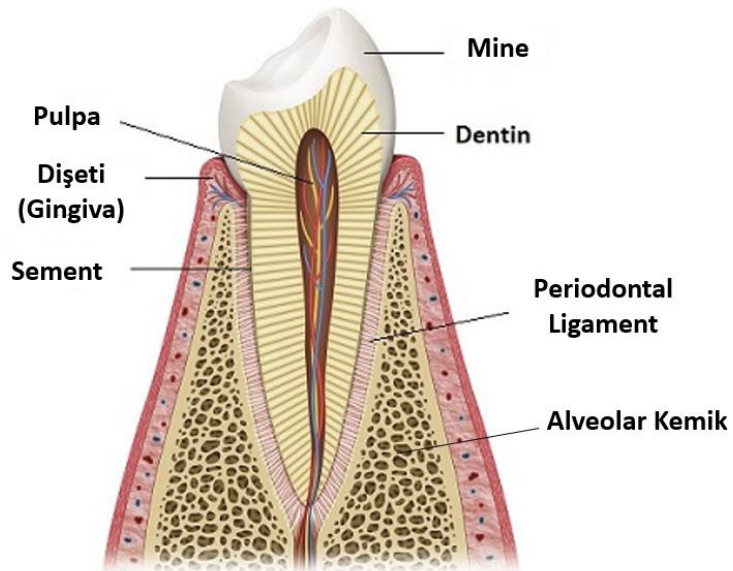
2 GENEL BİLGİLER

2.1 Normal Periodonsiyum

Normal bir periodonsiyum dişlerin fonksiyonda kalabilmesi için gereken desteği sağlar. Şekil 1’de geçen dört yapıdan oluşur: dişeti, periodontal ligament, sement ve alveolar kemik. Bu yapıların dördü de konumu, doku yapısı ve biyokimyasal bileşimi itibarıyla birbirinden farklılık gösterir; fakat birlikte, tek bir ünite olarak hareket eder. Araştırmalar, bu ünitenin herhangi bir bileşeninin hücre dışı salgılarıyla diğer bileşenlerin hücresel aktivitesini etkilediğini göstermektedir. Bu nedenle, bir bileşende patolojik değişiklikler olması, periodonsiyumun diğer bileşenlerinin devamlılığı, tamiri ya da rejenerasyonu için önemli sonuçlar doğurabilir (13).

2.1.1 Dişeti (Gingiva)

Sağlıklı dişetin rengi “somon” ya da “gül kurusu” olarak tanımlanır. Bireyin etnik kökenine göre melanin pigmentasyonu görülebilir. Dişeti yapı olarak sıkıdır ve alttaki alveolar kemiğe sıkıca yapışıktır. Dişetin yüzeyi keratinizedir ve ‘stippling’ diye tanımlanan portakal kabuğu dokusu gösterebilir. İnsizyoapikal genişliği kişiden kişiye ve tek bireyde de ağız içindeki konumlara göre 1 mm’den 10 mm’ye kadar farklılık gösterir (14).



Şekil 1 Sağlıklı periodonsiyum.

Bir yetişkinde normal dişeti, alveolar kemik ve diş köklerini, mine-sement birleşiminin hemen üstünde sonlanacak şekilde korur. Anatomik olarak marjinal, yapışık ve interdental dişeti kısımlarına ayrılır. Bu kısımların her biri fonksiyonel beklentileri karşılayacak şekilde farklılaşmış olsa da ve histolojileri ve kalınlıkları anlamında belirgin farklılıklar gösterebilir de, temel olarak mekanik ve mikrobiyal hasarlara karşı koyabilecek şekilde yapılaşmışlardır (15). Marjinal ya da diğer adıyla yapışık olmayan dişeti, dişetin dişleri çevreleyen en üst noktasıdır. Yaklaşık olarak 1 mm genişliğindedir ve gingival sulkusun yumuşak doku duvarını oluşturmaktadır. Periodontal sondun gingival sulkusa girmesiyle marjinal dişeti diş yüzeyinden ayrılabilir (16).

Dişetin görevi, korumaktır. Gingival dokular, özel bir şekilde tasarlanmışlardır; çünkü dışarıya karşı vücudu savunacak yapıda olmaları gerekir. Vücudun hem dışarıdan hem de içeriden korunmasını sağlayan ve birbiriyle devamlılık gösteren yüzey kaplaması şeklindeki yapılar; cilt, nazofaringeal ve gastrointestinal mukozalardır. Dişlerin sürmesiyle birlikte bu mukozal yüzey kaplamasının devamlılığı bozulur ve koruma kalitesinden ödün verilir ve dişlerin kaplamayı perforasyon ettiği yerlerde, oral mukozanın devamlılığını sağlayacak olan tek şey dişin çekilmesidir. Yine de bu kaplamada oluşabilecek kayıpların tamiri, yara iyileşmesi, kapatılması için gelişmiş bir sistem mevcuttur. Çiğneme ile oluşan sürtünme kuvvetlerine dayanabilmesi ve dişler ve yumuşak dokular arasındaki muhtemel boşluklardan yabancı cisimlerin (mikroorganizmalar gibi) girişinin engellenmesi için dişleri çevreleyen dokular, dişler etrafında bariyer görevi görecek şekilde tasarlanmıştır (17). Dişeti her dişin boyun kısmında biter, onu çevreleyen sarı ve birleşim epiteli (BE) adındaki özelleşmiş bir epitel ile dişe bağlanır. Bu epitel bağlantısı ağız boşluğunu kaplayan epitelin diş yüzeyine kadar devam etmesini sağlamaktadır (14). BE, yapısal bariyer görevi görmesi yanında, komşu dokulardan köken alan antimikrobiyal peptitler ve nötrofillerin genişletilmiş hücrelerarası boşluklardan gingival sulkusa geçişini sağlar (18).

2.1.2 Periodontal Ligament

Periodontal ligament, dişin sementinden çıkıp onu sararak, onu alveolar kemiğin iç duvarına bağlayan, çok damarlı ve çok hücreli karışık bir bağ dokusudur (19).

Periodontal ligament dişetinın bağ dokusu ile devamlılık gösterir ve beş temel görevi vardır: Dişlere destek olur, strese karşı dişı korur, besler, farklılaşmamış hücreler ihtiva eder ve proprioseptif duyuları algılar (20).

Periodontal ligamentin ortalama genişliği 0.2 mm olarak kaydedilmiş olsa da değişiklikler gösterebilmektedir. Fonksiyonda olmayan dişlerde ve sürmemiş olan dişlerde periodontal aralık daralırken, hiperfonksiyondaki dişlerde bu aralık genişler (21).

2.1.3 Sement

İnsanlarda, diş kökleri sement ile kaplıdır. Sement matriksinde bulunan sementosit varlığına ya da yokluğuna göre sellüler ve asellüler sement olarak ikiye ayrılır (22).

Sement yapımını sağlayan sementoblastlar periodontal ligamentte bulunur ve sadece yaşlanma gibi fiziksel durumlarda değil; kronik enflamasyon, okluzal travma, sistemik ve genetik hastalıklar gibi patolojik durumlarda da sement oluşumunun devam etmesi sementi, dinamik ve aktif bir sert doku yapar (23,24).

2.1.4 Alveolar Kemik

Kemik; hareket, yumuşak organları koruma, enerji ve fosfat metabolizmasını düzenleme ve kalsiyum ve fosfat rezervuarı olma gibi fizyolojik fonksiyonlarda görev almasıyla oldukça farklı bir organdır. Mineralize olmasına rağmen çok aktif ve dinamiktir ve bu özelliği kemik remodelasyonu olarak adlandırılır. Kemik remodelasyonu sırasında kemik yapıcı osteoblastların yaptığı kemiğin kemik yıkıcı osteoklastların yıktığı kemikten daha fazla olması gerekir (25). Bu remodelasyonda osteositlerin mekanosensör olduğu ve bu fonksiyonu yönettikleriyle ilgili deliller mevcuttur (26).

Kemik; tip 1 kollajenden oluşan, hidroksiapatit kristallerinin çökmesiyle mineralize olan, hemotopöetik sistemden edinilen osteoklastların demineralizasyonu rezorbe olması ve osteoblastların kemik üretip mineralize etmesinin dengeli çalışması ile sürekli hareket halinde olan bir dokudur (27).

Alveolar kemik; maksilla ve mandibulanın diş soketlerini oluşturan ve destekleyen kısmının adıdır. Alveolar proses olarak da anılan bu çıkıntılar, dişlerin gelişimi ve sürmesiyle orantılı olarak gelişir. Diş soketinin iç duvar kısmı demet kemik, kalan kısım alveolar kemik olarak adlandırılır. Demet kemik, genişliği 0.2-0.5 mm genişliğinde lamellar kemiktir, sert ve kalın kortikal tabakadan oluşur. Bu kemikte yer alan Sharpey lifleri, periodontal ligamenti alveolar kemik ve iskelete bağlar. Kök sementi ve periodontal ligament ile birlikte alveolar kemik; çiğneme ve diğer diş temaslarıyla oluşan kuvvetleri emmek ve dağıtmak görevini yerine getiren dişin bağlantı aparatını oluşturur (28–30).

Diğer kemiklerdekine benzer şekilde alveolar kemiğin de dış tabakasında kompakt/kortikal kemik, iç tabakasında ise trabeküler (kansellöz) kemik vardır. Trabeküler kemiğin içinde intertrabeküler alanlarda kemik iliği ve yağın bulunduğu, birbirine tabakalarla bağlı boşluklar vardır. Trabeküllerin boyut ve mimarisi genetikten etkilendiği gibi fonksiyonel yüklemelerden de etkilenir. Kemiğin dış tabakası periosteum ile kaplıyken, iç boşluklarını endosteum döşemektedir (31).

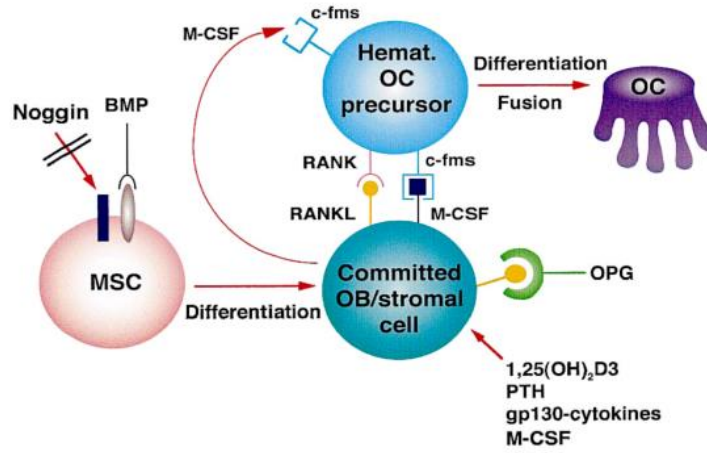
Kansellöz kemik alveolar duvar ve kortikal tabakalar arasını doldurmaktadır. Bazı bölgelerde kansellöz kemik çok az iken, bazı bölgelerde ise hiç yoktur. Alveolar duvar ve kortikal tabakalar alveolar kemik kretinde birleşirler. Bukkal ve oral tabakalar kompakt kortikal kemikten oluşan interdental ve interradyküler septalar ile birbirine birleşir. İnterdental septa kompakt kortikal kemik ile kaplıdır (32).

Alveolar kemik, dişin korona-apikal doğrultusuna paralel uzanan katmanların yaptığı demet kemikten oluşur. Sharpey lifleri, soket duvarını kaplayan kemiğin ince lamellasından oblik şekilde uzanır ve periodontal ligament fibrilleriyle devamlılık gösterir. Kortikal tabakadan oluşan daha kalın dış tabaka çene kemiğinden çıkar ve çoğunluğu süngerimsi kansellöz kemikten oluşan lingual ve bukkal alveolar çıkıntıları oluşturur. Kortikal kemikteki daha küçük endosteal boşluklara oranla, kansellöz bölgelerin içinde sayısız boşluk alanları vardır. Endosteal boşlukların bazıları periodontal ligamente uzanıp bununla devamlılık gösterir (32). Kalın demet kemik içinde, trabeküler kemik ile periodontal ligament arasında geçiş yapan birçok vasküler kanal bulunur. Bu vasküler kanallar, yara iyileşmesi sırasında ve normal doku homeostazında mezenkimal progenitör hücrelerin periodontal ligamente geçişini sağlamaktadır (29).

Diğer kemiklerde olduğu gibi alveolar kemikte de fizyolojik devinim (turnover) sürekli olmaktadır. Özellikle diş hareketi ya da diğer dış kaynaklı stimuluslar bu devinimi hızlandırmaktadır. Bu hızlı değişim kapasitesi dişleri pozisyonlamada önemli bir özellik olabilirken, periodontal hastalık ilerleme süreci için olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. Aynı zamanda alveolar kemiğin varlığı ve devamı dişlere bağlıdır, dişin çekilmesi durumunda alveolar kemik yavaşça rezorbe olur (29,33).

Kemik; osteoblast, osteoprogenitör hücreler, osteosit ve osteoklastlardan oluşur. Bu hücrelerin koordineli çalışmasıyla basic multicellular unit'ler (BMU) oluşur. Bunlar geçici ve çok hücreli anatomik birimlerdir (26).

Osteoblast ve osteoklastlar normal kemik remodelasyonunda ve iskelet homeostazında eşit, fakat zıt görevler görürler; ancak metabolik hastalıklar gibi durumlarda osteoblast/osteoklast oranı değişir ve etkilenen alanda baskın olarak kemik rezorbsiyonu ya da depozisyonu tablosu oluşur (34). Her iki hücrenin differansiyasyonu ve hücresel aktivitesi osteoprotegerin (OPG) ve nükleer faktör-kappa b reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) gibi bir takım moleküllerce düzenlenir (35). OPG; TNF reseptör süperailisinin üyesi olan çözünebilir bir glikoproteindir ve başlıca osteoblastlardan salınarak RANKL'ın, reseptörü olan RANK'a bağlanmasını önleyip osteoklastogenezi engeller. Diğer taraftan osteoblastlar tarafından eksprese edilen 316 aminoasitli transmembran bir protein olan RANKL ise, osteoklast prekürsörlerince eksprese edilen bir membran reseptörü olan RANK'a bağlanan ve osteoklastogenezi uyaran bir osteoklast differansiyasyon faktörüdür (Şekil 2) (35–37).



Şekil 2 Osteoklast gelişiminde RANKL ve OPG'nin RANK üzerindeki etkileri. Stromal

hücrelerin ve osteoblastların progenitörleri mezenkimal kök hücrelerdir (MSC). Kemik morfojenik proteinlerine (BMP'ler) maruz kaldıktan sonra, bir MSC bir osteoblast veya bir stromal hücreye farklılaşır. Bununla birlikte, Noggin gibi belirli antagonistik proteinlere maruz kalma, farklılaşma sürecini engeller. Dönüşmüş stromal hücreler ve osteoblastlar, hücre yüzeylerinde RANKL eksprese eder. RANKL; 1,25(OH)₂D₃ (D vitamini), PTH (Parathormon), M-CSF (Makrofaj koloni stimulan faktör) ve gp130-reseptör sitokinleri (IL-6 ve Oncostatin M gibi) dahil olmak üzere çeşitli moleküller tarafından regüle edilir. RANKL, hematopoetik osteoklastik öncül hücrelerde eksprese edilen reseptörü RANK ile etkileşime girer. RANKL ve reseptörü RANK arasındaki etkileşim, bu hücrelerin olgun kemik rezorbsiyonu yapan osteoklastlara terminal farklılaşmasını indükler ve böylece kemik rezorbsiyonunu başlatır. Tersine, tuzak reseptör olarak da bilinen OPG, RANKL'a bağlanarak RANKL-RANK etkileşimini inhibe eder. OPG-RANKL bağlanması osteoklastogenezi sona erdirir ve kemik depozisyonunu destekler. M-CSF, osteoklast farklılaşmasında hayati bir rol oynar, ancak RANKL olmadan olgun osteoklastları tam olarak aktive edemez. Stromal hücreler veya osteoblastlar tarafından salgılanan çözünür M-CSF, osteoklastogenezi desteklemek ve arttırmak için reseptörü c-fms ile etkileşime girer. Ek olarak, stromal hücreler ve osteoblastlar ayrıca hücre yüzeylerinde M-CSF eksprese eder. M-CSF'nin bu formunun osteoklast oluşumunda aktif olup olmadığı henüz belirlenmemiştir (34).

OPG/RANKL düzenleyici sistemi, bir takım spesifik gen ekspresyonları ile kontrol edilir ve bu düzenleme, kemik yapı ve fonksiyonunu korumanın yanı sıra vücudun kemikte depolanmış olan iyonlara ihtiyaç duyması halinde bunların kullanılmasını sağlar. Azalmış bir OPG/RANKL oranı osteoklast formasyon ve aktivasyonunu destekler ve kemik rezorbsiyonu olur. Bunun zıttı olarak artmış bir

OPG/RANKL oranı da osteoklastik aktiviteyi azaltarak kemik depozisyonu ile sonuçlanır (38).

Osteoblastlar

Osteoblastlar, kübik ya da hafif uzamış şekilli olup, yüzde olarak kemik duvarında en çok bulunan ve temel olarak kemiğin organik matriksinin yapımından sorumlu kemikteki en aktif hücrelerdir (33). Osteoblastlar, kemik iliğinde yer alan ve osteoblast, adiposit ya da kondrosit gibi hücelere dönüşebilen multipotent hücreler olan mezenkimal kök hücrelerden köken alırlar. Osteoblastlar kemik yapımındaki görevlerini bitirdiklerinde programlanmış hücre ölümüne, yani apoptoza, uğrayabilirler, aktif olmayan kemik astar hücrelerine dönüşebilirler ya da kemiğin içinde gömülü olan osteositler olurlar (25,39).

Osteoprogenitör Hücreler

Osteojenik hücreler olarak da bilinen osteoprogenitör hücreler, kemik dış yüzeyini saran periostun hücreden zengin iç tabakasında ve kemik iliğinde bulunan ve kemik tamiri ve kemik büyümesinde etkin rol oynayan kök hücrelerdir (40). Osteoprogenitör potansiyeli olan hücreler prenatal ve postnatal dönemlerde periodontal dokularda bulunmaktadır ve bu hücreler osteoblast ya da osteosite dönüşme potansiyeline sahiptir (41).

Osteoprogenitör özellik gösteren hücrelerden biri de kemik astar hücreleridir. Kemik rezorbsiyon ya da formasyonunun olmadığı kemik yüzeylerini kaplayan basık şekilli osteoblastlar olan kemik astar hücrelerinin kemik iliğindeki mezenkimal kök hücreler gibi, hatta daha etkin şekilde, modeling/remodeling sırasında ve anabolik uyarılar sonrasında osteoblast öncülü olabildikleri gösterilmiştir (42). Bazıları kanalikulilerin içine uzantılar verir ve aynı zamanda komşu kemik astar hücreleriyle ya da osteositler ile gap junctionlar oluşturdukları da gözlenmiştir (26). Bu hücrelerin fonksiyonları, konumları itibarıyla ulaşılabilirliği çok mümkün olmayıp üzerlerinde ayrıntılı çalışma yapılamadığından, tam olarak anlaşılamamış olsa da, kemik rezorbsiyonu olmaması gereken zamanlarda osteoklastlar ile kemik arasında bariyer görevi gördükleri ve ayrıca çeşitli medyatörler salarak osteoklast differansiasyonunda rol aldıkları önceki çalışmalarla gösterilmiştir (26).

Osteositler

Kemik hücrelerinin %90-95'ini oluşturan osteositler, 25 yıla kadar yaşayabilen uzun ömürlü hücrelerdir (43). Fonksiyonlarından ziyade morfoloji ve kemikte bulundukları yere göre tanımlanagelmışlerdir (39).

Osteositler mineralize kemik matriksiyle çevrili olan lakünaların içinde bulunurlar ve dentritik uzantılar gösterirler. Bu sitoplazmik uzantılar sayesinde birbirleriyle ve kemik yüzeyindeki diğer hücrelerle iletişimde bulunurlar. Trabeküler kemikte daha yuvarlak, kortikal kemikte ise daha uzamış bir morfoloji gösterirler (26,39).

Osteositler, kemik matriksinden çok iyi izole edilemediklerinden, yıllarca, fonksiyonsuz pasif hücreler olarak düşünülmüşken; günümüze uzanan araştırmalarla artık kemik remodelasyon sürecinin başmühendisi olarak görülmektedirler. Kemiğe gelen mekanik uyarılar osteositlerce algılanır ve osteositler, kemik yüzeyindeki hücrelere birtakım özel uyarılar gönderirler. Bu uyarılara karşılık kemik yapımı ya da rezorbsiyonu olur (39).

Osteoklastlar

Osteoklastlar, monosit/makrofaj ailesi hücrelerinden birtakım faktörlerin etkisiyle farklılaşan ve kemik rezorbsiyonu yapan çok çekirdekli hücrelerdir (27). Osteoklastojenik potansiyelin kemik alanına göre değiştiği rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada uzun kemik iliğinde, çene kemiklerine göre, osteoklast dönüşümünün daha hızlı olduğu gösterilmiştir (44).

Osteoklastların mineralize kemik matriksine temas etmesi halinde kemik rezorbsiyonu başlar (45).

2.2 Çekim Soketi İyileşmesi

Cildin, mukozal yüzeylerin ya da bir organ dokusunun bütünlüğünün bozulması, yara oluşmasına sebep olur. Bir dokuya zarar geldiğinde hücre göçü, hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks (ECM) depozisyonu için çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler yolaklar aktive olarak doku bütünlüğünü tekrar sağlamaya çalışırlar (46). Diş çekimi çok rutin bir dental işlemdir ve çekim sonrasında, periodonsiyumun

bir parçası olan alveolar kemik birçok mikroorganizmanın yaşadığı ve tükürük ile kaplı ağız ortamıyla temas halinde bırakılır ve tamir sürecinin başlamasıyla kemik ve yumuşak doku değişiklikleri oluşur (47). İyi estetik ve fonksiyon sonuçları konusunda artan talepler, implant temelli başarılı ve uzun süreli iyileştirmeler sağlamak için, hem yumuşak hem de sert dokuda yeterli doku hacminin korunup devam ettirilebilmesini gerekli kılmaktadır ve bu durum çekim soketi iyileşmesine verilen önemi artırmaktadır (48).

Diş çekiminden sonra alveolar sınırlarda boyut değişikliklerinin olduğu çeşitli klinik, alçı model ya da radyografik incelemelerde rapor edilmiştir. Tek diş çekimi sonrası alveolar vertikal boyutta sınırlı azalma gözlenirken, horizontal boyuttaki azalma oldukça fazladır (30).

Bir dişin çekimi, sert (alveolar kemik) ve yumuşak dokuları (periodontal ligament, gingiva) ilgilendiren bir iyileşme serisini başlatır (49). Diş çekimi sonrası soket iyileşmesi çeşitli çalışmalar ile incelenmiştir ve bu çalışmalar aşamalı şekilde hücresel ve dokusal değişiklikler olduğunu göstermiştir (50).

Mevcut literatüre göre iyileşme sırasındaki dokular şu şekildedir (49):

1. Fibrin ağına gömülmüş eritrosit ve lökositlerden oluşan kan pıhtısı
2. Yeni oluşmuş vasküler yapılar, enflamatuar hücreler ve eritrositlerden zengin granülasyon dokusu
3. Sıkı dizilmiş mezenkimal hücreler, kollajen lifler ve damarlar, dağılmış şekilde az ya da hiç enflamatuar hücreler
4. Parmak benzeri çıkıntılardan oluşan olgunlaşmamış örgü kemik
5. Damar, adiposit, mezenkimal hücreler ve enflamatuar hücrelerden zengin ilik boşluklarıyla çevrelenmiş osteonların bulunduğu olgun, mineralize kemik lamellerinden oluşan lamellar kemik

Ratlardaki çekim soketi ile ilgili çalışmalarda radyografide, diş çekiminden beş gün sonra radyodensitede artış gözlenirken, sekizinci günde soketin apikalinde yeni kemik oluşumu tespit edilmiştir. On üçüncü günde soket tamamen radyopak olarak görülmekte, lamina dura neredeyse ayırt edilememekte ve yirminci günden itibaren soket tamamen komşu kemikle benzer radyopakiteye sahip şekildedir (51). İnsan

alışmalarında ise çekim soketinin apikal ve lateral duvarlarında yedinci günde kalsifiye olmamış kemik çıkıntıları, osteojenik fiberler ve osteoblastlar gözlenmektedir. Bunlar izole alanlar ya da eski kemiğe yapışık olarak görülebilir. Çekimden yirmi gün sonra perifer ve tabanda olmak üzere trabekül oluşumu ve mineralizasyon gözlenmektedir ve otuz sekizinci günde soketin üçte ikisi kemik ile dolmuştur (52).

ekim soketi iyileşmesinin incelendiği çalışmalarda hayvanlarda iyileşme daha hızlı olsa da iyileşme aşamaları çok benzerdir: hemostaz ve pıhtı aşaması, enflamatuvar aşama, proliferatif aşama ve modelasyon/remodelasyon aşamasıdır (30).

2.2.1 Hemostaz ve Pıhtı Aşaması

Diş çekiminden hemen sonra soket kopan damarlar sebebiyle kan ile dolar ve ardından fibrin ağına gömülü kan pıhtısının oluşması damarları tıkar ve kanama durur (48). Bu pıhtının iki amacı vardır; kan kaybını önlemek ve iyileşme sürecinde görev alacak hücrelerin tutunabileceği bir yapı sağlamak (53).

