

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

MANGİFERİN VERİLEN DİYABETİK SIÇANLARDA İMPLANT
UYGULAMASI SONRASI OSTEOİNTEGRASYONUN
İNCELENMESİ

Hazırlayan
Bünyamin ONGAN

Danışman
Doç. Dr. Ömer EKİCİ

Tez No:31

2023 – AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Ağız, Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

MANGİFERİN VERİLEN DİYABETİK SIÇANLARDA İMPLANT
UYGULAMASI SONRASI OSTEOİNTEGRASYONUN İNCELENMESİ

Hazırlayan
Bünyamin ONGAN
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Ömer EKİCİ

Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Komisyonu
tarafından 22.DUS.001 proje numarası ile desteklenmiştir.

2023 – AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Çalışmamızın etik kurul onayı Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKUHADYEK) Başkanlığı'ndan alınmıştır. (22.10.2021 tarihli 49533702/142 sayılı karar) (EK-1)



KABUL VE ONAY



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgisi ve klinik tecrübesiyle her daim yoluma ışık tutan, tezimde emeğini ve desteğini esirgemeyen, hayatımla ilgili attığım her adımda olumlu tavrı ve tecrübesiyle yanımda hissettiğim değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Ömer EKİCİ' ye,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her daim benimle paylaşan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Olgun TOPAL ve Dr. Öğr. Üyesi Handegül KORKMAZ' a,

Tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan, yol gösteren, hakkını hiçbir zaman ve hiçbir şekilde ödeyemeyeceğim saygı değer hocam Doç. Dr. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ' a,

Tezimin uygulama aşamasındaki destekleri ve yardımı için Hisar Dental ailesine, İmplant (AGS Medikal) firmasına ve kardeşim kadar bana yakın olan Ramazan KARA' ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki bütün asistan arkadaşlarıma ve tüm yardımcı sağlık personeline,

Beni bu günlere getiren, hayatım boyunca destek ve sevgileriyle yanımda yer alan, annem, babam ve bütün aileme,

Her daim yanımda olan en büyük destekçim sevgili eşim Derya Ebru ONGAN' a ve biricik oğlum Ayaz ONGAN' a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bünyamin ONGAN
Afyonkarahisar, Haziran
2023

MANGİFERİN VERİLEN DİYABETİK SIÇANLARDA İMPLANT UYGULAMASI SONRASI OSTEOİNTEGRASYONUN İNCELENMESİ

Bünyamin ONGAN

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Diş
Hekimliğinde Uzmanlık Tezi
Haziran 2023
Danışman: Doç. Dr. Ömer EKİCİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, mangiferinin tip-II diyabet modelinde implant uygulaması sonrası osteointegrasyon sürecine olan etkilerini moleküler ve morfolojik açıdan araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma için 3 aylık, 24 adet *Sprague Dawley* erkek rat temin edilmiştir. Hayvanlar kontrol, diyabet ve diyabet+mangiferin halinde 3 gruba ayrılmıştır. Tüm hayvanların femur kemiklerine dental implant uygulanmıştır. Üç aylık deney süresi sonunda hayvanların kan örnekleri alınmış ve implant bölgesi izole edilmiştir. Kan örneklerinde rutin biyokimyasal parametreler ölçülmüş; Femur örneklerinde ise Micro-CT, rt-qPCR, histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır.

Bulgular: Mangiferin diyabete bağlı artan glukoz, trigliserit ve VLDL düzeyleri ile karaciğer enzim düzeylerini anlamlı olarak azaltmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesiyle osteointegrasyon yüzdesi ve kemik hacmi artmış, porozite azalmıştır. Mangiferin diyabetle azalan DKK1, BMP-2 mRNA ekspresyonlarını ile OPN, OCN ve OSN mRNA ve protein düzeylerini artırmıştır. Ayrıca mangiferin ile osteblast ve osteoid yüzey alanları artarken, osteoklast ve aşınmış yüzey alanları azalmıştır.

Sonuç: Çalışma bulguları mangiferinin, tip-II diyabetle bozulan yara iyileşme süreci ve osteointegrasyon üzerinde yararlı olacağını göstermektedir. Gelecek çalışmalarda mangiferinin etki mekanizmasının tamamen aydınlatılması ve güvenilirliğinin kanıtlanması ile diyabet hastalarında implant sürecinde mangiferin kullanımı yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Dental implant, Diyabet, Mangiferin, Osteointegrasyon, Yara iyileşmesi, *Wnt* yolağı

INVESTIGATION OF OSSEOINTEGRATION AFTER IMPLANT APPLICATION IN DIABETIC RATS WHICH GIVEN MANGIFERIN

Bünyamin ONGAN

Afyonkarahisar Health Sciences University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery Dentistry Specialization Thesis

June 2023

Supervisor: Doc. Dr. Ömer EKİCİ

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the effects of mangiferin on the osseointegration process after implant application in type-II diabetes model from molecular and morphological perspectives.

Materials and Methods: Twenty-four *Sprague Dawley* male rats, 3 months old, were obtained for the study. Animals were divided into 3 groups as control, diabetes and diabetes + mangiferin. All animals were dental implanted in the femoral bones. At the end of the 3-month experiment period, the blood samples of the animals were taken and the implant site was isolated. Routine biochemical parameters were measured in blood samples; Micro-CT, rt-qPCR, histological and immunohistochemical evaluations were performed on femur samples.

Results: Mangiferin significantly decreased diabetes-related glucose, triglyceride and VLDL levels and liver enzyme levels. Administration of mangiferin to diabetic rats increased the percentage of osseointegration and bone volume, and decreased porosity. Mangiferin increased *Dkk1*, *Bmp-2* mRNA expressions, which decreased with diabetes, and increased OPN, OCN and OSN both mRNA and protein levels. In addition, osteoblast and osteoid surface areas increased with mangiferin, while osteoblast and eroded surface areas decreased.

Conclusion: The findings of the study suggest that mangiferin will be beneficial on the wound healing process and osseointegration impaired by type-II diabetes. In future studies, the use of mangiferin in the implant process in diabetic patients may be beneficial, with the full elucidation of the mechanism of action of mangiferin and proving its safety.

Keywords: Dental implant, Diabetes, Mangiferin, Osseointegration, Wound healing, *Wnt* pathway

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dental İmplantlar ve Osteointegrasyon.....	3
2.1.1. Dental implantlar	4
2.1.2. Osteointegrasyon	5
2.1.3. Osteointegrasyonu ve İmplant Stabilitesini Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler	6
2.1.3.1. Histoloji ve Histomorfometri	6
2.1.3.2. İmplant Stabilite Ölçümleri.....	7
2.2. Diabetes Mellitus.....	8
2.2.1. Diyabetin Epidemiyolojisi	9
2.2.2. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	10
2.2.3. Ağız ve Diş Sağlığı Açısından Diyabete Bağlı Komplikasyonlar.....	11
2.2.4. Diyabetin Yara İyileşme Süreci Üzerindeki Etkileri	12
2.2.5. Diyabetin Kemik Gelişimi ve İmplant Osteointegrasyonu Üzerindeki Etkileri	14
2.2.6. Deneysel Diyabet Oluşturma Yöntemleri.....	15
2.3. Yara İyileşmesinde Kullanılan Bitkisel Ajanlar ve Mangiferin	16
2.3.1. Mangiferin	18
2.3.2. Mangiferinin Oksidatif Stres ve İnflamasyon Üzerindeki Etkileri.....	19

2.3.3. Mangiferinin Apoptoz Üzerine Etkileri.....	20
2.3.4. Mangiferinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Araştırmanın Etik Onayı	23
3.2. Deney Hayvanları Beslenmesi ve Bakımı	23
3.3. Deney Grupları	24
3.4. Dental İmplantların Uygulanması	25
3.5. Serumda Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	29
3.6. Femurda Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini	29
3.6.1. Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi	29
3.6.2. Kuantitatif Gerçek Zamanlı PCR (Real time-PCR) Analizi.....	29
3.7. Kemik Doku ve İmplantın Osteointegrasyonunun Micro-CT Yöntemiyle Değerlendirilmesi	31
3.8. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme	32
3.8.1. Histolojik Değerlendirme	32
3.8.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	32
3.9. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Sıçanların Ağırlıkları	34
4.2. Serumda Biyokimyasal Bulgular.....	34
4.3. Kemik Dokuda mRNA Düzeyleri	35
4.4. İmplantın Osteointegrasyonunda Micro-CT Bulguları	46
4.5. İmplantın Osteointegrasyonunda Histolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular	54
4.5.1. Histolojik Bulgular	54
4.5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	59
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
7. KAYNAKLAR	72
EKLER.....	84

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
DM	Diyabetes Mellitus
STZ	Streptozotosin
RANK	Nükleer Faktör-Kappa B'nin Reseptör Aktivatörü
RANK L	Nükleer Faktör-Kappa B'nin Reseptör Aktivatör Ligandı
BMP	Kemik Morfogenetik Protein
TGF β	Transforme Edici Büyüme Faktör Beta
RUNX2	Runt İlişkili Transkripsiyon F 2
Nf κ B	Nükleer Faktör- κ B Reseptör Aktivatör
OPG	Osteoprotegerin
OPN	Osteopontin
OSN/SPARC	Osteonektin
DKK1	Dickkopf Wnt Sinyal Yolu İnhibitörü 1
LRP5	Lipoprotein Reseptör İlişkili Protein 5
IBSP	İntegrin Bağlayıcı Sialoprotein
μ m	Mikrometre
PTV	Periotest Değeri
Micro-CT	Bilgisayarlı Mikro Tomografi
Ncm	Newton Santimetre
RFA	Rezonans Frekans Analizi
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
Poliüri	Fazla İdrar Çıkışı
Polidipsi	Aşırı Susuzluk
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
UDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
mmol	Milimol
mg	Miligram
dl	Desilitre
TNF- α	Tümör Nekrotizan Faktör Alfa
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
OCN	Osteokalsin
SHR	Obez Kendiliğinden Hipersensitif Fare

EMC	Ensefalo Myokardit Virüsü
OSP	Diğer Yüzey Proteinleri
LDL	Düşük Yoğunluğu Lipoprotein
NO	Nitrik Oksit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
MMP	Matriks Metalopeptidaz
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
PI3K	Fosfatidilinositol-3-Kinaz
nm	Nanometre
mm	Milimetre
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µA	Mikroamper
ms	Milisaniye
DEPC	Dietil Pirokarbonat
i.p	İntraperitoneal
HCl	Hidroklorik Asit
NaCl	Sodyum Klorür
IM	İntramusküler
cc	Santimetre Küp
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
Na	Sodyum
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfataz
dk	Dakika
rt-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribo Nükleik Asit
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
cDNA	Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
DKK1	Dickkopf-1

IBSP	Kemik Sialoprotein
Lrp-5	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü Protein 5
GAPDH	Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrojenaz
kV	Kilovolt
HE	Hematoksilen-Eozin
Ob.S / BS	Osteoblast Yüzeyi
Oc.S / BS	Osteoklast Yüzeyi
ES / BS	Aşınmış Yüzey
OS / BS	Osteoid Yüzey
PBS	Phosphate-Buffered Saline
DCN	Decorin

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. qRT-PCR yöntemiyle mRNA ekspresyonu belirlemesi için kullanılan primer dizileri.....	30
Tablo 4.1. Sıçanların başlangıç ve final ağırlıkları.....	34
Tablo 4.2. Sıçanların serum glukoz, trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit, fosfor ve sodyum düzeyleri.....	35



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde BMP-2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	36
Şekil 4.2.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde DKK1 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	37
Şekil 4.3.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde IBSP mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	38
Şekil 4.4.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde LRP5 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	39
Şekil 4.5.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OCN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	40
Şekil 4.6.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OPN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	41
Şekil 4.7.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OSN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	42
Şekil 4.8.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OSP mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	43
Şekil 4.9.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde RANKL mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	44
Şekil 4.10.	Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde RUNX2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.	45
Şekil 4.11.	Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi konnektivite yoğunluklarının karşılaştırılması.	49
Şekil 4.12.	Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi konnektivite değerlerinin karşılaştırılması.	50
Şekil 4.13.	Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi kemik hacmi düzeylerinin karşılaştırılması.	51
Şekil 4.14.	Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi osteointegrasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	52
Şekil 4.15.	Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi porozite yüzdelerinin karşılaştırılması.....	53

Şekil 4.16. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi toplam por hacminin karşılaştırılması.	54
Şekil 4.17. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoblast yüzeyi (Ob.S / BS, birim = %).	56
Şekil 4.18. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoklast yüzeyi (Oc.S / BS, birim = %).	57
Şekil 4.19. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi aşınmış yüzey (ES / BS, birim = %).	58
Şekil 4.20. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoid yüzeyi (OS / BS, birim = %).	59
Şekil 4.21. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OPN HScore değerleri.	61
Şekil 4.22. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi RANKL HScore değerleri.	62
Şekil 4.23. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OCN HScore değerleri.	63
Şekil 4.24. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OSN HScore değerleri.	64
Şekil 4.25. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi DCN HScore değerleri.	65

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen <i>Sprague Dawley</i> erkek ratlar.....	23
Resim 3.2. Mangiferin (M2886-5G, Cymit Química, S.L. ADB).....	24
Resim 3.3. RBM yüzey yapısına sahip 2.5 mm çapında, 4 mm uzunluğunda altıgen formdaki implantlar.....	25
Resim 3.4. Cerrahi işlem öncesi hazırlıklar: A) Xylazine B) Ketamin HCl C) Traşlanan femurun steril örtü ile örtülmesi	26
Resim 3.5. Cerrahi implant uygulama seti	27
Resim 3.6. İmplant yuvasının hazırlanması	27
Resim 3.7. Hazırlanan yuvaya implantın yerleştirilmesi.....	28
Resim 3.8. Yumuşak dokuların 4-0 eriyebilen suture (poliglaktin) ile suture edilmesi	28
Resim 3.9. Skyscan-1275 Mikrobilgisayarlı tomografi tarayıcısı.....	31
Resim 4.1. Kontrol grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler.....	46
Resim 4.2. Diyabet grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler	47
Resim 4.3. Diyabet+mangiferin grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler	48
Resim 4.4. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında (Hematoksilen-eozin; $\times 40$ ve $\times 200$ büyütme) gerçekleştirilen histomorfometrik analizlerle femurda implant bölgesinin temsili mikrofotografik resimleri... ..	55
Resim 4.5. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin grupları femur-implant bölgesinde immünohistokimyasal yöntemle gerçekleştirilen (Hematoksilen-eozin; $\times 200$ büyütme) OPN, RANKL, OCN, OSN ve DCN protein ekspresyonlarının temsili resimleri.....	60

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sedanter yaşam ve işlenmiş gıda ile beslenme genel sağlığın yanında ağız ve diş sağlığını da tehdit etmektedir. Hareketsizlik ve diyetle ilgili değişkenler birçok endokrin sistem hastalıklarını beraberinde getirmektedir (1). Bu hastalıklar başta elektrolit dengesi olmak üzere birçok fizyolojik sistemi ve hücre içi sinyal yollarını işlevsiz hale getirmektedir. Özellikle kalsiyum homeostazındaki bozuklukların kemik gelişimini direkt olarak etkilediği, bununla birlikte kan glukoz düzeyindeki artışın yara iyileşmesini yavaşlattığı bilinmektedir (2). Böylelikle bahsi geçen bu etmenler orta vadede dolaylı olarak ağız ve diş sağlığına da zarar vermektedir. Tedaviye yönelik girişimlerle bu risk faktörlerine karşı tedbir alınmadığı takdirde hastaların total veya parsiyel dişsizlik gibi durumlarla karşı karşıya kalması muhtemeldir. Diş kayıplarında hastaların sabit veya hareketli protezler ile yaşam kalitesinin artırılması sağlanır (3). Yakın zaman diliminde protez yaklaşımına karşı alternatif bir uygulama olan dental implantlar da yaygın olarak kullanılmaktadır. İmplant tedavisinin amacı, hastaya kaybettiği fonksiyon, fonetik, estetik ve psiko-sosyal bütünlüğü yeniden kazandırmaktır (4).

Dental implantlar günümüzde diş kayıplarında yaygın olarak kullanılan etkili bir tedavi yöntemi olsa da, implantların başarısı büyük ölçüde iyileşme dönemindeki osteointegrasyonun başarısına bağlıdır. Dental implantlar ile kemik arasında yumuşak doku olmaksızın doğrudan bağlantı oluşumunu ifade eden osteointegrasyon ise birçok farklı patoloji tarafından olumsuz etkilenmektedir (5). Osteointegrasyon üzerindeki olumsuz etkileri bilinen endokrin hastalıklardan bir tanesi de hiperglisemi ile karakterize bir hastalık olan diyabettir. Bu hastalığın patogenezinde yer alan elektrolit dengesinin bozulması ve ağız kuruluğu gibi faktörler diş eti hastalıkları ve diş çürükleri gibi komplikasyonlara sebebiyet verebilir. Tüm bu nedenlerle diyabetik hastalarda birden fazla diş eksikliği sık görülmektedir (6). Diş eksiklikleri bulunan hastalarda çiğneme fonksiyonlarını, psikolojik sağlıklarını ve kozmetik kaygılarını iyileştirmek için eksik dişlerin yerine konması en yaygın diş prosedürlerinden biridir. Bu durum, diyabetik hastalarda olası komplikasyonlara bağlı olarak klasik protez yaklaşımında soru işaretlerine neden olmaktadır. Böylelikle diyabet hastaları dental implant yerleştirmek için ideal adaylar olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte diyabetin neden olduğu metabolik bozukluklar yara iyileşme sürecini ve osteointegrasyonu etkileyebilir (7).

Yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon gibi çeşitli evreleri içeren düzenli bir süreçtir ve diyabet, enfeksiyon, venöz yetmezlik vb. durumlarda bozulabilir. Diyabette yara iyileşme evreleri hiperglisemi nedeniyle normal sürecini tamamlayamayabilir (8). Hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve proinflamatuvar sitokinlerin oluşumuna neden olan, ayrıca yara iyileşmesi için gerekli büyüme faktörlerinin sentezini baskılayan bir süreçtir. Bu nedenle yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı uzar ve granülasyon dokuları gelişmez ve sonunda kronik yara oluşur (9). Bu sürecin önüne geçebilmek için cerrahi öncesi ve sonrasında iyi bir glisemik kontrol idamesi sağlanmalıdır. Mevcut süreçte yara iyileşme sürecini hızlandırmak için sodyum karboksimetilselüloz, kalsiyum aljinat, ginseng ve karnitin içeren preparatlar da destekleyici tedavi olarak kullanılmaktadır. Bu kapsamda farklı doğal ekstratlar ya da ilaçların kullanımı araştırma ve geliştirme sürecindedir (10).

Mangiferin, C-glukozit ksantonun (2-C-b-D-glukopiranozil-1,3,6,7-tetrahidroksiksanton) doğal bir polifenolüdür. Mangiferin, aralarında mango ağacının (*Mangifera indica*) birincil kaynak olduğu, genç yapraklarında ve gövde kabuğunda yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir (11). Yakın dönemde birçok araştırmacı grubunun çalışmalarında yoğunlaştığı bir hedef molekül olan mangiferinin inflamasyonu baskıladığı, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azalttığı ve anti-apoptotik etkinlik gösterdiği ifade edilmektedir. Ayrıca bu özelliklerinin topikal uygulamayla yara iyileşmesini hızlandırmasına aracılık ettiği de gösterilmiştir. Bozulmuş aktiviteleri ve yüksek kan şekerinin neden olduğu aşırı apoptoz, alveolar kemik yapımını bozabilir (12,13). Bu nedenlerle mangiferin diyabetik hastalarda dental implant tedavisinde başarı sağlanması için potansiyel bir ajan olarak görülmektedir. Mangiferinin diyabet üzerindeki etkisi ile ilgili literatürde yapılmış hayvan çalışmaları olmasına rağmen, mangiferinin diyabet modelinde implant osteointegrasyonu üzerine etkisi ile ilgili literatürde çalışma bulunmamaktadır (14).

Bu çalışmanın amacı streptozotosin (STZ) ile diyabet modeli oluşturulan ratlarda, mangiferinin implant osteointegrasyonu üzerindeki etkileri araştırmaktır. Bu araştırmada mangiferinin diyabetik ratlarda dental implant osteointegrasyonu üzerine etkisi biyokimyasal, histolojik, immünohistokimyasal, gen ekspresyonu ve mikro-CT ile değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda yaşlanma ile birlikte hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda, diyabet gibi endokrin sistem hastalıklarında hızlı artışlar görülmektedir. Özellikle başta gelişmiş ülkeler olmak üzere dünya genelinde diyet içinde şekerli gıda tüketimi oranının artması ve hareketsiz yaşam tarzı insülin direnci, hiperglisemi, dislipidemi, abdominal obezite, karaciğer yağlanması ile karakterize metabolik sendroma ve tip 2 diyabete neden olmaktadır (15). Küresel popülasyonun yaklaşık %40'ı ve %10'unda sırasıyla obezite ve diyabetes mellitus (DM) hastalığı bulunmaktadır ve DM prevalansında 2050 yılına kadar %20 ile %30 oranında bir artış olacağı tahmin edilmektedir (16). Bu hastalıkların birçok sonucu arasında zayıf yara iyileşmesi oral ve maksillofasiyal cerrahlar için birincil endişe kaynağıdır. Bu hastalar artmış alveoler kemik kaybı riski (17) ve periodontal hastalık riski taşırlar (18).

Ağız sağlığı, iyi bir genel sağlığın korunması için kritik öneme sahiptir. Ağız ve diş sağlığının korunması, temel günlük görevleri yerine getirmenin anahtarıdır (19). Konuyla ilgili çalışmalar kötü ağız sağlığının yaşa bağlı fizyolojik yükler, fiziksel kırılganlık (20), sarkopeni (21), bilişsel bozukluk (22) ve biriken multimorbidite (23) ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Gerekli tedbirlerin alınmadığı, çürüklere bağlı tedavi uygulamalarının yapılmadığı kötü ağız sağlığı senaryoları genellikle diş kaybı ile sonuçlanmaktadır. Bu durumda hastaların yaşam kalitesini artırmak ve temel günlük görevlerini yerine getirebilmesi için tedaviye yönelik girişimlerde bulunulmalıdır. Sabit protez, hareketli protez ve dental implantlar bu kapsamda uygulanabilecek alternatiflerdir (24).

2.1. Dental İmplantlar ve Osteointegrasyon

Doku mühendisliği, biyolojik ve mühendislik bilimleri ile birlikte malzeme bilimini kapsayan disiplinler arası bir alandır. Son yıllarda, yaşam kalitesini iyileştirmeye yönelik terapötik stratejilere olan talebin artması, doku ve organların yenilenmesini amaçlayan akıllı biyomalzemelerin tasarlanması için yenilikçi yaklaşımları gerekli kılmıştır (25). Diş biyomateryalleri, hasarlı dişlerin tedavisinden eksik dişlerin yerine konmasına kadar birçok alanın bilimsel ilgi alanını kapsamaktadır. Dental implantlar, etki ömrü büyük ölçüde materyal yapısına ve üretim tekniklerine bağlı olan biyomateryallerden biridir (26).

2.1.1. Dental implantlar

Diş implantları 2000 yılı aşkın bir süredir var olmuştur; ancak modern diş implantının kullanımı 2. Dünya Savaşı sırasında başlamıştır. Diş hekimliğindeki en önemli başarılarından biri Brånemark sistemi ile 1957'de gerçekleşmiştir: İsveçli bir ortopedi cerrahı olan Per-Ingvar Brånemark, diş eti altı implantlar için kullanılan temel işlemlerden biri olan "osteointegrasyon" adını verdiği bir fenomen olan titanyum implant yakınlığında yeni kemik oluşumu olasılığını keşfetmiştir (27). Çeşitli nedenlerle gelişen diş kayıplarına karşı diş implantları ile desteklenen kısmi sabit diş protezleri, uzun vadeli güvenilir bir tedavi seçeneği haline gelmiştir (28).

Bir dental implantın başarısı ve hayatta kalma oranı öncelikle biyolojik ve mekanik özelliklerine bağlıdır. Biyolojik bakış açısı, uygun osteointegrasyon, doğru yerleştirme ve kemik hacmi artışı içerir. Mekanik bakış açısı, implant gücünü, kırılma olasılığını ve gevşeme olasılığını içerir (29). Bu kapsamda uygulama şekline göre üç ana diş implantı türü vardır: endosteal veya endosseöz, subperiosteal ve transosteal. Endosseöz dental implantlar mandibula veya maksilla içine yerleştirilir ve diş kökü görevi görür. Titanyum tipik olarak bu tür implantlar için temel malzeme olarak kullanılır. Subperiosteal implantlar çene kemiği ile diş eti arasına yerleştirilir. İmplant, osteointegrasyon yoluyla çene kemiğine bağlanır. Endosseöz ve subperiosteal implantlar, mandibuladan yeterli kemik desteği gerektirir. Hastanın yetersiz implant desteğinden kaynaklanan başarısızlık sonucu ciddi rezorpsiyon ve çene hasarı varsa, bir transosteal implant kullanılabilir (26).

Dental implantlar, eksik dişlerin yerine konması için en etkili tedaviler olmuştur. Başarılı implantasyon, uygun malzeme seçimine bağlıdır. İmplantın işlevi ve güvenilirliği; bir malzemenin yüzey özelliği, mikro yapısı, bileşenleri ve üretim tekniği ile değişebilir. Materyal biyo-uyumlu olmalı, implant şekli ve dizaynı mümkün olduğunca doğal dişi ya da ve vücut dokularını taklit etmelidir (30). Modern dental implantların 40 yılı aşkın bir süre önce piyasaya sürülmesinden bu yana, ideal implantın geliştirilmesi bu alanda önemli bir araştırma konusu olmuş ve böylece implant diş hekimliği uygulamalarını değiştirmiştir. Araştırmalar sayesinde, dental implant teknolojisi son yıllarda sürekli olarak gelişmekte ve hastalara benzersiz düzeylerde etkinlik, rahatlık ve satın alınabilirlik sağlamaktadır. Biyomalzemeler, biyomekanik davranış, implantın tasarım, hastanın tıbbi durumu ve kemik kalitesi gibi implantasyon gereklilikleri tanımlanmış ve ilgili otoritelerce kabul edilmiştir (27).

2.1.2. Osteointegrasyon

Oral implant sistemlerinin başarılı olması için en önemli faktör osteointegrasyondur. Osteoentegre implantların 50 yıldan fazla işlev gördüğü vaka çalışmalarında gösterilmiştir (31). Osteointegrasyon sadece ostetomi sonrası basit bir kemik onarım süreci değildir. İmplant, vücudun bağışıklık sistemi tarafından kendinden olmayan bir materyal olarak tanınır (32). Organizmada kemiğe entegre edilen biyomateryale karşı inflamatuvar bir yanıt oluşur. Bu nedenle, implantlar sert dokulara yerleştirildiğinde ortaya çıkan metabolik yanıt, orijinal osteointegrasyon teriminden ziyade gerçek doku reaksiyonlarını daha iyi tanımlayan bir terim olan osteoimmün reaksiyonudur (33). Dolayısıyla osteointegrasyonu, implantı dokulardan korumak için bir savunma reaksiyonu olarak ara yüzey kemiğinin olduğu bir yabancı cisim reaksiyonu olarak tanımlayabiliriz (34). Vakaların büyük çoğunluğunda, konakçı tarafından oluşturulan immünolojik/inflamatuvar yanıt, implantın reddedilmesinden ziyade entegrasyonuna yol açmaktadır. İmmünolojik ve mekanik olarak uyarılan kemik koruma reaksiyonu ve oral implantlarda oluşturulan osteoimmün/immünolojik denge nedeniyle, klinisyenler daha sonra uzun yıllar fonksiyonlarını sürdürecek olan implantları yükleyebilirler.

