

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

**SİKLOSPORİN A UYGULANAN VE DİŞ ÇEKİMİ YAPILAN  
SIÇANLARDA ÇEKİM SOKETLERİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNE  
RESVERATROLUN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ayşe ÖZCAN**

**İnönü Üniversitesi  
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı  
Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN**

Bu araştırma 1002-TÜBİTAK-Hızlı Destek Programı tarafından **214S260** Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA**

**2016**

## UZMANLIK TEZİ TUTANAĞI

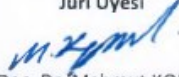
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalımız uzmanlık öğrencisi araştırma görevlisi Ayşe ÖZCAN'ın "Siklosporin A Uygulanan ve Diş Çekimi Yapılan Sıçanlarda Çekim Soketlerinin İyileşmesi Üzerine Resveratrolun Etkilerinin Değerlendirilmesi" isimli tezi 21.09.2016 tarihinde aşağıda isimleri yer alan jürimiz tarafından incelenerek başarılı bulunmuş ve kendisinin sınava alınmasına karar verilmiştir.



Jüri Başkanı

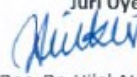
Prof. Dr. Serkan POLAT  
İnönü Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
ADÇC Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Mahmut KOPARAL  
Adıyaman Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
ADÇC Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi



Doç. Dr. Hilal ALAN  
İnönü Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
ADÇC Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Bu tez Fakülte Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.



Prof. Dr. Selami Çağatay ÖNAL  
İnönü Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı ✓

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kemik Dokusu.....	3
2.2. Kemik hücreleri .....	4
2.2.1. Osteoprogenitör Hücreler .....	4
2.2.2. Osteoblastlar .....	4
2.2.3. Osteositler .....	5
2.2.4. Osteoklastlar .....	5
2.2.5. Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler .....	6
2.3. Periosteum ve Endosteum .....	6
2.4. Kemik Tipleri.....	7
2.4.1. Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik) .....	7
2.4.2. Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik) .....	7
2.5. Kemik Oluşumu ve Gelişimi.....	8
2.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu (Doğrudan Kemikleşme) .....	8
2.5.2. Endokondral Kemik Oluşumu.....	8
2.6. Kemik Büyümesi ve Yeniden Şekillenme (Remodelling) .....	9
2.7. Kemik Dokusunun İyileşmesi.....	10
2.7.1. İltihap Evresi.....	10
2.7.2. Onarım Evresi .....	10
2.7.3. Remodelling Evresi .....	11
2.8. Alveolar Kemik .....	11
2.9. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi .....	11
2.10. Siklosporin A.....	14
2.10.1. Siklosporin A'nın Farmakokinetik ve Farmokodinamik Özellikleri .....	15

2.11. Antioksidanlar .....	18
2.12. Resveratrol .....	19
2.12.1. Resveratrolün Antioksidan Aktivitesi .....	20
2.12.3. Resveratrolün Anti-İnflamatuar Etkisi .....	21
2.12.4. Resveratrolün Anti-kanserojenik Etkisi .....	21
2.12.5. Resveratrolün Östrojenik Aktivitesi .....	22
2.12.6. Resveratrolün Kemik Üzerine In Vivo ve In Vitro Etkileri .....	22
2.12.7. Resveratrolün Toksisitesi .....	22
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>24</b>
3.1. Siklosporin A'nın Dozu ve Uygulanma Yolu .....	25
3.2. Resveratrol'un Dozu, Hazırlanışı ve Uygulanma Yolu .....	26
3.3. Dış Çekimi Yöntemi .....	26
3.4. Histolojik Değerlendirme .....	30
3.5. İstatistiksel Değerlendirme .....	31
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>33</b>
4.1. Histolojik Bulgular .....	33
4.1.1. 14. Günde Sakrifiye Edilen Grupların Histolojik Bulguları .....	33
4.1.2. 28. Günde Sakrifiye Edilen Grupların Histolojik Bulguları .....	48
4.1.3. Histolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi .....	63
4.1.4 İmmünohistokimyasal Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi .....	68
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>72</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>83</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>84</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>98</b>
Ek.1. Özgeçmiş .....	98
Ek.2. Etik Kurul Onayı .....	99
Ek.3. Proje Onayı .....	100

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım, klinik çalışmalara teşvik eden, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve tezimin her aşamasında yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç Dr. Hilal ALAN'a,

Uzmanlık eğitimime değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Serkan POLAT'a

Bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Ümit YOLCU'ya ve Yrd. Doç. Dr Mustafa KIRTAY'a

Acı, tatlı anıları birlikte paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezimde kullandığım ilaçların hazırlanmasında bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK'a

Tezimin değerlendirilmesinde yardımcı olan hocam Doç. Dr. E. Başak GÜL'e

Tezim için maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a

Tüm yaşamım boyunca her zaman arkamda olan, eğitimimde en büyük pay sahibi, hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen canım babama ve ailemin tüm bireyelerine,

Hayatımda varlığı ile her zaman bana güven veren, asistanlık dönemimde sabırla ve sevgisiyle desteğini her zaman hissettiğim sevgili nişanlım Ozan KÜÇÜK'e, içtenlikle teşekkür ederim.

## ÖZET

### **Siklosporin A Uygulanan ve Diş Çekimi Yapılan Sıçanlarda Çekim Soketlerinin İyileşmesi Üzerine Resveratrolun Etkilerinin Değerlendirilmesi**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı deneysel olarak siklosporin A (CsA) uygulanan ve diş çekimi yapılan sıçanlarda sistemik resveratrol (RSVL) uygulamasının çekim soket iyileşmesi üzerine etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemektir.

**Materyal ve metot:** Çalışmada 72 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Denekler 18 sıçandan oluşan 4 ana gruba ayrıldı: Kontrol, CsA, RSVL, CsA+RSVL grubu. CsA ve CsA+RSVL gruplarındaki sıçanlara CsA subkutan enjeksiyonla günlük 10 mg/kg dozunda uygulandı. 8'inci gün, tüm sıçanların alt sol 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra her ana grup 9'ar denekten oluşan 2 alt gruba ayrıldı. RSVL enjeksiyonu, deney gruplarındaki sıçanların diş çekimleri yapıldığı gün intraperitoneal yolla (10 µmol/kg) uygulanmaya başlandı. Her gruptan 9 denek 14. günde kalanı 28. günde kurban edildi. Deneklerin sol mandibulaları çıkartılıp histopatolojik incelemeye alındı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre gruplar arasında yeni oluşan kemik dokusu açısından 14. ve 28. günlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi. RSVL uygulanan grupta bütün diğer gruplara göre daha fazla kemik yapımı görüldü. Buna karşılık CsA uygulanan grupta diğer gruplara göre daha az kemik yapımı saptandı. Ayrıca CsA ve RSVL'ün beraber uygulandığı grupta yeni kemik yapımının CsA grubu ile benzer ve diğer gruplara göre daha az olduğu belirlendi. İmmünohistokimyasal analizde osteokalsin ve osteopontin düzeylerinin 14. ve 28. günlerde RSVL grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca CsA+RSVL grubunun 28. gün osteokalsin ve osteopontin düzeyleri CsA grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

**Sonuçlar:** CsA uygulamasının diş çekim soket iyileşmesi üzerine olumsuz etkilere sahip olduğu saptanırken RSVL uygulamasının soket iyileşmesini stimüle ettiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada CsA ve RSVL'nin aynı anda uygulanmasıyla yeni kemik yapımında artış olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, diş çekimi, resveratrol, sıçan, siklosporin A

## ABSTRACT

### **Evaluation of the Effect of Resveratrol on the Healing of Extraction Sockets in Cyclosporin A Administered Rats**

**Aim:** The aim of this study is to examine histopathologically and immunohistochemically the effects of resveratrol (RSVL) on the healing of extraction sockets after molar tooth extractions in cyclosporine A (CsA) administered rats.

**Material and Method:** 72 Spargue Dawley female rats were used in our study. The animals were divided into four main groups respectively: Control, CsA, RSVL, CsA+RSVL. CsA and CsA+RSVL groups received 10 mg/kg/day CsA via subcutaneous injection. Eight days following the injection left mandibular first and second molar teeth were extracted in each group. Following extraction, each of all main group were divided in to 2 subgroups. RSVL in a dosage of 10  $\mu$ mol/kg were given intraperitoneally for 14 and 28 days. Animals were sacrificed 14th and 28th days postoperatively and left hemimandibles were removed and prepared for histopathological examination. Histopathological findings were statistically analyzed.

**Results:** According to the results of our study, there was differences in new bone formation between groups on 14th and 28th days, which was statistically significant. In RSVL administered group new bone formation was significantly more than others groups. On the other hand, new bone formation was significantly less in CsA group than others groups. Additionally, in group in which CsA and RSVL were applied together, new bone formation was similar to the CsA group and less than all other groups. Immunohistochemical analysis showed higher levels of osteocalcin and osteopontin in the RSVL group than in the others groups. In CsA+RSVL group osteocalcin and osteopontin levels was also significantly higher than CsA group on 28th days.

**Conclusion:** While CsA administration severely impaired the healing of extraction sockets in rats, RSVL administration stimulated the healing of extraction sockets. When CsA and RSVL were combined together there was increasing new bone regeneration but this was not statistically significant.

**Key Words:** Antioxidant, cyclosporin A, rat, resveratrol, tooth extraction.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µM</b>	: Mikromolar
<b>µmol</b>	: Mikromol
<b>BMP</b>	: Kemik morfogenetik protein
<b>COX-1</b>	: Siklooksijenaz-1
<b>CsA</b>	: Siklosporin A
<b>ER</b>	: Östrojen reseptör
<b>ERK1/2</b>	: Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz ½
<b>ERT</b>	: Östrojen replasman tedavisi
<b>FasL</b>	: Fas ligand
<b>FDA</b>	: U.S. Food and Drug Administration
<b>gr</b>	: Gram
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>H-E</b>	: Hematoksilen-Eozin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-2</b>	: İnterlökin-2
<b>IL-3</b>	: İnterlökin-3
<b>IL-4</b>	: İnterlökin-4
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-10</b>	: İnterlökin-10
<b>IL-11</b>	: İnterlökin-11
<b>IL-17</b>	: İnterlökin-17
<b>İHK</b>	: İmmünohistokimyasal boyama
<b>İNÜ-DEHÜM</b> Merkezi	: İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi
<b>kg</b>	: Kilogram



<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>L-NAME</b>	: Nitro-L-arjinin metil esterini
<b>M-CSF</b>	: Makrofaj-koloni stimulan faktör
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>NADPH oksidaz</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
<b>NF-AT</b>	: Aktive T hücre nükleer faktörü
<b>NF-κB</b>	: Nükleer faktör- kappa B
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NO/cGMP</b>	: Nitrik oksit/siklik guanozin mono fosfat
<b>PBS</b>	: Siklooksijenaz-1
<b>RANKL</b>	: Reseptör aktivator nükleer faktör- kappa B ligandı
<b>RSVL</b>	: Resveratrol
<b>TGF-beta1</b>	: Transforming büyüme faktörü-beta1
<b>TNF</b>	: Tümör nekrotizan faktör
<b>TNF-α</b>	: Tümör nekrotizan faktör-alfa

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Resveratrolün <i>trans</i> ve <i>cis</i> izomerlerinin yapısı .....	19
Şekil 3.1. Siklosporin A ve subkutan olarak uygulanması .....	25
Şekil 3.2. Resveratrolün ticari formu (R5010, Sigma Aldrich), etanolde hazırlanan stok solusyonu ve sıçanlara intraperitoneal olarak uygulanması .....	26
Şekil 3.3. Ketamin hidroklorür (%10 Alfamine, Alfasan, Hollanda) ve ksilazin hidroklorür (%2 Alfazyne, Alfasan, Hollanda) .....	27
Şekil 3.4. Deney hayvanının steril örtüler ile örtülmesi .....	28
Şekil 3.5. Ameliyat ve diş çekimi için kullanılan steril aletler .....	28
Şekil 3.6. Sıçanların steril aletler ile dil ve yanağının ekarte edilmesi .....	29
Şekil 3.7. Alt sol 1. ve 2. büyük azı dişlerin çekilmesinden sonra oluşan çekim yarası ve çekilmiş dişler .....	29
Şekil 4.1. Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X4. ....	34
Şekil 4.2. Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X10.....	35
Şekil 4.3. Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X4.....	35
Şekil 4.4. Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X10.....	36
Şekil 4.5. Kontrol-14 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.....	36
Şekil 4.6. Kontrol-14 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	37
Şekil 4.7. CsA-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), nekroz ve granülasyon dokusu (dört nokta yıldız). H-E, X4.....	38
Şekil 4.8. CsA-14 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). H-E, X10. ....	38
Şekil 4.9. CsA-14 grubu; Kemik trabekülü (ok), nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X4. ....	39
Şekil 4.10. CsA-14 grubu; Kemik trabekülü (ok), nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X10. ....	39
Şekil 4.11. CsA-14 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20.....	40
Şekil 4.12. CsA-14 grubu; Granülasyon dokusu (dört nokta yıldız), fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20.....	40

Şekil 4.13. RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizeasyon (ok başı). H-E, X4.....	41
Şekil 4.14. RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X10.....	42
Şekil 4.15. RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), granülasyon dokusu (dört nokta yıldız). Trikrom, X4. ....	42
Şekil 4.16. RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), Trikrom, X10.....	43
Şekil 4.17. RSVL-14 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	43
Şekil 4.18. RSVL-14 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	44
Şekil 4.19. CsA+RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), nekroz ve granülasyon dokusu (dört nokta yıldız). H-E, X4. ....	45
Şekil 4.20. CsA+RSVL-14 grubu; Granülasyon dokusu (yıldız). H-E, X10.....	45
Şekil 4.21. CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X4. ....	46
Şekil 4.22. CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X10.....	46
Şekil 4.23. CsA+RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20. ....	47
Şekil 4.24. CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20.....	47
Şekil 4.25. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizeasyon (ok başı). H-E, X10.....	49
Şekil 4.26. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok),. H-E, X10.....	50
Şekil 4.27. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X4. ....	50
Şekil 4.28. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X10. ....	51
Şekil 4.29. Kontrol-28 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	51
Şekil 4.30. Kontrol-28 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	52
Şekil 4.31. CsA-28 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). H-E, X4. ....	53
Şekil 4.32. CsA-28 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). H-E, X10. ....	53
Şekil 4.33. CsA-28 grubu; Nekroz ve granülasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X4.....	54

Şekil 4.34. CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X10. ....	54
Şekil 4.35. CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20. ....	55
Şekil 4.36. CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20. ....	55
Şekil 4.37. RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizasyon (ok başı). H-E, X4. ....	56
Şekil 4.38. RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), epitelizasyon (ok başı). H-E, X10. ....	57
Şekil 4.39. RVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), Trikrom, X4. ....	57
Şekil 4.40. RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), Trikrom, X10. ....	58
Şekil 4.41. RSVL-28 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	58
Şekil 4.42. RSVL-28 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	59
Şekil 4.43. CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız). H-E, X4. ....	60
Şekil 4.44. CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X10. ....	60
Şekil 4.45. CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X4. ....	61
Şekil 4.46. CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X10. ....	61
Şekil 4. 47. CsA+RSVL-28 grubu; Granulasyon dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	62
Şekil 4.48. CsA+RSVL-28 grubu; Granulasyon dokusu (yıldız), osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20. ....	62
Şekil 4. 49. 14. ve 28. günlerdeki inflamasyon bulgularının grafiksel analizi .....	64
Şekil 4.50. 14. ve 28. günlerdeki epitelizasyon bulgularının grafiksel analizi. ....	65
Şekil 4.51. 14. ve 28. günlerdeki bağ doku bulgularının grafiksel analizi. ....	66
Şekil 4.52. 14. ve 28. günlerdeki yeni oluşan kemik doku bulgularının grafiksel analizi. ....	68
Şekil 4.53. 14. ve 28. günlerdeki osteokalsin bulgularının grafiksel analizi. ....	70
Şekil 4.54. 14. ve 28. günlerdeki osteopontin bulgularının grafiksel analizi. ....	71

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Resveratrolün antioksidan aktivitesi (81, 82).....	21
Tablo 3.1. Histolojik bulguların skorlanması .....	30
Tablo 4.1. 14. günde sakrifiye edilen grupların histolojik bulguları .....	33
Tablo 4.2. 28. günde sakrifiye edilen grupların histolojik bulguları. ....	48
Tablo 4.3. Histolojik ölçümlere ilişkin değerlendirmeler.....	64
Tablo 4.4. İmmünohistokimya ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler .....	69



# 1. GİRİŞ

Ağız, diş ve çene cerrahisindeki en yaygın cerrahi prosedürlerden biri diş çekimidir (1). Diş çekim yarasının iyileşmesi kırık iyileşmesine benzer aşamalar gösterir. Bu aşamalar kısaca çekim boşluğunda hematoma oluşması, pıhtının organizasyonu, yara yüzeyinin epitelizasyonu, çekim boşluğunun bağ dokusunda örgü kemiğin oluşumu, örgü kemiğin trabeküler kemik ile yer değiştirmesi ve alveolün yeniden şekillenmesidir (2). Bu iyileşme süreci genellikle sorunsuz olmasına rağmen immünyüpresyon uygulanan, immün hastalığı, diyabeti ya da metabolik kemik rahatsızlığı bulunan hastalarda bozulmuş ya da gecikmiş bir iyileşme şeklinde gelişebilmektedir. Aynı zamanda iyileşme, bazı ilaçların kullanımı, enfeksiyon varlığı, çekim alanı, hastaların yaşı, sağlığı ve sigara gibi bazı önemli faktörlerden de etkilenmektedir (3-5).

Kemik iyileşme etkinliğinin azaldığı durumlarda kemik rezorpsiyonun azaltılması ve tahmin edilebilir kemik iyileşmesi, kemik metabolizmasının kontrolü için önemli bir faktör teşkil etmektedir (6). Bu yüzden kemik rezorpsiyonunu kontrol eden ve kemik depozisyonunu artıran bifosfonat, paratiroid hormon gibi birçok lokal ve sistemik ajan test edilmektedir (1, 4). Ancak bu ajanların pek çok yan etkisi bulunmaktadır. Bu yüzden yan etkileri daha az ve benzer yarar sağlayan alternatif ilaçlar, çalışmaların hedefi haline gelmiştir ve bitkilerden hazırlanan antioksidan bileşik ve ürünlerin kullanımı artmıştır (6, 7). Bu bileşikler arasında siyah üzüm kabuğunda (50-100 µg/gr) bulunan resveratrol (RSVL, 3, 4', 5 trihidroksistilben), çeşitli klinik ve farmakolojik çalışmalar ışığında önemli hale gelmiştir. RSVL güçlü antioksidan özelliğinin yanı sıra antidiyabetik, antineoplastik, antiplatelet, antiinflatuar ve kemik koruyucu aktivitesi de olan bir ajandır (8-10).

Organ nakli, otoimmün rahatsızlıklar ya da allogreft reddinin önlenmesi gibi nedenlerle siklosporin A (CsA) alan hastalarda diş çekimini takiben yara iyileşmesi engellenmektedir (11). Halen kullanılan immünyüpresif ilaçlar arasında etkinliği en yüksek olan siklosporindir (12). Yapılan deneysel çalışmalarda CsA'nın oral ve dental iskeleti içeren kemik dokusu üzerinde osteopeniye, osteoporoz, kemik metabolizmasının bozulmasına, trabeküler kemik kaybına neden olduğu gösterilmiştir (13-17). Ancak CsA'nın dental ve oral cerrahi işlemlerden sonra çekim yarası iyileşmesi üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Literatüre bakıldığında CsA'nın gingival hücre metabolizması üzerine etkilerini araştıran pek çok çalışma

olmasına rağmen sert dokular, diş ve çevre kemik dokusu üzerine odaklanan çok az çalışmaya rastlanmaktadır (18).

CsA'nın kemik üzerine çeşitli olumsuz etkilerinden başka nefrotoksisite, hepatoksisite, neurotoksisite, hipertansiyon, dislipidemi, gingival hiperplazi, hipertrikozis, tromboembolik komplikasyon gibi çeşitli yan etkileri de bulunmaktadır (12, 19, 20). CsA'nın bu toksisiteye neden olan mekanizması ise hala tartışma konusudur. Ancak çok sayıda çalışma CsA'nın indüklediği toksisitenin oksidatif stres sonucunda olabileceğini desteklemektedir. Bu yüzden CsA'nın indüklediği yan etkileri azaltmak için antioksidan ajanların kullanımının yararlı olabileceği belirtilmiştir (12, 21-23). Yine son yıllarda da oksidatif stres, serbest radikaller ve antioksidanlar üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (12). Ayrıca kemik iyileşmesini hızlandırmak için çeşitli antioksidanların uygulanması ile ilgili de çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir (6, 7).

Bu çalışma da deneysel olarak CsA uygulanan ve diş çekimi yapılan sıçanlarda sistemik RSVL uygulamasının çekim soket iyileşmesi üzerindeki etkilerini histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemeyi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik Dokusu

Kemik, bağ dokusunun özel bir şeklidir ve iskelet sisteminin de ana maddesidir. Kemik de diğer bağ dokuları gibi; hücreler ve hücreler arası maddeden (ekstrasellüler matriks) oluşur. Kemiyi diğer bağ dokularından ayıran en önemli özellik ise ekstrasellüler matriksin mineralize olmasıdır. Kemik dokusu kafatası içindeki beyin, toraks içindeki kalp ve akciğerler ile pelvis kemikleri arasındaki boşaltım ve üreme organlarının korunmasında ve iskeletin hem mekanik hem de metabolik olarak desteklenmesinde görev alır. Ayrıca kemikler organizmanın kalsiyum ve fosfat iyon konsantrasyon dengesini ve içerdiği kemik iliği sayesinde hemopoeti (kan hücrelerinin yapımını) sağlar. İskelet, vücuttaki total kalsiyumun yaklaşık %99'unu içerir ve bir kalsiyum deposu olarak görev yapar. Kemik dokusu kendisini yapısal olarak yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir yapıya sahiptir (24-26).

Kemik dokusunun hücreleri osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler, kemiyi döşeyen hücreler ve osteoklastlardır. Kemik matriksi ise organik (%30) ve inorganik (%70) kısımlardan oluşur (27). Organik kısmın majör yapısal bileşeni tip I kollajendir ve bu kollajen organik kısmın yaklaşık %90'ını oluşturur. Bunun yanı sıra daha az miktarda Tip V kollajen ve eser miktarlarda tip III, XI, ve XIII kollajende içermektedir. Matrikste ayrıca glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, osteokalsin, osteopontin ve osteonektin gibi glikoproteinler, çeşitli sialoproteinler, büyüme faktörleri ve sitokinler bulunur. Osteonektin kollajen ve hidroksiapatit kristallerini birbirine yapıştırırken osteopontin hücreleri matrikse bağlar. Osteokalsin proteini de kan yolu ile gelen kalsiyumu yakalar ve osteoklastları stimüle eder (24, 25). Matriksin inorganik kısmı ise çoğu hidroksiapatit formunda olmak üzere kristal tuzları (Kalsiyum Hidroksiapatit, Kalsiyum Fosfat) içerir (27).

Vücut kemikleri şekillerine göre uzun ve yassı kemik olmak üzere adlandırılırlarken histolojik özelliklerine göre kompakt kemik ve spongiyöz (süngerimsi) kemik olarak sınıflandırılmıştır. Kompakt kemik daha sıkı iken spongiyöz kemik içerdiği kemik iliği kavimleri ve trabeküller nedeni ile sünger görünümündedir. Spongiyöz kemik mekanik etkilere karşı zayıftır ve kolaylıkla kırılır (26). Yassı kemiklerin hem iç hem de dış yüzeyleri, uzun kemiklerin ise sadece dış yüzeyleri



mekanik destek sağlayan kompakt kemikten oluşmuştur. Kemiğin merkezinde yer alan spongiyöz kemik ise metabolik faaliyetlerinden sorumlu kısmı oluşturur (28).

## **2.2. Kemik hücreleri**

### **2.2.1. Osteoprogenitör Hücreler**

Mitozla bölünüp osteoblastlara farklılaşabilen öncü hücrelerdir ve kemik iliğindeki mezenkimal hücrelerden köken alırlar. Oval şekilli nükleusları bulunan, soluk asidofil ve hafif bazofil sitoplazmalı yassı ve mekik şekilli hücrelerdir. Endoplazmik retikulumları iyi gelişmiştir. Osteoprogenitör hücreler periostun iç tabakasında, Havers kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Periosteumun iç tabakasında bulunan osteoprogenitör hücreler periosteal hücreler, kemik iliği, Havers ve Volkmann kanallarının iç tabakasını döşeyen osteoprogenitör hücrelere endosteal hücreler denir (24, 25, 29, 30). Kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi sırasında aktif olan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksi salgırlar (24).

### **2.2.2. Osteoblastlar**

Osteoblastlar, kemik matriksin organik kısmının (tip I kollagen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sentezinden sorumlu olan bölünme yeteneğine sahip hücrelerdir. Ayrıca osteoblastlar inorganik bileşenlerinin organik matriks içerisine çökmesini de sağrlar. Osteoblastların plazma membranında alkalın fosfataz aktivitesi yüksektir ve bu enzim osteoblastların aktif olduklarını gösterir (24, 30). Osteoblastlar kemik dokusunun dış yüzeylerinde sıralanarak epitel görünüşü verirler. Bu hücreler aktif olarak matriks sentezi yaparken kübik ve prizmatik bir şekle ve bazofilik bir sitoplazmaya sahiptir. Aktif sentez yapamadıkları süreçte bu hücreler yassılaşır ve sitoplazmalarının bazofilisi azalmaya başlar (24, 26, 30). Osteoblastlar arasında ve osteoblastlar ile osteositler arasında *gap junction* adı verilen bağlantılar vardır ve iletişim bu bağlantılar ile sağlanır (24, 30, 31).

Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir ve matriks bileşenleri, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden salgılanmaktadır. Böylece osteoblast tabakası ve daha önceden oluşmuş kemik arasında, osteoid olarak adlandırılan, yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks tabakası meydana gelir. Kemik apozisyonu olarak bilinen bu süreç yeni oluşan matrikse zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile tamamlanır (26).

### 2.2.3. Osteositler

Osteositler, osteoblastlardan meydana gelen ve bölünme yeteneği olmayan hücrelerdir. Osteoblastlar etraflarına kemik doku matriksi salgılayarak doku içine hapsolurlar ve osteositlere dönüşürler (24). Osteositler osteoblastlara göre daha küçüktür ve daha az bazofilik sitoplazmaya sahiptir (25). Matriks lamelleri arasındaki lakuna olarak adlandırılan küçük boşluklarda yerleşmişlerdir ve her lakuna içinde yalnızca bir osteosit bulunur (26). Kanalikül içinde uzanan sitoplazmik uzantıları sayesinde beslenerek yaşamlarını sürdürürler. Ayrıca sitoplazmik uzantılar osteositlerin periosteumu döşeyen hücreler ve osteoblastlar ile bağlantı kurmasını da sağlamaktadır (24, 30).

Osteositlerin kemik sentezi ve rezorpsiyonunda rol oynadıkları bilinmektedir. Ayrıca osteositler ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunun düzenlenmesinde de önemli rol alırlar. Travma, yaşlanma ve apoptoza bağlı olarak gerçekleşen osteosit ölümü kemiğin osteoklastik aktivite ile rezorpsiyonu ve yerine osteoblastik aktivite ile yeni kemik dokusunun yapımı ile sonuçlanır (24, 30).

### 2.2.4. Osteoklastlar

Mononükleer hemopoietik progenitör hücrelerden kaynaklanan çok nükleuslu hücrelerdir. Genişlemiş hücre gövdesinde 5 ila 50 (veya daha fazla) arasında nükleusu bulunmakta ve hacimleri  $200.000 \text{ m}^3$ 'e kadar ulaşabilmektedir. Osteoklastlar kemik yüzeylerinde oluşan rezorpsiyon kavimleri ya da Howship lakunaları adı verilen boşluklara yerleşirler ve kemik rezorpsiyonundan sorumludurlar (24-26, 30).

Kemik iliğinin stromal hücrelerinden salgılanan makrofaj-koloni stimulan faktör (M-CSF) ve interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-11 (IL-11) gibi sitokinler osteoklast farklılaşması için gereklidir. Buna ek olarak osteoklast hücre serisinin oluşumunda etkili olan sistemik faktörler arasında 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>, paratiroid hormon ve tümör nekrotizan faktör (TNF) sayılabilir (24, 30).

Osteoklastlar, kalsiyum tuz kristallerinin eriten ve kollajen sindirimini sağlayan kollajenazı ve diğer enzimleri salgılar ve bunun sonucunda oluşan protonları hücre altındaki ceplere pompalar. Osteoklastların aktivitesi hormonlar ve sitokinler tarafından kontrol edilir. Osteoklastlar bir tiroid hormonu olan kalsitonin için reseptörlere sahipken osteoblastlar paratiroid hormon için reseptörlere sahiptir. Paratiroid hormon tarafından

aktive edilen osteoblastlar ise osteoklast stimüle edici faktör olarak adlandırılan bir sitokin üretirler (26, 30).

Osteoklastlarda elektron mikroskopik olarak farklı özelliklere sahip üç bölge izlenir. Osteoklastların kemikle direkt temasta olan kısımlarında hücre duvarı çok sayıda katlanma yaparak yüzeyi artırır. Hücrenin bu kısmı kırışık kenar (ruffled border) olarak isimlendirilen birinci bölgedir. Bu kısımlar mineralize yüzeye tutunarak rezorpsiyon bölgesini belirler. İkinci bölge kırışık kenarın hemen altında organelden fakir, aktin filamentlerinden zengin şeffaf zon olarak bilinen kısımdır. Bu zon kemik rezorpsiyonu için ortam sağlar. Üçüncü bölge ise bazolateral yüzleridir. Sindirilmiş ürünün ekzositoz yoluyla atıldığı yerdir (24-26).

### **2.2.5. Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler**

Kemik yapımına katılmayan osteoblastlar, yassılaşıp uzayarak kemik yüzeylerini kaplayan kemik döşeme hücrelerine dönüşürler. Kemiklerin iç yüzeyini döşeyen hücrelere endosteal hücreler, dış yüzeyini döşeyenlere periosteal hücreler denir. Bu hücreler komşu hücrelerle ve osteositler ile *gap junction* tipi bağlantılar kurarlar. Bu nedenle osteositlere besin desteği sağladıkları ve kalsiyum ve fosfatın kemiğe giriş çıkışını düzenledikleri düşünülmektedir (24).

### **2.3. Periosteum ve Endosteum**

Kemiğin iç yüzeyleri endosteum, dış yüzeyleri ise periosteum denilen bağ dokusu tabakaları ile kaplıdır (24-26, 30).

Periosteum, dışta fibröz, içte osteojenik tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. Fibröz tabaka kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmaktadır. Sharpey lifleri denen periosteal kollajen lifler, matriks içine girerek periostu kemiğe sıkıca bağlar. Osteojenik tabaka ise bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip yassı hücrelerden (osteoprogenitör hücreler) oluşmaktadır. Ayrıca periosteum eklem kıkırdağı ile örtülü yüzeyde, tendon ve kasların yapışma yerlerinde bulunmaz (26).

Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örtmekte ve tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşmaktadır. Bu nedenle endosteum periosteuma göre oldukça incedir (26).

Periosteum ve endosteumun asıl görevleri, kemiğin gelişimi ya da onarımı için gerekli olan yeni osteoblastların sağlanması ve kemik dokusunun beslenmesidir (25, 26).

## **2.4. Kemik Tipleri**

Kemik dokusu histolojik olarak incelendiğinde iki farklı tip kemik dokusu ortaya çıkmaktadır: primer kemik (birincil, immatür ya da woven kemik) ve sekonder kemik (ikincil, matür ya da lameller kemik).

### **2.4.1. Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik)**

Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer onarım olaylarında ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının tersine, primer kemik, rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen liflere sahiptir. Ayrıca sekonder kemiğe göre daha az mineral ve daha fazla osteosit içerir. Primer kemik dokusu geçici bir dokudur ve yetişkinlerde kafadaki yassı kemik eklemleri, diş soketleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç bölge dışında yerini sekonder kemiğe bırakır (26, 30).

### **2.4.2. Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik)**

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunur. Sekonder kemik dokuda yer alan kollajen lifler birbirlerine paralel veya vasküler bir kanal etrafında konsantrik olarak yerleşmiş lameller şeklinde düzenlenmiştir. Kanallar çevresinde dairesel dizilen bu lamellere Havers lamelleri denir. Kan damarlarını, sınırları ve gevşek bağ dokusunu içeren bir santral kanal (Havers kanalı) etrafını saran, dairesel lamellere Havers sistemi veya osteon denir. Havers sistemi diyafizin uzun eksenine paraleldir. İki Havers kanalı, aralarında oblik olarak uzanan Volkmann kanalları aracılığıyla ilişkilidir. Volkmann kanallarının etrafında Havers kanallarında olduğu gibi lameller yoktur. Osteositlerin yerleştiği lakunalar ya lameller arasında ya da lameller üzerinde bulunur (24, 26, 30).

Kompakt kemiklerde, lameller Havers sistemi, dış sirküferensiyal lameller, iç sirküferensiyal lameller ve interstisyel lamellerden (ara lameller) oluşan tipik bir yapı gösterirler. Interstisyel lameller, Havers lamel sistemleri yani osteonlar arasındaki aralıkları dolduran, kısmen rezorbsiyona uğramış eski Havers lamellerinin artıklarıdır. Bu lamellerden başka kemiğin iç ve dış yüzünde endosteal ve periosteal kemik lamelleri

bulunur. Bu lamellere iç sirküferensiyal lameller ve dış sirküferensiyal lameller denir (24,26).

## **2.5. Kemik Oluşumu ve Gelişimi**

Kemik oluşumu intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir. Bu iki kemik şeklinin farkı endokondral kemikleşmede daha önceden oluşmuş kıkırdak bir modelin bulunmasıdır. Her iki kemikleşme çeşidinde de ortaya çıkan ilk kemik primer kemiktir ve daha sonra yerini sekonder ya da lameller kemiğe bırakır (24,26).

### **2.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu (Doğrudan Kemikleşme)**

İntramembranöz kemik oluşumu yaklaşık olarak gebeliğin 8. haftasında başlar. Mezenkim hücreleri belirli alanlarda bir araya gelerek gruplar yaparlar. Mezenkim dokusu içinde hücrelerin yoğunlaşarak oluşturduğu alanlar membrana benzetildiği için bu tür kemikleşmeye intramembranöz kemikleşme denir (24). Mezenkim hücreleri önce hızlı bölünmeye uğrarlar ve osteoprogenitör hücrelere dönüşürler. Daha sonra da osteoblastlara dönüşerek osteoid dokunun kollajen ve diğer matriks proteinlerini salgılamaya başlar. Başlangıçta mineralize olmayan osteoid doku sonra mineralize olup sertleşir. Birbirinden ayrı çok sayıda kemikleşme merkezlerindeki mezenkim hücreleri osteoblastları oluşturmaya devam eder. Gittikçe büyüyen kemikleşme merkezlerinin birbirleriyle birleşmesi sonucu spongiyöz kemik dokusu meydana gelir. Daha sonra spongiyöz kemiklerin bazıları kompakt kemiğe dönüşür. Trabeküllerin arasında kalan mezenkim dokusundan da kemik iliği gelişir (24, 26, 30). Kafatasının frontal ve pariyetal kemiklerinin tamamı, oksipital, temporal, sfenoid, mandibula ve maksilladaki kemiklerin bazı kısımları da intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Ayrıca bu tür kemikleşmenin, kısa kemiklerin büyümesine ve kalınlaşmasına da katkısı vardır (26).

### **2.5.2. Endokondral Kemik Oluşumu**

Endokondral kemikleşme daha önce var olan bir kıkırdak modelin yerine kemik dokusunun yapılması ile gerçekleşir. Bu tür kemikleşme en belirgin olarak uzun kemiklerde olmasına rağmen kısa kemiklerde de görülür. Başlangıçta her kemik, geçici bir hyalin kıkırdak modeldir. Kıkırdağı çevreleyen perikondrium, kemiği çevreleyen periosteuma dönüşür. Periosteumdan kaynaklanan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemiği sentezlemeye başlarlar. Böylece kıkırdak modelin

çevresinde bir kemik tabakası yapılır ve hemen sonra kırıkdağın iç ve orta bölümlerindeki kondrositler kalsifikasyona bağlı olarak ölürlür. Kalsifiye matriksin parçalanması sonucu oluşan boşluklar birleşerek kemik materyalin birikmesi için yapısal bir kafes oluştururlar. Osteoprogenitör hücreler ve kan damarları, dejenere olan kırıkdağ matriks içine girerler ve gelişmekte olan kemikte bir ossifikasyon (kemikleşme) merkezi oluştururlar. Kemikleşme merkezi ilk defa uzun kemiklerde diyafizde görülür ve buraya primer kemikleşme merkezi denir. Daha geç dönemde epifizde ortaya çıkan kemikleşme merkezine sekonder kemikleşme merkezi denir. Daha sonra kemik dokusu içinde osteoid doku üretilir ve mineralize edilir. Kemikleşme merkezlerinin yayılması sonucu, uzun kemiklerin serbest uçları hariç, tüm kırıkdağ modelin yerini kemik dokusu alır. Uzun kemiklerin serbest uçlarını örten kalıcı kırıkdağ tabakasına eklem kırıkdağı denir (24, 26, 31, 32).

## **2.6. Kemik Büyümesi ve Yeniden Şekillenme (Remodelling)**

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken (rezorpsiyon) aynı anda diğer bir bölümün yapımı (apozisyon) ile oluşur ve kemik yapım miktarı kemik yıkım miktarından daha fazladır. Böylece, kemik büyürken aynı zamanda şekli de korunmaktadır. Çocuklarda kemik döngüsünün hızı (bone turnover) yetişkinlere göre 20 kat daha fazladır.

Kemiğin remodelling süreci beş safhadan oluşmaktadır.

1. Aktivasyon: Bu safha osteoklastların önceden belirlenmiş olan miktardaki kemiği rezorbe etmek için remodelling oluşturulacak alana yönlendirilmesi olarak tanımlanır.

2. Rezorpsiyon: Aktive edilmiş olan osteoklastların kemik bölgesine tutunup, salgıladıkları proteolitik enzimler ile kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirdiği safhadır.

3. Geri dönüşüm: Bu safhada osteoklastların oluşturduğu rezorpsiyon kavitesinde, bazı mononükleer-makrofaj benzeri hücrelerin aktivasyonu ile bir sement hattı oluşturulur. Daha sonra rezorpsiyon kavitesine osteoblastlar yönlendirilir.

