



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KRİTİK BOYUTLU KEMİK DEFEKTLERİNDE DENOSUMAB  
VE OZON UYGULAMASININ KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt. Ersin KESKİN

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Beyza KAYA

DİYARBAKIR 2019





TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KRİTİK BOYUTLU KEMİK DEFİKTLERİNDE DENOSUMAB  
VE OZON UYGULAMASININ KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt. Ersin KESKİN

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Beyza KAYA

DİYARBAKIR 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Ersin Keskin'in hazırladığı "Kritik Boyutlu Kemik Defektlerinde Denosumab ve Ozon Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 21/05/2019

Danışman Prof. Dr. Beyza KAYA

**Jüri Üyeleri**

İmza

Jüri Başkanı Prof. Dr. Beyza KAYA

Üye Doç. Dr. Ela Tules KADİROĞLU

Üye Dr. Öğr. Üyesi Nedim GÜNEŞ

Üye Dr. Öğr. Üyesi Adalet ÇELEBİ BEKTAŞ

Üye Dr. Öğr. Üyesi Burak YAZICI

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../20.. tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

27 /02/2019

Ersin Keskin

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince her türlü desteği ile sürekli yanımda olan, engin bilgi ve birikiminden istifade ettiğim, tezimin yazımında büyük emekler sarf eden değerli hocam Sayın Prof. Dr. Beyza KAYA' ya,

Yoğun çalışmalarını arasında, tezimin histolojik değerlendirilmesi için bana vakit ayıran Prof. Dr. Ayfer Şanlı AKTAŞ' a,

Birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve klinik personellerine,

Başarımı borçlu olduğum ve yaşamım boyunca hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen saygıdeğer annem ve babama, eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan ablam Dr. Kamile ORUÇ' a ve bu süreçte beni motive eden sevgili eşime ve kızım Işıl'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından Diş.17.022 numaralı proje ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

<b>BEYAN</b> .....	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>II</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>III</b>
<b>KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ</b> .....	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESİMLER LİSTESİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>X</b>
<b>1. ÖZETLER</b> .....	<b>1</b>
1. 1. Türkçe Özet.....	1
1.2. Abstract .....	2
<b>2. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>3</b>
<b>3. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
3.1. Kemik Doku .....	4
3.2. Kemik Hücreleri.....	4
3.2.1. Osteoprogenitör hücreler.....	4
3.2.2. Osteoblastlar.....	5
3.2.3. Osteositler .....	5
3.2.4. Osteoklastlar.....	6
3.3. Kemik Matriksi .....	6
3.3.1. Organik matriks.....	6
3.3.2. İnorganik matriks .....	6
3.4. Periosteum ve Endosteum .....	7
3.4.1. Periosteum.....	7
3.4.2. Endosteum.....	8
3.5. Kemik Tipleri .....	8

3.5.1. Primer kemik dokusu .....	8
3.5.2. Sekonder kemik dokusu .....	8
3.5.2.1. Spongioz (Kansellöz) kemik .....	9
3.5.2.2. Kompakt kemik .....	9
3.6. Kemik Oluşumu .....	9
3.6.1. İntramembranöz kemik oluşumu.....	10
3.6.2. Endokondral kemik oluşumu .....	10
3.7. Kırık İyileşmesi .....	11
3.7.1. Primer kemik iyileşmesi.....	11
3.7.2. Sekonder kırık iyileşmesi .....	11
3.7.2.1. Yangı(Enflamasyon) evresi (1-4 Gün).....	12
3.7.2.2. Onarım(Reperasyon) evresi(2-40 Gün).....	12
3.7.2.3. Remodeling(Yeniden şekillenme) evresi .....	13
3.8. Kritik Boyutlu Kemik Defektleri .....	13
3.8.1. Kalvariya defektleri.....	13
3.9. Kemik Greftleri.....	15
3.9.1. Otojen kemik grefti .....	15
3.9.2. Allogreft .....	15
3.9.3. Ksenogreft (Heterogreft).....	16
3.9.4. Alloplastlar .....	16
3.10. Denosumab.....	16
3.11. Ozon .....	18
3.11.1. Ozon gazının özellikleri ve tarihçesi .....	18
3.11.2. Ozonun dişhekimliğinde kullanımı .....	18
3.11.2.1. Oral cerrahi ve ozon .....	19
<b>4. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>21</b>



4.1. Çalışma Grupları .....	21
4.2. Cerrahi Protokol .....	22
4.3. Histopatolojik Analizler .....	27
4.4. İstatistiksel Method .....	27
<b>5. BULGULAR .....</b>	<b>28</b>
5.1. Histopatolojik Bulgular .....	28
5.1.1 4. Hafta bulguları .....	28
5.1.1.1 Kontrol grubu: .....	28
5.1.1.2 Ozon grubu .....	31
5.1.1.3 Denosumab grubu .....	34
5.1.1.4 Ozon ve denosumab grubu .....	38
5.1.2. 8. Hafta bulguları .....	40
5.1.2.1 Kontrol grubu .....	40
5.1.2.2 Ozon grubu .....	43
5.1.2.3 Denosumab grubu .....	47
5.1 2.4 Ozon ve denosumab grubu .....	50
5.2. İstatiksel Bulgular .....	53
<b>6. TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
<b>7. SONUÇ .....</b>	<b>64</b>
<b>8. KAYNAKLAR.....</b>	<b>65</b>
<b>9.ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>76</b>
<b>10. EKLER.....</b>	<b>77</b>
10. 1. Etik Kurul Onayı .....	77
<b>11.ORİJİNALLİK RAPORU .....</b>	<b>78</b>

## KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ

<b>O<sub>3</sub></b>	: Ozon
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>PAS</b>	: Periyodik asit ve Schiff yöntemiyle pozitif reaksiyon veren
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>PGE<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
<b>BMP</b>	: Kemik morfo genetik proteini
<b>HA</b>	: Hidroksiapatit
<b>TCP</b>	: Trikalsiyum fosfat
<b>RANK</b>	: Reseptör aktivatör nükleer kappa B
<b>RANKL</b>	: Reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand
<b>IgG<sub>2</sub></b>	: İmmunglobulin G <sub>2</sub>
<b>mg</b>	: Miligram
<b>IU</b>	: International Unit (uluslararası ünite)
<b>BRONJ</b>	: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>s.c</b>	: Subkütan
<b>i.m</b>	: İntramüsküler

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Kemiğin yapısı.....7

Şekil 5.1. Kemik oluşumu 4. hafta skorlarının gruplara göre dağılım grafiği .....53

Şekil 5.2. Kemik oluşumu 8. hafta skorlarının gruplara göre dağılım grafiği .....54

Şekil 5.3. Grup içinde kemik oluşumu 4. hafta ve 8. hafta skorlarına ilişkin dağılım grafiği.....55



## RESİMLER LİSTESİ

<b>Resim 4.1:</b> Künt diseksiyon ile kalvaryumun operasyon için hazır hale getirilmesi.	24
<b>Resim 4.2:</b> 5 mm çapında trefin frez ile defektin hazırlanması .....	24
<b>Resim 4.3:</b> Defekt bölgesine sıgır kaynaklı ksenogreft yerleştirilmesi .....	25
<b>Resim 4.4:</b> Defekte greft uygulandıktan sonra topikal ozon uygulanması .....	25
<b>Resim 4.5:</b> Kullanılan denosumab ilacı .....	26
<b>Resim 4.6:</b> Bölgenin primer olarak suturasyonu.....	26
<b>Resim 5.1:</b> 4. hafta kontrol gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	29
<b>Resim 5.2:</b> 4. hafta kontrol gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	30
<b>Resim 5.3:</b> 4. hafta kontrol gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	31
<b>Resim 5.4 :</b> 4. hafta ozon gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	32
<b>Resim 5.5:</b> 4. hafta ozon gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	33
<b>Resim 5.6:</b> 4. hafta ozon gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	34
<b>Resim 5.7:</b> 4. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ....	35
<b>Resim 5.8:</b> 4. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ....	36
<b>Resim 5.9:</b> 4. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ....	37
<b>Resim 5.10:</b> 4. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü.....	38
<b>Resim 5.11:</b> 4. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü.....	39
<b>Resim 5.12:</b> 4. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü.....	40
<b>Resim 5.14:</b> 8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü	42
<b>Resim 5.15:</b> 8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	43
<b>Resim 5.16:</b> 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü.....	44
<b>Resim 5.17:</b> 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	45
<b>Resim 5.18:</b> 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	46
<b>Resim 5.19:</b> 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ...	47
<b>Resim 5.20:</b> 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ...	48
<b>Resim 5.21:</b> 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü ...	49

<b>Resim 5.22:</b> 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	50
<b>Resim 5.23:</b> 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	51
<b>Resim 5.24:</b> 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü .....	52



## TABLolar LİSTESİ

**Tablo 5.1.** Kemik oluşumu 4. hafta skorları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.....53

**Tablo 5.2.** Kemik oluşumu 8. hafta skorları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.....54

**Tablo 5.3.** Grup içinde kemik oluşumu 4. hafta ve 8. hafta skorları arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon Testi sonucu.....55



# 1. ÖZETLER

## Kritik Boyutlu Kemik Defektlerinde Denosumab ve Ozon Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması

**Öğrencinin Adı ve Soyadı:** Dt. Ersin KESKİN

**Danışmanı:** Prof. Dr. Beyza KAYA

**Anabilim Dalı:** Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi

### 1. 1. Türkçe Özet

**Amaç:** Maksillofasiyal cerrahide herhangi bir sebeple oluşan defektlerin iyileşmesini hızlandırmak amacıyla çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar arasında osteoporoz hastalığında kullanılan bifosfonat grubu ilaçlardan denosumabın , yeni kemik oluşumu üzerinde olumlu etkileri olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Genel tıp alanında ve dişhekimliğinde yaygın kullanımı olan ozon ise yine kemik yapımı üzerinde olumlu etkileri olan alternatif bir tedavi olarak son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı rat kalvaryumlarında oluşturulan kritik boyutlu defektlerde denosumab ve ozon uygulamaları yaparak, yeni kemik oluşumunun değerlendirilmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda 40 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna sadece greft konuldu. Ozon grubu (O) ve ozon ve denosumab (O-D) gruplarına greft uygulandıktan sonra 15 saniye süreyle topikal ozon uygulandı. Denosumab grubu (D) ve ozon ve denosumab(O-D) grubuna 8 hafta süresinde 4 haftada bir olmak üzere subkütan (s.c) 10 mg/kg Prolia(denosumab) enjekte edildi. Her gruptan 5 hayvan 4. hafta sonunda, gruptaki diğer 5 hayvan ise 8. hafta sonunda sakrifiye edildikten sonra histopatolojik incelemeler yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Yapılan histopatolojik inceleme sonrası greft+ozon ve greft+denosumab uygulanan gruplarda sadece greft yerleştirilen kontrol grubuna kıyasla daha iyi kemik oluşumu gözlemlendi. Kontrol grubu dışındaki diğer gruplar birbirleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasada denosumab uygulanan gruplarda ozon grubuna göre daha fazla yeni kemik oluşumu belirlendi.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonucunda ozon ve denosumab uygulamasının yeni kemik yapımı üzerine olumlu katkısı olduğunu ancak bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Sözcükler:** rat, ozon, denosumab, yeni kemik yapımı

# **Investigation of the Effect of Denosumab and Ozone Application on Bone Healing in Critical Size Bone Defects**

**Student's Surname and Name:** Dt. Keskin Ersin

**Adviser of Thesis:** Prof. Dr. Beyza KAYA

**Department:** Department of Oral and Maxillofacial Surgery

## **1.2. Abstract**

**Aim:** In maxillofacial surgery, various drugs are used in order to accelerate the recovery of defects caused by any reason. Several studies have shown that denosumab from bisphosphonate group drugs used in osteoporosis patients has positive effects on new bone formation. In general medicine and dentistry, ozone is in widespread use as an alternative treatment and has positive effects on new bone formation. The aim of this study was to evaluate new bone formation by performing denosumab and ozone on critical-sized rat calvarium defects.

**Material and Method:** In our study, 40 Sprague Dawley rats were used. Rats were divided into 4 groups. Only grafts were placed in the control group. After applying graft to ozone group (O) and ozone and denosumab (O-D) groups, topical ozone was applied for 15 seconds. Denosumab group (D) and ozone and denosumab (O-D) group were injected subcutaneously (s.c) 10 mg / kg Prolia (denosumab) every 4 weeks for 8 weeks. 5 animals from each group at the end of week 4, while the other five animals in the group at the end of 8 weeks after being sacrificed for histopathological examination was performed. The differences between the groups were evaluated by statistical analysis.

**Results:** After histopathological examination, better bone formation was observed in the ozone and denosumab treated groups compared to the control group. There was no statistically significant difference between the groups except for the control group, however, new bone formation was determined in the groups treated with denosumab compared to the ozone group.

**Conclusion:** As a result of our study, we believe that the application of ozone and denosumab has a positive effect on the formation of new bone, but we think that more studies should be done.

**Key Words:** rat, ozone, denosumab, new bone formation



## 2. GİRİŞ ve AMAÇ

Oral ve maksillofasiyal cerrahide, operasyon alanındaki iyileşme ve kemik oluşumu en fazla üstünde durulan konulardan biri olmuştur. Günümüzde kemik iyileşmesinde altın standart olarak kabul edilip kullanılan otojen greftlemedir. Fakat otojen greftin dezavantajlarından dolayı allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik materyaller de sıklıkla kullanılmaktadır (1).

Ozon (O<sub>3</sub>) üç oksijen atomundan oluşan doğal bir bileşiktir. Ozon kimyasal yapısı nedeniyle radikal bir molekül değildir ancak bilinen en güçlü üçüncü oksidandır. Ozonun depolanamaması ve 40 dakikalık yarı ömre sahip olması nedeniyle, tek seferde kullanılması gereken stabil olmayan bir gazdır. Ozon, sahip olduğu antimikrobiyal özellikler, analjezik etkisi, mikrodolaşım ve periferik kan dolaşımı üzerindeki düzenleyici etkileri nedeniyle 1993'ten bu yana diş hekimliğinde ve oral cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır (2).

Son yıllarda defektlerin onarılması için farklı ilaç uygulamaları giderek popülerlik kazanmaktadır. Bu ilaçlar hem kemik defektlerinde hem de osteoporozun tedavisinde kullanılması ile hayli dikkat çekmektedir. Denosumabın, insan ve hayvan çalışmalarında kullanılmasıyla kemik kütlelerini, mikromimarisini ve dayanıklılığını artırdığını kanıtlanmış, osteoporoz tedavisinde kullanılan yeni bir ajandır. FDA tarafından 2010 yılında onay almıştır.

Yapılan literatür taramasında denosumab ve ozonun birlikte uygulanmasıyla yeni kemik oluşumunu inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda, oluşturduğumuz kritik boyuttaki kemik defektlerinde denosumab ve ozon uygulaması yaparak, yeni kemik oluşumu düzeylerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızın amacı, oluşturduğumuz kritik boyuttaki kemik defektlerinde denosumab ve ozonun ayrı ayrı ve kombine uygulamalarının, yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin değerlendirilmesidir.

### **3. GENEL BİLGİLER**

#### **3.1. Kemik Doku**

İnsan iskeletinin en önemli yapıtaşlarından biri olan kemik dokusu, önemli organları korumakta ve kas yapılarını destekleyerek vucut hareketini sağlamaktadır. Ayrıca kemik doku, içerisinde kan yapan kemik iliği hücrelerini içerir. Bu görevlere ek olarak kemiğin kalsiyum, fosfor ve diğer iyonların seviyesinin düzenlenmesinde önemli payı vardır. Kan ile kemik arasında devamlı bir iyon transferi mevcuttur (3, 4).

Kemik doku vücudumuzda ki en sert dokulardan biri olarak kabul edilir. Kemiklerin travmaya maruz kalması durumunda tamir yetenekleri oldukça gelişmiştir ve bundan dolayı etkilenen bölgede yeni kemik dokusu elde edilerek ilgili bölgenin fonksiyonları tekrar sağlanır (4, 5).

Kemik doku da diğer bağ dokuları gibi hücreler, lifler ve hücreler arası matriksten oluşmuştur. Ancak bunlardan farklı olarak kemik dokunun hücreler arası matriksi mineralizedir. Hem organik hem de inorganik içeriğe sahiptir. İnorganik komponentini, greft malzemesi olarakda çok kullanılan kalsiyum fosfat oluşturmaktadır. Kalsiyum ve fosfor kristalize olarak yine greft olarak kullanılan hidroksiapatiti oluştururlar. Bu inorganik yapılar kemiğe sertliğini verir. Organik içeriğinin temel kısmını ise tip 1 kollajen ağları oluşturur. Çok sert olmasına rağmen dayanıklılığını arttıran ve kolay kırılmasını önleyen bu yapılardır. Bunların dışında proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve glikoproteinler hücreler arası matriksi meydana getiren diğer proteinlerdir (3).