Geleneksel olarak, kemik dokusunda üç tip kemik hücresi tanımlanmıştır: osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositler. Osteoblastlar kemik büyümesinden sorumluyken, osteoklastlar kemik rezorpsiyonunu sağlarlar. Her ikisinin de aktiviteleri, sinyal yollarında yer alan sitokinlere ve hücre-hücre etkileşimlerine bağlıdır. Özellikle öne çıkan; nükleer faktör-kappa B'nin reseptör aktivatörü (RANK) ve RANK ligand (RANKL) etkileşimidir. Mekanik uyarılara yanıt olarak hareket eden osteositler, hem kemik büyümesini (Parathormon ve osteokalsin regülasyonu ile) hem de kemik rezorpsiyonu yoluyla osteoklastik/osteoblastik aktiviteyi büyük ölçüde kontrol eder. Kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler), kemik yapısının oluşumu ve gelişiminde yer alır ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF β) üst ailesine aittir (35). Deneysel çalışmalar, BMP genlerindeki mutasyonların kas-iskelet sisteminde ve ayrıca infantil kemik oluşumunda kritik roller oynadığını göstermiştir (36,37). Mevcut süreçte, özellikle iki spesifik BMP tipinin (BMP-2 ve BMP-7) klinikte tibial açık kırıklar ve uzun kemik iyileşmesinde kullanıldığı bilinmektedir (38). Bu tedavilerin temel amacı osteoblastik aktiviteyi arttırmaktır.

Osteoblastlar mezenkimal stromal hücrelerden türetilir ve kemik oluşturan hücreler olarak adlandırılır. Osteoblastların oluşumu, mezenkimal stromal hücrelerin başlangıçta aktif Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (RUNX2) osteoprogenitör hücrelere dönüştürülmesiyle başlar. Bu orta formdaki hücreler, BMP'lerin etkisi altında osteoblastlara dönüşür. Daha sonra işlevlerini yerine getiren olgun osteoblastlar, osteoblastların osteoklastlara farklılaşmasını modüle eden RANK, RANKL ve osteoprotegerini (OPG) üretir (39). Ayrıca bu süreçte, osteopontin (OPN) (40), osteonektin (OSN veya SPARC) (41), Dickkopf Wnt sinyal yolu inhibitörü 1 (DKK1) (42), düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör ilişkili protein 5 (LRP5) (43) ve integrin bağlayıcı sialoprotein (IBSP) (44) kemik mineralizasyonunu sağlayarak osteoblastların ve osteositlerin gelişimine katkı sağlayan proteinlerdir.

2.1.3. Osteointegrasyonu ve İmplant Stabilitesini Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler

2.1.3.1. Histoloji ve Histomorfometri

Dental implantlar yerleştirildikten sonra osteointegrasyonu incelemek için kullanılan tekniklerden en nesnel ve invaziv tekniklerden biri histomorfometrik ve histolojik değerlendirme yapılmasıdır (45). Histolojik teknikler, implantın doğrudan temasta olduğu kemiğin kesitlerdeki kemik temas yüzeyini ve yüzdesini incelemek için sık tercih edilen tekniklerden biridir. Donath ve arkadaşları, ışık mikroskobu seviyesinde kemik/implant arayüzünün kabul edilebilir 10 mikrometre(μm) kalınlığındaki mineralize bölümünün üretilmesine imkan veren bir aşındırma metodu açıklamışlardır. Bu metod, implantın kemik ile olan temas yüzeyini değerlendirmek için yaygın olarak tercih edilmektedir. Aynı çalışmada, implant yerleştirildikten 5 gün sonra implant ile temasta olan kemik yüzeyinde çok sayıda çok çekirdekli dev hücreler izlenmiştir. Kemik implant teması arttıkça, çok çekirdekli dev hücre sayısında azalma gözlenmiştir (46). Sennerby ve arkadaşlarının inceledikleri bir çalışmada transmisyon elektron mikroskobu ile dekalsifiye örnekleri incelemiş ve implant yüzeyine yakın bölgelerde düzenli kollajen üretiminin meydana geldiğini gözlemlemişlerdir (47).

2.1.3.2. İmplant Stabilite Ölçümleri

Perküsyon Testi

İmplant osteointegrasyon başarısını ölçmek için kullanılabilecek en yalın tekniklerden biridir. Bu teknik için künt metal bir alet ile implant bölgesindeki iyileşme başlığına veya abutmente, vertikal ve horizontal vurarak çıkan ses değerlendirilir. Çıkan ses çınlayan 'kristal' yapısındaysa osteointegrasyonun başarılı olduğunu çıkan ses 'donuk' olduğunda başarısız bir osteointegrasyonun göstergesi olarak değerlendirilebilir (48).

Periotest®

Periotest, implant-periodonsiyum bağlantısının kuvveti absorbe etme özelliklerini değerlendirerek implant hareketliliğinin objektif ölçümünü sağlamak için tasarlanmış dinamik bir cihazdır; implantın üzerine rijit bir ölçüm aparatının sabitlenmesini gerektirmez. İmplant hareketlilik miktarı periotest değeri (PTV) adı verilen -8 ile +50 arasında değişen ve dişin 4°'si ile ilişkilendirilebilen bir değerle gösterilir (49).

Çıkarma Tork Testi

İmplant osteointegrasyonu değerlendirmek için bu yöntemde implant ara parçası üzerinden tork anahtarı kullanılarak saatin tersi yönünde implanta 10 newton santimetre(Ncm) ile 20 Ncm arasında çıkarma torku uygulanmaktadır. Bu sayede implant-kemik arasındaki bağlanmanın kesme kuvvetine olan direnci ve implantın etrafındaki yapılara bağlanma derecesi ölçülmektedir. Fakat iyileşme süreci ortaya çıktıktan sonra bu yöntemin yıkıcı etkisi olabileceği düşünülerek kendini daha modern tekniklere bırakmıştır (50).

Rezonans Frekans Analizi

Osteointegrasyonu değerlendirmenin doğrudan yöntemlerinden biri, implant stabilitesine ilişkin değerli klinik objektif veriler sağlayan rezonans frekans analizidir (RFA). Rezonans frekans analizi (RFA) tekniği invazif ve tahribatsızdır, esas olarak dental implantın stabilitesinin bir testidir. Sabit yanal kuvvetlerin implanta uygulanma yönü ve türü ile implant yer değiştirmesinin ölçümü birbiri ile eşdeğerdir. Bu yöntem, tedavinin herhangi bir aşamasında implant ve kemik arasındaki arayüzün durumu hakkında potansiyel klinik bilgiler sağlayabilir (51).

2.2. Diabetes Mellitus

DM tarihsel geçmişine göre M.Ö. 1500 yılından kalma Ebers Papirüslerinde bile rastlanan bir hastalıktır (52). Kısaca insülin düzeyinin azalmasına ya da insüline karşı tolerans gelişmesine bağlı olarak ortaya çıkan kronik hiperglisemi durumudur (53). Kan glukoz düzeyinin uzun süreli yüksek seyretmesi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarına ve bununla birlikte çeşitli doku ve organlarda işlevsel bozukluklara neden olabilir. Diyabet genel olarak radikal bir tedavisi bulunmayan, palyatif amaçlı girişimlerin yüksek maliyetli olduğu; semptomların baskılanmaması durumunda kardiyovasküler hastalıklara zemin hazırlayan bir patolojidir. Bu nedenle diyabet, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir ve kardiyovasküler hastalıkların erken başlaması için bir risk faktörüdür (54). Genellikle kalıtsal olarak değerlendirilen Tip I türünün aksine; sonradan edinilmiş Tip II diyabet için gıda, fiziksel aktivite ve hava kirliliği en büyük etkiye sahip yaşam tarzı faktörleridir (53). Bu kapsamda, Akdeniz diyetinde olduğu gibi, ilave rafineri şeker ve işlenmiş yağ tüketiminin azaltılması, bununla birlikte antioksidan bakımından zengin sebze ve meyvelerin tüketilmesi hastalığın seyrinde olumlu sonuçlar doğuracağı bilinmektedir (55).

Tip I ve tip II diyabet, klinik başlangıç şekilleri ve ilerleme süreçleri ile heterojen hastalıklardır. Geleneksel olarak tip 1 diyabetin, çocuk ve gençlerde akut hiperglisemi veya diyabetik ketoasidoz ile başladığı, buna karşılık Tip II diyabetin erişkinlerde hafif ve nispeten yavaş seyirli olarak başladığı kabul edilse de, tanı sırasında bazı olgular bu ayırıma uymaz ve bu yüzden kesin tipten ayrılması başlangıçta zordur (53). Bu belirsizliği tartışan uzmanlara göre, hem tip I hem de tip II diyabet olgularında çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin β -hücre miktarı ve fonksiyonunu azalttığı kabul edilmiştir (56). Buna karşın tip I diyabetin patofizyolojisi tip II diyabete göre daha iyi araştırılmıştır. Tip I diyabetlilerin birinci derece akrabalarının prospektif olarak izlendiği çalışmalarda iki veya daha fazla adacık otoantikorunun sürekli pozitif çıkmasının, klinik hiperglisemi ve diyabet gelişimini öngördüğü bilinmektedir (57). Klinik diyabette ilerleme hızı, otoantikorların sayısı, antikorun kanda ilk saptandığı yaş, antikorun özgüllüğü ve titresine bağlıdır (58).

Tip I ve tip II diyabetin haricinde fetüs için ciddi oranda risk teşkil eden gestasyonel diyabet formu da bulunmaktadır. Gestasyonel diyabet, yani gebelikte

ortaya çıkan diyabetin hem anne hem fetus hem de gebeliğin seyri üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır. Gestasyonel diyabet araştırılması amacıyla gebeliğin 24-28. haftaları arasında tarama ve tanı testi yapılmaktadır. Geleneksel olarak iki aşamalı tanı yaklaşımı kullanılmaktadır. Gebelikte tanı amaçlı oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılması gestasyonel diyabetin erken tanısı için mutlaka gereklidir. Böylece annede oluşan plazma glukoz yüksekliği zamanında tespit edilir ve hipergliseminin fetus üzerindeki zararlı etkilerini engellemek için önlem alınabilir (59).

2.2.1. Diyabetin Epidemiyolojisi

Diyabet, pankreasın yeterli insülin üretmemesi veya vücudun ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamaması durumunda ortaya çıkan kronik bir hastalıktır. İnsülin, kan şekerini düzenleyen bir hormondur. Yüksek kan şekeri olarak da adlandırılan hiperglisemi, kontrolsüz diyabetin yaygın bir etkisidir ve zamanla başta kardiyovasküler sistem ve nöronlar olmak üzere vücudun birçok sisteminde ciddi hasara yol açar. Küresel popülasyonda 2014 yılında 18 yaş ve üzerindeki yetişkinlerin %8,5'inde diyabet rapor edilmiştir. 2019'da diyabet 1,5 milyon ölümün doğrudan nedeni olarak gösterilmiş ve diyabete bağlı tüm ölümlerin %48'i 70 yaşından önce meydana gelmiştir. Diğer 460.000 böbrek hastalığına bağlı ölümlere diyabet neden olmuştur ve artmış kan şekeri kardiyovasküler ölümlerin yaklaşık %20'sinden sorumlu tutulmuştur (60). 2000 ile 2019 yılları arasında, diyabete bağlı yaşa göre standardize edilmiş ölüm oranlarında %3'lük bir artış olmuştur. Düşük-orta gelirli ülkelerde diyabete bağlı ölüm oranı %13 artmıştır.

Tip II diyabet, vücudun insülini etkisiz kullanmasından kaynaklanır. Diyabetli kişilerin %95'inden fazlasında tip 2 diyabet vardır. Bu tip diyabet, büyük ölçüde aşırı vücut ağırlığının ve fiziksel hareketsizliğin sonucudur. Semptomlar Tip I diyabete benzer olabilir ancak genellikle daha az belirgindir. Sonuç olarak hastalık, komplikasyonlar ortaya çıktıktan birkaç yıl sonra teşhis edilebilir. Yakın zamana kadar sadece yetişkinlerde görülen bu diyabet türü, günümüzde giderek artan bir şekilde çocuklarda da görülmektedir.

Önceden sadece insülin bağımlı, genç veya çocukluk dönem başlangıçlı olarak bilinen Tip I diyabet, yetersiz insülin üretimi ile karakterizedir ve günlük insülin verilmesini gerektirir. Dünya genelinde 2017'de Tip I diyabetli 9 milyon insan rapor edilmiştir ve çoğunluğu yüksek gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Semptomları arasında

aşırı idrar çıkışı (poliüri), susuzluk (polidipsi), sürekli açlık, kilo kaybı, görme değişiklikleri ve yorgunluk yer alır. Bu belirtiler aniden ortaya çıkabilir (61).

Gestasyonel diyabet, kan şekeri değerlerinin normalin üzerinde, ancak diyabet için teşhis edilen değerlerin altında olduğu hiperglisemidir. Gebelik diyabeti hamilelik sırasında ortaya çıkar. Gestasyonel diyabetli kadınlar, hamilelik sırasında ve doğum sırasında artan komplikasyon riski altındadır. Bu kadınlar ve muhtemelen çocukları da gelecekte tip 2 diyabet riski altındadır. Gestasyonel diyabet, bildirilen semptomlardan ziyade doğum öncesi tarama ile teşhis edilir (59).

Genç ve orta yaşlı popülasyonlarda erkekler, kadınlara göre daha yüksek Tip II diyabet prevalansı göstermektedir (62). Bununla birlikte, postprandiyal hiperglisemi, kadınlarda yaşlandıkça daha fazla artarak, 60 yaşından sonra kadınlarda teşhis edilmemiş diyabet prevalansının ve 70 yaşından sonra toplam diyabet prevalansının artmasına katkıda bulunur (63).

Diyabet prevalansı artışı ve beraberinde getirdiği yükler önemli olmaya devam etse de, son zamanlarda her iki cinsiyet için de Tip II diyabetli hastalarda yaşam beklentisinde bir iyileşme bildirilmiştir (64). Tip II diyabetin yaşam boyu riski genellikle erkeklerde daha yüksektir, ancak kaybedilen yaşam yılları bölgeler ve cinsiyetler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Biyoloji ve çevre arasında rahimde başlayan, yaşam boyu devam eden bir etkileşim vardır (65). Tip II diyabetin klinik sonuçlarındaki biyolojik cinsiyet farklılıkları, patofizyoloji, klinik görünüm, tanı ve tedaviye yanıt üzerindeki genetik ve hormonal etkilerden kaynaklanır (65,66). Yaşamları boyunca cinsiyet hormonlarındaki değişiklikler, kadınların Tip II diyabet de dahil olmak üzere kardiyometabolik hastalık riskinde daha büyük farklılıklar yaşadıkları anlamına gelir. Ayrıca farklı davranışlar, yaşam tarzları, önleme ve tedaviye yönelik tutumlar gibi psiko-sosyo-kültürel süreçlerden kaynaklanan 'cinsiyet farklılıkları' da Tip II diyabetin duyarlılığını ve ilerlemesini etkiler (65–67).

2.2.2. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri

1965'ten beri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), diyabetin teşhisi ve sınıflandırılması için kılavuzlar yayınlamıştır. Bunlar en son 1998'de gözden geçirilmiş ve Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanımı, Teşhisi ve Sınıflandırılması için kılavuz olarak yayınlanmıştır. O zamandan beri diyabet teşhisi ile ilgili daha fazla bilgi elde edilebilir hale gelmiş ve Kasım 2005'te ortak bir DSÖ ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (UDF) Teknik Danışma Grubu, mevcut DSÖ

kılavuzlarını gözden geçirmek ve güncellemek için Cenevre'de bir araya gelerek mevcut kılavuzu güncellemiştir. Diyabet için mevcut DSÖ tanı kriterleri; açlık plazma glukozu $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dl) veya 2 saatlik plazma glukozu $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dl) olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, HbA1c, diyabet için uygun bir teşhis testi olarak kabul edilmemiştir (68). Öte yandan, 2011 yılında DSÖ'nün yayımladığı Konsültasyon Raporu'nda, kabul edilebilir bir yöntemin uygulanması ve uluslararası referans ölçülerine uygun düzenli olarak yenilenmesi koşulu ile HbA1c'nin tanı testi olarak uygulanması önerilmiştir (69). Ülkemizde ise en son Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından 2022 yılında “Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu” yayınlanmıştır. Sonuç raporuna göre ise hipergliseminin belirgin klinik semptomlarının olmadığı durumlarda (hiperglisemik kriz, klasik hiperglisemi semptomları ile birlikte eşlik eden rastgele plazma glukoz 200 mg/dl ve üzerinde olması gibi) tanı için tarama testi sonuçlarının iki kez anormal olarak sonuçlanmış olması gerektiği ifade edilmiştir. Diğer bir deyişle çok ağır diyabet semptomlarının bulunduğu durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, aynı (veya farklı bir) yöntemle doğrulanması gerekmektedir. Rastgele yapılan ölçümlerde 200 mg/dl ve üzerindeki değerlere, diyabet semptomları da eşlik etmesi diyabet tanısı için yeterli kabul edilmiştir. Aşık diyabet olarak ayrılmış tanı için, en az 8 saat süren açlık sonrası venöz plazma glukoz düzeyinin 126 mg/dl üzeri; oral glukoz tolerans testi 2. saat sonrası venöz plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl üzeri; rastgele venöz plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl üzeri ve HbA1c değerinin ≥ 6.5 (48 mmol/mol) ve üzeri olması gerektiği rapor edilmiştir (70).

2.2.3. Ağız ve Diş Sağlığı Açısından Diyabete Bağlı Komplikasyonlar

Diabetes mellitus, etiyolojik olarak Tip I, Tip II, gestasyonel ve diğer spesifik türler olmak üzere 4 farklı kategoride değerlendirilen ve hiperglisemi ile senkronize metabolik bir hastalıktır. Bunlar arasında dünya çapında en yaygın görülen Tip II diyabettir ve tüm diyabetli hastaların %90'ını oluşturur (62). Tip II diyabet vakalarındaki hızlı artış yaşlanma, sağlıksız beslenme, obezite ve hareketsiz yaşam tarzları nedeniyle düşük ve orta gelirli ülkelerde daha sık görülmektedir (71,72). Kronik hiperglisemi başta gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere çeşitli organlarda komplikasyonlara yol açar (61).

Diyabet hastaları arasındaki ağız sağlığı sorunları yaygın bir halk sağlığı sorunudur. Hiperglisemi başta periodontal (diş eti) hastalıklar olmak üzere çeşitli ağız

sağlığı sorunlarına yol açar (73). Periodontal hastalıklar gingivitis ve periodontitis'i içerir. Diş eti iltihabı, ağız hijyeninin iyileştirilmesiyle geri döndürülebilen bir durum olan periodontal hastalığın en hafif şeklidir. Öte yandan, periodontitis bağ dokusu kaybına, alveoler kemiklerin rezorpsiyonuna ve periodontal ceplerin oluşumuna neden olur. Periodontal cepler bakterilerle dolduğunda, durum genellikle geri döndürülemez hale gelir ve diş kaybına yol açar. Periodontitis, diyabetin altıncı en yaygın komplikasyonu olarak kabul edilmektedir (74). Buna göre 2017'deki küresel hastalık yükü çalışmasında, 796 milyon insan periodontal hastalığa yakalandığı ve 1990'dan bu yana %50,2 oranında önemli bir artış gösterdiği rapor edilmiştir (75). Kanıtlar, tip II diyabet ve periodontitis arasında çift yönlü bir ilişkinin varlığına ve tip II diyabet vakalarında periodontitis riskinin daha yüksek olduğuna işaret etmektedir. Bu durum mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon riskini artırır (74). Ayrıca, Tip II diyabetli kişilerde cerrahi olmayan periodontal tedavi glisemik kontrol için faydalı olabilir (76).

Dental implant restorasyonları olan hastalarda diyabet ve hipergliseminin osteointegrasyon üzerinde olumsuz etkileri bilinmektedir. Uzun süreli hiperglisemi sonunda mikrovasküler hastalık, gecikmiş yara iyileşmesi ve enfeksiyona yatkınlık dahil olmak üzere diyabet ile ilişkili ikincil komplikasyonlara yol açabilir ve bu da osteoentegre diş implantlarının sonuçlarını etkileyebilir (77). İmplant uygulanmış, HbA1c düzeyinin %10 altı ve üstü şeklinde ayrılan toplam 634 hiperglisemik vakada, HbA1c düzeyi %10'un üstünde olan hastalarda implant sağ kalım oranının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (78). Bununla birlikte, çok sayıda araştırma, glukoz düzeyleri iyi kontrol edilen bireylerin dental implantlar için hiperglisemisi bulunmayan bireylerle benzer başarı oranlarına sahip olduğundan bahsetmiştir (79,80). Konuyla ilgili çalışmalar yeterli metabolik regülasyona sahip diyabet hastalarında kötü prognoz olasılığının genel popülasyona göre daha yüksek olduğunu bildirmiş olsa da (81,82), uzun süre hiperglisemik maruziyetin, dental implantlarda başarısızlık oranını artırıp artırmadığı halen tartışmalıdır.

2.2.4. Diyabetin Yara İyileşme Süreci Üzerindeki Etkileri

Diyabetik hastalarda gelişen uzun süreli hiperglisemi yara oluşmasına, iyileşme sürecinin uzamasına ve ateroskleroz yoluyla diyabetik ayak ülseri gelişmesine, çeşitli cilt hastalıklarına ve periferik nöropatiye neden olabilir. Bu durum, hiperglisemi ile gelişen aterosklerozun yara iyileşme süreci için gerekli bileşenlerin

yaraya ulaşmasını engellemesiyle açıklanmaktadır (83). Bununla birlikte hipergliseminin neden olduğu endotel disfonksiyonun da diyabetik ayak ülserlerinin patogeneğinde yer aldığı bilinmektedir (84). Endotelial disfonksiyon, epitelizasyon için gerekli olan protein sentezi ile keratinositlerin ve fibroblastların migrasyonunun ve proliferasyonunun bozulmasına yol açar (85,86). Öte yandan, uzun süren hiperglisemi glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim süpresyonu ile serbest oksijen radikali hiperaktivitesine neden olabilir. Hiperglisemi ayrıca poliol, hekzosamin ve protein kinaz C aracılığı ile reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açabilir (87). Yara iyileşmesinin erken evrelerinde serbest oksijen radikallerinin de rol aldığı bilinse de, bu yapıların üretimindeki dengesizliğin yara iyileşmesinin sonraki aşamalarında zararlı olduğu gösterilmiştir (88).

Diyabet ve diyabete bağlı gelişen uzun süreli hipergliseminin kemik doku travmalarına bağlı hasarların iyileşme sürecini de geciktirdiği ya da bozduğu bilinmektedir. *Wistar* sıçanlarında streptozosin ile oluşturulmuş hipergliseminin osteosit laküner yoğunluğunu artırarak ve vasküler kanal hacmini azaltarak sıçan kortikal kemiğine zarar verdiği gösterilmiştir (89). Benzer bir çalışmada, streptozotosin ile Tip I diyabet modeli oluşturulmuş, sıçanların maksillar ikinci azı dışından deneysel periodontit geliştirilmiştir. Çalışma sonuçları diyabetin gingival tümör nekrotizan faktör alfa(TNF- α) ve uyarılabilir nitrik oksit sentaz(iNOS) indüksiyonuna neden olduğu; inflamasyonun periodontit ile alevlendiği ve bu durumun alveolar kemik rezorpsiyonunu artırdığı gösterilmiştir (90). Ekici ve ark., yüksek mısır şurubu içeren diyetle oluşturdukları hipergliseminin sıçanlarda kraniomandibular kemik doku hasarına neden olduğunu ve kemik gelişimini baskıladığını rapor etmişlerdir.(91). Diğer taraftan aynı modellemeye, hipergliseminin masseter ve gingival doku inflamasyonuna neden olduğu gösterilmiş, bu durumun yara iyileşme sürecinin uzamasına neden olabileceği ifade edilmiştir (92). Streptozosin ile diyabet oluşturulmuş *Sprague dawley* sıçanlara kalvaryal defekt uygulanmış ve diyabetin kemik dokuda iyileşme sürecini uzattığı gösterilmiştir (93). Sonuç olarak; düzensiz ya da yüksek düzeyde seyreden kan glukoz seviyelerinin neden olduğu değişiklikler, yumuşak ve kemik dokuda yara iyileşmesini bozar ve dokuları enfeksiyona karşı daha duyarlı hale getirir.

2.2.5. Diyabetin Kemik Gelişimi ve İmplant Osteointegrasyonu Üzerindeki Etkileri

Optimal glisemik kontrol, dental implantın uzun vadeli fonksiyonel ve estetik başarısı için çok önemlidir. HbA1c değerlerinin %7 ve altında olması iyi bir glisemik kontrolün göstergesi olarak kullanılsa da bu seviye tüm diyabetik hastalarda elde edilemeyebilir. Öte yandan mevcut literatür, tek başına HbA1c ölçümünden glisemik kontrolü tahmin etmenin yanıltıcı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yüksek preoperatif HbA1c, majör cerrahi prosedürlerden sonra artan mortalite ve morbidite ile ilişkili değildir. Diyabetik hastalarda implantların hayatta kalması veya başarısına ilişkin faktörler, klinik veri toplama ve sonuçların standart bir şekilde raporlanmaması nedeniyle tutarsızdır. Bir dizi çalışma diyabeti iyi kontrol edilen hastalarda implant tedavisinin sağlıklı bireylere benzer bir başarı oranına sahip olduğunu bildirirken, diğer çalışmalar diyabetik hastalarda glisemik kontrolün implant başarısızlık oranı veya marjinal kemik kaybı üzerinde bir fark yaratmadığını öne sürmektedir (94). Bu tutarsızlık, hiperglisemi dışındaki risk faktörlerinin diyabetik hastalarda implantların hayatta kalmasına katkıda bulunabileceğini gösterebilir. Hindistanda yapılan 14 farklı çalışmada, HbA1c düzeyi %8.1-10 aralığında bulunan tip II diyabet hastalarında implant başarı oranının %94.2 olduğu rapor edilmiştir (95).