2.2.2 Enflamatuvar Aşama

Periferden başlayarak 2-3 gün içerisinde çok sayıda enflamatuvar hücre bölgeye gelerek bölgeyi temizleyip bölgeyi yeni doku oluşumuna hazırlar. Eritrositler, enflamatuvar hücreler, yeni vasküler oluşumlar ve olgunlaşmamış fibroblastlar granülasyon dokusunu teşkil eder. Bölge temizlendike granülasyon dokusu; kollajen liflerden ve hücrelerden zengin, zamanla yerini kemik dokusuna bırakacak olan geçici bağ dokusu matriksine dönüşür ve yara iyileşme sürecinin proliferatif aşaması başlar (30,52,54).

2.2.3 Proliferatif Aşama

ekim soketinin koronal kısmı, bir kısmı epitel hücreleri ile kaplı, iyi organize olmuş fibröz bağ dokusu ile örtülmüştür (49). İnsan ekim soketi iyileşmesini inceleyen bir çalışmada geç bağ doku hücreleri, çekimden sonraki dördüncü günde periferde görülmeye başlamıştır ve hızla çoğalarak on ikinci günde tüm granülasyon dokusunun yerini almıştır (52).

Proliferatif aşamada, geçici matriksi mekik şeklindeki kemik yapıcı hücreler, kollajen lifler ve damarlar işgal etmiştir ve yedinci günden itibaren kan damarlarının çevresinde parmak benzeri kalsifiye olmamış örgü kemik çıkıntıları görülmektedir (30,52). Sonunda bu çıkıntılar bir damarı tamamen kaplar ve primer osteon oluşmuş olur. Bu primer osteonlarda paralel fiberli kemik gözlenebilir. Soket duvarlarından çekim boşluğunun ortasına doğru uzanan, hücreden zengin ve yeni oluşan kan damalarına komşu olan örgü kemik, dış çekiminden sonra en erken ikinci haftada gözlenebilir ve birkaç hafta sokette kalır. Bu kemik yük taşıma kapasitesi olmayan, olgun kemik ile yer değiştirmesi gereken geçici bir kemiktir (30,54). Köpeklerde yapılan bir çalışmada, çekim sonrası 2-3. aylarda soket marjinalinde yapılan örgü kemiğin marjinal mukozayı çekim soketinden ayıran bir sert doku köprüsü görevi gösterdiği vurgulanmıştır (54).

Çekimden yirmi gün sonra perifer ve tabanda olmak üzere trabekül oluşumu ve mineralizasyon gözlenmektedir ve otuz sekizinci günde soketin üçte ikisi kemik ile dolmuştur (52).

2.2.4 Kemik Modelasyon/Remodelasyon Aşaması

Kemik modelasyonu, soket duvarlarında rezorbsiyon olması sonucu alveolar kretin boyutlarının değişmesi gibi kemiğin yapı ve şeklindeki değişiklikler olarak tanımlanırken; kemik remodelasyonu, örgü kemiğin yerine lamellar kemik ya da kemik iliğinin geçmesi gibi şekil ve yapıda eşzamanlı değişikliklerin olmadığı değişikliklerdir (30).

Çekim soketi duvarlarındaki lamellar kemik yüzeyinde bulunan osteoklastların yeni üretilen örgü kemik trabeküllerini de rezorbe etmeye başlaması remodelasyonun başladığını gösterir. Sert doku köprüsünün apikalinde oluşan örgü kemik lamellar kemik ve kemik iliği ile yer değiştirirken, marjinal kısımlardaki sert doku köprüsü, üzerine lamellar kemik katmanları serilerek güçlenip ‘kortikal’leşir (49,54).

Dış çekiminden sonra bukkal duvardaki rezorbsiyonun lingual/palatinal duvara göre daha çok olduğu rutinde kabul edilmiş bir bilgidir ve soket sınırlarındaki değişiklikler çekim yarasının iyileşmesiyle beraber ilerlemekle kalmayıp, remodelasyon kemik formasyonu bittikten sonra da devam etmektedir (55).

2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), sorunlu insülin üretimiyle, sorunlu insülin davranışıyla ya da her ikisiyle de ilişkili olan hiperglisemi ve glikoz intoleransı ile karakterize bir grup metabolik hastalıklardan oluşan bir sendromdur (56). Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) sağladığı bilgilere göre 2022 yılı itibariyle dünyada 537 milyon, Türkiye'de de 9.02 milyon diyabet hastası vardır, bu da Türk yetişkin nüfusunun %15.9'unu oluşturmaktadır (57). 2019 yılında 1.5 milyon kişinin ölümüne sebep olmasıyla diyabet dünyadaki ölüm sebeplerinde dokuzuncu sırada yer almıştır (58). DM'nin ülkelerin, özellikle de düşük ve orta gelirli ülkelerin sağlık sistemlerine olan yükü taşınamaz boyutlara ulaşmıştır ve hastaların hayat kalitelerinden ödün vermeyerek vaka sayılarındaki hızlı artışı tersine çevirmek ve diyabet komplikasyonlarının oluşumunu ve ilerleyişini önlemek ortak amaç olmalıdır.

2.3.1 Hastalık Tanısı

Amerikan Diyabet Derneği'ne (ADA) göre DM'nin tanısında kullanılan 4 yöntem vardır (59):

Hemoglobin A1c (HbA1c)

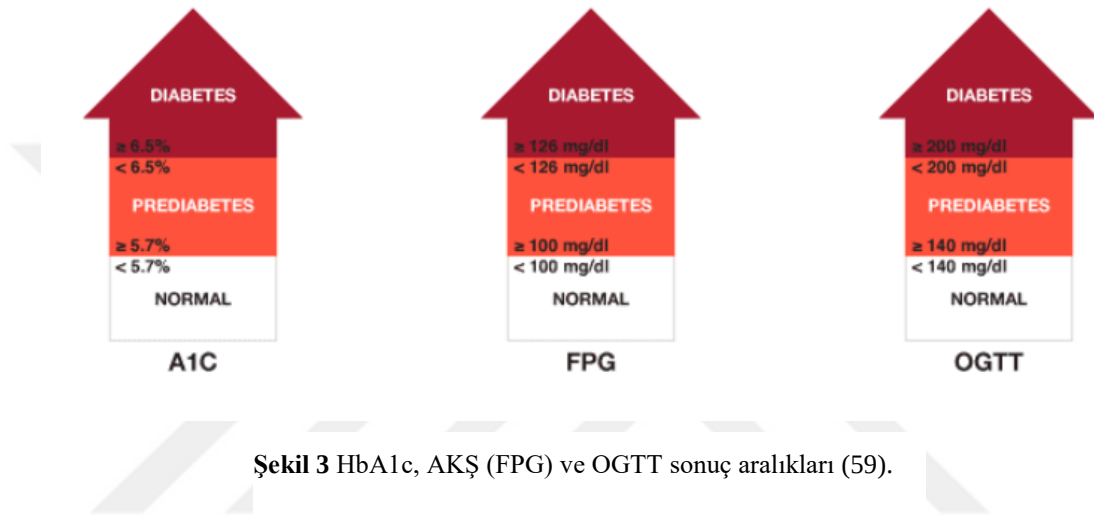
HbA1c; plazma glikoz seviyesiyle ilişkili şekilde eritrosit hemoglobininin geri-dönüşümsüz glikozilasyonu ile oluşan bir hemoglobin varyantıdır ve geçmiş 2 ila 3 aylık glikoz konsantrasyonları hakkında bir ölçüm sağlar (60). HbA1c ilk olarak 1968 yılında Rahbar tarafından tanımlanıp diyabet ile ilişkilendirilmiştir ve ölçüm yöntemlerinin geliştirilip hızlandırılmasıyla birlikte diyabet takibinde merkezi bir rol almaya başlamıştır (56). HbA1c değerinin ≥ 6.5 olması ADA tarafından 2010 yılında DM teşhisinde bir tanı kriteri olarak kabul edilmiştir ve DM'nin kontrolde olduğunu gösteren sınır %7 olarak kabul edilmiştir. %5.7-6.4 DM gelişmesi için yüksek risk aralığıdır (Şekil 3) (61).

Açlık kan şekeri (AKŞ)

Bu yöntemde testten en az 8 saat önce su hariç yeme-içmeye ara verilir. Plazma glikozunun 100 mg/dl altında çıkması normal durumu, 100 mg/dl ile 125 mg/dl

arasında olması prediyabeti ve 126 mg/dl ve üzerinde oluşu da DM'yi gösterir (Şekil 3) (59).

AKŞ, OGTT ile kıyaslandığında vakaların %25'in gözden kaçmasına sebep olabilmekle birlikte hastalar tarafından daha fazla kabul gören bir yöntemdir ve popüler oluşu sebebiyle zamansal ve mekânsal karşılaştırmalar gibi geniş alanda kullanım bulur (62).



Şekil 3 HbA1c, AKŞ (FPG) ve OGTT sonuç aralıkları (59).

Oral glikoz tolerans testi (OGTT)

Bu yöntemde hastaya testten önce en az 150 gram (g) karbonhidrat alacak şekilde 3 gün boyunca normal diyet ile beslenmesi söylenir. Gece boyu açlık üzerine hastadan kan alınır ya da damar yolu açılarak açlık glikozu ölçülür. 75 ya da 100g (1.75 g/kg) oral yoldan glikoz preperasyonu alınır ve 120 dakika sonra plazma glikozu ölçülür. Test süresince hastanın inaktif kalması istenir ve test sonuçlarını etkileyebileceğinden dolayı aşırı su tüketmemesi söylenir. Sonuçlar (Şekil 3) şu şekilde yorumlanır (63):

Normal sonuçlar:

Açlık kan şekeri seviyesi 60-100 mg/dl

60 dakika sonra <200 mg/dl

120 dakika sonra <140 mg/dl

Bozulmuş glikoz toleransı (IGT) sonuçları:

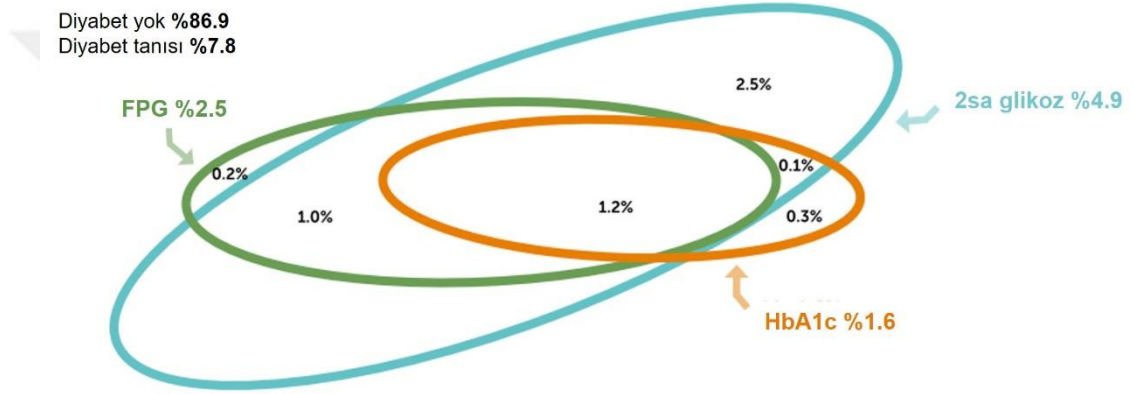
Açlık kan şekeri seviyesi 100-125 mg/dl

120 dakika sonra 140-200 mg/dl

Anormal (Tanı koyduran) sonuçlar:

Açlık kan şekeri seviyesi >126 mg/dl

120 dakika sonra >200 mg/dl



Şekil 4 NHANES 2005-2006'ya göre hazırlanan diyagram. Tanı kriterleri: AKŞ $\geq$ 126 mg/dl, 2sa-glikoz (OGTT) $\geq$ 200 mg/dl, HbA1c $\geq$ 6.5 (62).

Şekil 4'te de görüldüğü üzere diyabet teşhisinde kullanılan testler tam olarak çakışmamaktadır ve OGTT yöntemi FPG ve HbA1c ile kıyaslandığında daha fazla DM teşhisi konulmasını sağlamaktadır. Aynı şekilde bu yöntem IGT tanısını koyabilen tek yöntemdir (62).

Rastgele kan glikozu (RPG)

Bu yöntemde, kişinin aç olmadığı herhangi bir zamanda kanda glikoz seviyesine bakılır ve DM semptomları görülmesinin yanı sıra glikoz seviyesinin de $\geq$ 200 mg/dl çıkması DM'yi gösterir (59).

2.3.2 Hastalık Sınıflaması

1999 yılı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) DM sınıflaması (64) hastalıktan bağımsız şekilde çeşitli derecelerdeki hiperglisemik durumları içerir. Glisemik evreler normoglisemiden (normal glikoz seviyesi) hiperglisemiye (normalin üzerinde glikoz seviyesi) kadar çeşitlilik gösterebilir ve glisemi evresi altta yatan hastalık ilerleme sürecinin ilerleyişine göre zamanla değişebilir. Sınıflama, tedaviye karar verme sürecinde büyük bir öneme sahiptir, fakat bazı hastalara net şekilde hastalık tipi teşhisi konamaz; çünkü eskiden düşünüldüğü gibi Tip 1 DM (T1DM) çocuklarda, Tip 2 DM (T2DM) yetişkinlerde görülür gibi bir ayrımın olmadığı anlaşılmıştır ve Şekil 5'te görüldüğü gibi hastalık süreç halinde olmasına rağmen, henüz hiperglisemiye sebep olacak kadar ilerlememiş olabilir (56,65). Yine aynı şekilde bazı hastalarda hem β -hücrelerinin otoimmün yıkımı gözlenirken, hem de ciddi bir insülin direnci (IR) söz konusu olabilir (66).

Ahlqvist *et al.* 2021 yılında yayınlanan makalelerinde farklı bir sınıflama önermiştir: şiddetli otoimmün diyabet (SAID), şiddetli insülin-yetersiz diyabet (SIDD), şiddetli insülin-dirençli diyabet (SIRD), hafif şiddette obezite-ilişkili diyabet (MOD) ve orta şiddette yaş-ilişkili diyabet (MARD) (66).

Evre Tipler	Normoglisemi Normal glikoz direnci	Hiperglisemi			
		IGT ve/veya IFG	İnsüline ihtiyaç duyulmayan	Kontrolde tutmak için insülin	Hayatta kalmak için insülin
Tip 1 • Otoimmün • İdyopatik Tip 2 • Baskın olarak IR • Baskın olarak insülin salınım bozuklukları Diğer spesifik türler • β-hücre fonksiyonundaki genetik defektler • İnsülin davranışındaki genetik defektler • Ekzokrin pankreas hastalıkları • Endokrinopatiler • İlaç ya da kimyasallara bağlı • Diğer	←	→	→	→	→
Gestasyonel hiperglisemi	←	→	→	→	→

Şekil 5 Glisemik bozukluklar: etiyolojik tipler ve klinik evreler (56).

1999 yılında “Bozulmuş Glikoz Toleransı” (impaired glucose tolerance - IGT) kendisi DM olmamakla birlikte, herhangi bir hiperglisemik bozuklukta görülebilir olması sebebiyle bozulmuş glikoz düzenlemesinin bir evresi olarak DSÖ DM sınıflamasında yerini almıştır. Aynı sınıflamada, Bozulmuş Açlık Glikozu da (impaired fasting glucose – IFG), DM teşhisi konulacak seviyede olmamakla birlikte, açlık glikoz seviyesi normal kabul edilen seviyenin üzerinde çıkan bireyleri tanımlamada bir evre olarak yer almıştır (64). IGT ya da IFG’nin olduğu durumlar Prediyabet olarak tanımlanır ve kendisi klinik bir antite olmamakla birlikte, prediyabet durumunda kişinin diyabete ve kardiyovasküler hastalıklara (KVH) ilerleme riski vardır (65). Çin’deki erişkin popülasyonda AKŞ ve HbA1c üzerinden yapılan yakın tarihli bir çalışmada prediyabet prevalansı %35.7 bulunmuştur (67).

DM semptomlarında normalden sık idrara çıkma, çok susamış hissetme, yedikten sonra dahi aç hissetme, yorgun hissetme, bulanık görme, sık enfeksiyona yakalanma ya da yaraların geç iyileşmesi, daha çok yenmesine rağmen kilo kaybı (T1DM) ve el ya da ayaklarda karıncalanma, ağrı veya uyuşukluk olması (T2DM) sayılabilir (68).

Tip 1 Diyabet

Bu DM'de beta (β) hücre yıkımıyla birlikte insülin üretilmemesi sebebiyle zararlı maddeler olan ketonların vücutta birikmesiyle karakterize diyabetik ketoasidoz (DKA), koma ve sonunda ölüme varan tabloların önüne geçmek için insüline muhtaç olunan bir bozukluk söz konusudur (56).

İmmün-aracılı diabetes mellitus: DM hastalarının %5-10'unu oluşturan ve herhangi bir yaşta ortaya çıkabilen bu hastalık grubunda, insülin üretiminden sorumlu olan pankreas β -hücrelerinin hücre-bağımlı olarak otoimmün yıkımı söz konusudur (56,65). Yapılan çalışmalarda T1DM olgularda bir çok yapıya karşı antikör geliştiği saptanmıştır ve bunların ölçümü rutin olarak yapılır hale gelmiştir. Bunlar; Adacık Sitoplazmik Antikoru (ICA), İnsülin Antikorları (IAA), Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikorları (GADA, GAD65), Anti-tirozin fosfataz (IA-2) ve Anti-fogrin (IA-2 β) Antikorları ve Çinko Transporter Antikorları (ZnT8A) olmak üzere 6 tanedir (69).

Genel olarak çocuklarda hızlı ve erişkinlerde yavaş olmakla birlikte β -hücre yıkımı vakadan vakaya değişiklik gösterir ve genelde fark edildiğinde insülin tedavisine ihtiyaç başlamıştır. T2DM'ye benzer şekilde yavaş gelişim gösterip geç dönemde ortaya çıkan Erişkinlerde Latent Otoimmün Diyabet (LADA)'dan bahsedilmektedir. T2DM ile benzer şekilde yaşam tarzı değişiklikleri ve oral hipoglisemik ajanlar ile hastalık kontrol edilebilmektedir. T2DM bireylerden farkı, hastaların zayıf oluşudur ve insüline ihtiyacın daha hızlı ortaya çıkmasıdır (56).

İdyopatik: Bazı T1DM formlarının bilinen bir etiyolojisine rastlanmamıştır. Herhangi bir β -hücre otoimmünitesi görülmemekle birlikte daimi bir insülinopeni söz konusudur ve diyabetik keto asidoza (DKA) yatkınlık vardır. Bu tür T1DM nadir görülür ve HLA (insan lökosit antijeni) ilişkili değildir, kalıtsaldır (65).

Tip 2 Diyabet

Diğer DM sebepleri çıkarılacak olduğunda T1DM'nin prevalansının %10-15 ve T2DM'nin %75-80 olduğu düşünülmektedir. DSÖ verilerine göre (58) bu rakam %95'tir; fakat bunun rutinde antikör ölçümü ve genetik inceleme yapılmaması sebebiyle diğer DM türlerinin de T2DM olarak tanı almasından kaynaklandığı düşünülmektedir (66). T2DM hastalarının büyük çoğunluğu klinik karakter, hastalık

ilerleyişi, tedaviye yanıt ve komplikasyon riskleri açısından çok heterojendir ve T2DM'nin genetik ve çevresel faktörlerin kombine etkisiyle ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalık olduğu günden güne netleşmektedir (66).

Hastalığın bu formunda periferik IR ve tamamen olmayan göreceli bir insülin yetersizliği vardır. Bu hastalar sıklıkla ömürleri boyunca olmak üzere, insülin tedavisine ihtiyaç duymadan hayatlarını idame ederler (65).

Ahlqvist *et al.* önerdiği DM sınıflamasına (66) göre, bizim de tez çalışmamızda oluşturmaya çalıştığımız DM türleri SIDD ve SIRD idi. SIDD grubunda SAID grubundan farklı olarak GADA yoktur; fakat zayıf insülin sekresyonu, zayıf metabolik kontrol ve şişmanlık vardır. SIRD grubunda ise yüksek Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) (insülin direnci) ve yüksek vücut kitle indeksi (VKİ); ancak göreceli olarak iyi bir metabolik kontrol görülür. Başlangıç yaşı da göreceli olarak ileridir (66).

2.3.3 Hastalık Patofizyolojisi

Göreceli olarak düşük fiyatlı fakat damağa hitap eden kaloriden zengin besinlerin aşırı tüketiminin yaygınlaşması beraberinde obeziteyi getirmiştir. VKİ 25 kg/m² ve üzeri olan yetişkin bireyler preobez ya da kilolu, 30 kg/m² olanlar obez olarak tanımlanmaktadır (70). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2019 verilerine göre Türkiye'deki kadınların, obezite ve preobezite oranları sırasıyla %24.8 ve %30.4 olmak üzere, toplamda %55.2'si obez veya preobez iken; erkeklerde bu oranlar %17.3 ve %39.7 ile toplamda %57'dir (71). Obez ya da obezite sınırındaki insanların tamamı DM'ye dönüşmese de, obezite DM için büyük bir risk faktörüdür ve DM ile obezitenin prevelansları paralel seyretmektedir (72). Kilo fazlalığı ile de ilişkili olan ve dislipidemi olarak geçen kandaki lipid bozukluğunun çeşitli profilleri vardır, fakat IR ve insülin eksikliği tablosuyla ilişkili olan profil, yüksek plazma trigliserit (TG) konsantrasyonu, düşük yüksek-yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) konsantrasyonu ve artmış düşük-yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) partikülleri konsantrasyonudur (73). DM'nin kolesterol absorpsiyonunu düşürüp, sentezini ise yükselttiği gösterilmiştir (74).

DM ve özellikle T2DM'deki hiperglisemik tablo büyük oranda, temel glikoz düşürücü hormon olan insülinin mekanizmalarının uygun çalışmayışının sonucudur. DM'yi anlayabilmek için insülinin etki mekanizmalarına hakim olmak gerekir.

İnsülin, hedef hücrelerin membranlarındaki reseptörlerine bağlanarak besin durumuna entegre şekilde anabolik cevabı düzenleyen bir endokrin peptit hormondur ve insanlarda ve tüm hayvanlarda insülin ya da insülin-benzeri peptitler bulunmaktadır (75). Bir çok somatik hücrede insülin reseptörü bulunmaktadır, fakat temel olarak homeostazda önemli roller oynayan dokular olan iskelet kası, karaciğer ve beyaz adipositlere insülinin direk etkileri önemli olmaktadır. İnsülin, iskelet kasında glikoz kullanımını ve glikojen sentezini uyarır; karaciğerde aynı şekilde glikojen sentezine teşvik eder ve lipojenik gen ekspresyonunu artırırken, glikoneojenik gen ekspresyonunu düşürür; beyaz adiposit dokuda lipolizi baskılar, glikoz transportunu ve lipogenezi artırır (76).

İnsülin salınımı ve aktivitesinin metabolik talebi tam olarak karşılanması gerekir. Bu nedenle insülin sentez ve salınımında rol alan moleküler mekanizmaların ve aynı zamanda dokuların insüline yanıtlarının sıkı bir takiple düzenlenmesi şarttır. Yukarıdaki mekanizmaların düzgün çalışması için yüksek insülin seviyelerine ihtiyaç duyuluyorsa IR'den bahsedilebilir (76). Hem insülin hedef dokularında hem de endokrin pankreasın artan iş yükü sonucunda β -hücrelerinde oluşan defektler hiperglisemi ile birlikte prediyabet ve ardından DM tablosunu doğurur (77). Bu defektler, kişinin kilo vermesi ve hipokalorik beslenmesi ile birlikte geri-dönüşümlü olabilmektedir, fakat kalori alımı devam ederse IR ile birlikte β -hücre hasarları oluşacaktır. Bu hasarlar gelişmeden önce insülin rezistansının tespiti önemlidir, çünkü bunun ilerideki T2DM geliştirme ihtimali için en iyi belirteç olduğu vurgulanmaktadır (78,79).

İnsülin direncinin değerlendirilmesinde HOMA-IR'nin sağlam bir araç olduğu kanıtlanmıştır (80). Formülü şu şekildedir (81): $HOMA-IR = [Açlık plazma insülini (\mu IU/ml) \times AKŞ (mmol/L)] / 22.5$. HOMA-IR'nin belirli bir sınır değeri olmamakla birlikte DSÖ'ye göre DM olmayan popülasyonun 75 persentilinin üzerindeki değer IR olarak tanımlanabilir (82).

2.3.4 Hastalık Komplikasyonları

DM gelişiminden önce çeşitli metabolik anomaliler halihazırda vardır ve bu anomaliler ‘diyabetle ilişkili’ sayılan çeşitli komorbidite ve kronik komplikasyon risklerine zemin hazırlar (83). Meta-analizlerde prediyabet, artmış KVVH riski ve kronik böbrek hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (84,85). Bunların yanı sıra DM’nin bilişsel bozukluklar ve kanser gibi daha az incelenmiş olan komorbiditeler ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar da artmaktadır (86,87).