#### **3.2. Kemik Hücreleri**

##### **3.2.1. Osteoprogenitör hücreler**

Osteoblastlara dönüşen ve mitotik aktiviteye sahip olan hücrelerdir (4). Kemiğin ana hücreleri olup mezenşimden köken alırlar. Genellikle soluk boyanan nukleuslu, asidofilik sitoplazmalı hücreler olup endosteumda, periosteumun iç katında ve havers kanalları gibi bölgelerde bulunurlar. Osteoprogenitor hücreleri mitozla olgun kemik hücrelerine farklılaşmaktadırlar. Bu hücreler kemik

büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamirinde aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblast hücrelerine dönüşürler (3).

### **3.2.2. Osteoblastlar**

Kemik dokusunda matriksin yapımında sorumlu olan bu hücreler, kübik ya da alçak prizmatik boylu hücrelerden yapılmıştır. İri çekirdekleri olup sitoplazmaları koyu bazofildir. Elektron mikroskopunda golgi ve endoplazmik retikulumları iyi gelişmiş olarak görülür. Lipid damlacıkları ve lizozom benzeri yapılar da sitoplazmada yer alır. Hücreler birbirleriyle kısa çıkıntılarla ilişkidir. Kuvvetli alkalin fosfataz ve PAS pozitif reaksiyon verirler. Alkalin fosfataz hem matriks hem de kalsifikasyonda rol alan önemli bir enzimdir. Enzim fosfatın hidroliziyle lokal inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırmakta ve bunun kalsiyum iyonlarıyla birleşmesi sonucu kalsiyum tuzları halinde dokuya çökmesi sağlanmaktadır (3). Osteoblastlar, mezenşimal kök hücrelerin farklılaşmış ürünleri olarak uzmanlaşmıştır. Kalın, çapraz bağlanmış kollajen ve özel proteinleri osteokalsin ve osteopontin gibi kemikteki organik matrisi oluşturan çok daha küçük miktarlarda sentezliyorlar. Bağlanmış hücrelerin organize gruplarında, osteoblastlar, hidroksiapatiti üretir ve bu organik matriste oldukça düzenlenmiş bir şekilde biriktirilir ve mineralize olmuş matris, güçlü ve yoğun bir mineralize doku oluşturur. Mineralize iskelet, havadaki omurgalı omurilik organlarının ana desteğidir. Hem asit- baz dengesini hem de kalsiyum veya fosfat bakımını içeren fizyolojik hemostaz için minerallerin önemli bir deposudur (5).

### **3.2.3. Osteositler**

Kemiğin esas hücreleri olup, olgun kemik hücresi adını da alır. Bu hücreler lakünaların içine yerleşmişlerdir. Gelişimlerini tamamlamış olduklarından sentez yapamazlar. Az da olsa kemik matriksini rezorbe etme ve sentezleme yetenekleri vardır (3). En tipik özelliklerinden biri de uzantıdır. Bu şekilde her hücre lakünası içine gömülü kalmayıp birbirleriyle temas kurmaktadır. Osteositlerin kalsiyumun kemiklerden kana verilmesinde ve hemostatik mekanizmayı düzenleme gibi önemli metabolik görevleri de vardır (6).

### **3.2.4. Osteoklastlar**

Kemikte yıkımı veya kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir. 20-100 µm çapında çok büyük hücrelerdir ve 2 den 50'ye kadar değişen sayılarda çekirdekleri bulunur. İşlevlerinden dolayı makrofaj türü hücre olarak kabul edilirler. Ayrıca mononükleer fagositer sisteme dahil hücrelerdir ancak aktif fagositoz yapmazlar. Osteoklastlar içerdikleri kollagenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedirler. Eritici enzimlerle eritilen kemik dokusu uzantılarla hücre içine alınmaktadır. Bu hücreler kemikte Howship lakünası adı verilen boşluklarda yerleşmişlerdir. Osteoklastlarda kemiğe bitişik yüzlerinde hücre yüzeyinin genişletilmesinde rol oynayan fırça kenarlı hücre uzantılar gözlenir. Osteoklastlar hormonlara karşı da çok duyarlıdır. Kemik yıkımı, kemiğin modelleşmesinde önemli rol oynar. Bu olay osteoklast ve osteoblastların uyumlu çalışması neticesinde gerçekleşmektedir (3).

Kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonu dengesi, özellikle postmenopozal kadınlarda yaşla birlikte negatif olma eğilimi gösterir, çoğunlukla osteoporoz olarak adlandırılan kırıklara neden olabilecek kadar ciddi bir kemik kaybına neden olur (7).

### **3.3. Kemik Matriksi**

Diğer adı da hücreler arası dokudur. Organik ve inorganik yapılar ile sudan oluşur. Kemik matriksinin %10-29'unu su, %60-70'ini inorganik yapı ve %30-40'ını da organik yapı oluşturur (2, 8).

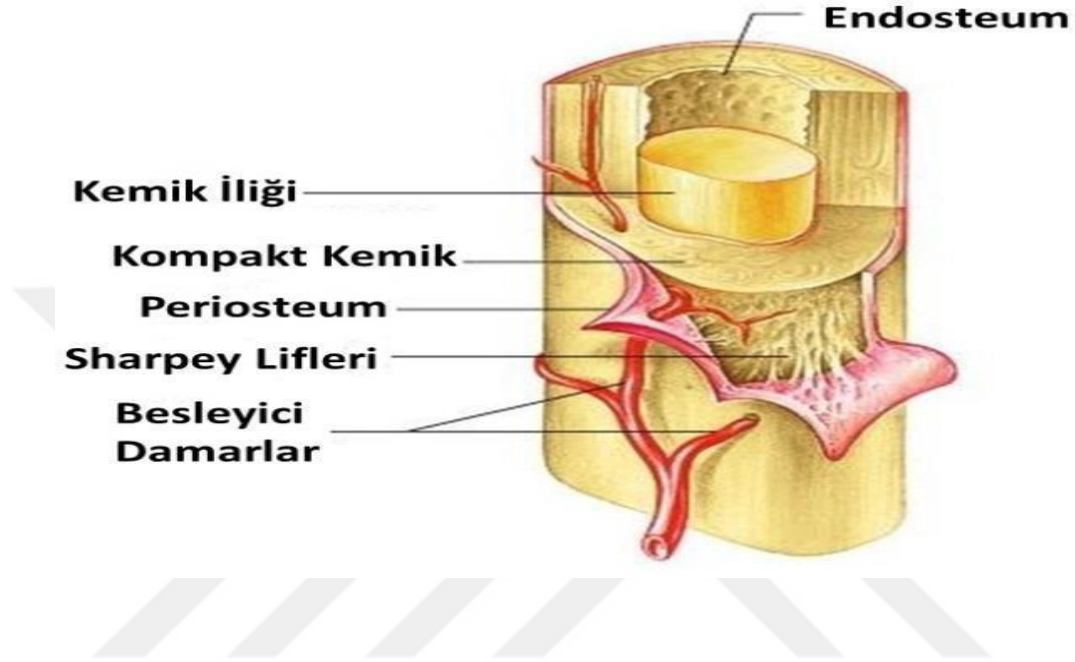
#### **3.3.1. Organik matriks**

Organik yapının %90-96'sı vücudumuzdaki bütün proteinlerin 1/3' ünü oluşturan, Tip I kollajendir. Kemiğin elastikiyetini oluşturan kollajen, organik kısımda bol miktarda bulunur. Kollajen kemiğin lifli yapısını sağlayarak, kemiğe şekil verir. Kollajen haricinde organik yapıda proteoglikanlar ve glikoproteinler gibi non-kollajen proteinler bulunur (4, 8, 9).

#### **3.3.2. İnorganik Matriks**

Bikarbonat, sodyum, potasyum nitrat ve magnezyum inorganik kısımda eser miktarda bulunur. En çok fosfor ve kalsiyum bulunur. Amorf yapıda olan kalsiyum fosfat, kalsiyum ve fosfordan oluşur ve çoğunlukla hidroksiapatit kristalleri

yapısındadır. Hidroksiapatit ve kollajen lifleri birlikte kemiğe sertlik ve dayanıklılık sağlar (10, 4, 11).



Şekil 3.1 Kemiğin Yapısı

### 3.4. Periosteum ve Endosteum

Kemik dokunun iç ve dış katmanları, kemik oluşturan hücrelerden ve bağ dokusu tabakalarıyla örtülüdür. Dış yüzeyde bulunan bağ doku zarına periosteum, iç yüzeyde bulunanına ise endosteum adı verilir (10).

#### 3.4.1. Periosteum

Periost, fibro-vasküler membran şeklinde özel fibröz dokudur. Bu iyi vaskülarize edilmiş fibröz kılıf, çoğu kemiğin dış yüzeyini kaplar ve eklem yüzeyleri, tendon ilaveleri veya sesamoid kemik yüzeylerinde bulunmaz. Kemiklere nüfuz eden sharpey lifleri adı verilen koloid lifleri ile periost ve kemikler birbirine bağlanır. Kollajen liflerin yönü gerilme kuvvetleri ile belirlenir. Bu lifler yüksek miktarda gerilim kuvvetine maruz kalan bölgelerde tüm kortekse nüfuz eder ve tendon ve kemiklerin sıkı bağlantıları ile sonuçlanır. Uzun kemiklerin diyafiz bölgesindeki

periostlar daha kalın (2-3 mm) olup alttaki kemikten kolayca ayrılırlar. İnce olan metafizeal ve epifiz bölgesindeki kemiklere sıkıca bağlıdır (12).

Kan damarları, sinir lifleri, osteoblastlar ve osteoklastları içerir. Kemikleri korur, besler ve yeni kemik oluşumuna yardımcı olur. Kırık tamiri ve apozisyonel büyümede önemli role sahiptir (13).

### **3.4.2. Endosteum**

Kemiğin, büyük iç ilik boşlukları endosteum ile kaplanmıştır. Endosteum, bu kavitelere entegre olan osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar içeren bağ dokusunun çok ince bir katmanıdır. Endosteum bu nedenle periostdan oldukça incedir. Kemik dokusunun beslenmesi ve kemiğin onarımı veya büyümesi için sürekli olarak yeni osteoblastlar sağlanması, periost ve endostun temel görevleri arasındadır (10). Bu sebepten ötürü, cerrahi işlemlerde bu yapıların zarar görmemesine azami dikkat edilmelidir.

### **3.5. Kemik tipleri**

Kemiğin mikroskopik incelenmesinde, iki tip kemik dokusu vardır: Olgunlaşmamış primer kemik ve olgun ikincil kemik.

#### **3.5.1. Primer kemik dokusu**

Primer kemik, embriyonik gelişimde ve kırık onarımında görünen ilk kemik dokusudur. İnce kollajen liflerin rastgele düzenlenmesi ile karakterizedir ve bu nedenle genellikle dokuma, olgunlaşmamış, non-lameller (Woven) kemik olarak da adlandırılır. Primer kemik dokusu geçicidir ve zamanla yerini sekonder kemik dokusuna bırakır (10).

#### **3.5.2. Sekonder kemik dokusu**

İkincil kemik dokusu, genellikle yetişkinlerde bulunan kemik tipidir. Kalsifiye olmuş matriksin çok katmanlı tabakaları ve lamelli kemik olarak kendini gösterir. Lamellerde bulunan kollajen lifler birbirine paraleldir fakat diğer lamellere çapraz yönde spiral yaparak bağlanır. Bu bağlantı, kemiğe dayanıklılık sağlar (10). Sekonder kemik yapısının, spongios kemik ve kompakt kemik olmak üzere 2 tipi vardır.

### **3.5.2.1. Spongioz (Kansellöz) kemik**

Kısa ve uzun kemiklerin, metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ve yassı kemiklerin içerisinde kansellöz kemik vardır. Yapı olarak kortikal kemiğe benzer fakat birbirleriyle ağ kuran kemik trabeküllerinden oluşur. Kemik iliği bu boşlukları doldurur (10). Kemiğin metabolik faaliyetlerini düzenler. Bu, kemik gelişme periyodunda oluşan ilk kemiktir (14).

### **3.5.2.2. Kompakt kemik**

Bütün kemiklerin dış tabakasında bulunan kısımdır. Kompakt kemiğin enine kesitlerinde havers kanalları daireler şeklinde, volkmann kanalları ise uzunlamasına veya oblik seyreder. Kemik yüzeylerindeki foramen nutrisyumlardan giren kan damarları volkmann kanallarından ilerleyip havers kanallarına, oralardan da dallanarak daha iç kısımlardaki kanallara ve kemiğin iç bölümündeki boşluklara kadar ulaşır. Kemik dokusunun matriksi ve hücreleri, bu damarlardan çıkan besin maddelerinin kanaliküler sistem içinde ilerlemesiyle beslenir. Kanallardaki damarları ince ve gevşek bağ dokusu sarmıştır. Bu bağ dokusunun içinde sinir lifleri ve gerektiğinde kemik dokusu oluşturabilecek kapasitede olan mezenkim hücreleri bulunur (15).

## **3.6. Kemik oluşumu**

Ossifikasyon ya da osteogenesis, osteoblast adı verilen hücreler tarafından yeni kemiğin oluşum sürecidir. Bu hücreler ve kemik matrisi, kemiğin oluşmasında rol oynayan en önemli iki unsurdur (13). Gelişim aşamasında iki tür kemikleşme izlenir; intramembranöz ve endokondral kemikleşme (4). Kafatası ve yüzün düz kemikleri, mandibula ve klavikula intramembranöz kemikleşme ile oluşur (16). Ekstremiteler ve ağırlık taşıyan iskelet (vertebra gibi) endokondral kemikleşme ile oluşur. Ossifikasyon ilk oluşan kemik primer(olgunlaşmamış) kemiktir. Bu doku yerini olgun kemiğe bırakır (17). Aktif bir yapıya sahip olan kemik dokusu sürekli olarak yenilenir.

Prenatal veya postnatal dönemde iki çeşit kemikleşme gözlenir; İntamembranöz veyahut endokondral kemikleşme (18).

### **3.6.1. İntamembranöz kemik oluşumu**

Bu kemikleşme türü, zarsal kemikleşme, direk kemikleşme olarak da isimlendirilmektedir. İntrauterin hayatın 8. haftasında oluşmaya başlar. Tüm kemiklerin dış yüzünü periosteum, iç yüzünü ise endosteum kaplamaktadır. Bu zarlardan ayrılan osteoblast hücreleri, bir kıkırdak taslak gibi hiçbir ön taslak olmadan direk olarak kemik dokusu meydana getirirler. Bu sebepten dolayı, bu kemikleşme türüne direk kemikleşme, zarsal kemikleşme isimleri de verilmektedir. (10) (18)

Yassı kemiklerin birçoğu bu tür kemikleşmeyle oluşur. Örneğin; pariyetal, frontal, oksipital, temporal kemiklerin tamamı, maksillanın bazı bölgeleri, mandibulanın processus koronoideus ve simfizis haricindeki kısımları intamembranöz kemikleşmeyle oluşur. İntrauterin dönemde nerede ilk defa kemik oluşumu olacaksa o bölgede mezenkim hücreleri toplanır. Bu kemikleşme merkezlerinde, mezenkim hücreleri farklılaşarak osteoblastları oluşturur. Osteoblastlar önce kollajen liflerden oluşan osteoid olarak da isimlendirilen organik matriks salgılar. Organik matriks oluşumunu kalsifikasyon izler. Sert doku içinde hapsolan osteoblastlar osteosit hücrelerine dönüşürler (10, 18, 19).

### **3.6.2. Endokondral kemik oluşumu**

İlk önce bir kıkırdak taslak oluşur (20). Bu taslak oluşuktan sonra indirek kemik oluşumuna endokondral kemikleşme(indirek kemikleşme) denir. Bu tip ossifikasyon esas olarak kısa ve uzun kemiklerin oluşumundan sorumludur (10). İntrauterin dönemde endokondral kemikleşme olacak yerlerdeki mezenkim hücrelerinden önce bir kıkırdak dokusu farklılaşır. Buna birincil (primordial) kıkırdak adı verilir. Uzun kemiklerin diafiz kısımlarının ilk kemikleşmesi, embriyonik dönemde bu kıkırdak taslaktan indirek olarak meydana gelir. Diafiz kemikleştikten sonra, diafizin üstünü saran kıkırdak kılıfı (perikondrium) periosteuma dönüşür. Bundan sonra diafizde olan kemikleşme olayları, intamembranöz (direk) kemikleşmeyle meydana gelecektir. Ancak uzun kemiğin diafizinin uçlarında birincil kıkırdaklar kalır ve buradan endokondral kemikleşmeyle kemik uzunluğu artar. Postnatal dönemde uzun kemiklerin uç kısmında bulunan primordial kıkırdakta ikincil kemikleşme merkezi oluşarak uzun kemiğin epifizi



meydana gelir. Diafiz ile epifiz arasında bir kırıkta tabakası kalır. Buna epifiz kırıktağı denir. Büyüme sona erinceye kadar epifiz kırıktağındaki hücre çoğalması ve endokondral kemikleşmeyle kemik uzunluğu artar. Büyüme sona erdiğinde epifiz kırıktağı tamamen kemikleşerek ortadan kaybolur (18).