Geleneksel olarak DM gibi metabolik rahatsızlıkları olan hastalar, artan enfeksiyon riski, bozulmuş kemik iyileşmesi veya vasküler komplikasyon potansiyeli nedeniyle dental implant tedavisi için uygun adaylar olarak kabul edilmezler. Peri-implant hastalığının daha ilerleyici formu olan periimplantit, kemik kaybı ile senkronize gelişir ve uzun vadede tüm implant vakalarının yaklaşık yarısında meydana geldiği tahmin edilmektedir. Preklinik ve hayvan modellerinde hipergliseminin diş implantlarının başarısı ile ilgili kapsamlı araştırmalara rağmen, glisemik profil spektrumuna sahip hastalarda periimplantit için rapor edilen sonuç göstergelerindeki tutarsızlıklar klinik uygulamaya geçiş çabasını engellemektedir (96). Alloksanla diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yapılan implant uygulaması sonrası kemik dokuda elektron mikroskopisi görüntülemeleri, birkaç boş alan ve az sayıda proteoglikana işaret etmektedir. Ayrıca, sıçanlara insülin tedavisi uygulanması ile bu durumun kısmen normalize edildiği bildirilmiştir (97). Streptozosin ile indüklenen diyabette, sıçanların femur Micro-CT sonuçları çok düşük düzeyde osteogenez ve az sayıda trabeküler mikro yapı iyileşmesi olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, kemik doku

hacminin, toplam trabeküler sayının ve osteointegrasyon yüzdesinin azaldığı saptanmıştır (98). Diğer bir çalışmada, sıçanlara yüksek yağlı ve yüksek fruktoz içeren diyet uygulanarak deneysel hiperglisemi oluşturulmuştur. Çalışma sonuçlarına göre hiperglisemik sıçanlarda kemik implant kontakt yüzdesinin, kemik hacminin, trabeküler sayının ve mineral apozisyon oranının azaldığı, trabeküler ayrımın ise arttığı saptanmıştır (99).

Diyabet ve hipergliseminin kemik doku üzerindeki etkilerinin moleküler düzeyde incelendiği çalışmalar ise, RUNX ve osteokalsin(OCN) düzeylerinin azaldığına işaret etmektedir (91,100). Kemik dokuda diyabete bağlı gelişen bu farklılıkların, özellikle Wnt yolağı üzerindeki baskılayıcı etkileri ile ilişkilendirilmektedir (101). Mevcut literatür ışığında, diyabet hastalarında implant uygulamasının başarı oranını artırmak için cerrahi işlem öncesi ve osteointegrasyon sürecinde insülin veya oral hipoglisemik ilaçlarla optimal glisemik kontrolün ve yara iyileşme sürecine katkı sağlayan ajanların kullanımının büyük önem taşıdığı söylenebilir.

2.2.6. Deneysel Diyabet Oluşturma Yöntemleri

Diabetes mellitus birçok sağlık komplikasyonu ile ilişkilidir ve potansiyel olarak morbid bir durumdur. Yaygınlık dünya çapında endişe verici bir oranda artarken, farklı mekanizmalara sahip yeni antidiyabetik bileşiklerin araştırılması en büyük önceliktir. Bu nedenle, diyabetin prelinik deneysel indüksiyonu, bilgiyi ilerletmek, patogenezi anlamak ve yeni ilaçlar geliştirmek için zorunludur. Bildirilen tüm modeller arasında, streptozotosin ile kimyasal olarak indüklenen diyabetin en çok tercih edilen model olduğu bilinmektedir (102).

Deneysel diyabet modellerinin her biri kendi özelliklerine ve hastalığın gelişimine göre farklılık gösterir. Deneysel modeller, metabolik bozukluğun altında yatan farmakoloji ve mekanizmaların incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan diyabetinin patogenezi ve retinopati, nefropati, kardiyomiyopati ve nöropati gibi komplikasyonlarını açıklamak için, bu hastalığın prevalansı ve komplikasyonu dünya çapında arttığı için diyabetik modeller önemli bir rol oynamaktadır. Bu hayvanların yeni ve makul ilaçları araştırmak ve geliştirmek için sunduğu tüm avantajlara rağmen, yeni ilaçların tasarımını ve terapötik müdahaleleri de sınırlayacak bireysel sınırlamaları vardır. Bu nedenle model seçimi, diyabetik komplikasyonlara ve

seçilen hayvana bağlı olarak değişen mükemmel bir model olması için gerekli tüm özelliklere sahip olması açısından önemlidir.

Tip 1 diyabeti incelemek için genellikle bir otoimmünite modeli tercih edilir. Bununla birlikte obez, obez olmayan, hiperglisemik, insülin direnci ve β -hücre direnci olan tip 2 diyabet hayvanları için de otoimmünite modeli tercih edilir. Deneysel hayvan modelleri fizyolojik açıdan farklılık gösterdiğinden ve insan diyabetik hastaların çeşitli komplikasyonlarını temsil etmek için kullanıldığından, her çalışma için uygun modellerin seçilmesinde çok dikkat ve çalışma gereklidir (103). Bu kapsamda streptozotosin ve alloxan, parenteral olarak uygulandığında diyabete neden olan ve yaygın olarak kullanılan kimyasal maddelerdir (104). Hayvan türüne ve veriliş yoluna bağlı olarak, iki ilacın dozajı değişebilir. Bununla birlikte AKITA fareleri, GK fareleri, Zucker diyabetik yağlı fareleri, obez kendiliğinden hipersensitif faresi (SHR), ESS fareleri ve diyabet faresi (db/db) genetik olarak indüklenen diyabet modelleri kategorisine girer (105). Bazı diyabetik komplikasyonların incelenmesi amacıyla virüs kaynaklı modeller de tercih edilebilir. Virüsler, pankreastaki β hücrelerinin bozulması ve enfeksiyonu yoluyla diabetes mellitusa neden olur. Diyabeti harekete geçirmek için kullanılan çok sayıda insan enfeksiyonu, RNA picornovirüsleri, coxsackie B virüsü, kilham sıçan virüsü ve ensefalomyokardit virüsü (EMC) içerir (103).

2.3. Yara İyileşmesinde Kullanılan Bitkisel Ajanlar ve Mangiferin

Yara iyileşmesi, bir dizi karmaşık adımı içeren oldukça kontrollü bir süreçtir. Bu iyileşme yolu hemostaz, inflamasyon, proliferatif ve yeniden şekillenme aşamalarından oluşur (106). Son kanıtlar, fitomedisinlerin, kronik yaralar da dahil olmak üzere farklı türden yıkıcı hücresel hasarları önleyebildiğini veya onarabildiğini göstermektedir. Polifenoller, alkaloidler, flavonoidler, terpenoidler ve glikozitler gibi çeşitli fitokimyasallar yara iyileşmesinde ana adım olan fibroblast proliferasyonunun uyarılması da dahil olmak üzere pleiotropik etkilere sahiptir. Ayrıca mekanizma, kollajen sentezinin, göçünün ve yeniden epitelizasyonun indüklenmesini ve bunların antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkilerini içerir (107). Benzer şekilde, fitokimyasalların tek başına veya standart tedavi ile bir adjuvan olarak kullanılması, diyabetik yaraya bağlı komplikasyonların yönetiminde umut verici sonuçlar göstermiştir. Örneğin, *Carica papaya* ekstresinin, enzimatik aktivite ile birlikte yara iyileştirme özelliğine katkıda bulunan antioksidan, antimikrobiyal ve

antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri gösterilmiştir (108). Genel olarak fitoterapinin sentetik terapötik ajanlara göre hiç veya çok az toksisiteye sahip olduğuna inanılır. Bu da diyabete bağlı yara tedavisinde kullanımını destekler.

Fitoterapi amacıyla kullanılan ekstratlar, terapötik ve iyileştirici özelliklere sahip bitkisel bir ilaçlardır. Fitofarmasötik formülasyon, yalnızca bütün bir bitkiden veya parçalarından ekstrakte edilen ve farmasötik bir preparasyonun ham veya saflaştırılmış bir formu olarak üretilen bileşiklerdir. Bu maddeler, kimyasal ve sentetik ilaçlardan farklı oldukları için benzersizdirler (109). Kimyasal ve sentetik ilaçlar genellikle tek bir etken madde veya en fazla birkaç etken maddeden oluşur. Bu, iki kimyasal ilacın aynı biyoaktif bileşiğe sahip olması ve benzer bir konsantrasyonda karşılaştırılabilir dozaj formlarına sahip olması durumunda birbirlerinin yerine geçebileceğini düşündürür. Öte yandan fitofarmasötiklerde bu durum farklıdır. Bir fitofarmasötikteki bitkisel ekstrakt birkaç ayrı bileşik içerir ve olumlu etkiler bu bileşiklerin birleştirilmesinden kaynaklanır (110). Bu durum, özütün bir bütün olarak fitofarmasötiklerin aktif bileşeni olduğu anlamına gelir. Fitoterapötikler şifalı bitkilerden elde edilir ve bunların biyoaktif bileşenleri klinik belirtileri hafifletebilir, dejeneratif bozuklukları önleyebilir ve hatta hastalıkları iyileştirebilir (111). Hiperglisemi, protein glikozilasyonunu arttırmada çok önemli bir role sahiptir. Bu sırada glikozun oksidasyonu, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonuna ve ayrıca membran fosfolipidlerinin lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikaller oluşturarak hücre zarı hasarlarına neden olur (112).

İyileşme süreci uzamış kronik yaralar genellikle proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediyatörler arasındaki dengesizlikten gelişir (113). Bu değişkenlere karşı bitki ilaçları, başta Asya ve Afrika ülkeleri olmak üzere eski çağlardan beri güvenilir bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Son kanıtlar, fitokimyasalların, özellikle kronik yaralar olmak üzere hücre hasarlarını önleme ve onarma dahil olmak üzere çeşitli terapötik etkilere sahip olduğunu göstermektedir (114). Çoğu zaman, bitkisel ilaçlar geleneksel olarak yanıkların, enfekte ülserlerin, cilt tahrişlerinin ve iltihapların tedavisi için topikal preparasyonlar halinde uygulanır. Klinik ve klinik öncesi çalışmalar fitokimyasalların yara iyileştirme yeteneklerini etkili bir şekilde göstermiştir (115). Ananas gibi bitki kaynaklarından elde edilen bromelain gibi doğal proteolitik enzimler bu amaçla kullanılabilir (116). Benzer bir şekilde, papayadan elde edilen papain, yaraların enzimatik debridmanını ve prolinin hidroksiprolin

dönüştürülmesine yardımcı olan C vitamini zenginliğini sağlar ve böylece yara iyileşme sürecine katkıda bulunur (117).

Diyabetik hastalarda cerrahi operasyon sonrası yara iyileşme sürecinin uzaması, hasta ve klinisyenin tedaviye yönelik uygulamalara karşı çekingen davranmasına yol açarak hastanın yaşam kalitesine etki etmekte ve mağduriyete neden olmaktadır. Bu kapsamda tedaviye yönelik birçok alternatif ürünler araştırma kapsamındadır. Bazı çalışmalarda mango ekstratının yara iyileşme sürecine katkı sağladığının gösterilmesiyle (118,119), mango ekstratında yer alan biyoaktif bir bileşik olan mangiferin popüler bir araştırma konusu haline gelmiştir.

2.3.1. Mangiferin

Mangiferin (1,3,6,7-tetrahidroksi-2-[3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) oksan-2-il] ksanten-9-on), mango ağacından türetilen biyoaktif bir bileşendir. Xanthone ailesine ait olan yapısı, çeşitli farmakolojik hedeflerle etkileşime girmesine izin verir. Ksantonların simetrik bağlı çekirdeği, heterojen bir biyogenetik geçmişe sahiptir. Karbon atomları, A halkasının (C1-C4) asetat kökenli ve B halkasının (C5-C8) şikimat kökenli olarak adlandırılmasının nedenini ortaya koyan biyokimyasal bir sırada belirtilir (120). Mangiferin dietil eter, aseton, n-heksan içinde çözünmez; metanol, su ve etanolde az çözünür (121). C-glukozitleri, O-glukozitlerine göre asit, alkali ve enzim hidrolizine karşı daha az duyarlıdır (122). Bu durum mangiferinin düşük biyoyararlanımına sahip bir bileşik olduğunun göstergesidir. Mangiferinin kiral bir yapısı yoktur, ancak izomangiferin olarak izomeri vardır. Ayrıca, aglikonun farklı süstitüent grupları nedeniyle doğada homomangiferin ve neomangiferin olmak üzere iki benzer yapı halinde bulunur (120).

Mangiferin, *Mangifera indica* L., *Anemarrhena asphodeloides* Bunge, *Swertia* türleri ve *Coffea* (C.) türleri dahil olmak üzere çeşitli bitkilerde bulunur (123). İçeriği gelişme aşamalarına ve bitkinin farklı bölgelerinde nerede bulunduğu, ayrıca yetiştirme ortamına ve depolama koşullarına ve farklı hasat sonrası işleme yöntemlerine bağlıdır. Mangiferin açısından zengin bitki özleri çeşitli gıda takviyelerinde içerik olarak ve ayrıca nutrasötikler olarak kullanılır (124).

Mangiferin; glikoliz, trikarboksilik asit döngüsü, lipid ve amino asit metabolizması ve enerji biyosentezi gibi önemli fizyolojik aktivitelere sahiptir. Bu nedenle mangiferin, hiperlipidemi ve hiperglisemi gibi çeşitli metabolik bozuklukları düzenleme ve iyileştirme potansiyeline sahiptir (125). Bununla birlikte, düşük

çözünürlük ve zayıf transmembran geçirgenliğine sahip mangiferinin biyoyararlanımını sınırlamaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, mangiferinin biyoyararlanımı %1.2 olarak saptanmıştır (126). Bu kısıtlayıcı özelliklerine rağmen mangiferinin çeşitli mekanizmalar aracılığı ile diyabete bağlı komplikasyonları azalttığı ve hiperglisemiye baskıladığı ifade edilmektedir (127). İnsan karaciğer hep2 hücrelerinde mangiferinin PI3K/AKT yolağını indükleyerek insülin direncini hafifletici etkileri gösterilmiştir (128). Benzer bir çalışmada ise mangiferinin düşük yoğunluklu lipoprotein(LDL) oksidasyonunu azalttığı ve nitrik oksit(NO) üretimini artırarak diyabete bağlı kardiyovasküler komplikasyonların önüne geçtiği gösterilmiştir (129). Bununla birlikte yakın dönemde yapılan çalışmalar, mangiferinin antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik özelliklerine işaret etmektedir (130).

2.3.2. Mangiferinin Oksidatif Stres ve İnflamasyon Üzerindeki Etkileri

Mangiferin hidroksil grupları ve katekol kısmının redoks-aktif aromatik yapısı nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (131). ROS üzerinde açıklanan süpürücü etkinliğine ek olarak, antioksidan etkinliği ile bilinen Nrf2 yolağının indüklenmesi ile inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (132). Bu özelliği ile mitokondriyal membranları lipid peroksidasyonuna karşı koruduğu ve fenton tipi reaksiyonları inhibe ederek hidroksil radikal oluşumunu önlediği saptanmıştır (133). Mangiferin, ROS üretimini azaltarak ve inositol gerektiren enzim 1 fosforilasyonunu azaltarak endoplazmik retikulum ile ilişkili oksidatif stresi güçlü bir şekilde inhibe eder (134). Mangiferinin NF- κ B sinyal yolunun bir inhibitörü olduğu da bilinmektedir (131).

Diyabete bağlı komplikasyonların başında endotel disfonksiyonuna bağlı vasküler deformasyon ve ateroskleroz gelmektedir. Mangiferin endotel hücrelerini hidrojen peroksit(H_2O_2) veya glise edilmiş protein-demir şelatı tarafından indüklenen oksidatif hasardan koruyarak oksidatif strese bağlı patolojilere karşı koruyucu etkinlik gösterdiği ifade edilmiştir (135). Yüksek glukoz/hipoksi ile indüklenen deneysel anjiyogenez modelinde, mangiferinin hipoksi ile indüklenebilir faktör-la, vasküler endotelial büyüme faktörü ve matriks metalopeptidaz (MMP)-2 ve MMP-9'u azaltarak anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (136). Mangiferinin diyabet modellerinde son glikasyon ürünleri oluşumunun inhibisyonu ile vasküler hasarı önlediği bilinmektedir.

Sıçanlarda geliştirilen streptozosin ile indüklenen diyabet modelinde, mangiferinin glikasyon ürünlerini baskıladığı, NF- κ B inhibisyonu ile proinflamatuvar sitokinlerin düzeyini azalttığı gösterilmiştir (137). Bununla birlikte yüksek yağlı diyetle gelişen aort duvarı kalınlaşmasının ve dislipidemisinin mangiferin tedavisiyle azaldığı tespit edilmiştir (138). Kemirgenler üzerinde yakın dönemde gerçekleştirilen ve 19 çalışmayı içeren bir meta-analizde, 422 mg/kg'a kadar mangiferin alımının, doza bağımlı bir şekilde kan glukoz seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (139). Yine sıçanlarda streptozotisin ile indüklenen diyabete karşı mangiferin uygulanması ile plazma malondialdehit, IL-6, TNF- α ve IL-1 β seviyelerinin düştüğü saptanmıştır (140). Mevcut literatüre göre, mangiferinin diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlara karşı etkili olduğu söylenebilir.

2.3.3. Mangiferinin Apoptoz Üzerine Etkileri

Kanser gelişimi ve ilerlemesinin inflamasyon ile ilişkili olduğu bilinmektedir (141). Kronik inflamasyon, hücre proliferasyonunu, apoptozu ve anjiyogenezi inhibe ederek karsinogenezi indükler (142). İnflamatuvar sitokinler ve hücreler gelişim, ilerleme, habis transformasyon, invazyon ve metastaz dahil olmak üzere tümörlerin patolojik gelişiminde rol oynar. Ayrıca NF- κ B, çeşitli inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını teşvik ederek kanser oluşumuna aracılık eder.

Kansere bağlı inflamasyon, kanserin oluşumunda ve ilerlemesinde çok önemli bir rol oynar ve son yıllarda araştırmaların odak noktası haline gelmiştir. Kronik inflamasyon büyüme faktörleri, kemokinler ve sitokinler dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif moleküller üretimine neden olarak tümör dokusunun homeostazını değiştirir (143). Bu nedenle, inflamasyonun inhibisyonu, anti-kanser ilaç geliştirme için etkili bir stratejidir. Mangiferin, NF- κ B'yi indükleyen kinaz fosforilasyonunu inhibe ederek NF- κ B yolu aracılığıyla metastazı ve tümör büyümesini baskılayabilir (144).

İnflamatuvar yanıt sürecinde yer alan hücreler makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri, granülositler ve monositler şeklinde sıralanabilir. Makrofajlar, iltihaplanma ve kanser arasında hayati bir köprüdür ve tümörler üzerinde “iki ucu keskin kılıç” etkisine sahiptir. Kanser ilerlemesini hızlandırmak için tümörle ilişkili faktörler makrofajlar, makrofaj migrasyon inhibe edici faktör, sitokinler (IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, IL-10 ve TNF- α) ve tümör büyüme faktörü- β hayati önem taşır (145). Mangiferinin, insan gastrik adenokarsinom hücrelerinde COX-2, iNOS, IL-1 β , IL-8

ve TNF- α inhibisyonuyla apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (146). Diğer bir çalışmada mangiferinin MMP-1, MMP-2 ve paratiroid hormon reseptörü 1'i ekspresyonunu azaltarak insan metastatik osteosarkom hücre büyümesini baskıladığı gösterilmiştir (147). *Tert*-butil hidroperoksit ile indüklenen apoptozisin mangiferin tedavisiyle yavaşladığı saptanmıştır. Çalışma sonuçları, mangiferinin apoptotik faktörlerden Bax ve caspase-3 ekspresyonlarını baskıladığı, antiapoptotik faktörlerden Bcl-2 düzeylerini ise artırdığına işaret etmektedir (148).

Benzer bir şekilde mangiferinin, oksidatif stres aracılı sinyalleri, inflamatuvar kaskadları, apoptotik yolları ve steroidogenezi modüle ederek farelerde di-(2-etilheksil) ftalat kaynaklı testis hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir (149). Ayrıca mangiferin kaynaklı Nrf2 indüksiyonunun, vasküler endotel hücrelerine doksorubisin uygulaması ile gelişen apoptotik süreci baskıladığı tespit edilmiştir (150). Bir başka çalışmada ise, farelerde glukoz ve oksijen kısıtlamasıyla oluşturulmuş miyokard infarkt s yle gelişen apoptotik sürecin ve kalp yetmezliğinin, mangiferin tedavisiyle iyileştirildiği gösterilmiştir. Çalışmada mangiferinin koruyucu etkisinin SIRT1/FoxO3a yolağını aktive etmesiyle ilişkili olduğu ifade edilmiştir (151). Mevcut veriler apoptozis ve kanser üzerindeki etki mekanizmalarını tamamen kanıtlamasa da, mangiferinin birden fazla yolak üzerinden apoptozisi baskıladığına işaret etmektedir.

2.3.4. Mangiferinin Yara İyileşmesi  zerine Etkileri

Yara iyileşme süreci diyabet, enfeksiyon, venöz yetmezlik gibi patofizyolojik durumlarda uzar ya da tamamlanamaz (106). Özellikle diyabette hiperglisemi nedeniyle yara iyileşme fazları boyunca rejenere olmaz ve normal süre içinde iyileşme belirtisi göstermez (152). Hiperglisemi reaktif oksijen türlerini ve proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunu artırarak, hücre dışı matrisin bileşenlerini ve yaranın iyileşmesi için gerekli büyüme faktörlerini bozan inflamatuvar hücrelerin toplanmasını indükler (87). Bu nedenle, diyabetik hastaların cerrahi işlem öncesinde kan glukoz düzeylerinin regüle edilmesi büyük önem arz eder.

Yara iyileşme sürecinin sağlıklı bir şekilde tamamlanması için birçok farklı terapötik ajandan faydalanılmaktadır. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, güçlü antiinflamatuvar etkinliğe sahip bir bileşik olan mangiferinin yara iyileşme sürecine katkıda bulunması yönünde bir alternatif olabileceğine işaret etmektedir. Bu kapsamda her ne kadar kısıtlı literatür kaynağı söz konusu olsa da, mangiferinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar da vardır. Streptozosin ile indüklenen tip II

diyabet modelinde, sıçanlara i.p. nikotinamid uygulamasıyla yara oluşturulmuş; yaralara topikal olarak mangiferin verilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hasarlı ciltte epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, TGF- β , VEGF, PI3K, MMP ve Nrf2 ekspresyonunda artış ve TNF α ve NF- κ B ekspresyonunda ve dağılımında azalma olduğu gösterilmiştir (153).

Mango kabuğu ekstresinin kesik ile oluşturulan yaralar üzerinde iyileşmeye katkıda bulunduğu ifade edilmiştir (118). Sıçanlara deri üzerine tetradekanoilforbol asetat uygulanmasıyla gelişen deformasyon ve inflamasyonun, topikal mangiferin nanoemülsiyonu uygulamasıyla iyileştirildiği gösterilmiştir (154). Mevcut kısıtlı çalışmalar, mangiferinin yara iyileşme sürecini iyileştirerek diyabetik hastalarda cerrahi işlemlerin yapılabilmesine olanak sağlayabilecek alternatif bir bileşik olabileceğine işaret etmektedir. Böylelikle, bu tez çalışmasında streptozosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, implant uygulanması sonrası mangiferinin yara iyileşme sürecine etkileri araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Etik Onayı

Araştırma projesi Afyon Kocatepe Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca (AKU HADYЕК) araştırmanın AKU HADYЕК yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna dair karar verildi ve onaylandı (22/10/2021 tarih ve 49533702/142 numaralı karar). Bu araştırma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 22.DUS.001 kodlu proje ile desteklendi.

3.2. Deney Hayvanlarının Beslenmesi ve Bakımı

Çalışma için 24 adet 3 aylık 300-330 gram ağırlığında *Sprague Dawley* erkek rat, AKU HADYЕК'ten temin edilmiştir (Resim 3.1). Hayvanlar, 12/12 saat aydınlık karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (22°C) ve nem kontrollü odalarda yem ve suya serbestçe ulaşabilecek şekilde yerleştirilmişlerdir. Tüm deney süresi boyunca sıçanlara kuru madde: %88, protein: %23, selüloz: %7, ham kül: 8, HCl'de çözülmeyen kül: %2, kalsiyum: %1.5, fosfor: %0.9, sodyum: 0.7, tuz (NaCl): %1, metiyonin: 0.3, ve lizin:1 içeren standart rodent yem verilmiştir.



Resim 3.1. Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen *Sprague Dawley* erkek ratlar.

3.3. Deney Grupları

Bir haftalık akomodasyon periyodunun ardından hayvanlar rastgele üç gruba ayrıldı:

1.Kontrol grubu: Kontrol grubunda yer alan sıçanlara 90 gün boyunca içme suyu ve standart rodent yem verilmiştir.

2. Diyabet grubu: Diyabet grubu sıçanlara, deneyin 0. gününde sterilize edilmiş normal salin içinde taze hazırlanmış streptozotosin (CAS: 18883-66-4; Sigma Chemical Co. St. Louis, ABD) 50 mg/kg/i.p. uygulanmış; 90 gün boyunca içme suyu ve standart rodent yem verilmiştir.

3. Diyabet+mangiferin grubu: Diyabet+mangiferin grubu sıçanlara deneyin 0. gününde sterilize edilmiş normal salin içinde taze hazırlanmış streptozotosin (50 mg/kg/i.p.) uygulanmış; 90 gün boyunca içme suyu ve standart rodent yeme ilaveten gavaj yoluyla mısır yağında çözülmüş mangiferin (M2886-5G, Cymit Química, S.L. ADB) 40 mg/kg olarak verilmiştir (Resim 3.2).

Diyabet ve diyabet+mangiferin gruplarına 0. günde uygulanan streptozotosin enjeksiyonundan sonra 3 gün boyunca ve her gün aynı saatte, sıçanların kan örnekleri kuyruk venlerinden alınarak şeker ölçüm cihazı ile glukoz düzeyleri ölçülmüş, bu süre boyunca glukoz düzeyleri 200 mg/dl üstünde olan hayvanlar deney gruplarına dahil edilmiştir.



Resim 3.2. Mangiferin (M2886-5G, Cymit Química, S.L. ADB).