Diyabetin hangi türünde olursa olsun, bu hastalığın en temel yansıması kan glikozu seviyesinin yüksek olmasıdır. Bu fazla glikozu ortadan kaldırmak için çeşitli yollar aktive edilse ve daha çok çalışmaları sağlansa da bu toksik inatçı hipergliseminin vücuda, hücre ya da organ hasarı şeklinde ödettiği bir bedel vardır. Bu glikoz toksisitesi durumunda çalışan yollar karbon stresi ya da hiperglisemik stres başlığı altında toplanabilir (88). Bu yollar temel olarak 5 tanedir (89):

1) Polyol yolağı: Hücre içi glikoz seviyeleri artınca devreye giren bu yolak ile glikozun %30 kadarı metabolize edilir. Bu yolda glikoz sorbitole, sorbitol de fruktoza çevrilir. Sorbitol hidrofiliktir ve hücre içinde birikerek hücrenin osmolar dengesini değiştirir. Sorbitol ve fruktoz metabolizması sırasında kullanılan kofaktörler hücre içi oksidan/antioksidan dengesini bozar ve dolaylı olarak oksidatif strese sebep olur (90).

2) İleri glikasyon son ürünleri: Hiperglisemi durumunda artan ve diyabet komplikasyonları patofizyolojisinde ve oksidatif stres oluşumunda rol oynayan diğer bir mekanizma ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumudur (90). AGE’ler protein ve lipidlerin aldol şekerler ile birleşip bir takım reaksiyonlara uğramaları sonucunda ortaya çıkan çeşitli kompleks yapılardır ve normal koşullarda çok yavaş bir hızla üretilirken, hiperglisemi durumunun devamlılığında oluşumları gittikçe hızlanır (91).

3) AGE reseptör ve onları aktive eden ligandların ekspresyonlarında artış.

4) Protein kinaz C: Hiperglisemide dokularda glikoz konsantrasyonu artar ve gliserol fosfata dönüştürülür. Gliserol fosfat, diaçilgliserolün (DAG) öncülüdür ve dolaylı olarak DAG miktarında yaşanan artış, protein kinaz C’nin (PKC) de uyarılmasıyla sonuçlanır; çünkü DAG, PKC substratıdır (90). Damarsal hücrelerdeki

PKC; hormon reseptör devinimini, neovaskularizasyonu ve hücre büyümesini düzenler, ve artışı diyabetik damarsal komplikasyonlara katkıda bulunur (92). PKC, bir diğer etkisini Na^+K^+ ATPaz üzerinden gösterir ve bu pompanın aktive olmasını sağlar. Bu pompanın düzgün ve kıvamında çalışması sitoplazmik Na^+ dengesi ve dolayısıyla hücrenin hacmini koruması ve hayatta kalması için önemlidir (93).

5) Heksozamin yolağı: Hiperglisemi ve IR'ye bağlı artmış yağ asiti oksidasyonu fruktoz-6-fosfatın heksozamin yolağına girişinin artmasına sebep olur. Bu yolakta oluşan bir ürün, O-bağılı N-asetil- β -D-glikozamin (O-GlcNAc) oluşumu için öncüdür ve O-GlcNAc, hücresel proteinlerin serin ve treonin rezidülerine bağlanarak hücre döngüsü, immün aktivite, apoptozis, strese cevap, inflamasyon ve transkripsiyonel regülasyon gibi bir çok biyolojik süreçte rol oynayarak diyabet komplikasyonlarına etki eder (94).

Tüm bu yollara ortak olarak etki eden tek bir olayın olduğuna dair kanıtlar vardır: reaktif oksijen türlerinin (ROS) mitokondriyal aşırı üretimi (89).

Fazla beslenme, sedanter hayat tarzı ile de birleşince kas, yağ dokusu ve pankreas hücrelerinde glikoz ve yağ asiti fazlalığına sebep olur. Bu durum, mitokondriyal elektron transport zinciri sürecine giren bu substratlardan, özellikle superoksit anyonlar olmak üzere ROS'un ve dolayısıyla oksidatif stresin oluşumu ile sonuçlanır (95). ROS; lipit, DNA ve protein gibi makromoleküllere saldırıp diyabet patogenezi ve komplikasyonlarında temel bir rol oynar (88).

Vasküler hasar: Diyabetin en büyük komplikasyonlarından biri sebep olduğu mikrovasküler (kapiller gibi küçük damarlar) ve makrovasküler (arter, ven gibi büyük damarlar) hasarlardır (84,96). Mikrodolaşım ile besin maddeleri ve hormonlar taşınır ve toplanır, metabolik atıklar temizlenir, doku defans ve tamiri sağlanır ve doku homeostazı korunur (97). Mikrodolaşımdaki bozukluklar, hiperglisemik stresin sebep olduğu sempatik sinir denervasyonu ve otonomik nöropati ile de birleşince kan akışının düzgün dağılmamasına sebep olur (1). Birleşik Krallık'ta yapılan bir çalışmada T2DM tanısı konması sırasında çalışma örnekleminin yarısında halihazırda makro ya da mikrovasküler hastalık olduğu raporlanmıştır (98).

Kronik hiperglisemi yukarıda da bahsedildiği gibi çeşitli yollar vasıtasıyla AGE, PKC, ROS, renin-anjiyotensin sistem gibi molekül ve enzimlerin artışına sebep olmaktadır. Aktive olan bu yollar kollajen modifikasyonuna ve endotel disfonksiyonuna sebep olur ve hücre apoptozu, endotelial büyüme faktörlerinin aşırı üretimi, patolojik anjiyogenez (neovaskülarizasyon) ve vasküler inflamasyon ile birlikte mikrotrombüs formasyonu, kapiller blokaj ve iskemi riski artar (99). PKC yolağının aşırı çalışması vasküler geçirgenliği artırırken, polyol yolağının aktivitesi endotelde osmotik hasar ve oksidatif stres hasarı yaparak vasküler problemlere sebep olmaktadır (100).

DM hastalarında cilt kapiller basıncında artışla birlikte mikrovasküler skleroz da oluşmaktadır ve bu sklerozun bir parçası olarak bazal membranda kalınlaşma olur. Bu kalınlaşma; fonksiyon ve geçirgenliğin modifikasyonuna, hücre beslenmenin değişmesine, hücre ödemine sebep olacak şekilde albumin gibi moleküllerin dokuya kaçışına, aktive lökositlerin migrasyonunun engellenmesiyle birlikte lokal enfeksiyonlara yatkınlığa sebep olmaktadır (97,101). Neovaskülarizasyon, sklerotik hasar ve artmış endotelial büyüme faktörleri, fibroz tablosu oluşturabilir (102).

Yara iyileşmesinde bozukluk: Bir yaranın iyileşmesi 2-3 yıl sürebilen fizyolojik bir süreçtir, fakat bu süreç çeşitli faktörlerden etkilenebilir ve diyabet, yara iyileşmesinde bozukluk sebeplerinden en sık olanıdır (103). Diyabet durumunda karşılaşılan zayıf iyileşme tablosu, yukarıda da bahsedildiği gibi bir çok sistemin dahil olduğu multifaktöriyel bir süreçtir. DM durumunda hücreler migrasyon, proliferasyon ve transdifferansiyon gibi genetiklerine programlanmış yeteneklerini yavaş yavaş kaybetmektedir. Bu da yara iyileşme sürecinin sadece zaman olarak aksamayıp, bu süreci oluşturan ardı ardına gelen olaylar silsilesinin de karışmasına sebep olmaktadır (104). Şekil 6'da diyabette yara iyileşmesini kümülatif olarak etkileyen olaylar verilmiştir.

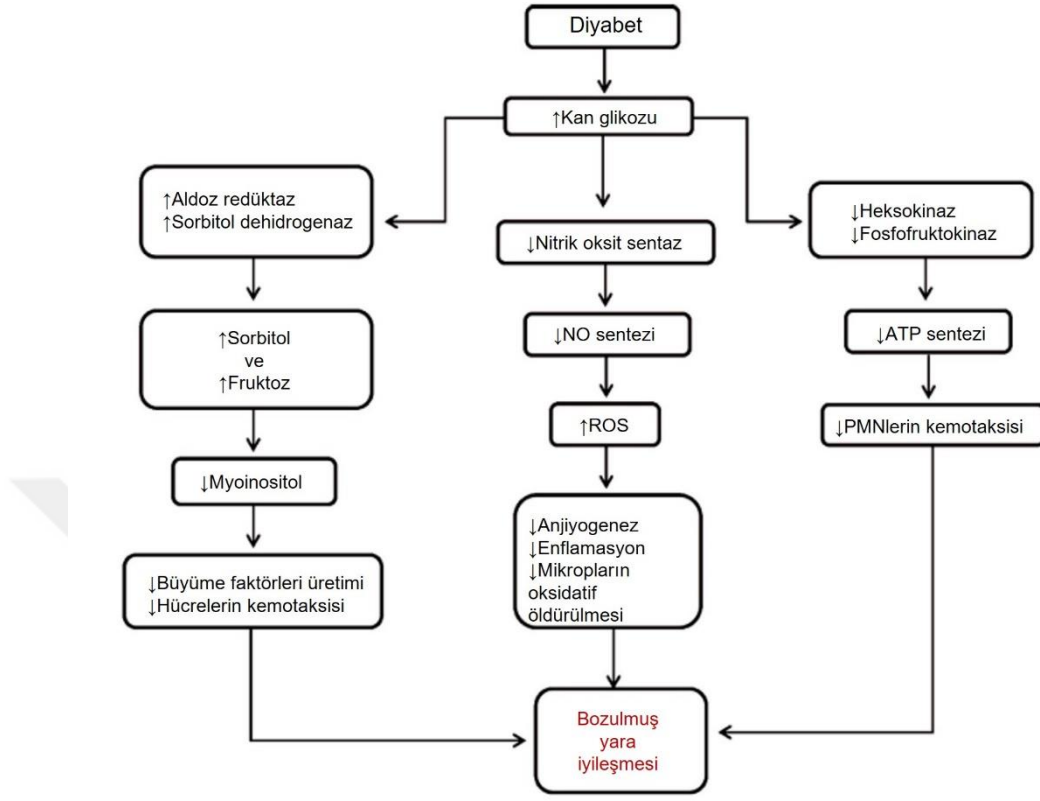
Yara iyileşmesinde ortaya çıkan granülasyon dokusunun iki temel hücresi, fibroblast ve endotel hücreleridir.

Fibroblastlar: Bu hücreler ekstrasellüler matriksi (ECM) salgılayıp, büzüp, remodele ederek ve salgıladıkları büyüme faktörleri ile hücreler arası iletişimi kurup bazal membranın ve ardından reepitelizasyonun oluşmasını sağlayarak yara iyileşme

sürecinin merkezinde rol alırlar ve dolayısıyla bu hücrelerin fonksiyonunu bozan durumlar yara iyileşme anomalisi ile sonuçlanır (105). Rowe ve ark. öncül çalışmalarında diyabetik kütanöz fibroblastların sentez, proliferasyon ve salgı yeteneklerinin azaldığını göstermişlerdir (106). İlginç şekilde, insülin bağımlı olsun ya da olmasın DM hastalarından edinilen hücrelerin normal hücre ortamında da hem anormal bölünme yeteneği gösterdikleri hem de diyabetik olmayan hücrelere göre erken yaşlandıkları gösterilmiştir (107). AGE'lerin kütanöz birikiminin olduğu yerde cildin kronolojik yaşının yükseldiği raporlanmıştır. AGE öncüllerinin olduğu ortamda kültüre edilen fibroblastların migrasyonda güçlük yaşadığı ve daha fazla sayıda yanlış katlanmış protein ürettikleri gözlenmiştir (108). Benzer şekilde hiperglisemide ortaya çıkan mitokondriyal ROS fazlalığı bir takım transkripsiyon faktörlerinin aktive



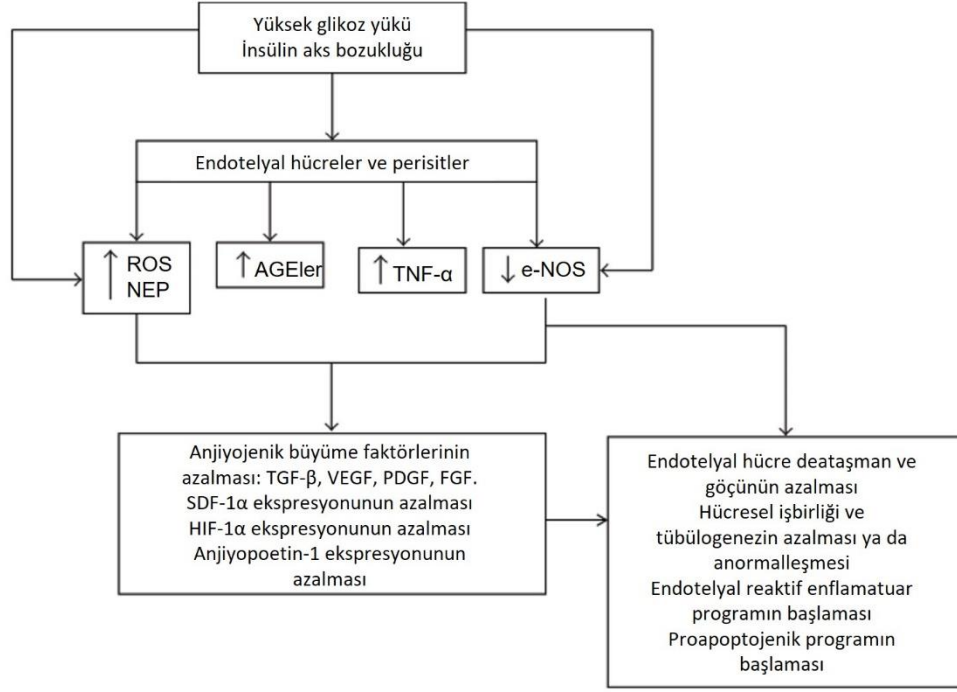
olmasına sebep olur ve bu faktörler de fibroblast proliferasyonunu inhibe edip, bu hücrelerin apoptozlarını indüktler (109).



Şekil 6 Diyabette yara iyileşmesini kümülatif olarak etkileyen olaylar: bozulmuş hücre sinyalizasyonu ve büyüme faktörü üretimiyle sonuçlanacak şekilde myoinositol aktivitesinin düşüren aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrogenazın artmış ekspresyon ve aktivitesi; bozulmuş anjiyogenez ve oksidatif ölüme götüren reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmış üretimi; ve nötrofillerin çeşitli fonksiyonları için gerekmesine rağmen hegzokinaz ve fosfofruktokinazın azalmış aktivitesinin sonucu olarak azalmış ATP sentezi. Tüm bu olaylar kümülatif şekilde diyabette yara iyileşmesini karmaşık hale getirir (46).

Endotelial hücreler: Anjiyogenez yeni kan damarlarının büyümesini ya da neovaskülarizasyonu içeren fizyolojik süreci anlatan kapsayıcı bir terimdir ve bu süreç yara iyileşmesinde hayati rol oynar. Çeşitli büyüme faktörleri ve proteinler endotelial hücre alımını, proliferasyonunu, göçünü ve yerleşimini düzenler. Hiperglisemi ile endotelial hücre fonksiyon ve morfolojisindeki bozuklukları inceleyen çok sayıda çalışmada yüksek glikoz seviyesi ve bu durumda oluşan AGE'lerin endotelial hücre döngüsünü bozduğu, DNA hasarını artırdığı ve aşırı hücre ölümünü uyararak endotelial hücre replikasyonunu sekteye uğrattığı gösterilmiştir (110,111). Aynı zamanda yara ekstrasellüler matriksindeki kollajen ve diğer proteinlerin glikasyonu ve AGE'lerin birikimi anjiyogenezi baskılayarak yara iyileşmesine olumsuz etkilerde

bulunur (112). Anjiyogeneze büyük katkıda bulunun trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF) hiperglisemik stres sebebiyle endotelden salınımının sekteye uğraması da yara iyileşmesini sıkıntıya sokar (113).



Şekil 7 Yüksek glikoz değerleri ve insülin sisteminin çöküşünün damarsal hücrelerdeki olumsuz etkileri. Endotelial hücreler yüksek glikoz konsantrasyonlarına ve özellikle de insülinin aşağı yöndeki sinyal zayıflamasına oldukça hassastır. Benzer şekilde perisitler de bu faktörlerin hedefidir, ki perisitler anjiyojenik sürecin başarılı olması için anahtar hücrelerdir. Endotelial hücrelerin yukarıda geçenlere olan metabolik yanıtları süperoksit ve hidroksil reaktif gruplarının yığılması ile sonuçlanır. Bu prooksidatif elementler nitroz oksit metabolizmasındaki fizyolojik yolların bozulmasına ve toksik nitrozilasyon son ürünlerinin yığılmasına sebep olur. Hiperglisemik stres yollarında hızlıca oluşan AGE'ler damar duvarlarında yığılırlar. TNF-α birçok yoldan üretildiği için aşırı üretilmiş olur. Tüm bu tetikleyiciler ve faktörler eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) aktivitesini bozarak NO'da azalma, vazodilatasyon yeteneğinde kayıp ve endotelial hücrelerin proliferasyon yeteneklerinde baskılanma yapar. Bu döngü, damarsal rejenerasyonun düzenlenmesinde kritik görevlere sahip anjiyojenik faktörlerin miktarlarının da bunların beraberinde azalmasıyla iyice kısırlaşır. En nihayetinde endotelial hücreler ve perisitler pro-apoptojenik bir program başlatarak granülasyon dokusunun çözünmesini ve yara iyileşmesini engelleyebilir (104). (Berlanga-Akosta J, 2013)

PDGF ailesinin diyabetik farelerin vasküler endotelial hücrelerinde downregüle edilmiş olmasının hiperglisemi kaynaklı iskemi tablosunda anjiyogenezin bozulmasına ve kan akışının düzelmesinin sekteye uğramasına sebep olduğu

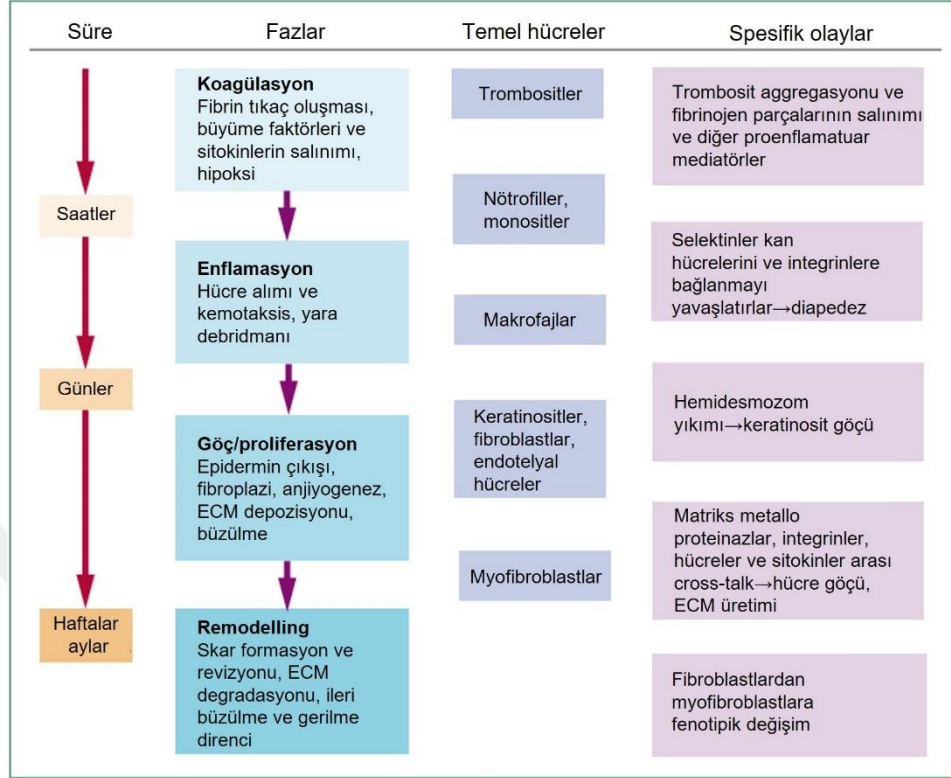
raporlanmıştır (114). Özetle, glikoz fazlalığına maruz kalan endotelial hücreler, proenflamatuar bir süreç başlatır ve bu enflamatuar hücrelerin bir sitokin ve ROS üretim fabrikasına dönüşmesine sebep olur. AGE'lerin reseptörlerinin de artışı benzer şekilde apoptoz ve damarsal yıkım yapar (104). Yüksek glikoz değerleri ve insülin sisteminin çöküşünün damarsal hücrelerdeki olumsuz etkileri Şekil 7'de özetlenmiştir.

Hiperglisemi durumunda oluşan AGEler; TNF- α ve interlökin-1 (IL-1) gibi inflammatuar sitokinlerin üretimini artırırken, yukarıda bahsedildiği gibi fibroblastların kollajen sentezini sekteye uğratır (115). Yüksek kan glikozu seviyesi gecikmiş yara iyileşmesine sebep olacak şekilde hücre morfolojiyi bozar, hücre proliferasyon hızını düşürür ve keratinositlerin anormal differansiyasyonuna sebep olur (46).

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) doğal bağışıklık sisteminin en temel silahıdır. Enflamasyon bölgesine gelerek endotele yapışır, kemotaktik faktöre doğru göç ederler ve invaze olmuş organizma ile temasa geçip fagosite ederler (116). Şekil 6 ve 7'de de gösterildiği gibi kemotaktik faktörler azalır ve endotelial disfonksiyon ve kapiller skleroz sebebiyle aktive lökositlerin migrasyonu engellenir, lokal enfeksiyonlara yatkınlık artar (72). Hiperglisemi ile artan ROS, nükleer faktör kappaB'yi aşırı aktive ederek doğal bağışıklığı bozar ve absürt bir enflamasyon ortaya çıkararak yara ortamını toksike eder (117). DM hastalarındaki yara iyileşme sürecinde inflammatuar hücre göçü fazladır, fakat bu bakteriyel koruma anlamına gelmez, çünkü glikozun polyol yolağına girişiyle, hücre membranına kolaylıkla difüze olmadığı için hücre-içi osmolariteyi artıran sorbitolün fazlalığı lökosit-endotelial hücre etkileşimini bozar ve nötrofil opsonofagositozunu azaltarak bakteri ölümünü engeller (46).

Şekil 8'de normal bir yara iyileşmesi gösterilmiştir. Hiperglisemik stres söz konusu olduğunda yara iyileşmesi yukarıda da anlatılan mekanizmaların etkinliğiyle birlikte oldukça kompleks bir hal alır ve iyileşme süreci yara iyileşmesinin farklı

aşamalarında ilerlemeden kalabilir ya da iyileşmesi DM olmayan bireylere göre uzun sürebilir (1).



Şekil 8 Yara iyileşmesinin aşamaları, her aşamada yer alan temel hücreler ve özellikle vurgulanmış olaylar (1).

2.4 Gelişimsel Endotelial Lokus-1 (Del-1)

Gelişimsel olarak düzenlenen endotelial lokus-1 (Del-1), embriyolojik damarsal gelişim sırasında endotelial hücrelerden salınan 52-kilodalton ekstrasellüler bir glikoproteindir ve 3 epidermal büyüme faktörü (EGF) benzeri tekrar ve 2 diskoidin-1-benzeri temelden oluşur ve EDIL3 olarak da bilinir (8). İkinci EGF tekrarında bir RGD (Arjinin-Glisin-Aspartat) motifi vardır ve RGD diziliminin olduğu ligandların endotelial $\alpha_v\beta_3$ integrin reseptörleri ile etkileşime geçtiği gösterilmiştir (118). Başka bir takım hücrelerin yanında endotelial hücrelerde de eksprese olan $\alpha_v\beta_3$ integrin, anjiyogenez sürecinde kritik bir rol oynar ve yara iyileşmesinde de upregüle olur (9).

Del-1, beyin ve akciğer dokusunda salınırken, karaciğer ve dalakta salınmamaktadır. Lokal endotelial hücrelerden salınarak gingival ektravasküler

alanlarda bulunduğu ise raporlanmıştır (10). Del-1'in endotelyal hücre yapışmasını ve g    n  artırdığı ve anjiyojenik b y  meyi teşvik ettiği civciv koriyoallontoik membran modelinde gösterilmiştir ve bu Del-1 aracılı olaylar $\alpha_v\beta_3$ integrin antagonistleri ile ya da Del-1 RGD motifi RAD şeklinde mutasyona uğratıldığında inhibe olur (11). Del-1 embriyonik damarsal gelişim sırasında salınıp, yaşlandıkça salınımı düşen bir protein olsa da, yetişkin farelerde, iskemi durumunda yoğun miktarda eksprese edildiği raporlanmıştır (12).

Del-1, ilk olarak vasküler sistemdeki rolü ile bilinse de lökosit-endotelyal adezyon inhibisyonu yaparak istenmeyen enflamatuar yanıt tablolarına karşı homeostatik rol üstlendiği de gösterilmiştir (119). Del-1-yoksun farelerin kontrolsüz şekilde lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) salgıladıkları ve integrin-bağımlı nötrofil alımı ve enflamatuar doku hasarının olduğu gösterilmiştir ve bu tablo rekombinant Del-1 uygulanması ile düzelmiştir (120). Yine aynı şekilde Del-1-yoksun farelerde spontan periodontal enflamasyon ve kemik kaybı gözlenmiştir ve lokal Del-1 enjeksiyonu ile bu enflamasyon ve kayıp durdurulabilmiştir (10). Benzer şekilde osteoklast differansiyasyon ve fonksiyonunu da direkt olarak düzenleyebildiği raporlanmıştır (120).