### **3.7. Kırık İyileşmesi**

Dıştan veya içten gelen kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık adı verilir. Bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik, birtakım fizyolojik reaksiyonlar başlar. Kemik iyileşmesinde skar dokusu oluşmaz ve yeniden yapılanmayla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık oluştuğu andan itibaren başlar ve düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar sürer (21). Eğer kemik dokusunun iyileşmesi sonrasında fibröz doku oluşmuşsa, bu durum kırığın iyileşmemiş olduğunu gösterir (22).

Kemik dokusunda bir hasar oluştuğu durumda, etrafındaki yumuşak dokuda ve kemik içinde hemoraji meydana gelir. Defekt alanı kan ile dolar ve bu kanın pıhtılaşması ile kemik iyileşmesi başlar (23).

Kırık uçları arasındaki açıklık ve stabilizasyonun tipine göre iki tip kırık iyileşmesi vardır; primer kırık iyileşmesi ve sekonder kırık iyileşmesi (24).

#### **3.7.1. Primer kemik iyileşmesi**

Birincil (primer) kırık iyileşmesi, rijit internal fiksasyondan sonra görülen iyileşme tipidir. Belirli bir dış kallus oluşmaz. Sadece iç kallusla devam eden temas iyileşmesidir (21). Radyolojik olarak kallus görülmez. Kırıktağı süreci olmadığından dolayı intramembranöz kemikleşmeye benzer (25).

#### **3.7.2. Sekonder kırık iyileşmesi**

Kırık ameliyatsız tedavi edilirse sekonder kırık iyileşmesi görülür. Doğal iyileşme şekli budur. Radyolojik olarak kallus görülür (25). Cruess ve Dumont' a göre sekonder kırık iyileşmesinin 3 safhası vardır (21). Bunlar sırasıyla;

1-Yangı(Enflamasyon) evresi,

2-Onarım(Reperasyon) evresi,

3- Yeniden şekillenme(Remodeling) evresi.

### **3.7.2.1. Yangı(Enflamasyon) evresi (1-4 Gün)**

Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt “enflamasyon” yani “yangı”dır. Bir kemik kırığı matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periosteum ve endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost ve çevre yumuşak dokular yırtılarak, damarlar yaralanır. Kırık kemik uçları arasına ve kırık uçların etrafına kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu birikintiye kırık hematomu denir. Kırık hematomunun ikincil kırık iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Hematomun basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder. Açık kırıklarda kırık hematomunun dışarıya boşalması ile kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz (25).

Kırık bölgesindeki hematom 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Fibrinojen eklenen lizin, fenilalanin, gamaglobin ve albuminle fibrine dönüşür. Polimorf çekirdekli lökositler ve makrofajların diyapedezi ile fibrin matriks oluşur (21).

Büyük fraktürlerde makrofaj monositler, tüm vücudu etkileyen bir sitokin olan IL-1 salgılar. IL- 1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçünü, kemik geri emilimini (rezorpsiyon) sağlar ve orta beyin aracılığıyla ateş meydana getirir. IL-1 ayrıca kaslardan PGE2 oluşumunu artırır (26).

### **3.7.2.2. Onarım(Reperasyon) evresi(2-40 Gün)**

Kırık iyileşmesinde en önemli bölüm, onarım evresidir. Fibroblastlar tamir dönemini başlatırken, inflamatuvar(osteoklastlar ve makrofajlar) hücreler nekrotik dokuları rezorbe ederek ortamdan uzaklaştırır (25). Yeni yapılan bazı araştırmalar, makrofajların bazı mediatör ve salgularla kollajen sentezini ve yara iyileşmesindeki damarlanmayı uyardığını göstermiştir (23). Osteoprogenitör hücreler farklılaşp çoğalarak, periostu kemikten bir miktar ayırırlar (27). Kapiller gelişme osteojenik hücre gelişimi kadar hızlı olmadığından ötürü, beslenmenin iyi olduğu kemiğe yakın

seviyedeki hücreler osteoblast hücrelerine dönüşür. Kemiğe yakın seviyede olmayan, dolaşımın iyi olmadığı beslenmenin zayıf olduğu yerlerdeki hücreler kondrositlere farklılaşır (27, 28).

Kırık alanında osteoblastların, olduğu yerde osteoid doku oluşmaya başlar. Osteoprogenitör hücreler ve fibrin matriksten köken alan kırıkta doku hücreleri çoğalıp olgunlaşırlar. Kondrositler kırıkta doku matriksi yapar. Osteoid doku ve kırıkta doku matriksi mineralizasyon için hazırlanır (29). Kallus oluşumu, osteoid doku ve kırıkta doku matriksinin mineralizasyonu ile gerçekleşir. Osteoblastlar, osteoid dokuda mineralizasyonu başlatarak devam etmesini sağlarlar. Osteoblastlar osteoidlere dönüşerek düzensiz trabeküllü kemik ağını yapar. Bu kırık iyileşmesi, intramembranöz kemikleşme şeklindedir (30, 31).

### **3.7.2.3. Remodeling(Yeniden şekillenme) evresi**

Kırık iyileşmesinde en uzun evredir. Bu evrede irregular sert kallus, normal veya normale yakın güçteki daha regular lameller kemiğe dönüşür. Aylar veya yıllar boyu sürebilir (21).Yeniden şekillenme evresinde salgılanan kemik morfogenetik proteinleri (BMP) süreci yönlendirir. Osteoklastlar kemiği rezorbe ederek olaya katılırlar (27).

## **3.8. Kritik Boyutlu Kemik Defektleri**

Kritik boyutlu defekt, bir hayvanda herhangi bir osteopromotif madde kullanılmadan yaşam boyu spontan olarak kemik yapımı ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik yarası(intraosseöz yara) olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektlerde kemik iyileşmesinden çok, fibrotik dokuyla dolmuş ve iyileşme eğilimi görülmektedir (32).

### **3.8.1. Kalvariya defektleri**

Cranium (calvaria), canlılarda vücudun önemli bir kısmını oluşturur (33). Çok muhtelif ve genellikle çift ve mütenazır olan kemiklerden oluşur (34). Kalvariya, morfolojik ve embriyolojik açıdan bir membran prosesinden gelişir ve bu nedenle de yüz bölgesinde yer alan membranöz yolla gelişmiş diğer kemiklerle benzerlik gösterir. Anatomik olarak kalvariya, iki kortikal tabaka bulundurur ve bu yönden de mandibulaya benzer (35). Fizyolojik olarak da kalvariya kortikal kemik

atrofik bir mandibulaya benzerlik gösterir. Kalvariya bölgesi bu sebebler dolayısıyla deney amacıyla implant uygulanan en önemli bölgelerden biridir (36).

Deney amacıyla ratlarda çeşitli osteopromotif materyal tatbiki fikri takribî 30 sene öncesine dayanmaktadır.

Freeman (37) ve Turnbull (38), ratlarda kritik boyutlu defekt çeşidindeki defektlerde ilk olarak çalışmış ilk araştırmacılarıdır. Çalışmalarında Wistar albino ratların parietal kemiklerine açtıkları 2 mm çapındaki deneysel defektleri iyileşme yönünden araştırmışlardır. 12 hafta sonunda bariz bir iyileşme olmadığı gözlemlenmiştir.

1982 yılında Takagi ve Urist (39), 6 aylık Sprague Dawley cinsi ratlarda bu kez 8 mm'lik defektler açıp, sonuçları histolojik yönden değerlendirmişlerdir. Defektlerin kemik iyileşmeyle, çaplarının 5 mm ye düştüğü gözlenmiştir. Bu iyileşmede daha çok kemik marjinde başlayarak defektin merkezine doğru uzandığı görülmüştür. Defektlerin merkezi ise fibröz bez dokusuyla iyileşmiştir. Hâlbuki kemik morfojenetik protein uygulanmış deney defektlerinde aşağı yukarı tamamen bir iyileşme saptanmıştır.

Genel olarak kabul görmüş yaklaşımlar arasında optimal bir deney şartlarında kemik yapımının kalitesi konumunda 5 değişkenin önemi vurgulanmıştır;

1. Hayvan türü (40)

2. Hayvan yaşı (41)

3. Defektlerin anatomik lokasyonu (42)

4. Defektlerin boyu (43)

5. Periost (44)

### **3.9. Kemik Greftleri**

Travma, kist, kemik enfeksiyonları, periodontal kemik kayıpları, konjenital anomaliler ve bunların tedavisi sırasında oluşan kemik defektlerini onarmak amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler daha sık bir şekilde kullanılmaktadır (45).

#### **3.9.1. Otojen kemik grefti**

Maksillofasiyal cerrahide en çok kullanılan greft tipidir. Otojen greftler; aynı canlıdan alınan dokulardır. Diğer bir deyişle hem alıcının hem de donörün aynı birey olmasıdır. Taze otojen greftin osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona sebep olmaması en büyük avantajlarından. Ancak verici sahada ikinci bir cerrahi işlem gerektirmesi, uzun sürebilen postoperatif ağrı, hareket kısıtlılığının görülebilmesi ve bakım süresinin uzaması otojen greftin dezavantajlarından (46).

#### **3.9.2. Allogreft**

Aynı türden olup genetik olarak bir benzerliği bulunmayan canlılardan alınan dokulardır. Bu greftler; farklı genetik tipteki insanlardan ve kadavralardan veyahut kalça kırıkları gibi insanlardan çıkarılan kemiklerden elde edilir ve bir seri işlemden sonra kemik bankalarında saklanırlar. Otojen grefte göre bazı avantajları vardır (23).

1. Donör sahanın eliminasyonu
2. Anestezi ve operasyon süresinin azalması
3. Daha az komplikasyon riski

Bunlarla birlikte allogreftlerin dezavantajları da vardır (47).

1. Enfeksiyon riski
2. Bulaşıcı hastalıkların taşınması (hepatit, hıv gibi)
3. Donörün kemik kalitesi
4. Yabancı cisim reaksiyonu
5. Pahalı olması

### **3.9.3. Ksenogreft (Heterogreft)**

Farklı tür canlılardan alınan greftlerdir. Çenelerdeki küçük defektleri doldurmak için önerilmiştir. Osteojenik kapasiteleri yoktur. Kemik oluşumu için matriks oluştururlar. En genel kaynağı dana kemiğidir. Alıcı sahada herhangi bir immün reaksiyona yol açmaz. Yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği ancak posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığı öğrenilmiştir (46).

### **3.9.4. Alloplastlar**

Vücut dokularına uygun sentetik, organik maddelerden arındırılmış ve biyouyumlu materyallerdir. Biyomateryallerdeki teknolojik gelişmeler sonucu otojen kemik grefti yerine seramik greft materyallerinin kullanımı da artmıştır. Sentetik greftlerin arasında en önemli yeri kalsiyum fosfat grubu seramikler (Hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyumfosfat (TCP) ) oluşturmaktadır (48).

### **3.10. Denosumab**

Denosumab, fraktür riski yüksek postmenopozal kadınlarda osteoporoz tedavisinde kullanılan kısa süre önce FDA tarafından onaylanan monoklonal bir antikordur (49). Ayrıca postmenopozal kadınlarda osteoporozun önlenmesin yanı sıra meme ve prostat kanseri için hormon ablasyon terapisi uygulanan hastalarda kemik kaybının tedavisi ve önlenmesi için de değerlendirilmektedir (50).

Osteoklastlar ve osteoblastlar, reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANK) ve reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand (RANKL) tarafından organize edilir. RANK, osteoklast yüzeyinde bulunur ve osteoklast proliferasyonundan ve ardından kemik yıkımından sorumludur. RANKL, osteoblastlar, T hücreleri ve tümör hücrelerinde eksprese edilir ve osteoklastların formasyonu, fonksiyonu ve sağkalımından sorumludur. RANKL RANK'a bağlandığında, osteoklastlar aktive olur ve kemik rezorpsiyonu başlar. Tümör nekroz ailesinin bir üyesi olan osteoprotegerin, RANK'a bağlanmak üzere RANKL ile rekabet eder ve daha sonra kemik yıkımını engeller (51).

Denosumab, RANKL'yi etkisiz hale getiren tamamen insan IgG2 monoklonal antikordur (50, 52, 53). RANKL'in RANK'a bağlanmasını önleyen tümör nekroz

ailesinin üyesi olan osteoprotegerin'e benzer şekilde davranır. Denosumab, RANK bağlanma alanları için RANKL ile rekabet eder ve osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonunu önler.

Denosumab, doğrusal olmayan doza bağımlı farmakokinetiği takip eder (54). Bir subkütanoz denosumab enjeksiyonunun biyoyararlanımı % 61'dir ve serum konsantrasyonları 1 saat içinde tespit edilmiştir (55,56). Maksimum serum konsantrasyonlarına 5- 21 gün içinde ulaşılır ve denosumab 9 ay veya daha uzun süre algılanabilir (54). Monoklonal antikor farmakokinetiğine dayanarak, denosumab büyük olasılıkla, retikuloendotel sistem tarafından minimal renal filtrasyon ve dışkı ile temizlenir (57,58). Denosumab'ın yarılanma ömrü 32 gündür ve terminal yarı ömrü 5-10 gündür (54). Denosumab kemiğin içine infiltre olmaz (59).

Postmenopozal kadınlarda ilk çalışmalarda tanımlanan en sık görülen yan etkiler; artralji (% 25), nazofarınjit, sırt ağrısı, baş ağrısı, ekstremitte ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonu, kabızlık, üriner sistem enfeksiyonu ve omuz ağrısıdır. Boğaz ağrısı, kızarıklık ve asemptomatik hipokalsemi de bildirilmiştir. Malignite de denosumab ile ilgili bir endişe kaynağı olmuştur; bununla birlikte, güncel çalışmalar bu vakalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermemiştir. Şimdiye kadar bildirilen herhangi bir ilaç etkileşimi yoktur. Denosumab ciddi hipokalsemi hastalarında kontrendikedir (49). Hipokalsemi riskini arttıklarından dolayı böbrek fonksiyonlarında bozukluk olan hastalarda kullanılırken dikkatli olunmalıdır. Deri enfeksiyonları da dahil olmak üzere ciddi enfeksiyon riski, denosumab ile birlikte artmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar artmış bir risk altındadır ve denosumab'ın başlatılmasının yararları ve riskleri değerlendirilmelidir. Denosumab alan hastalarda çene osteonekrozu görülmüştür. Tüm hastaların tedavi başlangıcından önce oral muayenesi yapılmalı ve tedavi sırasında iyi ağız hijyeni sağlanmalıdır. Kemik döngüsü, denosumab ile önemli ölçüde bastırılır ve tüm hastalar çene osteonekrozu, atipik kırıklar ve gecikmiş kırık iyileşmesi gibi kemik baskılamasının sonuçları açısından izlenmelidir.

Osteoporozun tedavisinde, 6 ayda bir 60 mg'lik denosumab, üst kol, üst uyluk veya karında subkutanöz enjeksiyon olarak uygulanır (52). Tüm hastalar denosumab

ile birlikte günlük 1000 mg kalsiyum ve en az 400 IU vitamin D almalıdır. Bir denosumab dozu zamanında alınmazsa, enjeksiyon mümkün olan en kısa sürede yapılmalı ve son enjeksiyondan itibaren her 6 ayda bir enjeksiyonlar tekrarlanmalıdır. Uygulamaya başlamadan önce, denosumab buzdolabından çıkarılmalı ve oda sıcaklığına gelmesi beklenmelidir.

### **3.11. Ozon**

#### **3.11.1. Ozon gazının özellikleri ve tarihçesi**

Ozon (O<sub>3</sub>), üç oksijen atomundan oluşan doğal bir gaz molekülüdür. Ozon kelimesi, koku anlamına gelen Yunanca ozein kelimesinden köken almaktadır ve ilk olarak 1840 yılında Alman kimyager Christian Friedrich Schonbein tarafından kullanılmıştır (60). Atmosferin stratosfer tabakasında çok miktarda ozon bulunur (61). Canlı organizmaları ultraviyole ışınlarına karşı korur. Ozon havadan daha ağır olduğundan dolayı yüksek rakımlardan zemine iner (62). Havayı temizler ve temas ettiği kirleticiyle birleşir. Bu, dünyanın doğal temizleme yöntemidir (63).

Medikal seviyedeki ozon, 100 yılı aşkın bir süredir, ilaçsız tedavi yöntemlerinden biri olarak kullanılmaktadır. 1915'de Dr. Albert Wolf, 1. Dünya Savaşı sırasında kangren ve yaraları ozonla tedavi etmiştir (60). 1930'larda diş ameliyatlarında dezenfeksiyon ve yara iyileşmesine yardımcı olmak için pratik uygulamada ozon tedavisini kullanan ilk diş hekimi E. A. Fisch'ti (64). Ozonun dişhekimliğinde temel kullanımı, antimikrobiyal özelliklerinden dolayıdır (65).