4. Formasyon: Bu safhanın etkin hücreleri osteoblastlardır ve kemik sentezini gerçekleştirirler. Formasyon safhasındaki osteoblast aktivitesi ortalama 2-3 ay kadar sürmektedir. Bu aşamada osteoid dokunun mineralizasyonu gerçekleşir. Mineralizasyon bittikten sonra osteoblastlar yassılaştır ve remodelling sona erer.

5. Dinlenme: Bu safhada remodelling alanında oluşan kemik doku yeni bir remodelling siklusuna kadar sükûnet içerisinde kalmaya devam eder (30).

## **2.7. Kemik Dokusunun İyileşmesi**

Kemik dokusu, hücrelerden oluşmuş dinamik, biyolojik yönden aktif olan bir dokudur. Bu özelliği dikkate alındığında, kırık kemik hattında ve defekt sahasında iyileşme çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik süreçler tarafından etkilenir. Kemik yapıdaki depozisyon, rezorpsiyon ve remodelling süreçleri kemik dokusunun iyileşme sürecini kolaylaştırır. Kemik iyileşmesi iltihap, onarım ve yeniden şekillenme olarak üç aşamada gerçekleşir (33).

### **2.7.1. İltihap Evresi**

Kemik kırıklarında ilk verilen yanıt enflamasyon yani iltihaptır. Kemik dokusuna gelen travma sonucu kırık uçlara komşu olan periost ve yumuşak dokular yırtılır ve damarlar yaralanır. Bu damar ve dokulardaki hasar sonucu meydana gelen kanama ile hematoma oluşur. Bu hematoma sayesinde proteinler ve hasar görmüş hücreler fibrini meydana getirir ve daha sonra meydana gelen bu pıhtı hasar görmüş damarları tıkar ve kanamayı durdurur. Pıhtı, önce akut inflamasyon hücreleri ile, bir kaç gün içinde de kronik enfeksiyon hücreleri ve makrofajlar ile dolar. Pıhtının organizasyonundan hemen sonra, pıhtı 3-4 gün içinde granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Kemik iyileşmesi için gerekli iki önemli faktör hematomdan sağlanır. Birincisi hematoma kemik ile yumuşak doku arasını doldurarak mekanik stabilite sağlar. İkincisi, osteoblastlara ve kondroblastlara farklılaşan, olgunlaşmamış osteoblast ve kondrosit hücrelerini kırık bölgesine getirir (26, 33) .

### **2.7.2. Onarım Evresi**

Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7–12 gün sürer. Onarım olayında rol oynayan hücreler mezenkimal kökenli, çok yönlü gelişebilme özelliği olan (pluripotent) hücrelerdir ve bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcıl damarlarla hematoma içine giren fibroblastlardır. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluştururlar. Kırık bölgesinin orta kısmındaki hücreler dolaşımın az olması nedeniyle kondroblast ve kondrosite dönüşerek kırık dokuyu oluşturur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgırlar. Fibroz dokudan, kırıkdaktan ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşan bu yapıya kallus adı verilir. Başlangıçta

oluşan yumuşak kallusun içindeki damarlanmanın artması sonucu ostoblastların aktivitesi artar ve bu hücreler tropokollajen salgılayarak kollajen dizilimini düzenlerler. Daha sonra kalsiyum iyonlarının çökmesi ile sert kallus oluşur. Kırık oluşumundan sonra kallus oluşması ve mineralizasyon süresi 4-16 hafta kadardır (26, 33-35).

### **2.7.3. Remodelling Evresi**

Kemiğin şekillenmesi kemik iyileşmesinin en uzun evresidir. Bu evre mikroskobik olarak düzensiz sert kallusun, normal güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Onarım evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir (24, 33-35).

### **2.8. Alveolar Kemik**

Çene kemiklerinin, diş soketlerini çevreleyen ve dişleri destekleyen bölümüne alveolar kemik denir. Alveolar kemik, kretin bukkal ve lingual duvarlarını, interdental ve interradiküler septaları oluşturan kortikal kemikten ve bu tabakalar arasında yer alan trabeküler kemikten oluşur. Ayrıca alveolar kemik, çok sayıda damar ve sinir iletiminin sağlandığı kanal sistemiyle ve periodontal ligamentle etkileşim halindedir ve fetal gelişim esnasında intramembranöz ossifikasyon yolu ile gelişir (36).

Alveol soket duvarını oluşturan ve periodontal ligamentle temasta olan kompakt kemikte çok sayıda Sharpey lifleri bulunur ve bu kemiğe demet kemiği denir. İnterdental ve interradiküler bölgelerde ağırlıklı olarak spongiyöz kemik mevcuttur. Alveolar kemiğin konturu; diş köklerin şeklini takip ederken, yüksekliği ve kalınlığı, diş dizimi, köklerin açılanması ve oklüzal kuvvetler gibi faktörlerden etkilenir. Bazı bölgelerde; kemik çok ince kalıp kaybolabilir, kökün bir kısmı açıkta kalabilir. Alveolar kemiğin yüksekliğini, konturunu ve densitesini etkileyen en önemli faktörler, dişlerin varlığı ve aktif fonksiyon görmeleridir. Diş çekimi; alveolar kemiğin vertikal ve horizontal boyutlarını dramatik bir şekilde etkiler ve %50'ye kadar azalmasına neden olabilir. Bu durumda, ciddi fonksiyonel ve estetik problemlere yol açar (36, 37).

### **2.9. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi**

Diş çekim yarasının iyileşmesi fraktür iyileşmesine benzemekte olup, birbirini takip eden 4 aşamadan oluşmaktadır.

- Soketin pıhtı ile dolması
- Kan pıhtısının sağlıklı granülasyon dokusu ile yer değiştirmesi (7. gün)



- Granulasyon dokusunun aşamalı olarak bağ dokusu ve genç preosseöz doku ile yer değiştirmesi (20. gün)

- Alveolar socketin kemik trabekülleri ile dolması (38. gün) (5, 38).

Diş çekiminden hemen sonra kanama meydana gelir ve çekim soketi hasarlı hücreleri ve proteinleri içeren kan ile dolar. Bu kanamayı takiben bu hücreler fibrin ağı oluşumunu sağlayan bir seri olayları başlatır, bunun yanında trombositler ilk 24 saatte tüm soketi kaplayan bir kan pıhtısı oluştururlar (5, 39, 40). Çekimden sonraki 48-72 saat içinde granulasyon dokusu özellikle soket tabanından pıhtı içine infiltre olmaya başladığı için pıhtı bozulmaya başlar (39, 40). Dört günde epitel, soket çevresi boyunca proliferer olur ve immatür bağ doku görülür. Yedi gün sonra granulasyon dokusu tamamen infiltre olur ve pıhtı ile yer değiştirir (39). Birinci haftanın sonunda vasküler ağ oluşur ve iki hafta sonunda çekim socketinin marjinal kısmı genç bağ dokusu ile kaplanır ve yine bu aşamada osteoid doku soket tabanında ortaya çıkar (39, 40). Çekimden 3-4 hafta sonra osteoid doku mineralize olmaya başlar. Yaklaşık bir ayda çekim kavitesini dolduran örgü kemik önce rezorbe olur, daha sonra normal şeklini alana kadar trabeküler kemik ile dolar (5, 39).

Diş çekiminden sonra iyileşme süreci, çeşitli laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneylerin yanı sıra insan biyopsileri ve otopsi materyallerinden alınan örnekler üzerinde de histolojik ve radyolojik olarak araştırılmıştır. Onarım histogenezisinin temel özellikleri iyi bilinmesine rağmen, kullanılan deney hayvanlarının yaşı, cinsiyeti, türü ve diyeti standardize edilemediği için, yeni kemik oluşum zamanı konusundaki gözlemler de değişebilmektedir (41, 42).

Hayvanlarda yapılan histolojik çalışmalar çekim alanın iyileşmesinin insandakine benzer ve temel olarak aynı sırayı izlediğini fakat daha hızlı olduğunu göstermiştir (43, 44)

Ratlarda diş çekiminden sonra iyileşme sürecinin etkileyen faktörler ve onarım arasındaki ilişki ile ilgili araştırmalar 1923'ün başlarında başlamıştır (43). Diş çekiminden sonra socketin iyileşme sürecini değerlendiren ilk histolojik ve radyolojik çalışma Euler tarafından yapılmıştır (45). Bu çalışmada sağlıklı diş ve dişetine sahip aynı yaş ve büyüklükteki köpekler kullanılmıştır.

Huebsch ve ark. (41) erkek sıçanlarda diş çekiminden sonra iyileşme sürecini araştırmışlardır. Bu çalışmada çekimden 7 saat sonra socketin kan pıhtısı ile dolduğu, 14 saat sonra periodontal membranın hala seçilebildiği belirtilmiştir. Diş çekiminden sonra 5. günde socketin tamamen bağ dokusu ile dolduğu ve kemik oluşumuna dair ilk

belirtilerin ortaya çıktığı ve 10. günde epitelin yarayı kapattığı tespit edilmiştir. 13. günde socketin nerdeyse genç kemik dokusu ile dolduğu ve epitelin ağız mukozasına benzediği 25. günde ise socketin tamamen kemik ile dolduğu ve epitelin de farklılaşarak keratinize skuamöz epitel halini aldığı görülmüştür.

Araujo ve ark. (46) köpeklerde diş çekimden sonra socket iyileşmesini 8 haftalık bir süreçte araştırmıştır. Çekimden sonraki birinci haftada socketin iç kısmının pıhtı, granülasyon dokusu, geçici matriks (kollajen lifler, yeni oluşan damarlar ve fibroblastlardan oluşur) ve az miktarda yeni oluşan kemik ile dolu olduğu gözlenmiştir. İkinci haftada çekim socketinin apikal ve lateral kısımlarında büyük miktarda yeni oluşmuş kemik bulunmuştur. Kemik yüzeyinin yoğun osteoblast ve kemik iliği boşlukları içerdiği görülmüştür. Dördüncü haftada krestal bölgede demet kemiği tamamen kaybolmuştur ve krestal lameller kemik örgü kemiğin yerini almıştır. Ayrıca socketin merkezinde geçici matriksin yer aldığı ve mineralize doku ve kemik iliğinin diğer alanları doldurduğu bulunmuştur. Sekizinci haftada lingual duvar bukkal duvara göre daha kalın olarak bulunmuş ve bu iki duvar arasında mineralize dokudan oluşan geniş bir köprü izlenmiştir.

Cardaropoli ve ark. (47) tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada, köpeklerin diş çekim yaralarının iyileşme aşamaları 180 günlük süreçte incelenmiştir. Bu çalışmada da diş çekiminden sonra 1. günde socket içinde pıhtı oluşumu ve pıhtının da inflamatuvar hücreler (özellikle nötrofilik granülositler) ile kaplandığı gözlenmiştir. 3. günde vaskülarize granülasyon dokusu pıhtı ile yer değiştirmeye başlamıştır ve 14. günde socket dokusu boyunca yeni kemik oluşumu izlenmiştir. 30. günde socketin neredeyse tamamı yeni oluşmuş kemik ile dolmuştur. 90. günde çoğu bölgedeki örgü kemiğin yerini lameller kemiğe bıraktığı gözlenmiştir. 180. güne kadar yeni oluşmuş kemiğin remodelasyonunun devam ettiği, mineralizasyonda bir miktar azalmanın görüldüğü ve trabeküler kemiğin yağ dokusuna yer verdiği belirtilmiştir.

Guglielmotti ve Cabrini (48), ratların tüm mandibular molar dişlerinin çekiminden sonra maksimum kemik formasyonunun 14. günde olduğunu ve 60. günde socket duvarlarının ve çekim socketinin komşu alveolar kemikten ayırt edilmesinin mümkün olmadığını belirtmiştir.

Pietrokovski ve ark. (49) 1967 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında socket iyileşmesini 8 haftalık dönemde araştırmıştır. Birinci haftada socketin santral ve fundus bölgelerinde osteoblastlar ve genç kemik dokusu gözlenmiştir. İkinci haftada socketin trabeküler yapıda genç kemik dokusu ile dolduğu ve dördüncü ve sekizinci

haftada yeni kemiğin trabeküler yapısını muhafaza ettiği ve lamelli kemikten açıkça ayırt edildiği belirtilmiştir.

Diş çekiminden sonra iyileşme süreci pek çok hayvan modeli üzerinde çalışılmış ve nispeten anlaşılmıştır (50). Ancak insanlarda diş çekimi sonrası soket iyileşmesinin histolojisini değerlendiren sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Amler ve ark. (38)'nin çalışması buna bir örnektir. Ayrıca Boyne (51), alveolar çekim soketlerinden elde edilen kemik biyopsilerini ve daha yakın tarihte Devlin ve Sloan (52) rezektif kanser cerrahisi sırasında alınan çekim soket biyopsilerini incelemiştir.

1960 yılında Amler ve ark. (38) toplam 75 insan çekim soketinin iyileşmesini, 50 günlük dönemde histolojik olarak incelemiştir. 1. günde diş çekimi sonrası soketin pıhtı ile dolduğu, yedinci günde kan pıhtısının yerini tamamen yeni granülasyon dokusuna bıraktığı ve soket tabanında osteoid dokunun olduğu gözlenmiştir. 20. günde granülasyon dokusunun yerini bağ dokusu almış, minerilizasyon ilk olarak bu aşamada gözlenmiş ve çekim soketlerinin periferinde ve tabanında kemik oluşmaya başlamıştır. 38. günde (beşinci haftada) soketin 2/3'ü yeni trabeküller kemik ile dolmuştur. Ayrıca epitelizasyonun 4. günde başlayıp 24 gün sonra tamamlandığı belirtilmiştir. Amler kemik rejenerasyonunun tüm safhalarında gelişimin soket tabanı ve periferden merkeze ve soket tepesine doğru olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada kullanılan dişlerin durumları belirtilmemiş ve doku biyopsilerinden tek köklü dişlerde çalışıldığı belirlenmiştir.

Boyne (51) 1966'da, 12 hastayı dâhil ettiği bir çalışmada, 23 günlük bir zaman diliminde maksiller 1. premolar soketinin iyileşmesini histolojik olarak incelemiştir. 7. ve 8. günlerde sokette kemik oluşumunun bulunmadığı ancak 9. ve 10. günlerde soketin lateral duvarlarında yeni kemik oluşumunun gözlendiği belirtilmiştir. 13. ve 14. günlerde alveolar soketin yaklaşık 1/3'ünün kemik ile dolduğu ve 19. günde soketin büyük bir kısmının kemik matriks ile dolduğu tespit edilmiştir.

Devlin ve Sloan (52) çekimden iki hafta sonra aldığı kemik biyopsilerini incelemiştir. Histolojik örneklerdeki bulgularda soket periferinde trabeküler kemik oluşumu ve kemik iliği boşlukları ile soket kenarlarında da osteosit ve osteoblastların bulunduğu tespit edilmiştir.

## **2.10. Siklosporin A**

CsA, 1972 yılında Borel tarafından keşfedilen, hidrofobik siklik bir polipeptittir (53). CsA, 1980'lerin başında U.S. Food and Drug Administration (FDA) tarafından

onaylanmıştır (12). Borel, *Tolypocladium Inflatum Gams* isimli bir toprak fungusundan elde ettiği ekstratın antibakteriyel aktivitesinin düşük olduğunu, ancak sıra dışı bir şekilde immünsüpresif özellik taşıdığını ortaya koymuştur. Ayrıca bu bileşiğin diğer immünsüpresanlardan farklı olarak organizmanın kendi hücrelerini değil, seçici olarak sadece lenfositleri hedef aldığı fark etmiştir. Bu seçici immünsüpresif aktivite CsA'nın organ naklinde doku reddinin önlenmesi ve bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanımını gündeme getirmiştir (53-55). Tıpta başlıca;

- Böbrek, karaciğer, kemik iliği, kalp ve diğer organlarda yapılan allogreftlerin red reaksiyonlarının önlenmesi için

- Kemik iliği transplantasyonundan sonra ortaya çıkan graft-versus-host reaksiyonunun önlenmesi ve gelişmişse tedavisi için

- Romatoid artrit, uveit, bilyer siroz, ağır psöriazis, sistemik lupus eritematozus, Chron hastalığı, Behçet hastalığı, nefrotik sendrom, myastenia gravis, multipl skleroz, aplastik anemi, dermatomyozit, ülseratif kolit, pemfigus v.b. gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde olmak üzere üç endikasyon grubunda kullanılır (13, 19, 22, 54, 56, 57) .

Halen kullanılan immunosüpresif ilaçlar arasında etkinliği en yüksek olanıdır (12, 55).

### **2.10.1. Siklosporin A'nın Farmakokinetik ve Farmokodinamik Özellikleri**

CsA, 11 aminoasitten oluşan nötral bir siklik peptittir. Moleküler ağırlığı 1202.6 daltondur. CsA oral, intravenöz ve intramüsküler yolla uygulanabilir. Ayrıca oral biyoyararlanımını artırmak amacıyla geliştirilen mikroemülsiyon formülasyonu da bulunmaktadır. CsA'nın lipofilik özelliği standart intravenöz ürünlerdeki çözünürlüğünü yetersiz kılmaktadır. İntravenöz kullanım gereken durumlarda çözünürlük artırıcı ekşiyanlar eklenen ürünlerin tercih edilmesi önerilmektedir (58).

CsA oral yoldan alındıktan sonra mide-bağırsak kanalından kısmen absorbe edilir ve absorpsiyon bireyler arasında belirgin varyasyon gösterir. Emilim en çok ince bağırsaktan olur. Oral kullanımdan sonra plazma konsantrasyonu 3-4 saatte tepe noktasına ulaşan CsA'nın yarılanma ömrü 17-40 saat arasında değişir (54). Kana geçen CsA eritrositlere ve plazma proteinlerine bağlanır. CsA, plazma proteinleri içinde, albümine düşük oranda bağlanırken özellikle yüksek ve düşük densiteli lipoproteinlere yüksek oranlarda bağlanır.

CsA karaciğerde bulunan sitokrom P450 (CYP450) enzim sistemi tarafından metabolize edilmektedir. P450 enzimini inhibe eden ketakonazol, eritromisin, oral kontraseptifler, androjenler, metilprednizolon ve kalsiyum kanal antagonistleri gibi ilaçlar CsA'nın kan düzeyini ve toksisitesini artırır. P450 enzimini indükleyen fenitoin, fenobarbital, karbamezapin ve rifamisin gibi ilaçlar CsA'nın kan düzeyini ve etkinliğini azaltırlar (54, 55, 59, 60).

İnsanlarda CsA'nın primer metabolitleri M1, M17 ve M21'dir. Metabolitlerin büyük kısmı safra salgılarıyla birlikte dışkıyla atılırken, sadece %10'luk kısmı böbrek yoluyla atılır. Çocuklarda CsA metabolizması ve eliminasyonu daha hızlı olduğu için yetişkinlere göre daha yüksek dozlar tercih edilmeli ve doz ayarlaması kiloya göre değil, vücut yüzey alanına göre yapılmalıdır (54, 58). CsA, organ nakillerinden sonra immünsüpresyonu korumak için genellikle 10-20 mg/kg dozda oral yoldan verilir, serum seviyesi 100-400 ng/ml'dir.

CsA, immünsüpresif etkisini T-lenfositler üzerinden gösterir ve CD4 tipi T-lenfositlerini, T-lenfosit reseptörünün antijenle uyarılması ile başlatılan sinyalleme basamaklarından birini oluşturan ve  $Ca^{++}$  a bağımlı bir enzim olan kalsinörünü selektif bir şekilde baskılar. Bunun için CsA'nın önce sitoplazmik bir reseptör olan siklofiline bağlanması gerekir. Kalsinörün inhibisyonu da sitoplazmada bulunan aktive T hücre nükleer faktörünün (NF-AT) nükleusa geçişini engeller. Böylece interlökin-2 (IL-2), interlökin-3 (IL-3), interlökin-4 (IL-4), tümör nekrozu faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve gama interferon gibi pek çok sitokin ve interlökin üretimi engellenir. IL-2, CD4 ve CD8 tipi T-lenfositlerinin büyümesini ve farklılaşmasını sağlar. Yani kalsinörün inhibisyonu IL-2 üretimini engelleyerek T-lenfositlerin etkinliklerinin artmasını ve proliferasyonunu önler (55, 58).

CsA tedavisiyle ilişkili nefrotoksisite, hepatotoksisite, hipertansiyon, hipertrikoz, gingival hiperplazi, nörotoksisite, gastrointestinal yan etkiler, hiperkalemi, hiperürisemi, hipomagnezemi gibi pek çok yan etkisi mevcuttur. Bu yan etkiler arasında en ciddi olanları nefrotoksisite, hipertansiyon, immünsüpresyona bağlı malignansi ve enfeksiyondur (12, 15, 19, 20, 22).

CsA'nın en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Akut CsA nefrotoksisitesi geri dönüşümlü olarak böbrek kan akımında azalma ve glomerüler filtrasyon hızında düşüş ile kronik nefrotoksisite ise geri dönüşümsüz tubulointerstisiyel fibrozis ile karakterizedir. CsA'nın vazokonstriksiyon yaparak nefrotoksisiteye neden olabileceği ileri sürülmüşse de bu yan etkinin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Vazokonstrüksiyona bağlı olarak gelişen iskemi ve nekroz sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin de CsA'nın nefrotoksik etkisinde rol oynayabileceği düşünölmüştür (61).

CsA'ya bağlı hepatotoksisite, insanlarda ve deney hayvanlarında kolestaz, hiperbilirubinemi, hipoproteinemi, alkalın fosfataz seviyesinin artması, kanda transaminaz ve safra tuzlarının yükselmesi, protein sentezinin inhibisyonu ve bozulmuş lipid salgılanması ile karakterizedir (22). CsA'nın neden olduğu hepatik hasarın mekanizması hala tam olarak belli değildir ve hala bir tartışma konusudur. Ancak pek çok çalışmada toksisitenin nedeninin serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stresin olduğu ileri sürölmektedir (62, 63).

CsA'nın nörolojik yan etkileri tremor, depresyon, konfüzyon, baş ağrısı, görme bozuklukları, depresyon ve paresteziler şeklinde ortaya çıkabilir. Gastrointestinal yan etkileri arasında ise abdominal ağrı, bulantı, kusma ve diare yer alır (55, 58).

CsA'nın sık karşılaşılan yan etkilerinden biri olan gingival hiperplazinin patofizyolojik mekanizması henüz tam olarak ortaya konulamamıştır. Ancak CsA'nın IL-6 ve transforming büyüme faktörü-beta1 (TGF-beta1) seviyelerini artırarak, fibroblast proliferasyonu, kollajen ve ekstraselüler matrikste artışa neden olduğu düşünölmektedir (55, 58, 64, 65). Benzer şekilde CsA'nın hipertrikoz yan etkisinin mekanizması tam anlaşılammış ve periferel androjen aktivitesini artırarak kıllanmaya yol açtığı öne sürölmüştür (55, 58).

CsA'nın tüm bu yan etkilerinden başka kemik doku üzerinde de çeşitli yan etkileri mevcuttur. Yapılan deneysel çalışmalarda CsA'nın oral ve dental iskeleti içeren kemik dokusu üzerinde osteopeniye, osteoporoz, kemik metabolizmasının bozulmasına, trabeküler kemik kaybına neden olduğu gösterilmiştir (13-17). Nakil sonrası osteoporoz oluşumu iyi bilinen bir olaydır (66, 67) ve cerrahiden sonraki ilk üç ayda %24 gibi yüksek bir oranda rapor edilmiştir. Ayrıca bu durum kemik fraktürlerinin artışına da neden olmaktadır (68).

CsA, IL-2 ve CD4+ lenfositler tarafından üretilen diğer sitokinlerin sentezini bloke etmektedir (54). Bu sitokinlerin de kemik dokusunun mineral mekanizmasında rol oynadıkları bildirilmiştir (13, 16). Bunun için CsA'nın kemik dokusu üzerine de etkisi olabileceği düşünölmüştür (13).

In vitro ve in vivo çalışmalarda, CsA kullanımının kemik hücreleri üzerine farklı etkilerinin olabileceği bildirilmiştir (13). In vitro çalışmalarda, kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği (69), in vivo çalışmalarda ise, osteoklastları stimule ettiği, osteoblastları

baskıladığı, mineral apozisyonunu ve kemik oluşumunu yavaşlattığı gösterilmiştir. Bu zit etkilerin, in vitro çalışmalarda kemik şekillenme ve remodellinginde rol alan interlökin-1 (IL-1), TNF gibi komponentlerin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (13, 16, 69). Tüm bu çalışmalara rağmen CsA'nın kemik üzerindeki etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ve bu konu ile ilgili pek çok görüş vardır. Bunlardan birincisi immünsüpresif ajanların kemik hücreleri üzerine direkt toksik etkisi olabileceği, ikincisi bu ajanların, kemik hücrelerinin sistematik hormonlara cevap verme ya da lokal otkrin faktörleri salgılama yeteneğine etki edebileceğidir. Son olarak CsA, sitokin/lenfokin üretiminden sorumlu immün sistemi etkileyerek indirekt yolla kemiği etkileyebilir (13).

CsA'nın yara iyileşmesi üzerine etkileri çeşitli doku ve organlarda değerlendirilmiştir (18). Örneğin CsA uygulamasının deri ve kas insizyonlarındaki primer iyileşme üzerine inhibitör etkisinin olmadığı bildirilmiştir (18). Silva ve ark. (11) ise CsA'nın çekim sonrası yara iyileşmesini olumsuz etkilediğini ve granülasyon dokusu oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir.

### **2.11. Antioksidanlar**

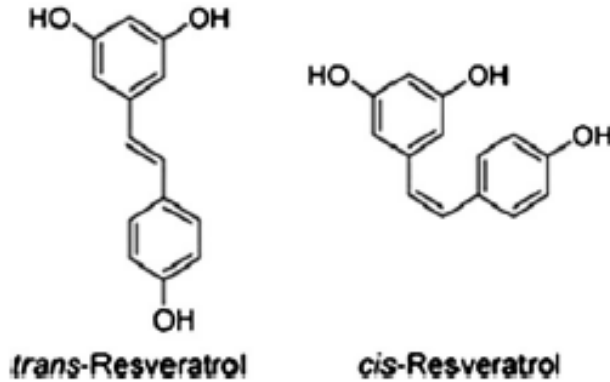
En dış yörüngede çiftleşmemiş elektrona sahip moleküller olarak tanımlanan serbest radikaller hem normal metabolik reaksiyonlar sonucu hemde sigara, alkol kullanımı, hava kirliliği, bazı ilaçlar ve radyasyona maruz kalma gibi nedenlerle oluşabilirler. Serbest radikaller genellikle kararsız ve çok reaktiftirler ve reaktif oksijen türleri olarak da adlandırılmaktadır (70). Reaktif oksijen türleri kanser, kalp hastalıkları, diyabet, serebrovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır. Biyolojik hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkilerine oksidatif stres denir. Dokuları bu zararlı etkilerden koruyabilmek amacıyla serbest radikallerin etkisiz duruma getirilmesi gerekmektedir. Bunu sağlayan bileşiklere de antioksidanlar denir (71).

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak incelenirler: Glutasyon peroksidaz, superoksid dismutaz, katalaz, enzimatik antioksidanlara örnek gösterilmektedir. Non-enzimatik olanlar ise; Mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenoidler ( $\beta$ -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), organosülfür bileşikleri (allium, allil sülfid, indoller), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (glutasyon peroksidaz, ürik asit), antioksidan ko-faktörler (ko-enzim Q) ve polifenoller şeklinde incelenmektedir (72).

## 2.12. Resveratrol

RSVL (3,4,5-trihidroksistilben) polifenol yapısında doğal bir antioksidan maddedir. *Trans*- ve *cis*- olmak üzere iki izoformu mevcuttur ve *trans*-resveratrolün biyolojik olarak daha aktif olduğu bilinmektedir (73). RSVL, ilk olarak Takaoka tarafından 1939 yılında *Veratrum grandiflorum* bitkisinin köklerinden, daha sonra da 1963 yılında *Polygonum cuspidatum* 'un köklerinden izole edilmiştir (74). RSVL, 1992 yılında Siemann ve Creasy adlı araştırmacıların RSVL'ün kırmızı şarabın içinde bulunduğu ve Fransız paradoksundan (French Paradox) sorumlu olduğunu iddia etmeleriyle dikkati çekmiştir (75). Fransız popülasyonunda yağlı diyet ve sigara tüketiminin yüksek olmasına rağmen kardiyak hastalıkların az görülmesi şarap tüketiminin fazla olmasına bağlanmış ve bu tablo "Fransız Paradoksu" olarak isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda da bu paradoks etkeninin RSVL olduğu ileri sürülmüştür (76, 77).

RSVL, stres, yaralanma, aşırı güneş ışığı, ultraviyole radyasyon, enfeksiyon ve mantar saldırılarına karşı çeşitli bitkilerin tarafından üretilen bir fitoaleksindir ve üzüm kabuğu, dut meyvesi, yer fıstığı ve *Polygonum cuspidatum* gibi çeşitli bitkilerden elde edilmektedir. Fitoaleksin denilen maddeler patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı üretilen kimyasal maddelerdir (78).



Şekil 2.1. Resveratrolün *trans* ve *cis* izomerlerinin yapısı

Daha önce yapılan çalışmalar RSVL'nin, çok sayıda biyolojik aktiviteye ve tıbbi kullanıma sahip olduğunu göstermiştir. RSVL'nin:

- Anti-oksidan etkisi,
- Anti-inflamatuar etkisi,
- Anti-kanserojen etkisi,



Anti-viral etkisi,  
Anti-artritik etkisi,  
Anti-diyabetik etkisi,  
Östrojenik aktivitesi  
Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu  
Lipid metabolizmasını düzenlenmesi  
Trombosit agregasyonu inhibisyonu  
Damar gevşetici etkisi  
Bakır şelasyonunu sağlaması  
Antiaging etkisi gibi çeşitli biyolojik etkileri bildirilmiştir (79, 80).

### **2.12.1. Resveratrolün Antioksidan Aktivitesi**

RSVL, antioksidan etkisini superoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi reaktif oksijen türlerini metabolize eden enzimlerin aktivitesini artırarak ya da reaktif oksijen türlerinin üretiminde önemli rol oynayan enzimlerin aktivitesini azaltarak göstermektedir. RSVL, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz), hipoksantin/ksantin oksidaz ve myeloperoksidazı inhibe eder. Ayrıca, RSVL'nin fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve buna bağlı hücre ölümünü önlediği bilinmektedir (81, 82). RSVL'nin antioksidan aktivitesi, Tablo 2.1 'de özetlenmiştir.

Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu ateroskleroz oluşumunda erken ve kritik bir olaydır. Reaktif oksijen türlerinin seviyelerindeki azalma, aterosklerozun ilerlemesini yavaşlatır. RSVL bu reaktif oksijen türlerinin üretimi ve metabolizması üzerine etkilere sahiptir. RSVL, intrasellüler ve ekstrasellüler reaktif oksijen türlerinin üretimi inhibe eder, oksitlenmiş LDL tarafından üretilen hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) azaltır, endojen antioksidan üretimini artırır ve peroksil, hidroksil, süperoksit anyon radikallerini ortadan kaldırır. Ayrıca yapılan çalışmalarda LDL oksidasyonunun önlenmesinde en çok bilinen antioksidanlar olan E vitamini ve C vitamininden daha etkili olduğu görülmüştür (82, 83).

Tablo 2.1. Resveratrolün antioksidan aktivitesi (81, 82).

Aktiviteyi artırıcı etki	Aktiviteyi azaltıcı etki
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Süperoksit dismutaz</li><li>➤ Katalaz</li><li>➤ Glutasyon peroksidaz</li><li>➤ Glutasyon redüktaz</li><li>➤ Glutasyon-S-transferaz</li><li>➤ Hem oksijenaz-1</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ NADPH oksidaz</li><li>➤ Hipoksantin/ksantin oksidaz</li><li>➤ Myleperoksidaz</li></ul>

### 2.12.3. Resveratrolün Anti-İnflamatuar Etkisi

RSVL'nin anti-aging olarak dikkat çekmesindeki nedenlerden biri inflamasyonu azaltma yeteneğidir. RSVL'nin sıçan peritoneal polimorfonükleer lökositlerinde 5-lipoksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerini ve insan mononükleer hücrelerinde de interlökin-17 (IL-17) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (84, 85). Ayrıca RSVL tedavisinin, interferon- $\gamma$  ve interlökin-10 (IL-10) gibi sitokinleri inhibe ettiği gösterilmiştir (86, 87). RSVL'nin inflamasyonu sınırlayıcı etkisinde nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) önemli bir mediatördür. RSVL insan koroner arter endotel hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe etmektedir. Yapılan çalışmalarda nitrik oksit (NO) blokeri nitro-L-arjinin metil esterinin (L-NAME), RSVL'nin yararlı etkilerini tamamen ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar RSVL'nin anti-enflamatuvar etkisini NO'ya bağlı mekanizma aracılığı ile gerçekleştirdiğini desteklemektedir (88).

### 2.12.4. Resveratrolün Anti-kanserojenik Etkisi

RSVL'ün çeşitli kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe ettiği ve kanser hücrelerine olan bu etkisini de apoptozis mekanizması üzerinden gerçekleştirdiği saptanmıştır. Bunun için apoptozise ait kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu, proapoptotik Bax ekspresyonu, antiapoptotik bcl-2 ekspresyonunda azalma, FasL(Fas ligand)/CD95 sinyal kaskadını kullanma, mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-c salınımının aktivasyonu ve mitokondride translokasyonu arttırmak gibi çeşitli yolları kullandığı bildirilmiştir. Ayrıca hücre siklusunun S ve G1 fazını durdurduğu, onkoprotein Bcl-2 artışını engellediği ve p53 tümör baskılayıcı gen proteinlerini artırdığı vurgulanmıştır (89).

### **2.12.5. Resveratrolün Östrojenik Aktivitesi**

Trans-resveratrol, yapısal olarak sentetik bir östrojen olan dietilstilbestrol fizyolojik östrojen olan 17 $\beta$  -estradiol ile benzerlik gösteren bir fitoöstrojendir. Bu yapısal benzerlik sebebiyle östrojen reseptörlerine bağlanıp östrojenik aktivite gösterir (90, 91). Osteoblastik hücrelerde yapılan bir çalışmada, RSVL'nin prolil hidroksilaz ve alkalen fosfataz aktivitesini artırdığı gözlenmiştir ve bu etki tamamen östrojenik bir etki olup kemik kaybını engellemeye yöneliktir (92) .

### **2.12.6. Resveratrolün Kemik Üzerine In Vivo ve In Vitro Etkileri**

RSVL'nin kemik hücrelerinin proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir. RSVL'nin kemik hücreleri üzerine etkisini araştıran ilk çalışmada osteoblastik MC3T3-E1 hücreleri kullanılmıştır. Bu çalışmada RSVL'nin direkt olarak osteoblastların proliferasyonu ve diferansiyasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir (93). RSVL doz bağımlı olarak MC3T3-E1 hücrelerinde DNA sentezini ve alkalın fosfataz ve prolil hidroksilaz aktivitesini artırmıştır. Durbin ve ark. (94) tarafından *Brown Norway* cinsi erkek ratlarda yapılan bir çalışmada RSVL desteğinin kemik üzerine koruyucu bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Ancak Liu ve ark. (95) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Polygonum cuspidatum* bitkisinden elde edilen RSVL'nin ovariectomi yapılmış dişi rat epifizlerindeki kemik mineral yoğunluğunu artırdığı gösterilmiştir. Bu model daha çok hormona bağlı osteoporoz ile ilişkilidir. Ayrıca bu model östrojen yetersizliğine bağlı kemik kayıplarında RSVL'nin koruyucu etkisinin olduğuna dair somut bir kanıt sağlamaktadır.

### **2.12.7. Resveratrolün Toksisitesi**

RSVL'nin uygulanma dozunun 1 gr'dan düşük olduğu ya da uygulanma süresinin kısa olduğu çalışmalarda herhangi bir yan etkiyle karşılaşmamıştır (96). RSVL'nin bir ay boyunca ancak dozun>0.5 gr uygulandığı durumda ilk ve nadir yan etkiler görülmüştür (97). Patel ve ark. (98) tarafından yapılan çalışmada RSVL dozunun 0.5 ve 1 gr olarak uygulanmasına rağmen sadece 8 gün uygulandığı için herhangi bir yan etki ortaya çıkmamıştır.

En yüksek dozlarda rapor edilen yan etkiler ise abdominal bozukluklardır. En az 0.5 gr dozunda RSVL alan 7 ayrı çalışmadaki toplam 136 hastanın 25'inde diare bildirilmiştir. Abdominal ağrı, mide bulantısı ve abdominal bölgede şişkinlik (sırasıyla

sekiz, yedi ve beş olgu) de bildirilmiştir (97-103). Artmış bilirubin ise RSVL 1 gr alındığında bildirilmiştir (104). Bu bulgulara dayanarak RSVL'nin günlük dozunun 1gr aşmaması gerektiği bildirilmiştir (97). Tüm bu yan etkilere rağmen RSVL iyi tolere edilmiştir ve yan etkiler oluştuğunda herhangi bir sekel bırakmadan spontan olarak çözülmüştür.



### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu onayı (2014/A-65) alınarak İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi (İNÜ-DEHÜM)'nde yapıldı.

Çalışmada deney hayvanı olarak ağırlığı 250-300 gr arasında değişen, 3-5 aylık, 72 adet *Sprague Dawley* cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney prosedürü öncesinde sıçanlar 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda, 21°C'de ve ad-libitum olarak bekletildi. Sıçanlar basit rastgele örnekleme yöntemiyle her biri 18'er sıçandan oluşan; Kontrol, CsA, RSVL, CsA+RSVL grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı. Alt sol 1. ve 2. büyük azı dişlerinin çekiminden sonra her ana grup sakrifikasyon dönemlerine göre 9'ar denekten oluşan 2 alt gruba ayrıldı. Ayrıca hayvanlar her gün tartıldı ve ilaçların dozu buna göre ayarlandı.

Belirlenen ana gruplar ve alt gruplar aşağıdaki şekilde planlandı.

**1) KONTROL GRUBU:** CsA uygulanmaksızın sıçanların alt sol 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra çekim gününden sakrifikasyon gününe kadar placebo solusyon verilip çekim soketi iyileşmesinin takip edildiği grup (n=18).

**1a) 14. GÜN GRUBU:** CsA uygulanmadan, diş çekimi yapıldıktan sonra, placebo solusyon verilip çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 14 gün sonra sakrifiye edilen grup (n=9).