2.5  nterl kin-17

 nterl kin-17 (IL-17) sitokin ailesi A'dan F'ye kadar 6 proteinden oluşan proenflamatuar bir sitokin ailesidir (121). IL-17A ve IL-17F çeşitli immün hücrelerden salınırken, IL-17B ve C ve D büyük oranda epitelyal hücrelerden salınır. IL-17 reseptörleri çeşitli dokulardaki birçok hücrede bulunmaktadır (122). IL-17A ve IL-17F reseptörlere bağlandıklarında, çeşitli antimikrobiyal peptitler, kemokinler ve sitokinler salınır ve nötrofil ve T-helper 17 hücrelerinin bölgeye alımı uyarılır (123). IL-17A, keratinositlerin proliferasyonunu uyarmaktadır (124). Proliferasyonun yanı sıra, IL-17 uyarımlı primer keratinositler çeşitli nötrofil kemokinleri ve antimikrobiyal peptitler transkribe ederek proenflamatuar bir ortam yaratır (125).

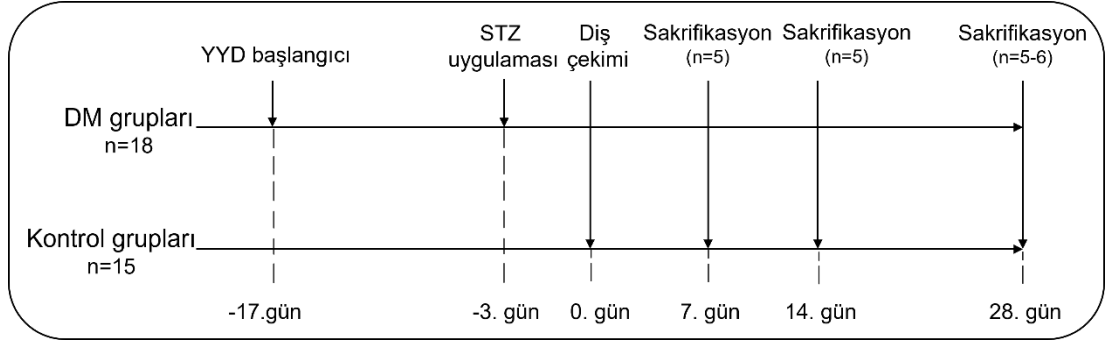
3 GEREÇ VE YÖNTEM

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) sağladığı bilgilere göre 2022 yılı itibariyle dünyada 537 milyon, Türkiye'de de 9.02 milyon diyabet hastası vardır, bu da Türk yetişkin nüfusunun %15.9'unu oluşturmaktadır (57). 2019 yılında 1.5 milyon kişinin ölümüne sebep olmasıyla diyabet dünyadaki ölüm sebeplerinde dokuzuncu sırada yer almıştır (58). DM'nin ülkelerin, özellikle de düşük ve orta gelirli ülkelerin sağlık sistemlerine olan yükü taşınamaz boyutlara ulaşmıştır ve hastaların hayat kalitelerinden ödün vermeyerek vaka sayılarındaki hızlı artışı tersine çevirmek ve diyabet komplikasyonlarının oluşumunu ve ilerleyişini önlemek ortak amaç olmalıdır. Diyabet dünyada komplikasyonlarına çok sık rastladığımız bir hastalıktır. Diğer DM sebepleri çıkarılacak olduğunda T1DM'nin prevalansının %10-15 ve T2DM'nin %75-80 olduğu düşünülmektedir. DSÖ verilerine göre (58) bu rakam %95'tir; fakat bunun rutinde antikor ölçümü ve genetik inceleme yapılmaması sebebiyle diğer DM türlerinin de T2DM olarak tanı almasından kaynaklandığı düşünülmektedir (66). Halihazırda, DM'nin diş çekimi sonrasındaki soket iyileşmesini olumsuz etkilediği çalışmalarda kanıtlanmıştır (2,3,5), fakat buna neden olan mekanizmalar halen merak ve araştırma konusudur. Del-1 proteininin özellikle kanser, iskemi ve son zamanlarda periodontitis ile olan ilişkileri çeşitli çalışmalarda çok irdelenmiştir, ancak bilginiz dahilinde diyabet modelindeki yara iyileşmesinde irdelenmemiştir. Amacımız tip 2 diyabetli ratlarda iyileşmenin sağlıklı ratlara oranla bozuk oluşunun Del-1 proteini ile ilişkili olup olmadığını tespit etmek idi. Rekombinant Del-1 Fc proteini uygulaması da çeşitli çalışmalarda yer almıştır. Özellikle iskemi durumunda bölgenin yeniden damarlanmasını sağlayıp iskemiye önlemesi umut vaat edicidir. Diyabetteki kötü iyileşme sürecinde salınımının az olduğunun tespit edilmesi, ilaç olarak kullanımını düşündürülebilir.

3.1 Grupların Oluşturulması ve Deneye Hazırlanması

Bu tez çalışmasına, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.01.2021 tarihli ve 65202830-050.04.04-484 sayılı kararıyla başlanmıştır. Araştırmanın deneysel kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma, 4-4,5 aylık,

ağırlıkları ortalama 330 g $\pm$ 30 g olan 33 adet erkek wistar-albino rat üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ratlar 6 gruba ayrılarak standart deney kafesleri içerisine konulmuş ve ratlara hayvan odasında standart koşullar (22 $\pm$ 2°C, %55-70 nem, 1 atm basınç, 12 saat aydınlık/karanlık) uygulanmıştır.



Şekil 9 Deneyin tasarımı. DM grupları 2 hafta boyunca Yüksek Yağlı Diyet (YYD) tabi tutulmuş, ardından STZ enjeksiyonu yapılmıştır. Bu süreçte kontrol gruplarına normal diyet (ND) uygulanmıştır. STZ'den 3 gün sonra diş çekimleri yapılmış ve diş çekimlerinden 7 gün, 14 gün ve 28 gün sonra gruplardaki hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

Ratlar çalışma öncesi yeni yaşam koşullarına hazırlanması için 10 gün metal kafeslerde tutulmuştur. Hayvanlar diş çekimlerine kadar pelet yem ile ve cerrahi sonrası 2 gün öğütülmüş yem ile beslendirilmiştir. Çalışma süresince hayvanlara su, cerrahi öncesi 12 saatlik süre haricinde, ad libitum sağlanmıştır. Deneyin tasarımı Şekil 9'da özetlenmiştir.

6 çalışma grubu şu şekildedir:

Grup 1 – C7 – Diş çekiminden 7 gün sonra sakrifiye edilen, sistemik açıdan sağlıklı olan grup.

Grup 2 – D7 – Diş çekiminden 7 gün sonra sakrifiye edilen, deneysel tip 2 diyabet grubu.

Grup 3 – C14 - Diş çekiminden 14 gün sonra sakrifiye edilen, sistemik açıdan sağlıklı olan grup.

Grup 4 – D14 - Diş çekiminden 14 gün sonra sakrifiye edilen, deneysel tip 2 diyabet grubu.

Grup 5 – C28 – Diş çekiminden 28 gün sonra sakrifiye edilen, sistemik açıdan sağlıklı olan grup.

Grup 6 – D28 – Diş çekiminden 28 gün sonra sakrifiye edilen, deneysel tip 2 diyabet grubu.

Örneklem boyutları, <http://www.p005.net/analiz/guc-analizi> sitesinde yer alan iki ortalamanın karşılaştırılması için örneklem genişliği programı kullanılarak, örnek çalışma (126) baz alınarak ve buna göre %5 anlamlılık ve %95 güvenle (tip 1 hata ile) her gruba 4 hayvan alınması gerektiği bulunmuştur. C7, C14 ve C28 grupları beşer hayvandan D7, D14 ve D28 grupları ise diyabetik komplikasyonlara bağlı olarak hayvan kaybetme ihtimalimizden dolayı altışar hayvandan oluşturulmuştur.

3.2 Tip 2 Diyabet Oluşturulması

Tüm hayvanların vücut ağırlıkları not edildikten sonra, Tip 2 diyabet oluşturmak için Deney grubu hayvanları 2 hafta süreyle enerjinin %45'i yağdan gelecek Yüksek Yağlı Diyete (YYD) (Research Diets, New Brunswick, NJ, USA, katalog no: D12451) (Şekil 10) tabi tutulurken, kontrol grubundaki hayvanlara Normal Diyet (ND) (Tablo 1) uygulanmıştır (Optima Yem, Bolu, Türkiye, katalog no:45843). YYD ve ND ürün içerikleri ve kalori karşılıkları Şekil 10 ve Tablo 1'de verilmiştir. İki haftalık beslenme süresi sonunda deney hayvanlarının vücut ağırlıkları not edilip, gecedan aç bırakılan hayvanlara 30 mg/kg vücut ağırlığı (v.a.) intraperitoneal 0.1 M pH 4.5 taze soğuk sitrat tampon içinde çözülmüş Streptozotosin (STZ) uygulanmıştır. STZ, pankreasın Adacık hücrelerini tahrip ederek insülin üretimini sekteye uğratar ve

DM tablosu oluşturur. Düşük dozlu STZ uygulaması ile Tip 1 değil, Tip 2 DM oluşturulması hedeflenmiştir (127).

Product #	D12451	
	gm%	kcal%
Protein	24	20.0
Carbohydrate	41	35.0
Fat	24	45.0
Total		100.0
kcal/gm	4.73	
Ingredient	gm	kcal
Casein, 30 Mesh	200	800
L-Cystine	3	12
Corn Starch	72.8	291
Maltodextrin 10	100	400
Sucrose	172.8	691
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard	177.5	1598
Mineral Mix S10026	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
FD&C Red Dye #40	0.05	0
FD&C Blue Dye #1	0	0
Total	858.15	4057

Şekil 10 Research Diets - D12451 yüksek yağlı yem içeriği ve kilokalori karşılıkları .

Kontrol grubundaki hayvanlara ise normal diyet (ND) uygulanmış ve sadece sitrat tampon intraperitoneal aynı miktarda verilmiştir. Deney grubundaki hayvanlar aynı şekilde YYD'ye devam etmiş, kontrol grubundakiler de aynı şekilde ND ile beslenmeye devam etmiştir. Tüm hayvanların yem ve su tüketimi günlük olarak kaydedilmiştir.

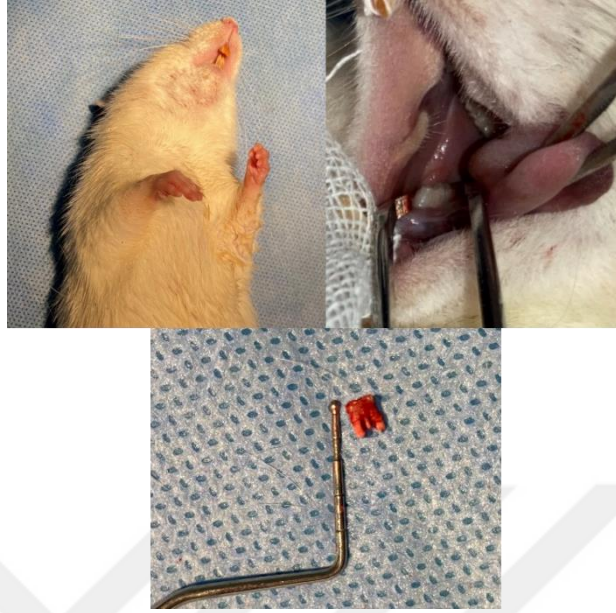
Tablo 1 Normal yem içerik analizleri. 2800 kkal/kg. (Soya küspesi, bonkalit, pirinç kepeği, mısır, şeker pancarı melası, soya yağı, kalsiyum karbonat, kalsiyum fosfat, vitamin-mineral karışımı, lignosülfanat, sodyum klorür, bentonit, maya, kalsiyum propiyonat, ddgs.)

Normal Yem Analiz Değerleri	%
Ham Protein	24
Ham Selüloz	3,48
Ham Yağ	5,17

Ham Kül	8,46
Lizin	1,41
Methionin	0,61
Kalsiyum	1,14
Fosfor	0,88
Sodyum	0,28
A Vitamini	36000 IU/kg
Vitamin D ₃	6500 IU/kg
�z Elementler	302,7 mg/kg

STZ uygulandıktan 48 saat sonra glikoz dehidrogenaz (GDH) yöntemi (128) ile kuyruk en u  noktasına bir i ne batırılarak alınan 2 l kandan Tokluk  ekeri (T )  l  m  yapılmış ve 300mg/dl (16.7 mM) değer çıkanlar diyabetik sayılmıştır. Ertesi gün (STZ uygulamasından 72 saat sonra) OGTT için geceden a  bırakılan ama su içmeleri kısıtlanmayan ratlara 2g/kg v.a. glikoz solüsyonu oral olarak verilmiş ve 0. (solüsyon verilmeden önce), 60. ve 120. dakikalarda kuyruk kanından glikoz değerleri ölçülmüştür.

3.3 Cerrahi Yöntem



Resim 1 Anestezi altına alınmış rat, ağız içi görüntüsü ve çekilmiş alt birinci molar dişi.

Kontrol grubunda da Deney grubunda da sağ alt birinci molar dişlerin çekilmesi planlanmıştır. Operasyondan 2 gün önce antibiyotik olarak seftriakson sodyum 50mg/kg (Rocephin, Roche, İsviçre) günde 1 defa başlanmış ve operasyon sonrası 3 gün devam ettirilmiştir. Veteriner hekim kontrolünde yapılan işlemlerde cerrahi öncesi ratlar intramusküler olarak, 90 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 3 mg/kg Ksilazin HCL (Rompun, Bayer, Almanya) enjeksiyonuyla anestezi altına alınmıştır. Anestezi altına alınan ratların sağ alt kadrantlarına antiseptik polivinilprolidon iyot (Povilon %10, Medısın, Ankara, Türkiye) uygulanmıştır. Sağ alt çene birinci molar diş, etrafındaki dişeti retrakte edildikten sonra minimal travma ile lükse edilmiş ve dişli forseps ile ekstrakte edilmiştir. Cerrahi yara bölgesindeki gingival dokular yaklaştırılıp 6-0 emilebilen bir sütur (Damacryl, GMD, İstanbul, Türkiye) ile dikilmiştir. Çekimlerden sonra hayvanlar, 2 gün öğütülmüş formda, sonrasında pelet şeklinde gruplarına uygun şekilde test grupları YYD ve kontrol grupları ND olarak beslenmeye devam ettirilmiştir.

3.4 Deneyin Sonlandırılması

Deneyin sonlandırılması çeşitli aşamalarda olmuştur ve bu zamana kadar D7 ve D14 gruplarından birer hayvan diyabetik komplikasyonlara bağlı olarak kaybedilmiştir. Dolayısıyla D7 n=5, D14 n=5 ve D28 n=6 şeklindedir. Kontrol gruplarında hayvan kaybı yaşanmamıştır.

Diş çekimlerinden sonra, bir gece önceden aç bırakılan C7 ve D7'deki hayvanlardan 7. günde; C14, D14'teki hayvanlardan 14. günde; C28, D28'deki hayvanlardan 28. günde kalplerinden 2 mililitre kan, deney hayvanına gereksiz acı vermemek ve hemolizi önlemek için atravmatik olarak alınmış ve yavaşça antikoagülansız jelli serum tüpüne (biyokimya tüpü) aktarılmıştır. Toplanan kanlar, pıhtılaşmanın tamamlanması için oda sıcaklığında yarım saat bekletilmiş ve 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüje edilmiştir. Sekonder tüplere ayrılan serum örnekleri deney aşamasına kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Bu miktarda kan kuyruk kanından elde edilemeyeceği için bu aşama deneyin sonuna bırakılmıştır.

Bundan sonra deney hayvanları intraperitoneal yoldan tek doz sodyum tiyopental 200 mg/kg (Pentothal, Abbott, ABD) ile sakrifiye edilmiştir. Daha sonra alt çene çıkarılıp %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisine konulmuştur.

Elde edilen bu örneklerdeki diş çekim yaralarından alınan kesitlerde Del-1, IL-17, OPG ve RANKL protein seviyelerine İmmünohistokimya (IHC) ile bakılmıştır. D28 ve C28 gruplarındaki örnekler Mikro-BT taraması için Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarına gönderilmiş ve taramaları bittikten sonra immünohistokimyasal (IHC) analize sokulmuştur. Elde edilen örneklerin, diş çekim yaralarından alınan kesitlerde Del-1, IL-17, OPG ve RANKL protein seviyelerine IHC ile bakılmıştır.

3.5 ELISA Yöntemi

Toplanan serum örneklerinden, açlık insülin düzeyleri kantitatif ELISA yöntemi ile tayin edilmiştir. Serum insülin düzeyi ticari ELISA kiti (BT Lab, Wuhan, Çin, katalog no: E0707Ra) kullanılarak ölçülmüştür. Yöntem olarak ticari kitin önerdiği basamaklara göre, tüm örnekler ve solüsyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra tüm standart ve örnekler çift çalışılmıştır.

Öncelikle standart çalışma solüsyonları derişimleri sırasıyla 24 – 12 – 6 – 3 – 1.5 mIU/L olacak şekilde beş seviyede hazırlanmıştır. ELISA plate standart kuyucuklarına sırasıyla ellişer µL standart eklenmiştir. Geri kalan örnek kuyucuklarına kırkar µL örnekler eklenmiştir. Örnek kuyucuklarına onar µL anti-INS antikor eklenmiş ve ardından hem örnek hem de standart kuyucuklarına ellişer µL streptavidin-HRP konjugat eklenmiştir. Koruyucu membran ile kapatılmıştır. Plate, hafifçe sallandıktan sonra 60 dakika 37°C’de inkübe edilmiştir. Plate içindeki tüm sıvılar boşaltıldıktan sonra 25 kat dilüe edilmiş yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkanmıştır ve plate, kağıt havlu üzerine kurulanmıştır. Standart, kör ve örnek kuyucuklarına ellişer µL Kromojen A ve sonrasında ellişer µL Kromojen B solüsyonları eklenmiştir. Plate, hafifçe sallandıktan sonra 10 dakika boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. Standart, kör ve örnek kuyucuklarına ellişer µL Stop solüsyonu eklenmiş ve mavi renk sarı renge dönüşmüştür. Kör kuyucuğu absorbans (optik dansite) değeri 0 olacak şekilde, 450 nanometrede absorbans değerleri, stop solüsyonu eklenmesinden itibaren 10 dakika içerisinde okunmuştur. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan lineer regresyon denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplanmıştır. Bundan sonra giriş bölümünde açıklanan formül ile HOMA-IR değeri hesaplanmıştır.

Aynı serum örneklerinden trigliserit (TG), high density lipoprotein kolestrol (HDL-C), low density lipoprotein kolestrol (LDL-C) ve total kolestrol (Kol) ölçümleri de yapılmıştır (Cobas 8000, Roche, Basel, İsviçre).

3.6 İmmünohistokimyasal Yöntem

Sakrifiye edilen ratlardan alınan alt çene örnekleri %10’luk nötral formalin solüsyonunda 48 saat tespit edilip, daha sonra EDTA solüsyonunda dekalsifiye edilmiştir. Bu işlemde sonra 8 saat çeşme suyunda yıkanmıştır. Kasetlere alınan dokular rutin alkol ksilol serilerinden geçirildikten sonra parafin bloklara alınmış, ardından bloklardan 5 µm’lik kesitler lam üzerine alınarak, PBS ile yıkandıktan sonra %3’lük H₂O₂’ de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlanmıştır. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile 2x5 dk 500 watt’da muamele edilmiştir. Daha sonra PBS ile yıkanan dokular RANKL (Santa Cruz, Katalog No.sc-377079 1/100 dilüsyon oranı), OPG (Santa cruz, Katalog No.sc-390518, 1/100 dilüsyon oranı), IL-17 (Santa cruz, Katalog No.sc-374218, 1/200

dilusyon oranı) ve Del-1 (Santa cruz, Katalog No.sc-293337, 1/200 dilusyon oranı) primer antikorları ile +4 derecede 12 saat inkübe edilmiştir. Sekonder olarak; Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Thermofischer, Katalog no: TP-125-HL) üretici firmanın önerdiği şekilde kullanılmıştır. Kromojen olarak DAB (3,3'-Diaminobenzidine) kullanılmış ve Mayer's Hematoksilen ile zıt boya yapıldıktan sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda (Primo Star, Zeiss, Oberkochen, Almanya) incelenmiştir (Resim 2).



Resim 2 İmmünohistokimyasal analizde kullanılan Zeiss Primo Star ışık mikroskobu.

İnceleme kemik dokularında bulunan immunpozitiflikler yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) şeklinde yapılmıştır.

3.7 Mikro-Bilgisayarlı Tomografi Yöntemi

Mikro-BT, sert doku örneklerinin yüksek çözünürlükte incelenmesinde zamandan kazandıran ve tekrarlanabilir olan bir yöntemdir. Çalışmalar, mikro-BT ile yapılan ölçümlerin kansellöz kemik incelemesinde altın standart olarak kabul edilen histomorfometrik ölçümler ile yüksek korelasyon gösterdiğini vurgulamaktadır (129,130).

Micro-BT alanının öncüsü Feldkamp ve ark.dır (131). Mikro-BT; kemik kalitesi anlamında kemik yoğunluğu, kemik yapısı ve kemik mineralizasyonunun araştırılmasında iyi bir yöntemdir. Bizim de tez çalışmamızda Erciyes Üniversitesi Diş

Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'na ait bir Mikro-BT (SkyScan 1272, Bruker, Kontich, Belçika) cihazı kullanılmıştır (Resim 3).



Resim 3 Mikro-bilgisayarlı tomografi çekiminde kullanılan SkyScan 1272 Mikro-BT cihazı.

Taramalarda kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir:

- Kamera piksel boyutu: 7.4 μm
- Kamera kaynak mesafesi: 273 mm
- Obje kaynak mesafesi: 199 mm
- Kaynak voltajı: 99 kV
- Akım değeri: 108 μa
- Piksel boyutu: 21 μm

Her bir örneğin taranması yaklaşık olarak 1 saat 16 dakika sürmüştür. Firma tavsiyelerine göre beam hardening filtresi 0.11 mm Cu uygulanmıştır.

Mikro-BT ile taranan örneklerden elde edilen veriler uygun program (NRecon v.1.7.4.2, SkyScan, Leuven, Belçika) ile firma tavsiyelerine göre (ve en iyi görüntüyü yakalayacak şekilde çeşitli modifikasyonlarla) kemik mimarisine uyumlu şekilde x-ışını zayıflama katsayıları ayarlanarak gri skalada 3 boyutlu görüntü olarak yeniden yapılandırılmıştır. Kemiğin üç boyutlu yapılandırmasından sonra uygun programda (CTAn v.1.18, SkyScan, Leuven, Belçika) ölçümleri istenen bölgeler (ROI)

izilmiştir. ROI, Resim 4'te görülen alanda tüm çekim soketini içerecek şekilde mezio-distal olarak 2.4 mm, bukkio-lingual olarak 1.2 mm ve apiko-okluzal olarak 1.9 mm olarak seçilmiştir.



Resim 4 Analizi yapılacak olan diş çekim soketi bölgesi.

ROI alanı şu histomorfometrik parametreler için analiz edilmiştir:

Kemik hacmi (BV; mm³)

Toplam llen alanın kemik hacmi yüzdesi (BV/TV; %)

Trabeküler kalınlık (Tb.Th; mm)

Trabekül sayısı (Tb.N)

Trabeküler ayrılık (Tb.Sp; mm)

Toplam gözeneklilik yüzdesi (Po(tot); %)

Tüm parametreler üç boyutlu olarak hesaplanmıştır.

3.8 İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdan elde edilen veriler IBM SPSS Statistics (Ver 23) programına yüklenerek analiz edilmiştir. Verilerin dağılımının normalliği Kolmogorov-Smirnov ile test edilmiştir. Normal dağılan verilerde, bağımsız iki grubun karşılaştırmasında student-t test, ikiden fazla bağımsız gruptan elde edilen ölçümler karşılaştırılırken ANOVA ve analiz sonucunda gruplar arası farklılık önemli bulunduğunda farklılık yaratan grup ve grupları bulmak için Tukey testi kullanılmıştır. Bu testler sırasında Levene testine göre $p < 0.05$ çıktığında ya da veriler Kolmogorov-Smirnov'a göre

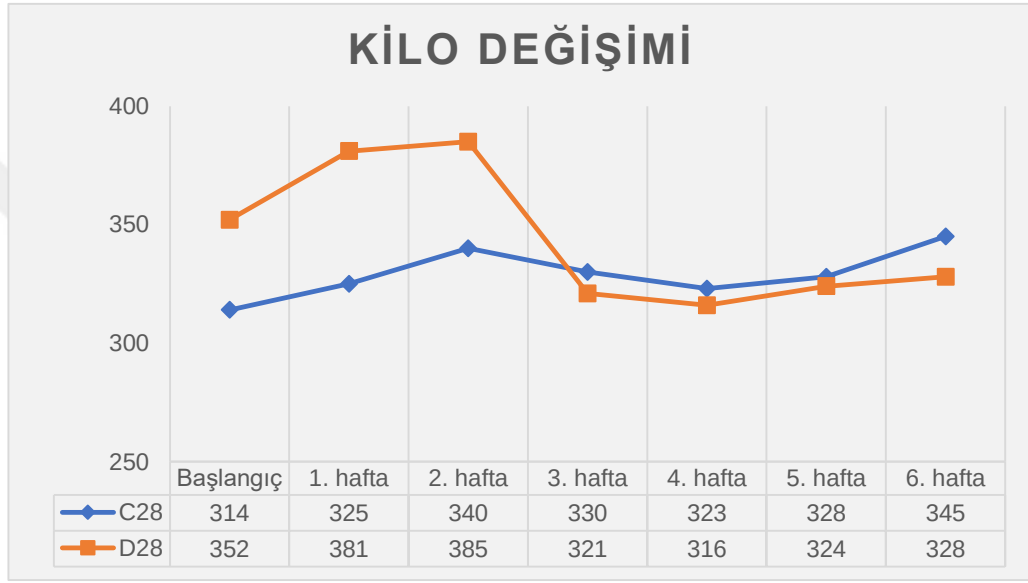
normal dağılmadığında, non-parametrik testlere geçilmiştir. Non-parametrik testlerde, bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U ve ikiden fazla bağımsız grup karşılaştırılırken Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Farklılık yaratan grup Mann-Whitney ya da Post Hoc testlerden Games-Howell ile tespit edilmiştir. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.