#### **3.11.2. Ozonun dişhekimliğinde kullanımı**

Dişhekimliğinde ozon kullanımı antimikrobiyal, dezenfektan ve doku iyileştirici özelliklerinden kaynaklanır. Ozon molekülünün tıp alanındaki koruyucu ve tedavi edici etkisi katî olarak kanıtlanmıştır ve var olan tedavi stratejilerine alternatif ya da tamamlayıcı non-invaziv bir tedavi ajanı olarak önerilmektedir (66).

Ozonun dişhekimliğindeki kullanım alanlarını sıralarsak (67, 62, 68);

- 1- Diş çürüklerinin profilaksisi ve önlenmesi
- 2- Pit, fissür, kök ve düz yüzey çürüklerinin remineralizasyonu



- 3- Geleneksel koruyucu önlemler ile birlikte açık kavitelerin dezenfeksiyonu
- 4- Antibiyotik tedavisine destek olarak
- 5- Devital dişlerin ağartılması
- 6- Endodontide kanalların dezenfeksiyonunda
- 7- Kole hassasiyetinin giderilmesi
- 8- Yumuşak doku patolojilerinin rehabilitasyonu
- 9- Avülse dişlerde replantasyon öncesi yıkama solüsyonu olarak
- 10- Ağız içi ülserlerin tedavisi ve yara iyileşmesinin hızlandırılması
- 11- Zor iyileşen enfekte yaralar ve iltihabi sürecin tedavisi, herpetik lezyonların dezenfeksiyonu olarak sıralanabilir.

### **3.11.2.1. Oral cerrahi ve ozon**

Oral cerrahide ozon tedavisi geniş bir uygulama alanına sahiptir. Basit bir diş çekiminden ciddi bir osteomyelit olgusuna kadar her vakada kullanılabilir. Ozon yara iyileşmesini artırır, eritrositlerin birkaç özelliğini geliştirir ve dokulardaki oksijen salınımını kolaylaştırır. Bu, vazodilatasyona neden olur ve bundan dolayı iskemik bölgelere kan akımı artar. Bu nedenle, diş çekimi ve implant operasyonları gibi cerrahi müdahaleleri takiben yara iyileşmesi bozukluklarında başarılı bir şekilde kullanılabilir (69).

Ozonlu suyun çok mühim bir terapötik ajan olduğu, paradontozis veya alevlenmiş apikal apse nedeniyle diş çekimlerinde dezenfektan etkisinden ötürü ozonlu su kullanılması önerilmiştir. Ozonun lokal etkisi, peroksitler sayesinde mezenkimdeki immün sistem hücrelerini aktive eder ve bundan ötürü kemikte meydana gelebilecek alerjik reaksiyonların önüne geçer (70). Cerrahi işlemden önce dezenfeksiyon amacıyla oral kavitenin ve açıldıktan sonra apse kavitesinin ozonlu su ile yıkanması tavsiye edilmektedir.

Maksillofasiyal bölgedeki iltihabi durumların tedavisi için lokal ozonun sistemik antibiyotik uygulamaları ile kombine olarak kullanılması önerilmektedir (70). Ayrıca ozonun bir diğer uygulama şekli olan gaz ozon uygulamasının, yüksek doz ışın tedavisi sonrası oral bölgedeki yara iyileşme hızını arttırdığı kanıtlanmıştır (71).

Kazancıoğlu ve ark. üçüncü molar diş cerrahisini takiben, ozon tedavisinin ağrı, şişlik ve trismus üzerine etkisini değerlendirmiş ve ozon uygulamasının postoperatif ağrıyı etkili bir şekilde azalttığı sonucuna varmıştır; ancak şişlik ve trismus üzerine bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (72).

Hammuda ve ark., temporomandibular eklem artrosentezinde ozon kullanımının başarılı olduğunu göstermiş ve iç düzensizliğin tedavisinde etkili bir konservatif yöntem olduğuna karar vermişlerdir (73). Ozon, ayrıca, bisfosfonat ile ilişkili çene osteonekrozu (BRONJ) vakalarında terapötik bir tedavi olarak önerilmiştir (74).



## 4. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından DİŞ.17.022 proje nosu ile desteklenmiştir. Tez çalışmamızın etik kurul onayı, Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2017/09 nosu ile alınmıştır. Çalışmamızın deneysel aşamaları Dicle Üniversitesi Sebahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi'nde, histopatolojik incelemeler ise Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Bu çalışma, deneysel olarak rat kalvaryumunda açılmış olan kritik boyutlu kemik defekleri üzerinde yapılmıştır.

Çalışmamızda 40 adet, ortalama ağırlığı 350 gram olan Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Tüm denekler deney süresince 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda, 24 derece sıcaklıkta, içme suyu ve standart yeme ulaşımında serbest, havalandırma tertibatlı odalarda özel plastik kafeslerde barındırıldı. Çalışmamıza başlamadan önce tüm deneklerin sağlık durumu veteriner hekim tarafından kontrol edilmiştir.

### 4.1. Çalışma Grupları

Deney hayvanları her grupta 10 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

- 1. Grup (Kontrol Grubu (K)):** Bu gruptaki ratlara sadece greft uygulandı.
- 2. Grup (Ozon Grubu (O)):** Bu gruptaki ratlara topikal ozon ve greft uygulaması yapıldı.
- 3. Grup (Denosumab Grubu (D)):** Bu gruptaki ratlara subkütanöz denosumab verildi ve greft uygulandı.
- 4. Grup (Ozon ve Denosumab Grubu (O + D)):** Bu gruptaki ratlara topikal ozon, subkütanöz denosumab ve greft uygulandı.

**Kontrol grubuna (K)** ; Sadece kalvaryum üzerinde trefin frezle defekt açılıp greft uygulanmıştır.

**Ozon grubunda (O)** ; Bu gruptaki ratlara defekt bölgesine greft koyulduktan sonra topikal ozon uygulanmıştır.

**Denosumab Grubuna (D)** ; Bu gruptaki ratlara defekt bölgesine greft koyulduktan sonra subkütanöz denosumab enjekte edilmiştir.

**Ozon ve Denosumab Grubunda (O + D)** ; Bu gruptaki ratlara defekt bölgesine greft koyulduktan sonra topikal ozon uygulanmış ve subkütanöz denosumab enjekte edilmiştir.

Her gruptan 5' er hayvan 4. hafta sonunda, gruplardaki diğer 5'er hayvan ise 8. hafta sonunda sakrifiye edilmiştir. Çıkarılan dokular fiksatif solüsyon içinde saklanarak histopatolojik olarak incelemeye alınmıştır.

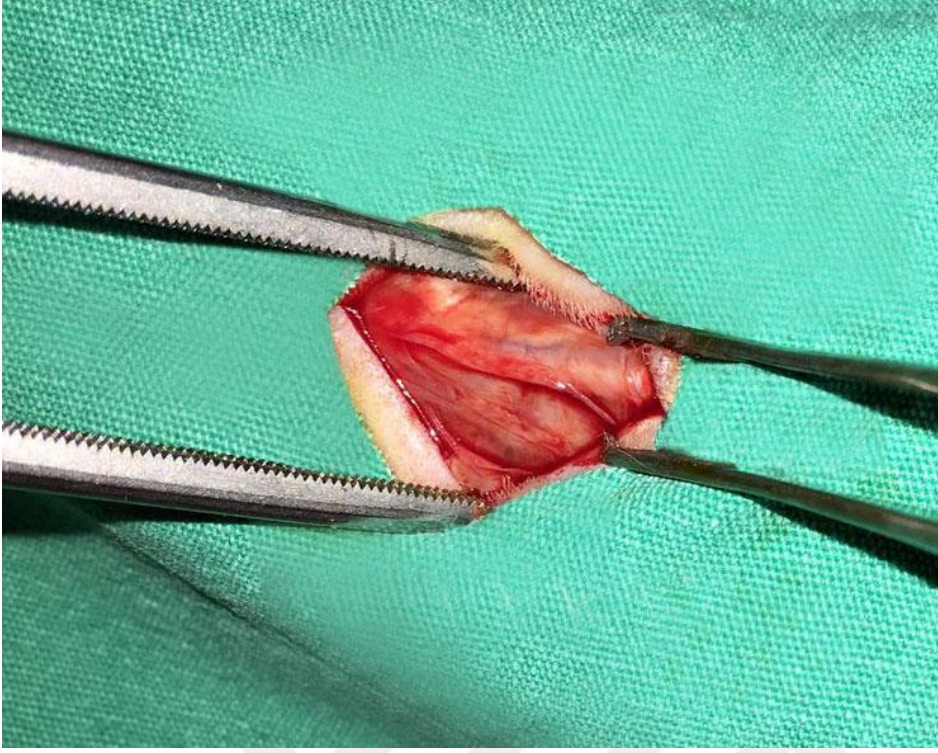
#### **4.2. Cerrahi Protokol**

Ratların tümünde cerrahi işlemler için uygulanan anestezide Ketamin (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) 50 mg/kg ve Xylazine (Rompun®, Bayer, Türkiye) 10 mg/kg kullanılarak intramusküler enjeksiyonla genel anestezi sağlandı. Deneklerin tümünde cerrahi işlemler uygulanırken asepsi antisepsi kriterlerine uyuldu. Kullanılacak tüm aletler operasyon öncesinde steril edildi. Tüm deneklerin kalvarya bölgesi traş edildikten sonra povidon iyot ile boyandı ve steril bir örtü ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde örtüldü. Kalvaryuma ulaşmak için takribî 24 mm uzunluğunda ön- arka yönde cilt ve cilt altı kesileri yapıldı. Künt diseksiyon ile yumuşak dokular ekarte edilip ve periost sıyrılarak kalvaryumun dış yüzeyine ulaşıldı (Resim 4.1 ). Serum fizyolojik soğutması altında anguldurvaya takılan 5 mm çapında trefin frez ile defekt hazırlanmıştır (Resim 4.2). Defekt bölgesine sığır kaynaklı ksenogreft(Hypro-Oss) yerleştirilmiştir (Resim 4.3). Ozon grubu (O) ve ozon + denosumab (O+D) gruplarına greft uygulandıktan sonra 15 saniye süreyle topikal ozon (W&H Prozone Ozon jeneratörü) uygulanmıştır (Resim 4.4). Denosumab grubu (D) ve ozon ve denosumab(O-D) grubuna 8 hafta süresinde 4 haftada bir olmak üzere subkütan (s.c) 10 mg/kg Prolia (Denosumab 60 mg SC

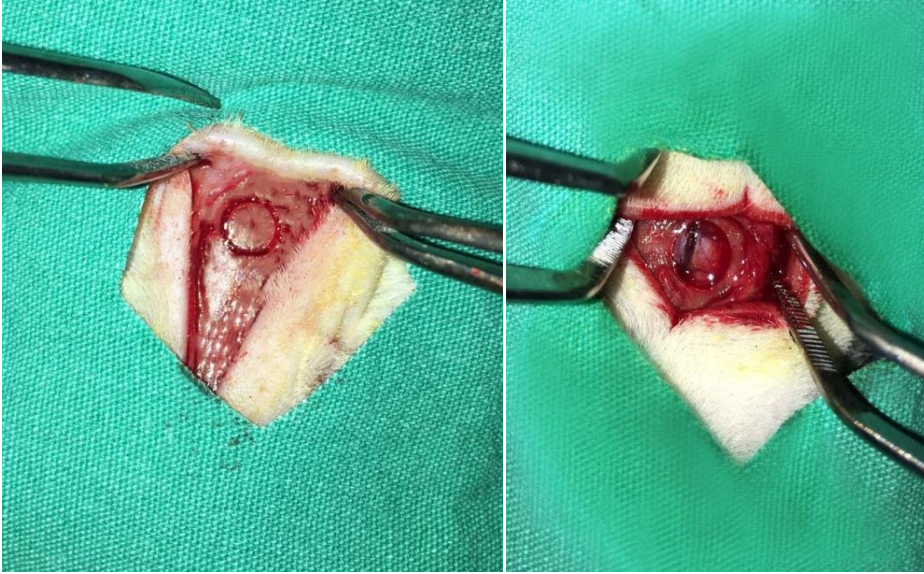
enjeksiyonluk çözelti içeren kullanıma hazır enjektör, Amgen, Türkiye) enjekte edildi (Resim 4.5). Operasyon sonrası çalışma alanı 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatılmıştır (Resim 4.6).

Enfeksiyon kontrolü amacıyla post-operatif 30 mg/kg Sefazolin intramusküler (i.m) olarak uygulanmıştır. Denekler metal kafeslerde uyanma odasına alınmıştır. Post-operatif dönemde ağızdan beslenen deneklere ameliyattan sonraki ilk beş gün boyunca, günde 1 kez olmak üzere 30 mg/kg Sefazol (i.m) ve Carprofen 4 mg/kg subkütan olarak uygulanmıştır.