**1b) 28. GÜN GRUBU:** CsA uygulanmadan, diş çekimi yapıldıktan sonra, placebo solusyon verilip çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 28 gün sonra sakrifiye edilen grup (n=9).

**2) SİKLOSPORİN A (CsA) GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8. gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyükazı dişleri çekildikten sonra sakrifikasyon gününe kadar CsA uygulamaya devam edilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edildiği grup (n=18).

**2a) 14. GÜN GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8.gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyükazı dişleri çekildikten sonra, CsA uygulamaya devam edilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 14 gün sonra sakrifiye edilen grup (n=9).

**2b) 28. GÜN GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8. gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyükazı dişleri çekildikten sonra, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 28 gün sonra sakrifiye edilen grup (n=9).

**3) RESVERATROL (RSVL) GRUBU:** CsA uygulanmadan, sıçanların alt sol 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra, çekim gününden sakrifikasyon gününe kadar RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edildiği grup (n=18)

**3a) 14. GÜN GRUBU:** CsA uygulanmadan, sıçanların 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra, RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek 14 gün sonra sakrifiye edildiği grup (n=9)

**3b) 28. GÜN GRUBU:** CsA uygulanmadan, sıçanların 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra, RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek 28 gün sonra sakrifiye edildiği grup (n=9)

**4) CsA+RSVL GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8. gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyükazı dişleri çekilerek, 8. günden itibaren CsA+RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edildiği grup (n=18)

**4a) 14. GÜN GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8. gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra, 8. günden itibaren CsA+RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 14 gün sonra sakrifiye edildiği grup (n=9)

**4b) 28. GÜN GRUBU:** 7 gün CsA uygulanıp, 8. gün sıçanların alt sol 1.ve 2. büyük azı dişleri çekildikten sonra, 8. günden itibaren CsA+RSVL verilip, çekim soketi iyileşmesinin takip edilerek çekimden 28 gün sonra sakrifiye edildiği grup (n=9)

### 3.1. Siklosporin A'nın Dozu ve Uygulanma Yolu

CsA ve CsA+RSVL gruplarındaki sıçanlara CsA (Sandimmün, Novartis), subkutan enjeksiyonla günlük 10 mg/kg dozunda uygulandı (Şekil 3.1). CsA uygulaması deney gruplarındaki sıçanlara çalışmamızın birinci gününden itibaren yapılmaya başlandı. 8. gün, sıçanların dişleri çekildikten sonra, her sıçana sakrifikasyon gününe kadar, CsA uygulanmaya devam edildi.



Şekil 3.1. Siklosporin A ve subkutan olarak uygulanması

### 3.2. Resveratrol'un Dozu, Hazırlanışı ve Uygulanma Yolu

Çalışmamızda kullandığımız saflaştırılmış RSVL (R5010, Sigma-Aldrich) sadece trans-isomer olarak piyasada mevcuttur (Şekil 3.2). Çalışmada kullanılan RSVL dozunu (10 µmol/kg) elde etmek için öncelikle etanol içinde RSVL'nin stok solusyonu (50 mg/mL) hazırlandı ve daha sonra sodyum klorürün enjeksiyonluk sudaki %0,9'lük çözeltisi içinde seyreltilti. RSVL enjeksiyonu, deney gruplarındaki sıçanların dış çekimlerinin yapıldığı gün intraperitoneal yolla uygulanmaya başlandı (Şekil 3.2) ve 14. ve 28. gün sakrifikasyonlarına kadar devam edildi.



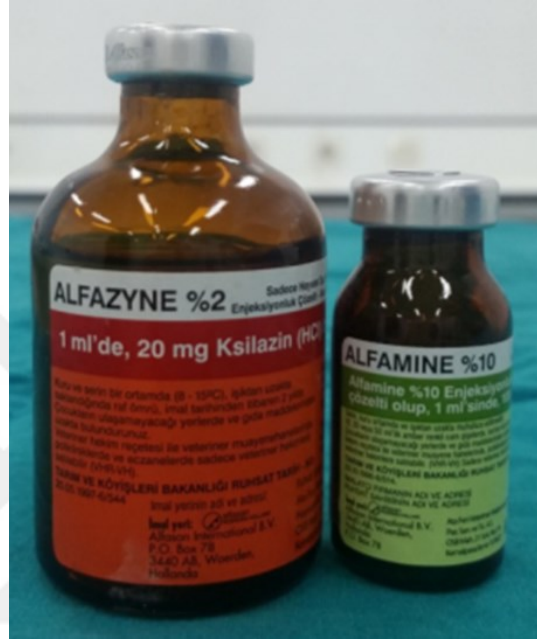
**Şekil 3.2.** Resveratrolün ticari formu (R5010, Sigma Aldrich), etanolde hazırlanan stok solusyonu ve sıçanlara intraperitoneal olarak uygulanması

Kontrol grubu için kullanılacak placebo solusyon RSVL'nin hazırlanmasında kullanıldığı gibi aynı hacimdeki etanol ve sodyum klorürün enjeksiyonluk sudaki %0,9'lük çözeltisinden oluşturuldu ve intraperitoneal yolla sakrifikasyon gününe kadar uygulandı.

### 3.3. Dış Çekimi Yöntemi

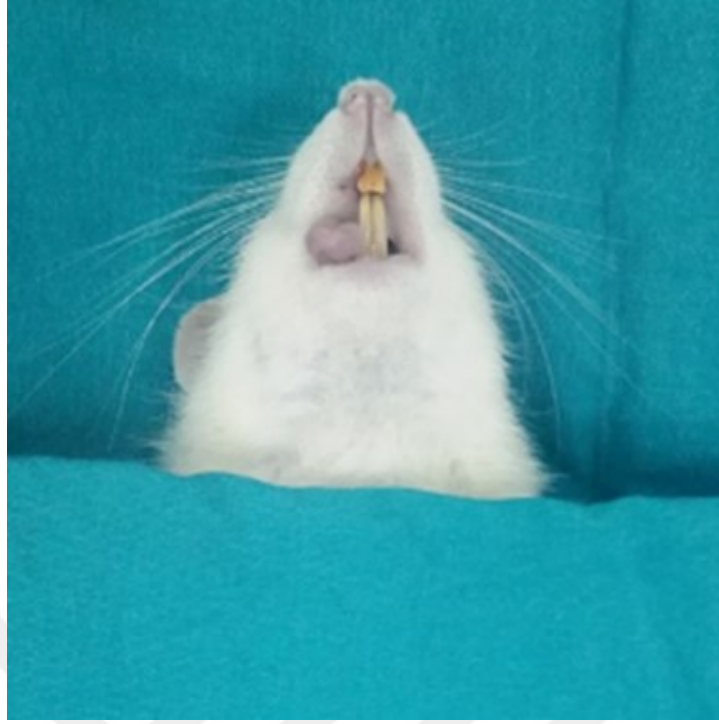
8. günde asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak deneklerin tümüne anestezi için intramuskuler yolla ketamin hidroklorür ((%10 Alfamine, Alfasan, Hollanda) 50 mg/kg ve ksilazin hidroklorür ((%2 Alfazyne, Alfasan, Hollanda) 5 mg/kg enjeksiyonu yapıldı (Şekil 3.3). Operasyon sahası açıkta kalacak şekilde steril örtüler ile örtüldü (Şekil 3.4). Lokal hemostaz amacıyla operasyon bölgesine 0,5 cc, 0,006 mg/ml epinefrin içeren %4'lük artikain (Ultracain D-S Forte-Aventis, İstanbul, Türkiye) ile infiltratif lokal

anestezi uygulandı. Steril ameliyat takımındaki aletlerle (Şekil 3.5) sıçanın dil ve yanağı ekarte edildikten sonra ucu kıvrık hemostat yardımı ile lüksasyon uygulayarak deneklerin alt sol 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildi (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7). Hemostazı sağlamak için steril tampon uygulandı ve daha sonra çekim bölgeleri 4–0 vicryl (Doğsan, Türkiye) ile suture edildi. Çekim sonrasında sıçanlara herhangi bir antibiyotik uygulanmadı ve deney süresince hayvanlar uygun besinlerle beslendi.



**Şekil 3.3.** Ketamin hidroklorür (%10 Alfamine, Alfasan, Hollanda) ve ksilazin hidroklorür (%2 Alfazyne, Alfasan, Hollanda)

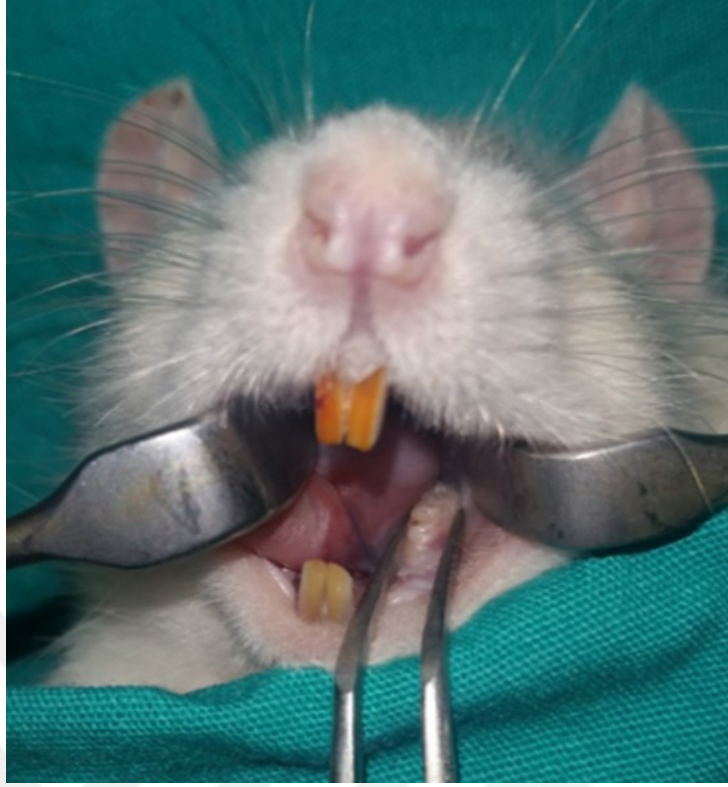




**Şekil 3.4.** Deneş hayvanının steril örtüler ile örtülmesi



**Şekil 3.5.** Ameliyat ve diş çekimi için kullanılan steril aletler



**Şekil 3.6.** Sıçanların steril aletler ile dil ve yanağının ekarte edilmesi



**Şekil 3.7.** Alt sol 1. ve 2. büyük azı dişlerin çekilmesinden sonra oluşan çekim yarası ve çekilmiş dişler

Hayvanlar diş çekimden sonra 14 ve 28. günlerde yüksek dozda (200 mg/kg) sodyum pentotal enjeksiyonu (Pethothal, Abbott, ABD) ile sakrifiye edildi. Sıçanların sol mandibulaları çıkarıldıktan sonra, materyaller %10'luk tamponlanmış formole yerleştirildi.

### 3.4. Histolojik Değerlendirme

Alınan doku örnekleri histolojik inceleme için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Gönderilen kemik doku örnekleri nötral tamponlu %10'luk formaldehit ile 72 saat süre ile oda ısısında fiksasyon işlemine tabii tutuldu. Tespit işlemi sonrasında gün aşırı değiştirilerek yenilenen %10'luk formik asit çözeltisinde 10 gün süresince kemik doku örnekleri dekalsifikasyon işlemine tabii tutuldu. Dekalsifikasyon süreci tamamlanan kemik doku örnekleri akan çeşme suyunda yıkama işlemi takiben, artan dercelerdeki etanol serilerinden (%50-%99) ve ksilen serilerinden geçirildikten sonra 62°C'de erimiş parafin infiltrasyonunu takiben parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica DFC280) ile 6 µm kalınlığındaki kesitler lamalar üzerine alındı. Kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Gomori'nin trikrom boyamaları yapıldı. Tüm kesitlerde diş soketi alanlarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, epitelizasyon, bağ doku oluşumu ve kemik doku oluşumu semikantitatif olarak skorlandı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Histolojik bulguların skorlanması

Skor	İnflamasyon	Epitelizasyon	Bağ doku	Yeni kemik oluşumu
0	Yok	Yok	Yok	Yok
1	Hafif-fokal alanlarda	Yüzey alanı uçlarında, yüzeyin 1/3'ünde epitelizasyon	Soket alanının %1-20'sine kadar	Soket alanının %1-20'sine kadar
2	Orta dercede-lokal alanlarda	Yüzeyin 2/3'ünde epitelizasyon	Soket alanının %21-40'ına kadar	Soket alanının %21-40'ına kadar
3	Şiddetli-diffüz	Tüm yüzey alanında epitelizasyon	Soket alanının %40'ından büyük	Soket alanının %40'ından büyük

Ayrıca pozitif şarjlı lamalar üzerine alınan kesitlere osteopontin (Osteopontin LFMb-14, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) ve osteokalsin (Osteocalcin FL-100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) immunreaktivitesini belirlemek için immunhistokimyasal boyama yapıldı. Bunun için

kesitler etüvde 60°C sıcaklıkta, 1 saat inkübasyonun ardından ksilen serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Takiben alkol serilerinden geçirildikten sonra distile suda yıkandı. Antijen retrieval aşaması için sitrat tamponuna alınan kesitler, 121° C'de 15 dakika inkübe edildi ve tamponun içerisinden çıkarılmadan soğumaya bırakıldı. Soğuyan kesitler önce distile su, sonra fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 2 dakika yıkandı. Yıkama işleminden sonra doku kesitlerinin sınırları hidrofobik kalem ile çizilerek kesitler platforma dizildi. Kesitlere peroksit blok damlatılarak 15 dakika beklendi. Daha sonra kesitler silkelendikten sonra PBS ile yıkandı. Kesitlerin yüzeyine protein blok damlatılarak 5 dakika beklendi ve ardından kesitler silkelenerek protein blok uzaklaştırılarak, kesitler yıkanmadan diğer aşamaya geçildi. Ardından kesitlere primer antikor damlatılarak, 1 saat inkübasyona bırakıldı. Sonrasında silkelenen kesitler PBS ile yıkandı. Kesitler üzerine sekonder antikor damlatılarak 20 dakika beklendi. Daha sonra kesitler silkelenerek PBS ile yıkandı. Kesitler üzerine sekonder antikor damlatılarak 20 dakika beklendi ve tekrar silkelenerek PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler üzerine 20 dakika Streptavidin peroksidad uygulandı ve kesitler silkelenerek PBS ile yıkandı. Hazırlanan AEC kromojen solüsyonu kesitler üzerine damlatıldı ve 10 dakika beklendi. Kızaran kesitler önce PBS, sonra distile su ile yıkandı. Hematoksilen aşaması için kesitler 30 saniye boyunca Mayer's hematoksilende tutulduktan sonra, önce çeşme suyunda, sonra distile suda yıkandı. Son olarak kesitler su bazlı kapatma medyumunu (aqueous mount) ile kapatılarak incelemeye alındı. İmmunhistokimyasal yöntemle boyanan kesitlerde osteopontin ve osteokalsin immunreaktivitesi, boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesinin kriter olarak alındığı semikantitatif bir yöntemle yani H-skoru ile belirlendi. H skoru =  $P_i (i+1)$  (i: boyanmanın derecesi,  $P_i$ : her yoğunluk için boyanan hücrelerin yüzdesi) formülüyle hesaplandı. Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), 1 (zayıf boyanma), 2 (orta boyanma), 3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi (105).

Boyanmış olan kesitler, Nikon Optiphot-2 ışık mikroskop, Nikon DS-Fi2 kamera ve DS L3 görüntü analiz sisteminde (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) incelenerek fotoğraflar alındı.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri

değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Parametrelerin günler arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Histolojik Bulgular

Çalışmamızdaki histolojik bulguların değerlendirilmesinde Tablo 3.1’de belirtilen skorlar kullanılmıştır.

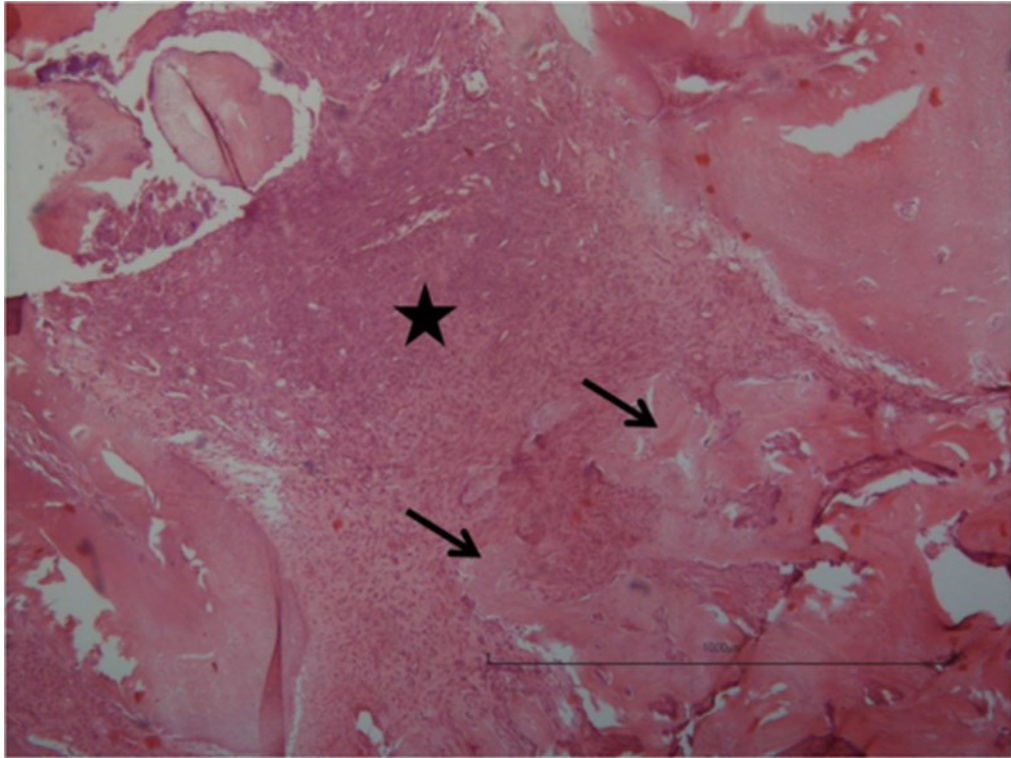
#### 4.1.1. 14. Günde Sakrifiye Edilen Grupların Histolojik Bulguları

14. günde sakrifiye edilen grupların histolojik bulguları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. 14. günde sakrifiye edilen grupların histolojik bulguları

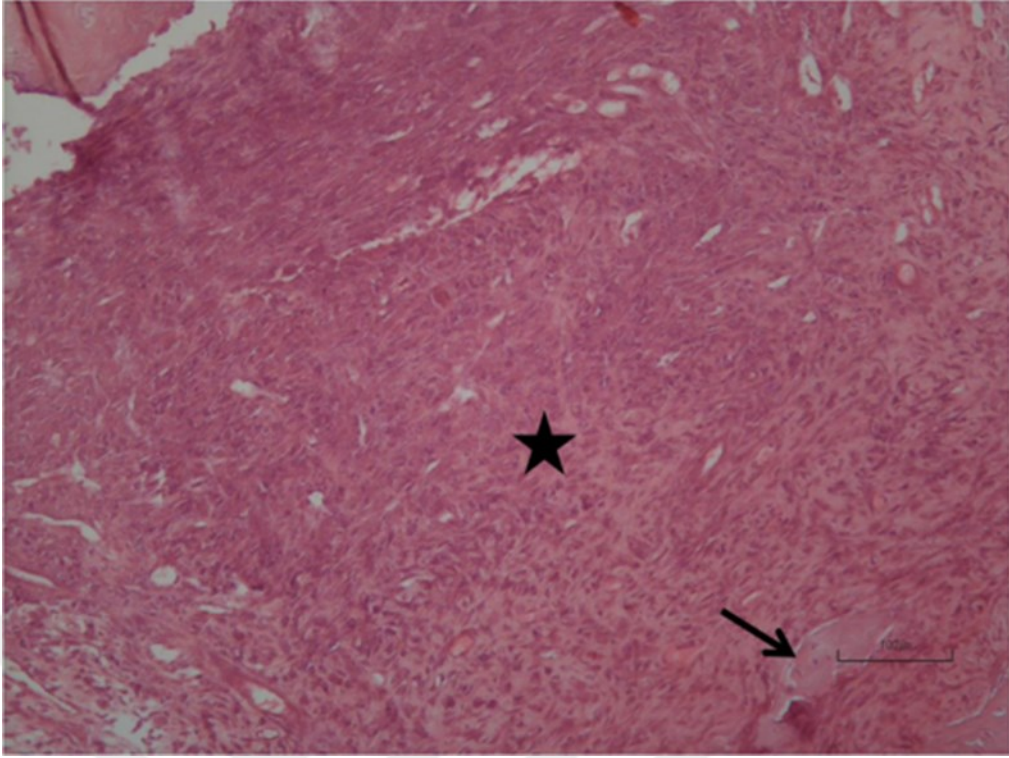
Grup	Çekimden sonra 14. gün					
	İnflamasyon	Epitelizasyon	Bağ Doku	Kemik Doku	H skoru (ostekalsin)	H skoru (osteopontin)
Kontrol-1	2	1	2	0	30	30
Kontrol-2	2	0	2	1	30	30
Kontrol-3	2	0	3	0	40	30
Kontrol-4	1	1	2	1	60	30
Kontrol-5	2	0	2	0	20	30
Kontrol-6	1	0	2	1	30	40
Kontrol-7	2	1	3	1	30	30
Kontrol-8	2	0	2	0	20	30
Kontrol-9	2	1	2	0	30	30
CsA-1	2	0	2	0	0	10
CsA-2	2	0	1	0	0	0
CsA-3	2	1	1	1	10	0
CsA-4	3	0	1	0	0	0
CsA-5	2	0	1	0	0	0
CsA-6	3	0	1	1	10	0
CsA-7	2	0	2	0	0	0
CsA-8	2	0	1	0	0	0
CsA-9	2	0	1	0	0	0
RSVL-1	2	1	2	1	90	30
RSVL-2	2	0	2	1	60	40
RSVL-3	1	1	2	1	80	40
RSVL-4	1	1	2	1	120	30
RSVL-5	2	1	3	1	60	30
RSVL-6	2	0	2	1	60	40
RSVL-7	1	1	2	1	90	30
RSVL-8	2	1	2	1	120	30
RSVL-9	2	0	3	1	60	30
CsA+RSVL-1	2	0	1	0	0	0
CsA+RSVL-2	2	1	2	1	0	0
CsA+RSVL-3	2	0	1	0	0	0
CsA+RSVL-4	2	0	1	0	0	15
CsA+RSVL-5	2	0	1	0	0	0
CsA+RSVL-6	2	1	1	1	20	0
CsA+RSVL-7	2	0	2	0	0	0
CsA+RSVL-8	2	0	1	0	10	0
CsA+RSVL-9	2	0	1	0	0	0

**Kontrol 14. gün grubu:** Hematoksilen-eosin boyanan kesitlerde diş soket alanında yaklaşık 1/3 bazal bölgesinde düzensiz sınırlı, ince tabaka halinde fibröz bağ dokusu alanları izlendi. Soket alanının 2/3 apikal bölgesinin ise yer yer fibröz bağ dokusu, ağırlıklı olarak granülasyon dokusu ile doldurulmuş olduğu görüldü. Soket alanını dolduran bağ dokusu ve granülasyon dokusu alanlar içinde orta dercede inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. Bazı kesitlerde soket alanı yüzeyinin kenar bölgelerinde küçük epitelizasyon alanları mevcuttu. Birkaç kesitte soket alanı bazal bölgelerinde küçük kemik trabeküllerine rastlandı (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Trikrom ile boyanan kesitlerde soket alanı bazal bölgelerinde fibröz bağ dokusunun ağırlıkta olduğu ancak yüzeye doğru hücresel yoğunluğun arttığı görüldü. Kemik trabekülleri mavi-yeşil renkte primer kemik yapısında izlendi (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). İmunohistokimyasal olarak osteokalsin ve osteopontin boyanan preparatlarda osteokalsin (Şekil 4.5) ve osteopontin (Şekil 4.6) immumreaktivitesi pozitif alanlar kırmızı-kahve renkte boyanmıştı.

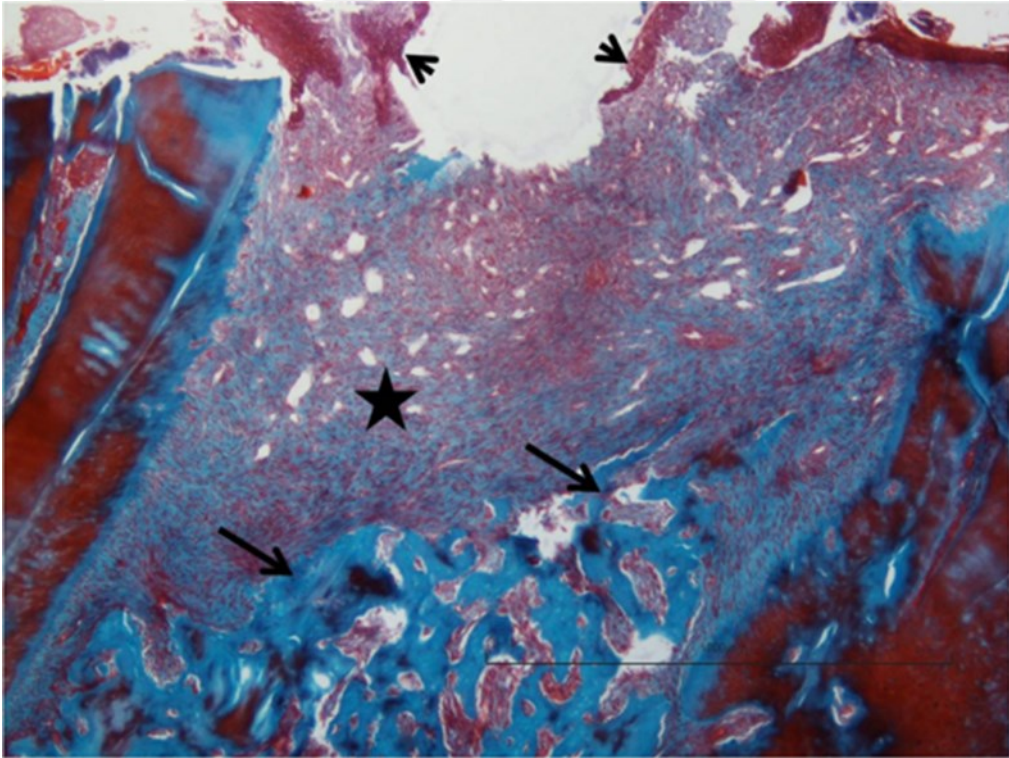


**Şekil 4.1.** Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X4.



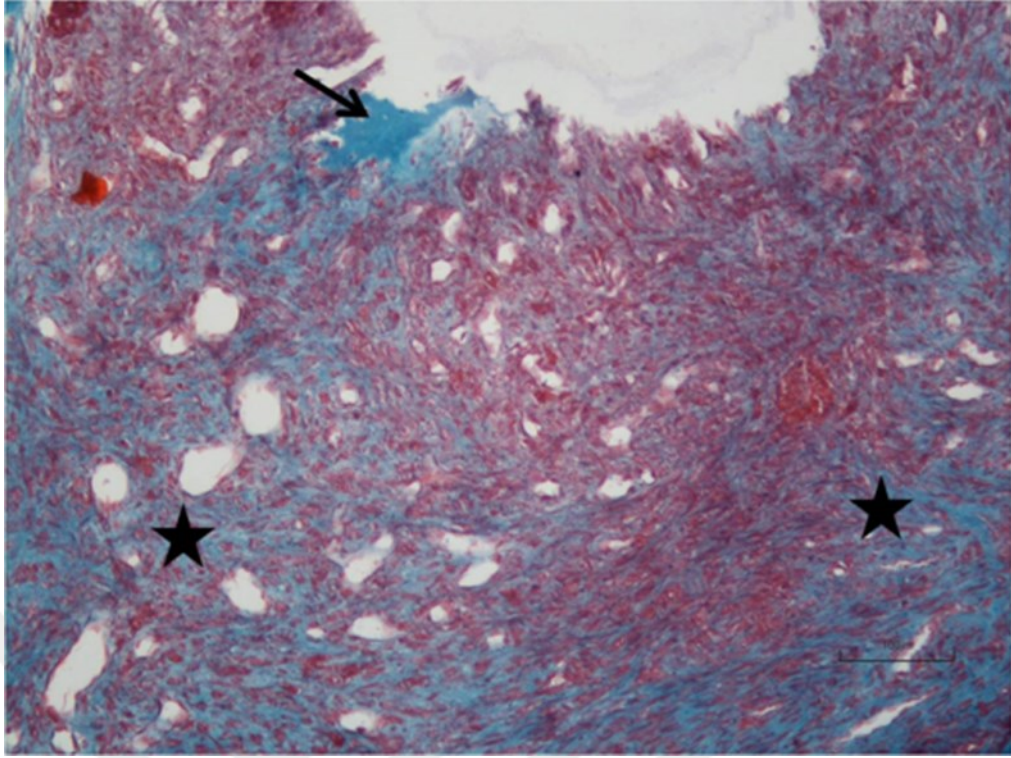


**Şekil 4.2.** Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok).  
H-E, X10.

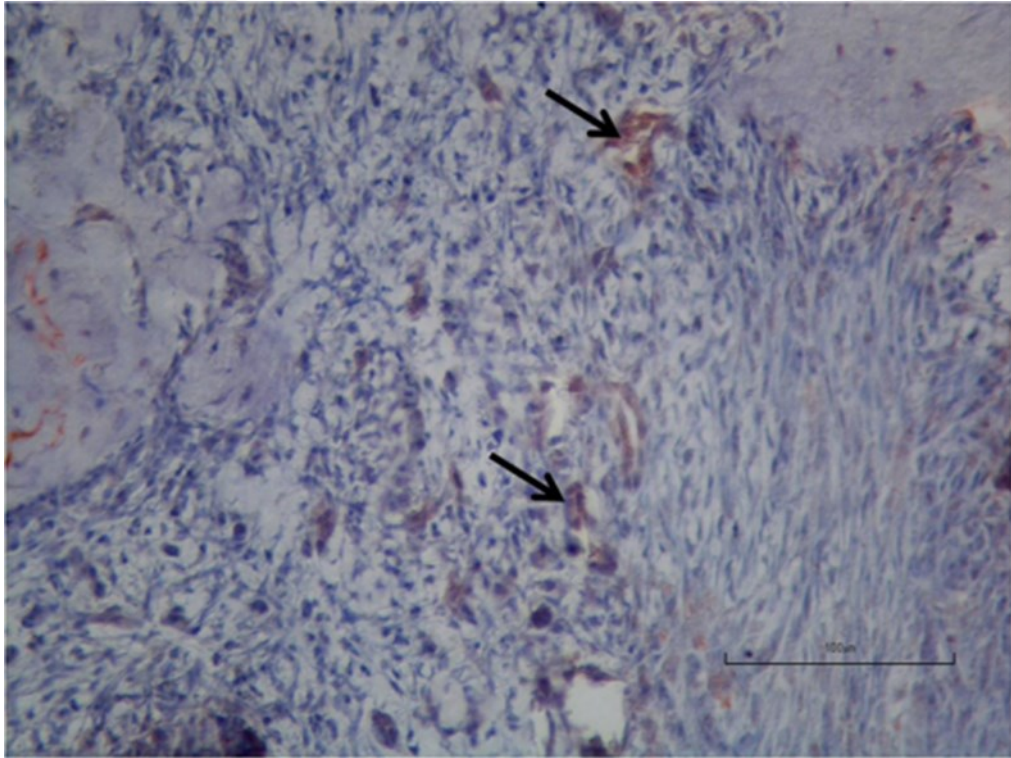


**Şekil 4.3.** Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok).  
Trikrom, X4.

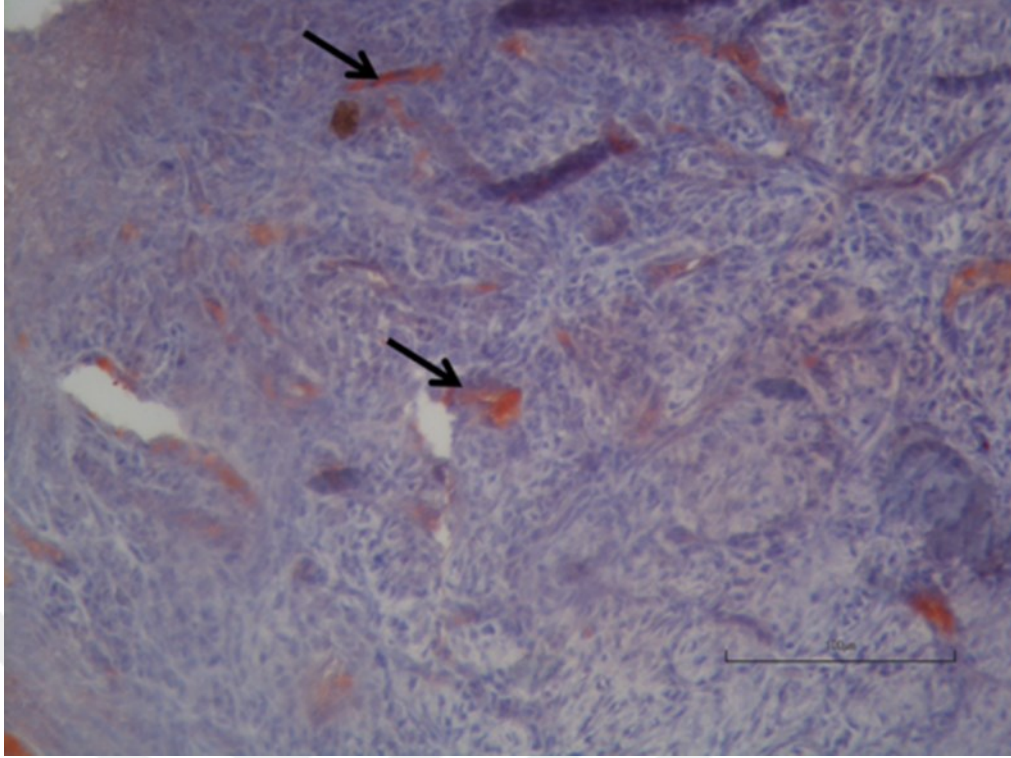




**Şekil 4.4.** Kontrol-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikróm, X10.



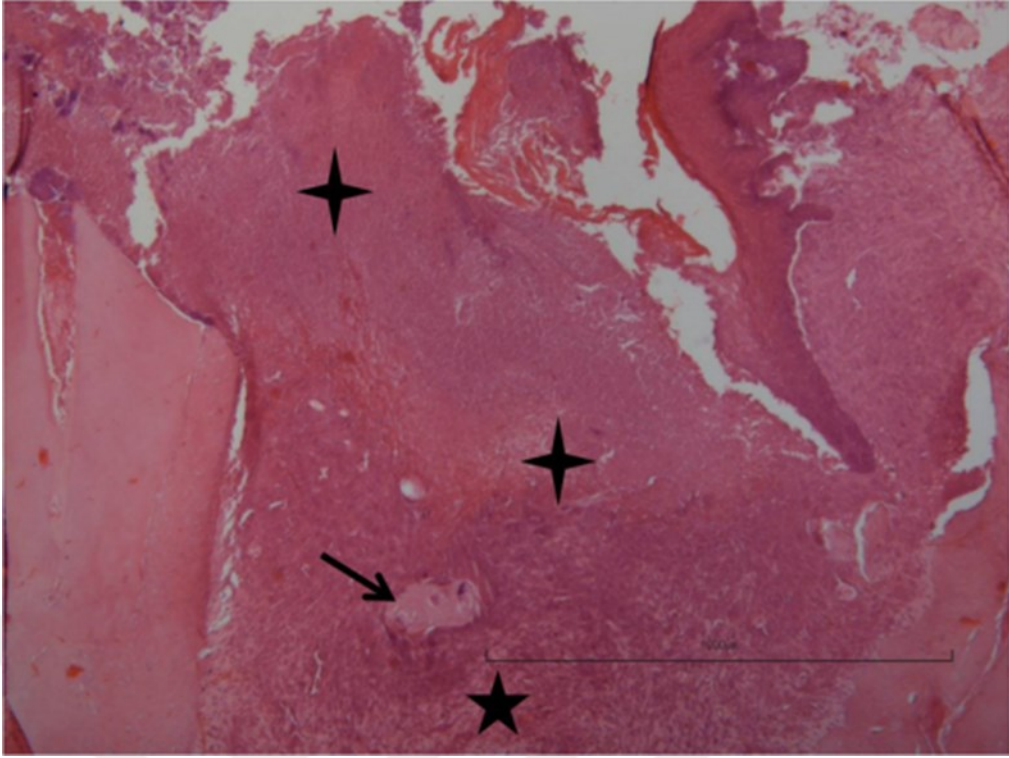
**Şekil 4.5.** Kontrol-14 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.



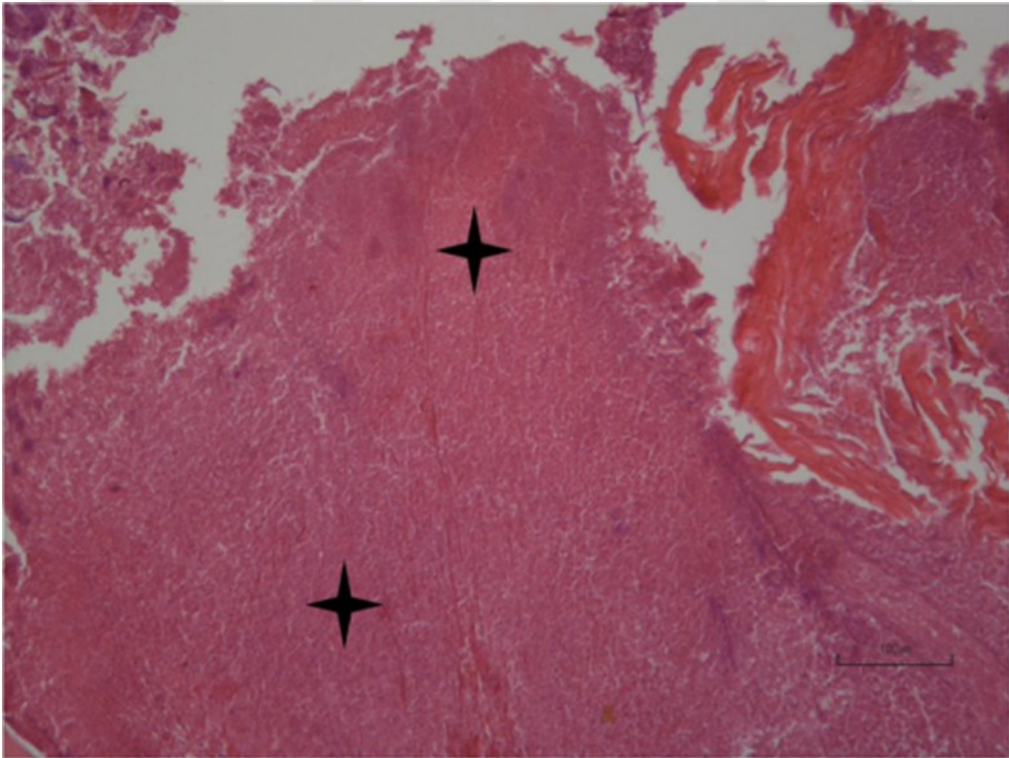
**Şekil 4.6.** Kontrol-14 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.