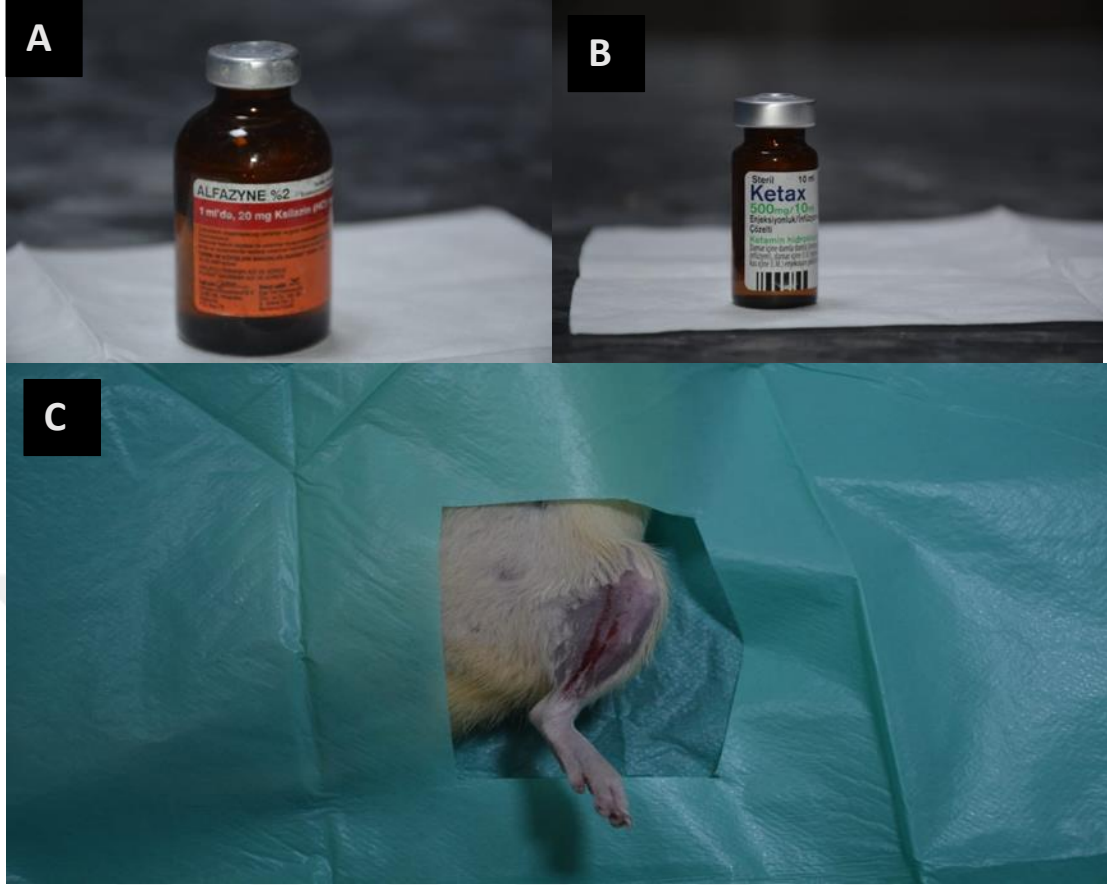
3.4. Dental İmplantların Uygulanması

Dental implantasyon işlemi için genel anestezi altında tüm hayvanlar ameliyata alınmıştır. İmplant materyali olarak eksternal altıgen platforma sahip dental implantlar kullanılmıştır (İmplant Sistemleri, AGS Medikal, İstanbul, Türkiye). Dental implantlar ratların sağ ve sol femur bölgelerine birer adet olarak yerleştirilmiştir. Dental implantların rat femurunda kullanımına uygun olması için özel üretim 2.5 mm çapında, 4 mm uzunluğunda implantlar tercih edilmiştir. Kullanılan implantlar Resorbable Blast Media (RBM) yüzey yapısına sahiptirler(Resim 3.3).



Resim 3.3. RBM yüzey yapısına sahip 2.5 mm çapında, 4 mm uzunluğunda altıgen formdaki implantlar.

Hayvanlar genel anestezi ile işlem öncesi aç bırakılmış ve i.m. enjeksiyon ile 10-20 mg/kg xylazine (Rompun 2%, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) uygulanmıştır. Çift taraflı femur kemiği proksimal bölgesi tıraşlandıktan sonra kas içi profilaktik antibiyotik (50 mg/kg Seftriakson, Cephaxon, Toprak İlaç A.Ş, Sakarya,Türkiye) ve analjezik ilaç (4 mg/kg Carprofen, Rimadyl, Pfizer,Almanya) enjekte edildikten sonra antiseptik solüsyon uygulanmıştır. Sıçanların femur kemikleri steril cerrahi örtü ile kaplanarak cerrahi işleme hazır hale getirilmiştir(Resim3.4).



Resim 3.4. Cerrahi işlem öncesi hazırlıklar: A) Xylazine B) Ketamin HCl C) Traşlanan femurun steril örtü ile örtülmesi

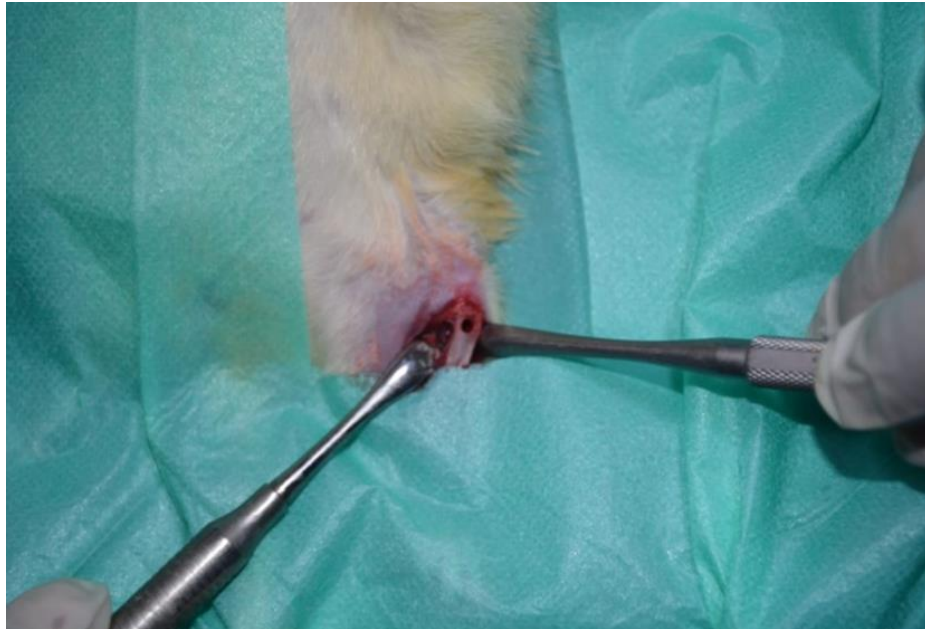
Cerrahi uygulama seti çapı 1,8 mm olan başlangıç frezi, implant yuvasını genişletmek için çapı 2.2 mm olan ara frez ve çapı 2.5 mm olan final frezinden ve implantları açılan implant soketine yerleştirmek için bir taşıma parçasından oluşmaktadır (Resim 3.5). İmplantların cerrahi yerleştirilmesi aşamasında on beş no'lu bistürü ile hayvanların femur kemiklerinin üzerinden kesi yapılarak mukoperiostal flap kaldırılmış ve kemiğinin metafiziyal kısmına ulaşılmıştır. İmplant yuvaları fizyodispenser cihazı (X-CUBE, SAESHIN PRECISION CO.,LTD, Daegu, Korea) ile devir hızı 500-600 rpm'de önce çapı 1,8 mm olan başlangıç frezi ardından 2.2 mm olan ara frez ve çapı 2.5mm olan final frezi ile monokortikal implant yuvaları ratların sağ ve sol femur kemiklerine birer adet olacak şekilde hazırlandı (Resim 3.6). İmplantlar, yuvalara özel taşıma parçaları ile yerleştirilerek implantasyon işlemi bitirildi (Resim 3.7). İmplantlar yerleştirildikten sonra yumuşak dokular 4-0 eriyebilen sütür (poliglaktin) ile sütüre edilmiştir(Resim 3.8).

Postoperatif olarak deney hayvanlarına 3 gün süre ile 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon, Toprak İlaç A.Ş, Sakarya,Türkiye) IM ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl, Pfizer,Almanya) 20 cc flakon subkütanöz olarak verilmiştir. Hayvanların işlemi esnasında ve postop takibinde herhangi bir hayvan kaybı yaşanmamıştır.

Deney süresi (90 gün) sonunda, hayvanlar ketamin (100mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) kombinasyonu ile dekapite edilmişlerdir. Hayvanlardan kemik-implant kompleksi ve implant bölgesinden femur kemik örnekleri izole edilerek rt-PCR çalışmaları için -85oC’de; Micro-CT ve histolojik analizler için ise %10’luk formalin solüsyonu içerisinde saklanmıştır.



Resim 3.5. Cerrahi implant uygulama seti



Resim 3.6. İmplant yuvasının hazırlanması



Resim 3.7. Hazırlanan yuvaya implantın yerleştirilmesi



Resim 3.8. Yumuşak dokuların 4-0 eriyeblen s    r (poliglaktin) ile s    re edilmesi

3.5. Serumda Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Deney süresi sonunda kan glukoz düzeyi kuyruktan alınan kan örnekleri glukoz ölçüm cihazı (Accu-Check, Roche Diagnostics International Ltd. Rotkreuz, Switzerland) kullanılarak ölçülmüştür. İntrakardiyak olarak alınan -4 cc kan örneği 2200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek sıvı kısım ayrıştırılmıştır. Ayrılan serum pastör pipeti ile alınarak eppendorf tüplerine koyulmuş ve -85°C' de dondurularak saklanmıştır. Serum örneklerinde trigliserit, VLDL, kreatinin, üre, ürik asit, ALT, AST, ALP, fosfor ve sodyum (Na) düzeyleri, uygun enzimatik analiz kitleri kullanılarak belirlenmiştir. Tüm ölçümler Roche Cobas C501 otoanalizöründe çalışıldı (Roche Diagnostics International Ltd. Rotkreuz, Switzerland).

3.6. Femurda Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini

3.6.1. Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Femur kemik dokularına ait toplam RNA'lar, RNA saflaştırma kiti kullanılarak (Fermentas GeneJet) üreticinin kılavuzuna göre izole edildi. Toplam RNA izolasyonundan sonra, RNA'ların bütünlükleri agaroz jel elektroforezi, RNA konsantrasyonu ve protein kontaminasyonu ise MultiscanGO spektrofotometre ile 260 ve 280 nm de spektrofotometrik ölçümler ile kontrol edildi. cDNA sentezi yöntemine göre 1 µg toplam RNA'ya 1 µl oligo (dT) 15 primer (100mM) eklendi. Sonra, hacim DEPC-distile su ile 12 µl'ye tamamlandı. Daha sonra, örnek solüsyonu yavaşça karıştırılıp 70°C'de 5 dakika inkübe edildi ve buz üzerinde soğutuldu. Sonra 4 µl 5xM-MuLV reaksiyon tamponu ve 1 µl RiboLockTM (20 u/ µl) (MBI Fermentas, USA), eklendi. 2 µl 10mM dNTP karışımı eklendikten sonra tüpler 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Son olarak, 1 µl M-MuLV Revers Transkriptaz (200 u/µl) eklendi ve cDNA sentez reaksiyonu 1 saat süre ile 42°C'de gerçekleştirildi. Ters transkriptaz denatürasyonu için 70°C'de 5 dakika bekletilen cDNA örnekleri buz üzerinde soğutulduktan sonra qPCR reaksiyon çalışmalarına kadar -85°C'de saklandı.

3.6.2. Kuantitatif Gerçek Zamanlı PCR (Real time-PCR) Analizi

Femur kemik dokularında *Bmp-2*, *Dkk-1*, *Ibsp*, *Lrp-5*, *Ocn*, *Opn*, *Osn*, *Osp*, *Rankl* ve *Runx2* genlerine ait mRNA miktarları SYBR Green I reaksiyon kimyası ve gerçek zamanlı PCR (Roche LightCycler480 II) ile Tablo 3.1'de belirtilen primer

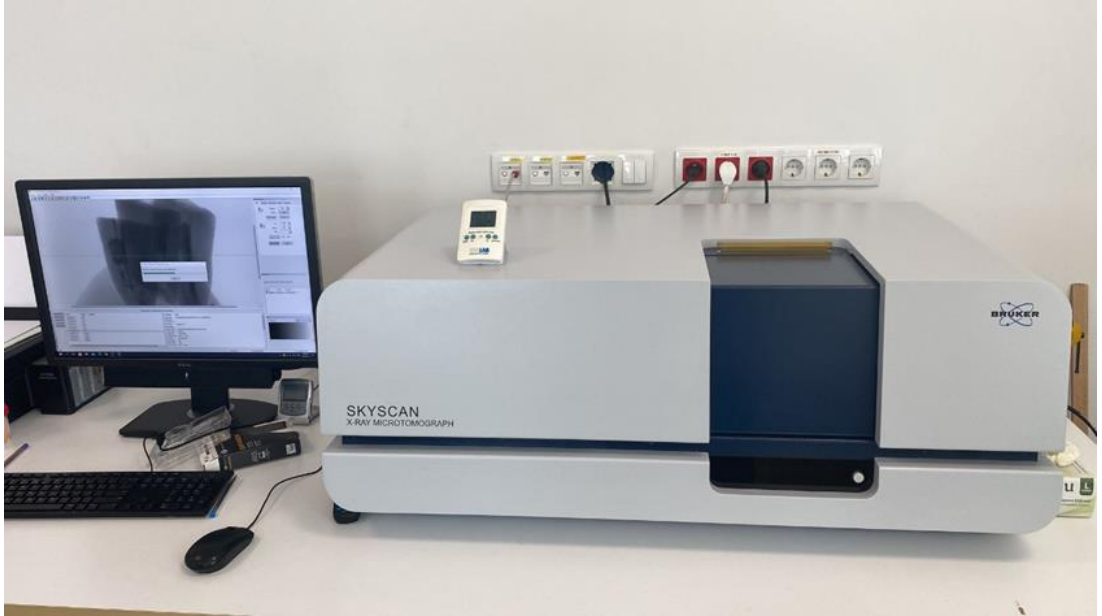
çiftleri kullanılarak gerçekleştirildi. cDNA içerisindeki istenilen mRNA karşılığının yükseltgenebilmesi için 5 µl SYBR Green Mastermix (Roche FastStart Universal SYBR Green Master Mix with Rox) 2 µl ileri, 2 µl geri primerler (her birinden 2 µM) ile karıştırıldıktan sonra karışım üzerine 1 µl cDNA (1:10 oranında seyreltilmiş) eklendi. 95°C’de 10 dakika başlangıç denatürasyonunun ardından, 94°C’de 15 saniye denatürasyon, 58°C’de 30 saniye bağlanma ve 72°C’de 30 saniye uzatma aşaması 45 kez tekrarlanırken her döngünün bağlanma aşamasından sonra floresan ışıma cihaz yardımı ile belirlendi. Her bir yükseltme eğrisi için eşik döngü sayısı (C_T) değerleri hesaplanarak kullanılan standartlar ile kalibrasyon eğrileri oluşturuldu ve örneklerdeki mRNA ifadenmesi belirlendi. Normalizasyon için internal standart olarak *Gapdh* primerleri (Tablo 3.1) kullanıldı. Standart eğri yöntemine göre dokular içerisinde aranan gen ekspresyon düzeyleri *Gapdh* genine oranlanarak birbirleri ile karşılaştırıldı. Aynı zamanda PCR ürünlerinin ve kontaminasyonun kontrol edilmesi için ürünler üzerine melt analizi gerçekleştirildi ve ürünlerin saflıkları kontrol edildi. Herhangi bir cDNA ya da DNA içermeyen kör reaksiyon tüpleri kullanılarak genomik DNA kontaminasyonu olup olmadığı kontrol edildi.

Tablo 3.1. qRT-PCR yöntemiyle mRNA ekspresyonu belirlemesi için kullanılan primer dizileri

Gen	İleri Primer Dizi (5' → 3')	Ters Primer Dizi (3' → 5')	Ürün Uzunluğu
<i>Bmp-2</i>	CACGAGAATGGACGTGCC	GCTTCAGGCCAAACATGCTG	249
<i>Dkk-1</i>	CTCAGTGTGGCACTTACCTG	TCTGCACCCTAGAGACAAAAG	200
<i>Ibsp</i>	AGGCAACGAGTACAACACTG	CATAGCCATGCCCCCTTGTAG	116
<i>Lrp-5</i>	GAGATTGACTGCATCCCTGG	GAGACAGACAGCATCGCAG	159
<i>ocn</i>	CGCTACCTCAACAATGGACT	AACACATGCCCTAAACGGTG	166
<i>Opn</i>	CGATCGATAGTGCCGAGAAG	TGAAACTCGTGGCTCTGATG	112
<i>Osn</i>	GGAAGCTGCAGAAGAGATGG	GGTCTTGTTGTCATTGCTGC	286
<i>Osp</i>	CTAGACAAGCAGGGGTAGGT	AACGTTGGGGGCAATATCAA	222
RANKL	CCCATCGGGTCCCATAAAG	CAGGTTATGCGAACTTGG GA	241
RUNX2	CGCCTCACAACAACCACAG	TCCTGCACTGAAGAGGCTG	225
GAPDH	TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG	TCCTTGAGGCCATGTGGGCCAT	249

3.7. Kemik Doku ve İmplantın Osteointegrasyonunun Micro-CT Yöntemiyle Değerlendirilmesi

Radyolojik analiz, Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Radyoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Femur-implant örnekleri, piksel boyutu 10 μm olan bir mikrobilgisayarlı tomografi (Micro-CT) tarayıcısında (Skyscan 1275, Skyscan, Kontich, Belçika) tarandı (Resim 3.9). X-ışını tüpü voltajı 100 kV ve akım seviyesi 100 μA idi. Maruz kalma süresi 49 ms idi. X-ışını projeksiyonları, 360°'lik bir tarama açısal dönüşü ile 0.20°'lik aralıklarla elde edildi. Elde edilen ham verilerin tarama aşamasından sonra rekonstrüksiyonları, NRecon sürüm 1.7.4.6 (NRecon, Skyscan, Kontich, Belçika) yazılım programı kullanılarak elde edildi. Daha sonra, NRecon kullanılarak yeniden oluşturulan 8 bitlik gri görüntüler CTan yazılım programına (sürüm 1.19.11.1, Skyscan, Kontich, Belçika) aktarıldı. Kemik hacmi, kemik-implant konnektivite yoğunluğu, konnektivite, osteointegrasyon yüzdesi, porozite ve toplam por hacmi gibi temel değerler seçilen ilgili bölgelerden (ROI) elde edildi.



Resim 3.9. Skyscan-1275 Mikrobilgisayarlı tomografi tarayıcısı

3.8. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

3.8.1. Histolojik Değerlendirme

Femur kemik dokuları %10 nötral formalinle fikse edildi. Ardından demineralize edilip çeşme suyu altında yıkandı ve rutin histolojik takibe tabi tutuldu. Takip sonrası elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler klasik lamalar üzerine alındı ve Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyandı.

Kesitler parafinin giderilmesi için bir gece etüvde, ardından 1 saat ksilende bekletildi. İnen etil alkol serilerinden (%100 - 70) geçirilip, distile suya alındı. Hematoksilen içerisinde 5 dakika bekletildi. Çeşme suyunda 10 dakika yıkandıktan sonra Eozinde 2 dakika boyandı. Ardından distile suya alındı. Yükselen alkol serilerinden (%100 - 70) geçirildi. Ksilenden geçirilerek entellan ile kapatıldı ve daimi preparat hazırlandı. Işık mikroskobu (Eclipse E-600 Nikon, Japonya) altında tüm kesitlerin histomorfometrik değerlendirmesi yapıldı ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japonya) ile analizi yapılarak fotoğraflandı. Histomorfometrik analizde osteoblast yüzeyi (Ob.S / BS, birim = %), osteoklast yüzeyi (Oc.S / BS, birim = %), aşınmış yüzey (ES / BS, birim = %) ve osteoid yüzey (OS / BS, birim = %) ölçüldü.

3.8.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal analiz için işaretlenmiş poliklonal ve monoklonal antikorlar kullanarak hücre ve doku antijenlerini bulundukları yerde göstermek amacıyla Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile immunhistokimyasal boyama uygulandı. Bu kapsamda; parafin bloklardan pozitif şarjlı lamalar üzerine 5 µm'lik kesitler alındı. Kesitlerin, 45 dakika ksilende parafini giderildi ve inen etil alkol serilerinden (%100 - 70) geçirilip distile suya alındı. Antijenin açığa çıkarılması amacıyla mikrodalga fırında, orta ayarda 20 dakika antijen iyileştirilmesi (sitrata buffer, pH = 6) uygulaması yapıldı. Kesitler oda ısısına gelinceye kadar soğutuldu. 3 kez 2 dakika (3x2) PBS ile yıkandı. %3 H₂O₂-metanolde 13 dakika muamele edildi (Endojen peroksidazın maskelenmesi için). 3 kez 2 dakika (3x2) PBS ile yıkandı. 2 damla (100µl) veya dokuyu kaplayacak kadar blocking solüsyonu damlatılarak 10 dakika bekletildi (istenilmeyen antikor bağlanmasının maskelenmesi için). Primer antikorlar OPN (sc-21742, 1/100), RANKL (sc-52950, 1/100), OCN (sc-365797, 1/100), OSN

(sc-73472, 1/100) ve DCN (sc-73896, 1/100) ile bir gece buzdolabında +4 °C'de nemli ortamda muamele edildi (iki damla: 100 µl). Primer antikorların hepsi Santa Cruz Biotechnology'den temin edildi. Ertesi gün kesitler PBS ile 3 kez 2 dakika (3x2) yıkandı ve sekonder antikor ile muamele edildi (UltraVision Detection System Anti-Polyvalent HRP Sekonder Kit, Thermo- TP-125-HL, Thermo Fisher Scientific). Biotin ile işaretli sekonder antikor (Biyotinylated Goat Anti-Polivalent) ile 15 dakika muamele edildi. PBS ile 3 kez 2 dakika (3x2) yıkandı Streptavidin-Peroksidaz ile 15 dakika muamele edildi. PBS ile 3 kez 2 dakika (3x2) yıkandı. Substrat-kromojen (AEC = 3, aminoetil 9, karbozol) solüsyonu ile 10 dakika renk reaksiyonu (kırmızı) gözlenene kadar inkübe edildi. Distile suya alındı. Kesitlere *Mayer's* hematoksilen ile bir dakika zıt boyama yapıldı. Çeşme suyunda çalkalandı. Kapama maddesi (Aquose mounting-Lab Vision) damlatılarak lamel ile kapatıldı. İmmunohistokimyasal boyanmanın değerlendirmesi yapılırken x200 büyütme altında rastgele seçilen alanlarda en az 100 hücre işaretlendi. Her kesitte boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesinin kriter olarak alındığı semikantitatif bir yöntemle immünohistokimyasal boyama skorlaması yapıldı. Değerlendirmeler, 0 (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (belirgin), +3 (yoğun) olarak belirtilen dört yoğunluk kategorisinin her birinde tüm tiplerdeki pozitif boyanan hücrelerin yüzdeleri olarak kaydedildi. H-Skoru adı verilen bir puanlama formülü kullanıldıktan sonra istatistiksel olarak analizi yapıldı.

$$HSCORE = S (I+1) \times (PC)$$

(S: Toplam, I: Boyanmanın derecesi, PC: Her derecede boyanan hücrelerin yüzdesi).

3.9. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Real Time-PCR sonuçları kontrol grubuna göre % değişim olarak verildi. Verilerin analizi için Prism 5.02 GraphPad programı kullanılmıştır. Bütün deneylerde istatistik analiz, One-way ANOVA (nonparametrik) ile eş olmayan gruplar arasındaki farkın anlamlılığı, *Tukey* testi kullanılarak ölçülmüştür. *p* değeri 0.05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Ağırlıkları

Çalışmada kullanılan sıçanların başlangıç ve final ağırlıkları tartılarak hesaplanmış, Tablo 4.1’de sunulmuştur. Sonuçlara göre tüm gruplarda hayvanların başlangıç ve final ağırlıkları arasında anlamlı artışlar saptanmıştır. Başlangıç ağırlıkları açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Diğer taraftan, diyabet grubunun kontrol grubuna göre final ağırlıklarının anlamlı bir şekilde arttığı; bu artışın mangiferin uygulamasıyla büyük oranda normalize edildiği saptanmıştır.

Tablo 4.1. Sıçanların başlangıç ve final ağırlıkları

(g)	Kontrol	Diyabet	Diyabet +Mangiferin
Başlangıç Ağırlıkları	331±6	322±5	328±4
Final Ağırlıkları	400±7	447±10 *	410±9 #

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2. Serumda Biyokimyasal Bulgular

Hayvanlar dekapitasyon sırasında izole edilen arteriyel kan örneklerinden serumları ayrıştırılarak; glukoz, trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit, fosfor ve sodyum (Na) düzeyleri ölçülmüş ve Tablo 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlara göre Diyabet grubu glukoz, trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit ve fosfor düzeylerinin Kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Diyabet grubunda saptanan bu artışların mangiferin takviyesi ile (diyabet+mangiferin grubu) anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Öte yandan, serum Na düzeylerinin diyabet grubunda kontrol grubuna göre düşüş eğiliminde olduğu saptanmış, fakat anlamlılıkla ilişkilendirilememiştir. Diyabet+mangiferin grubunda ise diyabet grubunda yaşanan bu kısmi düşüşün normalize olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. Sıçanların serum glukoz, trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit, fosfor ve sodyum düzeyleri

Parametreler / Gruplar	Kontrol	Diyabet	Diyabet+Mangiferin
Glukoz (mg/dl)	131.9±6.8	156.1±13.2 *	133.8±6.4 #
Trigliserit (mg/dl)	67.4±10.6	236.4±2.5 *	119.6±3.8 #
VLDL (mg/dl)	13.5±2.1	47.3±5 *	23.8±0.8 #
ALT (U/L)	45±6.2	64.1±4.5 *	45.1±1.9 #
AST (U/L)	106.3±15	137.5±18 *	116.6±7.5 #
ALP (U/L)	3.5±0.2	10±1.3 *	6.3±0.2 #
Kreatinin (mg/dl)	0.34±0.02	0.38±0.02 *	0.32±0.01 #
Üre (mg/dl)	41.6±1	50.5±2.1 *	37.8±1.5 #
Ürik asit (mg/dl)	0.61±0.06	1.33±0.05 *	0.78±0.09 #
Fosfor (mg/dl)	3,2±0.2	4.5±0.3 *	3.3±0.05 #
Na (mEq/L)	141.4±0.5	137±1.3	141.1±0.6

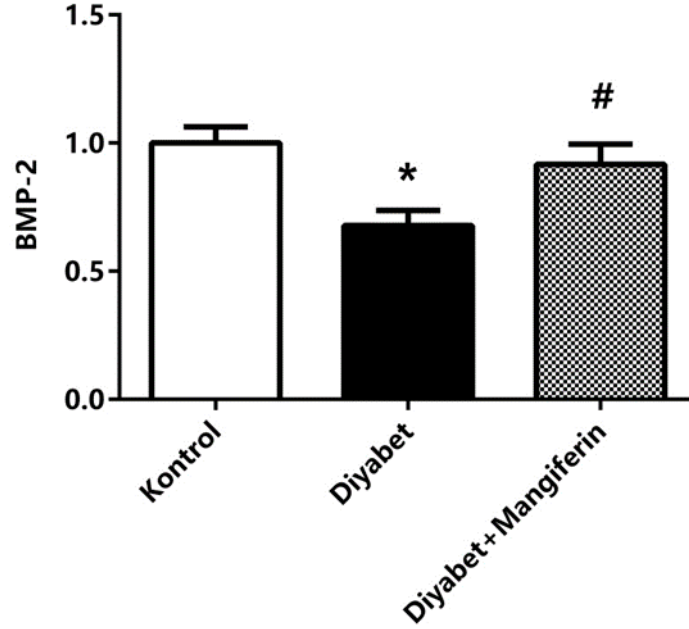
Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3. Kemik Dokuda mRNA Düzeyleri

İmplantın uygulandığı bölgeden femur örnekleri izole edilerek, Real Time-PCR yöntemiyle BMP-2 (Şekil 4.1), DKK-1 (Şekil 4.2), IBSP (Şekil 4.3), LRP-5 (Şekil 4.4), OCN (Şekil 4.5), OPN (Şekil 4.6), OSN (Şekil 4.7), OSP (Şekil 4.8), RANKL (Şekil 4.9) ve RUNX2 (Şekil 4.10) mRNA ekspresyonları ölçülmüştür.