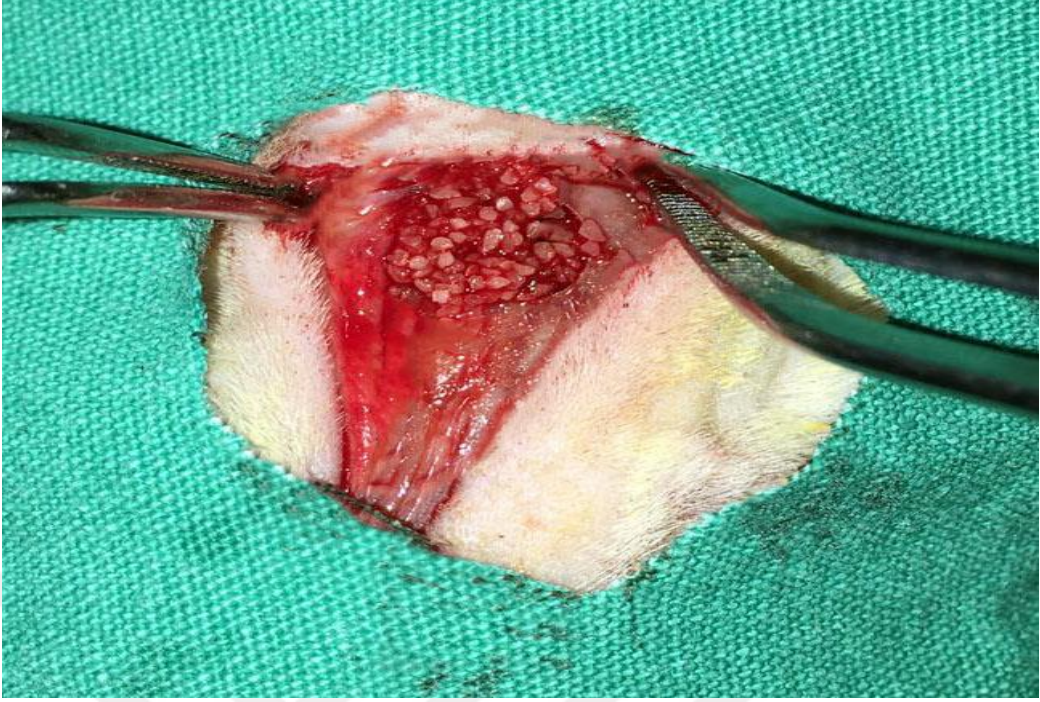


**Resim 4.1:** Kunt diseksiyon ile kalvaryumun operasyon için hazır hale getirilmesi

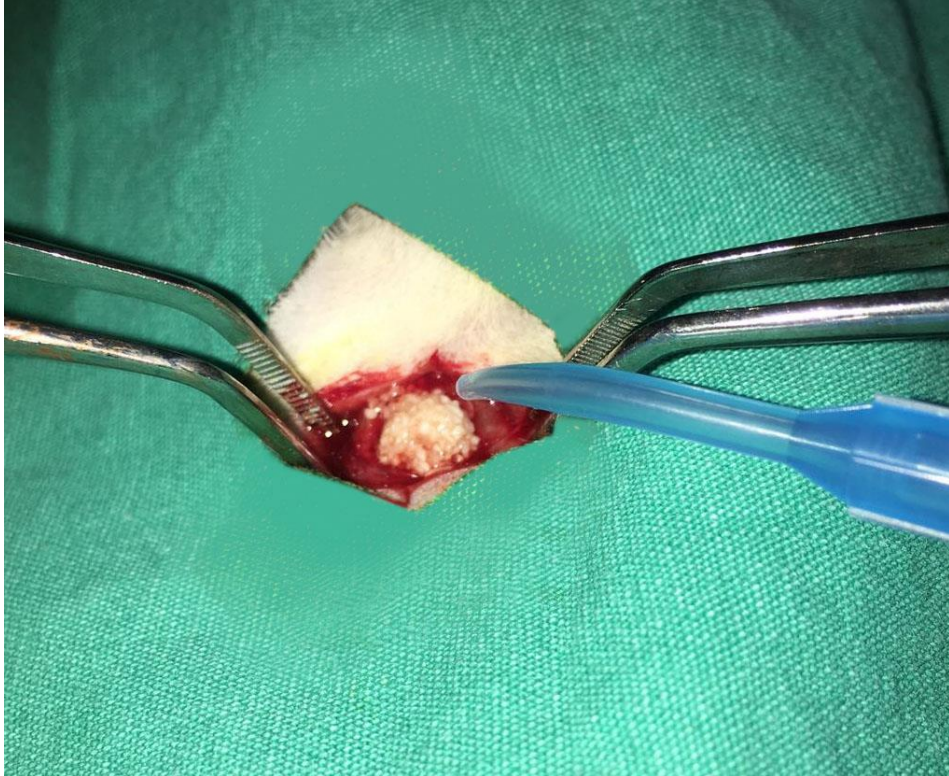


**Resim 4.2:** 5 mm çapında trefin frez ile defektin hazırlanması





**Resim 4.3:** Defekt bölgesine sığır kaynaklı ksenogreft yerleştirilmesi

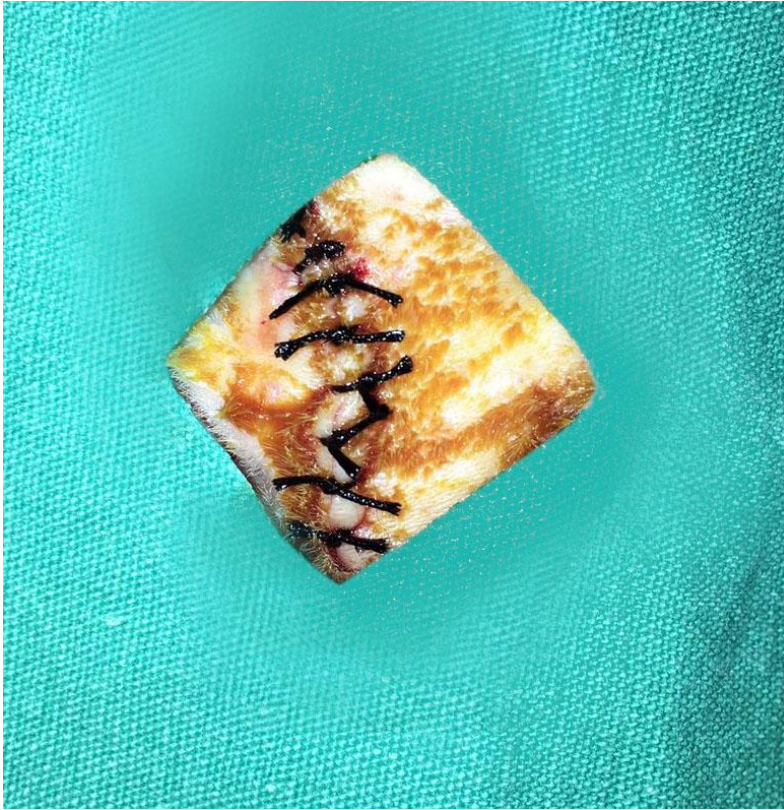


**Resim 4.4:** Defekte greft yerleştirildikten sonra topikal ozon uygulanması





**Resim 4.5:** Kullanılan denosumab ilacı



**Resim 4.6:** Bölgenin primer olarak suturasyonu



### 4.3. Histopatolojik Analizler

4. ve 8. haftaların sonunda ratlara yüksek dozda anestezi verilerek servikal blokaj yöntemiyle ötenazi uygulandı. Histopatolojik analizler için, kalvaryal kemik rezeke edilerek her deneğe ait kalvaryum örneği en az 8 saat Zinc-Formalin içinde fikse edilerek ve fiksasyon sürecini takiben, 72 saat boyunca %15'lik nitrik asit solüsyonu ile dekalsifiye edildi. Fikse olan ve dekalsifiye edilmiş bu örnekler, parafine gömülüp her örneğe ait parafin bloklardan ortalama 4-5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Histokimyasal boyama yöntemleri olarak H-E, Masson Trikrom ve Mallory-Azan boyama yöntemleri kullanıldı. Örnekler osteoblastik aktivite, kemik trabekülleri, kollojen lif dağılımı, bağ doku hücreleri ve osteosit hücreleri kriterleri göz önünde bulundurularak skorlandırıldı ve istatistiksel analiz yapıldı.

### 4.4. İstatistiksel Method

Bu çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics Version 22 paket programı ile analiz edilmiştir.

Değişkenlerin normal dağılımdan gelme durumları araştırılırken birim sayıları nedeniyle Shapiro Wilk's' den yararlanılmıştır. Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup;  $p < 0,05$  olması durumunda değişkenlerin normal dağılımdan gelmediği,  $p > 0,05$  olması durumunda ise değişkenlerin normal dağılımdan geldikleri belirtilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi nedeniyle Kruskal Wallis-H Testinden yararlanılmıştır.

Kruskal Wallis-H Testinde anlamlı farklılıkların görülmesi durumunda Post-Hoc Çoklu Karşılaştırma Testi ile aralarında farklılık olan gruplar belirlenmiştir.

İki bağımlı değişken arasındaki farklılık incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi nedeniyle Wilcoxon Testi kullanılmıştır.

Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup;  $p < 0,05$  olması durumunda anlamlı bir farklılığın olduğu,  $p > 0,05$  olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

## **5. BULGULAR**

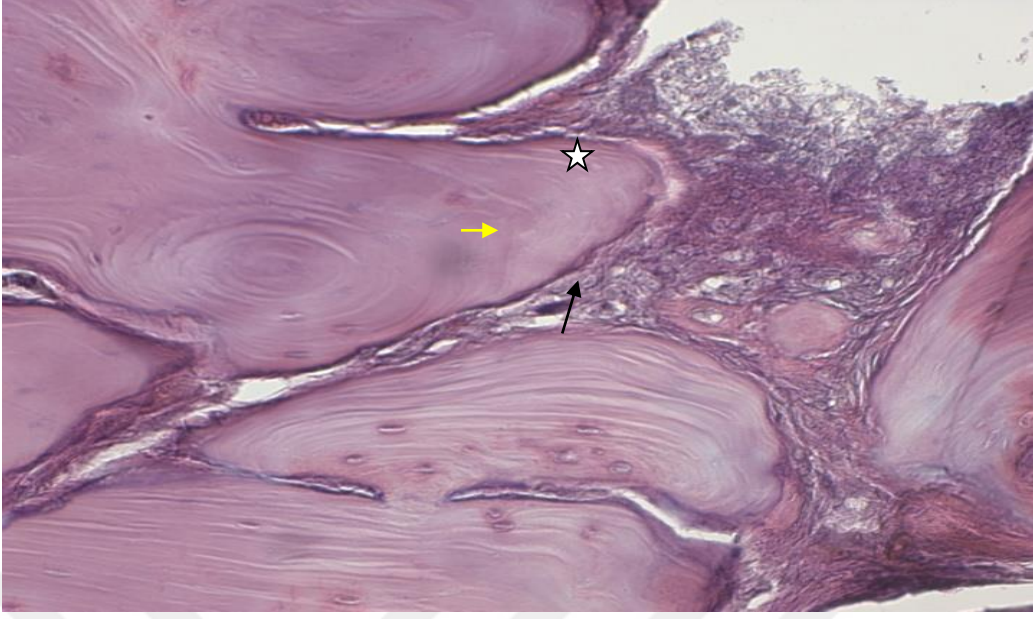
Araştırmamızda her grupta 10 adet olmak üzere toplam 40 adet Sprague-Dawley cinsi ortalama 350 gr ağırlığında yetişkin erkek rat kullanılmıştır. Çalışmamız, Kontrol Grubu(K), Ozon(O), Denosumab(D), Ozon ve Denosumab(O-D) olmak üzere 4 gruptan oluşmuş ve her gruptan 5 hayvan 4. hafta sonunda, gruptaki diğer 5 hayvan ise 8. hafta sonunda sakrifiye edilerek çıkarılan dokular fiksatif solüsyon içinde histomorfolojik olarak incelemeye tabi tutulmuştur. Deneysel çalışma süresince ratların uygulanan cerrahi işlemi iyi tolere ettiği, beslenmeleri açısından herhangi bir olumsuzluk gelişmediği, operasyona bağlı herhangi bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlemlendi.

### **5.1. Histopatolojik Bulgular**

#### **5.1.1 4. Hafta bulguları**

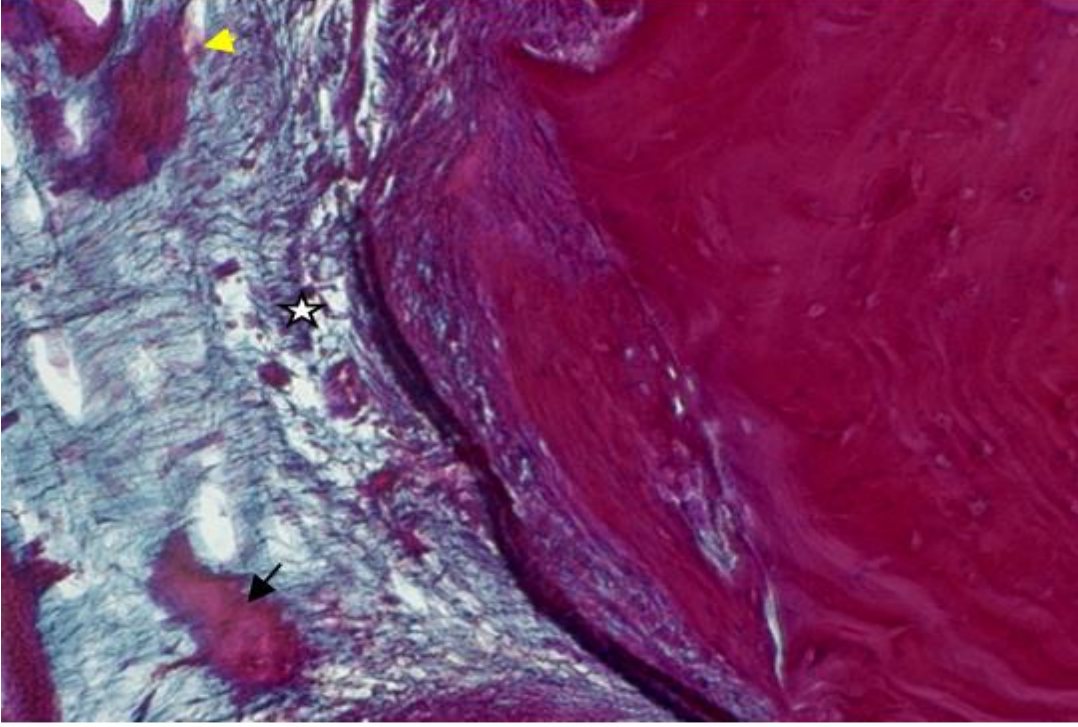
##### **5.1.1.1 Kontrol grubu:**

4. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi. Greft alanında, matriksi artmış küçük kemik trabekülleri, osteoblast hücrelerinde artış, olgun kemik hücresi yönünde bir gelişme görüldü. Kollajen liflerde kalınlaşma ve düzensiz dağılım izlendi (Resim 5.1, 5.2, 5.3).

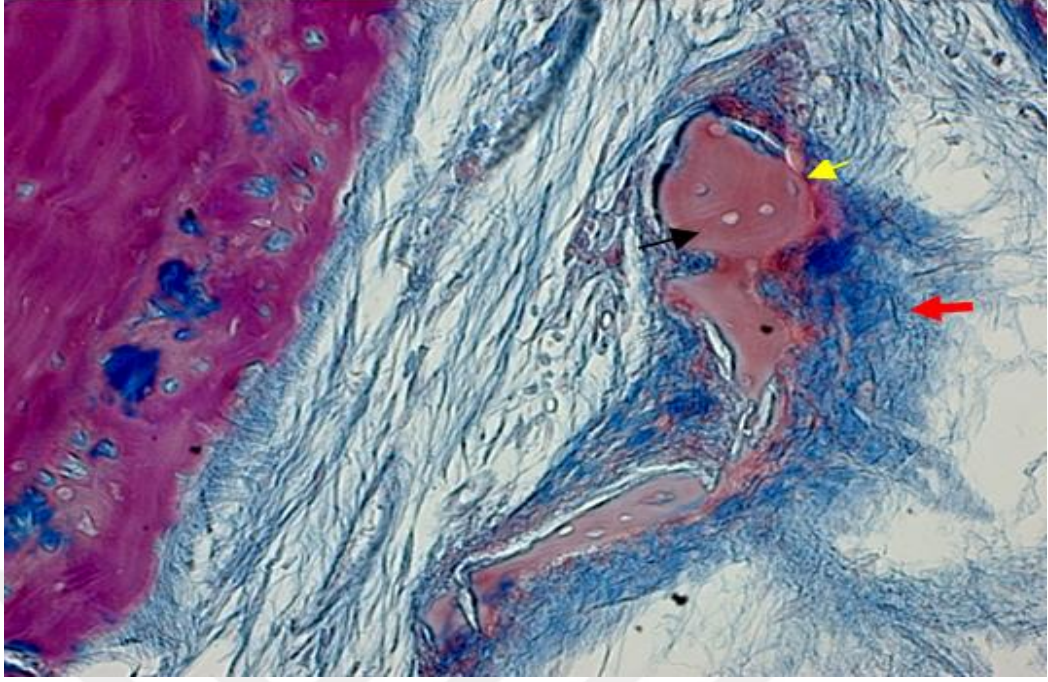


**Resim 5.1:** 4. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu(☆)), küçük kemik trabekülleri(→), Osteoblast hücreleri(→) (Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.2:** 4. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü  
Yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu(☆), küçük kemik trabekülleri (↔),  
Osteoblast hücreleri(→) (Boyama: Trikrom-Masson , bar: 50μ).



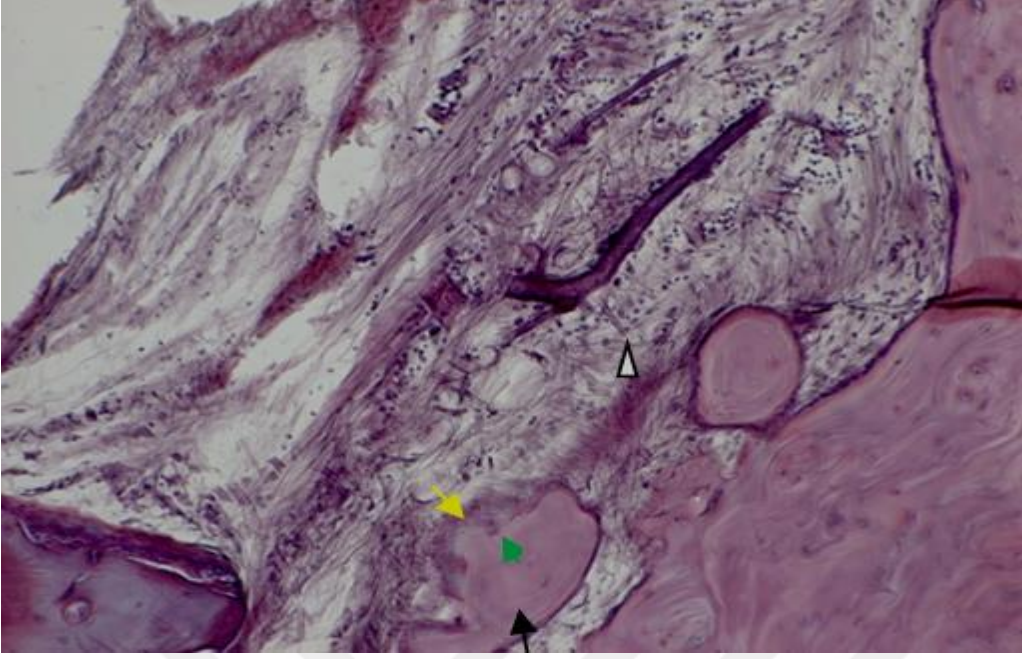
**Resim 5.3:** 4. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Küçük kemik trabekülleri(←→), Osteoblast hücreleri(←→), kollejen lifler(←→) (Boyama: Mallory-Azan, bar: 50 $\mu$ ).