4 BULGULAR

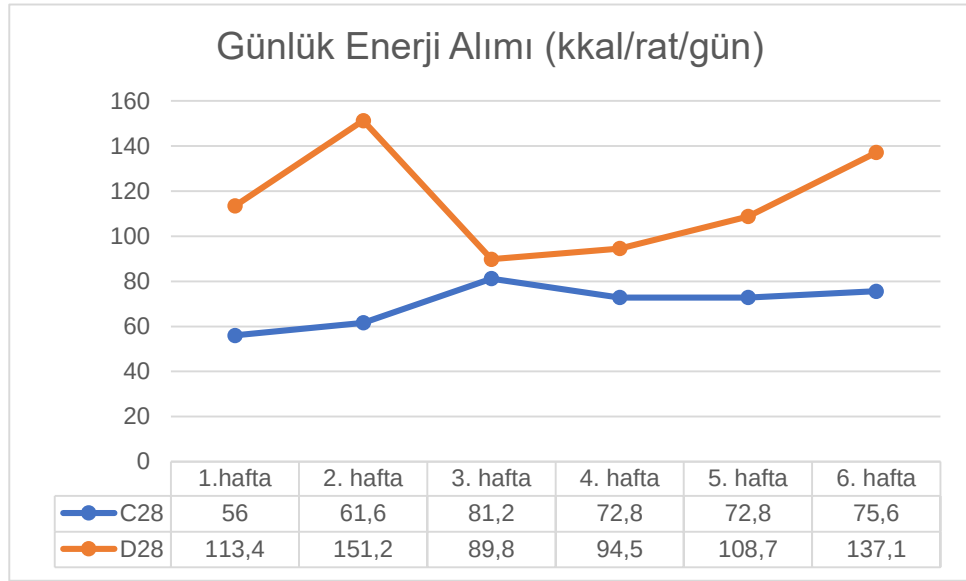
4.1 Deney Süresince Yapılan Ölçümlerin Sonuçları

Farklı sakrifikasyon zamanlarından dolayı tüm deney hayvanları deneyi aynı zamanda bitirmeyeceği için kilo alımı, su tüketimi ve enerji alımı, en uzun süre hayatta kalacak gruplar olan C28 ve D28 için ölçülmüştür. Bu ölçümlerin sonuçları haftalık olarak şöyledir:



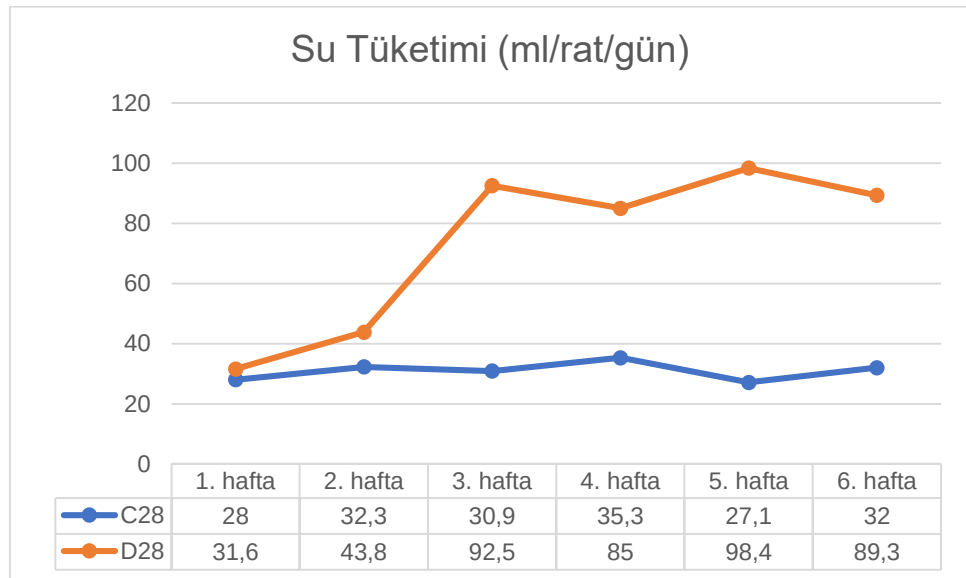
Şekil 11 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki haftalık kilo ortalamalarının grafik ve tablosu.

Her iki grupta da ilk iki hafta kilo artışı gözlenmişken, özellikle D28 grubunda STZ enjeksiyonu ve ardından cerrahi işlem ile birlikte hızlı bir kilo kaybı gözlenmiştir. Bundan sonraki üç haftalık süreçte hafif kilo alımı saptanmıştır. C28 grubu deney süresince göreceli olarak sabit bir kilo alım eğrisi çizmiştir. Başlangıç kiloları grup ortalaması, sırasıyla 314 g ve 352 g olan C28 ve D28 gruplarının sakrifikasyon öncesi kiloları 345 g ve 328 g olarak ölçülmüştür.



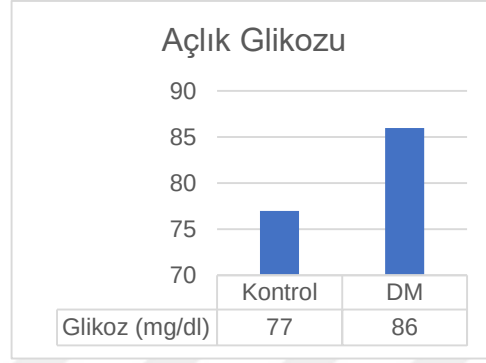
Şekil 12 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki günlük enerji alımının (kcal) her hafta için olan ortalamasının grafik ve tablosu.

Enerji alımı, kalorisinin %45'i yağdan gelen yem ile beslenen grup olan D28'de daha yüksektir. Yem tüketim gramajları benzer olsa da yöntem ve gereç bölümünde belirtildiği gibi, YYD normal diyetle oranla iki katından daha fazla kalorilidir. D28 grubunda STZ enjeksiyonunun yapıldığı üçüncü hafta öncesinde enerji alımında ani düşüş gözlenmiş, bundan sonra deneyin sonuna kadar kademeli olarak artmıştır.



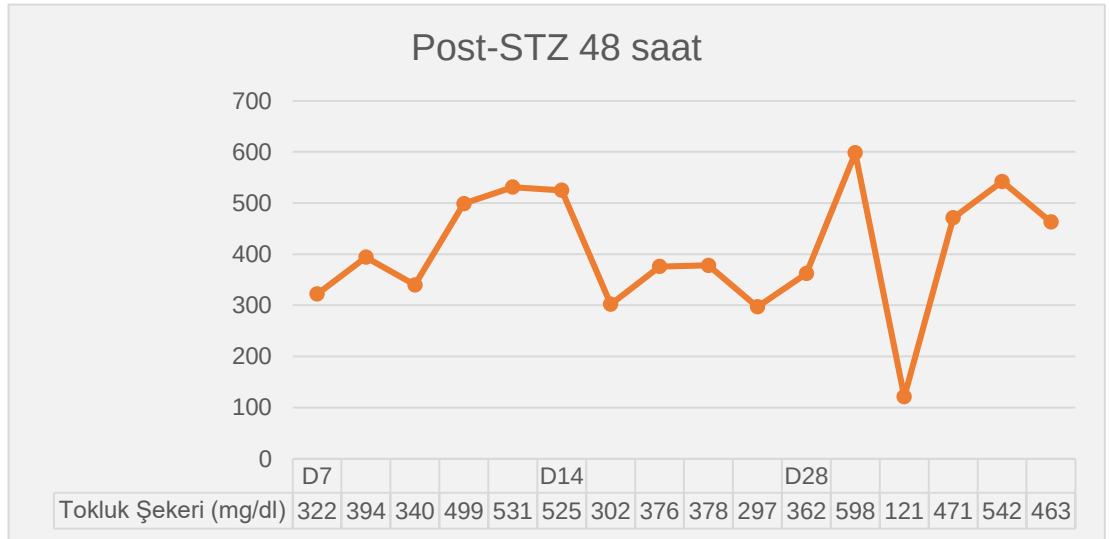
Şekil 13 C28 ve D28 gruplarının deney süresindeki günlük su tüketimlerinin (ml) her hafta için olan ortalamasının grafik ve tablosu.

Su tüketimi, YYD ile beslenen grupta ND beslenen gruba göre daha fazla olarak gözlenmiştir. Özellikle STZ uygulamasından sonra D28 grubunda su tüketimi iki katından fazlaya çıkmıştır. C28 grubunda su tüketimi deney süresince benzer hacimlerde olmuştur. C28 grubunda ilk hafta 28 ml, son hafta 32 ml su tüketilmişken; D28 grubunda ilk hafta tüketilen 31,6 ml suya karşılık deneyin son haftası 89,3 ml su tüketildiği gözlenmiştir (t-test, $p<0.001$).



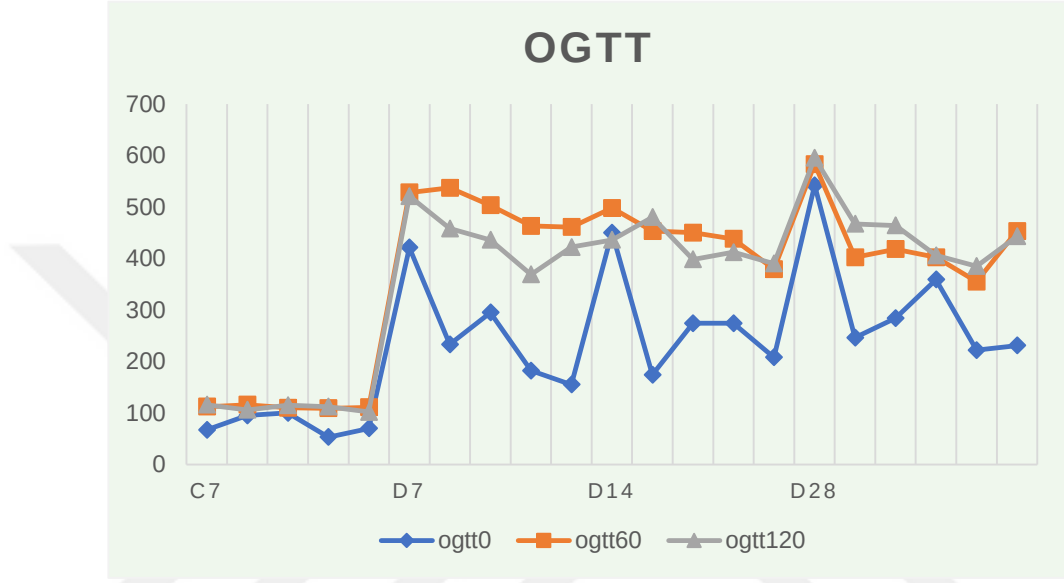
Şekil 14 2 haftalık YYD sonrası deney ve kontrol gruplarının açlık glikoz ortalamaları.

İki haftalık YYD sonrasında Kontrol gruplarına kıyasla (77 mg/dl) DM gruplarının glikoz ortalaması daha yüksek (86 mg/dl) bulunmuştur.



Şekil 15 STZ uygulamasından 48 saat sonra deney grubundaki hayvanların glikoz değerlerinin grafik ve tablosu.

İki haftalık YYD sonrasında STZ uygulaması yapılmış ve DM tespiti için 48 saat sonra diyabet gruplarındaki ratların GDH yöntemi ile glikoz seviyeleri tespit edilmiştir. D28 grubundaki bir ratın glikoz seviyesinin düşük (121 mg/dl) çıkması sebebiyle (Şekil 15), sadece bu rata bir doz daha, aynı prosedürle, 30 mg/kg STZ intraperitoneal olarak uygulanmış ve 48 saat sonraki tokluk glikozu seviyesi 384 mg/dl olarak ölçülmüştür.



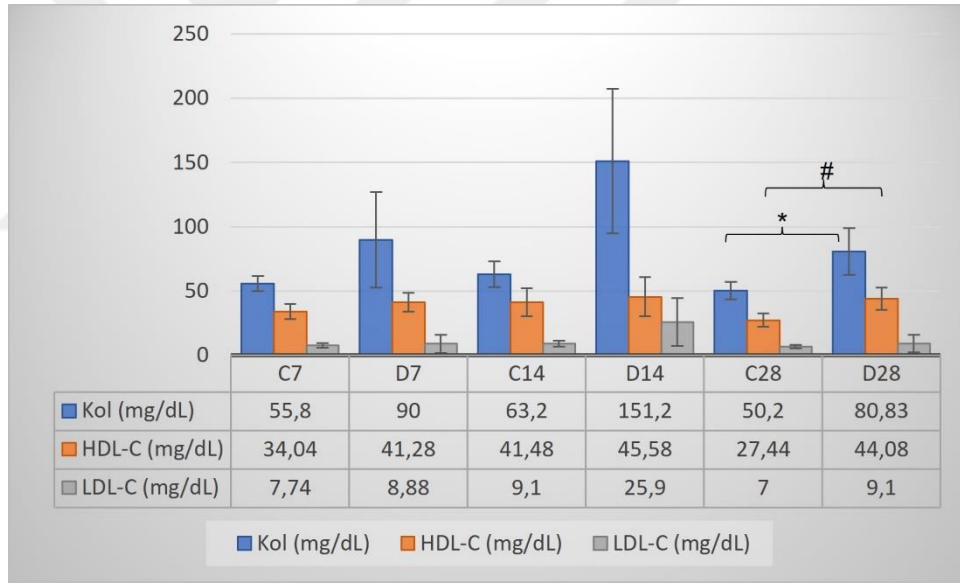
Şekil 16 STZ uygulamasından 3 gün sonra C7, D7, D14 ve D28 gruplarına yapılan OGTT'nin şeker yüklemesinden önce ve 60 dakika ile 120 dakika sonraki glikoz değerlerinin grafiği. Her bir işaretçi bir ratı temsil etmektedir.

Tüm ratların diyabetik sayılarak deneye kabul edilebilmesi için OGTT yapılmıştır. Tüm DM grupları teste dahil edilirken, kontrol grubundan sadece C7, kontrol amacıyla teste alınmıştır. Uygulanan şekerli solüsyonun ardından geçen 60. ve 120. dakikalarda yapılan ölçümlerde DM gruplarının glikoz seviyeleri IR'yi gösterecek şekilde yüksek bulunmuştur. Bununla karşılaştırıldığında kontrol grubunun glikoz seviyeleri tüm ölçüm zamanlarında normal sınırlarda kalmıştır. Sonuçlar Şekil 16'da verilmiştir.

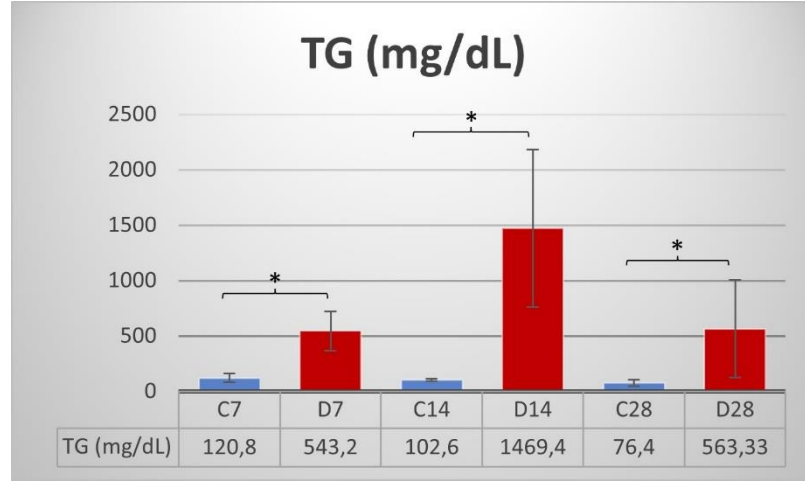
4.2 Biyokimya ve ELISA Sonuçları

Çalışma hayvanlarının serum örneklerinde yapılan incelemelerde deney ve kontrol grupları genel ortalamaları karşılaştırıldığında, Kol ve TG değerlerinin deney

gruplarında yüksek olduğu bulunmuştur (Mann-Whitney Test, $p<0.001$). LDL-C seviyesi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktur, fakat deney grubu ortalaması daha yüksektir (Mann-Whitney Test, $p=0.514$). HDL-C seviyesi deney grupları ortalaması, kontrol grubu ortalamasına göre anlamlı olarak daha yüksektir (t-test, $p<0.05$). Gruplar arası karşılaştırmalarda sadece D28 gruplarının Kol seviyeleri C28 gruplarının Kol seviyelerinden anlamlı şekilde yüksek bulunmuşken, TG seviyeleri tüm DM gruplarında kontrol gruplarına göre yüksektir (t-test, $p<0.05$). LDL-C her üç DM grubunda da kontrol grubuna göre daha yüksek gözlenmiştir, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir (t-test, $p>0.05$). HDL-C yalnızca D28 grubunda istatistiksel anlamlı (t-test, $p<0.01$) olmakla birlikte tüm DM gruplarında kontrol gruplarına kıyasla daha yüksektir, ancak zamanla ilişkili bir korelasyon saptanmamıştır (Tukey, $p=0.977$). Deney gruplarında Kol, LDL-C ya da TG seviyeleri zaman ile korelasyon göstermemiştir (Games-Howell, $p<0.05$).

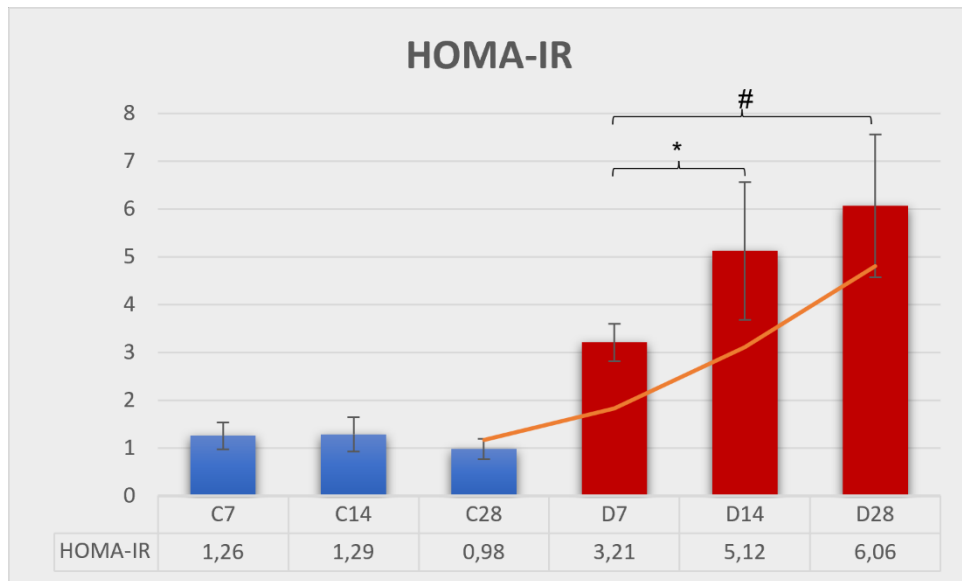


Şekil 17 Total kolesterol, HDL-C ve LDL-C açısından kontrol ve deney gruplarının karşılaştırılması. * = $p<0.05$ ve #= $p<0.01$



Şekil 18 Kontrol ve deney gruplarının TG açısından karşılaştırılması. * = $p < 0.05$

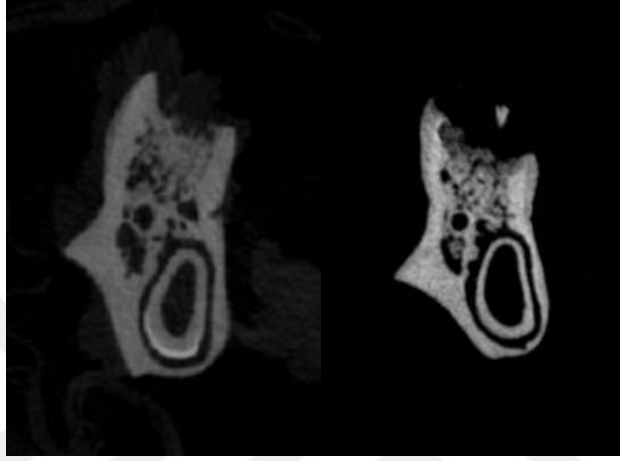
İnsülin seviyeleri açısından Kontrol ve DM grupları arasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır (t-test, $p = 0.263$), ancak HOMA-IR değerleri tüm DM grupları için eşik değerin üzerindedir ve YYD'ye devam edildikçe HOMA-IR değerinin arttığı gözlenmiştir. D7 grubu ile D14 arasında (Tukey, $p < 0.05$) ve D7 ile D28 arasında (Tukey, $p < 0.001$) istatistiksel anlamlı farklara rastlanırken, D14 ile D28 arasındaki fark istatistiksel anlamlı değildir (Tukey, $p = 0.556$). Kontrol gruplarının ve DM gruplarının genel HOMA-IR ortalamaları karşılaştırıldığında deney grubu ortalamasının kontrol grubu ortalamasından anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney Test, $p < 0.001$).



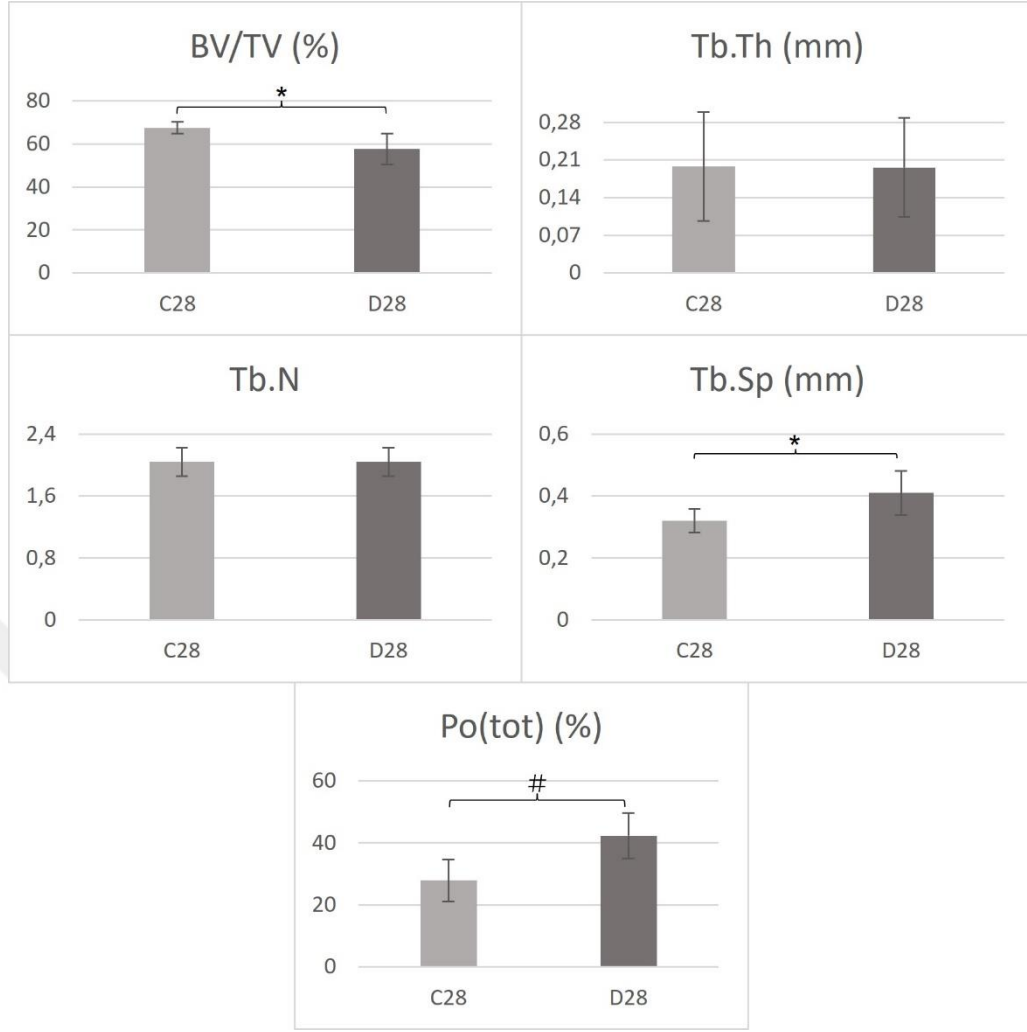
Şekil 19 Kontrol ve deney gruplarının HOMA-IR açısından karşılaştırılması. * = $p < 0.05$ ve # = $p < 0.001$

4.3 Mikro-BT Analiz Sonuçları

Mikro-BT ile çekim soketi iyileşmesi C28 ve D28 gruplarında incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre BV/TV, Tb.Sp (t-test, $p<0.05$) ve Po(tot) değerleri (t-test, $p<0.01$) D28 grubunda C28 grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Tb.th ve Tb.N değerleri için ise gruplar arasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır ($p>0.05$).