Diyabet grubunda BMP-2 mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi

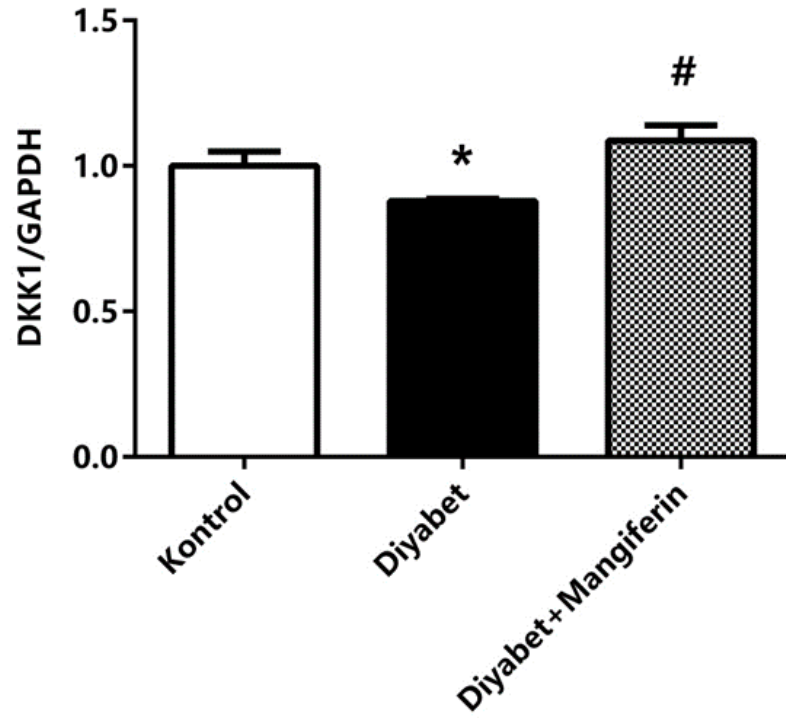
(Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan BMP-2 düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde BMP-2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

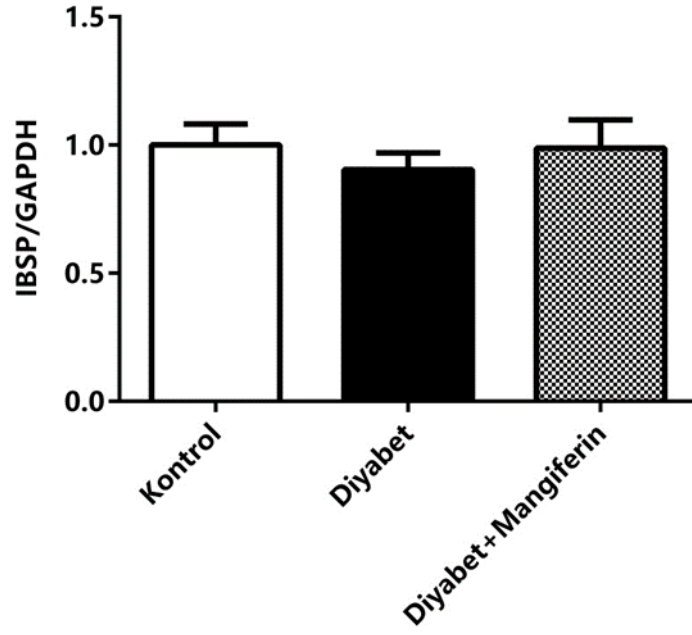
Diyabet grubunda DKK1 mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan DKK1 düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde DKK1 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

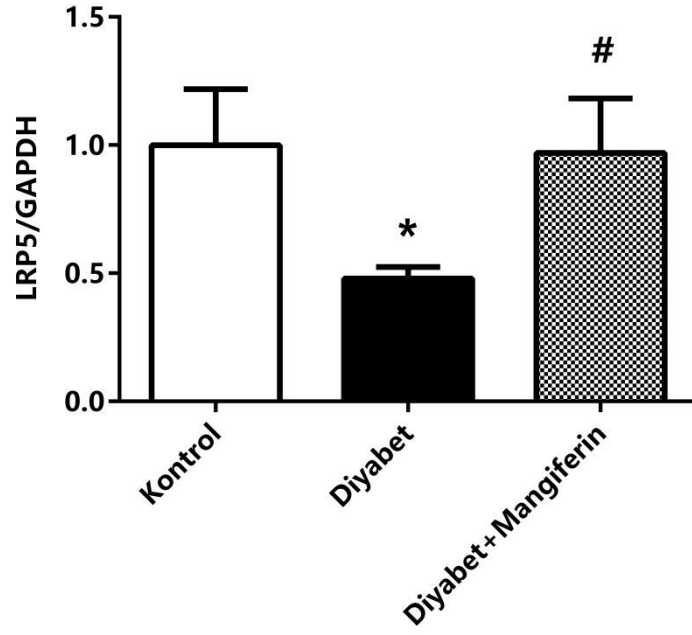
Femur IBSP mRNA ekspresyonları değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde IBSP mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8

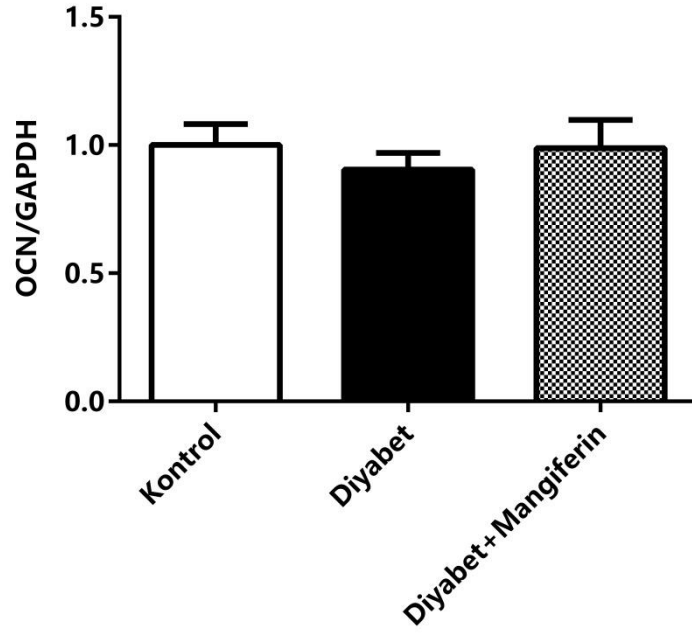
Diyabet grubunda LRP5 mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan LRP5 düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde LRP5 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

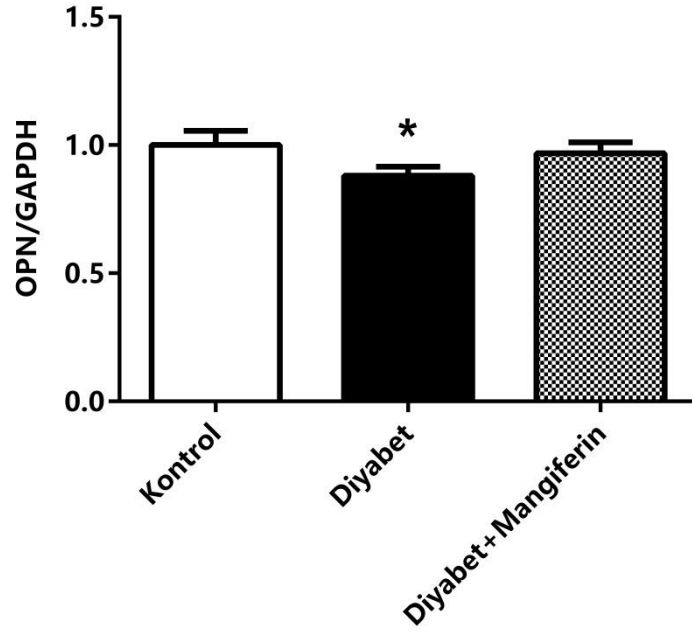
Femur OCN mRNA ekspresyonları değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OCN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

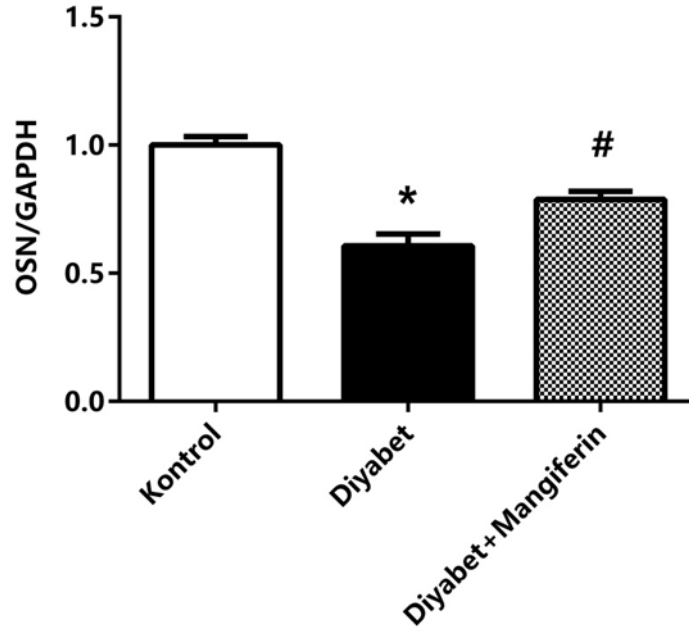
Diyabet grubunda OPN mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan OPN düzeylerinin kısmen arttığı, fakat bu durumun anlamlılık teşkil etmediği tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OPN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

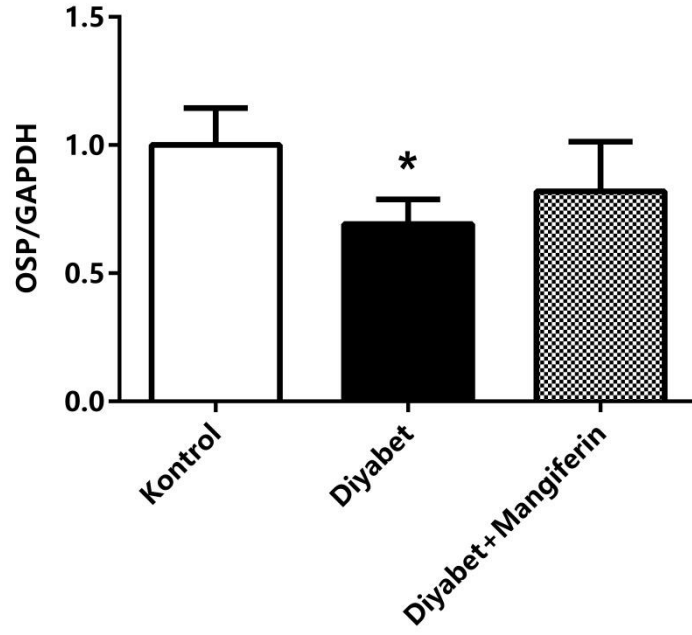
Diyabet grubunda OSN mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan OSN düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OSN mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

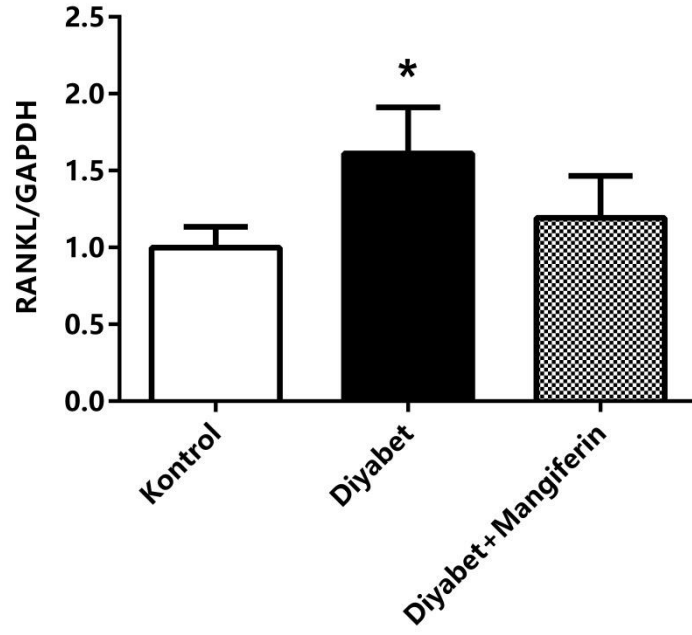
Diyabet grubunda OSP mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan OSP düzeylerinin kısmen arttığı, fakat bu durumun anlamlılık teşkil etmediği tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde OSP mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

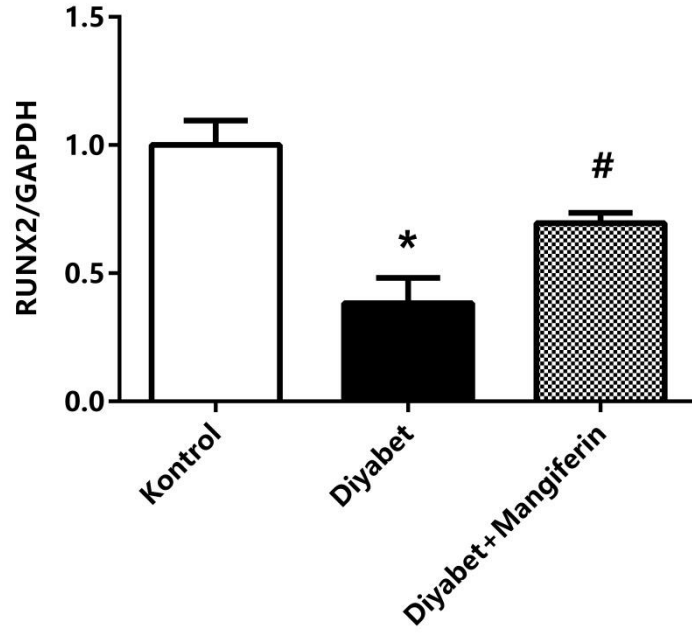
Diyabet grubunda RANKL mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle artan RANKL düzeylerinin kısmen azaldığı, fakat bu durumun anlamlılık teşkil etmediği tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde RANKL mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Diyabet grubunda RUNX2 mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin verilmesi (Diyabet+Mangiferin) ile diyabetle azalan RUNX2 düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Grupların toplu karşılaştırması Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

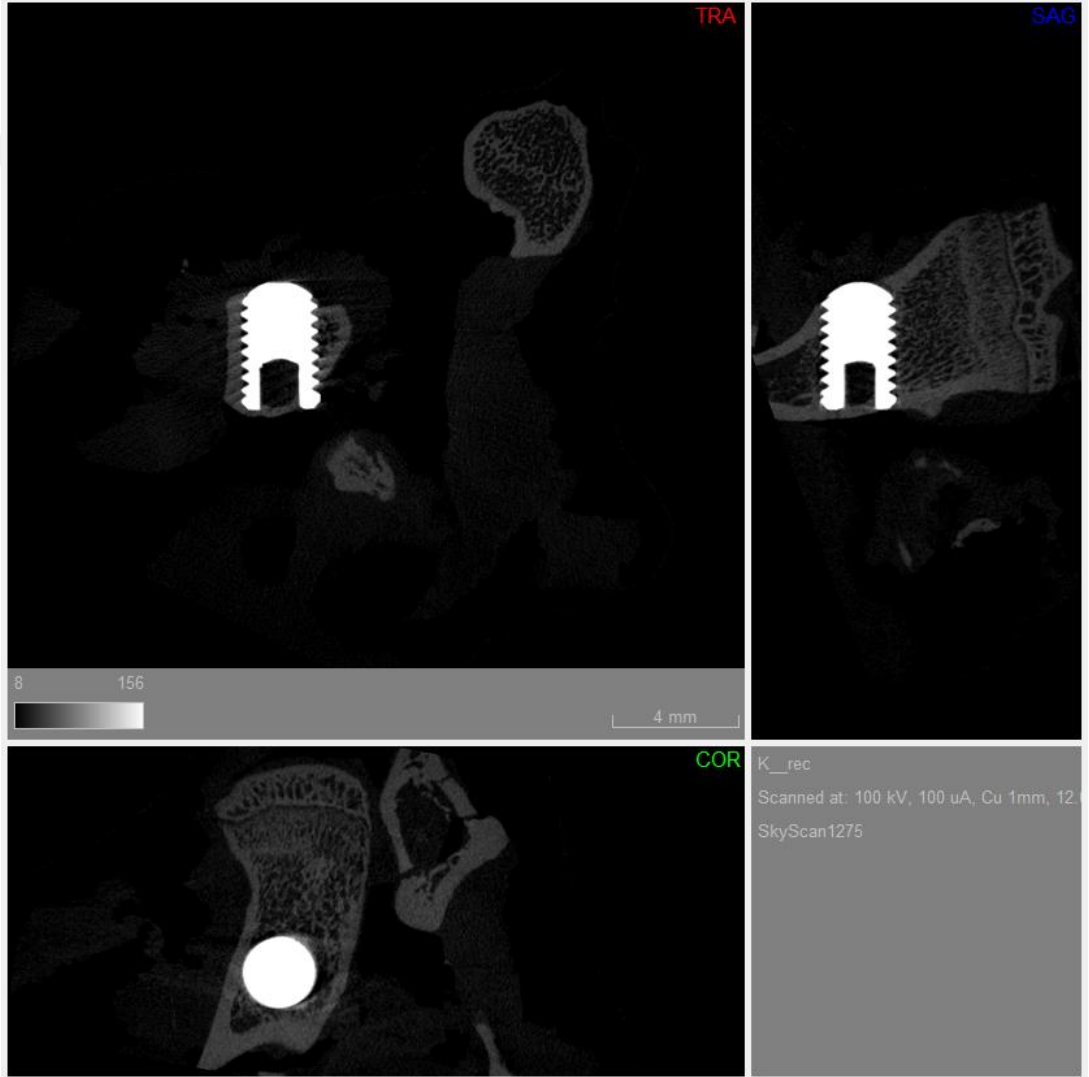


Şekil 4.10. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların femur örneklerinde RUNX2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

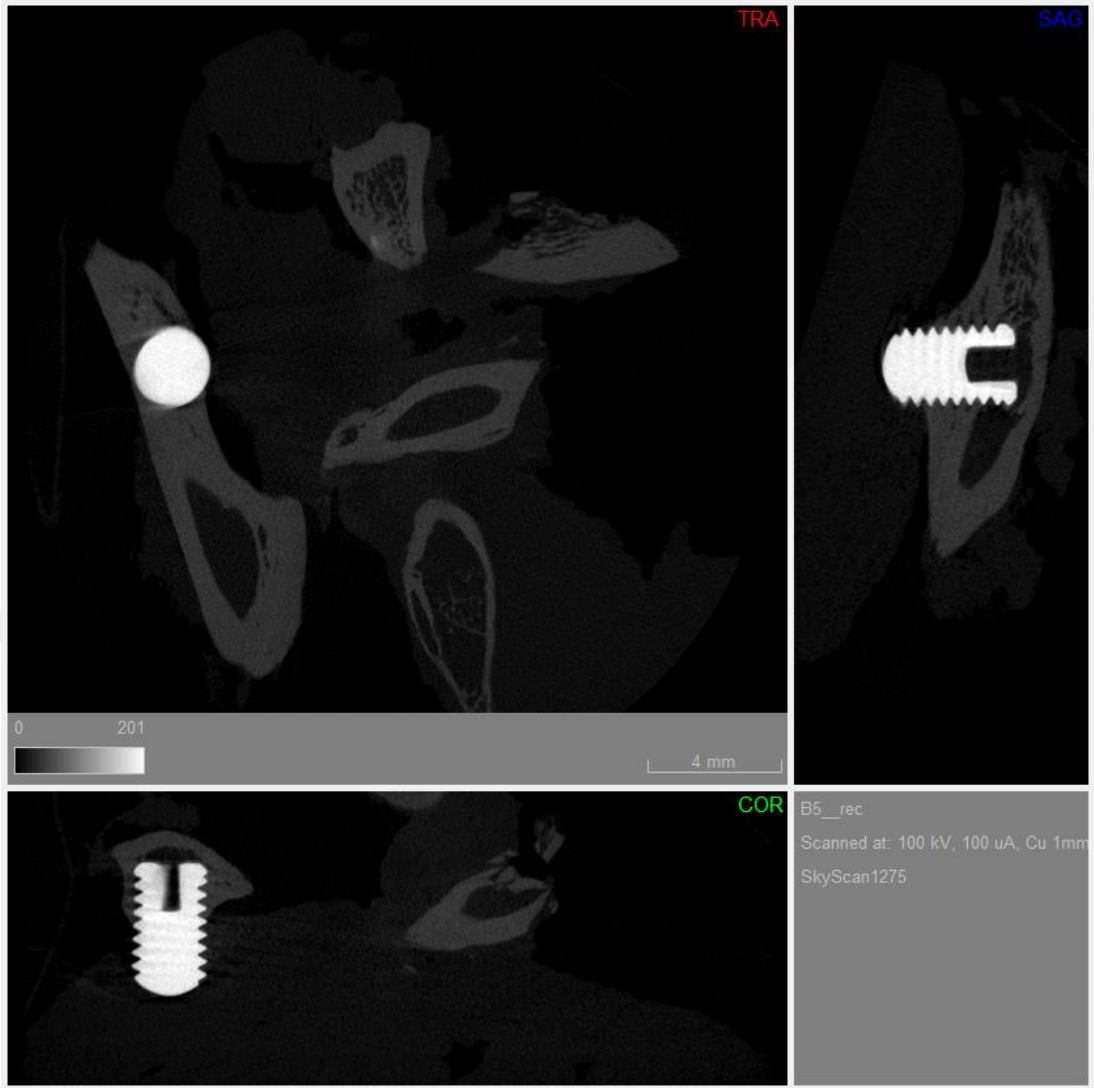
Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak yüzde (%) halinde sunulmuştur. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4. İmplantın Osteointegrasyonunda Micro-CT Bulguları

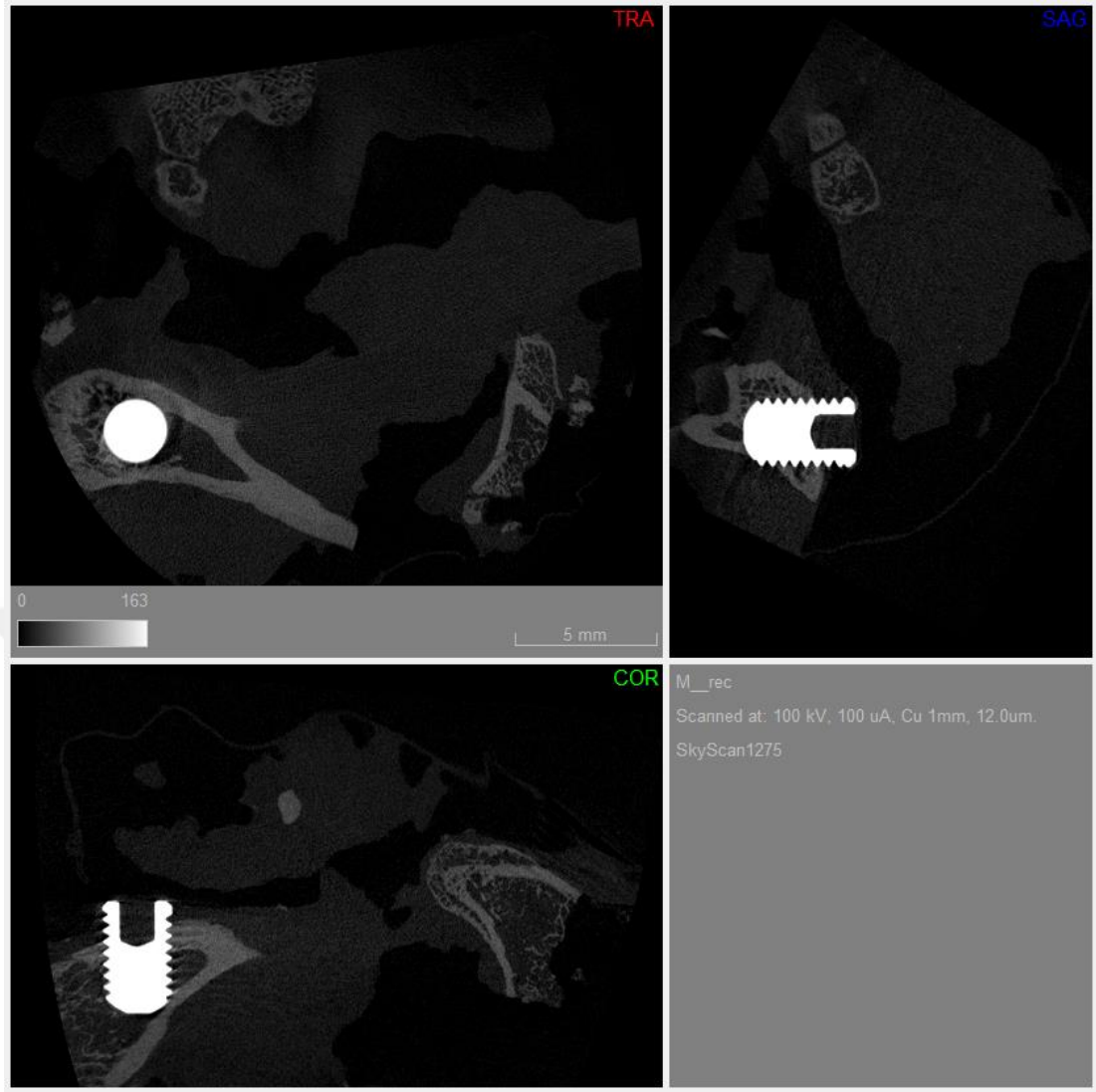
Dataviewer programını kullanarak implant-kortikal kemik ve implant-trabeküler kemik temasının transvers, coronal ve sagittal eksenlerdeki kontrol grubuna ilişkin görüntüler Resim 4.1’de, diyabet grubuna ilişkin görüntüler Resim 4.2’de ve diyabet+mangiferin grubuna ilişkin görüntüler Resim 4.3’de sunulmuştur. Görüntüler incelendiğinde transvers kesitlerde diyabet grubunda diğer gruplara göre implantların boyun kısımlarında belirgin kemik kaybı görüntülenmektedir.