#### 5.1.1.2 Ozon grubu

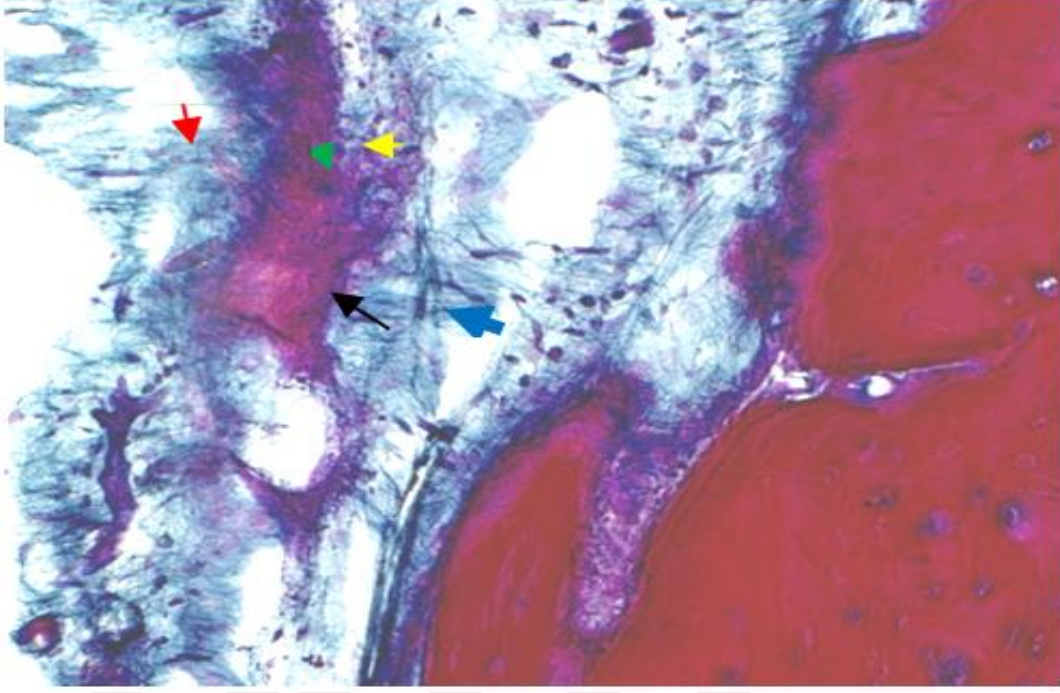
4. hafta Ozon grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, kemik trabeküllerinde olgunlaşma ve matrikste yoğunlaşma, kemik trabekülleri etrafında osteoblastik aktivitede artış, olgun osteosit hücrelerde belirginleşme görüldü. Greft alanı içersinde, normal bağ doku hücrelerinde artış, fibroblast hücrelerinde hiperplazi, inflamatuvar hücrelerde azalma, kollejen liflerde kalınlaşma ve düzensiz dağılım görüldü. (Resim 5.4, 5.5, 5.6)





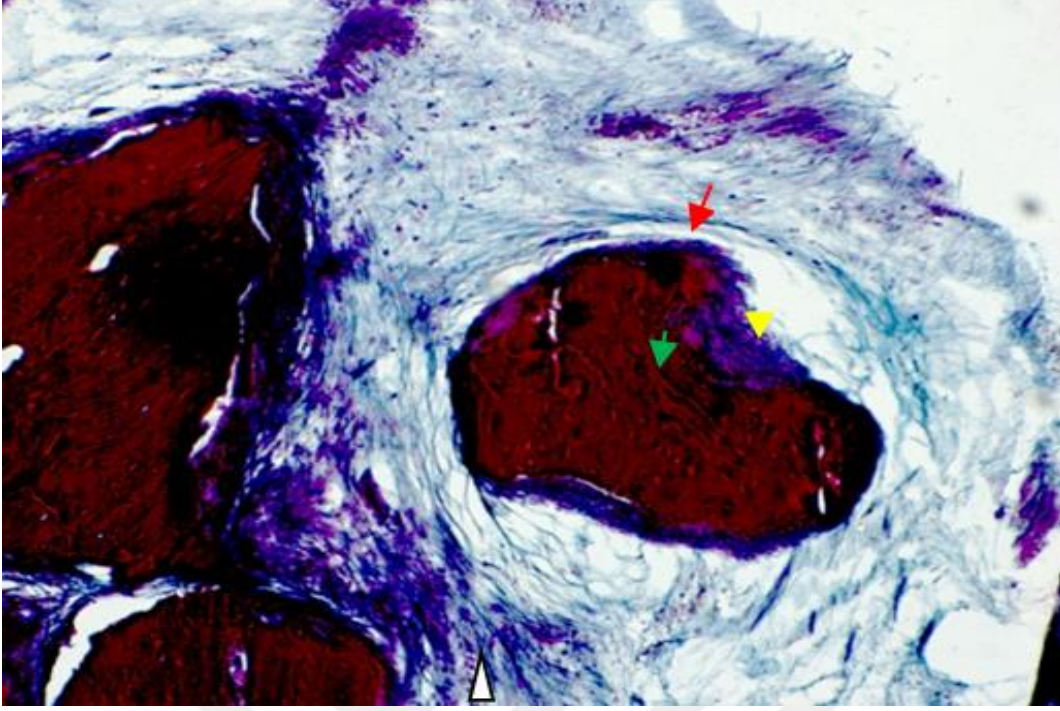
**Resim 5.4** : 4. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Kemik trabeküllerin etrafında (→) osteoblastik aktivitede artış (→), Osteosit hücrelerinde belirginleşme(→), bağ doku hücrelerinde artış(△) (Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.5:** 4. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Kemik trabeküllerin etrafında (→) osteoblastik aktivitede artış(→), Osteosit hücrelerde belirginleşme(→),kollojen lif(→) , Fibroblast hücrelerinde hiperplazi(→) (Boyama: Trikrom-Masson , bar: 50μ).



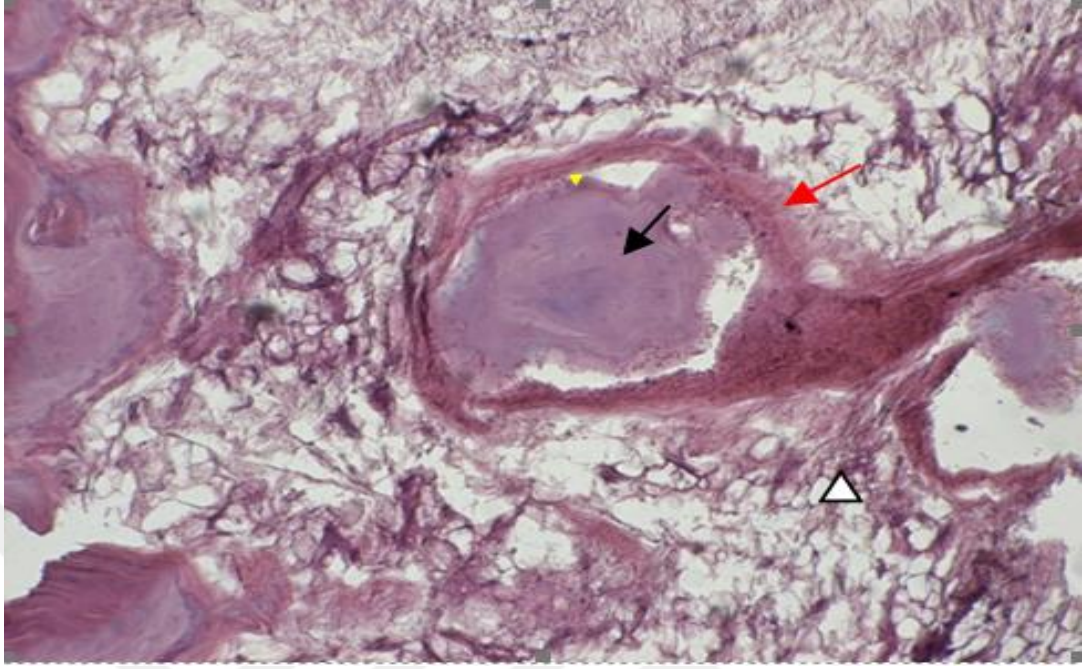
**Resim 5.6:** 4. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Osteoblastik aktivitede artış(→), Osteosit hücrelerde belirginleşme(→), kollojen lif(→), bağ doku hücrelerinde artış(△) (Boyama:Mallory-Azan, bar: 50μ).

### 5.1.1.3 Denosumab grubu

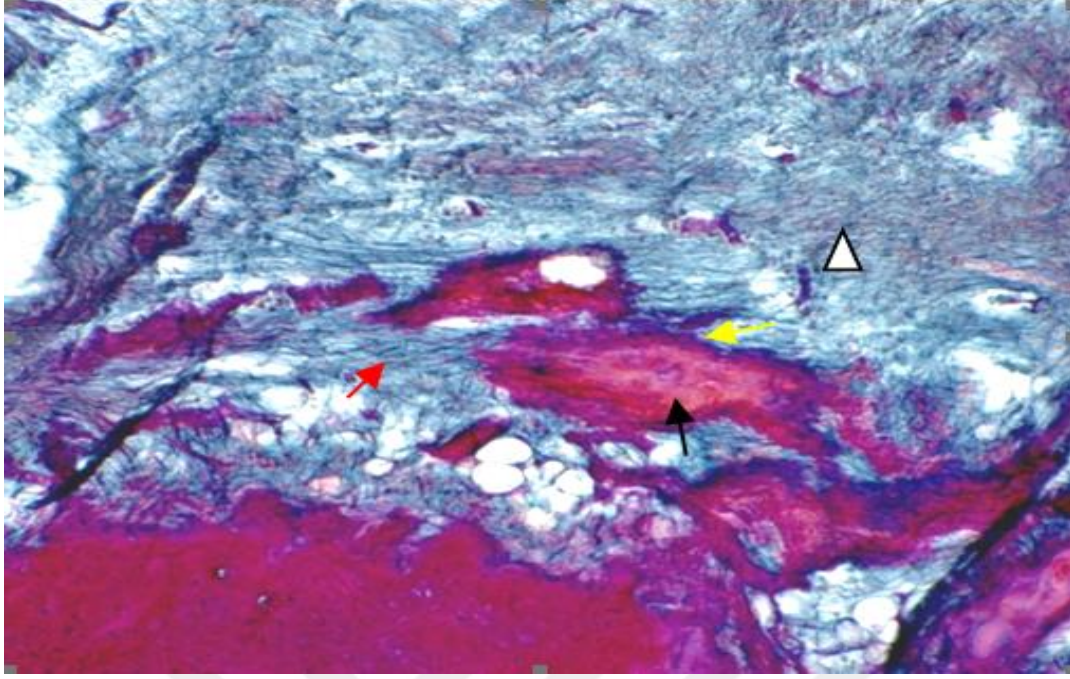
4. hafta denosumab grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, kemik trabeküllerinde matriks artışına bağlı olarak, kemik trabeküllerinde genişleme, kemik trabeküllerin periferinde osteoblast hücrelerinde artma, kemik lakunalarında belirginleşme izlendi. Greft alanında kollejen liflerde kalınlaşma, hücre infiltrasyonunda bir azalmaya bağlı olarak mitotik aktivitesi yüksek bağ doku hücreleri olduğu görüldü. İlacın etkisine bağlı olarak kemik gelişimi hızlandığını, kemik hücrelerin sayısında artış olduğu görüldü. (Resim 5.7, 5.8, 5.9)





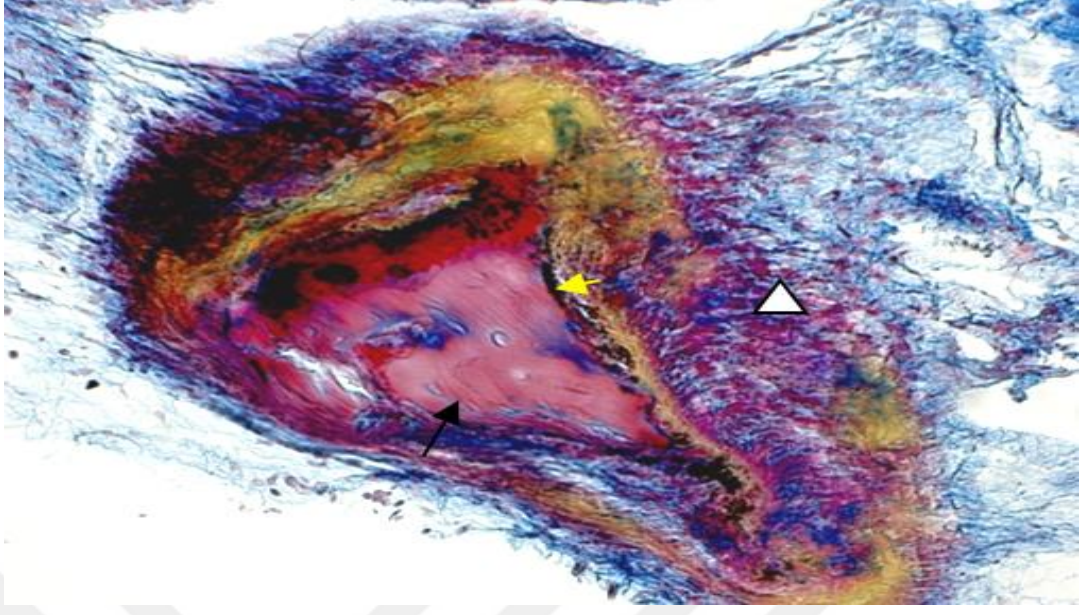
**Resim 5.7:** 4. hafta denosumab gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Genişlemiş kemik trabekülleri ( → ), kemik trabeküllerin etrafında yoğun kollejen bantlar( → ), osteoblast hücrelerde artış( → ), bağ doku hücrelerinde belirgin artış (△ ) (Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.8:** 4. hafta denosumab gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Genişlemiş kemik trabekülleri (→), kemik trabeküllerinin etrafında yoğun kollejen bantlar(→), osteoblast hücrelerde artış(→), bağ doku hücrelerinde belirgin artış (△) (Boyama: Trikrom-Masson, bar: 50μ).



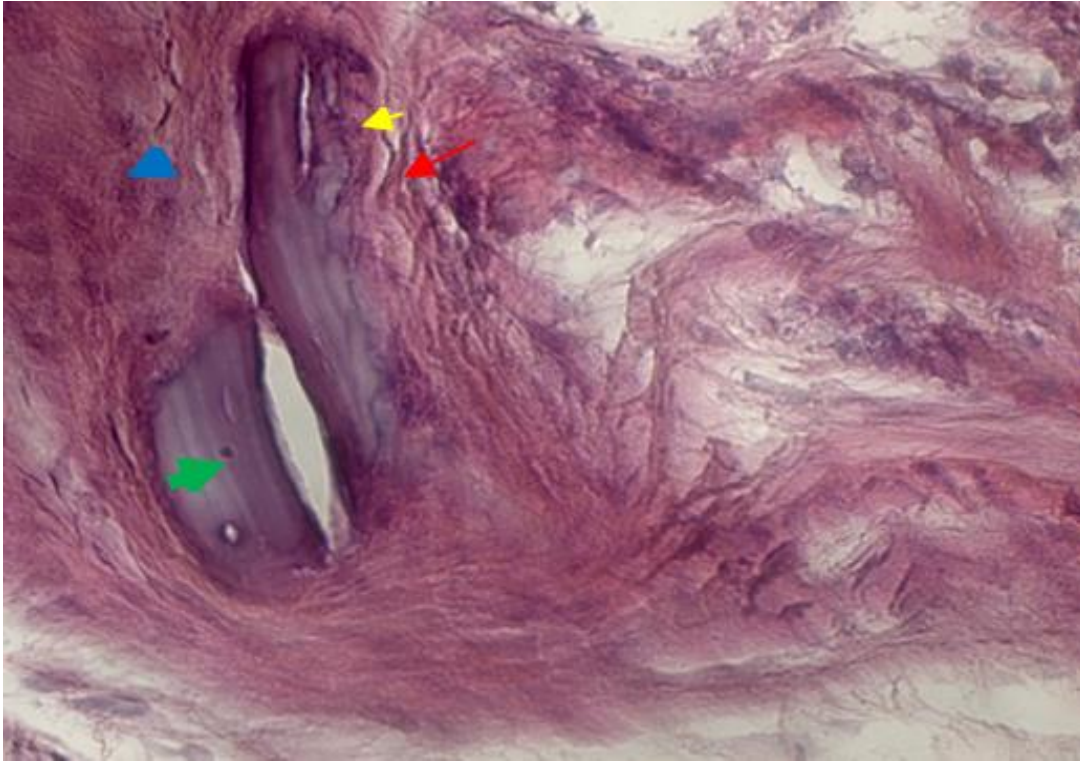
**Resim 5.9:** 4. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Genişlemiş kemik trabekülleri ( → ), osteoblast hücrelerde artış ( → ), bağ doku hücrelerinde belirgin artış ( △ ) (Boyama: Mallory-Azan, bar: 50 $\mu$ ).