**CsA 14. gün grubu:** Hematoksilen-eosin boyanan kesitlerde soket alanının büyük kısmının yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren granülasyon dokusu ile doldurulmuş olduğu görüldü. Genel olarak soket alanı bazal bölgesinde minimal düzeyde fibröz bağ dokusu alanlar izlendi. Tek bir kesitte soket alanı yüzeyinin kenar bölgesinde küçük epitelizasyon alanı tespit edildi. Soket alanını dolduran granülasyon dokusu içinde nadir olarak küçük kemik trabekülleri izlendi (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Trikrom ile boyanan kesitlerde granülasyon dokusu yoğun hücresel yapıda olup yer yer içerisinde küçük kemik trabekülleri mavi-yeşil renkte görüldü (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin ve osteopontin boyanan preparatlarda nadir olarak osteokalsin (Şekil 4.11) ve osteopontin (Şekil 4.12) immumreaktivitesi zayıf pozitif alanlar izlendi.

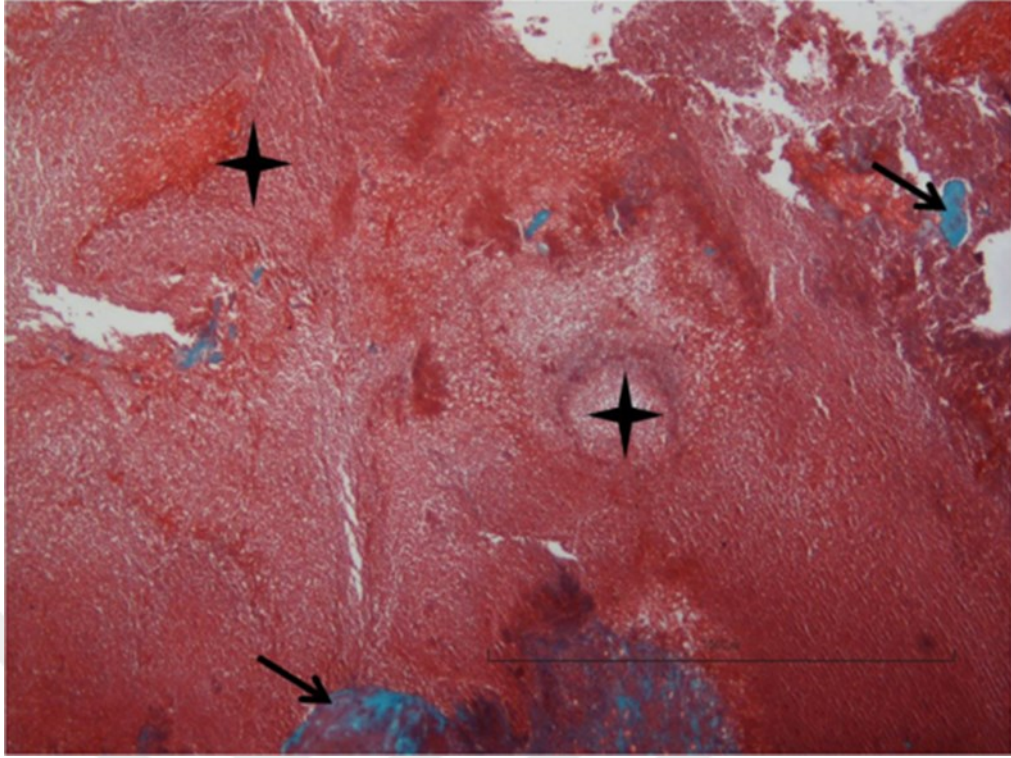




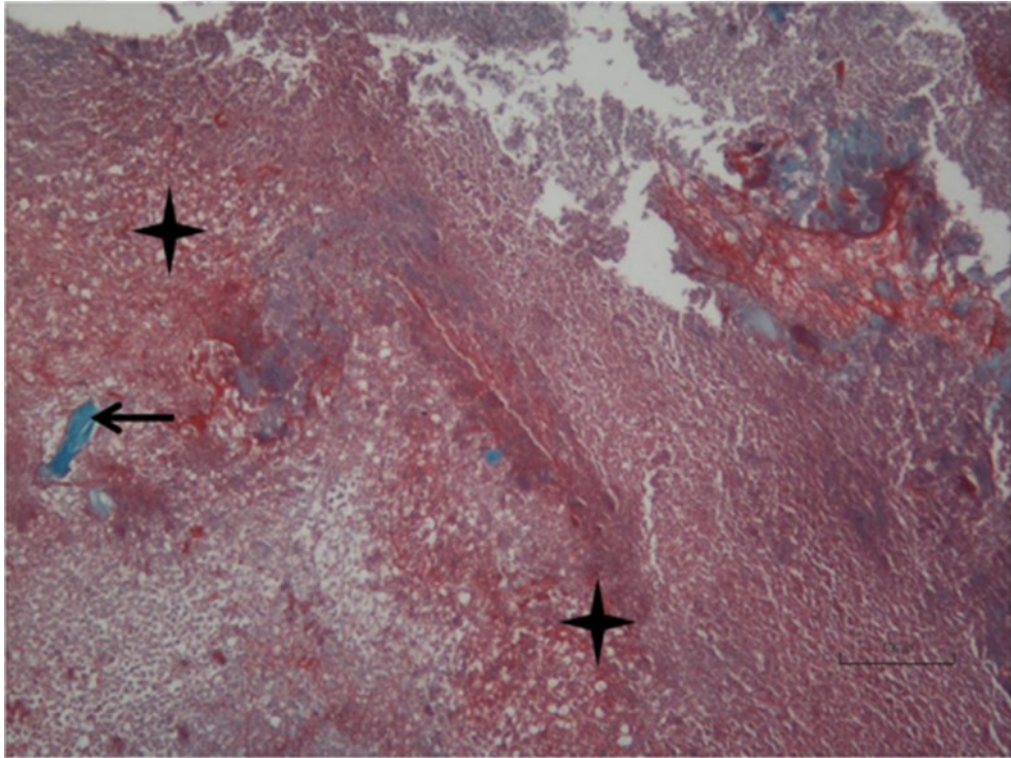
**Şekil 4.7.** CsA-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), nekroz ve granulasyon dokusu (dört nokta yıldız). H-E, X4.



**Şekil 4.8.** CsA-14 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). H-E, X10.

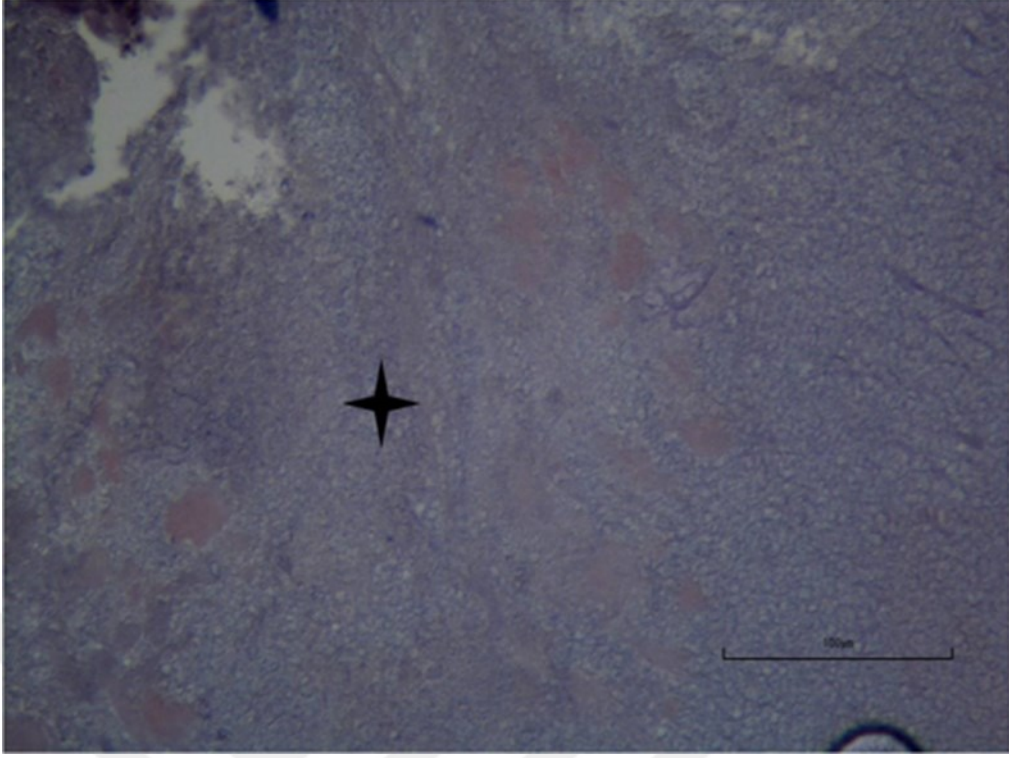


**Şekil 4.9.** CsA-14 grubu; Kemik trabekülü (ok), nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X4.

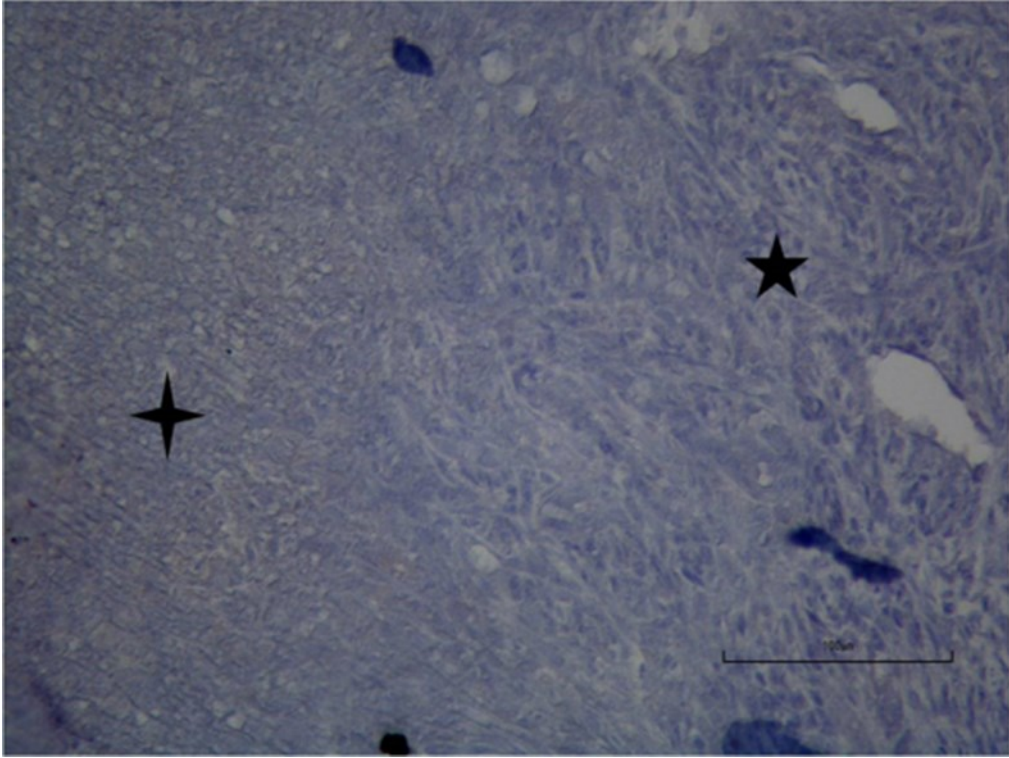


**Şekil 4.10.** CsA-14 grubu; Kemik trabekülü (ok), nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X10.





**Şekil 4.11.** CsA-14 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20.



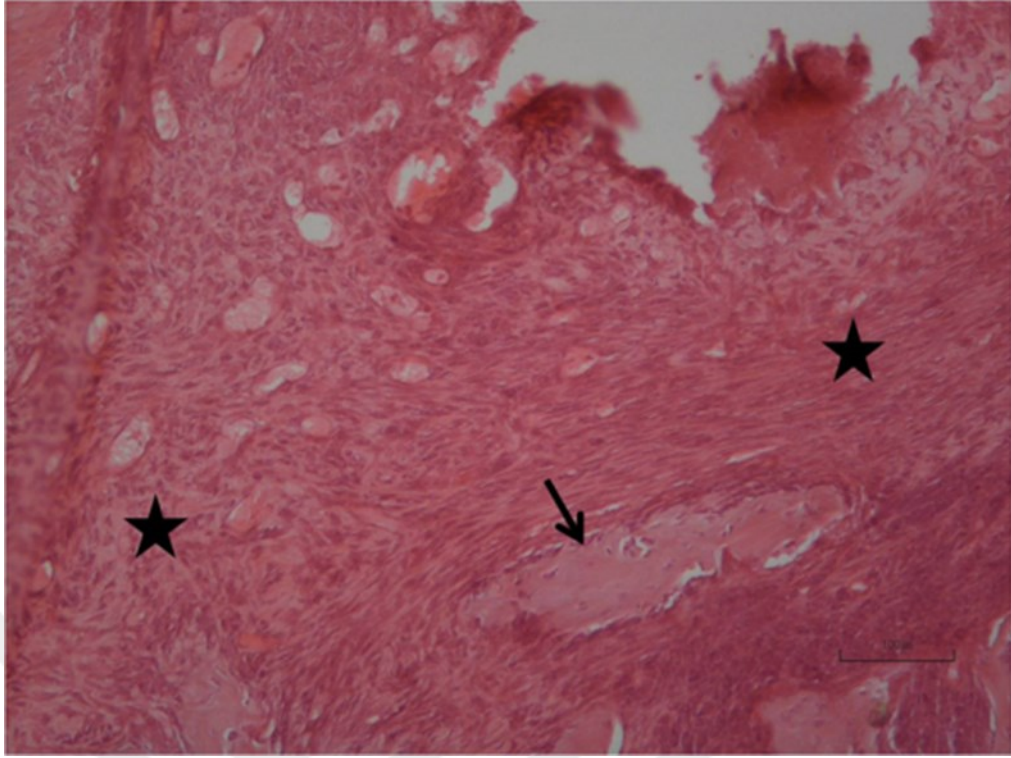
**Şekil 4.12.** CsA-14 grubu; Granulasyon dokusu (dört nokta yıldız), fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20.

**RSVL 14. gün grubu:** Hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerde, diş soket alanlarının 2/3 bazal kısımlarının ağırlıklı olarak fibröz bağ dokusu yapısında olduğu görüldü. Bağ dokusunun hücresel içeriği yüksekti. Diş soket alanındaki bağ dokusu içerisinde kemik trabekülleri izlendi. Soket alanı yüzeyel bölgelerinde yer yer granülasyon dokusu izlendi. Soket alanı bazal bölgelerinde minimal, yüzeyel bölgelerinde ise orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edildi. Kesitlerde soket alanı yüzeyinde kenar bölgelerde minimal olarak skorlanan epitelizasyon alanları izlendi. Kesitlerin tümünde soket alanı bazal bölgesinde yer yer de 2/3 yüzeyel alana kadar uzanan kemik trabekülleri mevcuttu (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Trikrom ile boyanan kesitlerde soket alanı 2/3 bazal bölgelerinin kollajenden zengin fibröz bağ dokusu yapısında olup mavi-yeşil renkte boyandığı görüldü. Soket alanı içinde izlenen kemik trabekülleri mavi-yeşil renkte boyanmış olup primer kemik yapısında izlendi (Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin (Şekil 4.17) ve osteopontin (Şekil 4.18) boyanan preparatlarda osteokalsin ve osteopontin immumreaktivitesi pozitif alanlar kırmızı-kahve renkte boyanmıştı.

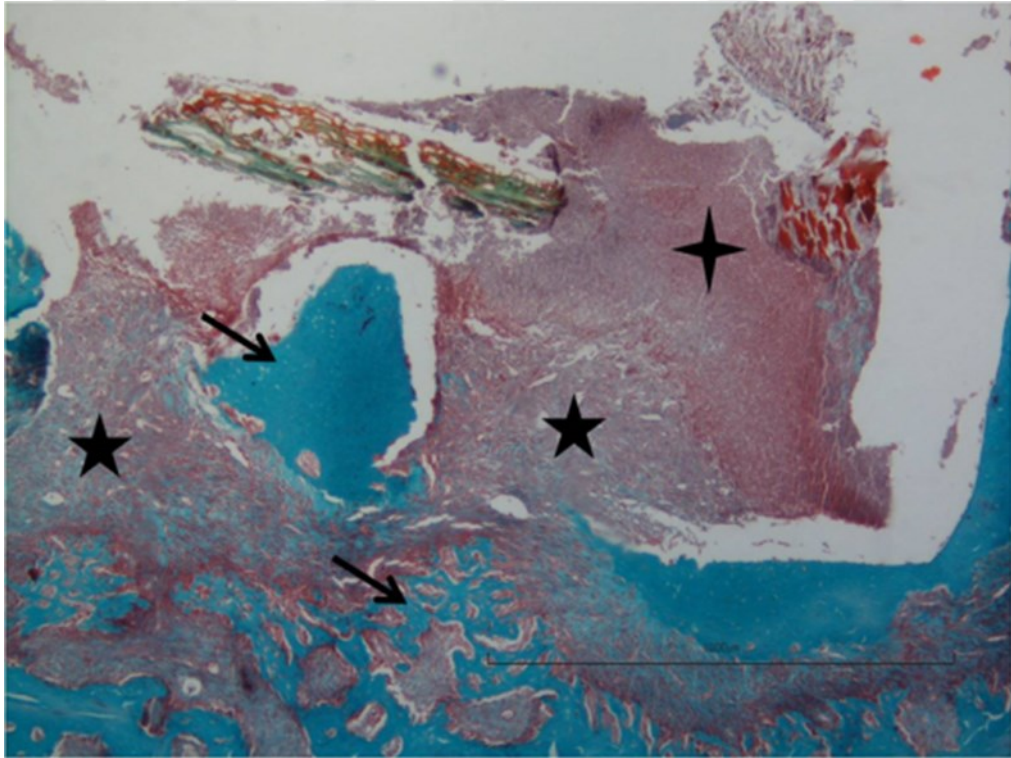


**Şekil 4.13.** RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizasyon (ok başı). H-E, X4.

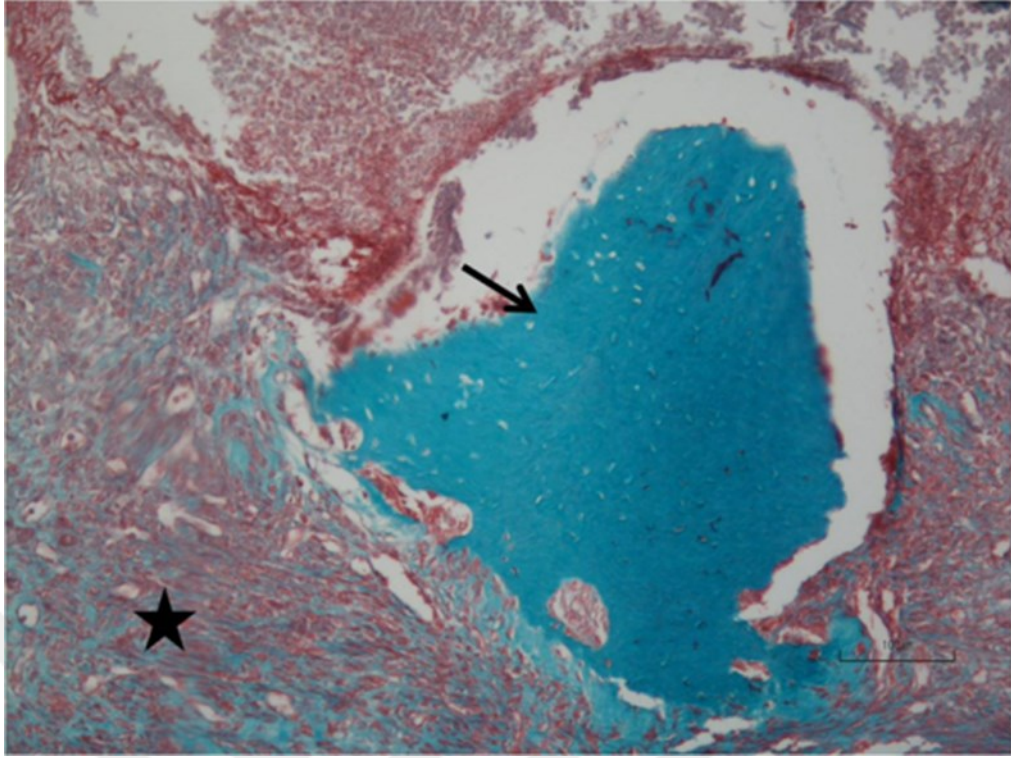




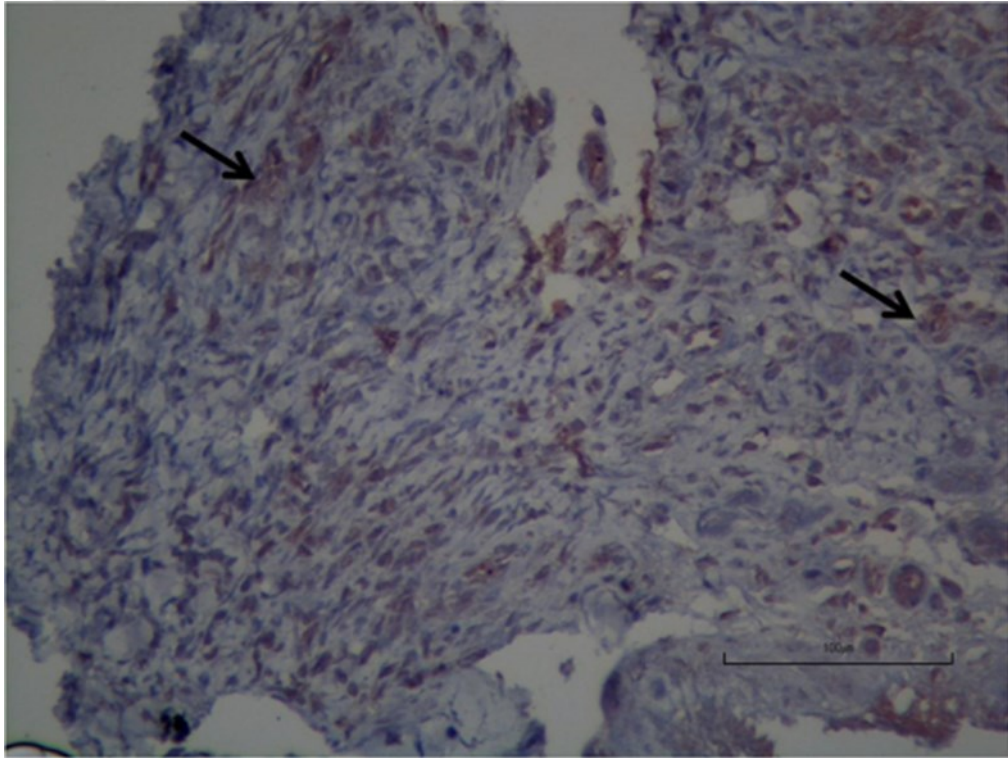
**Şekil 4.14.** RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X10.



**Şekil 4.15.** RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), granülasyon dokusu (dört nokta yıldız). Trikrom, X4.

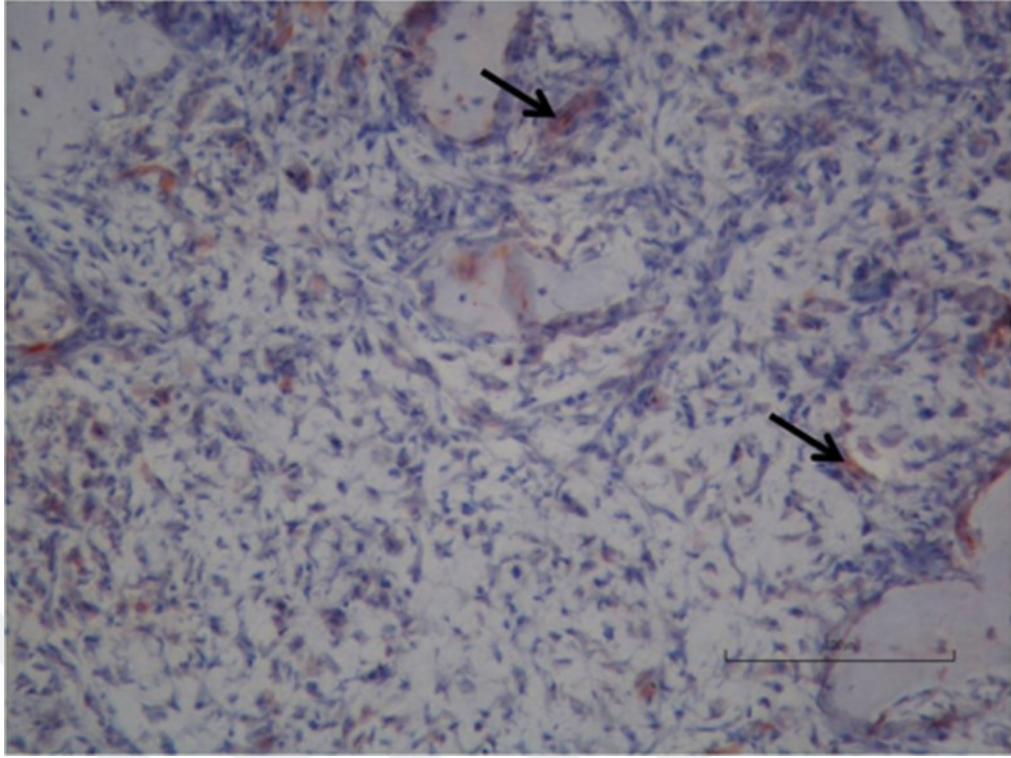


Şekil 4.16. RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), Trikrom, X10.



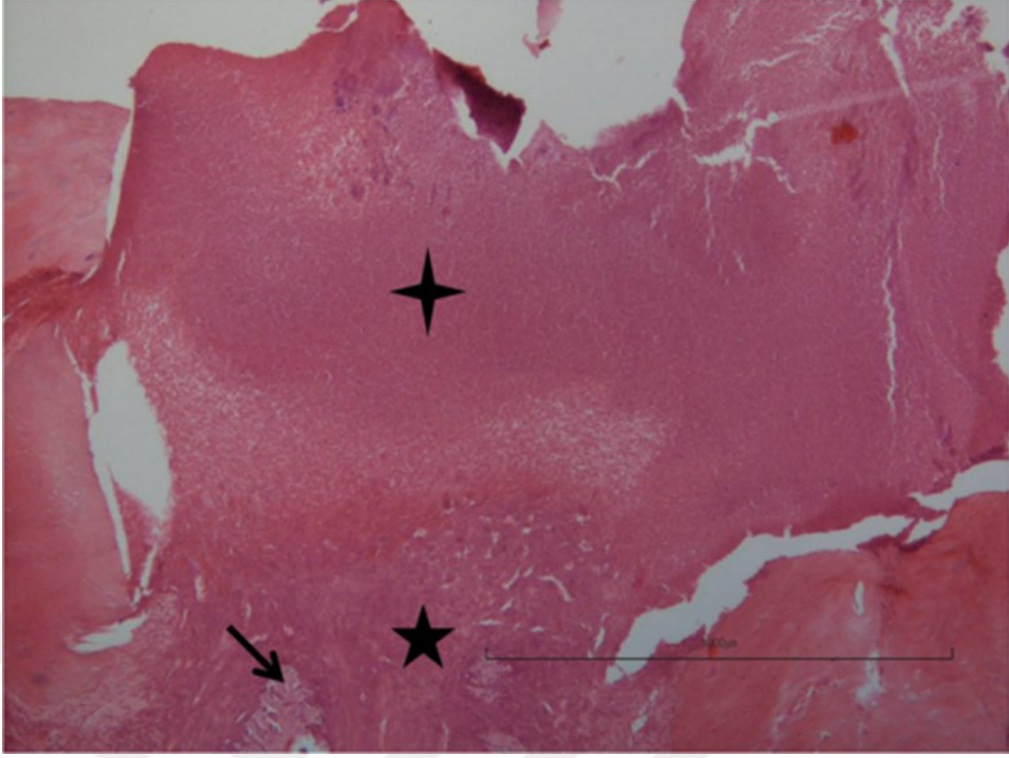
Şekil 4.17. RSVL-14 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.



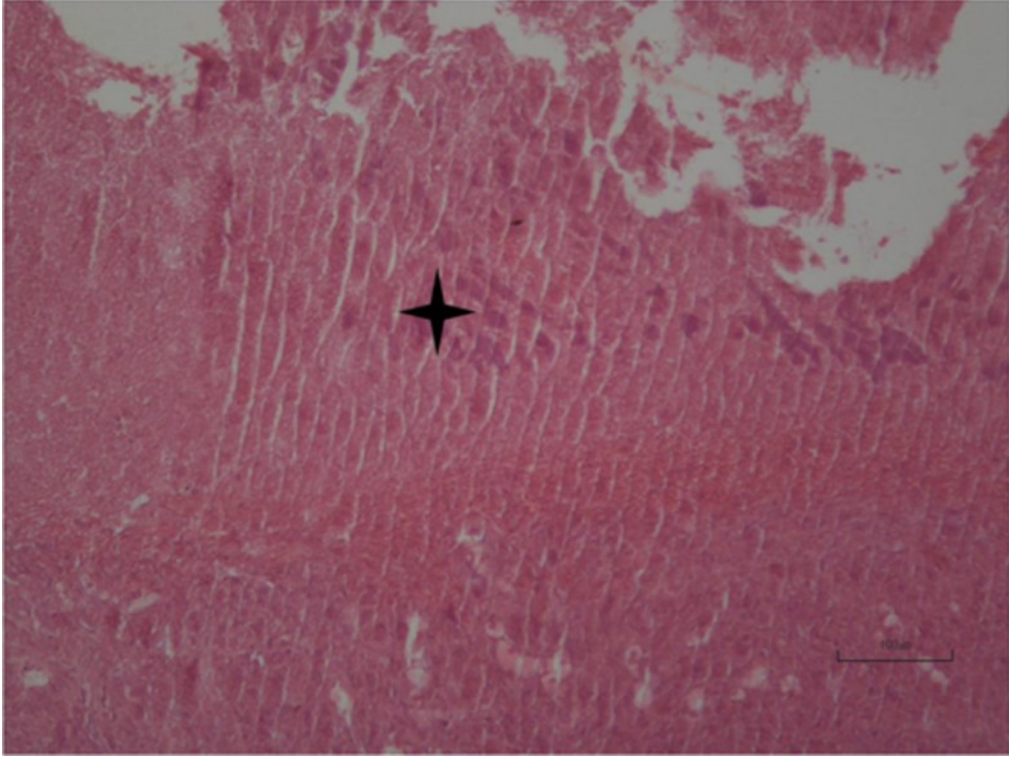


**Şekil 4.18.** RSVL-14 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.

**CsA+RSVL 14. gün grubu:** Hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerin tümünde, diş soket alanların büyük oranda nekrotik odaklar içeren granülasyon dokusu ile dolmuş olduğu görüldü. Soket alanlarında orta derecede diffüz inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. Bu gruptaki iki kesitte soket alanı yüzeyi kenar bölgelerinde tek taraflı, küçük, ince epitelizasyon alanları saptandı. Soket alanı taban kısımlarında ince tabaka şeklinde fibröz bağ dokusu mevcuttu. Birkaç kesitte soket alanı taban bölgesinde küçük kemik trabeküllerine rastlandı (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20). Trikrom ile boyanan kesitlerde ağırlıklı olarak soket alanlarını dolduran granülasyon dokusu hücresel içerikte ve kırmızı-mor renkte boyanmış olarak izlendi. Trikrom boyamada spesifik olarak mavi-yeşil boyanan fibröz bağ dokusu, soket alanları taban bölgelerinde ince tabakalar şeklinde zayıf boyanma gösteriyordu. Nadir olarak izlenen küçük kemik trabekülleri mavi-yeşil renkte görüldü (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin (Şekil 4.23) ve osteopontin (Şekil 4.24) boyanan preparatlarda nadir olarak osteokalsin ve osteopontin immumreaktivitesi zayıf pozitif alanlar izlendi.

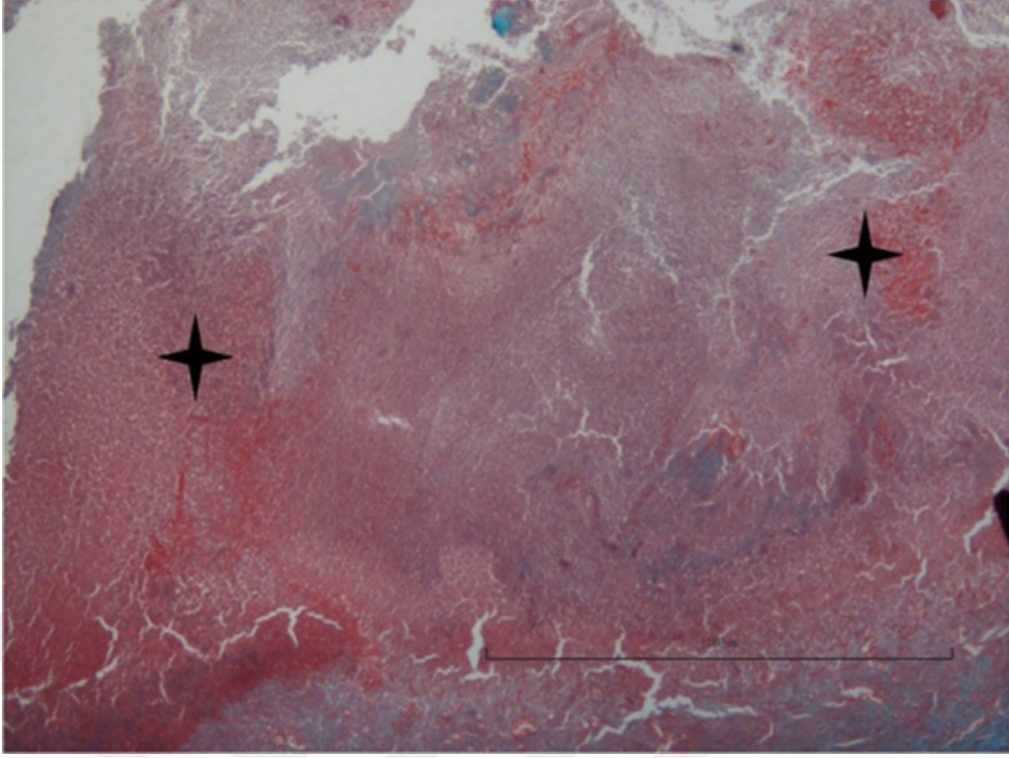


**Şekil 4.19.** CsA+RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), kemik trabekülü (ok), nekroz ve granulasyon dokusu (dört nokta yıldız). H-E, X4.