Resim 4.1. Kontrol grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler



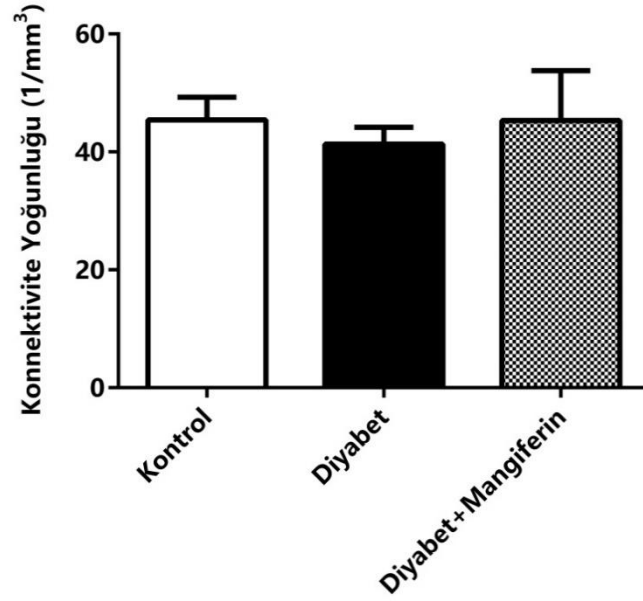
Resim 4.2. Diyabet grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler



Resim 4.3. Diyabet+mangiferin grubunda kemik-implant kompleksine ilişkin görüntüler

Ayrıca konnektivite yoğunluğu (Şekil 4.11), konnektivite (Şekil 4.12), kemik hacmi (Şekil 4.13), osteointegrasyon yüzdesi (Şekil 4.14), porozite (Şekil 4.15) ve toplam por hacimlerine (Şekil 4.16) ait bulgular sunulmuştur.

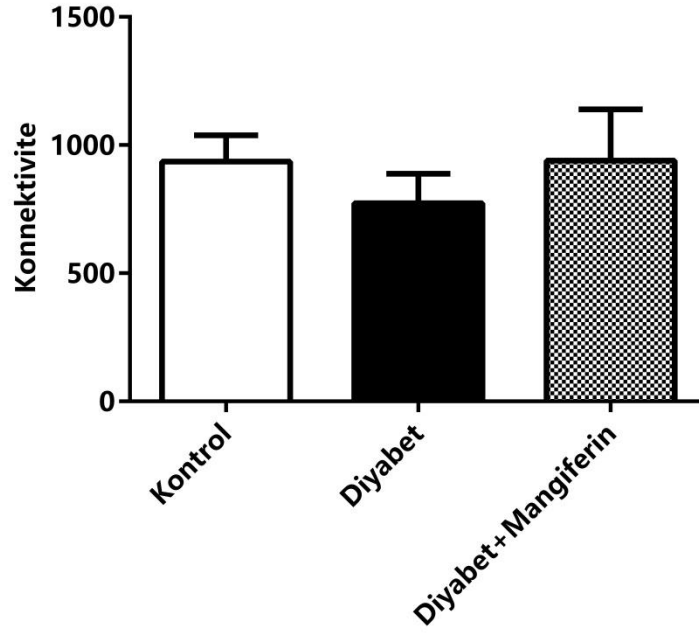
Kemik-implant kompleksine ilişkin konnektivite yoğunluk ölçümlerine göre gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Fakat, Diyabet grubunda Kontrol grubuna göre konnektivite yoğunluğunun azalma eğiliminde olduğu, mangiferin takviyesi alan hayvanlarda ise (diyabet+mangiferin) diyabet ile gelişen kısmi düşüşün kompanse edildiği tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi konnektivite yoğunluklarının karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$.

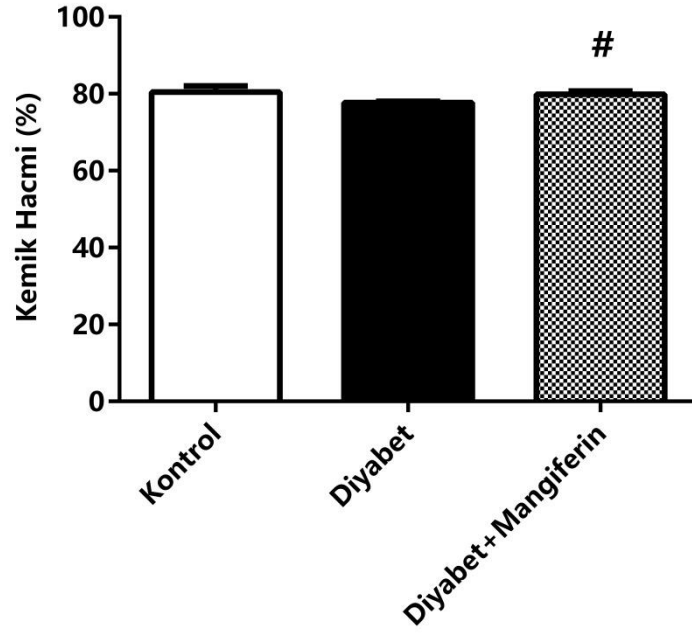
Kemik-implant kompleksine ilişkin konnektivite ölçümlerine göre gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Fakat, diyabet grubunda kontrol grubuna göre konnektivitenin azalma eğiliminde olduğu, mangiferin takviyesi alan hayvanlarda (diyabet+mangiferin) ise diyabet ile gelişen kısmi düşüşün kompanse edildiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi konnektivite değerlerinin karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$.

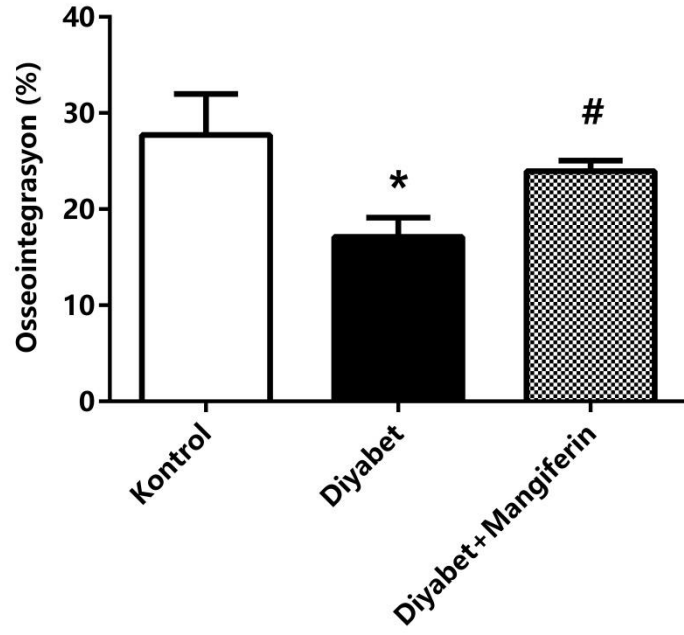
Kemik-implant kompleksine ilişkin kemik hacimlerinin diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre azalma eğiliminde olduğu fakat anlamlı bir farklılığın oluşmadığı tespit edilmiştir. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesi ile (diyabet+mangiferin) diyabet ile gelişen kısmi düşüşün anlamlı olarak düzeldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi kemik hacmi düzeylerinin karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

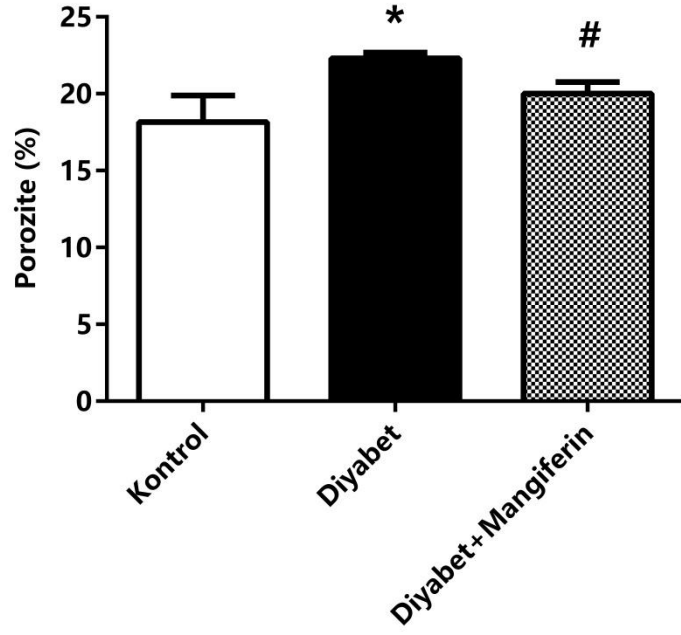
Kemik-implant kompleksine ilişkin osteointegrasyon yüzdelерinin Diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabetle azalan osteointegrasyon yüzdelерinin anlamlı olarak artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi osteointegrasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

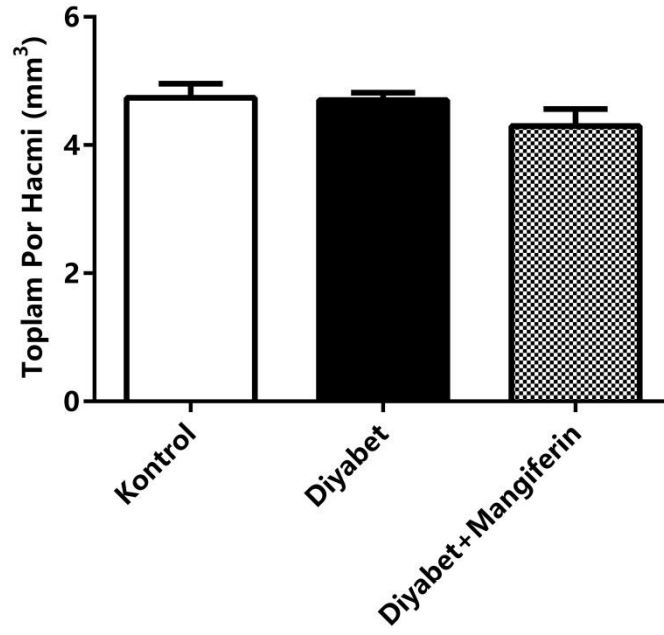
Kemik-implant kompleksine ilişkin porozite yüzdelerinin diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı artan poroziteyi anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi porozite yüzdelerinin karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Kemik-implant kompleksine ilişkin toplam por hacimleri değerlendirildiğinde, gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.16).



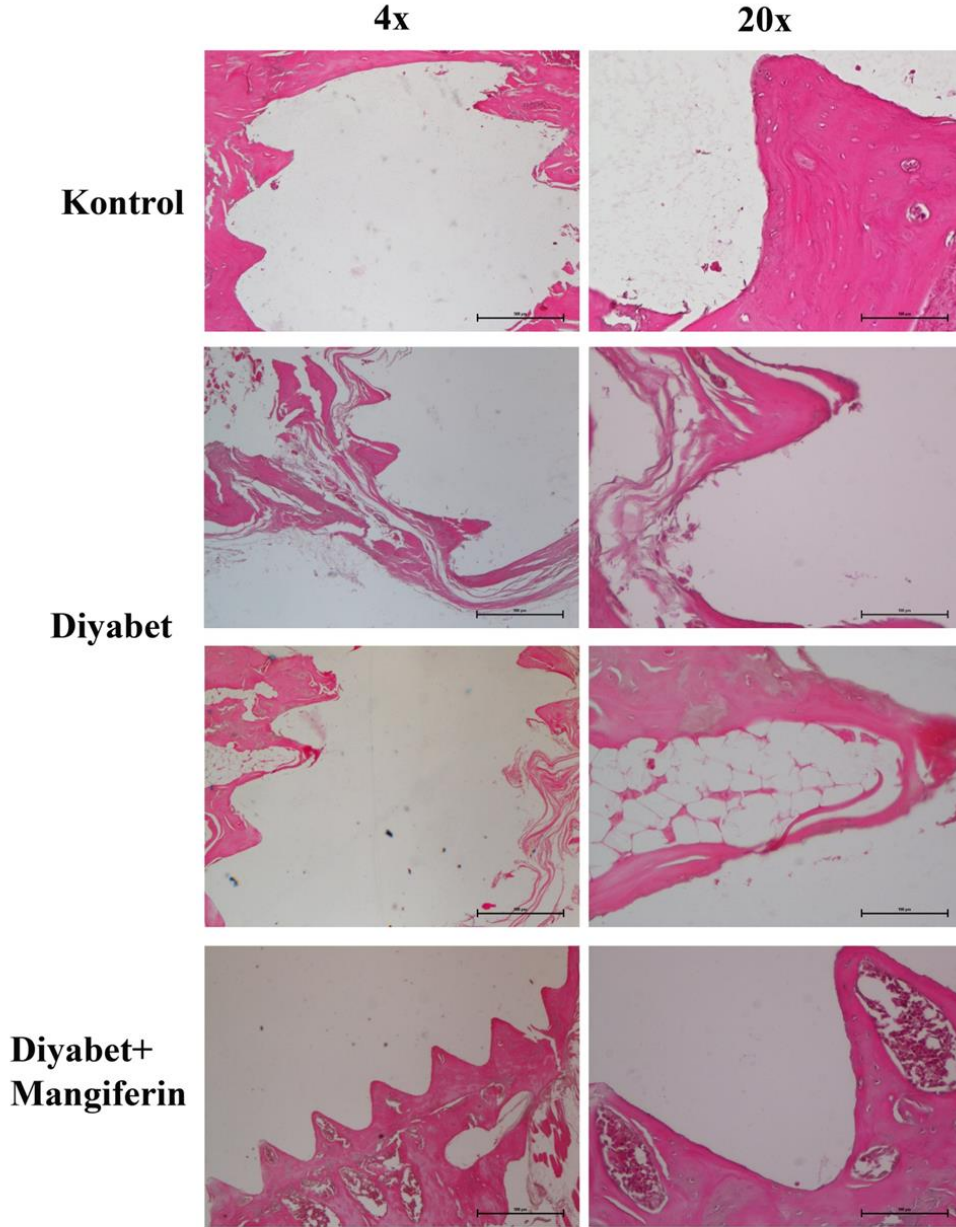
Şekil 4.16. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında kemik-implant kompleksi toplam por hacminin karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

4.5. İmplantın Osteointegrasyonunda Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

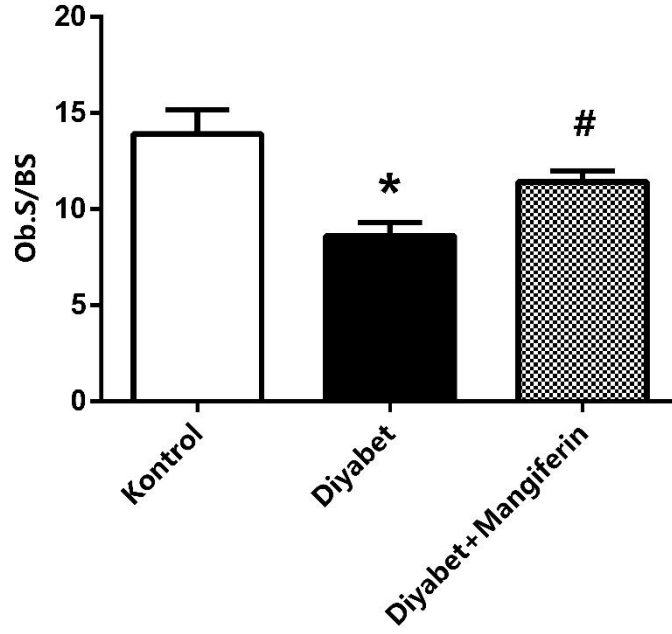
4.5.1. Histolojik Bulgular

Femur implant bölgesinden alınan kesitlerin histolojik değerlendirmesinde, diyabet grubunda kemikleşmenin geciktiği, osteoklastik aktivitenin arttığı aynı zamanda da kemik iliği içerisinde yoğun yağ hücrelerinin varlığı tespit edilmiştir. Diyabet+ mangiferin grubunda ise diyabet grubuna göre osteoklastik aktivite ve yağ hücrelerinin azaldığı, osteoblastik aktivitenin arttığı gözlenmiştir. Diyabet+mangiferin grubu ile kontrol grubunun benzer özellikler gösterdiği izlenmiştir (Resim 4.4).



Resim 4.4. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında (Hematoksilen-eozin; $\times 40$ ve $\times 200$ büyütme) gerçekleştirilen histomorfometrik analizlerle femurda implant bölgesinin temsili mikrografik resimleri.

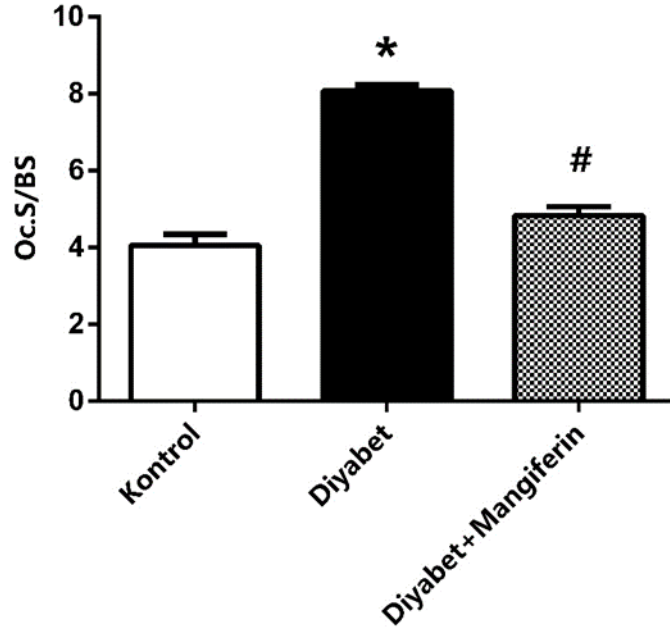
Femur-implant bölgesi osteoblast yüzeyi diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan osteoblast yüzeyini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoblast yüzeyi (Ob.S / BS, birim = %).

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

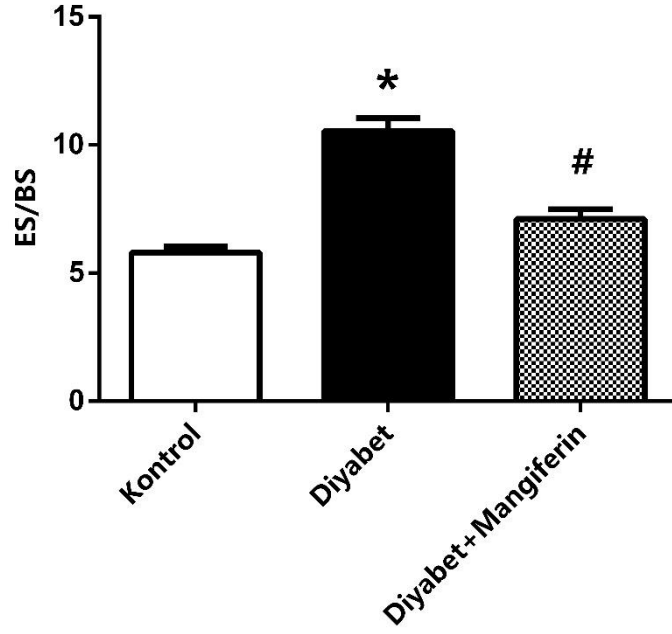
Femur-implant bölgesi osteoklast yüzeyi diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı artan osteoklast yüzeyini anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoklast yüzeyi (Oc.S / BS, birim = %).

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

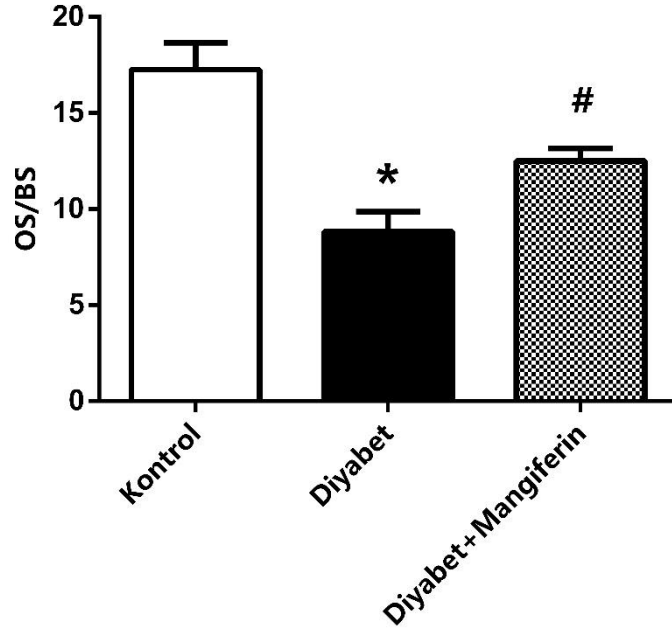
Femur-implant bölgesi aşınmış yüzeyi diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı artan aşınmış yüzeyini anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi aşınmış yüzey (ES / BS, birim = %).

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=6$. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Femur-implant bölgesi osteoid yüzeyi diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan osteoid yüzeyini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.20).

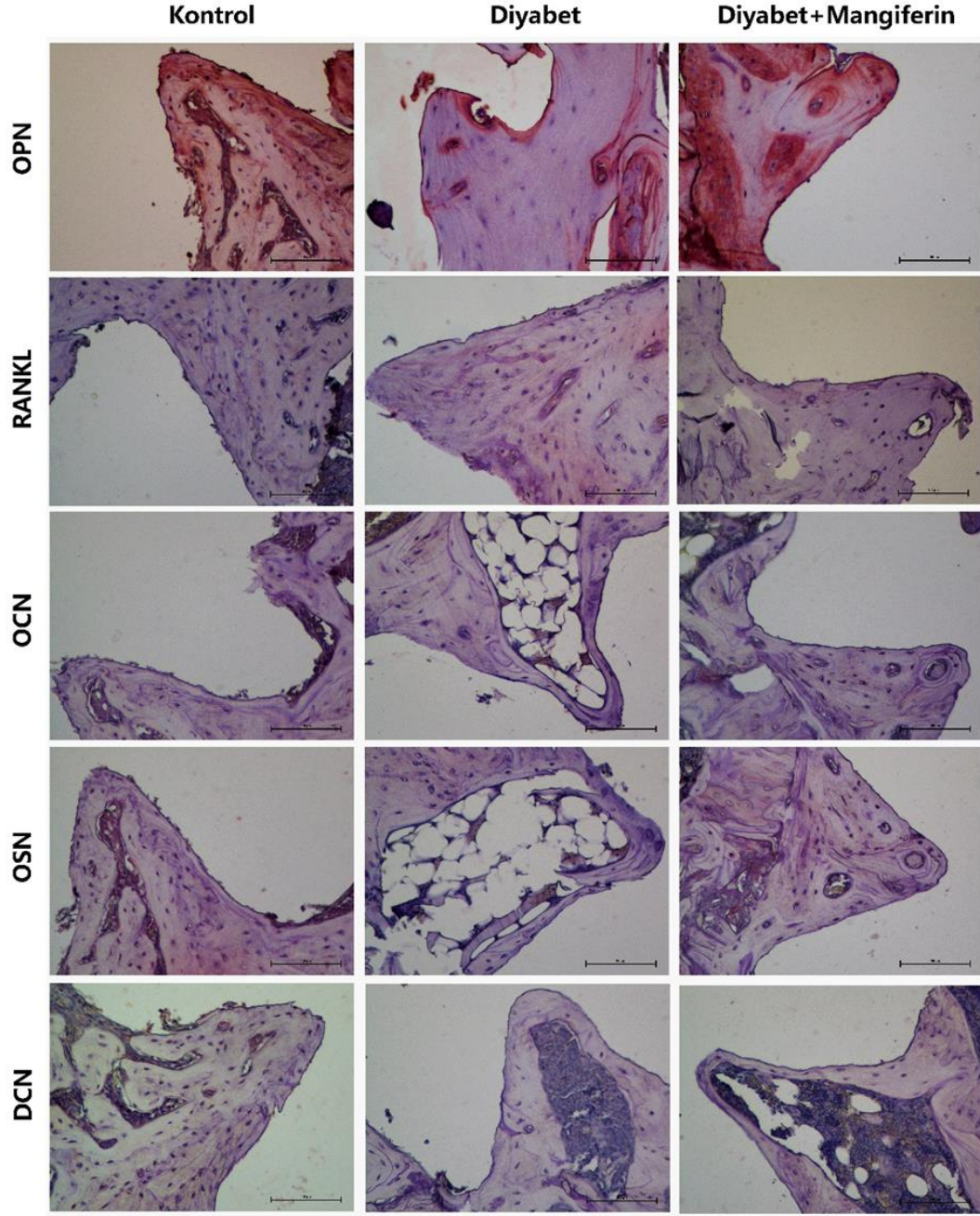


Şekil 4.20. Kontrol, diyabet ve diyabet +mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi osteoid yüzeyi (OS / BS, birim = %).

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=6$. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

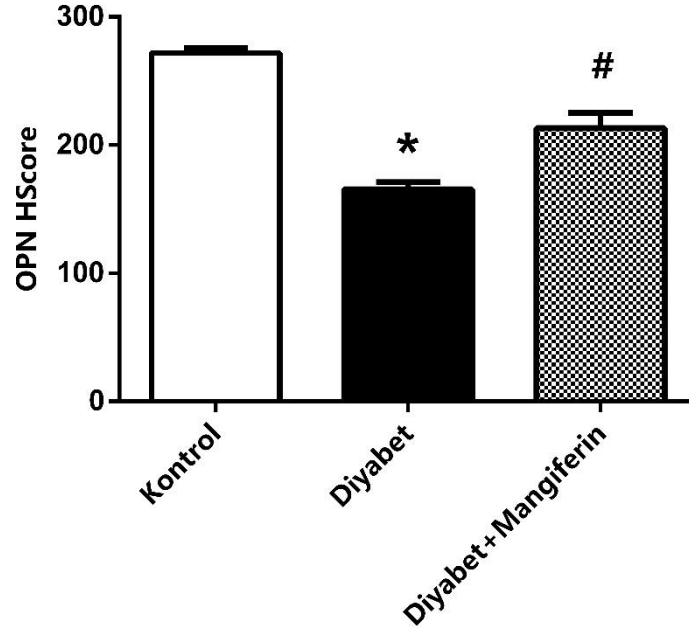
4.5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Femur dokularından alınan kesitler immunohistokimyasal olarak OPN, OCN, OSN, DCN ve RANKL primer antikolarıyla boyanarak mikroskop altında değerlendirildi ve her bir kesit için Hscore elde edildi ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Kesitlerden alınan immunohistokimyasal boyama görüntüler Resim 4.5' de gösterilmiştir.



Resim 4.5. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin grupları femur-implant bölgesinde immünohistokimyasal yöntemle gerçekleştirilen (Hematoksilen-eozin; $\times 200$ büyütme) OPN, RANKL, OCN, OSN ve DCN protein ekspresyonlarının temsili resimleri.