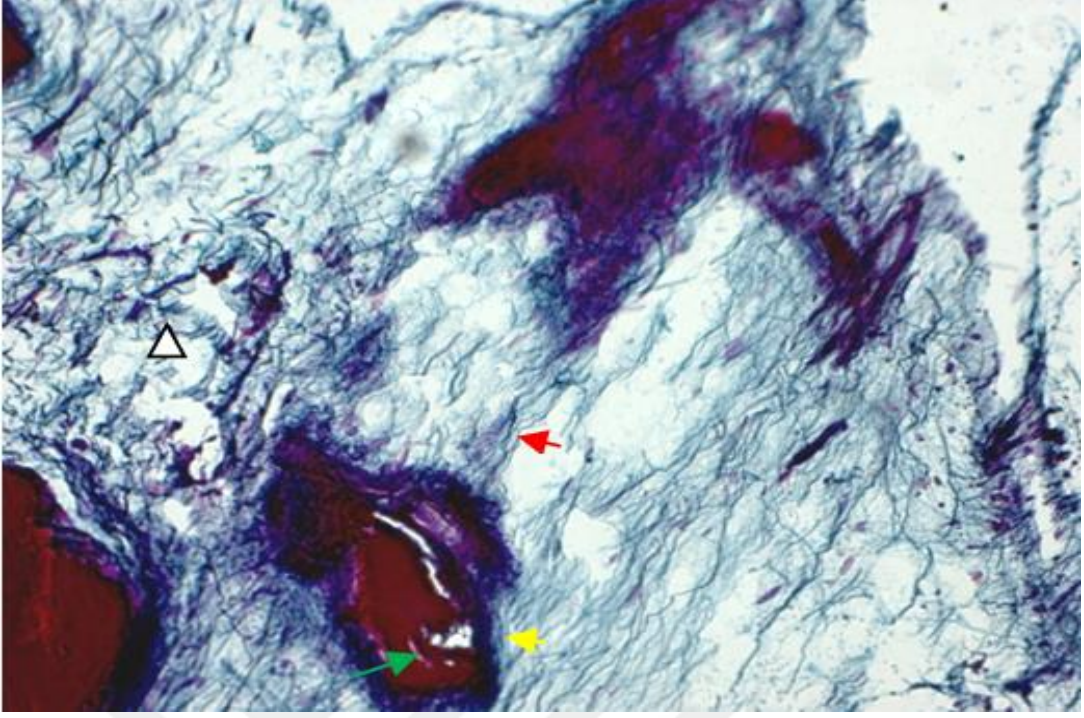
#### 5.1.1.4 Ozon ve denosumab grubu

4. hafta ozon ve denosumab grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, kollejen lif sentezinin arttığı, liflerde kalınlaşmanın belirginleştiği, fibroblast hücrelerinde hipertrofi ve bağ doku hücrelerinde artış olduğu gözlemlendi. Kemik matriks gelişiminde artma, periferde osteoblast hücrelerinde hiperplazi, lakuna içerisinde osteosit hücrelerinde belirginleşme izlendi. İlaç ve ozon uygulamasına bağlı olarak yeni kemik gelişiminin daha da hızlandığı ve olgun kemik hücrelerinin sayısında önemli bir artış olduğu görülmüştür. (Resim 5.10, 5.11, 5.12)

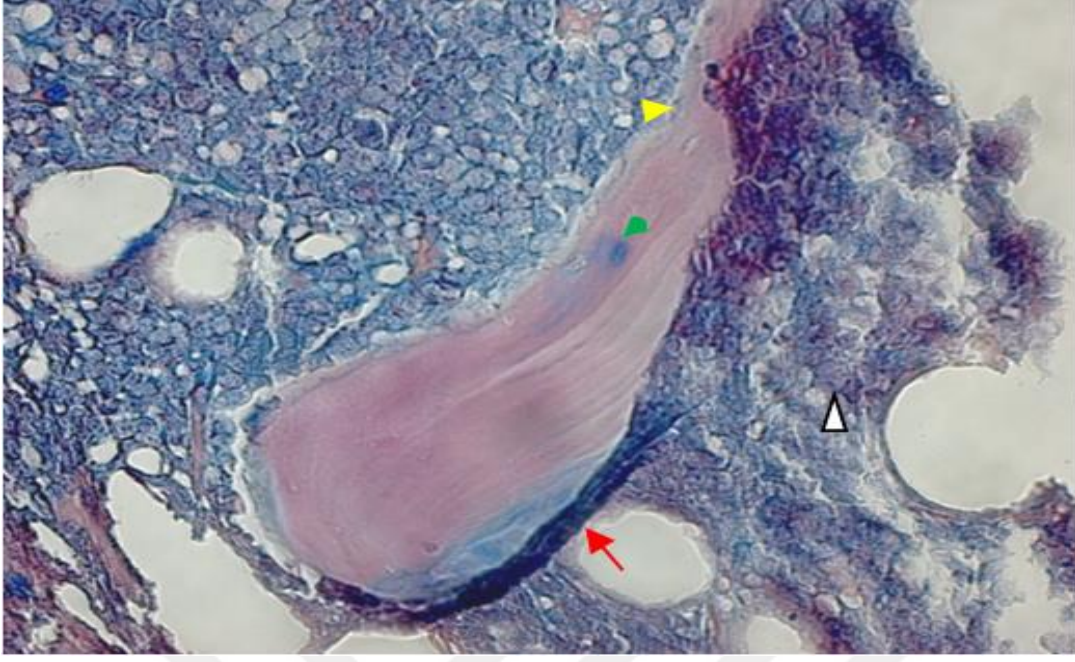


**Resim 5.10:** 4. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Kollejen lif sentezi artışı(→), lakuna içerisinde osteosit hücrelerde belirginleşme (→), fibroblast hücrelerinde hipertrofi(→), osteoblast hücrelerinde artış (→) (Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.11:** 4. hafta ozon ve denosumab gubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü  
Kollejen lif sentezi artışı(→), lakuna içerisinde osteosit hücrelerde belirginleşme  
(→), osteoblast hücrelerinde artış(→), bağ doku hücrelerinde artış (△)  
(Boyama: Trikrom-Masson, bar: 50μ).



**Resim 5.12:** 4. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

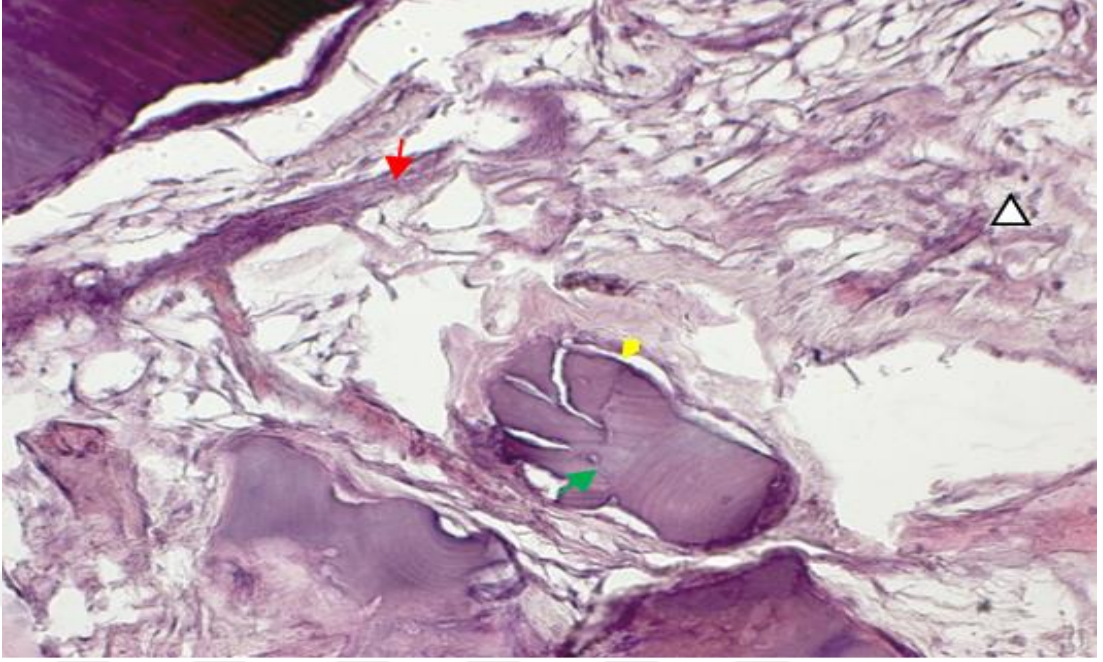
Kollejen lif sentezi artışı ( → ), lakuna içersinde osteosit hücrelerde belirginleşme ( → ), osteoblast hücrelerinde artış ( → ), bağ doku hücrelerinde artış ( △ ) (Boyama: Mallory-Azan, bar: 50μ).

## 5.1.2. 8. Hafta bulguları

### 5.1.2.1 Kontrol grubu

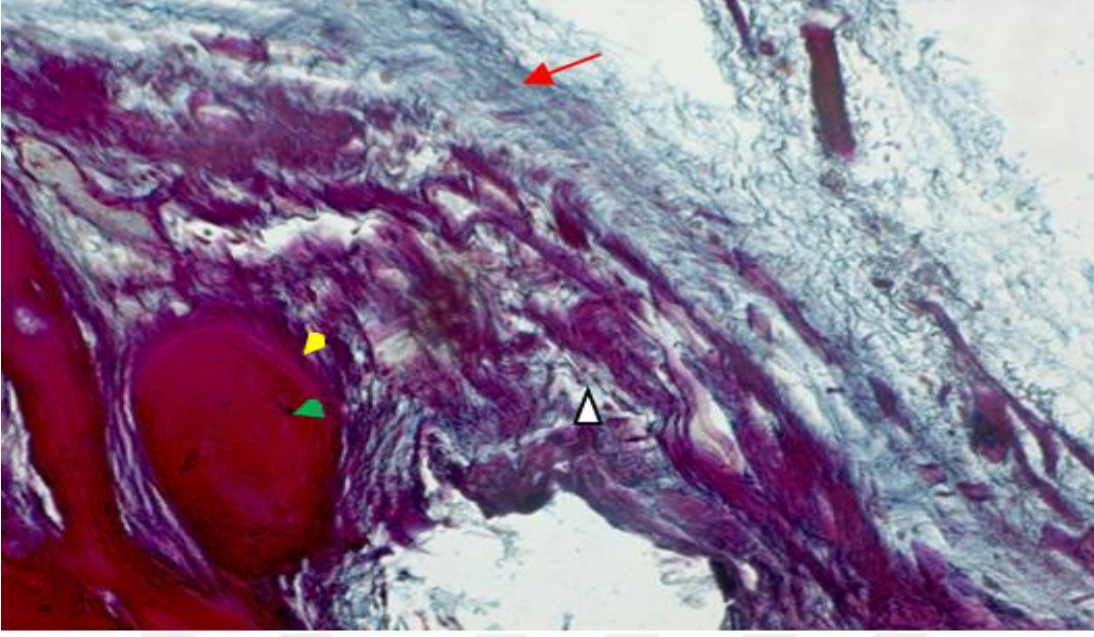
8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, greft alanındaki kemik trabekülleri osteoblastik aktivitenin artışına bağlı olarak genişlemiş, matriks miktarı artmış, yer yer lakunaların belirginleşmesiyle beraber osteosit hücrelerinin miktarı artmaya başlamıştır. Kollojen bantlarının oldukça kalın, bağ doku hücrelerinin diffuz bir şekilde artmış olduğu izlendi. (Resim 5.13, 5.14, 5.15)





**Resim 5.13:** 8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

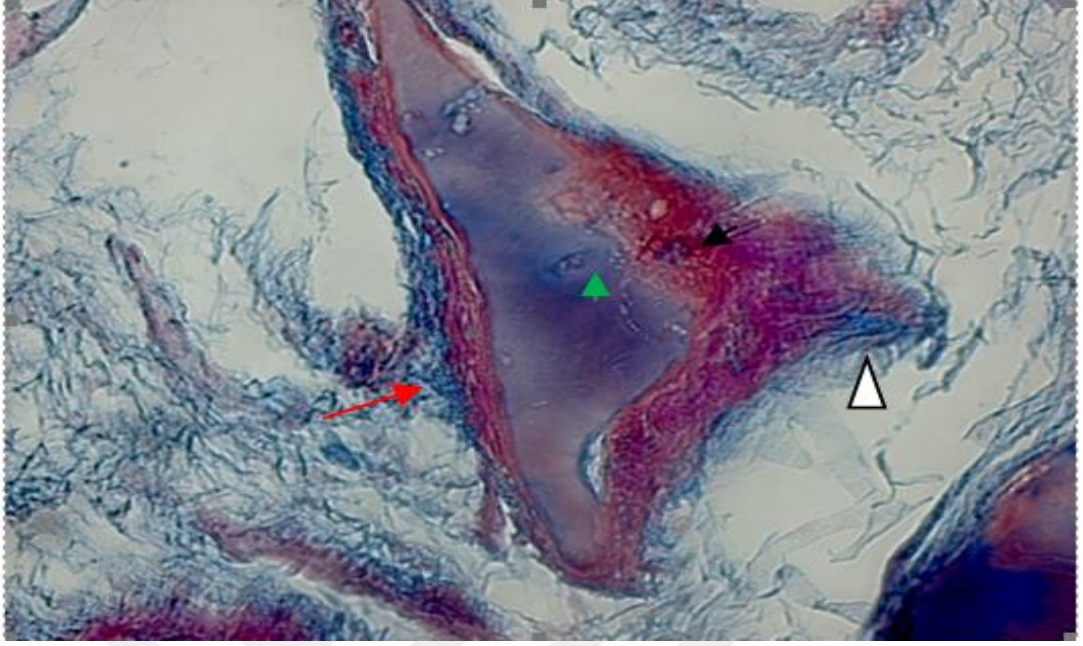
Osteoblastik aktivitede artış ( → )Osteosit sayılarında artış( →)kollejen lifler kalın bant şeklinde ( → ), bağ doku hücrelerinde belirgin artış( △ ) (Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.14:** 8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Osteoblastik aktivitede artış ( → ) Osteosit sayılarında artış( → ) kollejen lifler kalın bant şeklinde ( → ), bağ doku hücrelerinde belirgin artış ( △ )  
(Boyama: Trikrom-Masson, bar: 50μ).



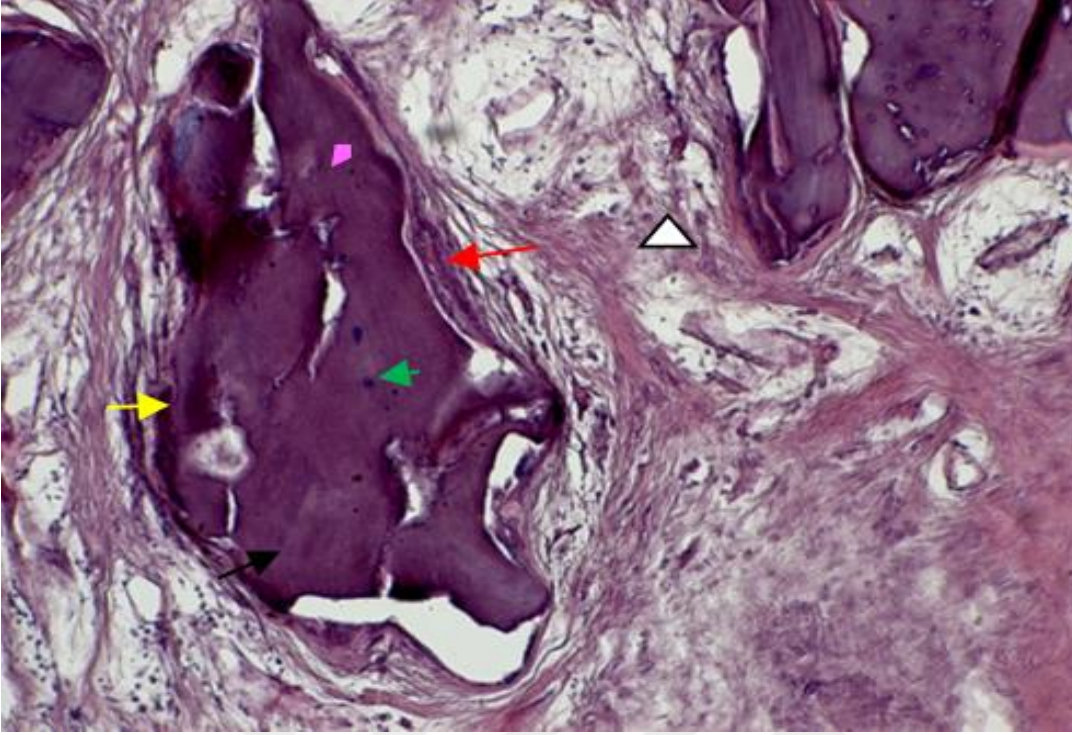


**Resim 5.15:** 8. hafta kontrol grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Osteoblastik aktivitede artış (→) kemik trabekülleri (→) kollejen lifler kalın bant şeklinde (→), bağ doku hücrelerinde belirgin artış (△) (Boyama: Mallory- Azan, bar: 50μ).