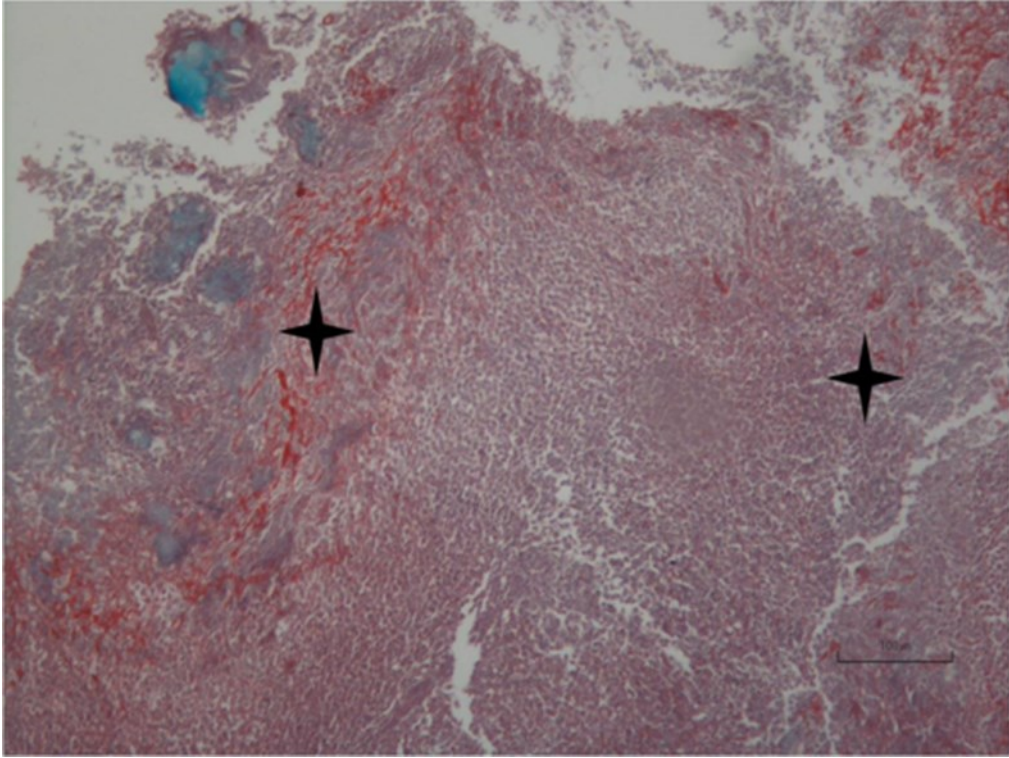


**Şekil 4.20.** CsA+RSVL-14 grubu; Granulasyon dokusu (yıldız). H-E, X10.

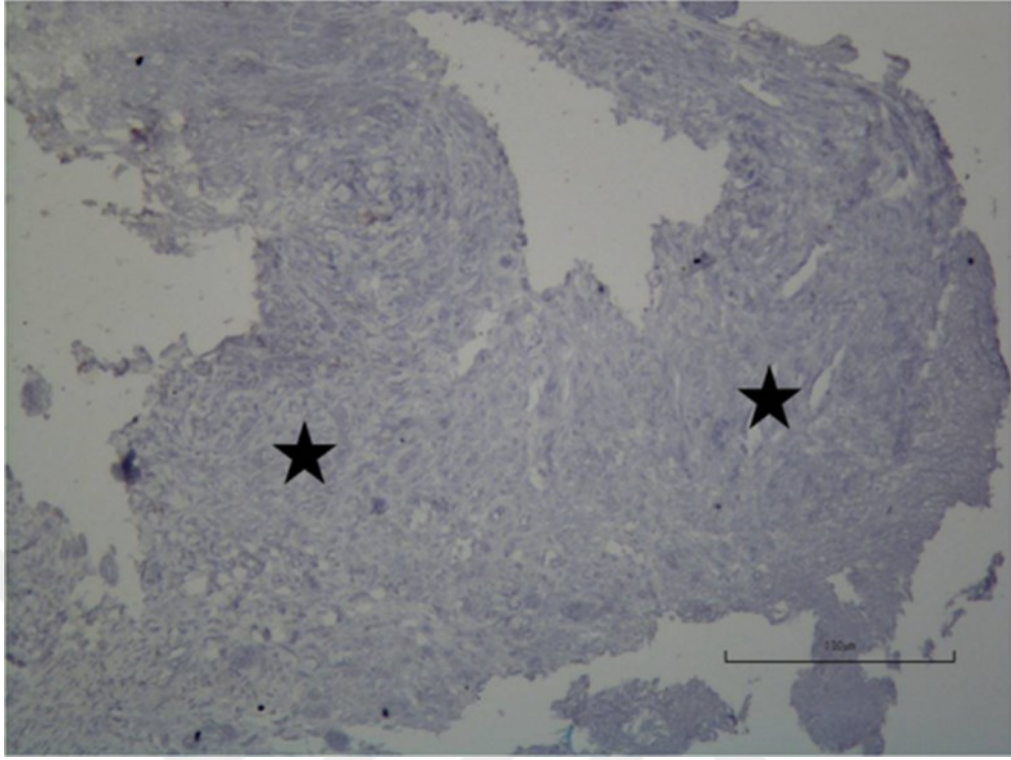




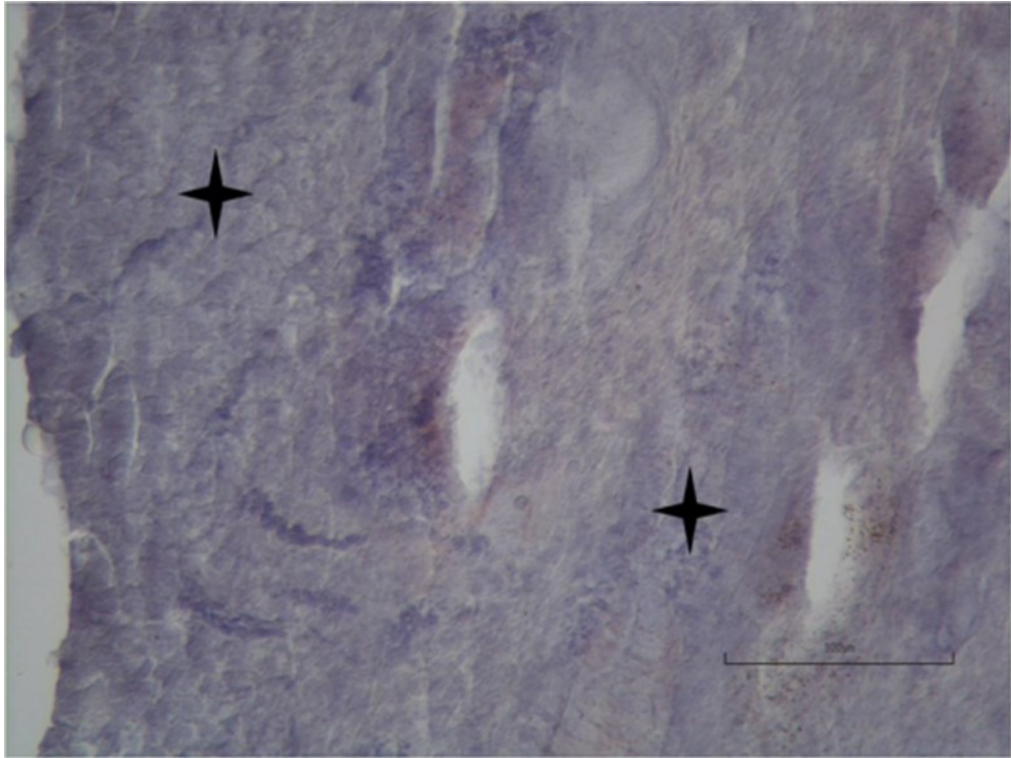
**Şekil 4.21.** CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız).  
Trikrom, X4.



**Şekil 4.22.** CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız).  
Trikrom, X10.



**Şekil 4.23.** CsA+RSVL-14 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20.



**Şekil 4.24.** CsA+RSVL-14 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20.

#### 4.1.2. 28. Günde Sakrifiye Edilen Grupların Histolojik Bulguları

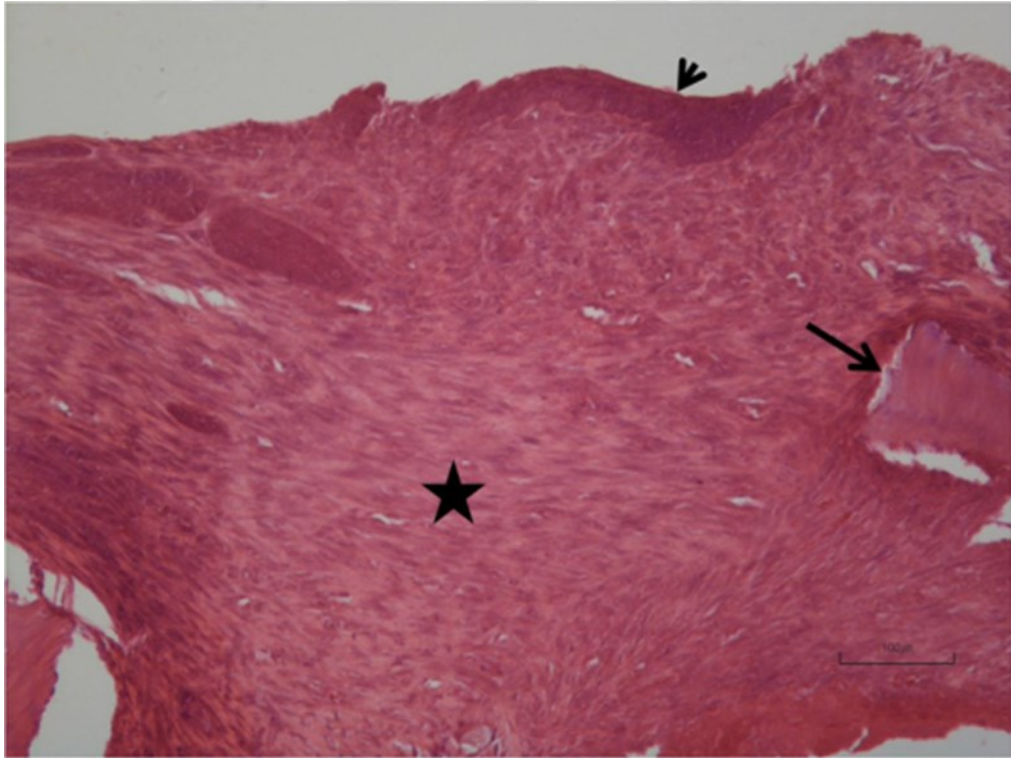
28. günde sakrifiye edilen grupların histopatolojik bulguları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. 28. günde sakrifiye edilen grupların histolojik bulguları.

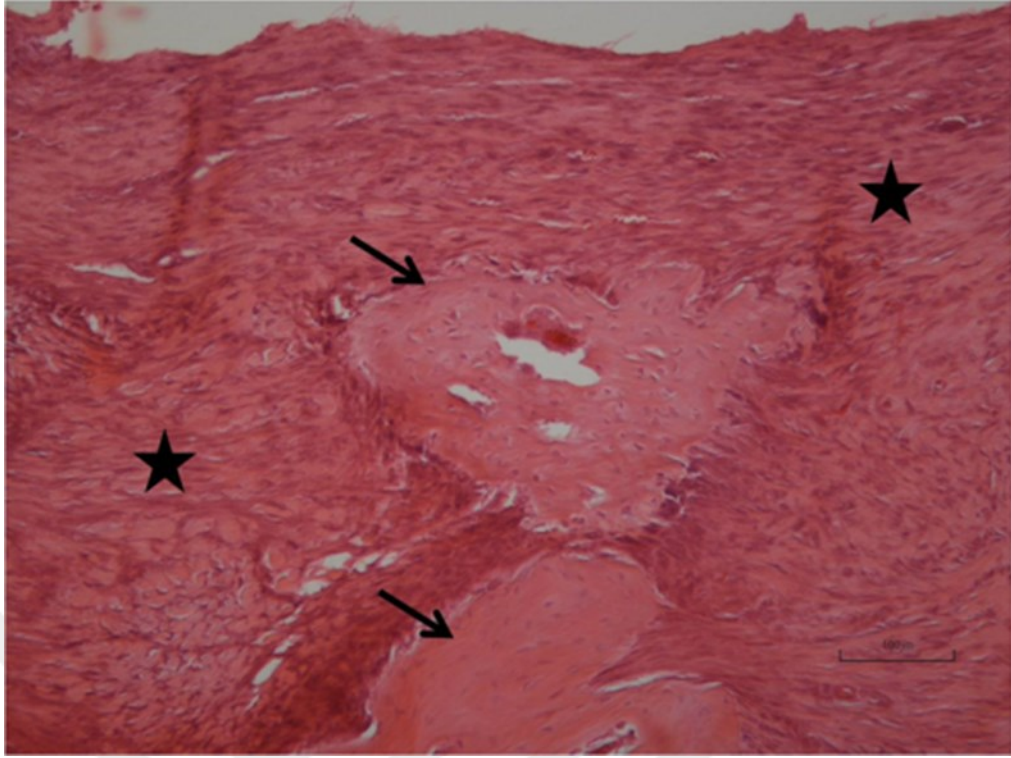
Grup	Çekimden sonra 28. gün					
	İnflamasyon	Epitelizasyon	Bağ Doku	Kemik Doku	H skoru (osteokalsin)	H skoru (osteopontin)
Kontrol-1	2	0	3	1	30	30
Kontrol-2	1	1	2	2	30	80
Kontrol-3	1	2	2	1	40	30
Kontrol-4	2	0	2	1	30	40
Kontrol-5	1	1	3	1	40	30
Kontrol-6	1	1	3	1	20	80
Kontrol-7	1	2	2	0	30	30
Kontrol-8	2	1	2	1	30	30
Kontrol-9	1	1	2	1	30	30
CsA-1	2	0	1	0	0	0
CsA-2	2	0	1	1	0	0
CsA-3	1	0	1	0	0	10
CsA-4	2	1	2	0	20	0
CsA-5	2	0	1	0	0	0
CsA-6	2	0	2	1	0	10
CsA-7	2	0	2	1	0	0
CsA-8	1	1	1	0	10	0
CsA-9	2	0	1	0	0	0
RSVL-1	2	2	2	2	90	60
RSVL-2	1	1	2	1	120	90
RSVL-3	1	3	3	1	120	120
RSVL-4	0	1	2	1	120	120
RSVL-5	1	2	2	2	90	120
RSVL-6	1	3	3	2	120	120
RSVL-7	0	2	2	1	60	60
RSVL-8	0	2	2	2	60	80
RSVL-9	1	1	2	1	120	60
CsA+RSVL-1	2	1	2	0	20	60
CsA+RSVL-2	1	0	2	1	20	40
CsA+RSVL-3	2	0	1	0	40	60
CsA+RSVL-4	2	0	1	0	30	60
CsA+RSVL-5	2	1	2	0	20	40
CsA+RSVL-6	2	0	2	1	10	20
CsA+RSVL-7	2	0	2	1	30	120
CsA+RSVL-8	1	1	2	1	20	80
CsA+RSVL-9	1	1	1	1	10	20



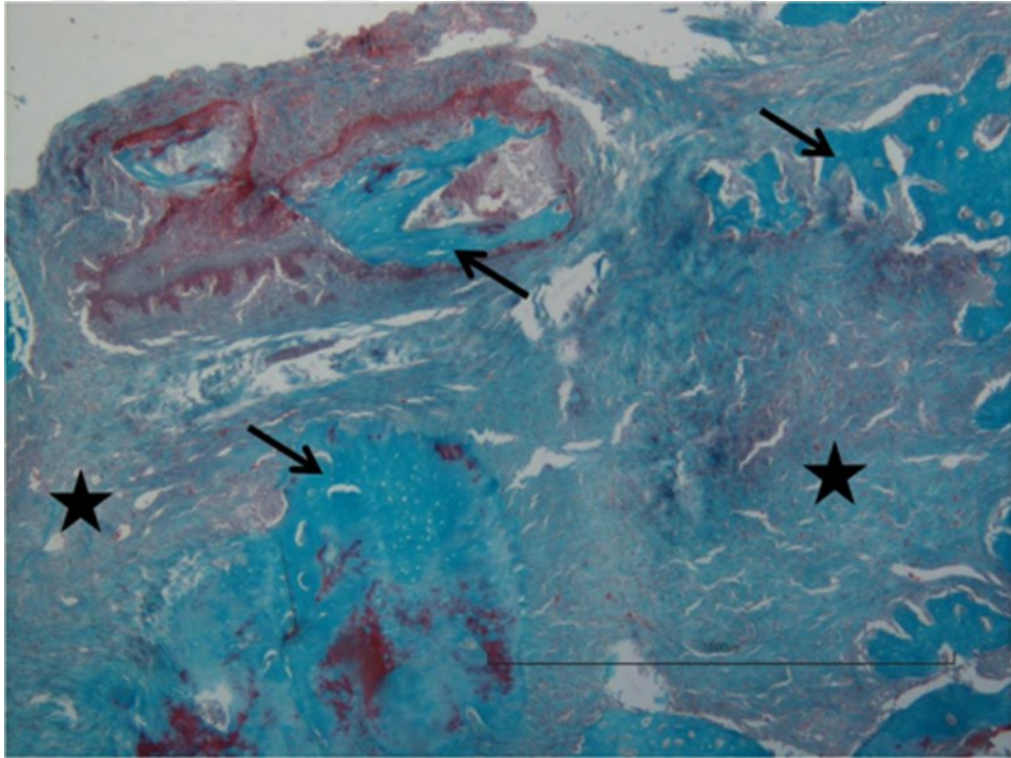
**Kontrol 28. gün grubu:** Hematoksilen-eosin boyanan kesitlerin çoğunda diş soket alanının 2/3 bazal bölgesinin fibröz bağ dokusu yapısında olduğu, 1/3 apikal bölgesinde ise fibröz bağ dokusu ile birlikte granülasyon dokusunun varlığı tespit edildi. Soket alanı içinde granülasyon dokusu ağırlığı ile paralel artış gösteren minimal ve yer yer orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rastlandı. Kesitlerde soket alanı yüzeyinde minimal ve orta derecede epitelizasyon izlenmekle birlikte iki kesitte epitelizasyon izlenmedi. Ağırlıklı olarak soket alanı bazal bölgesinde yer yer de 2/3 yüzeysel alana kadar uzanan kemik trabeküllerine rastlandı (Şekil 4.25 ve Şekil 4.26). Trikrom ile boyanan kesitlerde soket alanı bazal bölgelerinde fibröz bağ dokusunun ağırlıkta olduğu ancak yüzeye yakın alanlarda hücresel yoğunluğun arttığı görüldü. Kemik trabekülleri mavi-yeşil renkte primer kemik yapısında izlendi (Şekil 4.27 ve Şekil 4.28). İmmunhistokimyasal osteokalsin ve osteopontin boyanan preparatlarda osteokalsin (Şekil 4.29) ve osteopontin (Şekil 4.30) immumreaktivitesi pozitif alanlar kırmızı-kahve renkte boyanmıştı.



**Şekil 4.25.** Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizasyon (ok başı). H-E, X10.

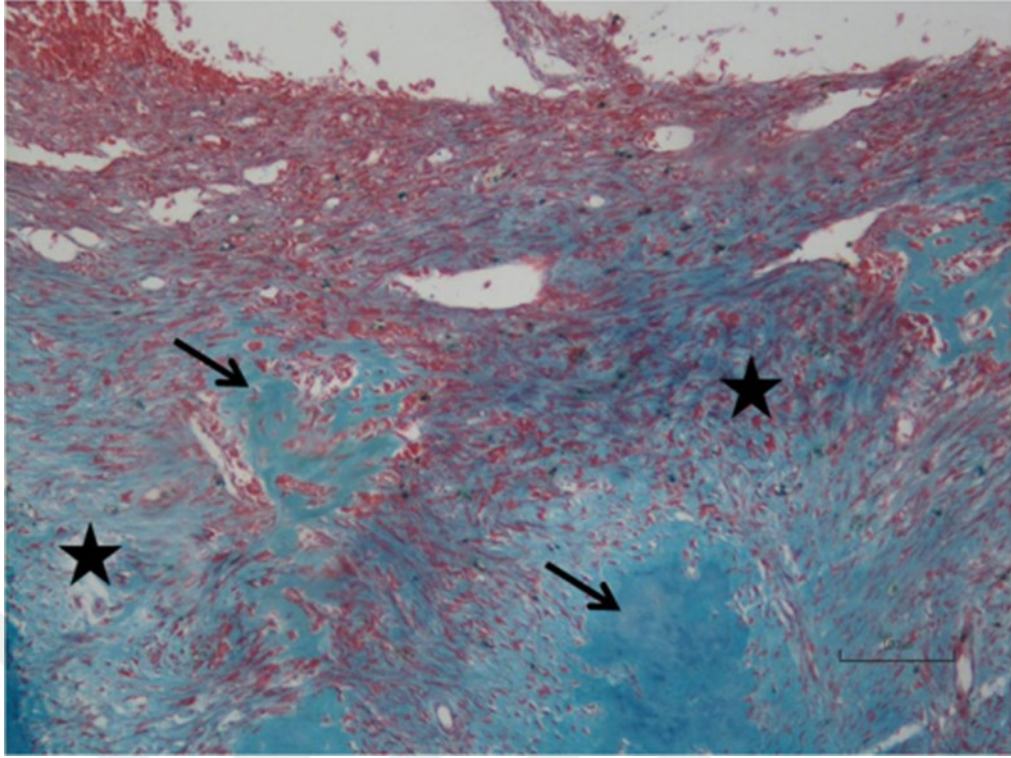


Şekil 4.26. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), H-E, X10.

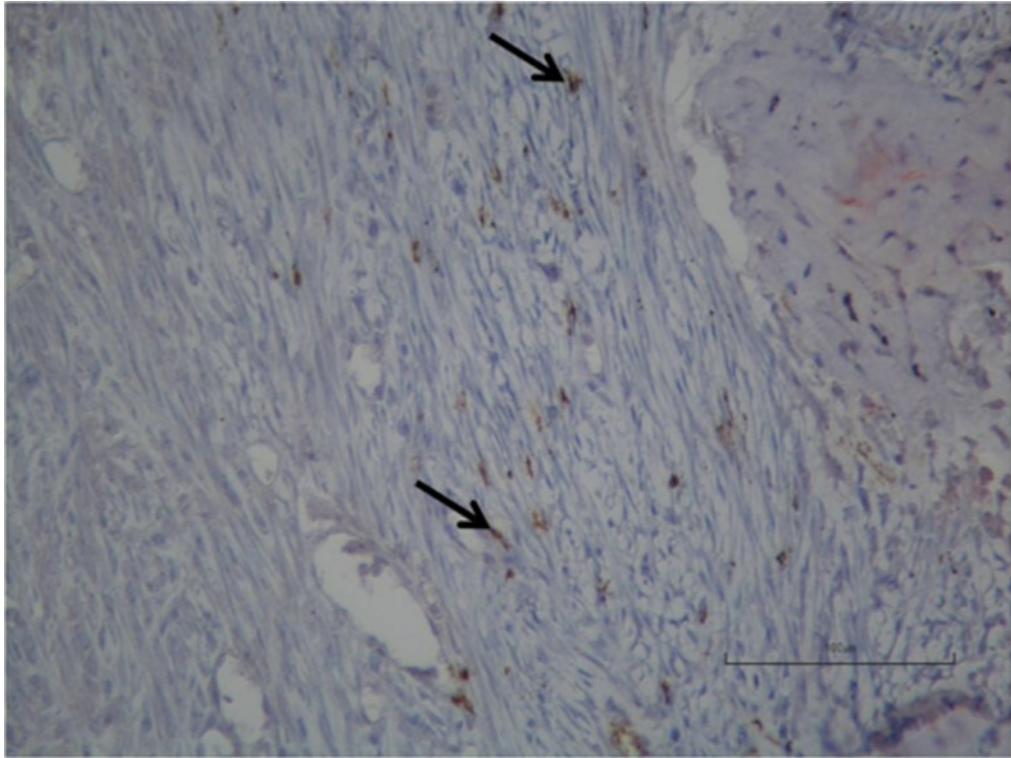


Şekil 4.27. Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X4.



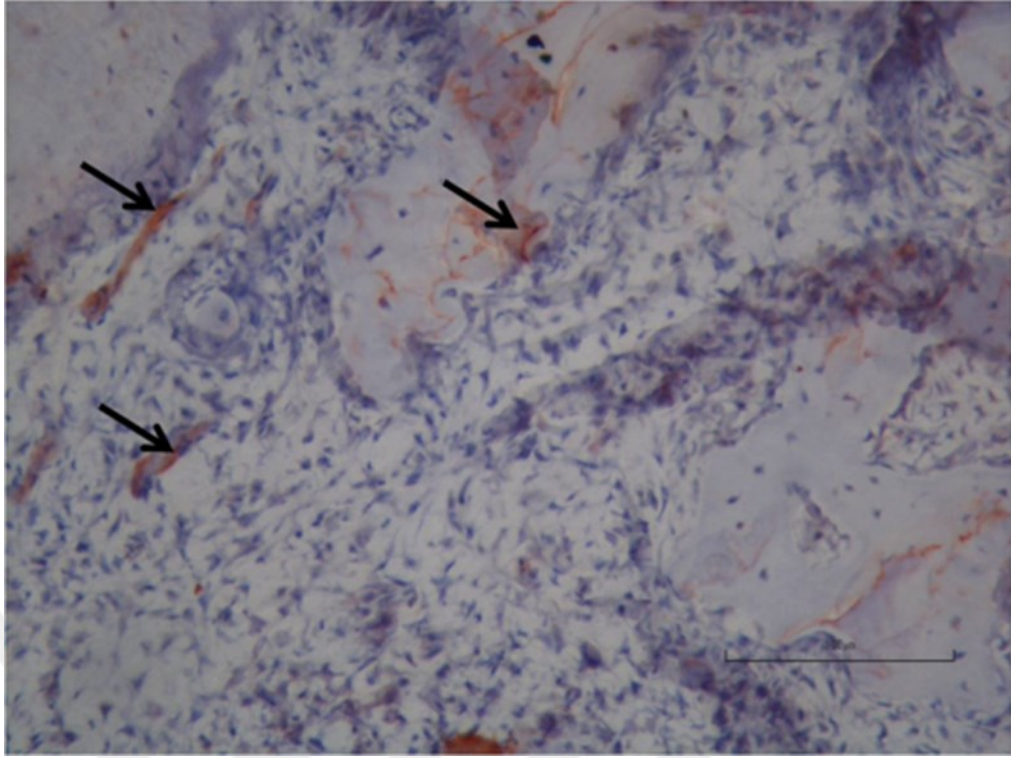


**Şekil 4.28.** Kontrol-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikrom, X10.



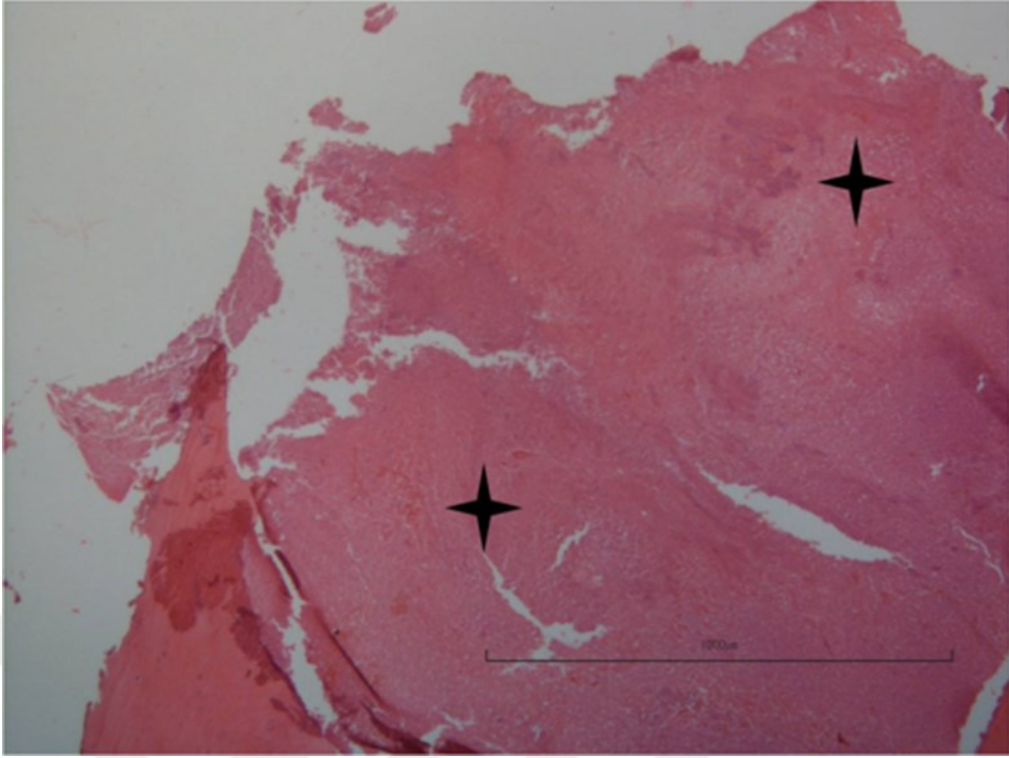
**Şekil 4.29.** Kontrol-28 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.



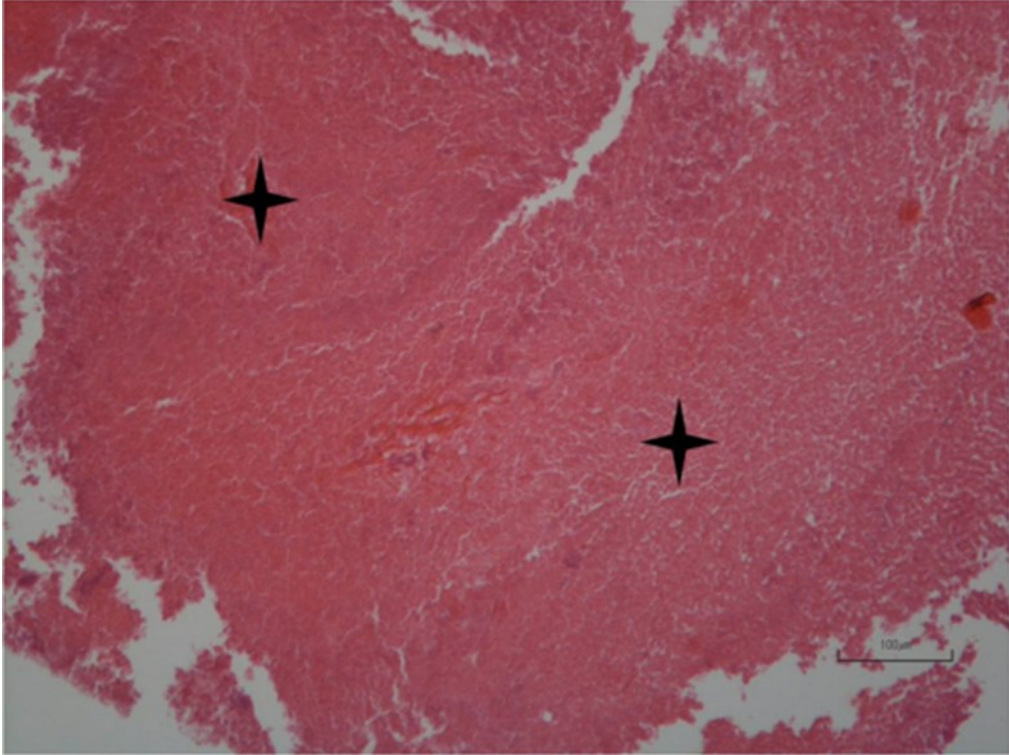


**Şekil 4.30.** Kontrol-28 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.

**CsA 28. gün grubu:** Hematoksilen-eosin boyanan kesitlerin çoğunluğunda soket alanlarının büyük kısmının granülasyon dokusu ile dolu olduğu görüldü. Bazı kesitlerde soket alanını dolduran granülasyon dokusu yüzeyel bölgelerde nekrotik yapıda izlendi. Kesitlerde soket alanı bazal bölgelerinde dar alanlar şeklinde fibröz bağ dokusu izlendi. Fibröz bağ dokusu ve granülasyon dokusu alanlarında genel olarak orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Tek bir kesitte soket alanı yüzeyinde küçük epitelizasyon alanı izlendi. Birkaç kesitte soket alanı bazal bölgesinde küçük kemik trabekülleri tespit edildi (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32). Trikrom boyanan kesitlerde soket alanı bazal bölgelerinde fibröz bağ dokusu mavi-yeşil, granülasyon dokusu kırmızı renkte izlendi (Şekil 4.33 ve Şekil 4.34). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin ve osteopontin boyama yapılan preparatlarda nadir olarak osteokalsin (Şekil 4.35) ve osteopontin (Şekil 4.36) immumreaktivitesi zayıf pozitif alanlar izlendi.

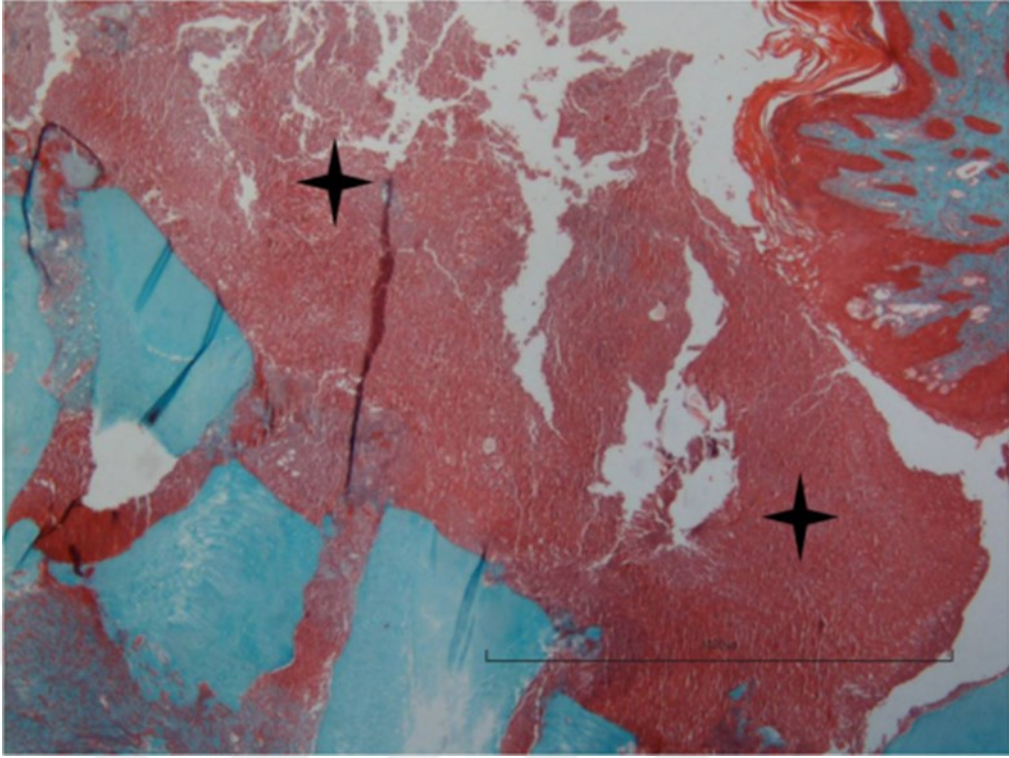


Şekil 4.31. CsA-28 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). H-E, X4.

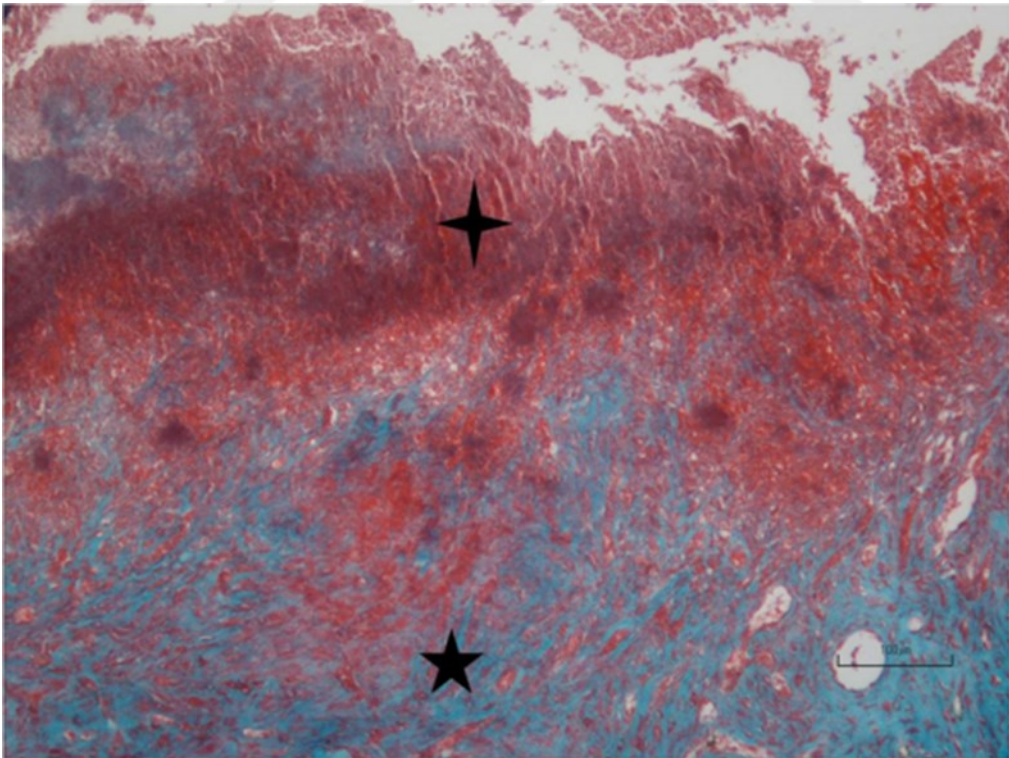


Şekil 4.32. CsA-28 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). H-E, X10.

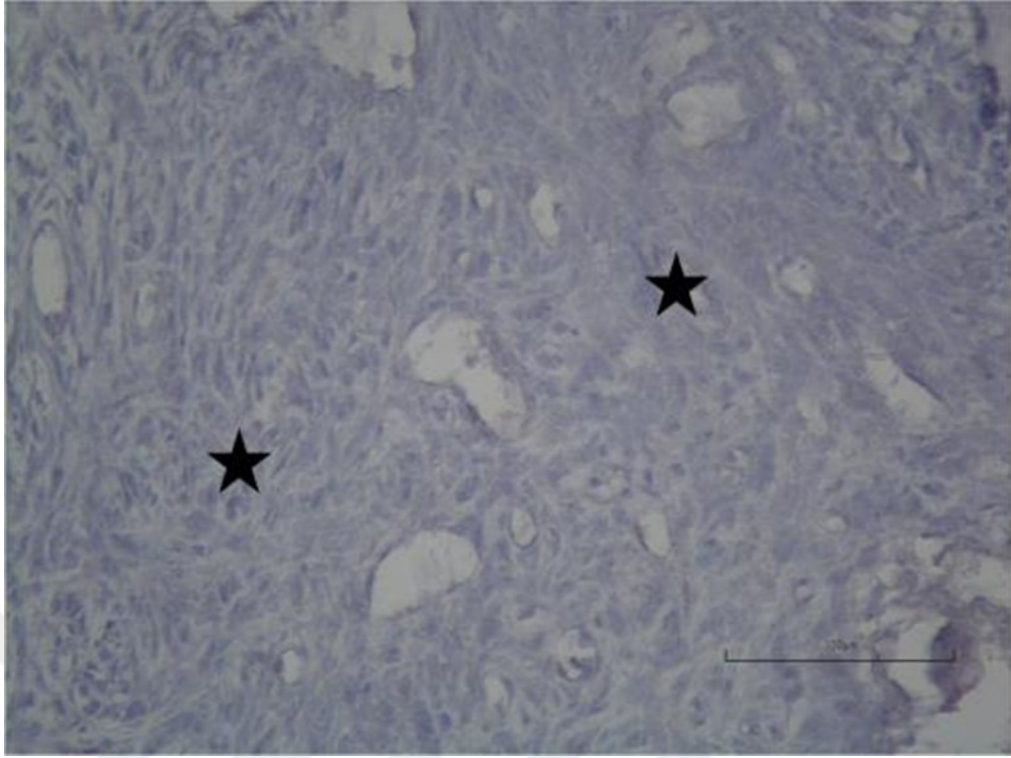




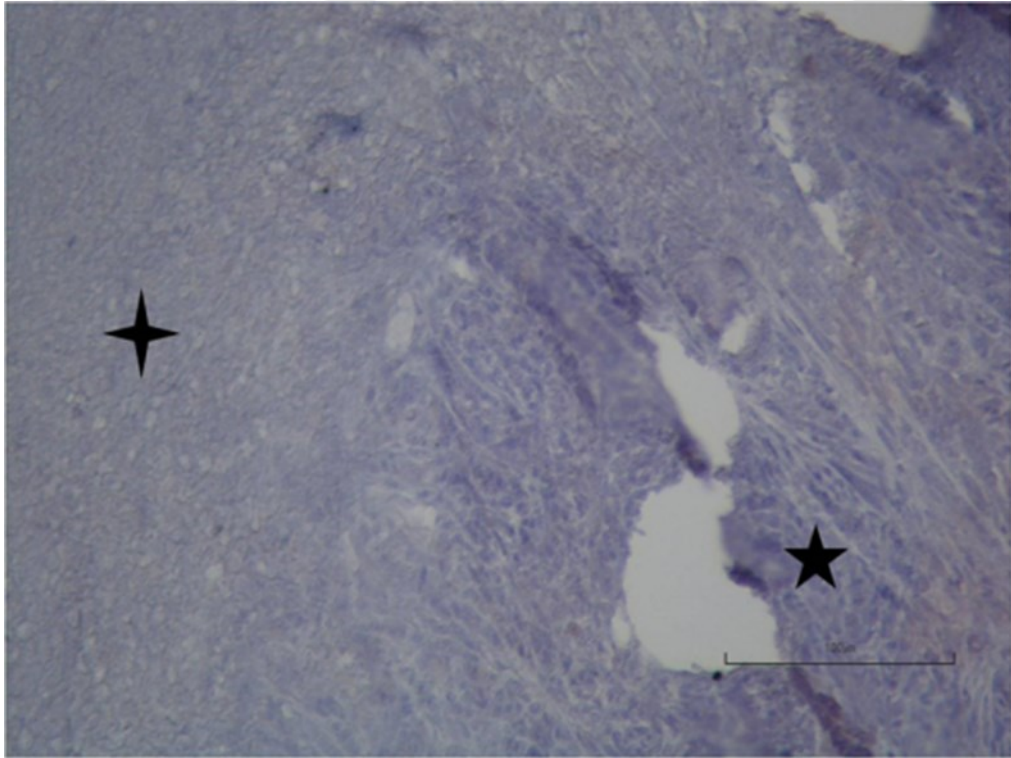
Şekil 4.33. CsA-28 grubu; Nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X4.