Resim 5 D28 (sol) ve C28 (sağ) çekim soketi iyileşmesi, frontal kesit.



Şekil 20 C28 ve D28 gruplarının Mikro-BT sonuçlarının karşılaştırılması. *=p<0.05 ve #p<0.01

4.4 İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları

RANKL, OPG, IL-17 ve Del-1 yönünden immünohistokimyasal olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 2’de yansıtıldığı şekilde, C7 ve C14 gruplarında şiddetli düzeyde RANKL immunpozitifliği görülürken, C28 ve D7 gruplarında orta, D14 grubunda hafif immünpozitiflik gözlenmiştir. D28 grubunda ise önemli düzeyde immünpozitifliğe rastlanmamıştır. OPG pozitifliği yönünden bakıldığında C7 grubunda şiddetli düzeyde, C14, C28 ve D7 gruplarında orta, D14 ve D28 gruplarında ise hafif düzeyde olduğu gözlenmiştir. IL-17 pozitifliği C7 grubunda şiddetli, C14,

C28 ve D7 grubunda orta şiddette, D14 ve D28 gruplarında ise hafif düzeyde bulunmuştur. C7 grubunda ise şiddetli Del-1 immünpozitifliği görülürken, C14 ve

Tablo 2 Tüm deney gruplarının OPG, RANKL, IL-17 ve Del-1 açısından boyanma yoğunluğu ve boyanmış alan yüzdeleri üzerinden immünpozitiflik skorları.

	OPG	RANKL	IL-17	DEL-1
7. gün				
C7	+++	+++	+++	+++
D7	++	++	++	++
14. gün				
C14	++	+++	++	+
D14	+	+	+	+
28. gün				
C28	++	++	++	++
D28	-	-	+	-

(-) önemsiz, (+) hafif, (++) orta şiddette, (+++) şiddetli immünpozitiflik.

Tablo 3 Tüm deney gruplarının RANKL, OPG, IL-17 ve Del-1 açısından karşılaştırılması.

Gruplar	RANKL immünpozitifliği	OPG immünpozitifliği	IL-17 immünpozitifliği	Del-1 immünpozitifliği
C7	2,83±0,40 ^a	2,71±0,75 ^a	2,66±0,51 ^a	2,85±0,37 ^a
C14	2,66±0,51 ^a	2,00±0,40 ^b	2,00± 0,40 ^b	1,16±0,40 ^b
C28	1,83±0,40 ^b	1,85±0,37 ^b	1,83±0,40 ^b	2,16±0,40 ^c
D7	1,70±0,15 ^b	1,83±0,40 ^b	1,85±0,37 ^b	1,85±0,37 ^c
D14	1,00±0,51 ^c	1,16±0,40 ^c	0,71±0,48 ^c	0,66± 0,51 ^d
D28	0,16±0,40 ^d	0,33±0,51 ^d	0,50± 0,40 ^c	0,16±0,40 ^d

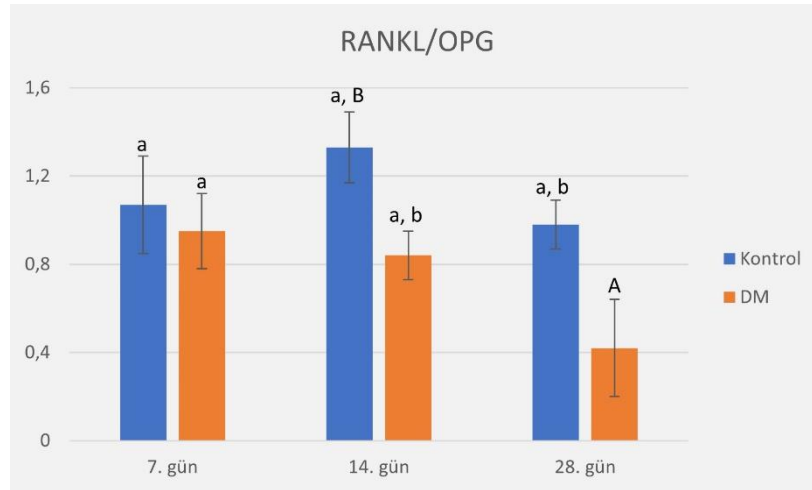
a, b, c, d sütun boyunca gruplar arası anlamlı fark olduğunu göstermektedir. (Mann-Whitney, p<0.05)

D14 gruplarında hafif, C28 ve D7 gruplarında orta şiddette bulunmuştur. D28 grubunda ise önemli düzeyde Del-1 immünpozitifliğine rastlanmamıştır. RANKL ve

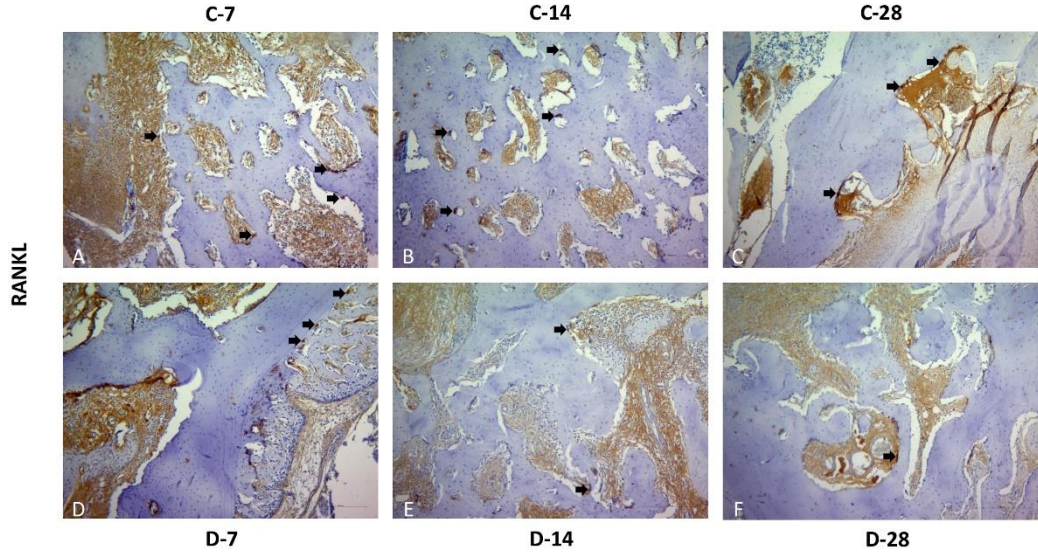
IL-17 pozitifliği çoğu grupta benzerlik gösterirken, OPG ve Del-1 pozitifliklerinin de yine benzer şekilde çoğu grupta pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 3’te tüm deney gruplarının RANKL, OPG, IL-17 ve Del-1 proteinlerinin immünpozitiflik seviyeleri açısından karşılaştırılması verilmiştir. Buna göre RANKL immünpozitifliğinde C7 ve C14 grupları arasında fark görülmezken, C28’de anlamlı bir düşüş gözlenmiştir ($p<0.05$). D14 ve D28 RANKL immünpozitifliği anlamlı olarak diğer gruplardan daha düşüktür ($p<0.05$). OPG immünpozitifliği açısından C14, C28 ve D7 grupları arasında anlamlı fark gözlenmemişken, C7 immünpozitifliği tüm gruplardan anlamlı olarak daha yüksek ($p<0.05$), D14 ve D28 ise anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0.05$). IL-17 açısından sonuçlar da OPG ile benzerdir. Del-1 immünpozitifliği ise, C7 grubunda anlamlı olarak en yüksek görülmüşken ($p<0.05$), C28 grubunda C14 grubundan anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0.05$). D14 ve D28 gruplarının Del-1 immünpozitifliği diğer tüm gruplardan anlamlı olarak daha düşüktür.

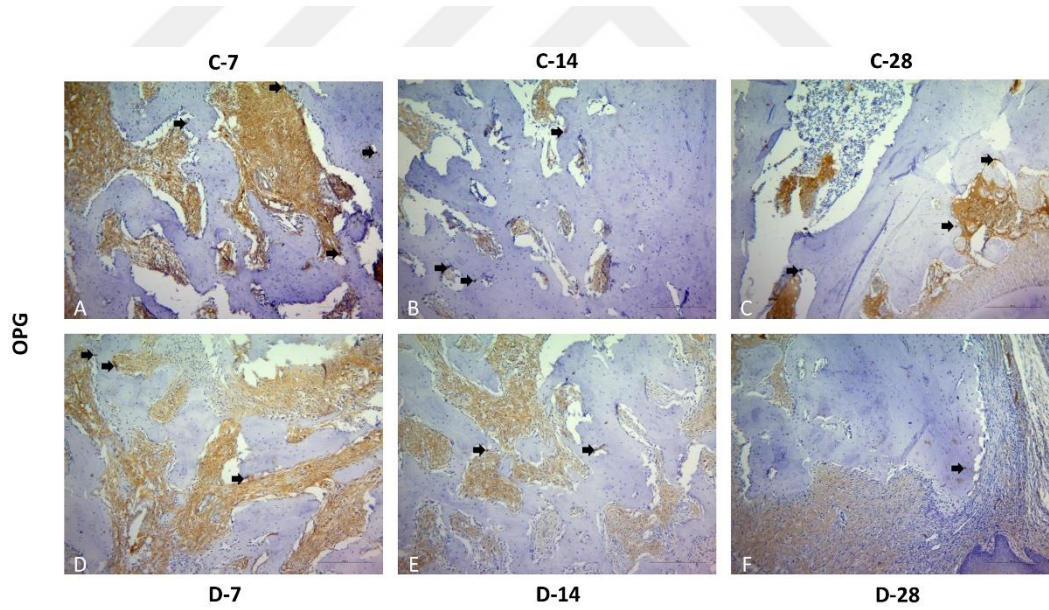
Şekil 21’de tüm gruplar için RANKL/OPG oranları verilmiştir. D28 grubunun RANKL/OPG değeri diğer tüm gruplardan anlamlı şekilde daha küçüktür (Games-Howell, $p<0.05$). Bunun haricinde C14 grubunun RANKL/OPG değeri C28 ve D14 gruplarınınkinden anlamlı olarak daha yüksektir (Games-Howell, $p<0.05$).



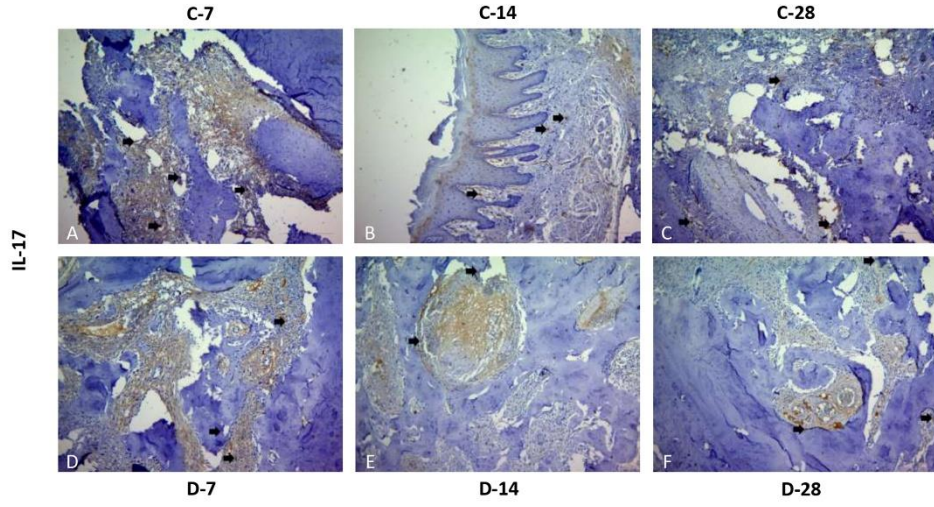
Şekil 21 Tüm çalışma gruplarının RANKL ve OPG ortalama değerlerinin oranları. Büyük harfler küçük harflerden istatistiksel anlamlı farkları ifade etmektedir (Games-Howell, $p<0.05$).



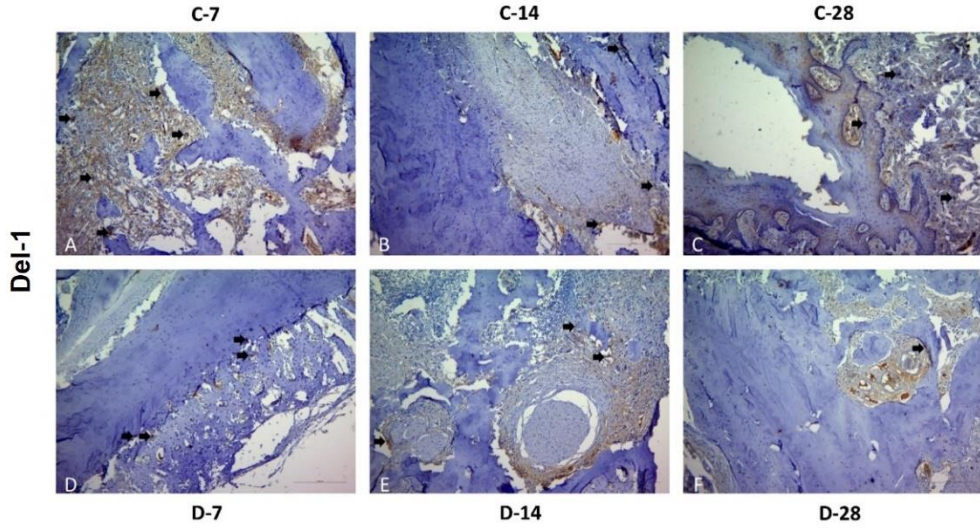
Resim 7 C7 grubunda şiddetli düzeyde RANKL immunpozitifliği (oklar). **B.** C14 grubunda şiddetli RANKL immunpozitifliği (oklar). **C.** C28 orta düzeyde RANKL immunpozitifliği (oklar). **D.** D7 grubunda orta düzeyde RANKL immunpozitifliği (oklar). **E.** D14 grubunda hafif düzeyde RANKL immunpozitifliği (oklar). **F.** D28 grubunda RANKL immunpozitifliği (oklar).



Resim 6 C7 grubunda şiddetli düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar). **B.** C14 grubunda orta düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar). **C.** C28 orta düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar). **D.** D7 grubunda orta düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar). **E.** D14 grubunda hafif düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar). **F.** D28 grubunda hafif düzeyde OPG immunpozitifliği (oklar).



Resim 9 C7 grubunda şiddetli düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar). B. C14 grubunda orta düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar). C. C28 orta düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar). D. D7 grubunda orta düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar). E. D14 grubunda hafif düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar). F. D28 grubunda hafif düzeyde IL-17 immunpozitifliği (oklar).



Resim 8 C7 grubunda şiddetli düzeyde Del-1 immunpozitifliği (oklar). B. C14 grubunda hafif düzeyde Del-1 immunpozitifliği (oklar). C. C28 orta düzeyde DEL-1 immunpozitifliği (oklar). D. D7 grubunda orta düzeyde Del-1 immunpozitifliği (oklar). E. D14 grubunda hafif düzeyde Del-1 immunpozitifliği (oklar). F. D28 grubunda Del-1 immunpozitifliği (oklar).

5 TARTIŞMA

Kronik hiperglisemide yara iyileşmesinin kompleks bir hal aldığı ve iyileşme sürecinin yara iyileşmesinin farklı aşamalarında ilerlemeden kalabildiği ya da iyileşmenin DM olmayan bireylere göre uzun sürebildiği literatürde yer almaktadır (1). Aynı şekilde DM'nin diş çekim soketi iyileşmesine olan olumsuz etkileri birçok hayvan ve insan çalışmasında kanıtlanmıştır (2–7). Tüm bu bilinen gerçeklere rağmen, DM'nin yara iyileşmesini ne gibi mekanizmalarla etkilediği günümüzde de araştırma ve merak konusudur. Diyabetin çeşitli yollarla vücutta yol açtığı farklı komplikasyon tabloları, olayların anlaşılmasını ve arada ilişki kurulmasını güçleştirmektedir. Biz de bu çalışmamızda daha önce bakılmamış proteinler açısından DM'de yara iyileşme bozukluğuna bir nebze daha ışık tutabilmeyi amaçladık.

Bu çalışmada kullanılan T2DM modelinde amaç, YYD ile besleyerek ratlarda IR oluşturmak ve düşük dozda uygulanan STZ sayesinde parsiyel β -hücre disfonksiyonu yaparak azalmış insülin salınımı sağlamaktır. Bu model, insülin-bağımlı olmayıp, insülin direnci, hiperglisemi ve anormal lipid profili gibi T2DM özelliklerini yansıtmaması sebebiyle sıklıkla kullanılan bir modeldir (127,132). Modelin oluşturulmasının çeşitli yöntemleri vardır ve bu çalışmada en sık uygulanan yöntemlerden biri olan 2 hafta YYD ve ardından tek doz 30 mg/kg i.p. STZ uygulaması kullanılmıştır (133).

Literatür ile uyumlu şekilde bu çalışmada, T2DM özelliklerinden olan, hiperglisemi ve IR oluşturulabildiği OGTT ve HOMA-IR ile kanıtlanmıştır. HOMA-IR seviyesi ırk, yaş, cinsiyet, sistemik hastalıklar vb. etkenlere göre değişmekle ve HOMA-IR değeri için normal kabul edilebilecek bir üst limit belirlenememiş olmakla birlikte DSÖ'ye göre DM olmayan popülasyonun 75 persentilinin üzerindeki değer IR olarak tanımlanabilmektedir (82). Yaptığımız çalışmada, DM grubundaki ratların HOMA-IR seviyelerinin kontrol grubundakilere göre 4.1 kat yüksek olduğu bulunmuştur. Bu da bu diyabet modelinin T2DM'nin bu özelliklerini oluşturabildiğini kanıtlamıştır. YYD ve düşük doz STZ uygulanan diğer T2DM çalışmalarında da IR

oluşturulabildiği istatistiksel olarak anlamlı çıkan yüksek HOMA-IR değerleri ile gösterilmiştir (80,134–136).

Diyabet teşhisini doğrulayan testlerden biri OGTT'dir. OGTT yöntemi FPG ve HbA1c ile kıyaslandığında daha fazla DM teşhisi konulmasını sağlamaktadır ve aynı şekilde bu yöntem IGT tanısını koyabilen tek yöntemdir (62). Tüm T2DM modellerinde OGTT yapılmamakla birlikte, birçok çalışmada (137–139), DM teşhisi anlamında daha güvenilir bulunması sebebiyle bizim de tercih ettiğimiz gibi OGTT yöntemi uygulanarak IR oluşturulduğu onaylanmıştır.

Çalışmamızın deney grubunda, kontrol grubuna oranla su ve enerji alımının artışı diğer çalışmalarla benzerdir (3,140,141). DM ile birlikte su tüketimi 2-2,5 kat kadar artmıştır. Kilo alımları ise Pitol-Palin ve ark.larının yaptığı çalışma (6) ile benzer bir kilo değişim eğrisi çizmiştir: D28 grubunda STZ enjeksiyonundan sonra hızlı bir kilo kaybı, ardından yavaş ve aşamalı bir kilo alım gözlenmiştir. Kontrol grubu ise ani iniş ya da çıkışların olmadığı aşamalı bir kilo alım eğrisi çizmiştir. Bu sonuçlar diğer T2DM modeli çalışmalar ile de benzerdir (6,142,143).

Obezite DM için büyük bir risk faktörüdür ve DM ile obezitenin prevelansları paralel seyretmektedir (72). T2DM'nin özelliklerinden olan kilo alımı, ratların YYD ile beslenmesiyle oluşturulmaya çalışılmıştır. Kilo fazlalığı ile ilişkili dislipidemi tablosu, IR ve insülin eksikliği söz konusu olduğunda, yüksek plazma trigliserit (TG) konsantrasyonu, düşük yüksek-yoğunluklu lipoprotein kolestrol (HDL-C) konsantrasyonu ve artmış düşük-yoğunluklu lipoprotein kolestrol (LDL-C) partikülleri konsantrasyonu şeklinde karşımıza çıkmaktadır (73). Başka çalışmalar ile benzer şekilde (143,144), tüm gruptaki ratların serum örneklerinde yapılan incelemelerde, bu genellemeden farklı olarak DM gruplarındaki HDL-C seviyelerinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sadece D28 grubunda istatistiksel anlamlı fark vardır (t-test, $p < 0.01$). Bununla birlikte DM'deki dislipidemi tablosu ile uyumlu şekilde, deney grubunda yüksek Kol, TG ve LDL-C değerlerine rastlanmıştır. Bu diğer çalışmalarla uyumludur (132,141,145–147).

DeneySEL T2DM oluşturulmasının ardından tüm hayvanların sağ mandibular 1. azı dişleri çekilmiştir. Kemikteki iyileşme Mikro-BT ile incelenmiştir. Sonuçlarımız üst keser dişlerin çekildiği bir deneySEL T2DM çalışmasıyla (6) benzer sonuçlara

sahiptir: BV/TV kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek, Tb.Sp ve Po(tot) değerleri ise anlamlı olarak daha düşüktür. Aynı çalışmada (6) Tb.Th değeri kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek çıkmışken, bizim çalışmamızda anlamlı farka rastlanmamıştır, ancak çalışma sonuçlarında kaç günlük iyileşmede Mikro-BT değerlendirmesi yapıldığı belirtilmediğinden, aradaki fark, farklı iyileşme zamanlarında görüntü alınmasından kaynaklanmış olabilir. T1DM rat modelinde, üst 1. molar dişlerin çekilip 7, 14 ve 21. günlerde iyileşmenin incelendiği bir çalışmada (3) 21. günde, BV/TV bizim çalışmamız ile uyumlu şekilde kontrol grubunda yüksek çıkmıştır. Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak 21. günde Tb.Sp açısından anlamlı fark bulunmamışken, Tb.Th kontrol grubunda daha yüksek çıkmıştır. Sonuçlar arasındaki farklılık hem Chang ve ark.nın deneyi T1DM modelinde gerçekleştirmiş olmasından, hem de bizim Mikro-BT incelemesini iyileşmenin 28. gününde yapmamızdan kaynaklanmış olabilir. Zhang ve ark. diş çekimi yaptıkları T2DM hastalarında 0. ve 90. günlerde aldıkları BT görüntülerinde, kontrol grubuyla kıyaslandığında soket genişliği ve derinliğinin daha fazla olduğunu raporlamıştır. Aynı çalışmada T2DM oluşturulan domuzlarda diş çekim soketi iyileşmesi Mikro-BT ile değerlendirilmiştir ve T2DM grubunda soket merkezindeki demineralize alanın genişliğinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (148). Genç ratlarda T1DM oluşturulan bir çalışmada Mikro-BT sonuçlarına göre DM olan ratların kemik kalitelerinde ciddi bir bozulma görülmüştür. T1DM rat modelinde 14 günlük diş çekim soketi iyileşmesinin incelendiği bu çalışmada kontrol grubuna göre bizim sonuçlarımızla benzer şekilde Tb.Sp ve bizim sonuçlarımızdan farklı şekilde Tb.N değerlerinde istatistiksel anlamlı farklar gözlenmiştir (149). Çalışmamızla içerik olarak benzer olarak obezitenin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi için üst santral dişlerinden birinin çekildiği bir rat çalışmasında, kontrol grubuyla kıyaslandığında deney grubunda kemik alanlarının diş çekimi sonrası 7inci, 14üncü ve 28inci günlerde istatistiksel anlamlı şekilde daha az olduğu bulunmuştur (150).

OPG ve RANKL kemik metabolizmasında rol oynayan proteinlerdir. OPG, RANKL'a bağlanarak RANK bağlanmasının önüne geçer ve osteoklastogenezi dolaylı olarak engeller (34). Bizim sonuçlarımızda kontrol gruplarındaki ratlarda şiddetli ve orta şiddette OPG ve RANKL immünopozitifliği görülürken, diş çekim yaralarında immünohistokimyasal incelemelerin yapıldığı bir çalışmada normal ratlarda OPG'nin 7, 14 ve 21inci günlerde orta düzeyde immünopozitiflik verdiği 28. günden itibaren

ise hafif immünpozitiflik gösterdiği raporlanmıştır, RANKL ise tüm zamanlarda hafif immünpozitiflik göstermiştir (151). İnsanlarda yapılan bir çalışmada ise diş çekim soketi iyileşmesinde OPG ve RANKL'ın zamana bağlı olarak arttığı raporlanmıştır (152). Bu çalışmada ise tam tersine sitokinlerin imm npozitiflikleri zamanla azalmıştır.