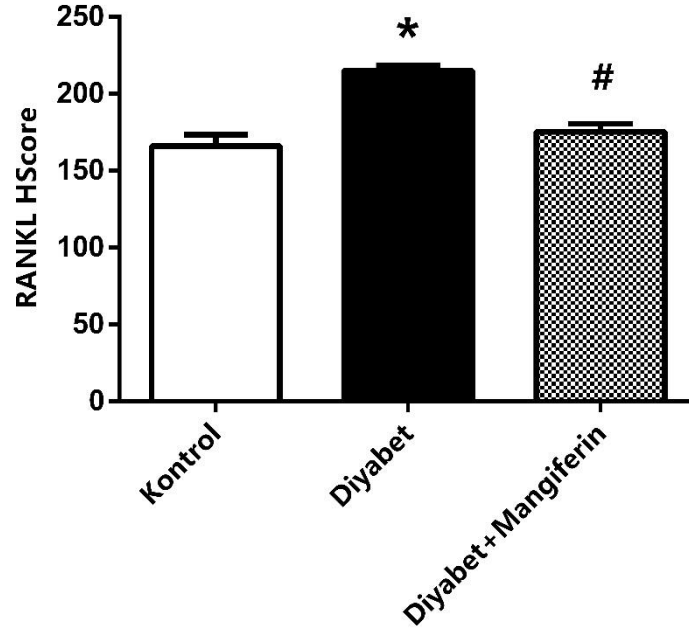
Femur-implant bölgesi OPN Hscore değeri diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan OPN Hscore değerini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OPN HScore değerleri.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

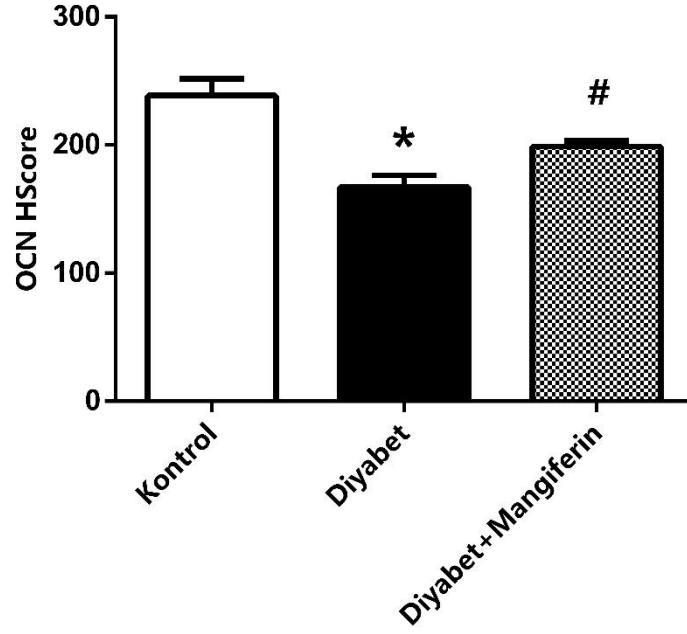
Femur-implant bölgesi RANKL Hscore değeri diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı artan RANKL Hscore değerini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi RANKL HScore değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=6$. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

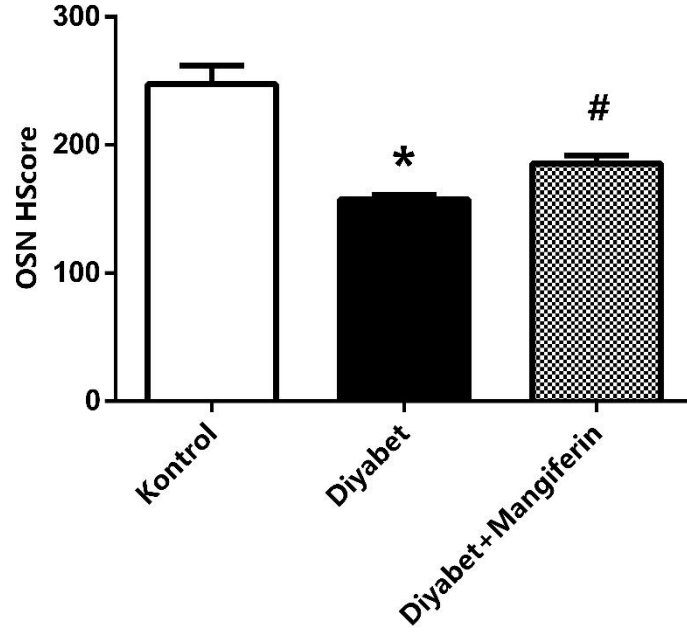
Femur-implant bölgesi OCN Hscore değeri diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan OCN Hscore değerini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OCN HScore değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=6$. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

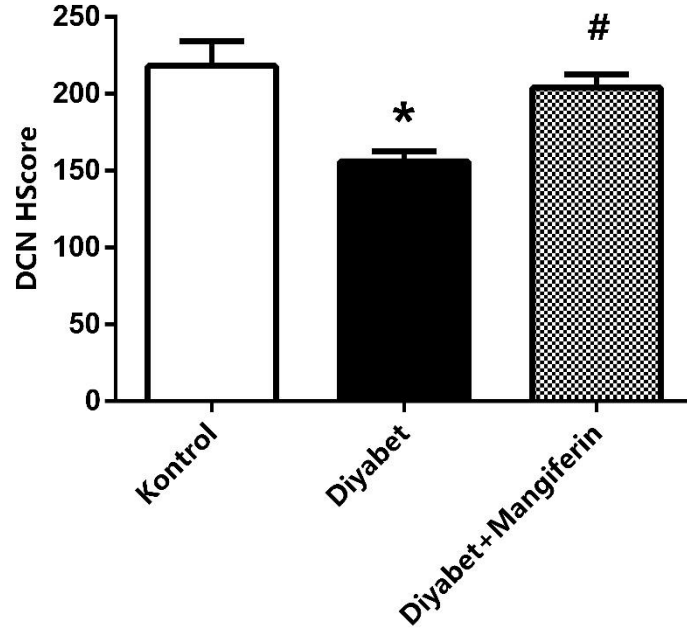
Femur-implant bölgesi OSN Hscore değeri diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan OSN Hscore değerini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi OSN HScore değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=6$. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Femur-implant bölgesi DCN Hscore değeri diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Diyabetik sıçanlara mangiferin takviyesinin (diyabet+mangiferin) diyabete bağlı azalan DCN Hscore değerini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Kontrol, diyabet ve diyabet + mangiferin gruplarında femur-implant bölgesi DCN HScore değerleri.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ Diyabet grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Diabetes mellitus genetik faktörler, organ yetmezliği, beslenme, fiziksel aktivite, ilaç kullanımı ve kalıtsal yatkınlık gibi sebeplerle gelişen bir hastalıktır (59). Dünya çapında yaklaşık 422 milyon insan diyabet hastası olup, çoğunluğu düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamakta ve her yıl 1.5 milyon ölüm doğrudan diyabete bağlanmaktadır (155). Bununla birlikte gerek hastalığın patogenezinde yer alan faktörler, gerekse neden olduğu komplikasyonlar, başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok patolojiye de kapı aralamaktadır. Bu nedenle hastalığın semptomatik tedavisinin sağlanması ve başta hiperglisemi olmak üzere hastalıkla ilişkili faktörlerin kontrol altına alınması büyük önem arz etmektedir. Disregüle kan glukozu bir taraftan ileri glikasyon ürünlerinin oluşmasına neden olarak oksidatif stres yaratırken, bir taraftan da glikojenez indüksiyonu ile ilerleyen süreçte lipid metabolizmasını da etkilemektedir. Bu durum kısa vadede poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu, noktüri ve yara iyileşme sürecinin bozulması gibi semptomlara neden olurken; uzun vadede hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklar ve dislipidemi gibi endokrin bozukluklara neden olabilir. Özellikle hiperglisemik vakaların cerrahi post-operatif süreçte doku rejenerasyon sürecinin uzaması, klinisyenleri tedirgin hale getirmekte ve tedavi başarı oranını azaltmaktadır.

Dental implant uygulamaları hem hasta hem de klinisyen için uzun ve zahmetli bir süreçtir. Diyabetik hastalarda hipergliseminin yara iyileşme sürecine ve kemik doku rejenerasyonu üzerine muhtemel etkileri, tedavinin başarılı olması için süreç boyunca özellikle kan glukozu regülasyonunu daha da önemli hale getirmektedir. Oral hipoglisemik ilaçların yanı sıra yan etki riski daha düşük olduğu bilinen bitkisel kökenli ekstratlar ya da biyoaktif bileşikler de optimal tedavi amacıyla kullanılmakta ya da araştırma konusu halindedir. Bu amaçla çalışmamızda implant uygulanmış diyabetik sıçanlara antiinflamatuvar etkileri bilinen mangiferin verilmiş ve gerek yara iyileşme gerekse osteointegrasyon süreci, biyokimyasal, Micro-CT, rt-qPCR, histopatolojik ve immünohistokimyasal yönden değerlendirilerek sonuçlar sunulmuştur.

Diyabet tanı kriterleri açısından sorgulandığında kuşkusuz ilk olarak kan glukoz düzeyinin artması beklenirken, HbA1c ve diğer semptomlar aranır. Kemirgenlerde streptozosin ile oluşturulan diyabet modelleri için genellikle tip-I

diyabet modeli için 50 mg/kg *i.p.* uygulanırken (156), tip-II diyabet için 35 mg/kg *i.p.* tercih edilmektedir (157). Çalışmamızda sıçanlara 35 mg/kg *i.p.* dozu uygulanmış ve implant öncesi venöz kan glukozu metotta belirtilen kriterler ışığında 156.1 ± 13.2 mg/dl olarak saptanmıştır. Bu kapsamda tip-II diyabet modelinin başarıyla oluşturulduğu söylenilebilir. Bununla birlikte çalışmamızda mangiferin verilen sıçanların kan glukoz düzeyinin normalize olduğu saptanmıştır. Fareler üzerinde yapılan benzer bir çalışmada yüksek yağlı diyetle artan kan glukoz düzeyinin mangiferin ile azaldığı gösterilmiştir (158). Bu kapsamda deneysel uygulamalarımızın standardize ve literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Diyabetin neden olduğu bilinen ve birçok çalışmada gösterilen diğer biyokimyasal değişkenleri yüksek serum trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit ve fosfor düzeyleri olarak sıralayabiliriz (103). Çalışmamızda sıçanların dekapitasyonu ile alınan intrakardiyak kan örneklerinde serum trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit ve fosfor düzeylerinin de anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Bu durum deney sürecinde kan glukoz düzeyinin yüksek seyrettiğine ve yine modelin başarıyla oluşturulduğuna işaret etmektedir. Öte yandan diyabet ile serum sodyum düzeylerinin azalması, buna karşılık poliüri gerçekleşmesi beklenirken (103), çalışma sonuçlarımıza göre serum sodyum düzeylerinin düşme eğiliminde olduğu fakat bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlılık teşkil etmediği tespit edilmiştir. Literatüre göre sodyum düzeylerindeki bu kısmi farklılığın diyetle birlikte tüketilen içme suyundaki farklılıklardan kaynaklanabilir. Çalışmamızda mangiferin verilen diyabetik sıçanlardaki serum trigliserit, VLDL, ALT, AST, ALP, kreatinin, üre, ürik asit ve fosfor düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır. Hatta diyabetle kısmen düşen sodyum düzeylerinin de normalize olduğu görülmektedir. Literatüre göre mangiferinin takviyesiyle diyabete bağlı gerçekleşen bu değişkenlerin iyileştiği bilinmektedir (127). Bu kapsamda çalışmamızda uyguladığımız mangiferin takviyesinin de literatürle uyumlu olarak hiperglisemik tandansı baskıladığı görülmektedir.

Dental implant uygulamalarında optimal tedavinin sağlanabilmesi, implant ile kemik dokunun bütünleşmesini ifade eden osseointegrasyona ve kemik dokuda oluşan yara veya hasara karşılık kemik iyileşme sürecinin bilinen fizyolojik basamakları sağlayarak gerçekleşmesine bağlıdır. Bu kapsamda kemik rejenerasyonunda rolü bulunan bileşenler *wnt* yolağı komponentleri, sürecin ne denli sağlıklı gerçekleştiğine yönelik ipuçları vermektedir. Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu diyetiyle beslenen genç sıçanların kraniomandibular kemik örneklerinde, hipergliseminin *Ibsp*, *Lrp5*,

Ocn, *Opn*, *Osn*, *Osp* ve *Runx2* mRNA ekspresyonlarını azalttığı, *Rankl* düzeylerini ise artırdığı, *Bmp-2*, *Bmp-7* ve *Dkk1* düzeylerini ise değiştirmedeği gösterilmiştir (91). Benzer bir çalışmada, implant uygulaması sonrası yüksek yağlı ve fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda tip-II diyabet modeli oluşturularak osseointegrasyon süreci değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre relatif kemik hacmi, trabeküler kalınlık, trabeküler ayırım ve trabeküler sayının anlamlı olarak azaldığı, böylelikle kemik-implant kontaktının düştüğü gösterilmiştir (99). Streptozosin ile tip-II diyabet oluşturulmuş sıçanlarda implant uygulamasının osteointegrasyonun değerlendirildiği diğer bir çalışmada, kemik hacminin, ortalama trabeküler sayının ve osteointegrasyon yüzdesinin diyabetle anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

Çalışmamızda rt-qPCR yöntemiyle *Bmp-2*, *Dkk-1*, *Ibsp*, *Lrp-5*, *Ocn*, *Opn*, *Osn*, *Osp*, *Rankl* ve *Runx2* mRNA ekspresyonları ile Micro-CT yöntemiyle implant bölgesinde osteointegrasyon yüzdesi, kemik hacmi, toplam por hacmi, porozite, relatif konnektivite ve konnektivite yoğunluğu ölçülmüştür. Çalışma sonuçlarımıza göre diyabet ile implant bölgesinden izole edilen femur örneklerinde *Dkk1*, *Bmp2*, *Opn*, *Osn*, *Runx2*, *Lrp5* ve *Osp* mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde azaldığı; *Rankl* düzeylerini arttırdığı; *Ibsp* ve *Ocn* düzeylerinin ise kısmen azaldığı görülmektedir. Ayrıca Micro-CT sonuçlarımız diyabetle osteointegrasyon yüzdesinin anlamlı olarak azaldığına; kemik hacmi, relatif konnektivite ve konnektivite yoğunluğunun kısmen azaldığına; toplam por hacminin değişmediğine; porozitenin ise anlamlı olarak arttığına işaret etmektedir. Bu kapsamda rt-qPCR sonuçlarımızla Micro-CT verilerimizin paralellik gösterdiğini; kemik rejenerasyonun moleküler düzeyde açıkça baskılandığını; osteointegrasyon yüzdesinin ve kemik hacminin azalmasıyla, ayrıca porozitenin de artmasıyla bu durumun morfolojik açıdan görüntülemelerle kanıtlandığını söyleyebiliriz.

Gen ölçümlerimizi desteklemesi açısından gerçekleştirilen immünohistokimyasal sonuçlara göre araştırmamızda OPN, OSN, OCN *H* skorlarının diyabete bağlı olarak azaldığı; kemik rezorpsiyonundan sorumlu osteoklast aktivatörü olan RANKL skorlarının ise anlamlı olarak arttığı görülmektedir. Ayrıca tümör, anjiyogenez ve büyüme faktörlerini baskılayıcı özellikleriyle bilinen DCN skorlarının da diyabetle azalması kemik doku gelişimi ve yara iyileşme sürecinde fonksiyonel bozukluklara işaret etmektedir.

Çalışmamızda moleküler düzeydeki bu değişikliklerin morfolojik olarak ne ölçüde yansıdığı histolojik değerlendirmelerle araştırılmıştır. Bu kapsamda histolojik

görüntüler, streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanların femur örneklerinde osteoblast osteoid yüzeylerinin azaldığına; osteoklast ve aşınmış yüzey alanlarının ise arttığına işaret etmektedir. Böylelikle oluşturduğumuz diyabet modeli ve implant uygulamasının ardından geçen üç aylık sürede, uzun süreli hipergliseminin literatürle uyumlu bir şekilde osteointegrasyon sürecini olumsuz olarak etkilediği görülmektedir.

Mangiferinin hiperglisemi ile gelişen diyabete karşı olumlu etkileri bilinmektedir. Bazı çalışmalarda bu etkilerinin PI3K/Akt yolağını aktive ederek gerçekleştirdiği gösterilmiştir (129,136). Bununla birlikte anjiyojenezi inhibe ederek hasarlı dokuda tümör benzeri yapıların oluşmasını engelleyerek dokularda yapısal deformasyonların önüne geçebileceği ifade edilmektedir (136). Mangiferinin bu etkisi, bazı çalışmalarda metalloproteinazların inhibisyonu ile (147) bazı çalışmalarda ise AMPK/NLRP3 (158) ve SIRT1/Foxo3a (151) yolağını regüle etmesiyle ilişkilendirilmektedir. Genel olarak mangiferinin antioksidan ve inflamasyonu baskılayıcı etkileri ile diyabet ve benzeri doku hasarına neden olabilecek patolojiler için faydalı olabileceği kanaati hakimdir (139). Bu yaygın görüşü destekleyecek şekilde mangiferinin NfκB ve TNFα süpresyonuna neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (137,144,154). Bu özellikleri mangiferinin özellikle yara iyileşme sürecine olumlu etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar, mangiferinin yara iyileşme sürecine karşı faydalı olduğuna işaret etmektedir (139,154). Topikal olarak uygulanan mangiferinin de diyabete bağlı ülserde faydalı olduğu gösterilmiştir (153). Mangiferinin diyabete ve yara iyileşmesine yönelik bu olumlu etkileri bilinmesine karşın, hiperglisemik ortamda implant uygulamasına bağlı kemik doku hasarını ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışma sonuçlarımız, mangiferinin diyabetle azalan osteointegrasyon yüzdesini ve kemik hacmini artırdığını; artmış poroziteyi ise normalize ettiğini göstermektedir. Diğer taraftan kemik dokuda diyabetle azalan *Dkk1*, *Bmp2*, *Osn*, *Runx2* ve *Lrp5* mRNA ekspresyonlarının mangiferin uygulaması ile anlamlı bir şekilde arttığı; *Rankl* düzeylerinin ise azaldığı saptanmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler ise gen sonuçlarıyla benzer bir şekilde diyabetle azalan OPN, OCN, OSN ve DCN skorlarının mangiferin ile arttığını göstermektedir. Ayrıca diyabetle azalan osteoblast ve osteoid yüzeylerinin mangiferin uygulamasıyla arttığı; artmış osteoklast ve porozif alanların ise azaldığı histolojik sonuçlarla ortaya çıkmıştır.

Mevcut veriler mangiferinin olası etkilerinin *Wnt* sinyal yolağı regülasyonu üzerinden gerçekleştirebileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte oluşturduğumuz tip-II diyabet modelinde, mangiferinin glukoz ve lipit düzeylerini büyük oranda normalize ederek, diyabetin kemik dokudaki olumsuz etkilerini önlemesiyle de bu sonuçlara ulaşmış olabiliriz. Konuyla ilgili olarak her ne kadar kısıtlı literatür kaynağı olsa da, mangiferinin karaciğerde *Wnt* sinyal yolağını regüle ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (159,160)



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sıçanlarda tip-II diyabet modeli oluşturularak femur kemiklerine implant uygulandı; sıçanlara üç ay süre ile gavajla mangiferin verilerek implant-kemik osteointegrasyonu Micro-CT, rt-qPCR, histolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlandı.

Buna göre mangiferinin:

1. Diyabetle artan glukoz, trigliserit ve VLDL düzeylerini düşürdüğünü,
2. Diyabetle bozulan *Wnt* yolağını ve buna bağlı kemik rezorpsiyonunda rolü bulunan endojen faktörleri düzenlediğini,
3. Kemik-implant osteointegrasyonuna fayda sağladığını gözlemledik.

Diyabet gerek fizyolojik gerekse morfolojik birçok komplikasyona neden olmaktadır. Bunlardan bir tanesi de diyabetin yara iyileşme mekanizması üzerindeki olumsuz etkileridir. Bu durum diyabetli hastalarda cerrahi işlemleri kısıtlamaktadır. Kan glukozunun regülasyonu diyabete bağlı yara iyileşme sürecinin bozulması üzerine tek başına yeterli olmayabilir. Bu nedenle alternatif birçok terapötik ajan kullanılmaktadır ya da araştırma konusu halindedir. Çalışma sonuçlarımız, diyabete bağlı bozulan osteointegrasyon sürecinin oral mangiferin verilmesiyle iyileştirilebileceği düşüncesini oluşturmuştur. Mangiferinin bu etkilerinin *Wnt* yolağı üzerinden kemik gelişimi sürecindeki faktörlerinin regülasyonu ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

Günümüzde osteointegrasyonun sağlıklı bir şekilde sağlanması amacıyla kullanılan kimyasal ilaçların yan etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu aşamada, hastaları yan etkileri daha az olarak bilinen ya da daha önce farklı amaçlarla kullanılmış ve güvenilir olarak kabul edilmiş doğal terapötik ajanlara yönlendirmek, olası yeni komplikasyonların önüne geçebilir. Çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz Micro-CT, rt-qPCR, histolojik ve immunohistokimyasal incelemeler sonucunda elde edilen bulgular bu amaca ışık tutmaktadır. Her ne kadar mangiferinin osteointegrasyon süreci üzerine olumlu etkileri açıkça görülsede, özellikle etki mekanizmasının hücre kültürü çalışmaları ile daha detaylı olarak açıklanması, mangiferinin klinik açıdan bir alternatif olarak değerlendirilmesi hususunda daha cesur davranılmasına olanak sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Elshazly N, Khalil A, Saad M, Patruno M, Chakraborty J, Marei M. Efficacy of bioactive glass nanofibers tested for oral mucosal regeneration in rabbits with induced diabetes. *Materials*. 2020; 13(11).
2. Şahin E, Öncel M. Traditional and Novel Biochemical Markers in Diagnosis and Monitoring of Diabetes. *European Journal of Basic Medical Sciences*. 2021; 4(3):66–73.
3. Murrah VA. Diabetes mellitus and associated oral manifestations: a review. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 1985 ;14(4):271–81.
4. Kern JS, Kern T, Wolfart S, Heussen N. A systematic review and meta-analysis of removable and fixed implant-supported prostheses in edentulous jaws: Post-loading implant loss. *Clinical Oral Implants Research*. 2016;27(2):174–95.
5. Buser D, Sennerby L, De Bruyn H. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. *Periodontol 2000*. 2017;73(1):7–21.
6. Naujokat H, Kunzendorf B, Wiltfang J. Dental implants and diabetes mellitus—a systematic review. *Int J Implant Dent*. 2016;2(1):1-10.
7. Tan N, Liu X, Cai Y, Zhang S, Jian B, Zhou Y, et al. The influence of direct laser metal sintering implants on the early stages of osseointegration in diabetic mini-pigs. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:5433–42.
8. Stachura A, Khanna I, Krysiak P, Paskal W, Włodarski P. Wound Healing Impairment in Type 2 Diabetes Model of Leptin-Deficient Mice—A Mechanistic Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15):8621.
9. Liu Y, Liu Y, He W, Mu X, Wu X, Deng J, et al. Fibroblasts: Immunomodulatory factors in refractory diabetic wound healing. *Front Immunol*. 2022;13:918223
10. Wang T, Zheng Y, Shi Y, Zhao L. pH-responsive calcium alginate hydrogel laden with protamine nanoparticles and hyaluronan oligosaccharide promotes diabetic wound healing by enhancing angiogenesis and antibacterial activity. *Drug Deliv Transl Res*. 2019;9(1):227–39.
11. Shah K, Patel M, Patel R, Parmar P. *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacogn Rev*. 2010;4(7):42–8.
12. Bulugonda RK, kumar KA, Gangappa D, Beeda H, Philip GH, Muralidhara Rao D, et al. Mangiferin from *Pueraria tuberosa* reduces inflammation via inactivation of NLRP3 inflammasome. *Sci Rep*. 2017;7(1):42683.
13. Li H, Liao H, Bao C, Xiao Y, Wang Q. Preparation and Evaluations of Mangiferin-Loaded PLGA Scaffolds for Alveolar Bone Repair Treatment Under the Diabetic Condition. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(2):529–38.
14. Lwin OM, Giribabu N, Kilari EK, Salleh N. Topical administration of mangiferin promotes healing of the wound of streptozotocin-nicotinamide-induced type-2 diabetic male rats. *Journal of Dermatological Treatment*. 2021;32(8):1039–48.

15. Akter S, Akhter H, Chaudhury HS, Rahman MDH, Gorski A, Hasan MN, et al. Dietary carbohydrates: Pathogenesis and potential therapeutic targets to obesity-associated metabolic syndrome. *BioFactors*. 2022;48(5):1036–59.
16. Boyle JP, Thompson TJ, Gregg EW, Barker LE, Williamson DF. Projection of the year 2050 burden of diabetes in the US adult population: dynamic modeling of incidence, mortality, and prediabetes prevalence. *Popul Health Metr*. 2010;8(1):29.
17. Alabdulkarim M, Bissada N, Al-Zahrani M, Ficara A, Siegel B. Alveolar bone loss in obese subjects. *J Int Acad Periodontol*. 2005;7(2):34–8.
18. Mellado Valero A, Ferrer García JC, Herrera Ballester A, Rueda CL, Carlos J, García F.
Efectos de la diabetes sobre la oseointegración de los implantes dentales. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12:E38-43.
19. Baniasadi K, Armoon B, Higgs P, Bayat A, Mohammadi Gharehghani MA, Hemmat M, et al. The Association of Oral Health Status and socio-economic determinants with Oral Health-Related Quality of Life among the elderly: A systematic review and meta-analysis. *Int J Dent Hyg*. 2021;19(2):153–65.
20. Slashcheva LD, Karjalahti E, Hassett LC, Smith B, Chamberlain AM. A systematic review and gap analysis of frailty and oral health characteristics in older adults: A call for clinical translation. *Gerodontology*. 2021;38(4):338–50.
21. Takahashi M, Maeda K, Wakabayashi H. Prevalence of sarcopenia and association with oral health-related quality of life and oral health status in older dental clinic outpatients. *Geriatr Gerontol Int*. 2018 ;18(6):915–21.
22. Gil-Montoya JA, Sánchez-Lara I, Carnero-Pardo C, Fornieles-Rubio F, Montes J, Barrios R, et al. Oral Hygiene in the Elderly with Different Degrees of Cognitive Impairment and Dementia. *J Am Geriatr Soc*. 2017;65(3):642–7.
23. Ahmadi B, Alimohammadian M, Yaseri M, Majidi A, Boreiri M, Islami F, et al. Multimorbidity: Epidemiology and risk factors in the Golestan cohort study, Iran: a cross-sectional analysis. *Medicine*. 2016;95(7):e2756.
24. Mocanu H, Mocanu AI, Dascălu I, Schipor MA, Rădulescu M. Materials for ossicular chain reconstruction: History and evolution (Review). *Medicine International*. 2023;3(2):13.
25. Socci MC, Rodríguez G, Oliva E, Fushimi S, Takabatake K, Nagatsuka H, et al. Polymeric Materials, Advances and Applications in Tissue Engineering: A Review. *Bioengineering*. 2023;10(2):218.
26. Saha S, Roy S. Metallic Dental Implants Wear Mechanisms, Materials, and Manufacturing Processes: A Literature Review. *Materials*. 2022;16(1):161.
27. Gaviria L, Salcido JP, Guda T, Ong JL. Current trends in dental implants. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2014;40(2):50.
28. Rocuzzo A, Fanti R, Mancini L, Imber JC, Stähli A, Molinero-Mourelle P, et al. Implant-supported fixed dental prostheses with cantilever extensions: State of the art and future perspectives. *Int J Oral Implantol (Berl)*. 2023;16(1):13–28.