Şekil 4.34. CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), nekroz ve granulasyon dokusu (yıldız). Trikrom, X10.



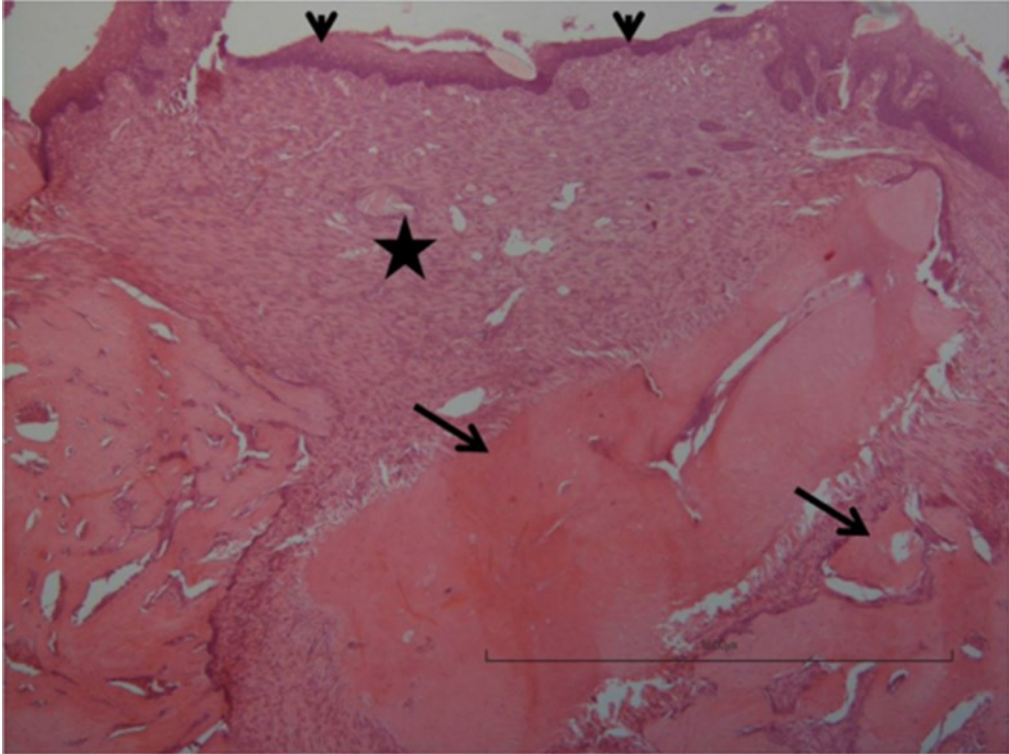
**Şekil 4.35.** CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi negatif. İHK, X20.



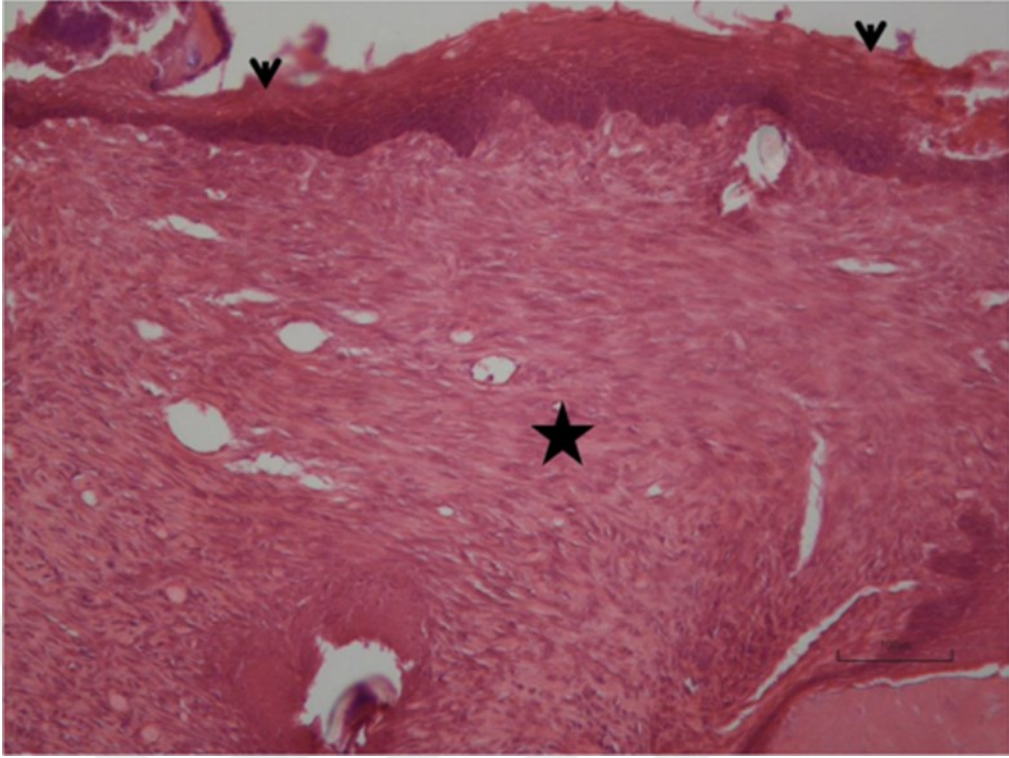
**Şekil 4.36.** CsA-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (beş nokta yıldız), osteopontin reaktivitesi negatif. İHK, X20.



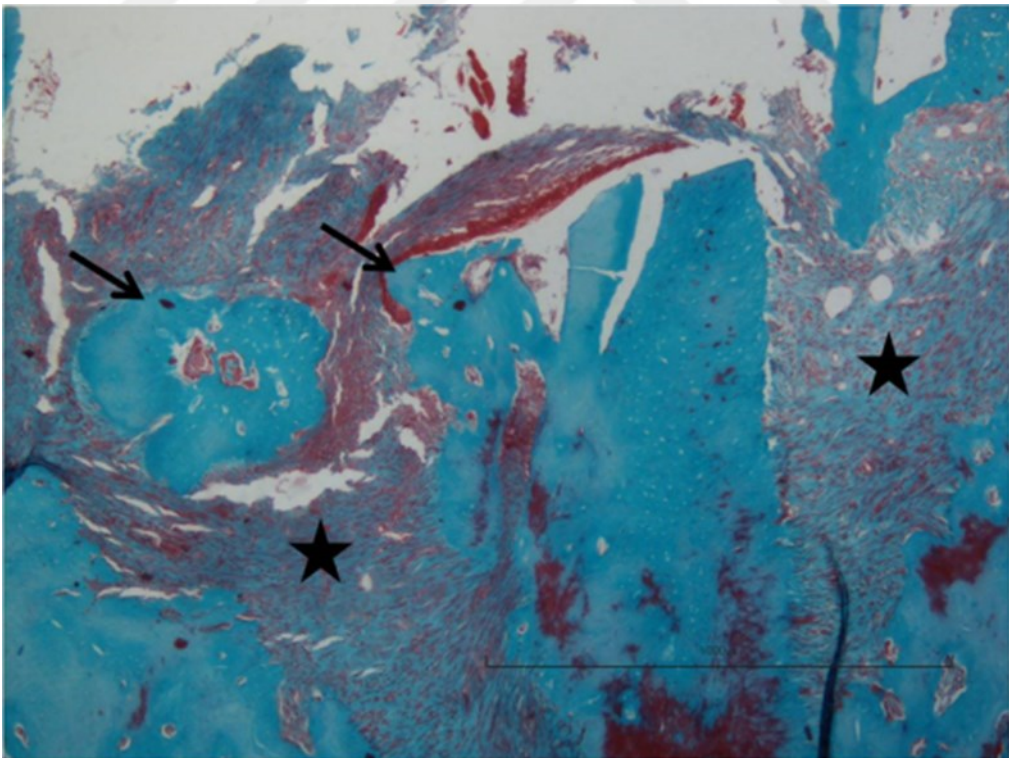
**RSVL 28. gün grubu:** Hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerin bir kısmında diş soket alanlarının 2/3 bazal kısımlarının bir kısmında ise tüm soket alanının fibröz bağ dokusu yapısında olduğu görüldü. Diş soket alanındaki bağ dokusu içerisinde kemik trabeküllerinin diğer tüm gruplardakinden daha fazla alan kapladığı izlendi. Soket alanı içerisinde özellikle yüzeye yakın alanlarda yer yer minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edildi. Bazı kesitlerde soket alanı yüzeyinin tamamen, bazı kesitlerde ise 2/3 yüzey alanının çok katlı yassı epitel ile örtüldüğü izlendi. Kesitlerin tümünde soket alanı bazal bölgelerinde daha yoğun olmak üzere yer yer yüzeye yakın bölgelerde geniş kemik trabekülleri mevcuttu (Şekil 4.37 ve Şekil 4.38). Trikrom ile boyanan kesitlerde soket alanlarının ağırlıklı olarak mavi-yeşil renkte boyanan kollajenden zengin fibröz bağ dokusu ve primer kemik yapısındaki trabeküller ile dolu olduğu görüldü. (Şekil 4.39 ve Şekil 4.40). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin (Şekil 4.41) ve osteopontin (Şekil 4.42) boyanan preparatlarda osteokalsin ve osteopontin immumreaktivitesi pozitif alanlar kırmızı-kahve renkte boyanmış olarak izlendi.



**Şekil 4.37.** RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), epitelizasyon (ok başı). H-E, X4.

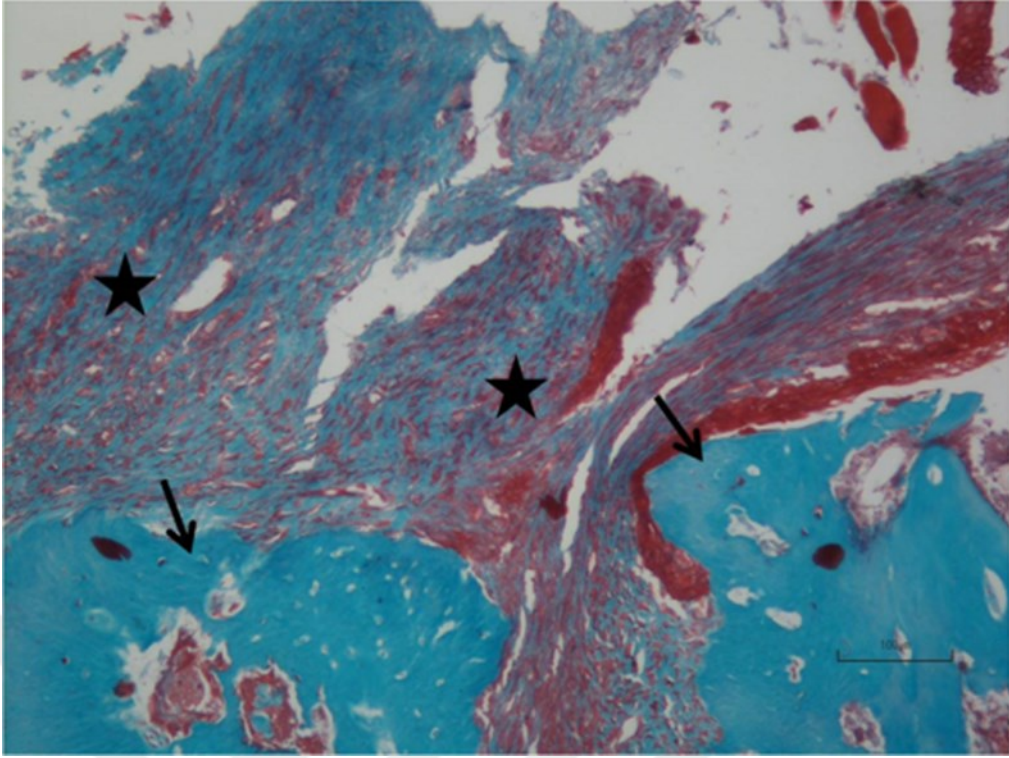


**Şekil 4.38.** RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), epitelizasyon (ok başı). H-E, X10.

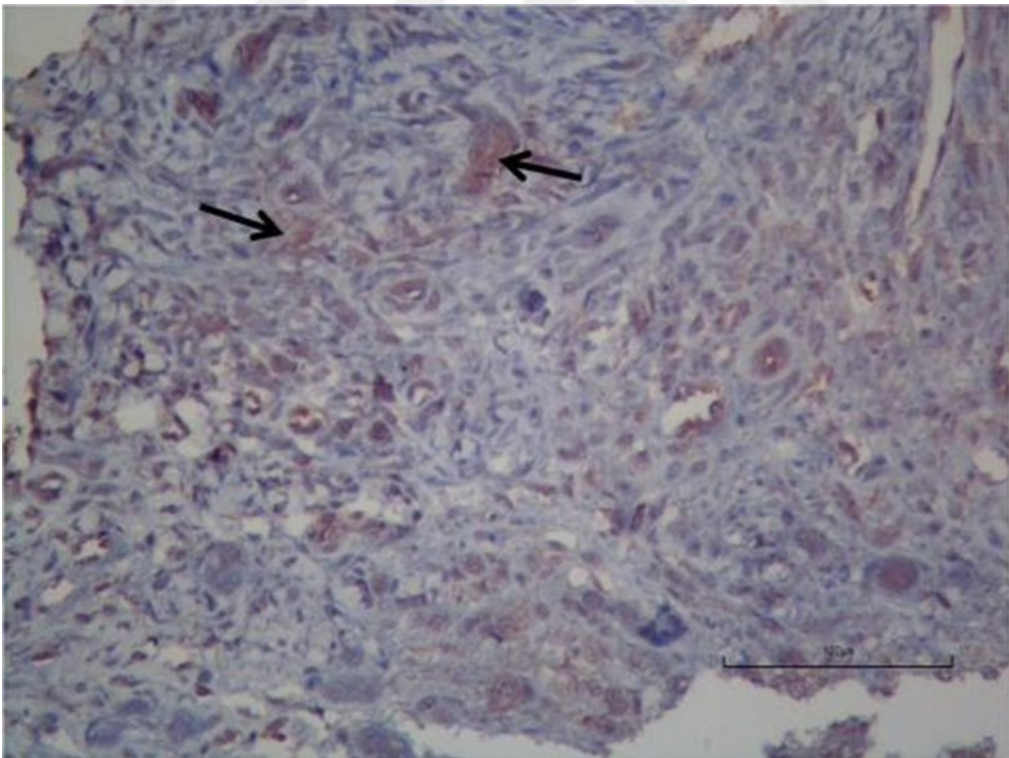


**Şekil 4.39.** RVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok),. Trikrom, X4.

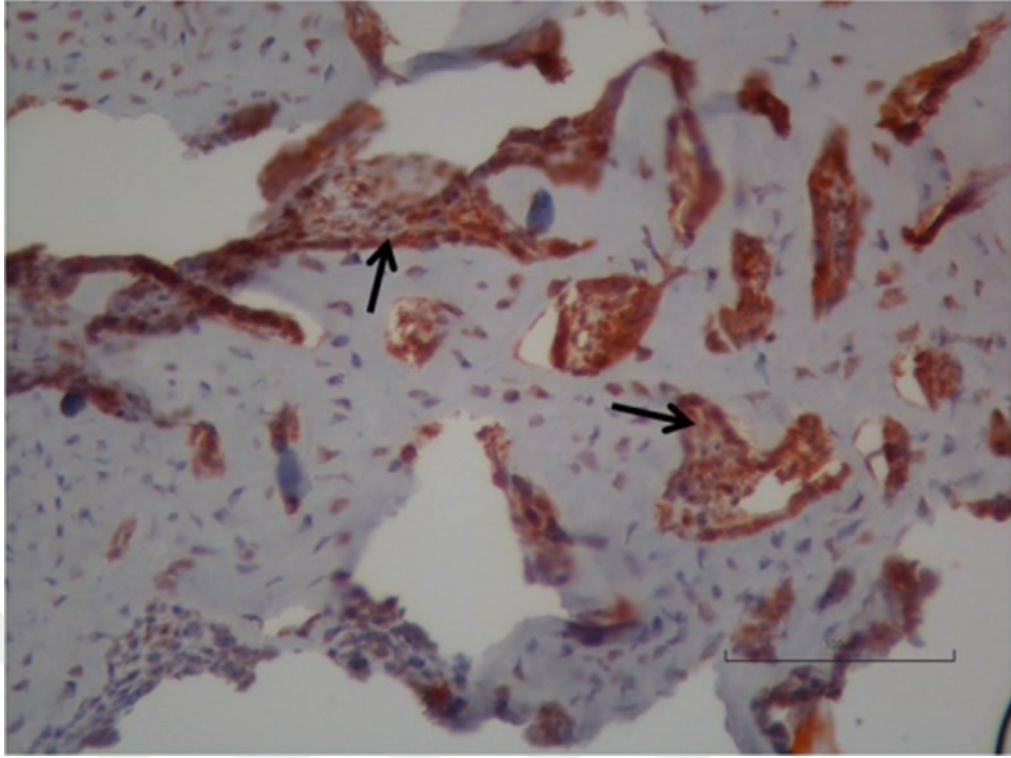




Şekil 4.40. RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok), Trikom, X10.



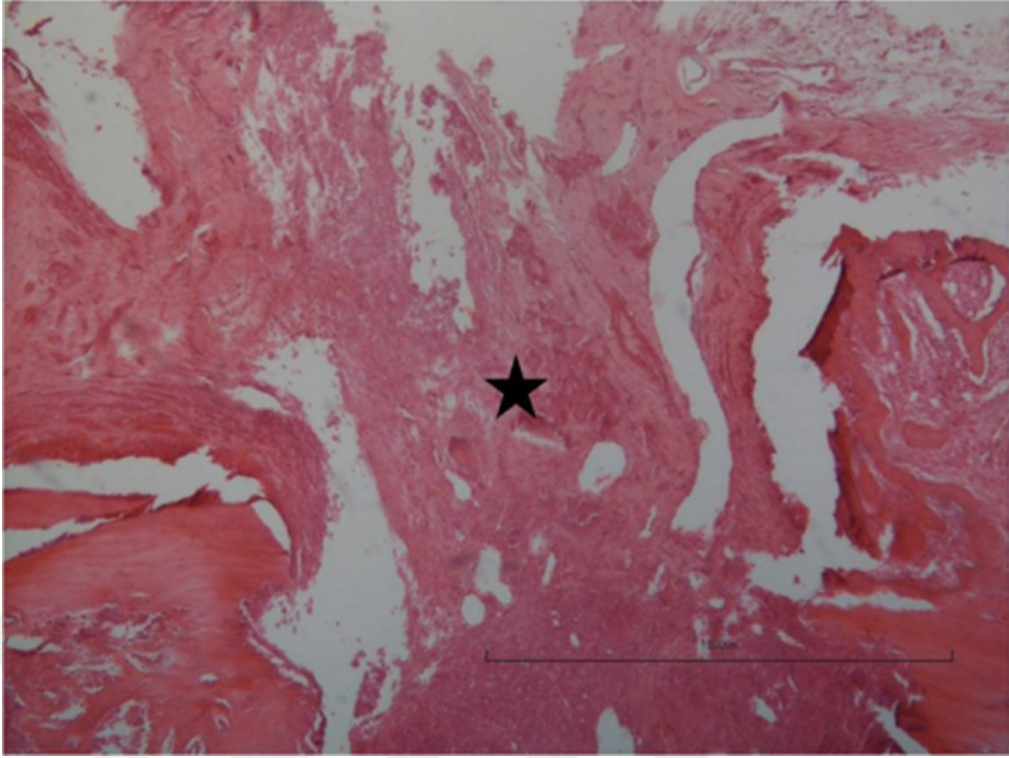
Şekil 4.41. RSVL-28 grubu; Osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.



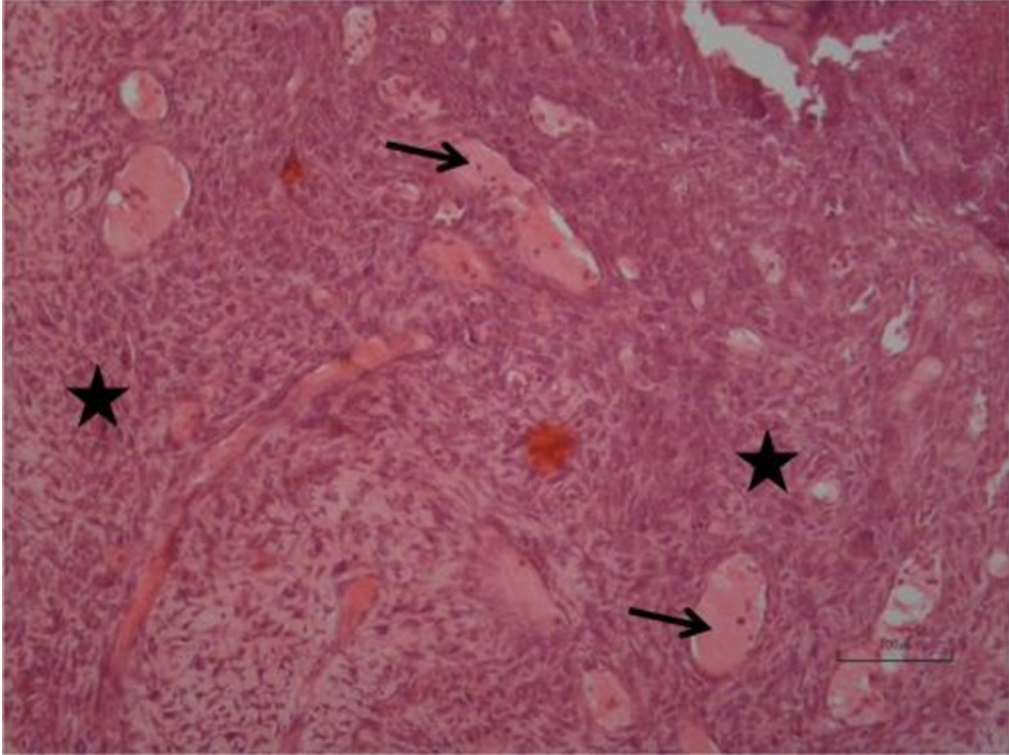
**Şekil 4.42.** RSVL-28 grubu; Osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.

**CsA+RSVL 28. gün grubu:** Hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerin tümünde, diş soket alanlarının bazal bölümlerinde hücreden zengin fibröz bağ dokusu, apikal bölümlerinde ise genel olarak orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren granülasyon dokusu ile dolu olduğu görüldü. Granülasyon dokusu içinde yer yer nekrotik odaklar izlendi. Bu gruptaki üç kesitte soket alanı yüzeyi kenar bölgelerinde minimal olarak skorlanan epitelizasyon alanları saptandı. Birkaç kesitte soket alanı taban kısımlarında, yer yer de orta tabakaya kadar uzanan küçük kemik trabeküllerine rastlandı (Şekil 4.43 ve Şekil 4.44). Trikrom ile boyanan kesitlerde fibröz bağ dokusunun genellikle hücreden zengin olduğu ve zayıf mavi-yeşil renkte boyandığı görüldü. Kemik trabekülleri primer kemik yapısında olup mavi-yeşil renkte izlendi (Şekil 4.45 ve Şekil 4.46). İmmunhistokimyasal olarak osteokalsin (Şekil 4.47) ve osteopontin (Şekil 4.48) boyamaları uygulanan preparatlarda osteokalsin ve osteopontin immumreaktivitesi pozitif alanlar kırmızı-kahve renkte izlendi.

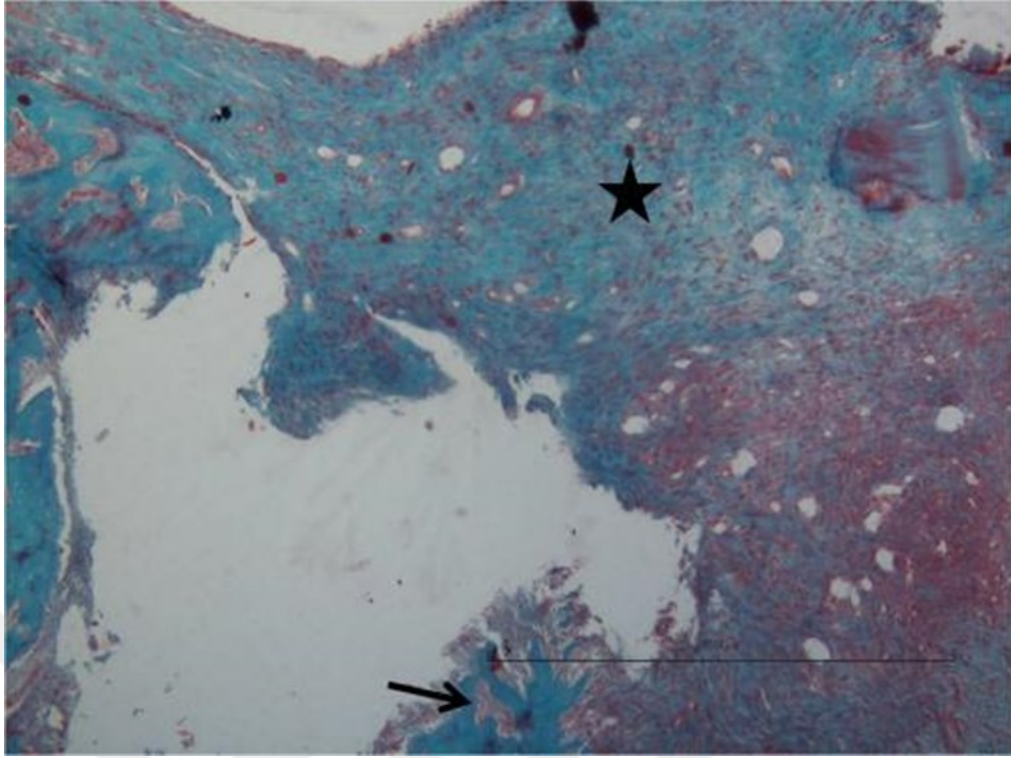




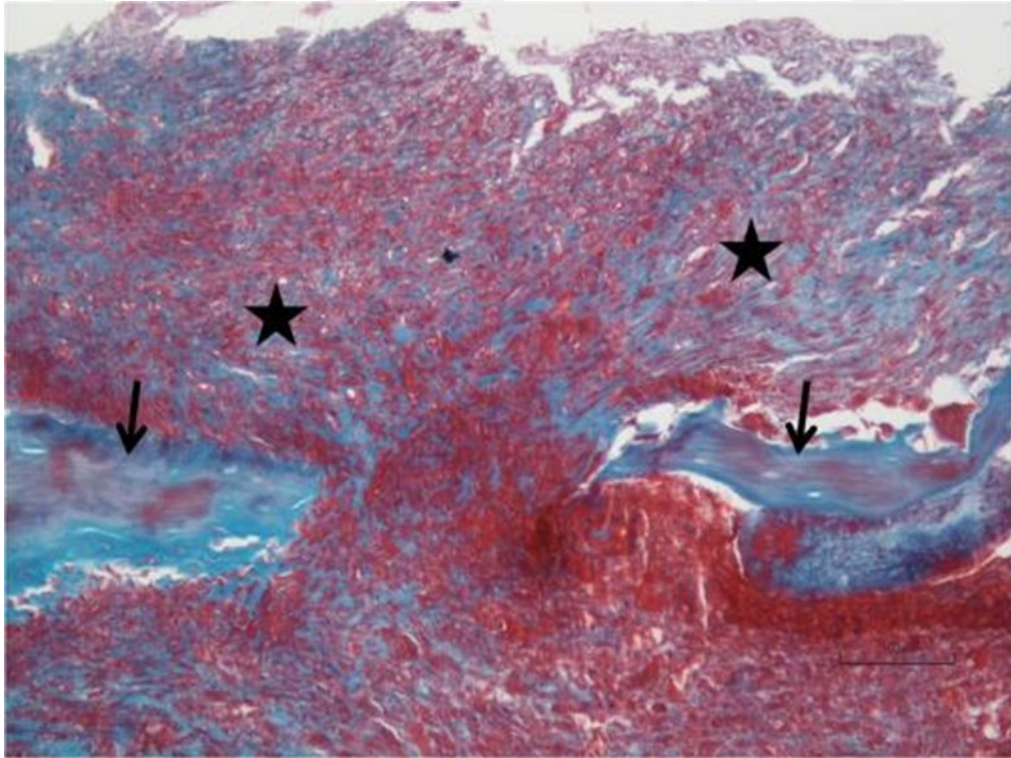
**Şekil 4.43.** CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız). H-E, X4.



**Şekil 4.44.** CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). H-E, X10.

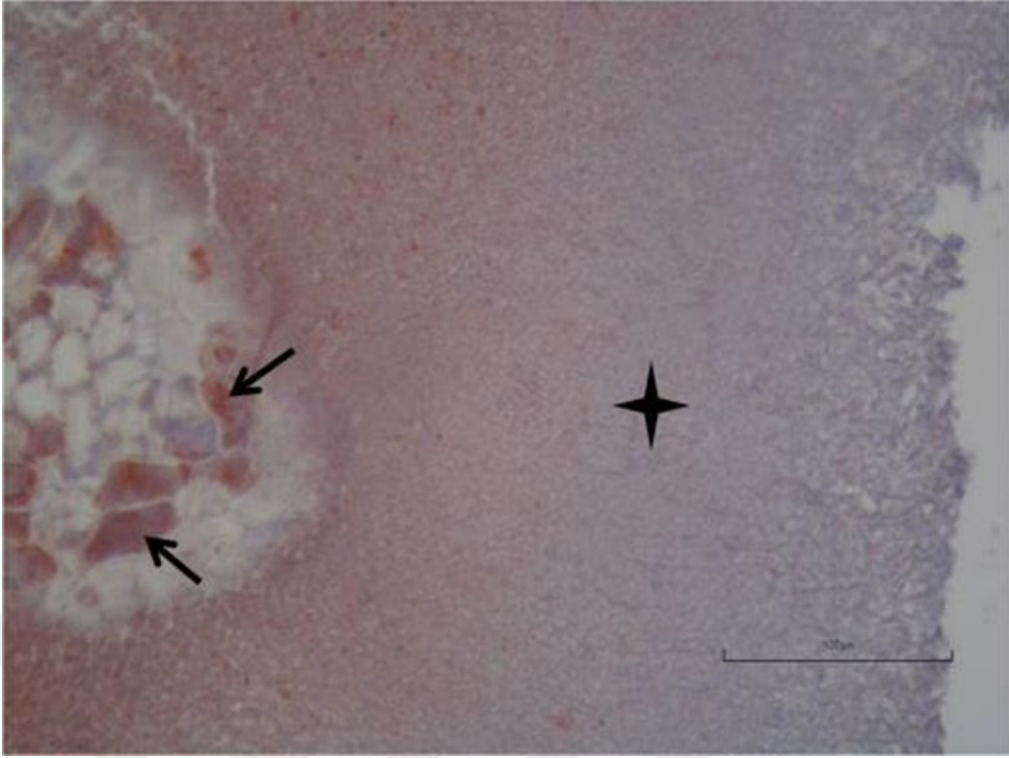


**Şekil 4.45.** CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikróm, X4.

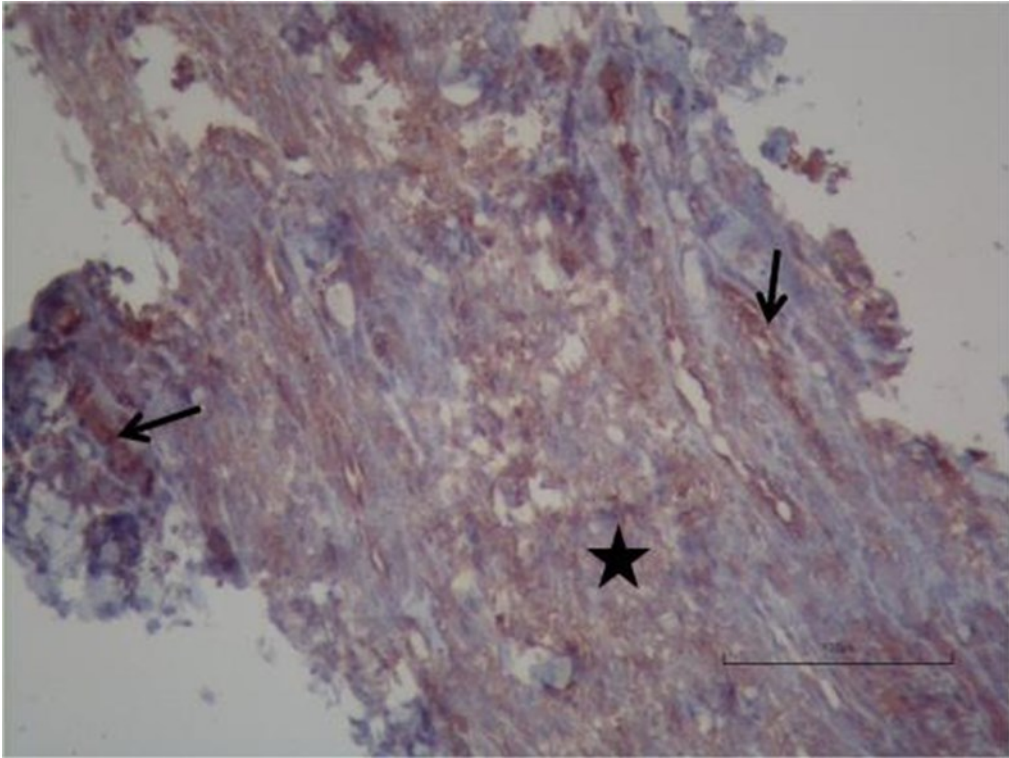


**Şekil 4.46.** CsA+RSVL-28 grubu; Fibröz bağ dokusu (yıldız), kemik trabekülü (ok). Trikróm, X10.





**Şekil 4. 47.** CsA+RSVL-28 grubu; Granulasyon dokusu (yıldız), osteokalsin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.



**Şekil 4.48.** CsA+RSVL-28 grubu; Granulasyon dokusu (yıldız), osteopontin reaktivitesi pozitifliği (ok). İHK, X20.

### 4.1.3. Histolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi

Her grup kendi içinde ve diğer tüm gruplarla, inflamasyon, epitelizasyon, bağ doku ve yeni kemik yapımı varlığı açısından değerlendirildiğinde, Tablo 4.3'te belirtilen sonuçlar elde edildi.

Gruplar arasında 14. gün inflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.038$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; CsA grubunun 14. gün inflamasyon düzeyi, Kontrol ( $p:0.048$ ) ve RSVL ( $p:0.029$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 14. gün inflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Gruplar arasında 28. gün inflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.007$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 28. gün inflamasyon düzeyi, CsA ( $p:0.004$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.010$ ) gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 28. gün inflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubunda; 14. gün ve 28. gün inflamasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.065$ ;  $p>0.05$ ).

CsA grubunda; 14.gün inflamasyon düzeyi, 28. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.048$ ;  $p<0.05$ ).

RSVL grubunda; 14. gün inflamasyon düzeyi, 28. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.010$ ;  $p<0.05$ ).

CsA+RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün inflamasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.065$ ;  $p>0.05$ ) (Şekil 4.49).