Yapılan iki derlemede RANKL/OPG oranının diyabetik durumlarda periodonsiyumda arttığı sonucuna ulaşılmıştır (153,154). Benzer şekilde DM'de serum RANKL/OPG oranlarının arttığı gösterilmiştir (155–157). Diyabetten bağımsız şekilde, artmış bir RANKL/OPG oranı kemik rezorbsiyonunun moleküler mekanizmalarının halihazırda devam ettiğine işaret etmekte olabilir (158). Dolayısıyla rat diş çekim soketlerindeki iyileşmenin incelendiği çalışmamızda, deney gruplarına göre kontrol gruplarında istatistiksel anlamlı olarak daha fazla OPG ve RANKL immünpozitifliği ve aynı zamanda artmış RANKL/OPG oranları şaşırtıcı değildir. Bu sonuçlar, halihazırda devam etmekte olan iyileşme sürecinin ve bununla ilişkili olarak kemik deviniminin kontrol gruplarında, DM gruplarına göre daha aktif olduğuna işaret edebilir ve başka bir çalışmanın sonuçları da bunu destekler niteliktedir (159). RANKL/OPG oranları açısından C7 ve D7 grupları arasında anlamlı farka rastlanmayışı da yaranın akut fazında kemik deviniminin her iki grupta da yüksek olmasına işaret ediyor olabilir. Bunun yanı sıra, sitokinlerin serum seviyelerine değil, bölgesel olarak diş çekim soketi iyileşmesinde imm npozitifliklerine bakılması, DM'de daha yüksek olması beklenen RANKL seviyesinin, bizim çalışmamızda kontrol gruplarında daha yüksek çıkması ile sonuçlanmış da olabilir. Kemik kırıkları olan hastaların serum OPG ve RANKL seviyelerinin incelendiği bir çalışmada kırıktan hemen ve 4 hafta sonrasına kadar anlamlı şekilde düşük RANKL/OPG oranları gözlenmiştir, ancak kırık bölgelerinde lokal salınım incelenmemiştir (160). Overektomili ratların ve başka bir çalışmada da DM'li ratların kemik ve serumlarında yapılan incelemelerde kemik ve serum örneklerinde benzer RANKL/OPG oranları gözlenmiştir, ancak bunlar yara bölgeleri değil, sağlam kemiktir (155,156). Dolayısıyla lokal (yara bölgesi) ve genel (serum) RANKL ve OPG sonuçlarının karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

 ncelenen bir diğer protein IL-17'dir. Yara iyileşmesinin akut aşamasında bölgede yüksek görülen IL-17 seviyelerinin zamanla azalması beklenir ve azalmadığı

durumlarda yaranın kronikleştiği görülür (123). IL-17A-eksik farelerde iyileşmiş yara kapanması ve kollajen depozisyonu ve azalmış nötrofil infiltrasyonu gözlenirken, yara bölgesine uygulanan IL-17A enflamatuar hücre infiltrasyonunu artırarak yaranın iyileşmesinin sekteye uğramasına sebep olmuştur (161). Obezite ve diyabette yara iyileşmesinin incelendiği bir çalışmada da anti-IL-17 uygulamasının cilt yaralarının iyileşmesinde olumlu etkileri olduğu kaydedilmiştir (162). Benzer şekilde kronik yara biyomarkırları ve terapötik hedeflerin IL-17 üzerinden incelendiği bir derlemede, cilt yara ve hastalıklarında IL-17'nin olumsuz etkilerinden bahsedilmiştir, ancak aynı derlemede geçen diğer çalışmalarda ratlardaki ligament yaralanmalarına anti-IL-17 uygulamasının iyileşmeye olan olumsuz etkileri ve yine benzer şekilde IL-17-eksik farelerde oluşturulan kütanöz yaraların iyileşmesinin sekteye uğradığı ve IL-17 uygulamasının yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği de paylaşılmıştır (123).

IL-17'nin diş çekim soketi iyileşmesinde ya da genel olarak kemik yara iyileşmesinde incelendiği çok çalışmaya rastlanmamıştır. Akut dönemde kemik iyileşmesine osteblastik differansiyasyonu artırmak gibi (163) olumlu etkilerde bulunan IL-17, geç dönemde osteoblastlardan TNF- α ve RANKL gibi pro-osteoklastojenik sitokinlerin salınımını uyarak kemik kaybı yapar (164). Çalışmamızda IL-17'nin C7 grubunda D7 grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkması bunu destekler niteliktedir, ancak kontrol grubunda zamanla azalması beklenirken C28 grubunda, C14 ile benzer şekilde orta şiddette immünpozitiflik gözlenmiştir.

Fare modelinde yapılan bir çalışmada, IL-17A antikoru uygulamasının kortikal kemik yara iyileşmesini olumlu etkilediği ve başka bir çalışmada da bifosfanata bağlı osteonekrozda gerileme sağladığı gösterilmiştir (165,166). Bizim çalışmamızda IL-17'nin immünopozitifliği zamanla azalmakla birlikte, kontrol gruplarında DM gruplarına göre anlamlı şekilde daha yoğundur. Kontrol grubunun 28inci gün iyileşmesi ile diyabet grubunun 7inci gün iyileşmesinde benzer IL-17 immünopozitifliği gözlenmiştir. Ancak literatürde bu sonuçları karşılaştırabileceğimiz yeterli çalışma yoktur. Çalışmalar genel olarak IL-17'nin cilt yaralanmalarındaki etkisine odaklanmıştır ve bu çalışmalardaki sonuçlar genel olarak IL-17'nin yara iyileşmesine olumsuz etkileri olduğunu vurgular nitelikte olsa da tam tersi sonuçlara ulaşan araştırmalar da vardır. Birbiriyle çelişen bu sonuçlar, IL-17'nin birçok farklı değişkene göre farklı sonuçlar verebildiğine işaret ediyor olabilir. IL-17'nin yara

iyileşmesine olan etkileri ile ilgili yorumda bulunabilmek için yaş, cinsiyet, zamanlama, yara çeşitliliği gibi faktörlerin eşleştirildiği kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Kemik yaralanmasının incelendiği çalışmamız sonuçlarına göre IL-17'nin dış çekim soketi iyileşmesine olumlu etkilerde bulunduğu söylenebilir.

Çalışmamızda asıl incelemek istediğimiz nokta çekim soketlerinde immünohistokimyasal olarak Del-1 proteini seviyelerinin ne durumda olduğu idi. Del-1 ekstrasellüler proteini anjiyogenez fonksiyonu sebebiyle öncelikli olarak kanser dokularında incelenmiş ve overekspresyonunun tümör hücrelerinin apoptozunu engellediği ve tümör vaskülarizasyonunu artırdığı gözlenmiştir (167). Bu da onu, antianjiyojenik kanser tedavisi ve vaskülarizasyonun anormal olduğu diğer hastalıkların tedavisinde hedef alınmaya aday kılmıştır (12,168,169). Tümör dokularından elde edilen Del-1'in osteoklastogenezi ve bunun yol açtığı kemik kaybını önleyeceği hipotezini kuran farklı bir çalışmada Mikro-BT ve histokimyasal boyamada bu hipotez kanıtlanmıştır (170). Ancak bu çalışmanın çeşitli limitasyonları olduğu da vurgulanmıştır.

Del-1'in bir başka incelenen özelliği anti-enflamatuvar etkileridir (171). Hücre ve hayvan çalışmasının sonuçlarının paylaşıldığı bir araştırmada (172) Del-1'in farklı hücrelerden salınımının farklı etkileri olduğuna vurgu yapılmıştır. Endotel hücreleri kaynaklı Del-1 nötrofil alımının azalmasında etkiliyken, makrofaj kaynaklı Del-1 efferositozda etki göstermiştir. Del-1'in bu çok yönlü işlevselliğinin, farklı yapısal alanlara ve bu molekülün spatiotemporal ekspresyonuna bağlı olduğu savunulmuştur. Bu proteinin DM'de yara iyileşme bozukluğunda etkili olabileceğini anjiyogenez ile olan ilişkisi (12) ve anti-enflamatuvar özellikleri düşündürmüştür, çünkü DM'de mikrovasküler hasar, endotelyal disfonksiyonlar ve enflamasyon tablosu olduğu genel bilgiler bölümünde belirttiğimiz şekilde birçok çalışma ile kanıksanmıştır (84,96,97). Del-1 proteininin hangi dokularda ve hangi şartlarda ne gibi özellikler gösterdiğini anlayabilmek için daha çeşitli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. T2DM modelinde dış çekim soketlerinin iyileşmesindeki rolü, bilginiz dahilinde, incelenmemiştir.

Obezite ve T2DM ile ilişkili olarak incelendiğinde, Del-1 proteininin obezitede, kontrol grubuna göre daha az salgılandığı gözlenmiştir. Egzersiz yapmak ise salınımlarını artırmıştır (173). Bu çalışmanın üzerine yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ve ayrı olarak fare iskelet kası hücre hattında yapılan bir çalışmada uygulanan

Del-1'in IR'yi azalttığı gösterilmiştir (174). Bu sonuçlar Del-1'in DM'de incelenmesi gereken bir protein olduğuna işaret etmektedir. Bizim çalışmamızda rat diş çekim soketlerinden aldığımız kesitlerde yaptığımız immünohistokimyasal analizde Del-1 proteininin immünopozitifliğinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha az olduğu bulunmuştur ve zaman geçtikçe seviyesi azalmıştır. Bu da Del-1'in yukarıda bahsedildiği gibi DM ile olan ilişkisine işaret etmektedir ve osteoklastogenezi önleme (170) etkisi ile de uyumludur.

Del-1 ve IL-17'nin dengeli çalışmasının immün sistem homeostazı için önemli olduğu düşünülmektedir (175). Periodontitis, diyabet, IL-17 ve Del-1 tükürük seviyelerinin; periodontal olarak sağlıklı hastalar, kronik periodontitisli hastalar, periodontal olarak sağlıklı ve DM için ilaç kullanan hastalar, kronik periodontitisli ve DM için ilaç kullanan kontrollü DM hastaları ve kronik periodontitisli ve kontrolsüz DM'li hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada kontrol grubuna göre periodontitis ve DM'nin bir arada olduğu ya da sadece kronik periodontitisin olduğu hastalarda, istatistiksel anlamlı olarak daha düşük Del-1 ve daha yüksek IL-17 değerleri gözlenmiştir ve Del-1 ile IL-17 arasında negatif korelasyona rastlanmıştır (176). Benzer başka bir çalışmada da tükürük Del-1 ve IL-17 oranları arasında negatif korelasyon görülmüş ve DM grubunda Del-1 seviyesi düşük, IL-17 seviyesi yüksek gözlenmiştir (177). Başka çalışmalar da IL-17 ve Del-1'in birbirlerinin ekspresyonlarını downregüle ettiğini göstermektedir (178–180). Del-1 proteini ile zıt olarak çalışan IL-17 proteininin DM'de salınımının arttığı da raporlanmıştır (181). Del-1 bizim çalışma sonuçlarımızda da kontrol grubunda daha yüksek gözlenmiştir, fakat IL-17 de benzer şekilde kontrol grubunda yüksektir ve birbirleri arasında negatif korelasyona rastlanmamıştır. Bunun birçok sebebi olabilir. İlk olarak akla gelen ise, inceleme yapılan örneğin, zamanlamanın ve inceleme metodunun farklı oluşudur. Bizim çalışmamızda ratlarda diş çekim soketi iyileşmesinde immünohistokimyasal inceleme yapılmış olması ile insan tükürük örneğinde ELISA çalışılmış olması çalışmalar arası bu sitokinlerin seviyelerini karşılaştırmamızı zorlaştırmaktadır.

Shin ve ark.nın deneysel periodontitis oluşturulan maymun modelinde yaptığı çalışmada periodontitis oluşturulan dişlerin palatinal gingivalarına Del-1 uygulamasının OPG ve RANKL üzerindeki etkileri gingiva ve kemik biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal analiz ile incelenmiştir ve Del-1 uygulamasının

RANKL ekspresyonunu azalttığı ve OPG ekspresyonunu artırdığı raporlanmıştır (179). Bu sonuç bizim çalışmamız ile uyumludur, çünkü Del-1 ile OPG ve RANKL ile IL-17 pozitif korele bulunmuştur.



6 SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İki haftalık yağlı diyet sonrası düşük doz STZ uygulamasının T2DM özelliklerini gösteren bir model olduğu bu gruplardaki obezite tablosu ve yüksek HOMA-IR değerleri ile gösterilmiştir.
2. Kilo fazlalığı ile ilişkili dislipidemi tablosu, IR ve insülin eksikliği söz konusu olduğunda, yüksek TG konsantrasyonu, düşük HDL-C konsantrasyonu ve artmış LDL-C partikülleri konsantrasyonu şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu genellemeden farklı olarak bizim çalışma sonuçlarımızda DM gruplarındaki HDL-C seviyelerinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte DM'deki dislipidemi tablosu ile uyumlu şekilde, deney grubunda yüksek Kol, TG ve LDL-C değerlerine rastlanmıştır.
3. Mikro-BT analiz sonuçlarına göre BV/TV, Tb.Sp ve Po(tot) değerleri D28 grubunda C28 grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar DM'nin kemik iyileşmesini olumsuz etkilediğini göstermektedir.
4. İmmünohistokimyasal incelemede diş çekimi sonrası beklenen gün sayıları eşit olan grupların ikili karşılaştırılmasında tüm proteinler açısından kontrol grupları DM gruplarından istatistiksel anlamlı şekilde yüksek immünopozitiflik vermiştir.
5. OPG ve RANKL immünopozitiflikleri incelendiğinde; deney gruplarına göre kontrol gruplarında istatistiksel anlamlı olarak daha fazla OPG ve RANKL immünopozitifliği ve aynı zamanda artmış RANKL/OPG oranları gözlenmiştir. Bu sonuçlar, halihazırda devam etmekte olan iyileşme sürecinin ve bununla ilişkili olarak kemik devriminin kontrol gruplarında, DM gruplarına göre daha aktif olduğuna işaret edebilir.
6. IL-17'nin C7 grubunda D7 grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkmıştır, ancak kontrol grubunda zamanla azalması beklenirken C28 grubunda, C14 ile benzer şekilde orta şiddette immünopozitiflik gözlenmiştir. Literatürde genel olarak IL-17'nin cilt yaralanmalarındaki etkisine odaklanan çalışmalara rastlanmıştır ve bu çalışmalardaki sonuçlar genel olarak IL-17'nin yara iyileşmesine olumsuz etkileri olduğunu vurgular nitelikte olsa da tam tersi sonuçlara ulaşan araştırmalar da vardır. Birbiriyle çelişen bu sonuçlar, IL-

17'nin birçok farklı değişkene göre farklı sonuçlar verebildiğine işaret ediyor olabilir. IL-17'nin yara iyileşmesine olan etkileri ile ilgili yorumda bulunabilmek için yaş, cinsiyet, zamanlama, yara çeşitliliği gibi faktörlerin eşleştirildiği kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Kemik yaralanmasının incelendiği çalışmamızın sonuçlarına göre IL-17'nin diş çekim soketi iyileşmesine olumlu etkilerde bulunduğu söylenebilir.

7. İmmünohistokimyasal analizde Del-1 proteininin immünpozitifliğinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha az olduğu bulunmuştur ve zaman geçtikçe seviyesi azalmıştır. Bu sonuç, Del-1'in osteoklastogenezi önleme etkisi ile uyumludur ve aynı zamanda Del-1'in DM'de incelenmesi gereken bir protein olduğuna işaret etmekte ve DM'ye bağlı yara iyileşme bozukluklarında Del-1 proteinini tıpkı kanser tedavilerinde olduğu gibi hedef alınmaya aday kılmaktadır.
8. Literatürde IL-17 ve Del-1'in birbirlerinin ekspresyonlarını downregüle ettiklerini gösteren çalışmalar vardır, fakat bizim çalışma sonuçlarımızda bu şekilde bir negatif korelasyona rastlanmamıştır. Bunun sebebi inceleme yapılan örneğin, zamanlamanın ve inceleme metodunun farklı oluşu olabilir.
9. Diyabette farklı yara modellerinde Del-1 ve IL-17 proteinlerinin incelendiği ve rekombinant olarak uygulanmasının sonuçlarının araştırıldığı kontrollü çalışmalara da ihtiyaç vardır.

7 KAYNAKLAR

1. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot [Internet]. Vol. 366, *Lancet*. Lancet; 2005 [cited 2022 May 18]. p. 1736–43.
2. Devlin H, Garland H, Sloan P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. *J Oral Maxillofac Surg*. 1996;54(9):1087–91.
3. Chang P, Chung M, Wang Y, Chien L, Lim JC, Liang K, et al. Patterns of Diabetic Periodontal Wound Repair: A Study Using Micro-Computed Tomography and Immunohistochemistry. *J Periodontol*. 2012;83(5):644–52.
4. Zhang S, Song S, Wang S, Duan Y, Zhu W, Song Y. Type 2 diabetes affects postextraction socket healing and influences first-stage implant surgery: A study based on clinical and animal evidence. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Jun 1;21(3):436–45.
5. Gadicherla S, Smriti K, Roy S, Pentapati KC, Rajan J, Walia A. Comparison of extraction socket healing in non-diabetic, prediabetic, and type 2 diabetic patients. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2020;12:291–6.
6. Pitol-Palin L, Batista FR de S, Gomes-Ferreira PHS, Mulinari-Santos G, Ervolino E, Souza FÁ, et al. Different Stages of Alveolar Bone Repair Process Are Compromised in the Type 2 Diabetes Condition: An Experimental Study in Rats. *Biol* 2020, Vol 9, Page 471 [Internet]. 2020 Dec 16 [cited 2022 Jun 2];9(12):471.
7. KO KI, SCULEAN A, GRAVES DT. Diabetic wound healing in soft and hard oral tissues. Vol. 236, *Translational Research*. Mosby Inc.; 2021. p. 72–86.
8. Hidai C, Zupancic T, Penta K, Mikhail A, Kawana M, Quertermous EE, et al. Cloning and characterization of developmental endothelial locus-1: An embryonic endothelial cell protein that binds the $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin receptor. *Genes Dev* [Internet]. 1998 Jan 1 [cited 2022 May 23];12(1):21–33.
9. Varner JA, Brooks PC, Cheresch DA. Review: The integrin $\alpha\text{v}\beta 3$: Angiogenesis and apoptosis. *Cell Commun Adhes* [Internet]. 1995 [cited 2022 May 23];3(4):367–74.

10. Eskan MA, Jotwani R, Abe T, Chmelar J, Lim JH, Liang S, et al. The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. *Nat Immunol* [Internet]. 2012 May [cited 2022 May 23];13(5):465–73.
11. Penta K, Varner JA, Liaw L, Hidai C, Schatzman R, Quertermous T. Del1 induces integrin signaling and angiogenesis by ligation of $\alpha v\beta 3$. *J Biol Chem*. 1999 Apr 16;274(16):11101–9.
12. Ho HK V., Jang JJ, Kaji S, Spektor G, Fong A, Yang P, et al. Developmental Endothelial Locus-1 (Del-1), a Novel Angiogenic Protein: Its Role in Ischemia. *Circulation*. 2004;109(10):1314–9.
13. BARTOLD PM, WALSH LJ, NARAYANAN AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000* [Internet]. 2000 Oct [cited 2020 Oct 5];24(1):28–55.
14. The healthy mouth. In: *Restorative Dentistry*. Elsevier; 2007. p. 3–11.
15. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Al E. Newman and Carranza's Clinical Periodontology Chapter 3. In: 13th ed. Elsevier Health Sciences; 2018.
16. Ainamo J, Löe H. Anatomical Characteristics of Gingiva. A Clinical and Microscopic Study of the Free and Attached Gingiva. *J Periodontol*. 1966;37(1):5–13.
17. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000*. 1997;13(1):91–120.
18. Hashimoto S, Yamamura T, Shimono M. Morphometric analysis of the intercellular space and desmosomes of rat junctional epithelium. *J Periodontal Res*. 1986;21(5):510–20.
19. Murrell EF, Yen EH, Johnson RB. Vascular changes in the periodontal ligament after removal of orthodontic forces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* [Internet]. 1996 [cited 2020 Oct 7];110(3):280–6.
20. Watson WG. One more consideration- The periodontium. *Am J Orthod* [Internet]. 1979 Jul [cited 2020 Oct 6];76(1):100–2.
21. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza et al. Newman and Carranza's Clinical Periodontology Chapter 3 p.33. In: 13th ed. Elsevier Health Sciences; 2018.

22. Yamamoto H, Niimi T, Yokota-Ohta R, Suzuki K, Sakae T, Kozawa Y. Diversity of acellular and cellular cementum distribution in human permanent teeth. *J Hard Tissue Biol.* 2009;18(1):40–4.
23. Leider AS, Garbarino VE. Generalized hypercementosis. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1987;63(3):375–80.
24. Pathapati Raju S, Padala Reddy S, Ananthnag J. Glandular odontogenic cyst of the anterior mandible. *N Am J Med Sci.* 2015;7(2):65–9.
25. Ponzetti M, Rucci N. Osteoblast differentiation and signaling: Established concepts and emerging topics. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences.* 2021.
26. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells.* Vol. 2015, BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
27. Tompkins KA. The osteoimmunology of alveolar bone loss. Vol. 57, *Connective Tissue Research.* Taylor and Francis Ltd; 2016. p. 69–90.
28. Lindhe, Jan; Karring, Thorkild; Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Fourth Edition.* Vol. 82, *Journal of Dental Research.* 2003. 33 p.
29. Hughes FJ. Periodontium and Periodontal Disease. In: *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences* [Internet]. Elsevier Inc.; 2015 [cited 2021 Feb 8]. p. 433–44.
30. Araújo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: What can we learn? *Periodontol 2000.* 2015 Jun 1;68(1):122–34.
31. Jonasson G, Skoglund I, Rythén M. The rise and fall of the alveolar process: Dependency of teeth and metabolic aspects. Vol. 96, *Archives of Oral Biology.* 2018.
32. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: The socket that is never stable. *Periodontol 2000.* 1997;13(1):76–90.
33. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol 2000.* 2000;24(1):99–126.
34. Horowitz MC, Xi Y, Wilson K, Kacena MA. Control of osteoclastogenesis and

- bone resorption by members of the TNF family of receptors and ligands. *Cytokine Growth Factor Rev* [Internet]. 2001 [cited 2022 May 13];12(1):9–18.
35. Meikle MC. Remodeling the dentofacial skeleton: The biological basis of orthodontics and dentofacial orthopedics. *J Dent Res* [Internet]. 2007 Jan [cited 2022 May 13];86(1):12–24.
 36. Burgess TL, Qian YX, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* [Internet]. 1999 May 3 [cited 2022 May 13];145(3):527–38.
 37. Collin-Osdoby P. Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ Res* [Internet]. 2004 Nov 26 [cited 2022 Jun 7];95(11):1046–57.
 38. Kanzaki H, Chiba M, Arai K, Takahashi I, Haruyama N, Nishimura M, et al. Local RANKL gene transfer to the periodontal tissue accelerates orthodontic tooth movement. *Gene Ther* [Internet]. 2006 Apr [cited 2022 May 13];13(8):678–85.
 39. Rochefort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: The unrecognized side of bone tissue [Internet]. Vol. 21, *Osteoporosis International*. Osteoporos Int; 2010 [cited 2021 Aug 11]. p. 1457–69.
 40. Nahian A, Davis DD. Histology, Osteoprogenitor Cells. *StatPearls* [Internet]. 2020 Nov 19 [cited 2022 Jul 22];
 41. San Miguel SM, Fatahi MR, Li H, Igwe JC, Aguila HL, Kalajzic I. Defining a visual marker of osteoprogenitor cells within the periodontium. *J Periodontal Res* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 Jul 21];45(1):60.
 42. Matic I, Matthews BG, Wang X, Dymont NA, Worthley DL, Rowe DW, et al. Quiescent Bone Lining Cells Are a Major Source of Osteoblasts During Adulthood. *Stem Cells* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Jul 19];34(12):2930.
 43. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: How osteoblasts become osteocytes [Internet]. Vol. 235, *Developmental Dynamics*. Dev Dyn; 2006 [cited 2021 Aug 11]. p. 176–90.
 45. Saltel F, Destaing O, Bard F, Eichert D, Jurdic P. Apatite-mediated actin dynamics in resorbing osteoclasts. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2004 Dec [cited

2021 Aug 13];15(12):5231–41.

46. Maitra S, Dutta D. Downregulation of hexose sugar metabolism in diabetes decreases the rate of wound healing. In: *Wound Healing, Tissue Repair, and Regeneration in Diabetes*. Academic Press; 2020. p. 259–70.
47. Chen Y, Guo Y, Li J, Qiong YC, Li L, Zhang ZGS, et al. Endoplasmic reticulum stress remodels alveolar bone formation after tooth extraction. 2020;(May):12411–20.
48. Gomes P de S, Daugela P, Poskevicius L, Mariano L, Fernandes MH. Molecular and Cellular Aspects of Socket Healing in the Absence and Presence of Graft Materials and Autologous Platelet Concentrates: a Focused Review. *J Oral Maxillofac Res* [Internet]. 2019 Sep 5 [cited 2021 Sep 7];10(3):3–5.
49. Farina R, Trombelli L. Wound healing of extraction sockets. *Endod Top* [Internet]. 2011 Sep 1 [cited 2021 Sep 7];25(1):16–43.
50. Lin W -L, McCulloch CAG, Cho M -I. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *Anat Rec* [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2021 Sep 1];240(4):492–506.
51. Smith N. A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. *Aust Dent J*. 1974;19(4):250–4.
52. AMLER MH, JOHNSON PL, SALMAN I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc* [Internet]. 1960 Jul 1 [cited 2021 Sep 8];61(1):32–44.
53. Davies JE, Hosseini MH. Histodynamics of Endosseous Wound Healing. Davies JE, editor. *Bone Eng*. 2000;(January):1–14.
54. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2003;30(9):809–18.
55. Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol*. 2008;35(7):630–9.
56. Magliano DJ, Zimmet P, Shaw JE. Classification of diabetes mellitus and other

- categories of glucose intolerance. Int Textb Diabetes Mellit [Internet]. 2015 Mar 6 [cited 2022 May 12];1–16.
57. IDF Europe members | population statistics of Turkiye [Internet]. [cited 2022 May 12].
 58. Diabetes [Internet]. [cited 2022 May 17].
 59. Diagnosis | ADA [Internet]. [cited 2022 May 12].
 60. Krishnan B, Prasad GA, Saravanan R, Madhan B, Kadhiravan T. Do preoperative glycosylated hemoglobin (HbA1C) and random blood glucose levels predict wound healing complications following exodontia in type 2 diabetes mellitus patients?—a prospective observational study. Clin Oral Investig. 2020;
 61. Kaiafa G, Veneti S, Polychronopoulos G, Pilalas D, Daios S, Kanellos I, et al. Is HbA1c an ideal biomarker of well-controlled diabetes? Postgrad Med J. 2021 Jun 1;97(1148):380–3.
 62. International Diabetes Federation | IDF Guide for Epidemiology Studies [Internet]. [cited 2022 May 12].
 63. Eyth E, Basit H, Smith CJ. Glucose Tolerance Test. Br Med J [Internet]. 2022 Jan 9 [cited 2022 May 13];2(5145):191–2.
 64. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization; 1999. p. WHO/NCD/NCS/99.2.
 65. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. Diabetes Care. 2022 Jan 1;45:S17–38.
 66. Ahlqvist E, Prasad RB, Groop L. Towards improved precision and a new classification of diabetes mellitus. Vol. 252, Journal of Endocrinology. BioScientifica Ltd.; 2022. p. R59–70.
 67. Wang L, Gao P, Zhang M, Huang Z, Zhang D, Deng Q, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013. JAMA - J Am Med Assoc [Internet]. 2017 Jun 27 [cited 2022 May 17];317(24):2515–23.
 68. Good to Know: Diabetes Symptoms and Tests. Clin Diabetes. 2020 Jan

1;38(1):108–108.