29. Bulaqi HA, Mousavi Mashhadi M, Geramipناه F, Safari H, Paknejad M. Effect of the coefficient of friction and tightening speed on the preload induced at the dental implant complex with the finite element method. *J Prosthet Dent*. 2015;113(5):405–11.
30. Smith DC. Dental implants: materials and design considerations. *Int J Prosthodont*. 1993;6(2):106–17.
31. Albrektsson T, Canullo L, Cochran D, De Bruyn H. “Peri-Implantitis”: A Complication of a Foreign Body or a Man-Made “Disease”. Facts and Fiction. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(4):840–9.
32. Donath K, Laaß M, Günzl HJ. The histopathology of different foreign-body reactions in oral soft tissue and bone tissue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992;420(2):131–7.
33. Trindade R, Albrektsson T, Galli S, Prgomet Z, Tengvall P, Wennerberg A. Osseointegration and foreign body reaction: Titanium implants activate the immune system and suppress bone resorption during the first 4 weeks after implantation. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018;20(1):82–91.
34. Albrektsson T, Chrcanovic B, Jacobsson M, Wennerberg A. Osseointegration of Implants – A Biological and Clinical Overview. *JSM Dent Surg*. 2017;2(3):1022.
35. Parsa A, Vahedi H, Goswami K, Aalirezaie A. Available Findings Fail to Provide Strong Evidence of the Role of Bone Morphogenic Protein-2 in Femoral Head Osteonecrosis. *Arch Bone Jt Surg*. 2020;8(1):5–10.
36. Simonds MM, Schlefman AR, McCahan SM, Sullivan KE, Rose CD, Brescia AMC. The culture microenvironment of juvenile idiopathic arthritis synovial fibroblasts is favorable for endochondral bone formation through BMP4 and repressed by chondrocytes. *Pediatric Rheumatology*. 2021;19(1):72.
37. Wang P, Ying J, Luo C, Jin X, Zhang S, Xu T, et al. Osthole Promotes Bone Fracture Healing through Activation of BMP Signaling in Chondrocytes. *Int J Biol Sci*. 2017;13(8):996–1007.
38. Mont MA, Cherian JJ, Sierra RJ, Jones LC, Lieberman JR. Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head: Where Do We Stand Today? *Journal of Bone and Joint Surgery*. 2015;97(19):1604–27.
39. Yamashita T. New roles of osteoblasts involved in osteoclast differentiation. *World J Orthop*. 2012;3(11):175–81.
40. Santos ES, Ramos JC, Roza ALOC, Mariz BALA, Paes Leme AF. The role of osteopontin in oral cancer: A brief review with emphasis on clinical applications. *Oral Dis*. 2022;28(2):326–35.
41. Rosset EM, Bradshaw AD. SPARC/osteonectin in mineralized tissue. *Matrix Biology*. 2016;54:78–87.
42. Pathak JL, Bravenboer N, Klein-Nulend J. The Osteocyte as the New Discovery of Therapeutic Options in Rare Bone Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11(8):405.

43. Norwitz NG, Mota AS, Misra M, Ackerman KE. LRP5, Bone Density, and Mechanical Stress: A Case Report and Literature Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:184.
44. Komori T. Regulation of Proliferation, Differentiation and Functions of Osteoblasts by Runx2. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1694.
45. Roberts WE, Smith RK, Zilberman Y, Mozsary PG, Smith RS. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. *Am J Orthod*. 1984;86(2):95–111.
46. Donath K, Kirsch A, Osborn J. Dynamik um enossale Titanimplantate. *Zahnärztliche Implantologie*. 1984;1:55–8.
47. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone. *J Mater Sci Mater Med*. 1993;4(3):240–50.
48. Dario LJ, Cucchiaro PJ, Deluzio AJ. Electronic monitoring of dental implant osseointegration. *The Journal of the American Dental Association*. 2002;133(4):483–90.
49. Susin C, Wikesjö UME. Regenerative periodontal therapy: 30 years of lessons learned and unlearned. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):232–42.
50. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont*. 1998;11(5):491–501.
51. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7(3):261–7.
52. Rydén L, Lindsten J. The history of the Nobel prize for the discovery of insulin. *Diabetes Res Clin Pract*. 2021;175:108819.
53. King KM. Diabetes: classification and strategies for integrated care. *British Journal of Nursing*. 2003;12(20):1204–10.
54. King KM, Rubin G. A history of diabetes: from antiquity to discovering insulin. *British Journal of Nursing*. 2003;12(18):1091–5.
55. Lesgards JF. Benefits of Whey Proteins on Type 2 Diabetes Mellitus Parameters and Prevention of Cardiovascular Diseases. *Nutrients*. 2023;15(5):1294.
56. Gavin III, James R., et al. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20(7):1183–97.
57. American Diabetes Association Professional Practice Committee, & American Diabetes Association Professional Practice Committee:. (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*, 45:17-38.
58. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(2):169–80.
59. Vandorsten JP, Dodson WC, Espeland MA, Grobman WA, Guise JM, Mercer BM, et al. NIH consensus development conference: diagnosing gestational diabetes mellitus. *Consens State Sci Statements*. 2013;29(1):1–31.

60. Safiri S, Kolahi AA, Naghavi M. Global, regional and national burden of bladder cancer and its attributable risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2019. *BMJ Glob Health*. 2021;6(11):e004128.
61. Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D. A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C. D., Lewington, S., Pennells, L., Thompson, A., Sattar, N., White, I. R., Ray, K. K., Danesh J. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *The Lancet*. 2010;375(9733):2215–22.
62. Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo NC, Ruiz PLD, Sacre JW, Karuranga S, et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022;183:109118.
63. DECODE Study Group. Age- and Sex-Specific Prevalences of Diabetes and Impaired Glucose Regulation in 13 European Cohorts. *Diabetes Care*. 2003;26(1):61–9.
64. Tomic D, Morton JI, Chen L, Salim A, Gregg EW, Pavkov ME, et al. Lifetime risk, life expectancy, and years of life lost to type 2 diabetes in 23 high-income jurisdictions: a multinational, population-based study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(11):795–803.
65. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278–316.
66. Mauvais-Jarvis F, Bairey Merz N, Barnes PJ, Brinton RD, Carrero JJ, DeMeo DL, et al. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *The Lancet*. 2020;396(10250):565–82.
67. Nielsen MW, Stefanick ML, Peragine D, Neilands TB, Ioannidis JPA, Pilote L, et al. Gender-related variables for health research. *Biol Sex Differ*. 2021;12(1):23.
68. World Health Organization, International Diabetes, Federation. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia : report of a WHO/IDF consultation. WHO Press. 2006.
69. World Health Organization. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: abbreviated report of a WHO consultation. WHO Press. 2011.
70. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. TEMD Yayınları. 2022.
71. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014 ;103(2):137–49.
72. Petersen PE, Ogawa H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontol* 2000. 2012;60(1):15–39.
73. Mealey BL, Oates TW. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *J Periodontol*. 2006;77(8):1289–303.

74. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005;366(9499):1809–20.
75. James SL, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*. 2018;392(10159):1789–858.
76. Borgnakke WS. IDF Diabetes Atlas: Diabetes and oral health – A two-way relationship of clinical importance. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;157:107839.
77. Fretwurst T, Nelson K. Influence of Medical and Geriatric Factors on Implant Success: An Overview of Systematic Reviews. *Int J Prosthodont*. 2021;34:s21–6.
78. Lv X, Zou L, Zhang X, Zhang X, Lai H, Shi J. Effects of diabetes/hyperglycemia on peri-implant biomarkers and clinical and radiographic outcomes in patients with dental implant restorations: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2022;33(12):1183–98.
79. Peled M, Ardekian L, Tagger-Green N, Gutmacher Z, Machtei EE. Dental Implants in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Study. *Implant Dent*. 2003;12(2):116–22.
80. Wagner J, Spille JH, Wiltfang J, Naujokat H. Systematic review on diabetes mellitus and dental implants: an update. *Int J Implant Dent*. 2022;8(1):1.
81. Alberti A, Morandi P, Zotti B, Tironi F, Francetti L, Taschieri S, et al. Influence of Diabetes on Implant Failure and Peri-Implant Diseases: A Retrospective Study. *Dent J (Basel)*. 2020;8(3):70.
82. Turri A, Rossetti P, Canullo L, Grusovin M, Dahlin C. Prevalence of Peri-implantitis in Medically Compromised Patients and Smokers: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016;31(1):111–8.
83. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and Atherosclerosis. *JAMA*. 2002;287(19):2570–81.
84. Koştka A, Abraham P, Bouhanick B, Sigauo-Roussel D, Demiot C, Saumet JL. Impaired Pressure-Induced Vasodilation at the Foot in Young Adults With Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2004;53(3):721–5.
85. Park HY, Kim JH, Jung M, Chung CH, Hasham R, Park CS, et al. A long-standing hyperglycaemic condition impairs skin barrier by accelerating skin ageing process. *Exp Dermatol*. 2011;20(12):969–74.
86. Lima AL, Illing T, Schliemann S, Elsner P. Cutaneous Manifestations of Diabetes Mellitus: A Review. *Am J Clin Dermatol*. 2017;18(4):541–53.
87. Dworżański J, Strycharz-Dudziak M, Kliszczewska E, Kielczykowska M, Dworżańska A, Drop B, et al. Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activity in patients with diabetes mellitus type 2 infected with Epstein-Barr virus. Pagano JS, editor. *PLoS One*. 2020;15(3):e0230374.
88. Xu S, Chisholm AD. C. elegans Epidermal Wounding Induces a Mitochondrial ROS Burst that Promotes Wound Repair. *Dev Cell*. 2014;31(1):48–60.

89. Ay B, Parolia K, Liddell RS, Qiu Y, Grasselli G, Cooper DML, et al. Hyperglycemia compromises Rat Cortical Bone by Increasing Osteocyte Lacunar Density and Decreasing Vascular Canal Volume. *Commun Biol.* 2020;3(1):20.
90. Nishikawa T, Suzuki Y, Sawada N, Kobayashi Y, Nakamura N, Miyabe M, et al. Therapeutic potential for insulin on type 1 diabetes-associated periodontitis: Analysis of experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes Investig.* 2020;11(6):1482–9.
91. Ekici O, Aslan E, Guzel H, Korkmaz OA, Sadi G, Gurol AM, et al. Kefir alters craniomandibular bone development in rats fed excess dose of high fructose corn syrup. *J Bone Miner Metab.* 2022 ;40(1):56–65.
92. Ekici Ö, Aslan E, Aladağ T, Güzel H, Korkmaz ÖA, Bostancı A, et al. Masseter muscle and gingival tissue inflammatory response following treatment with high-fructose corn syrup in rats: Anti-inflammatory and antioxidant effects of kefir. *J Food Biochem.* 2022;46(3):e13732.
93. Kim HJ, Jung BH, Yoo KY, Han JW, Um HS, Chang BS, et al. Determination of the critical diabetes duration in a streptozotocin-induced diabetic rat calvarial defect model for experimentation regarding bone regeneration. *J Periodontal Implant Sci.* 2017;47(5):339.
94. Nourah D, Aldahlawi S, Andreana S. Should the Quality of Glycemic Control Guide Dental Implant Therapy in Patients with Diabetes? Focus on Implant Survival. *Curr Diabetes Rev.* 2022;18(4):e060821195367.
95. Singh K, Rao J, Afsheen T, Tiwari B. Survival rate of dental implant placement by conventional or flapless surgery in controlled type 2 diabetes mellitus patients: A systematic review. *Indian Journal of Dental Research.* 2019;30(4):600–11.
96. Aldahlawi S, Nourah D, Andreana S. Should Quality of Glycemic Control Guide Dental Implant Therapy in Patients with Diabetes? Focus on: Peri-Implant Diseases. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2021;13:149–54.
97. Souza ACR de, Tedesco BAN, Lourenção PLT de A, Terra SA, Araújo C dos RP de, Spadella CT, et al. Ultrastructural analysis of bone formation around dental implants in nondiabetic rats, severe diabetics not controlled and controlled with insulin. *Acta Cir Bras.* 2020;35(11):e351101.
98. Zhang J, Wang Y nan, Jia T, Huang H, Zhang D, Xu X. Genipin and insulin combined treatment improves implant osseointegration in type 2 diabetic rats. *J Orthop Surg Res.* 2021;16(1):59.
99. King S, Baptiston Tanaka C, Ross D, Kruzic JJ, Levinger I, Klineberg I, et al. A diet high in fat and fructose adversely affects osseointegration of titanium implants in rats. *Clin Exp Dent Res.* 2020;6(1):107–16.
100. Tang Y, Zheng L, Zhou J, Chen Y, Yang L, Deng F, et al. miR-203-3p participates in the suppression of diabetes-associated osteogenesis in the jaw bone through targeting Smad1. *Int J Mol Med.* 2018;41:1595–607.
101. Suthon S, Perkins RS, Bryja V, Miranda-Carboni GA, Krum SA. WNT5B in Physiology and Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9(4):667581.

102. Rashmi P, Urmila A, Likhith A, Subhash B, Shailendra G. Rodent models for diabetes. *3 Biotech.* 2023;13(3):80.
103. Kottaisamy CPD, Raj DS, Prasanth Kumar V, Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review. *Lab Anim Res.* 2021;37(1):23.
104. Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward WK. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp Med.* 2004;54(3):252–7.
105. Kong L li, Wu H, Cui W peng, Zhou W hua, Luo P, Sun J, et al. Advances in Murine Models of Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res.* 2013;2013:1–10.
106. Hom DB, Davis ME. Reducing Risks for Poor Surgical Wound Healing. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2023;31(2):171–81.
107. Miraj SS, Kurian SJ, Rodrigues GS, Saravu K, Rao M, Raychaudhuri SP, et al. Phytotherapy in Diabetic Foot Ulcers: A Promising Strategy for Effective Wound Healing. *Journal of the American Nutrition Association.* 2023;42(3):295–310.
108. Soib HH, Ismail HF, Husin F, Abu Bakar MH, Yaakob H, Sarmidi MR. Bioassay-Guided Different Extraction Techniques of *Carica papaya* (Linn.) Leaves on In Vitro Wound-Healing Activities. *Molecules.* 2020;25(3):517.
109. Carmona F, Soares Pereira AM. Herbal medicines: Old and new concepts, truths and misunderstandings. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2013;23(2):379–85.
110. Raskin I, Ripoll C. Can an Apple a Day Keep the Doctor Away? *Curr Pharm Des.* 2004;10(27):3419–29.
111. Ferreira TS, Moreira CZ, Cária NZ, Victoriano G, SILVA Jr WF, Magalhães JC. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.* 2014;16(2):290–8.
112. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;482(3):419–25.
113. Zhao R, Liang H, Clarke E, Jackson C, Xue M. Inflammation in Chronic Wounds. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):2085.
114. Mahomoodally MF. Traditional Medicines in Africa: An Appraisal of Ten Potent African Medicinal Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2013;2013:1–14.
115. Oguntibeju OO. Medicinal plants and their effects on diabetic wound healing. *Vet World.* 2019;12(5):653–63.
116. Shoham Y, Krieger Y, Tamir E, Silberstein E, Bogdanov-Berezovsky A, Haik J, et al. Bromelain-based enzymatic debridement of chronic wounds: A preliminary report. *Int Wound J.* 2018;15(5):769–75.
117. Hakim RF, Fakhrurrazi, Dinni. Effect of *Carica papaya* Extract toward Incised Wound Healing Process in Mice (*Mus musculus*) Clinically and Histologically. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2019;2019:1–5.

118. Espinosa-Espinosa L, Garduño-Siciliano L, Rodríguez-Canales M, Hernández-Portilla LB, Canales-Martínez MM, Rodríguez-Monroy MA. The Wound-Healing Effect of Mango Peel Extract on Incision Wounds in a Murine Model. *Molecules*. 2022;27(1):259.
119. Al omairi NE, Radwan OK, Alzahrani YA, Kassab RB. Neuroprotective efficiency of *Mangifera indica* leaves extract on cadmium-induced cortical damage in rats. *Metab Brain Dis*. 2018;33(4):1121–30.
120. Dutta T, Das T, Gopalakrishnan AV, Saha SC, Ghorai M, Nandy S, et al. Mangiferin: the miraculous xanthone with diverse pharmacological properties. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2023;396(5):851–63.
121. Acosta J, Sevilla I, Salomón S, Nuevas L, Romero A, Amaro D. Determination of mangiferin solubility in solvents used in the biopharmaceutical industry. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2016;4(2):49–53.
122. Sanugul K, Akao T, Li Y, Kakiuchi N, Nakamura N, Hattori M. Isolation of a Human Intestinal Bacterium That Transforms Mangiferin to Norathyriol and Inducibility of the Enzyme That Cleaves a C-Glucosyl Bond. *Biol Pharm Bull*. 2005;28(9):1672–8.
123. Klein-Júnior LC, Campos A, Niero R, Corrêa R, Vander Heyden Y, Filho VC. Xanthones and Cancer: from Natural Sources to Mechanisms of Action. *Chem Biodivers*. 2020;17(2):e1900499.
124. Marçal S, Pintado M. Mango peels as food ingredient / additive: nutritional value, processing, safety and applications. *Trends Food Sci Technol*. 2021;114:472–89.
125. Du S, Liu H, Lei T, Xie X, Wang H, He X, et al. Mangiferin: An effective therapeutic agent against several disorders (Review). *Mol Med Rep*. 2018;18(6):4775–86.
126. Han D, Chen C, Zhang C, Zhang Y, Tang X. Determination of mangiferin in rat plasma by liquid–liquid extraction with UPLC–MS/MS. *J Pharm Biomed Anal*. 2010;51(1):260–3.
127. Wang M, Liang Y, Chen K, Wang M, Long X, Liu H, et al. The management of diabetes mellitus by mangiferin: advances and prospects. *Nanoscale*. 2022;14(6):2119–35.
128. Fan X, Jiao G, Pang T, Wen T, He Z, Han J, et al. Ameliorative effects of mangiferin derivative TPX on insulin resistance via PI3K/AKT and AMPK signaling pathways in human HepG2 and HL-7702 hepatocytes. *Phytomedicine*. 2023;114:154740.
129. Jiang F, Zhang D long, Jia M, Hao W hua, Li Y jun. Mangiferin inhibits high-fat diet induced vascular injury via regulation of PTEN/AKT/eNOS pathway. *J Pharmacol Sci*. 2018;137(3):265–73.
130. Frolidi G, Ragazzi E. Selected Plant-Derived Polyphenols as Potential Therapeutic Agents for Peripheral Artery Disease: Molecular Mechanisms, Efficacy and Safety. *Molecules*. 2022;27(20):7110.
131. Saha S, Sadhukhan P, Sil PC. Mangiferin: A xanthonoid with multipotent anti-inflammatory potential. *BioFactors*. 2016;42(5):459–74.

132. Das J, Ghosh J, Roy A, Sil PC. Mangiferin exerts hepatoprotective activity against D-galactosamine induced acute toxicity and oxidative/nitrosative stress via Nrf2–NFκB pathways. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;260(1):35–47.
133. Andreu GP, Delgado R, Velho JA, Curti C, Vercesi AE. Iron complexing activity of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, inhibits mitochondrial lipid peroxidation induced by Fe²⁺-citrate. *Eur J Pharmacol.* 2005;513(1–2):47–55.
134. Song J, Li J, Hou F, Wang X, Liu B. Mangiferin inhibits endoplasmic reticulum stress-associated thioredoxin-interacting protein/NLRP3 inflammasome activation with regulation of AMPK in endothelial cells. *Metabolism.* 2015;64(3):428–37.
135. Nishigaki I, Raj Kapoor B, Rajendran P, Venugopal R, Ekambaram G, Sakthisekaran D, et al. Effect of fresh apple extract on glycated protein/iron chelate-induced toxicity in human umbilical vein endothelial cells in vitro. *Nat Prod Res.* 2010;24(7):599–609.
136. Shi J, Lv H, Tang C, Li Y, Huang J, Zhang H. Mangiferin inhibits cell migration and angiogenesis via PI3K/AKT/mTOR signaling in high glucose- and hypoxia-induced RRCECs. *Mol Med Rep.* 2021;23(6):473.
137. Hou J, Zheng D, Fung G, Deng H, Chen L, Liang J, et al. Mangiferin suppressed advanced glycation end products (AGEs) through NF-κB deactivation and displayed anti-inflammatory effects in streptozotocin and high fat diet-diabetic cardiomyopathy rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016;94(3):332–40.
138. Jiang F, Zhang D long, Jia M, Hao W hua, Li Y jun. Mangiferin inhibits high-fat diet induced vascular injury via regulation of PTEN/AKT/eNOS pathway. *J Pharmacol Sci.* 2018;137(3):265–73.
139. Wu Y, Liu W, Yang T, Li M, Qin L, Wu L, et al. Oral administration of mangiferin ameliorates diabetes in animal models: a meta-analysis and systematic review. *Nutrition Research.* 2021;87:57–69.
140. RamPravinKumar M, Dhananjayan K. Peripheral arterial disease: Effects of ethanolic extracts of seed kernels of mango (*Mangifera indica* .L) on acute hind limb ischemia-reperfusion injury in diabetic rats. *J Tradit Complement Med.* 2021;11(6):520–31.
141. Trinchieri G. Cancer and inflammation: an old intuition with rapidly evolving new concepts. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:677–706.
142. Debeleç Bütüner B, Öztürk MB. Use of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Chemoprevention of Inflammation-induced Prostate Cancer. *Turk J Pharm Sci.* 2017;14(3):274–9.
143. Atretkhany KSN, Drutskaya MS, Nedospasov SA, Grivennikov SI, Kuprash DV. Chemokines, cytokines and exosomes help tumors to shape inflammatory microenvironment. *Pharmacol Ther.* 2016;168:98–112.
144. Takeda T, Tsubaki M, Kino T, Yamagishi M, Iida M, Itoh T, et al. Mangiferin induces apoptosis in multiple myeloma cell lines by suppressing the activation of nuclear factor kappa B-inducing kinase. *Chem Biol Interact.* 2016;251:26–33.

145. Gan L, Qiu Z, Huang J, Li Y, Huang H, Xiang T, et al. Cyclooxygenase-2 in tumor-associated macrophages promotes metastatic potential of breast cancer cells through Akt pathway. *Int J Biol Sci.* 2016;12(12):1533–43.
146. Zhang Q jie, Yue L. Inhibitory activity of mangiferin on helicobacter pylori-induced inflammation in human gastric carcinoma AGS cells. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines.* 2016;14(1):263–71.
147. Wen J, Qin Y, Li C, Dai X, Wu T, Yin W. Mangiferin suppresses human metastatic osteosarcoma cell growth by down-regulating the expression of metalloproteinases-1/2 and parathyroid hormone receptor 1. *AMB Express.* 2020;10(1):13.
148. Li Y, Wu Y, Jiang K, Han W, Zhang J, Xie L, et al. Mangiferin Prevents TBHP-Induced Apoptosis and ECM Degradation in Mouse Osteoarthritic Chondrocytes via Restoring Autophagy and Ameliorates Murine Osteoarthritis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:1–17.
149. Awny MM, Al-Mokaddem AK, Ali BM. Mangiferin mitigates di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced testicular injury in rats by modulating oxidative stress-mediated signals, inflammatory cascades, apoptotic pathways, and steroidogenesis. *Arch Biochem Biophys.* 2021;711:108982.
150. Ismail MB, Rajendran P, AbuZahra HM, Veeraraghavan VP. Mangiferin Inhibits Apoptosis in Doxorubicin-Induced Vascular Endothelial Cells via the Nrf2 Signaling Pathway. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4259.
151. Chen L, Li S, Zhu J, You A, Huang X, Yi X, et al. Mangiferin prevents myocardial infarction-induced apoptosis and heart failure in mice by activating the Sirt1/FoxO3a pathway. *J Cell Mol Med.* 2021;25(6):2944–55.
152. Frykberg RG, Banks J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015;4(9):560–82.
153. Lwin OM, Giribabu N, Kilari EK, Salleh N. Topical administration of mangiferin promotes healing of the wound of streptozotocin-nicotinamide-induced type-2 diabetic male rats. *Journal of Dermatological Treatment.* 2021;32(8):1039–48.
154. Pleguezuelos-Villa M, Nácher A, Hernández MJ, Ofelia Vila Buso MA, Ruiz Sauri A, Díez-Sales O. Mangiferin nanoemulsions in treatment of inflammatory disorders and skin regeneration. *Int J Pharm.* 2019;564:299–307.
155. Dünya Sağlık Örgütü (2023).
156. Kompoura V, Prapa I, Vasilakopoulou PB, Mitropoulou G, Nelios G, Balafas E, et al. Corinthian Currants Supplementation Restores Serum Polar Phenolic Compounds, Reduces IL-1beta, and Exerts Beneficial Effects on Gut Microbiota in the Streptozotocin-Induced Type-1 Diabetic Rat. *Metabolites.* 2023;13(3):415.
157. Roy JR, Janaki CS, Jayaraman S, Veeraraghavan VP, Periyasamy V, Balaji T, et al. Hypoglycemic Potential of Carica papaya in Liver Is Mediated through IRS-2/PI3K/SREBP-1c/GLUT2 Signaling in High-Fat-Diet-Induced Type-2 Diabetic Male Rats. *Toxics.* 2023;11(3):240.
158. Yong Z, Ruiqi W, Hongji Y, Ning M, Chenzuo J, Yu Z, et al. Mangiferin Ameliorates HFD-Induced NAFLD through Regulation of the AMPK and

NLRP3 Inflammasome Signal Pathways. Huang MH, editor. J Immunol Res. 2021;2021:1–17.

159. Tan HY, Wang N, Li S, Hong M, Guo W, Man K, et al. Repression of WT1-Mediated LEF1 Transcription by Mangiferin Governs β -Catenin-Independent Wnt Signalling Inactivation in Hepatocellular Carcinoma. Cellular Physiology and Biochemistry. 2018;47(5):1819–34.
160. El-Sayyad SM, Soubh AA, Awad AS, El-Abhar HS. Mangiferin protects against intestinal ischemia/reperfusion-induced liver injury: Involvement of PPAR- γ , GSK-3 β and Wnt/ β -catenin pathway. Eur J Pharmacol. 2017;809:80–6.



EKLER

EK-1 ETİK KURUL ONAYI



T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(AKUHADYЕК)

Sayı: 49533702/ İlq2
Konu: AKUHADYЕК-114-21-Referans nolu araştırma
Doç. Dr. Ömer EKİCİ
AFSÜ, Diş Hekimliği Fakültesi
Afyonkarahissar

Tarih: : 22/10/2021

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğumuz "*Mangiferin Verilen Diyabetik Sıçanlarda İmplant Uygulanması Sonrası Osteointegrasyonun İncelenmesi*" isimli araştırma projesi AKUHADYЕК yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna karar verilmiş ve onaylanmıştır.

Görevi	Adı	İmza	Görevi	Adı	İmza

MANGİFERİN VERİLEN DİYABETİK SIÇANLARDA İMPLANT UYGULAMASI SONRASI OSTEOİNTEGRASYONUN İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

21%

SIMILARITY INDEX

MATCHED SOURCE

3 file.temd.org.tr
Internet

243 words — 2%

file.temd.org.tr
Internet

2%

★https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus_2022.pdf

2%

https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf

1%

EXCLUDE QUOTES OFF

EXCLUDE SOURCES OFF

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE MATCHES OFF