Tablo 4.3. Histolojik ölçümlere ilişkin değerlendirmeler

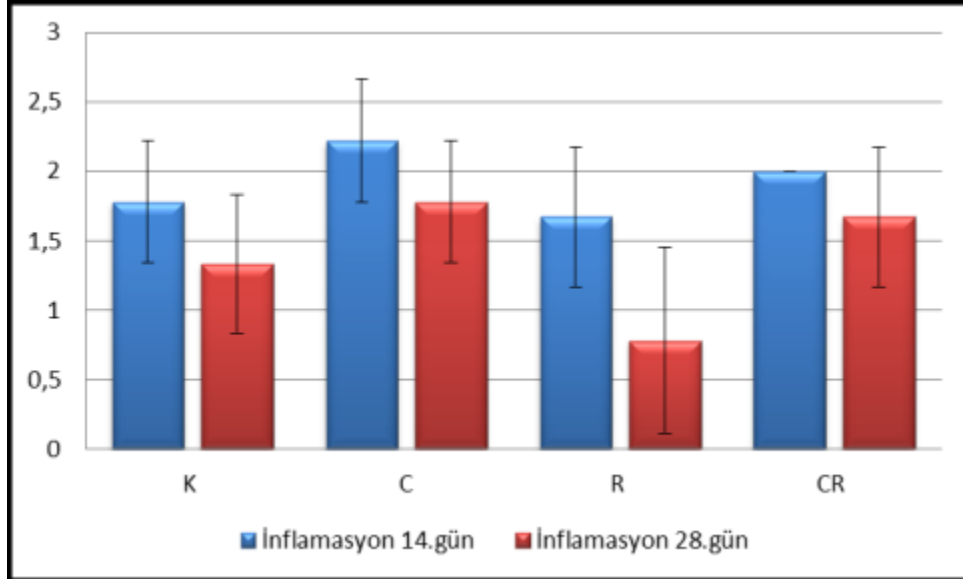
		K (n=9) Ort±SS (medyan)	C (n=9) Ort±SS (medyan)	R (n=9) Ort±SS (medyan)	CR (n=9) Ort±SS (medyan)	<sup>1</sup> p
İnflamasyon	14.gün	1,78±0,44 (2)	2,22±0,44 (2)	1,67±0,5 (2)	2±0 (2)	<b>0,038*</b>
	28.gün	1,33±0,5 (1)	1,78±0,44 (2)	0,78±0,67 (1)	1,67±0,5 (2)	<b>0,007*</b>
	<sup>2</sup> p	<b>0,065</b>	<b>0,048*</b>	<b>0,010*</b>	<b>0,065</b>	
Epitelizasyon	14.gün	0,44±0,53 (0)	0,11±0,33 (0)	0,67±0,5 (1)	0,22±0,44 (0)	<b>0,075</b>
	28.gün	1±0,71 (1)	0,22±0,44 (0)	1,89±0,78 (2)	0,44±0,53 (0)	<b>0,001*</b>
	<sup>2</sup> p	<b>0,087</b>	<b>0,539</b>	<b>0,003*</b>	<b>0,331</b>	
Bağ Doku	14.gün	2,22±0,44 (2)	1,22±0,44 (1)	2,22±0,44 (2)	1,22±0,44 (1)	<b>0,001*</b>
	28.gün	2,33±0,5 (2)	1,33±0,5 (1)	2,22±0,44 (2)	1,67±0,5 (2)	<b>0,001*</b>
	<sup>2</sup> p	<b>0,609</b>	<b>0,609</b>	<b>1,000</b>	<b>0,065</b>	
Yeni Oluşan	14.gün	0,44±0,53 (0)	0,22±0,44 (0)	1±0 (1)	0,22±0,44 (0)	<b>0,003*</b>
Kemik Doku	28.gün	1±0,5 (1)	0,33±0,5 (0)	1,44±0,53 (1)	0,56±0,53 (1)	<b>0,002*</b>
	<sup>2</sup> p	<b>0,040*</b>	<b>0,609</b>	<b>0,028*</b>	<b>0,159</b>	

<sup>1</sup>Kruskal Wallis Test

<sup>2</sup>Mann Whitney U Test

\* p<0.05

K: kontrol grubu, C:CsA grubu, R:RSVL grubu, CR: CsA+RSVL grubu



Şekil 4.49. 14. ve 28. günlerdeki inflamasyon bulgularının grafiksel analizi

Gruplar arasında 14. gün epitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.075; p>0.05). Gruplar arasında 28. gün epitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili

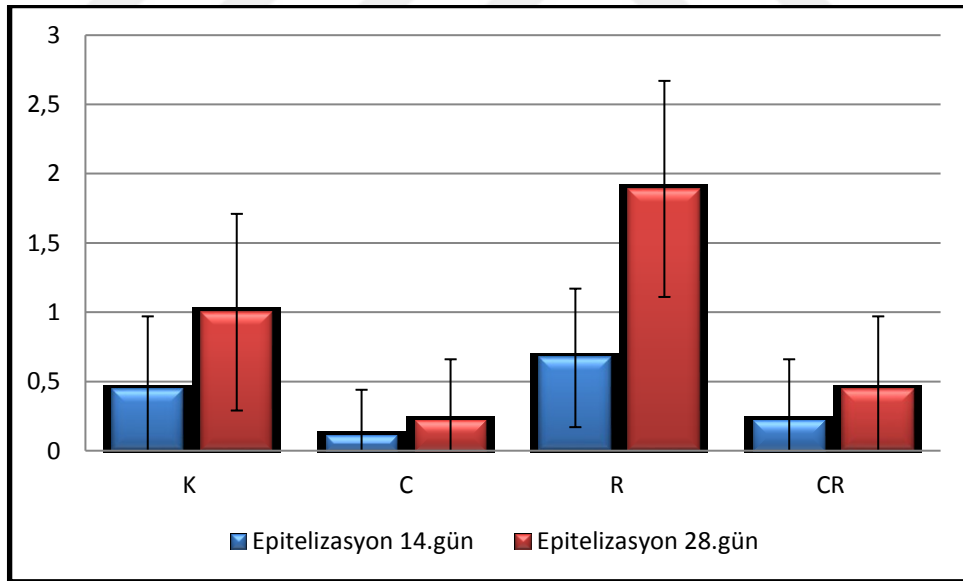
karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 28. gün epitelizasyon düzeyi, Kontrol (p:0.030), CsA (p:0.001) ve CsA+RSVL (p:0.001) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Kontrol grubunun 28. gün epitelizasyon düzeyi, CsA grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.017; p<0.05). Diğer gruplar arasında 28. gün epitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

Kontrol grubunda; 14. gün ve 28. gün epitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.087; p>0.05).

CsA grubunda; 14. gün ve 28. gün epitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.539; p>0.05).

RSVL grubunda; 28. gün epitelizasyon düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir (p:0.003; p<0.05).

CsA+RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün epitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.331; p>0.05) (Şekil 4.50).



**Şekil 4.50.** 14. ve 28. günlerdeki epitelizasyon bulgularının grafiksel analizi.

Gruplar arasında 14. gün bağ doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Kontrol ve RSVL gruplarının 14. gün bağ doku düzeyleri, CsA (p:0.001) ve CsA+RSVL (p:0.001) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Diğer gruplar arasında 14.

gün bağ doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

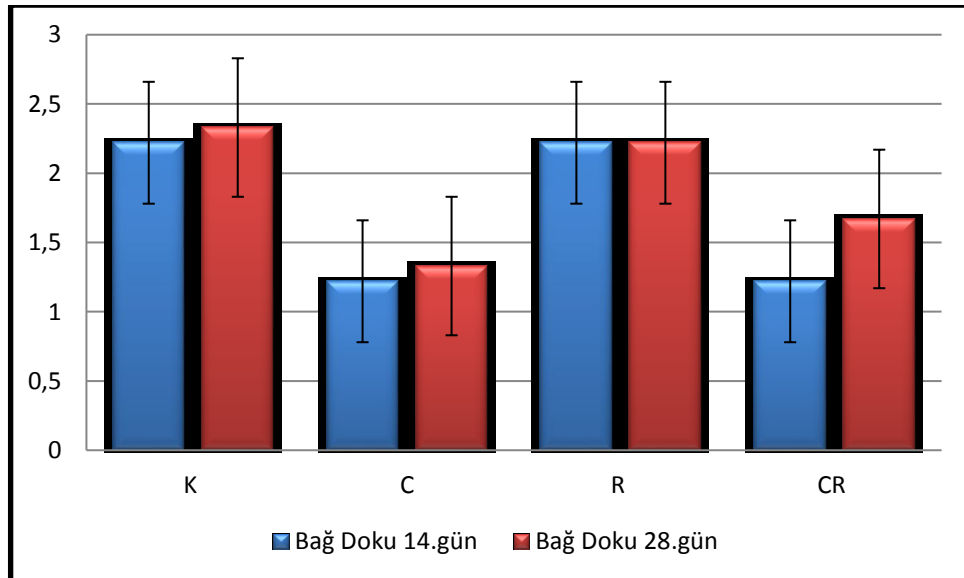
Gruplar arasında 28. gün bağ doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Kontrol grubunun 28. gün bağ doku düzeyi, CsA ( $p:0.002$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.017$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). RSVL grubunun 28. gün bağ doku düzeyi, CsA ( $p:0.003$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.029$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 28. gün bağ doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubunda; 14. gün ve 28. gün bağ doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.609$ ;  $p>0.05$ ).

CsA grubunda; 14. gün ve 28. gün bağ doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.609$ ;  $p>0.05$ ).

RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün bağ doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:1.000$ ;  $p>0.05$ ).

CsA+RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün bağ doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.065$ ;  $p>0.05$ ) (şekil 4.51).



şekil 4.51. 14. ve 28. günlerdeki bağ doku bulgularının grafiksel analizi.

Gruplar arasında 14. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.003$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 14. gün yeni oluşan kemik doku düzeyi, Kontrol ( $p:0.011$ ), CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 14. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Gruplar arasında 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.002$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyi, CsA ( $p:0.002$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.006$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol grubunun 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyi, CsA grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p:0.016$ ;  $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

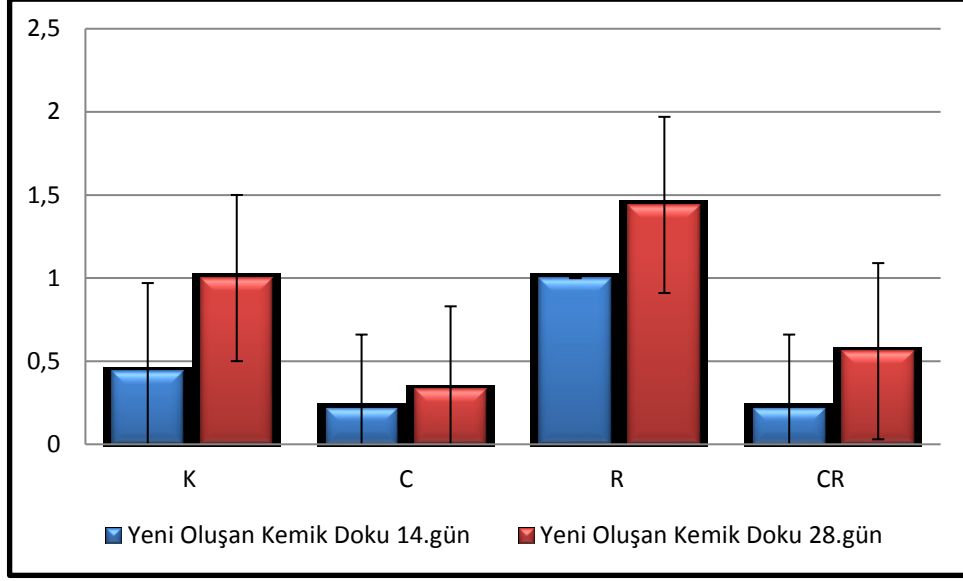
Kontrol grubunda; 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.040$ ;  $p<0.05$ ).

CsA grubunda; 14. gün ve 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.609$ ;  $p>0.05$ ).

RSVL grubunda; 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.028$ ;  $p<0.05$ ).

CsA+RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün yeni oluşan kemik doku düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.159$ ;  $p>0.05$ ) (Şekil 4.52).





**Şekil 4.52.** 14. ve 28. günlerdeki yeni oluşan kemik doku bulgularının grafiksel analizi.

#### 4.1.4 İmmünohistokimyasal Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi

Her grup kendi içinde ve diğer tüm gruplarla, osteokalsin ve osteopontin varlığı açısından değerlendirildiğinde, Tablo 4.4’de belirtilen sonuçlar elde edildi.

Gruplar arasında 14. gün osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 14. gün osteokalsin düzeyi, Kontrol ( $p:0.001$ ), CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol grubunun 14. gün osteokalsin düzeyi, CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). CsA ve CsA+RSVL grupları arasında 14. gün osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Gruplar arasında 28. gün osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 28. gün osteokalsin düzeyi, Kontrol ( $p:0.001$ ), CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol grubunun 28. gün osteokalsin düzeyi, CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.035$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). CsA+RSVL grubunun 28. gün osteokalsin

düzeyleri, CsA grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.001; p<0.05).

Tablo 4.4. İmmünohistokimya ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler

		<b>K (n=9)</b>	<b>C (n=9)</b>	<b>R (n=9)</b>	<b>CR (n=9)</b>	
		<b>Ort±SS</b>	<b>Ort±SS</b>	<b>Ort±SS</b>	<b>Ort±SS</b>	<b><sup>1</sup>p</b>
		<b>(medyan)</b>	<b>(medyan)</b>	<b>(medyan)</b>	<b>(medyan)</b>	
<b>Osteokalsin</b>	<b>14.gün</b>	32,22±12,02 (30)	2,22±4,41 (0)	82,22±24,89 (80)	3,33±7,07 (0)	<b>0,001*</b>
	<b>28.gün</b>	31,11±6,01 (30)	3,33±7,07 (0)	100±25,98 (120)	22,22±9,72 (20)	<b>0,001*</b>
	<b><sup>2</sup>p</b>	<b>0,801</b>	<b>0,903</b>	<b>0,148</b>	<b>0,001*</b>	
<b>Osteopontin</b>	<b>14.gün</b>	31,11±3,33 (30)	1,11±3,33 (0)	33,33±5 (30)	1,67±5 (0)	<b>0,001*</b>
	<b>28.gün</b>	42,22±21,67 (30)	2,22±4,41 (0)	92,22±28,19 (90)	55,56±31,27 (60)	<b>0,001*</b>
	<b><sup>2</sup>p</b>	<b>0,224</b>	<b>0,539</b>	<b>0,001*</b>	<b>0,001*</b>	

<sup>1</sup>Kruskal Wallis Test

<sup>2</sup>Mann Whitney U Test

\* p<0.05

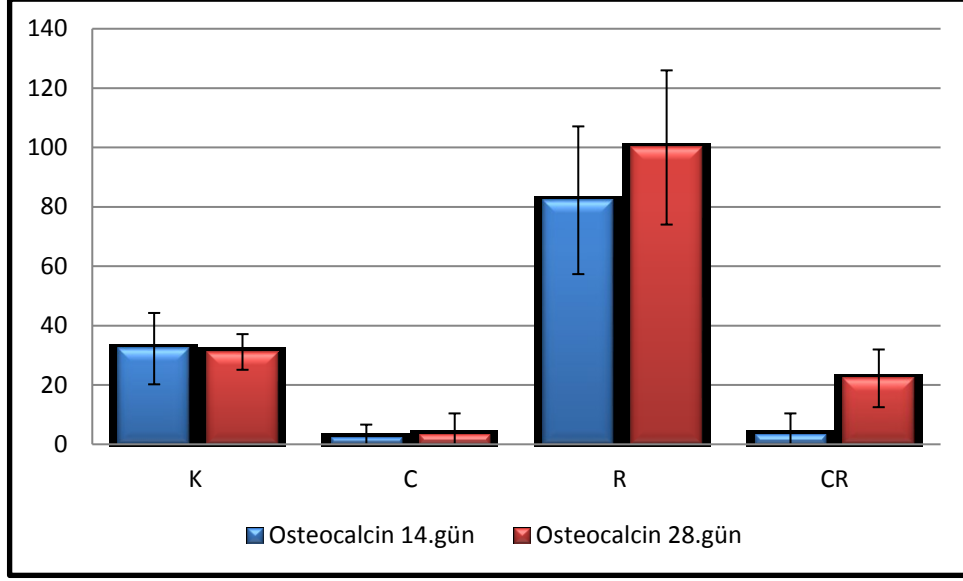
K: kontrol grubu, C:CsA grubu, R:RSVL grubu, CR: CsA+RSVL grubu

Kontrol grubunda; 14. gün ve 28. gün osteokalsin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.801; p>0.05).

CsA grubunda; 14. gün ve 28. gün osteokalsin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.903; p>0.05).

RSVL grubunda; 14. gün ve 28. gün osteokalsin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.148; p>0.05).

CsA+RSVL grubunda; 28. gün osteokalsin düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir (p:0.001; p<0.05) (Şekil 4.53).



**Şekil 4.53.** 14. ve 28. günlerdeki osteokalsin bulgularının grafiksel analizi.

Gruplar arasında 14. gün osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Kontrol ve RSVL gruplarının 14. gün osteopontin düzeyleri, CsA ( $p:0.001$ ) ve CsA+RSVL ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 14. gün osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

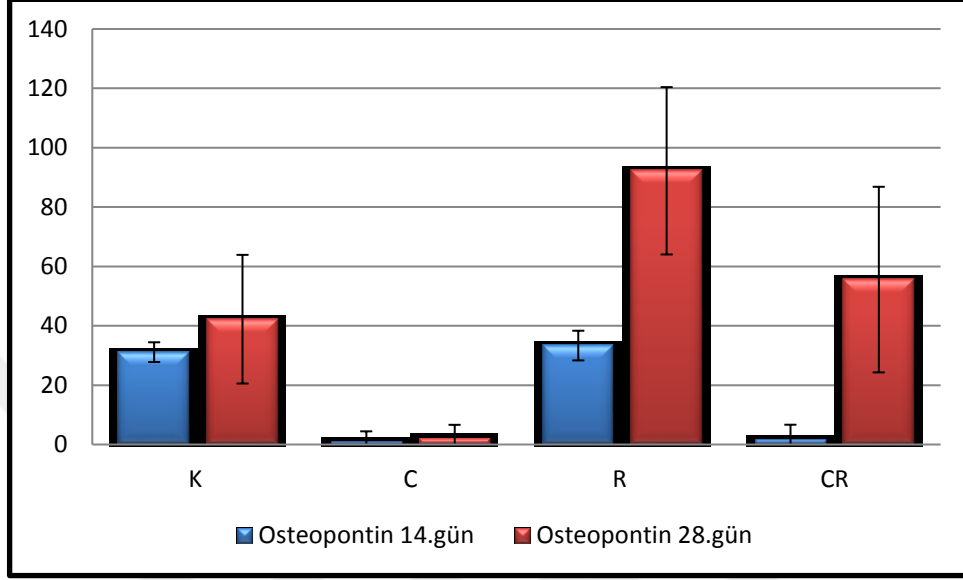
Gruplar arasında 28. gün osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; RSVL grubunun 28. gün osteopontin düzeyleri, Kontrol ( $p:0.002$ ), CsA+RSVL ( $p:0.020$ ) ve CsA ( $p:0.001$ ) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol ve CsA+RSVL gruplarının 28. gün osteopontin düzeyleri, CsA grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında 28. gün osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubunda; 14. gün ve 28. gün osteopontin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.224$ ;  $p>0.05$ ).

CsA grubunda; 14. gün ve 28. gün osteopontin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p:0.539$ ;  $p>0.05$ ).

RSVL grubunda; 28. gün osteopontin düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ).

CsA+RSVL grubunda; 28. gün osteopontin düzeyi, 14. günden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ( $p:0.001$ ;  $p<0.05$ ) (Şekil4.54).



Şekil 4.54. 14. ve 28. günlerdeki osteopontin bulgularının grafiksel analizi.

## 5. TARTIŞMA

CsA, seçici olarak T-lenfositleri baskılaması ve lenfokin salınımını ve sekresyonunu bloke etmesi nedeniyle immün hastalıkların tedavisinde ve organ transplantasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (14, 54). CsA'nın nefrotoksisite hepatotoksite, gingival hiperplazi gibi pek çok yan etkisi bulunmaktadır (12, 15, 19, 20, 22). CsA'nın bu yan etkilere neden olan mekanizması ise hala tartışma konusudur. Ancak çok sayıda çalışma CsA'nın indüklediği toksisitenin oksidatif stres sonucunda olabileceğini desteklemektedir. Bu yüzden CsA'nın indüklediği yan etkileri azaltmak için antioksidan ajanların kullanımının yararlı olabileceği belirtilmiştir (12, 21-23). CsA'nın tüm bu yan etkilerinden başka kemik doku üzerine de çeşitli olumsuz etkileri mevcuttur. Yapılan deneysel çalışmalarda CsA'nın oral ve dental iskeleti içeren kemik dokusu üzerinde osteoporotik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (13-18).

Literatüre bakıldığında CsA'nın gingival hücre metabolizması üzerine etkilerini araştıran pek çok çalışma olmasına rağmen sert dokular, diş ve çevre kemik dokusu üzerine odaklanan çok az çalışmaya rastlanmaktadır (14, 17).

Günümüzde, CsA uygulamasının deneysel çalışmalarda standart olarak belirtilmiş bir protokolü henüz yoktur. Ancak çalışmamızda uygulanacak CsA dozu ve uygulama şekli Wassef ve ark. (106)'nın yaptığı çalışma temel alınarak seçilmiştir. Wassef ve ark. (106) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı doz ve uygulama yolunun, CsA farmakokinetiği üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Denekleri, her grupta 4'er adet bulunmak üzere 7 gruba ayırmışlardır. CsA, her sıçana günde bir kez, beş gün boyunca farklı doz ve yolla uygulanmıştır. Subkutan yolla CsA uygulamanın, serumda yeterli ve sabit bir seviye meydana getirdiği, uygulamadan sonraki dönemde ise çok küçük bir değişiklik olduğu bildirilmiştir. Biyoyararlılığın %47-77 arasında olduğu ve 10 mg/kg/gün dozun güvenilir olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca Bolzani ve ark. (19) da çalışmalarında CsA'yı günlük 10 mg/kg olacak şekilde subkutan yolla vermişlerdir. Spolidorio ve ark. (107) ise bu dozda CsA verilmesinin sıçanlarda anlamlı alveol kemik kaybına neden olduğunu göstermiştir.

Bolzani ve ark. (19) yaptıkları 60 günlük çalışmada *Wistar* ratlara CsA'yı 10 mg/kg dozunda subkutan yolla uygulamışlardır. Bu çalışmanın bulgularında gingival fibroblast kültüründe matriks metalloproteinaz 1 ve 3'ün CsA tarafından inhibe edildiği

gösterilmiştir. Ayrıca insan gingival fibroblast kültüründe ve sıçanlarda matriks metalloproteinaz 2 aktivitesini azaltmıştır.

Silva ve ark. (11) sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada CsA uygulamasının diş çekim yarası iyileşmesinde matriks metalloproteinaz aktivitesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada 30 adet *Wistar* sıçan deney ve kontrol grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Deney grubundaki 15 sıçana çekimden önce 7 gün ve çekimden sonra 5 gün 10 mg /kg/gün dozunda CsA subkutan yolla verilmiştir. 8. gün deneklerin 1. ve 2. alt büyük azı dişleri çekilmiş ve 5. günde denekler sakrifiye edilmiştir. Çalışmaları sonucunda CsA'nın soket iyileşmesinde granülasyon dokusunun erken fazlarında matriks metalloproteinaz 2 ve 9 aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu gözlemler CsA'nın diş çekimini takiben yara iyileşmesini engelleyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada da denek olarak *Sprague Dawley* cinsi sıçanlar kullanıldı. CsA uygulanacak gruplardaki sıçanlara çekimden önce 7 gün boyunca günlük 10 mg/kg CsA subkutan yolla uygulandı. 8. günde sıçanların alt sol 1. ve 2. büyük azı dişleri çekildi. Çekimden sonra 28. gün boyunca her gün CsA uygulanmaya devam edildi. Denekler 14. ve 28. günde sakrifiye edilip, alt çeneleri incelenmek üzere çıkartıldı. Çalışmamızda uyguladığımız çalışma protokolü, Bolzani ve ark. (19) ve Silva ve ark. (11) uyguladıkları çalışma protokolü ile uyumluluk göstermektedir.

Gau ve ark. (18) CsA uygulamasının diş çekimi yarası iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada toplam 60 adet *Sprague-Dawley* sıçan kullanılmış ve denekler 3 ana gruba ayrılmıştır. İki gruptaki sıçanların, üst sağ büyük azı dişleri çekilmiş, 3'üncü gruptaki deneklerden ise çekim yapılmamıştır. Birinci gruba günlük 15 mg/kg CsA gavaj yoluyla verilirken, diğer iki gruba CsA uygulanmamıştır. Her gruptan 5'er denek 5., 10., 14. ve 28. günlerde sakrifiye edilmiş ve alınan örnekler histolojik olarak incelenmiştir. 5. ve 10. günlerde her üç grupta da kemik hacminin anlamlı olarak daha düşük ve ilik hacminin ise anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 10. ve 14. günlerde kemik hacminin CsA uygulanan grupta daha düşük olduğu bulunmuştur. Osteoid hacminin, CsA verilen grupta, 10. ve 14. günlerde anlamlı derecede düşük ve 28. günde anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada 14. ve 28. günlerde histometrik yumuşak doku analizi de yapılmıştır. Epitel, bağ dokusu ve total doku alanları 28. günde CsA uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek bulunurken, 14. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık

gözlenmemiştir. Sonuç olarak, CsA uygulamasının, diş çekiminden sonra alveolar soketlerin ve gingival dokuların iyileşmesini etkileyebileceği, ayrıca CsA uygulamasına bağlı histopatolojik değişikliklerin sert dokularda yumuşak dokulara oranla daha hızlı meydana geldiği bildirilmiştir.

Fu ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmada CsA'nın alveolar kemik üzerine etkileri incelenmiştir. Bu deneysel çalışmada 60 adet *Sprague-Dawley* sıçan, deney ve kontrol grubu olarak ayrılmıştır ve CsA 30 mg/kg/gün olmak üzere gavaj ile uygulanmıştır. Daha sonra her iki gruptan 2., 4. ve 6. haftada 10'ar denek sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme sonucunda CsA uygulanan grupta periodontal alanlarda artmış osteoklazi ve simfizal alanlarda azalmış kemik formasyonu gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada, CsA uygulamasının alveolar kemik metabolizmasını üzerine etkili olduğu bildirilmiştir.

Fu ve ark. (15) sıçanlarda 4 hafta süreyle 15 mg/kg CsA kullanımının sağ üst 2. molar diş etrafındaki alveol kemiği ve dişeti üzerindeki etkilerini başka bir çalışmada incelemişlerdir. Yapılan histomorfometrik incelemede CsA uygulanan grupta osteoid hacminde anlamlı bir farklılık gözlenmezken, trabeküler kemik hacminde anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yumuşak doku incelemelerinde CsA grubunda epitel, bağ doku ve total yumuşak doku alanlarında anlamlı bir artış bulunmuştur. Çalışma sonucunda CsA uygulamasının yumuşak doku büyümesi ile beraber alveolar kemik morfolojisinde de değişikliklere neden olduğu bulunmuştur.

Shen ve ark. (17) yaptıkları deneysel çalışmada, CsA kullanımının, sıçanların alveol kemiği histomorfolojisi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. 20 adet *Sprague-Dawley* sıçan deney ve kontrol grubu olarak ayrılmıştır ve CsA 15 mg/kg/gün olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 2. ve 4. haftada her gruptan 5'er denek sakrifiye edilmiştir. Histopatolojik inceleme için ikinci büyük azı dişi etrafındaki alveol kemiğinden frontal kesitler alınmıştır. Kemik hacmi, ilik hacmi, osteoid formasyonu gibi histometrik kemik ölçümleri alveol kemiğin bukkal, palatinal ve apikal alanlarından yapılmıştır. Alveolar kemik morfolojisi ile ilgili bulgularda kemik kitlesi CsA uygulanan grupta daha fazla azalmıştır. İnce ve dağınık osteoid doku kemik yüzeylerinde belirlenmiş ancak CsA uygulanan deneklerdeki osteoid dokunun daha ince olduğu saptanmıştır. CsA uygulanan grupta, 2. haftanın sonunda palatal ve apikal bölgelerde, 4. haftada apikal bölgelerde kemik hacminin azaldığı ve ilik hacminin ise

arttığı tespit edilmiştir. Azalmış osteoid hacmi, CsA uygulanan grupta, 2. haftanın sonunda palatal bölgelerde ve 4. haftanın sonunda ise palatal ve apikal bölgelerde gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 2 ve 4. haftanın sonunda kemik kitlesi ve osteoid hacminde azalma gözlenmiştir. Bu nedenle araştırmacılar CsA kullanımının alveolar kemik formasyonu üzerine inhibitör etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır.

Movsowitz ve ark. (16) sıçanlarda CsA'nın farklı doz ve zamanlarda uygulanmasının kemik mineral metabolizması üzerine etkilerini incelemiştir. Çalışmada 60 adet *Sprague-Dawley* sıçan kullanılmıştır. Denekler 1 kontrol ve 2 deney grubu (düşük doz ve yüksek doz grubu) olarak 3 ana gruba ayrılmıştır. Düşük doz grubuna 7,5 mg/kg/gün ve yüksek doz grubuna 15 mg/kg/gün CsA gavaj yoluyla uygulanmıştır. Her gruptan 10'ar denek 14. ve 28. günlerde sakrifiye edilmiştir. Bu çalışmaya göre kemik rezorpsiyonu ve trabeküler kemik kaybının 14. günde yüksek doz grubunda ve 28. günde her iki deney grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğu bulunmuştur.

Duarte ve ark. (13) tarafından yapılan bir çalışmada CsA uygulamasının implant çevresindeki kemik iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 28 adet Yeni Zellanda tavşanı kullanılmış ve tavşan tibialarına 2'şer adet bilateral implant yerleştirilmiştir. Denekler grup A, B, C ve D olarak 4 ana gruba ayrılmıştır. Grup B'deki deneklere 10 mg/kg/gün CsA ve grup D'deki deneklere 0,5 mg/kg/gün Nifedipin verilmiştir. Grup A ve B 14. günde ve grup C ve D 42. günde sakrifiye edilmiştir. Gruplar arasında 14. ve 42. günlerde osseointegrasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak CsA ve Nifedipin uygulamasının implant çevresindeki kemik alanlarında anlamlı bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, çalışma sonunda, CsA/Nifedipin tedavisinin implant çevresindeki kemik iyileşmesini etkileyebileceğini belirtmişlerdir.

Sakakura ve ark. (108) tarafından yapılan bir çalışmada da CsA tedavisinin implant çevresindeki kemik iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 18 adet Yeni Zellanda tavşanı kontrol ve deney grubu olarak 2 ana gruba ayrılmıştır. Deney grubuna CsA 10 mg/kg/gün olmak üzere subkutan yolla verilmiştir. İmplantlar CsA tedavisinden 3 gün sonra tavşanların tibialarına bilateral olarak yerleştirilmiştir. Postoperatif 4., 8. ve 12. haftalarda denekler sakrifiye edilinceye kadar CsA uygulanmaya devam edilmiştir. Bu çalışmanın sonunda, uzun dönem CsA



uygulamasının implant çevresindeki kemik iyileşmesini negatif yönde etkileyebileceği bildirilmiştir. Yine Sakakura ve ark. (109) tarafından yapılan başka bir çalışmada CsA tedavisinin implant çevresindeki kemik densitesi üzerine etkileri incelenmiştir. 40 adet Yeni Zellanda tavşanı kontrol ve deney grubu olarak 2 ana gruba ayrılmıştır. CsA tedavisi, implant yerleştirilmesinden 3 gün önce başlamış ve deneklerin postoperatif olarak 4. ve 8. haftalarda sakrifiye edilene kadar devam edilmiştir. 4. ve 8. haftalarda kontrol grubunda implant çevresindeki kemik densitesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Buna karşılık deney grubunda kemik densitesi sürekli azalmıştır. 8. haftada ise kontrol ve deney grubu arasında kemik densitesi açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Sonuç olarak uzun dönem CsA uygulamasının osseointegrasyon sürecinde titanyum implant çevresindeki kemik densitesini azaltabileceği bildirilmiştir.

CsA birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (107, 110). Alveolar kemik kaybı CsA tedavisinin önemli yan etkilerinden biri olmasına rağmen, bu olumsuz etkinin önlenmesi ve tedavi edilmesi için belirlenmiş bir protokol henüz yoktur (111). Son zamanlarda, yapılan çalışmalar bifosfonat (alendronat) ve statin (simvastatin) gibi antirezorptif ajanların sıçanlarda CsA ile indüklenen alveol kemik kaybı üzerine yararlı etkilere sahip olduğunu göstermiştir (107, 110, 112). Ancak bu ajanların pek çok yan etkisi bulunmaktadır (111). Bu yüzden yan etkileri daha az ve benzer yarar sağlayan alternatif ilaçlar, çalışmaların hedefi haline gelmiştir ve bitkilerden hazırlanan antioksidan bileşik ve ürünlerin kullanımı artmıştır (6, 7). Bu bileşikler arasında siyah üzüm kabuğunda (50-100 µg/gr) bulunan RSVL (3, 4', 5 trihidroksistilben), çeşitli klinik ve farmakolojik çalışmalar ışığında önemli hale gelmiştir. RSVL güçlü antioksidan özelliğinin yanı sıra antidiabetik, antineoplastik, antiplatelet, antiinflamatuvar ve kemik koruyucu aktivitesi de olan bir ajandır (8-10).

In vivo çalışmalarda RSVL'nin günlük 5-10 mg/kg arasındaki dozlarda uygulandığında seçici olarak COX-1 inhibe ettiği gösterilmiştir (113, 114). Literatürdeki çoğu çalışmada RSVL sistemik olarak 5-100 µM arasındaki konsantrasyonlarda kullanılmıştır (115-118). Daha önceki veriler, hayvan modelinde benzer konsantrasyonlarda RSVL'nin etkili olduğunu göstermiştir (119). Wang ve ark. (120) tavşan osteoartrit modelinde günlük 10-50 µmol/kg RSVL uygulamasının kartilaj destrüksiyonuna karşı koruyucu eki gösterdiğini bildirmiştir. Elmalı ve ark. (115) yaptıkları çalışmalarında koruyucu etki gösteren terapötik doz olarak 10 µmol/kg/gün

RSVL kullanmıştır. Bu çalışmada kullanılan RSVL dozu da bu raporlar doğrultusunda seçilmiştir. RSVL pek çok çalışmada günlük intraperitoneal uygulama ile verilmiştir (8, 121, 122). Bu çalışmalar doğrultusunda RSVL'yi vermek için kullanacağımız uygulama şekli intraperitoneal enjeksiyon olarak seçilmiştir.

Son zamanlarda, RSVL'nin klinik kullanımı ile ortaya çıkan çeşitli yararlı etkilerine ilaveten bu bileşiğin kemik metabolizması üzerine etkileri de bildirilmiştir (123).

RSVL'nin kemik metabolizması üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışma Mizutani ve ark. (93) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada RSVL'nin in vitro olarak osteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinin diferansiyasyon ve proliferasyonunu stimule ettiği bildirilmiştir. Aynı zamanda RSVL'nin MC3T3-E1 hücrelerinin prolil hidroksilaz ve alkalın fosfataz aktivitesini artırdığı ve osteoklast formasyonunun endojen destekleyicisi olan prostaglandin-E2'nin üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Alkalın fosfataz osteoblastik aktivitenin yaygın olarak tanınan biyokimyasal markerıdır ve bu enzimin kemik mineralizasyonunda da rol oynadığına inanılmaktadır. Aynı araştırmacılar RSVL'nin kök hücrelerden osteoklastlara farklılaşmayı inhibe ettiğini belirtmiştir. Sonuç olarak RSVL'nin in vitro osteoblastik hücre kültüründe kemik oluşumu üzerine stimüle edici bir etkiye sahip olduğu ve osteoporozun tedavisi ve önlenmesinde yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Boissy ve ark. (124) kemik hücreleri ve myelom üzerine RSVL'ün etkilerini araştırmıştır. Yapılan in vitro çalışmada bu doğal bileşiğin osteoblast farklılaşmasını arttırdığı, osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Son olarak, bu bileşiğin, insan kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde osteokalsin ve osteopontin gibi osteoblast markerlarını doz-bağımlı olarak arttırdığı bildirilmiştir.

RSVL'nin güçlü osteojenik kapasitesi ile ilgili bilimsel raporlar mevcuttur (125, 126). Backesjo ve ark. (126) tarafından yapılan in vitro çalışmada RSVL'nin yeni kemik oluşumu ile sonuçlanacak şekilde osteoblast farklılaşmasını arttırdığı ve adiposit formasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Ayrıca bu bulguların osteoporoz için yeni tedavi rejimleri bulma konusunda yardımcı olabileceği bildirilmiştir. Yine Singh ve ark. (125) tarafından yapılan başka bir in vitro çalışmada RSVL'nin sigara ile ilişkili alveol kemik kayıplarında ve periodontal hastalıklarda gelecek vaad eden terapötik ve koruyucu bir ajan olabileceği vurgulanmıştır.

Dai ve ark. (9) insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre kültüründe RSVL'nin osteoblastik maturasyon ve proliferasyon üzerine in vitro etkilerini araştırmıştır. Kültürlere farklı dozlarda RSVL konsantrasyonları ( $10^{-8}$ – $10^{-4}$  M) uygulanmıştır. Bu çalışmada RSVL'nin ( $10^{-8}$ – $10^{-5}$  M) zaman ve doza bağlı olarak hücre proliferasyonunu ve osteoblast farklılaşmasını stimüle ettiği gözlenmiştir. Aynı zamanda RSVL kaynaklı stimülasyonların östrojen reseptör (ER) sinyalizasyonu ile bağlantılı olabileceği ve ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz 1/2 (ERK1/2) aktivitesini arttırdığı bulunmuştur. Aynı çalışmada RSVL ile indüklenen ER sinyalizasyonu ve ERK1/2 aktivitesinin RUNX2/CBFA1 gibi osteojenik genlerin ekspresyonunu da arttırdığı gözlenmiştir.

Bu in vitro çalışmalardan elde edilen ilk öncü bulgular, RSVL'nin ovarektomi (95) veya immobilizasyon (127) gibi nedenlerden dolayı oluşan kemik kaybını engellediği farklı patolojiye sahip osteoporozlu hayvan modellerinde kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra, yaşa bağlı kemik kaybı gelişen normal farelerde, uzun dönem RSVL uygulamasının, kemik mineral yoğunluğunda yaşa bağlı olarak gelişen bozulmayı önlediği bildirilmiştir (128).

In vitro olarak RSVL'nin östrojenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (129). Östrojen eksikliğinin neden olduğu kemik kaybı ile ilgili terapötik ajan olarak RSVL'yi araştıran ve ovarektomi uygulanmış sıçan modeli kullanan beş prelinik çalışma yayınlamıştır (95, 130-133).

Liu ve ark. (95) ovarektomize sıçan modelinde RSVL'nin kemik kaybı üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmada *Wistar* sıçanlar 4 gruba ayrılmış ve RSVL, 0.7 mg/kg olmak üzere gavaj yolu ile 12 hafta boyunca verilmiştir. Kemik yoğunluğunun ve kalsiyum içeriğinin, ovarektomi ile beraber RSVL uygulanan grupta sadece ovarektomi yapılan gruba göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu bulgular RSVL'nin kemik yoğunluğunu artırdığını ve kemik kalsiyum içeriğinin azalmasını inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca bu bulgular RSVL'nin östrojen eksikliği sonucu oluşan kemik kaybına karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Lin ve ark. (130) ovarektomi uygulanan sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında RSVL'nin kemik densitesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Farklı dozlarda RSVL (5, 15, 45 mg/kg) 90 gün boyunca uygulanmıştır. Çalışma sonucunda ovarektomize sıçanlarda günlük RSVL alımının kemik turnoverını indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca bu

çalışmada 45 mg/kg RSVL uygulanan grubun diğer gruplara göre kemik rezorpsiyonunu baskılamada daha etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, kemik oluşumunun iki markerı olan, osteokalsin ve serum alkalin fosfataz, 45 mg/kg RSVL uygulanan sıçanlarda en yüksek olarak bulunmuştur.