69. Salman S, Satman I. Diabetes-Specific Antibodies and Their use in Clinical Practice. *Turkish J Endocrinol Metab*. 2011;15(1).
70. Obesity and overweight [Internet]. [cited 2022 May 22].
71. TÜİK Kurumsal [Internet]. [cited 2022 May 22]. 33661
72. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* [Internet]. 2006 Dec 13 [cited 2022 May 22];444(7121):840–6.
73. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* [Internet]. 2009 Mar [cited 2022 May 23];5(3):150–9.
74. Simonen PP, Gylling HK, Miettinen TA. Diabetes contributes to cholesterol metabolism regardless of obesity. *Diabetes Care* [Internet]. 2002 Sep [cited 2022 May 22];25(9):1511–5.
75. Jin Chan S, Steiner DF. Insulin Through the Ages: Phylogeny of a Growth Promoting and Metabolic Regulatory Hormone. *Am Zool*. 2000 Apr;40(2):213–22.
76. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev* [Internet]. 2018 Oct 10 [cited 2022 May 21];98(4):2133–223.
77. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* [Internet]. 2003 Jan 1 [cited 2022 May 22];46(1):3–19.
78. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med*. 1990;113(12):909–15.
79. Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, et al. Insulin Resistance and Insulin Secretory Dysfunction as Precursors of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Prospective Studies of Pima Indians. *N Engl J Med* [Internet]. 1993 Jan 15 [cited 2022 May 22];329(27):1988–92.
80. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab* [Internet]. 2016 [cited 2022 May 22];60(2):138–

81. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* [Internet]. 1985 Jul [cited 2022 May 22];28(7):412–9.
82. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. Vol. 15, *Diabetic Medicine*. World Health Organization; 1998. p. 539–53.
83. Schlesinger S, Neuenschwander M, Barbaresko J, Lang A, Maalmi H, Rathmann W, et al. Prediabetes and risk of mortality, diabetes-related complications and comorbidities: umbrella review of meta-analyses of prospective studies. *Diabetologia*. 2022 Feb 1;65(2):275–85.
84. Huang Y, Cai X, Mai W, Li M, Hu Y. Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* [Internet]. 2016 Nov 23 [cited 2022 May 17];355.
85. Echouffo-Tcheugui JB, Narayan KM, Weisman D, Golden SH, Jaar BG. Association between prediabetes and risk of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 May 17];33(12):1615–24.
86. Huang Y, Cai X, Qiu M, Chen P, Tang H, Hu Y, et al. Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2022 May 17];57(11):2261–9.
87. Xue M, Xu W, Ou YN, Cao XP, Tan MS, Tan L, et al. Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia: A systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies. *Ageing Res Rev*. 2019 Nov 1;55:100944.
88. Luo X, Wu J, Jing S, Yan LJ. Hyperglycemic stress and carbon stress in diabetic glucotoxicity. *Aging Dis* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2022 May 19];7(1):90–110. Available from: /pmc/articles/PMC4723237/
89. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* [Internet]. 2010 Oct 29 [cited 2022 May 19];107(9):1058–70.

90. ÇETİNER Ö, RAKICIOĞLU N. Hiperglisemi, Oksidatif Stres ve Tip 2 Diyabette Oksidatif Stres Belirteçlerinin Tanımlanması. *Turkish J Diabetes Obes.* 2020;4(1):60–8.
91. Ahmed KA, Muniandy S, Ismail IS. Type 2 diabetes and vascular complications: A pathophysiologic view. *Biomed Res.* 2010;21(2):147–55.
92. Lee TS, Saltsman KA, Ohashi H, King GL. Activation of protein kinase C by elevation of glucose concentration: Proposal for a mechanism in the development of diabetic vascular complications. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1989 [cited 2022 May 18];86(13):5141–5.
93. Therien AG, Blostein R. Mechanisms of sodium pump regulation. *Am J Physiol - Cell Physiol* [Internet]. 2000 [cited 2022 May 18];279(3 48-3).
94. Semba RD, Huang H, Luttly GA, Van Eyk JE, Hart GW. The role of O-GlcNAc signaling in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Proteomics - Clin Appl* [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2022 May 19];8(3–4):218–31.
95. Wright E, Scism-Bacon JL, Glass LC. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int J Clin Pract* [Internet]. 2006 Mar [cited 2022 May 19];60(3):308.
96. Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. *Br Med J* [Internet]. 2000 Aug 12 [cited 2022 May 18];321(7258):405–12.
97. Tooke JE, Brash PD. Microvascular aspects of diabetic foot disease. *Diabet Med* [Internet]. 1996 [cited 2022 May 18];13(SUPPL. 1):S26–9.
98. Palladino R, Tabak AG, Khunti K, Valabhji J, Majeed A, Millett C, et al. Association between pre-diabetes and microvascular and macrovascular disease in newly diagnosed type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 May 17];8(1):e001061.
99. Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther* [Internet]. 2008 [cited 2022 May 19];88(11):1322–35.
100. Spranger J, Osterhoff M, Reimann M, Möhlig M, Ristow M, Francis MK, et al.

- Loss of the antiangiogenic pigment epithelium-derived factor in patients with angiogenic eye disease. *Diabetes* [Internet]. 2001 [cited 2022 May 19];50(12):2641–5.
101. Lioupis C. Effects of diabetes mellitus on wound healing: an update. *J Wound Care* [Internet]. 2005 Sep 29 [cited 2022 May 18];14(2):84–6.
 102. Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *J Am Med Assoc* [Internet]. 2002 Nov 27 [cited 2022 May 19];288(20):2579–88.
 103. Guo S, DiPietro LA. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *J Dent Res* [Internet]. 2010 Mar 5 [cited 2022 May 19];89(3):219–29.
 104. Berlanga-Acosta J, Schultz GS, López-Mola E, Guillen-Nieto G, García-Siverio M, Herrera-Martínez L. Glucose toxic effects on granulation tissue productive cells: The diabetics' impaired healing [Internet]. Vol. 2013, *BioMed Research International. Biomed Res Int*; 2013 [cited 2022 May 18].
 105. Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition. *Hum Pathol*. 2009;40(10):1365–76.
 106. Rowe DW, Starman BJ, Fujimoto WY, Williams RH. Abnormalities in proliferation and protein synthesis in skin fibroblast cultures from patients with diabetes mellitus. *Diabetes* [Internet]. 1977 Apr 1 [cited 2022 May 19];26(4):284–90. Proliferation-and-Protein
 107. Goldstein S. Cellular and molecular biological studies on diabetes mellitus. *Pathol Biol*. 1984 Feb;32(2):99–106.
 108. Loughlin DT, Artlett CM. 3-Deoxyglucosone-collagen alters human dermal fibroblast migration and adhesion: Implications for impaired wound healing in patients with diabetes. *Wound Repair Regen* [Internet]. 2009 Sep [cited 2022 May 19];17(5):739–49.
 109. Obrenovich ME, Monnier VM. Apoptotic killing of fibroblasts by matrix-bound advanced glycation endproducts. *Sci Aging Knowledge Environ* [Internet]. 2005 [cited 2022 May 19];2005(4).
 110. Pirola L, Balcerczyk A, Okabe J, El-Osta A. Epigenetic phenomena linked to

diabetic complications. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2010 Dec [cited 2022 May 19];6(12):665–75.

111. Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res* [Internet]. 2001 [cited 2022 May 19];88(2).
112. Tamarat R, Silvestre JS, Huijberts M, Benessiano J, Ebrahimian TG, Duriez M, et al. Blockade of advanced glycation end-product formation restores ischemia-induced angiogenesis in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Jul 8 [cited 2022 May 20];100(14):8555–60.
113. Magnusson PU, Looman C, Åhgren A, Wu Y, Claesson-Welsh L, Heuchel RL. Platelet-derived growth factor receptor-beta constitutive activity promotes angiogenesis in vivo and in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2007 Oct [cited 2022 May 20];27(10):2142–9.
114. Moriya J, Ferrara N. Inhibition of protein kinase C enhances angiogenesis induced by platelet-derived growth factor C in hyperglycemic endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2015 Feb 7 [cited 2022 May 20];14(1).
115. Boulton AJM. The pathway to foot ulceration in diabetes. *Med Clin North Am*. 2013 Sep 1;97(5):775–90.
116. Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT, Brothers MJ, Nechemias C, Smith H. Infection and diabetes: The case for glucose control. *Am J Med*. 1982 Mar 1;72(3):439–50.
117. Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-κB activation by reactive oxygen species: Fifteen years later. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2006 Nov 30 [cited 2022 May 19];72(11):1493–505.
118. Wu C, Hughes PE, Ginsberg MH, McDonald JA. Identification of a new biological function for the integrin αvβ3: Initiation of fibronectin matrix assembly. *Cell Commun Adhes* [Internet]. 1996 [cited 2022 May 23];4(3):149–58.
119. Choi EY, Chavakis E, Czabanka MA, Langer HF, Fraemohs L, Economopoulou M, et al. Del-1, an endogenous leukocyte-endothelial adhesion inhibitor, limits inflammatory cell recruitment. *Science* (80-) [Internet]. 2008 Nov 1 [cited 2022

May 23];322(5904):1101–4.

120. Shin J, Maekawa T, Abe T, Hajishengallis E, Hosur K, Pyaram K, et al. DEL-1 restrains osteoclastogenesis and inhibits inflammatory bone loss in nonhuman primates. *Sci Transl Med* [Internet]. 2015 Sep 30 [cited 2022 May 23];7(307).
121. Chung SH, Ye XQ, Iwakura Y. Interleukin-17 family members in health and disease. *Int Immunol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 May 24];33(12):723–9.
122. Ruiz de Morales JMG, Puig L, Daudén E, Cañete JD, Pablos JL, Martín AO, et al. Critical role of interleukin (IL)-17 in inflammatory and immune disorders: An updated review of the evidence focusing in controversies. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 May 24];19(1).
123. Hadian Y, Bagood MD, Dahle SE, Sood A, Isseroff RR. Interleukin-17: Potential Target for Chronic Wounds. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2019 [cited 2022 May 24];2019.
124. Wu L, Chen X, Zhao J, Martin B, Zepp JA, Ko JS, et al. A novel IL-17 signaling pathway controlling keratinocyte proliferation and tumorigenesis via the TRAF4-ERK5 axis. *J Exp Med* [Internet]. 2015 Sep 21 [cited 2022 May 25];212(10):1571–87.
125. Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Cardinale I, et al. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *Br J Dermatol* [Internet]. 2008 Nov [cited 2022 May 25];159(5):1092–102.
126. Saxena S, Venugopal R, Chandrayan Rao R, Yuwanati MB, Awasthi H, Jain M. Association of chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus with salivary Del-1 and IL-17 levels. *J Oral Biol Craniofacial Res* [Internet]. 2020;10(4):529–34.
127. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2014 [cited 2022 Jun 2];5(4):349–
128. Tang Z, Louie RF, Lee JH, Lee DM, Miller EE, Kost GJ. Oxygen effects on glucose meter measurements with glucose dehydrogenase- and oxidase-based test strips for point-of-care testing. *Crit Care Med* [Internet]. 2001 [cited 2022

May 30];29(5):1062–70.

129. Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T, et al. Morphometric Analysis of Human Bone Biopsies: A Quantitative Structural Comparison of Histological Sections and Micro-Computed Tomography. *Bone* [Internet]. 1998 Jul [cited 2022 May 28];23(1):59–66.
130. Chappard D, Retailleau-Gaborit N, Legrand E, Baslé MF, Audran M. Comparison insight bone measurements by histomorphometry and μ CT. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2005 Jul [cited 2022 May 28];20(7):1177–84.
131. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt MA, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1989 [cited 2022 May 28];4(1):3–11.
132. Islam MS, Choi H, Loots DT. Effects of dietary onion (*Allium cepa* L.) in a high-fat diet streptozotocin-induced diabetes rodent model. *Ann Nutr Metab*. 2008;53(1):6–12.
133. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. 2014;5(4):349–58.
134. Ghiasi R, Soufi FG, Somi MH, Mohaddes G, Babil FM, Naderi R, et al. Swim training improves HOMA-IR in type 2 diabetes induced by high fat diet and low dose of streptozotocin in male rats. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2015 [cited 2021 Jan 3];5(3):379–84.
135. Ram H, Krishna A. Improvements in Insulin Resistance and β -Cells Dysfunction by DDP-4 Inhibition Potential of *Withania somnifera* (L.) Dunal Root Extract in Type 2 Diabetic Rat. 2021 [cited 2021 Jan 4];11(1):8141–55.
136. Chao PC, Li Y, Chang CH, Shieh JP, Cheng JT, Cheng KC. Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes. *Biomed Pharmacother*. 2018 May 1;101:155–61.
137. Leng YP, Qiu N, Fang WJ, Zhang M, He ZM, Xiong Y. Involvement of increased endogenous asymmetric dimethylarginine in the hepatic endoplasmic reticulum stress of type 2 diabetic rats. *PLoS One*. 2014;9(6).
138. Gandhi GR, Stalin A, Balakrishna K, Ignacimuthu S, Paulraj MG, Vishal R.

Insulin sensitization via partial agonism of PPAR γ and glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway by embelin in type 2 diabetic rats. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* [Internet]. 2013;1830(1):2243–55.

139. Hou L, Lian K, Yao M, Shi Y, Lu X, Fang L, et al. Reduction of n-3 PUFAs, specifically DHA and EPA, and enhancement of peroxisomal beta-oxidation in type 2 diabetic rat heart. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2012 Oct 11 [cited 2022 Jun 2];11(1):1–8.
140. Shen X, Shen X, Li B, Zhu W, Fu Y, Xu R, et al. Abnormal macrophage polarization impedes the healing of diabetes- associated tooth sockets. 2020;(June).
141. Okoduwa SIR, Umar IA, James DB, Inuwa HM. Appropriate Insulin Level in Selecting Fortified Diet-Fed, Streptozotocin-Treated Rat Model of Type 2 Diabetes for Anti-Diabetic Studies. Bader M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2017 Jan 27 [cited 2021 Jan 1];12(1):e0170971.
142. Zhang M, Lv X, Li J, Xu Z, Chen L. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. 2008;2008.
143. Guo X, Wang Y, Wang K, Ji B, Zhou F. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. *J Zhejiang Univ Sci B* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2021 Jan 2];19(7):559. Available from: /pmc/articles/PMC6052359/?report=abstract
144. Albersen M, Lin G, Fandel TM, Zhang H, Qiu X, Lin CS, et al. Functional, metabolic, and morphologic characteristics of a novel rat model of type 2 diabetes-associated erectile dysfunction. *Urology* [Internet]. 2011 [cited 2022 Jun 3];78(2):476.e1-476.e8.
145. Sharma AK, Bharti S, Ojha S, Bhatia J, Kumar N, Ray R, et al. Up-regulation of PPAR γ , heat shock protein-27 and-72 by naringin attenuates insulin resistance, β -cell dysfunction, hepatic steatosis and kidney damage in a rat model of type 2 diabetes. *Br J Nutr* [Internet]. 2011 Dec 14 [cited 2022 Jun 3];106(11):1713–23. nd-kidney-damage-in-a-rat-model-of-type-2-diabetes/
146. Hussein AAM, Abdel-Aziz A, Gabr M, Hemmaid KZ. Myocardial and

metabolic dysfunction in type 2 diabetic rats: Impact of ghrelin. *Can J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2012 Jan [cited 2022 Jun 3];90(1):99–111

147. Abo-Elmatty DM, Essawy SS, Badr JM, Sterner O. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Urtica pilulifera* extracts in type2 diabetic rats. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2013;145(1):269–77.
148. Dds SZ, Song S, Shuyan BDS, Mds W, Duan Y, Wenzhong MDS, et al. Type 2 diabetes affects postextraction socket healing and influences first-stage implant surgery : A study based on clinical and animal evidence. 2019;436–45.
149. Xu L, Mei L, Zhao R, Yi J, Jiang Y, Li R, et al. The effects of intro-oral parathyroid hormone on the healing of tooth extraction socket: An experimental study on hyperglycemic rats. *J Appl Oral Sci*. 2020;28:1–9.
150. Furuse C, Almeida AF, Costa SF, Ervolino-Silva AC, Okamoto R, Sumida DH, et al. Influence of weight gain on the modulation of wound healing following tooth extraction. *Bone*. 2018 Sep 1;114:226–34.
151. Manrique N, Pereira CCS, Luvizuto ER, Sánchez MDPR, Okamoto T, Okamoto R, et al. Hypertension modifies OPG, RANK, and RANKL expression during the dental socket bone healing process in spontaneously hypertensive rats. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2015 Jul 26 [cited 2022 Jun 7];19(6):1319–27.
152. Canciani E, Dellavia C, Marazzi MG, Augusti D, Carmagnola D, Vianello E, et al. RNA isolation from alveolar bone and gene expression analysis of RANK, RANKL and OPG: A new tool to monitor bone remodeling and healing in different bone substitutes used for prosthetic rehabilitation. *Arch Oral Biol*. 2017 Aug 1;80:56–61.
153. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2022 Jun 7];39(3):239–48.
154. Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2022 Jun 7];84(4 Suppl):S113–34.
155. Zheng H, Qi S, Chen C. Salidroside Improves Bone Histomorphology and Prevents Bone Loss in Ovariectomized Diabetic Rats by Upregulating the

OPG/RANKL Ratio. *Mol* 2018, Vol 23, Page 2398 [Internet]. 2018 Sep 19 [cited 2022 Jun 7];23(9):2398.

156. Zheng HX, Chen DJ, Zu YX, Wang EZ, Qi SS. Chondroitin Sulfate Prevents STZ Induced Diabetic Osteoporosis through Decreasing Blood Glucose, AntiOxidative Stress, Anti-Inflammation and OPG/RANKL Expression Regulation. *Int J Mol Sci* 2020, Vol 21, Page 5303 [Internet]. 2020 Jul 26 [cited 2022 Jun 7];21(15):5303.
157. Forde H, Davenport C, Harper E, Cummins P, Smith D. The role of OPG/RANKL in the pathogenesis of diabetic cardiovascular disease. *Cardiovasc Endocrinol Metab* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Jun 7];7(2):28–33.
158. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2022 Jun 7];39(3):239–48.
159. De Amorim FPLG, Ornelas SS, Diniz SF, Batista AC, Da Silva TA. Imbalance of RANK, RANKL and OPG expression during tibial fracture repair in diabetic rats. *J Mol Histol* [Internet]. 2008 Aug 1 [cited 2022 Jun 7];39(4):401–8.
160. Wang XF, Zhang YK, Yu ZS, Zhou JL. The role of the serum RANKL/OPG ratio in the healing of intertrochanteric fractures in elderly patients. *Mol Med Rep* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2022 Jun 11];7(4):1169–72.
161. Takagi N, Kawakami K, Kanno E, Tanno H, Takeda A, Ishii K, et al. IL-17A promotes neutrophilic inflammation and disturbs acute wound healing in skin. *Exp Dermatol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2022 May 25];26(2):137–44.
162. Lee J, Rodero MP, Patel J, Moi D, Mazzieri R, Khosrotehrani K. Interleukin-23 regulates interleukin-17 expression in wounds, and its inhibition accelerates diabetic wound healing through the alteration of macrophage polarization. *FASEB J*. 2018 Apr 1;32(4):2086–94.
163. Ono T, Takayanagi H. Osteoimmunology in Bone Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2022 May 25];15(4):367–75.
164. Huang Z, Pei X, Graves DT. The Interrelationship Between Diabetes , IL-17 and Bone Loss. 2020;23–31.

165. Dixit M, Singh KB, Prakash R, Singh D. Functional block of IL-17 cytokine promotes bone healing by augmenting FOXO1 and ATF4 activity in cortical bone defect model. *Osteoporos Int* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2022 May 25];28(7):2207–20.
166. Shi S, Zhang Q, Atsuta I, Liu S, Chen C, Shi S, et al. IL-17-mediated M1/M2 macrophage alteration contributes to pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 Jun 15 [cited 2022 May 25];19(12):3176–88.
167. Jiang S, Wang Y, Yang J, Li J, Feng M. Overexpressed EDIL3 predicts poor prognosis and promotes anchorage-independent tumor growth in human pancreatic cancer. 7(4).
168. Bergers G, Javaherian K, Lo KM, Folkman J, Hanahan D. Effects of angiogenesis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice. *Science* (80-) [Internet]. 1999 Apr 30 [cited 2022 Jun 13];284(5415):808–12.
169. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* [Internet]. 2005 Dec 15 [cited 2022 Jun 13];438(7070):967–74.
170. Kun Z, Xin G, Tao W, Chenglong Z, Dongsheng W, Liang T, et al. Tumor derived EDIL3 modulates the expansion and osteoclastogenesis of myeloid derived suppressor cells in murine breast cancer model. *J Bone Oncol* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2020 Dec 8];16.
171. Shin J, Hosur KB, Pyaram K, Jotwani R, Liang S, Chavakis T, et al. Expression and function of the homeostatic molecule Del-1 in endothelial cells and the periodontal tissue. *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2022 Jun 14];2013.
172. Kourtzelis I, Li X, Mitroulis I, Grosser D, Kajikawa T, Wang B, et al. DEL-1 promotes macrophage efferocytosis and clearance of inflammation. *Nat Immunol* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Jun 14];20(1):40–9.
173. Kwon CH, Sun JL, Kim MJ, Abd El-Aty AM, Jeong JH, Jung TW. Clinically confirmed DEL-1 as a myokine attenuates lipid-induced inflammation and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes via AMPK/HO-1- pathway. *Adipocyte* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2020 Dec 4];9(1):576–86.
174. Sun JL, Park J, Lee T, Jeong JH, Jung TW. DEL-1 ameliorates high-fat diet-

induced insulin resistance in mouse skeletal muscle through SIRT1/SERCA2-mediated ER stress suppression. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Jun 14];171:113730.

175. Li M, Zhong D, Li G. Regulatory role of local tissue signal Del-1 in cancer and inflammation: a review. *Cell Mol Biol Lett*. 2021 Dec 1;26(1).
176. Saxena S, Venugopal R, Chandrayan Rao R, Yuwanati MB, Awasthi H, Jain M. Association of chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus with salivary Del-1 and IL-17 levels. *J Oral Biol Craniofacial Res* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 Jun 14];10(4):529–34.
177. Ding W, Xiao Z, Wen C, Ge C, Liu L, Xu K, et al. Correlation between salivary developmental endothelial locus-1, interleukin 17 expression level and severity of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Transl Res*. 2021;13(10):11704–10.
178. Maekawa T, Hosur K, Abe T, Kantarci A, Ziogas A, Wang B, et al. Antagonistic effects of IL-17 and D-resolvins on endothelial Del-1 expression through a GSK-3 β -CEBP β pathway. *Nat Commun*. 2015 Sep 16;6.
179. Shin J, Maekawa T, Abe T, Hajishengallis E, Hosur K, Pyaram K, et al. DEL-1 restrains osteoclastogenesis and inhibits inflammatory bone loss in nonhuman primates. *Sci Transl Med* [Internet]. 2015 Sep 30 [cited 2021 Jan 8];7(307):307ra155.
180. Eskin MA, Jotwani R, Abe T, Chmelar J, Lim J, Liang S, et al. The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. 2012;13(5).
181. Huang Z, Pei X, Graves DT. The Interrelationship Between Diabetes, IL-17 and Bone Loss [Internet]. Vol. 18, *Current Osteoporosis Reports*. Springer; 2020 [cited 2021 Jan 8]. p. 23–31.