Mizutani ve ark. (134) tarafından yapılan çalışmada 8 hafta boyunca uygulanan 5 mg/kg RSVL dozunun femur dayanıklılık kaybını azalttığı bildirilmiştir.

Sehmisch ve ark. (132) tarafından ovarektomi uygulanmış sıçanlarda yapılan çalışmada 50 mg/kg RSVL'nin kemik yoğunluğu üzerine herhangi bir etkisi saptanamamıştır.

Zhao ve ark. (133) 12 hafta boyunca ovarektomi uygulanmış sıçanlara günlük 20, 40 ve 80 mg/kg RSVL uygulamıştır. 40 ve 80 mg/kg RSVL dozlarının femur boynunda kemik mineral densite kaybını ve trabeküler bozulmayı azalttığı bulunmuştur. 80 mg/kg RSVL dozu ( $117.2 \pm 9.5$  mm), östrojen replasman tedavisi (ERT;  $100.4 \pm 10.2$  mm) ile karşılaştırılabilecek şekilde femur trabekül boşluklarında azalma sağlamıştır.

Uysal ve ark. (135) rapid maksiller ekspansiyon yapılmış sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, lokal RSVL uygulamasının midpalatal suturda kemik formasyonu üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada RSVL midpalatal sutura tek doz 10  $\mu$ mol/kg RSVL enjekte edilmiştir. Suturdaki kemik oluşumu histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Yeni oluşan kemik alanı, yeni oluşan kemik yüzdesi, osteoblast sayısı ve Feret çapı (bir alanda en uzun mesafe) gibi ölçümlerin kontrol grubu ile kıyaslandığında deney grubunda önemli ölçüde daha büyük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, rapid maksiller ekspansiyon yapılmış sıçanlarda lokal RSVL uygulamasının kemik oluşumunu stimüle ettiği ve retansiyon periyodunu kısalttığı gözlenmiştir. Bu prensiple RSVL'ün kemik fraktürlerinin tedavi edilmesinde ve distraksiyon osteogenezinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

RSVL'nin kemik yaraları üzerine etkilerini değerlendiren ilk çalışma ise Casarin ve ark. (6) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada RSVL uygulamasının kalvaryal defekt ve titanyum implant çevresindeki kemik iyileşmesi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. 30 adet *Wistar* sıçan kontrol ve RSVL grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Deneklerin kalvaryumlarına 5 mm çapında kritik boyutlu defek açılmış ve yine tibialarına

titanyum implant (4 mm boyunda, 2.2 mm çapında) yerleştirilmiştir. RSVL 30 gün boyunca 10 mg/kg dozunda gavaj yoluyla uygulanmıştır. Histomorfometrik analiz ile kalvaryal defeklerde iyileşmiş ve kalan defek alanları belirlenmiştir. İmplantlar ise ters tork kuvveti ile çıkarılmış ve ters tork kuvvet değerleri kaydedilmiştir. Ayrıca kemik morfogenetik protein (BMP)-2, BMP-7, osteopontin, kemik sialoprotein, osteoprotegerin, reseptör aktivatör NF-κB ligandı (RANKL) için gen ekspresyon analizi de yapılmıştır. Çalışma bulgularında iyileşmeden kalan defektlerin RSVL grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Ters tork değerlerinin RSVL grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Gen ekspresyon analizinde ise RSVL'nin sistemik alımının BMP-2, BMP-7 ve osteopontin ekspresyonunu anlamlı derecede arttırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma ile RSVL uygulamasının kritik boyutlu defekt onarımını ve titanyum implantların biyomekanik retansiyonunu arttırdığı, ayrıca BMP-2, BMP-7 ve osteopontin ekspresyon seviyelerini etkilediğı gösterilmiştir. Bu sonuçlar bu maddenin kronik kullanımının, kemik iyileşme süreçlerinde ve dişsiz bireylerin dental implantlar ile rehabilitasyonunda faydalı bir tedavi edici ajan olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca Song ve ark. (91) fare kemik iliğinden gelişen mezenşimal kök hücre kültürünün osteoblastik farklılaşma ve proliferasyonu zerine RSVL ve CsA'nın in vitro etkilerini araştırmışlardır. Bu alışmada RSVL'nin nitrik oksit/siklik guanozin mono fosfat (NO/cGMP) sinyal yolu ile osteoblast farklılaşmasını ve proliferasyonunu arttırdığı bulunmuştur. CsA'nın, fare kemik iliğinden gelişen mezenşimal kök hücrelerin osteoblastik farklılaşma ve proliferasyon üzerine inhibitör etkisinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca CsA'nın neden olduğu inhibitör etkiye karşı RSVL'nin koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır. Bu bulgular RSVL'nin CsA kaynaklı osteoporozu önleyebileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız çalışmanın bulgularına göre, 28. güne doğru 4 grupta da yeni kemik yapımı artmış ancak sadece kontrol ve RSVL gruplarında 28. güne doğru yeni kemik yapımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. 14. ve 28. günlerde en fazla yeni kemik yapımının RSVL grubunda olduğu bulunmuştur. Kontrol grubunda ise CsA ve CsA+RSVL gruplarına göre daha fazla kemik yapımı gözlenmiştir. CsA ve CsA+RSVL gruplarındaki yeni kemik yapımı 14. günde benzer iken 28. günde CsA ile beraber RSVL'nin uygulandığı grupta anlamlı olmasa da bir artış gözlenmiştir. Bu bulgular CsA uygulanan sıçanlarda RSVL uygulamasının erken dönemde (14. gün)



çekim soketindeki yeni kemik yapımı üzerine etki göstermediğini, uzun dönemde ise CsA'nın baskıladığı etkileri geri döndürerek yeni kemik yapımını artırabileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçları Casarin ve ark. (6), Song ve ark. (91), Uysal ve ark. (135) tarafından yapılan deneysel çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızın bulgularına göre 14. ve 28. günlerde gruplar arasında epitelizasyon varlığı açısından, sadece 28. günde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p:0.001). 28. gün epitelizasyon düzeyi RSVL grubunda diğer gruplara göre, kontrol grubunda ise CsA grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlar CsA uygulamasının çekim soketlerindeki epitelizasyonu geciktirdiğini ve CsA uygulanan sıçanlarda ise RSVL uygulamasının çekim soket epitelizasyonu üzerine önemli bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Aynı zamanda RSVL grubu içinde 14. ve 28. günlerde epitelizasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlendiği (p:0.003) 28. güne doğru bu grupta epitelizasyonun arttığı görülmüştür.

Yara iyileşmesini değerlendirmek için kullandığımız alveolar soket içerisinde yeni oluşan bağ dokusu 14. ve 28. günlerde kontrol ve RSVL gruplarında CsA ve CsA+RSVL gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada 14. ve 28. günlerde gruplar arasında inflamasyon varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p:0.038, p:0.007). 28. günde inflamasyon bulgusu en az görülen grup RSVL grubu olup, en fazla iltihap bulgusu ise CsA grubunda gözlenmiştir. CsA ve CsA+RSVL grupları arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlar RSVL uygulamasının çekim soketlerinde inflamasyonu azalttığı ancak CsA uygulanan sıçanların çekim soketlerindeki inflamasyonu azaltmada önemli bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada kemik iyileşme sürecini değerlendirmek için immünohistokimyasal teknikler kullanılmıştır ve osteokalsin ve osteopontin markerları sıçan kemik dokularında değerlendirilmiştir. Yaptığımız çalışmada gruplar arasında 14. ve 28. günde osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001, p:0.001). 14. ve 28. günde osteokalsin düzeyi RSVL grubunda diğer gruplara göre, kontrol grubunda ise CsA ve CsA+RSVL uygulanan gruplara göre

anlamli düzeyde yu'kse'k bulunmu'stur. 14. g'u'nde CsA ve CsA+RSVL gruplari arasinda ise osteokalsin du'zeyinde anlamli bir farklılık bulunamazken, 28. gu'n osteokalsin du'zeyi CsA+RSVL grubunda CsA grubuna go're istatistiksel olarak anlamli du'zeyde yu'kse'k bulunmu'stur. Ayrıca CsA+RSVL grubu i'çinde 28. gu'ne do'gru osteokalsin anlamli du'zeyde yu'kse'k bulunmu'stur. Bu sonu'çlar RSVL uygulamasinin 'çekim soketlerinde osteokalsin seviyesini artirdi'gi ancak CsA ile beraber uygulandi'gında erken du'nemde 'çekim soketlerindeki osteokalsin du'zeylerinde onemli bir etkisinin olmadi'gını, uzun du'nemde ise CsA'nın baskıladı'gi osteokalsin ekspresyonunu artirdi'gını du'su'ndu'rmektedir. Elde etti'gimiz sonu'çlar Boissy ve ark. (124) tarafından yapılan in vitro 'çalı'sma ile ayrıca Lin ve ark. (130) tarafından ovarektomize sı'çanlarda yapılan 'çalı'sma bulgulari ile uyumluluk go'stermektedir.

'Çalı'smamızda gruplar arasında 14. ve 28. g'u'nde osteopontin du'zeyleri a'çısından istatistiksel olarak anlamli farklılık bulunmaktadır (p:0.001, p:0.001). Kontrol ve RSVL gruplarının 14. gu'n osteopontin du'zeyleri, CsA ve CsA+RSVL gruplarından anlamli du'zeyde yu'kse'k bulunmu'stur. 28. g'u'nde osteopontin du'zeyleri RSVL grubunda di'ger gruplara go're, kontrol ve CsA+RSVL gruplarında CsA grubuna go're anlamli du'zeyde yu'kse'k bulunmu'stur. Ayrıca RSVL ve CsA+RSVL gruplarının kendi i'çlerinde 14. ve 28. gu'nlerde osteopontin da'ğılımlari arasında istatistiksel olarak anlamli du'zeyde yu'kse'k bulunmu'stur. Bu sonu'çlar RSVL uygulamasinin 'çekim soketlerinde osteopontin seviyesini artirdi'gi ve CsA'nın baskıladı'gi osteopontin ekspresyonunu artirdi'gını du'su'ndu'rmektedir. Elde etti'gimiz sonu'çlar Casarin ve ark. (6), Boissy ve ark. (124) tarafından yapılan 'çalı'smalar ile uyumluluk go'stermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızın histolojik değerlendirmeleri sonucunda CsA uygulanan grupta diğer gruplara göre daha az kemik yapımı görüldü. Bu bulgulara göre CsA uygulamasının çekim soketlerinin iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca epitelizasyonun CsA uygulanan grupta en düşük olduğu gözlenmiştir. Bu da CsA uygulamasının çekim soket epitelizasyonunu geciktirdiğini düşündürmektedir.

RSVL uygulanan grupta bütün diğer gruplara göre daha fazla kemik yapımı görüldü. Bu bulgulara göre RSVL uygulamasının, çekim soketlerinin iyileşmesini olumlu yönde etkilediği ve hızlandırdığı sonucuna varılmıştır. Bu da RSVL'ün klinik uygulamalarda avantaj sağlayacağını düşündürmüştür.

CsA+RSVL ve CsA grubunda yeni kemik yapımının diğer gruplara göre daha az olduğu belirlendi. CsA+RSVL grubunda yeni kemik yapımının CsA grubuna göre daha fazla olduğu gözlemlendi ancak istatistiksel bir fark saptanmadı.

Bu çalışmada RSVL'nin kontrol grubuna oranla çekim soket iyileşmesini hangi mekanizma ile hızlandırdığı tam olarak açıklanamamıştır. Bu bileşiğin etki mekanizmasının tam olarak aydınlatılması için daha ileri çalışmaların planlanarak yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda osteokalsin düzeyi, RSVL grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca CsA+RSVL grubunun 28. gün osteokalsin düzeyi CsA grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunurken 14. günde anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Bu durum CsA uygulanmış sıçanlarda uzun dönem RSVL uygulamasının, osteokalsin immünreaktivitesini artırdığını göstermiştir. Aynı şekilde CsA uygulanmış sıçanlarda uzun dönem RSVL uygulamasının, osteopontin immünreaktivitesini de artırdığı görülmüştür. Sonuç olarak RSVL'nin etkisinin zamana bağlı olarak değişebileceğini ve daha uzun süre kullanıldığında CsA'nın neden olduğu olumsuz etkileri azaltabileceğini düşünmekteyiz. Ancak kesin bir sonuca varabilmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, McCauley LK, Yamashita J. Intra-oral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res* 2013, 92: 553-9.
2. Farina R Trombelli L. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics* 2012, 25: 16–43.
3. Jaafar N, Nor GM. The prevalence of post-extraction complications in an outpatient dental clinic in Kuala Lumpur Malaysia—a retrospective survey. *Singapore Dent J* 2000, 23: 24-8.
4. O’Ryan FS, Lo JC. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes. *J Oral Maxillofac Surg* 2012, 70: 1844-53.
5. Ozkan A, Bayar GR, Altug HA, Sencimen M, Dogan N, Gunaydin Y. The effect of cigarette smoking on the healing of extraction sockets: an immunohistochemical study. *J Craniofac Surg* 2014, 25: 397-402.
6. Casarin RC, Casati MZ, Pimentel SP, Cirano FR, Algayer M, Pires PR, Ghiraldini B, Duarte PM, Ribeiro FV. Resveratrol improves bone repair by modulation of bone morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014, 43: 900-6.
7. Al-Obaidi MM, Al-Bayatly FH, Al Batran R, Hassandarvish P, Rouhollahi E. Protective effect of ellagic acid on healing alveolar bone after tooth extraction in rat. A histological and immunohistochemical study. *Arch Oral Biol* 2014, 59: 987-99.
8. Ciloglu NS, Zeytin K, Aker F. The effects of resveratrol on flap survival in diabetic rats. *J Plast Surg Hand Surg* 2014, 48: 234-7.
9. Dai Z, Li Y, Quarles LD, Song T, Pan W, Zhou H, Xiao Z. Resveratrol enhances proliferation and osteoblastic differentiation in human mesenchymal stem cells via ER-dependent ERK1/2 activation. *Phytomedicine* 2007, 14: 806-14.
10. Tseng PC, Hou SM, Chen RJ, Peng HW, Hsie CF, Kuo ML, Yen ML. Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating

RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3A axis. *J Bone Miner Res* 2011, 26: 2552-63.

11. Silva HC, Coletta RD, Jorge J, Bolzani G, de Almeida OP, Graner E. The effect of cyclosporin A on the activity of matrix metalloproteinases during the healing of rat molar extraction wounds. *Arch Oral Biol* 2001, 46: 875-9.

12. Rezzani R. Exploring cyclosporine A-side effects and the protective role-played by antioxidants: the morphological and immunohistochemical studies. *Histol Histopathol* 2006, 21: 301-16.

13. Duarte PM, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, de Toledo S, Sallum AW, Nociti FH Jr. The effect of an immunosuppressive therapy and its withdrawal on bone healing around titanium implants. A histometric study in rabbits. *J Periodontol* 2001, 72: 1391-7.

14. Fu E, Hsieh YD, Nieh S, Wikesjo UM, Liu D. Effects of cyclosporin A on alveolar bone: an experimental study in the rat. *J Periodontol* 1999, 70: 189-94.

15. Fu E, Hsieh YD, Shen EC, Nieh S, Mao TK, Chiang CY. Cyclosporin-induced gingival overgrowth at the newly formed edentulous ridge in rats: a morphological and histometric evaluation. *J Periodontol* 2001, 72: 889-94.

16. Movsowitz C, Epstein S, Fallon M, Ismail F, Thomas S. Cyclosporin-A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dose and duration of administration. *Endocrinology* 1988, 123: 2571-7.

17. Shen EC, Fu E, Hsieh YD. Effects of cyclosporin A on dental alveolar bone: a histomorphometric study in rats. *J Periodontol* 2001, 72: 659-65.

18. Gau CH, Hsieh YD, Shen EC, Lee S, Chiang CY, Fu E. Healing following tooth extraction in cyclosporine-fed rats" *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005, 34: 782-8.

19. Bolzani G, Della Coletta R, Martelli-Júnior H, Martelli-Júnior H, Graner E. Cyclosporin A inhibits production and activity of matrix metalloproteinases by gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 2000, 35: 51-8.



20. Olyaei AJ, de Mattos AM, Bennett WM. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: new insight and preventive strategies. *Curr Opin Crit Care* 2001, 7: 384-9.
21. Durak K, Bilgen OF, Kaleli T, Tuncel P, Ozbek R, Turan K. Antioxidant effect of alpha-tocopherol on fracture haematoma in rabbits. *J Int Med Res* 1996, 24: 419-24.
22. Hagar HH. The protective effect of taurine against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Lett* 2004, 151: 335-43.
23. Satyanarayana PS, Singh D, Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2001, 23: 175-81.
24. Eşrefoğlu M. *Genel Histoloji*, 1. Baskı. Malatya, Medipress Matbaacılık Yayıncılık Ltd., 2009: 169-88.
25. Cormack DH. *Essential Histology*, 2<sup>th</sup> ed. United States of America, Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 179-206.
26. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*, 10<sup>th</sup> ed. New York, McGraw-Hill Professional Publishing, 2003: 141-159.
27. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics* 2000, 14: 457-63.
28. Hollinshead HW, Rosse C. *Textbook of Anatomy*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Harper & Row Publishing, 1985: 24-30.
29. Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO. *Basic Histology*. 6<sup>th</sup> ed. Norwalk, Appleton & Lange Company, 1989: 136-153.
30. Çay HF, Sezer N. Kemik yapısı ve kemik döngüsü üzerine bir derleme, *Fiziksel Tıp*, 2002, 5: 177-84.
31. Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater* 2008, 15: 53-76.

32. Eroschenko VP. di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. Çeviri: Demir R. *di Fiore Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle*, 9. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2001: 47-62.
33. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 2001, 10: E1.
34. Erol M, Atalan G, Erol H, Doğan Z, Yönez MK. Kırık İyileşmesinde Non-Steroid Antiinflatuar İlaçların Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2014, 5: 85-90.
35. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 55: 143-150.
36. Tetik A. Terapötik Düzeyde Warfarin Sodyum Uygulanan Sıçanlarda Diş Çekimi Sonrası Ankaferd Blood Stopper Uygulamasının Yara ve Kemik Doku İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Histomorfometrik Olarak Tespiti. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2012.
37. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontol 2000* 1997, 13: 76-90.
38. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigations of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc* 1960, 61: 32-44.
39. Çakır M, Karaca İR. İmplant Uygulamaları İçin Kret Koruma Teknikleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2015, 25: 107-18.
40. Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a single-rooted tooth when planning for future implant placement. *J Can Dent Assoc* 2006, 72: 917-22.
41. Huebsch RF, Coleman RD, Frandsen AM, Becks H. The healing process following molar extraction. I. Normal male rats (long-evans strain). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1952, 5: 864-76.
42. Schulte WC. Effect of an osteogenic extract on the healing of extraction wounds. *J Dent Res* 1967, 46: 656-60.

43. Bodner L, Kaffe I, Cohen Z, Dayan D. Long-term effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. *Dentomaxillofac Radiol* 1993, 22:195-8.
44. Elsubeihi ES, Heersche JN. Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. *Arch Oral Biol* 2004, 49: 401-12.
45. Euler H. Die Heilung Von Extraktionswunden; Eine Tierexperimentelle Studie (Healing of Extraction Wounds; An Experimental Study). *Deutsche Monat. f. Zahn-heilk.* 1923, 4: 687.
46. Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005, 32: 212-8.
47. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003, 30: 809-18.
48. Guglielmotti MB, Cabrini RL. Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: a histologic, radiographic, and histometric study. *J Oral Maxillofac Surg* 1985, 43: 359-64.
49. Pietrokovski J, Massler M. Ridge remodeling after tooth extraction in rats. *J Dent Res* 1967, 46: 222-31.
50. Melo RB, Guimarães SB, Silva PG, Oriá RB, Melo JU, Vasconcelos PR. Antiperoxidative properties of oil mixes of high ratio Omega-9:Omega-6 and low ratio Omega-6:Omega-3 after molar extraction in rats. *Acta Cir Bras* 2014, 29: 371-5.
51. Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966, 21: 805-13.
52. Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002, 31: 641-45.
53. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976, 6: 468-75.

54. Seymour RA, Jacobs DJ. Cyclosporin and the gingival tissues. *J Clin Periodontol* 1992, 19: 1-11.
55. Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann Intern Med* 1984, 101: 667-82.
56. Faulds D, Goa KL, Benfield P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993, 45: 953-1040.
57. Berg KJ, Forre O, Bjerkhoel F, Amundsen E, Djoseland O, Rugstad HE, Westre B. Side effects of cyclosporin A treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Kidney Int* 1986, 29: 1180-7.
58. Yorulmaz A, Metin A. Siklosporin. *Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics* 2014, 7: 19-29.
59. Maurer G. Metabolism of cyclosporine. *Transplant Proc* 1985, 17: 19-26.
60. Berth-Jones J. The use of ciclosporin in psoriasis. *J Dermatolog Treat* 2005, 16: 258-77.
61. Ural M, Özgüner M, Şenal D, Sütçü R, Delibaş N. Siklosporin A'nın sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksositeye vitamin C ile vitamin E'nin ve verapamilin etkilerinin ışık mikroskopunda değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2005, 12: 28-35.
62. Andrés D, Sanz N, Zaragoza A, Alvarez AM, Cascales M. Changes in antioxidant defense systems induced by cyclosporine A in cultures of hepatocytes from 2- and 12- month-old rats. *Biochem Pharmacol* 2000, 59: 1091-100.
63. Durak I, Kaçmaz M, Cimen B, Büyükkocak S, Elgün S, Oztürk S. The effect of cyclosporine on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in rabbit hepatic tissues. *Transpl Immunol* 2002, 10: 255-8.
64. Wright G, Welbury RR, Hosey MT. Cyclosporin-induced gingival overgrowth in children. *Int J Paediatr Dent* 2005, 15: 403-11.

65. Chae HJ, Ha MS, Yun DH, Pae HO, Chung HT, Chae SW, Jung YK, Kim HR. Mechanism of cyclosporine-induced overgrowth in gingiva. *J Dent Res* 2006, 85: 515-9.
66. Guo CY, Johnson A, Locke TJ, Eastell R. Mechanisms of bone loss after cardiac transplantation. *Bone*. 1998, 22: 267-71.
67. Cueto-Manzano AM, Konel S, Hutchison AJ, Crowley V, France MW, Freemont AJ, Adams JE, Mawer B, Gokal R. Bone loss in long-term renal transplantation: histopathology and densitometry analysis. *Kidney Int* 1999, 55: 2021-9.
68. McDonald JA, Dunstan CR, Dilworth P, Sherbon K, Sheil AG, Evans RA, McCaughan GW. Bone loss after liver transplantation. *Hepatology* 1991, 14: 613-9.
69. Orcel P, Denne MA, de Vernejoul MC. Cyclosporin-A in vitro decreases bone resorption, osteoclast formation, and the fusion of cells of the monocyte-macrophage lineage. *Endocrinology* 199, 128: 1638-46.
70. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002, 18: 872-9.
71. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc* 1996, 96: 693-702.
72. Yılmaz İ. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2010, 17: 143-53.
73. Amri A, Chaumeil JC, Sfar S, Charrueau C. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations? *J Control Release* 2012, 158: 182-93.
74. Nonomura S, Kanagawa H, Makimoto A. Chemical constituents of polygonaceous plants. I. Studies on the components of Ko-jokon (*Polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC.). *Yakugaku Zasshi* 1963, 83: 988-90.
75. Siemann EH, Creasy LL. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *Am J Enol Viticult* 1992, 43: 49-52.

76. Liu BL, Zhang X, Zhang W, Zhen HN. New enlightenment of French Paradox: resveratrol's potential for cancer chemoprevention and anti-cancer therapy. *Cancer Biol Ther* 2007, 6: 1833–6.
77. La M, Wald N. Why heart disease mortality is low in France: The time lag explanation. *Br Med J* 1999, 318: 1471-6.
78. Singh KC, Kumar A, LaVoie AL, Di Pipette DJ, Singh US. Diabetic complications in pregnancy: is resveratrol a solution? *Exp Biol Med* 2013, 238: 482-90.
79. Yang T, Li S, Zhang X, Pang X, Lin Q, Cao J. Resveratrol, sirtuins, and viruses. *Rev Med Virol* 2015, 25: 431–45.
80. Han G, Xia J, Gao J, Inagaki Y, Tang W, Kokudo N. Anti-tumor effects and cellular mechanisms of resveratrol. *Drug Discov Ther* 2015, 9:1-12.
81. Carrizzo A, Forte M, Damato A, Trimarco V, Salzano F, Bartolo M, Maciag A, Puca AA, Vecchione C. Antioxidant effects of resveratrol in cardiovascular, cerebral and metabolic diseases. *Food Chem Toxicol* 2013, 61: 215-26.
82. Prasad K. Resveratrol, wine, and atherosclerosis. *Int J Angiol* 2012, 21: 7-18.
83. Chanvitagapongs S, Draesynska-Lwiak B, Sun AY. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuro Report* 1997, 8: 1499-502.
84. Kimura Y, Okuda H, Arichi S. Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1985, 834: 275-8.
85. Lanzilli G, Cottarelli A, Nicotera G, Guida S, Ravagnan G, Fuggetta MP. Anti-inflammatory effect of resveratrol and polydatin by in vitro IL-17 modulation. *Inflammation* 2012, 35: 240-8.
86. Wirleitner B, Schroecksnadel K, Winkler C, Schennach HS, Fuchs D. Resveratrol suppresses interferon-gamma-induced biochemical pathways in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Immunol Lett* 2005, 100: 159–63.



87. Rachon D, Rimoldi G, Wuttke W. In vitro effects of genistein and resveratrol on the production of interferon-gamma (IFN $\gamma$ ) and interleukin-10 (IL-10) by stimulated murine splenocytes. *Phytomedicine* 2006, 13: 419–24.
88. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv* 2006, 6: 36-47.
89. Ergin K, Yaylalı A. Resveratrol ve etkileri üzerine bir gözden geçirme. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2013, 20: 115-20.
90. Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 2000, 141: 3657-67.
91. Song LH, Pan W, Yu YH, Quarles LD, Zhou HH, Xiao ZS. Resveratrol prevents CsA inhibition of proliferation and osteoblastic differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells through an ER/NO/cGMP pathway. *Toxicol In Vitro* 2006, 20: 915-22.
92. Bhat KP, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Ann NY Acad Sci* 2002, 957: 210-29.
93. Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Resveratrol stimulates the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 253: 859-63.
94. Durbin SM, Jackson JR, Ryan MJ, Gigliotti JC, Alway SE, Tou JC. Resveratrol supplementation influences bone properties in the tibia of hindlimb-suspended mature Fisher 344  $\times$  Brown Norway male rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2012, 37: 1179-88.
95. Liu ZP, Li WX, Yu B, Huang J, Sun J, Huo JS, Liu CX. Effects of trans-resveratrol from *Polygonum cuspidatum* on bone loss using the ovariectomised rat model. *J Med Food* 2005, 8: 14–9.
96. Cottart CH, Nivet-Antoine V, Beaudoux JL. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. *Mol Nutr Food Res* 2014, 58: 7-21.

97. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M, Crowell JA, Perloff M, Booth TD, Vasilinin G, Sen A, Schinas AM, Piccirilli G, Brown K, Steward WP, Gescher AJ, Brenner DE. Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer Res* 2010, 70: 9003-11.
98. Patel KR, Brown VA, Jones DJ, Britton RG, Hemingway D, Miller AS, West KP, Booth TD, Perloff M, Crowell JA, Brenner DE, Steward WP, Gescher AJ, Brown K. Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Res* 2010, 70: 7392–9.
99. Poulsen MM, Vestergaard PF, Clasen BF, Radko Y, Christensen LP, Stødkilde-Jørgensen H, Møller N, Jessen N, Pedersen SB, Jørgensen JO. High-Dose resveratrol supplementation in obese men: an investigator-initiated, randomized, placebo-controlled clinical trial of substrate metabolism, insulin sensitivity, and body composition. *Diabetes* 2013, 4: 1186-95.
100. Howells LM1, Berry DP, Elliott PJ, Jacobson EW, Hoffmann E, Hegarty B, Brown K, Steward WP, Gescher AJ. Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases— safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011, 4: 1419–25.
101. la Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I, Tardiff D, Singhal N, Cameron DW. Steady-state pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. *Clin Pharmacokinet* 2010, 49: 449-54.
102. Chow HH, Garland LL, Hsu CH, Vining DR, Chew WM, Miller JA, Perloff M, Crowell JA, Alberts DS. Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010, 3: 1168-75.
103. Crandall JP, Oram V, Trandafirescu G, Reid M, Kishore P, Hawkins M, Cohen HW, Barzilai N. Pilot study of resveratrol in older adults with impaired glucose tolerance. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012, 67: 1307-12.

104. Boocock DJ, Faust GE, Patel KR, Schinas AM, Brown VA, Ducharme MP, Booth TD, Crowell JA, Perloff M, Gescher AJ, Steward WP, Brenner DE. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007, 16: 1246-52.
105. Budwit-Novotny DA, McCarty KS, Cox EB, Soper JT, Mutch DG, Creasman WT, Flowers JL, McCarty KS Jr. Immunohistochemical analyses of estrogen receptor in endometrial adenocarcinoma using a monoclonal antibody. *Cancer Res* 1986, 46:5419-25.
106. Wassef R, Cohen Z, Langer B. Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. Influence of route of administration and dosage. *Transplantation* 1985, 40: 489-93.
107. Spolidorio LC, Marcantonio E Jr, Spolidorio DM, Nassar CA, Nassar PO, Marcantonio RA, Rossa C Jr. Alendronate therapy in cyclosporine-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res* 2007, 42: 466-73.
108. Sakakura CE, Margonar R, Holzhausen M, Nociti FH Jr, Alba RC Jr, Marcantonio E Jr. Influence of cyclosporin A therapy on bone healing around titanium implants: histometric and biomechanic study in rabbits. *J Periodontol* 2003, 74: 976-81.
109. Sakakura CE, Lopes BM, Margonar R, Queiroz TP, Nociti FH Jr, Marcantonio E Jr. Cyclosporine-a and bone density around titanium implants: a histometric study in rabbits. *Journal of osseointegration. J Osseointegr* 2013, 3: 25-9.
110. Nassar PO, Nassar CA, Guimarães MR, Aquino SG, Andia DC, Muscara MN, Spolidorio DM, Rossa C Jr, Spolidorio LC. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res* 2009, 44: 479-88.
111. Spolidorio LC, Herrera BS, Coimbra LS, Spolidorio DM, Muscará MN, Rossa C Jr. Intermittent therapy with 1,25 vitamin D and calcitonin prevents cyclosporin-induced alveolar bone loss in rats. *Calcif Tissue Int* 2010, 87: 236-45.
112. Lee WY, Baek KH, Rhee EJ, Tae HJ, Oh KW, Kang MI, Lee KW, Kim SW, Kim CC, Oh ES. Impact of circulating bone-resorbing cytokines on the subsequent bone loss following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004, 34: 89-94.

113. Bertelli AA, Giovannini L, Stradi R, Urien S, Tillement JP, Bertelli A. Evaluation of kinetic parameters of natural phytoalexin in resveratrol orally administered in wine to rats. *Drugs Exp Clin Res* 1998, 24: 51-5.
114. Juan ME, Vinardell MP and Planas JM. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr* 2002, 132: 257-60.
115. Elmali N, Esenkaya I, Harma A, Ertem K, Turkoz Y, Mizrak B. Effect of resveratrol in experimental osteoarthritis in rabbits. *Inflamm Res* 2005, 54: 158-62.
116. Elmali N, Baysal O, Harma A, Esenkaya I, Mizrak B. Effects of resveratrol in inflammatory arthritis. *Inflammation* 2007, 30: 1-6.
117. Shakibaei M, John T, Seifarth C, Mobasheri A. Resveratrol inhibits IL-1beta-induced stimulation of caspase-3 and cleavage of PARP in human articular chondrocytes in vitro. *Ann N Y Acad Sci* 2007, 1095: 554-63.
118. Dave M, Attur M, Palmer G, Al-Mussawir HE, Kennish L, Patel J, Abramson SB. The antioxidant resveratrol protects against chondrocyte apoptosis via effects on mitochondrial polarization and ATP production. *Arthritis Rheum* 2008, 58: 2786-97.
119. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S, Harris D, Van Q, Kantarjian HM, Talpaz M, Aggarwal BB. Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. *Blood* 2003, 102: 987-95.
120. Wang J, Gao JS, Chen JW, Li F, Tian J. Effect of resveratrol on cartilage protection and apoptosis inhibition in experimental osteoarthritis of rabbit. *Rheumatol Int* 2012, 32: 1541-8.
121. Atmaca N, Atmaca HT, Kanici A, Anteplioglu T. Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2014, 70: 191-7.

122. Zeytin K, Ciloğlu NS, Ateş F, Vardar Aker F, Ercan F. The effects of resveratrol on tendon healing of diabetic rats. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014, 48: 355-62.
123. Poulsen MM, Ornstrup MJ, Harsløf T, Jessen N, Langdahl BL, Richelsen B, Jørgensen JO, Pedersen SB. Short-term resveratrol supplementation stimulates serum levels of bone-specific alkaline phosphatase in obese non-diabetic men. *Journal of Functional Foods* 2014, 6: 305-10.
124. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM, Kassem M, Plesner T, Delaissé JM. Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. *Cancer Res* 2005, 65: 9943–52.
125. Singh SU1, Casper RF, Fritz PC, Sukhu B, Ganss B, Girard B Jr, Savouret JF, Tenenbaum HC. Inhibition of dioxin effects on bone formation in vitro by a newly described aryl hydrocarbon receptor antagonist, resveratrol. *J Endocrinol* 2000, 167: 183-93.
126. Backesjo CM, Li Y, Lindgren U, Haldosen LA. Activation of Sirt1 decreases adipocyte formation during osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res* 2006, 21: 993–1002.
127. Momken I, Stevens L, Bergouignan A, Desplanches D, Rudwill F, Chery I, Zahariev A, Zahn S, Stein TP, Sebedio JL, Pujos-Guillot E, Falempin M, Simon C, Coxam V, Andrianjafiniony T, Gauquelin-Koch G, Picquet F, Blanc S. Resveratrol prevents the wasting disorders of mechanical unloading by acting as a physical exercise mimetic in the rat. *FASEB J* 2011, 25: 3646–60.
128. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, Swindell WR, Kamara D, Minor RK, Perez E, Jamieson HA, Zhang Y, Dunn SR, Sharma K, Pleshko N, Woollett LA, Csiszar A, Ikeno Y, Le Couteur D, Elliott PJ, Becker KG, Navas P, Ingram DK, Wolf NS, Ungvari Z, Sinclair DA, de Cabo R. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* 2008, 8: 157–68.

129. Mobasher A, Shakibaei M. Osteogenic effects of resveratrol in vitro: potential for the prevention and treatment of osteoporosis. *Ann N Y Acad Sci* 2013, 1290: 59–66.
130. Lin Q, Huang YM, Xiao BX, Ren GF. Effects of resveratrol on bone mineral density in ovariectomized rats. *Int J Biomed Sci* 2005, 1: 76-81.
131. Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Protective effect of resveratrol on oxidative damage in male and female stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001, 28: 55–9.
132. Sehmisch S, Hammer F, Christoffel J, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK. Comparison of the phytohormones genistein, resveratrol and 8-prenylnaringenin as agents for preventing osteoporosis. *Planta Med* 2008, 74: 794–801.
- 133 Zhao H, Li X, Li N, Liu T, Liu J, Li Z, Xiao H, Li J. Long-term resveratrol treatment prevents ovariectomy induced osteopenia in rat without hyperplastic effects on the uterus. *Br J Nutr* 2014, 111: 836–46.
134. Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Resveratrol attenuates ovariectomy-induced hypertension and bone loss in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2000, 46: 78-83.
135. Uysal T, Gorgulu S, Yagci A, Karslioglu Y, Gunhan O, Sagdic D. Effect of resveratrol on bone formation in the expanded inter-pre- maxillary suture: early bone changes. *Orthod Craniofac Res* 2011, 14: 80–7.



## **EKLER**

### **Ek.1. Özgeçmiş**

1989 İzmir doğumluyum. İlköğrenimimi Ödemiş İlköğretim Okulu'nda, liseyi Hulusi Uçaçelik Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2007 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde başladığım yükseköğrenimimi 2012 yılında tamamladım. Kasım 2012'de İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen bu kurumda tez çalışmalarına devam etmekte ve klinikte aktif olarak hasta bakmaktayım.

Yabancı dilim İngilizce'dir.



## Ek.2. Etik Kurul Onayı



### İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

#### DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 29-08-2014  
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2014/A-65  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soya : Sprague Dawley  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 72 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 250-300gr/3-5aylık

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr Hilal Alan'ın yürüttüğü "Siklosporin A uygulanan ve diş çekimi yapılan sıçanlarda çekim soketlerinin iyileşmesi üzerine resveratrolün etkilerinin değerlendirilmesi" isimli 2014/A-65 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Arif ALADAG Başkan	 Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	 Doç. Dr. Yılmaz ÇİGREMİŞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Salih AVCI Sivil Üye Kabul eder	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye Kabul eder	

### Ek.3. Proje Onayı



Sayı : B.14.2.TBT.0.06.03.02-161-180196

05/12/2014

Konu : 2148260 Numaralı Proje Öneriniz

Sayın Yrd. Doç. Dr. HİLAL ALAN

Kurumumuza "Hızlı Destek Programı" kapsamında destek başvurusunda bulunduğunuz "Siklosporin A Uygulanan Ve Diğ Çekimi Yapılan Siçanlarda Çekim Soketlerinin İyileşmesi Üzerine Resveratrolün Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı ve 2148260 numaralı proje önerinizin değerlendirme süreci tamamlanmıştır.

Proje öneriniz, konunun uzmanı danışmanlar tarafından "Özgün Değer", "Yöntem", "Proje Yönetimi, Ekip Ve Araştırma Olanakları" ve "Yaygın Etki" boyutlarında değerlendirilmiş olup Grup Yürütme Komitemizin 25/11/2014 tarih ve 730 sayılı toplantısında incelenerek görüşülmüş ve yapılan değerlendirmeler sonucunda proje önerinizin desteklenmesi uygun bulunmuştur.

Çalışmalarınızda başarılar diler, saygılar sunarım.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Sevim Aydın", is positioned above the typed name and title.

Prof. Dr. Sevim AYDIN  
Sağlık Bilimleri Araştırma Destek  
Grubu  
Yürütme Komitesi Sekreteri V.

**PANEL PUAN SEVİYESİ: B**

A: Çok İyi B: İyi C: Orta D: İyi Değil E: Yetersiz

Panel toplam puanı A ve B seviyesinde olan projeler desteklenmiştir.