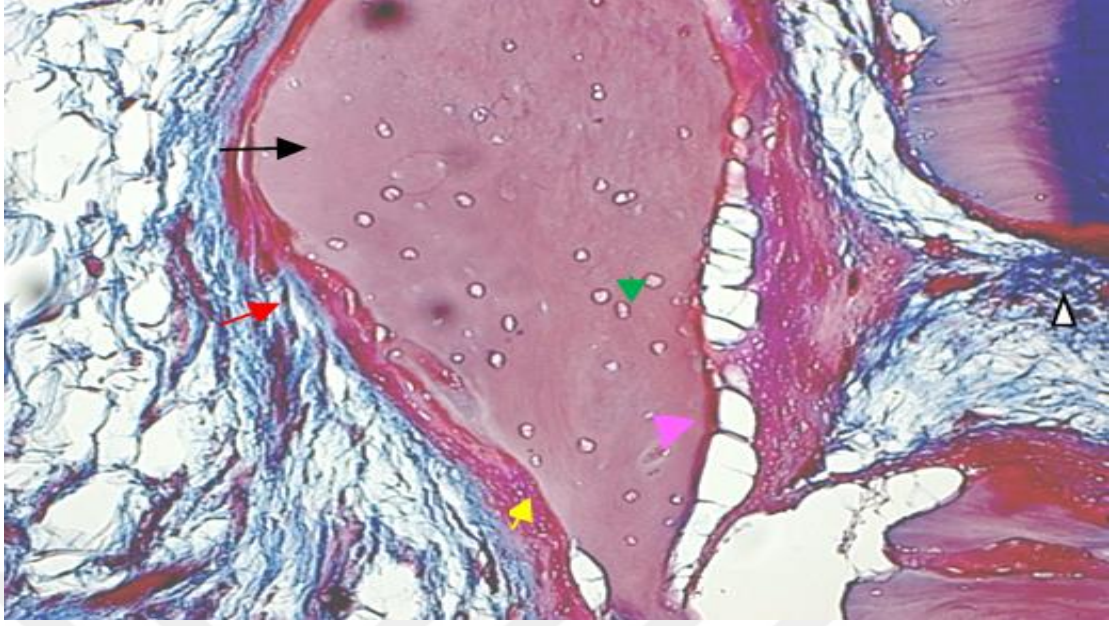
#### 5.1.2.2 Ozon grubu

8. hafta ozon grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, greft alanı içerisinde değişik büyüklükte kemik gelişimini tamamlamış kemik trabekülleri gözlemlendi. Bu trabeküller içerisinde osteoblastik aktivitede artış, osteosit hücrelerinde belirginleşme ve osteon yapılarında sayıca fazlalık gözlemlendi. Greft alanında trabekül çevresinde kollejen bantlarının aşırı yoğunlaştığı, bağ doku hücrelerin sayıca arttığı tespit edildi. (Resim 5.16, 5.17, 5.18)



**Resim 5.16:** 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

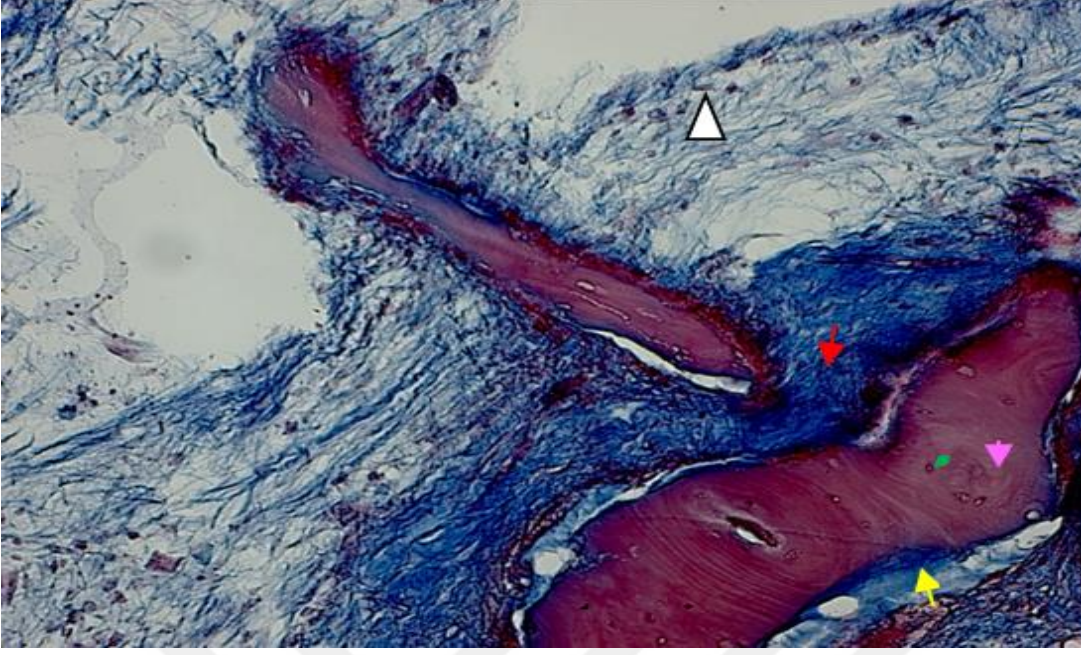
Artmış kemik trabekülleri ( → ), yoğun kollajen bantlar ( → ),bağ doku hücreleri ( △), Osteosit hücreleri( → ), Osteoblast hücreleri( → ), Osteon( → )  
(Boyama:Hematoksilen-Eozin(H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.17:** 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Artmış kemik trabekülleri(→ ), yoğun kollajen bantlar(→ ), bağ doku hücreleri (△), Osteosit hücreleri(→ ), Osteoblast hücreleri(→ ), Osteon (→ ) (Boyama: Trikrom-Masson, bar: 50μ).



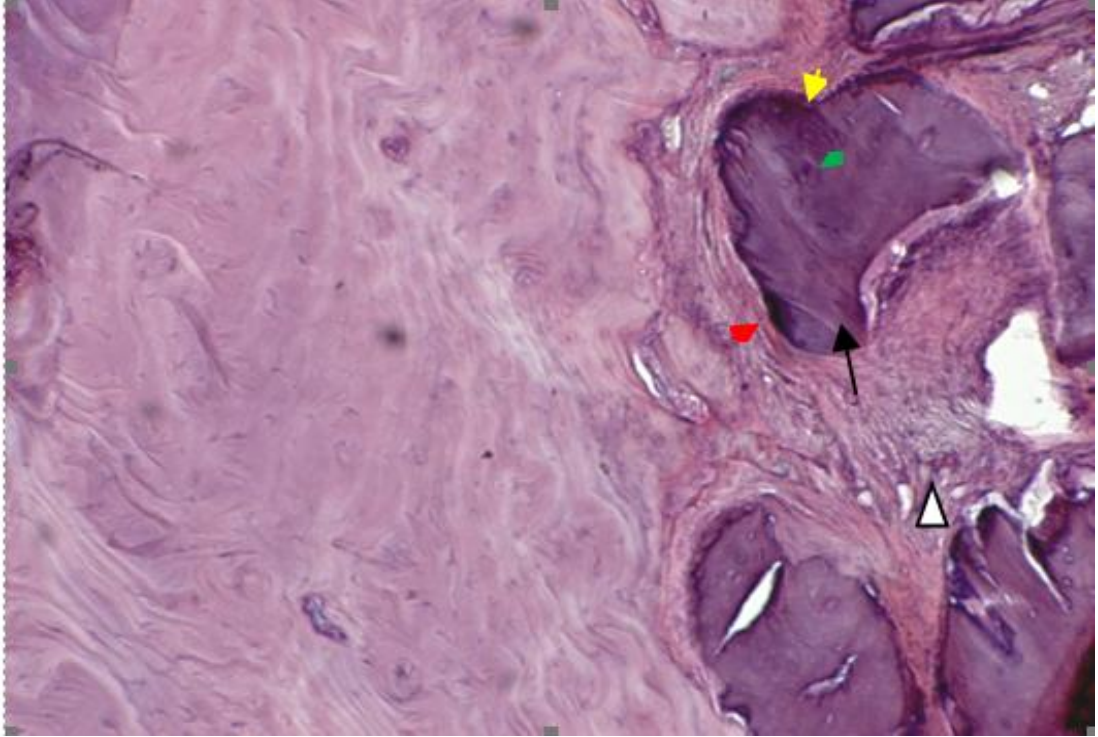


**Resim 5.18:** 8. hafta ozon grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Yoğun kollajen bantlar (→), bağ doku hücreleri (△), Osteosit hücreleri (→), Osteoblast hücreleri (→), Osteon (→) (Boyama: Mallory-Azan, bar: 50μ).

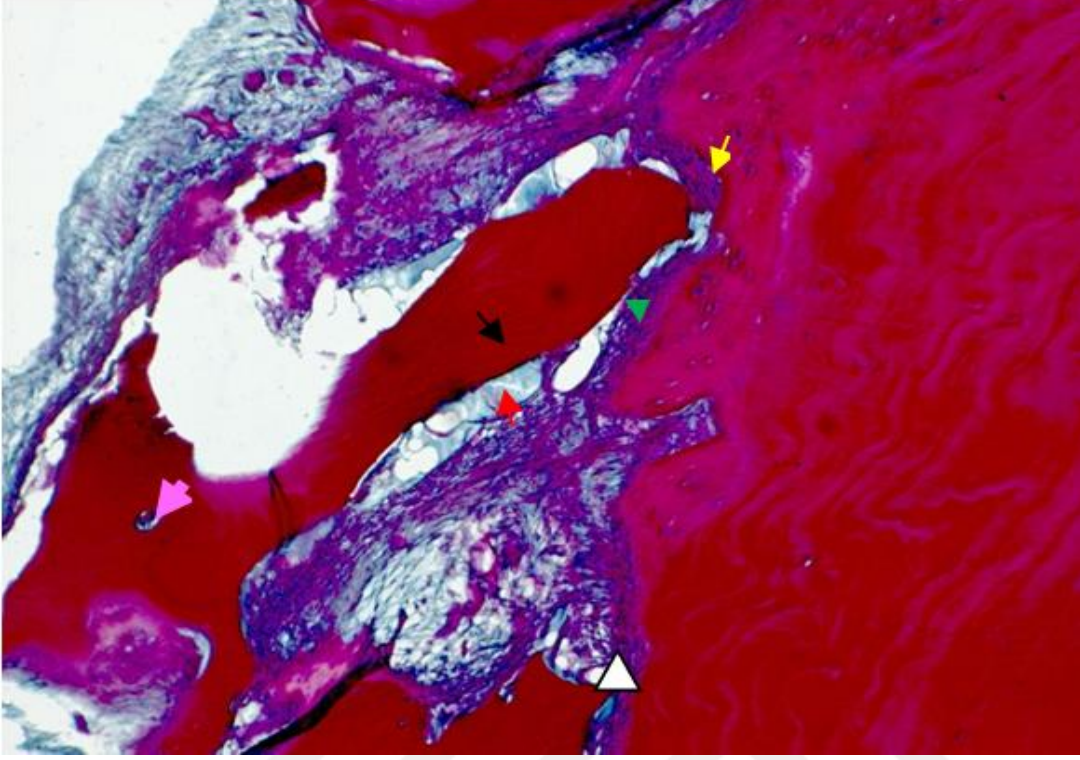
### 5.1.2.3 Denosumab grubu

8. hafta denosumab grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, kemik trabeküllerinde belirgin genişleme, periferinde osteoblastik aktivitede önemli artış, lakuna içerisine yerleşik sayıca artmış osteosit hücreleri ve osteon yapıları belirlemeye başlamıştır. Greft bölgesinde, kollojen liflerin sıkı ve kalın bantlar şeklinde oluştuğu ve aralarında yoğun bağ doku hücre artışı olduğu gözlemlendi. Yeni kemik oluşumu şekillenmiştir. (Resim 5.19, 5.20, 5.21)



**Resim 5.19:** 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

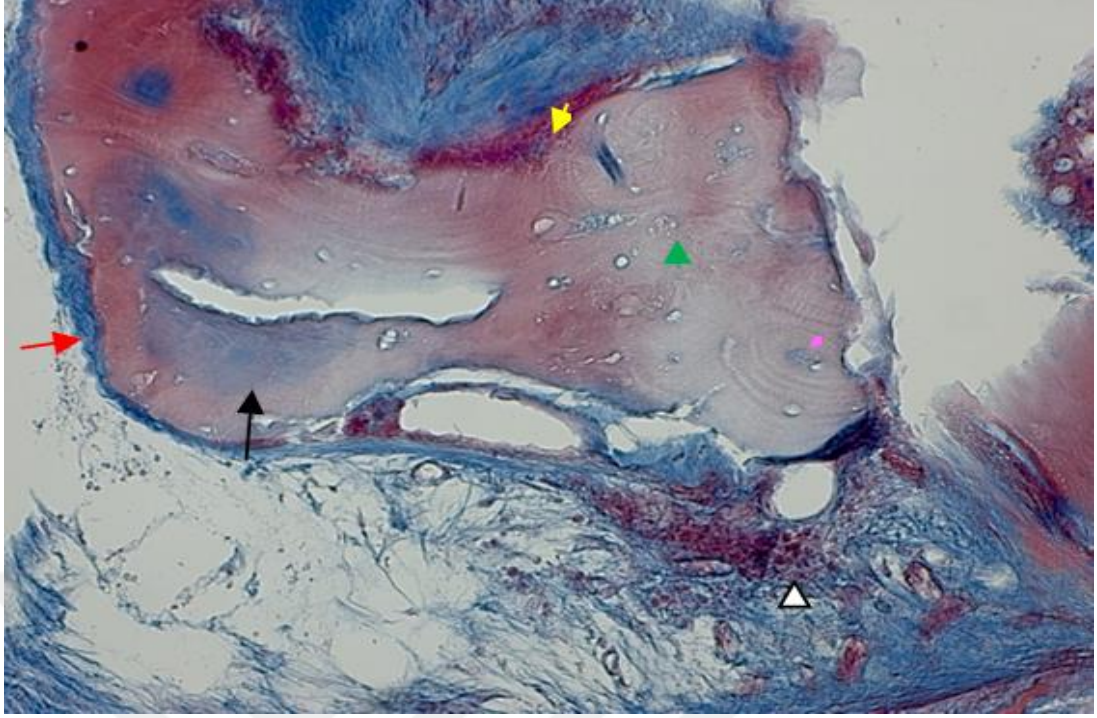
Genişlemiş kemik trabekülleri (↔), yoğun kollajen bantlar (→), bağ doku hücreleri (△), Osteosit hücreleri (→), Osteoblast hücreleri (→), (Boyama:Hematoksilen-Eozin(H-E), bar: 50μ).



**Resim 5.20:** 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Artmış kemik trabekülleri (→), yoğun kollajen bantlar (→), bağ doku hücreleri (△), Osteosit hücreleri (→), Osteoblast hücreleri (→), Osteon (→)  
(Boyama: Trikrom-Masson, bar: 50μ).



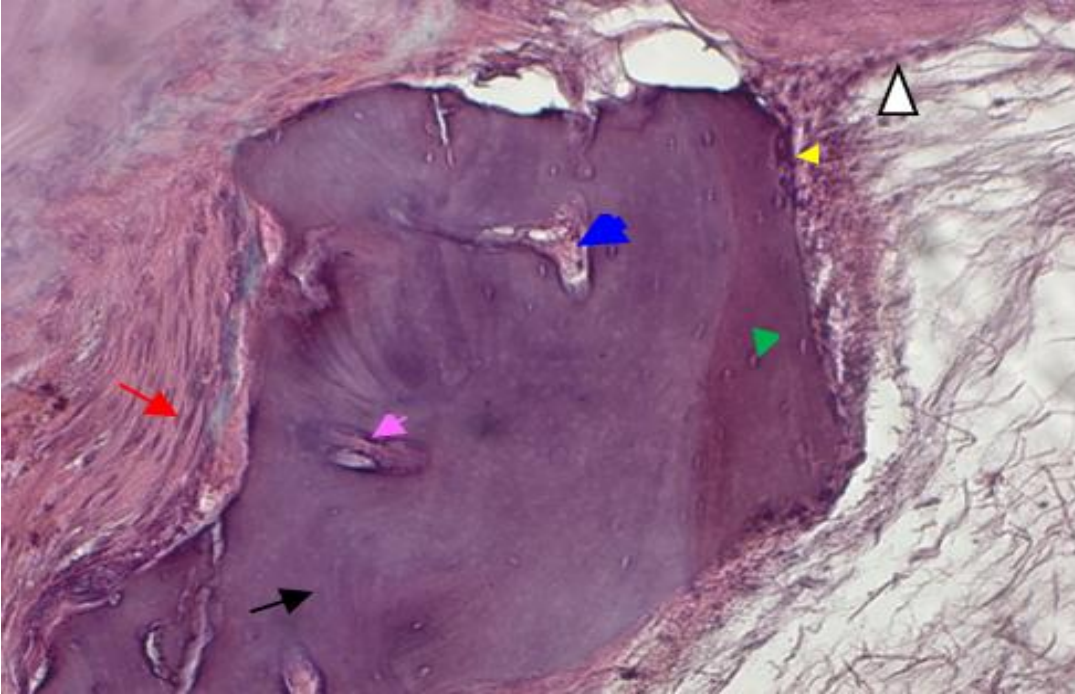


**Resim 5.21:** 8. hafta denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Artmış kemik trabekülleri ( → ), yoğun kollajen bantlar ( → ), bağ doku hücreleri ( △ ), Osteosit hücreleri ( → ), Osteoblast hücreleri ( → ), Osteon ( → )  
(Boyama: Mallory-Azan, bar: 50 $\mu$ ).

#### 5.1 2.4 Ozon ve denosumab grubu

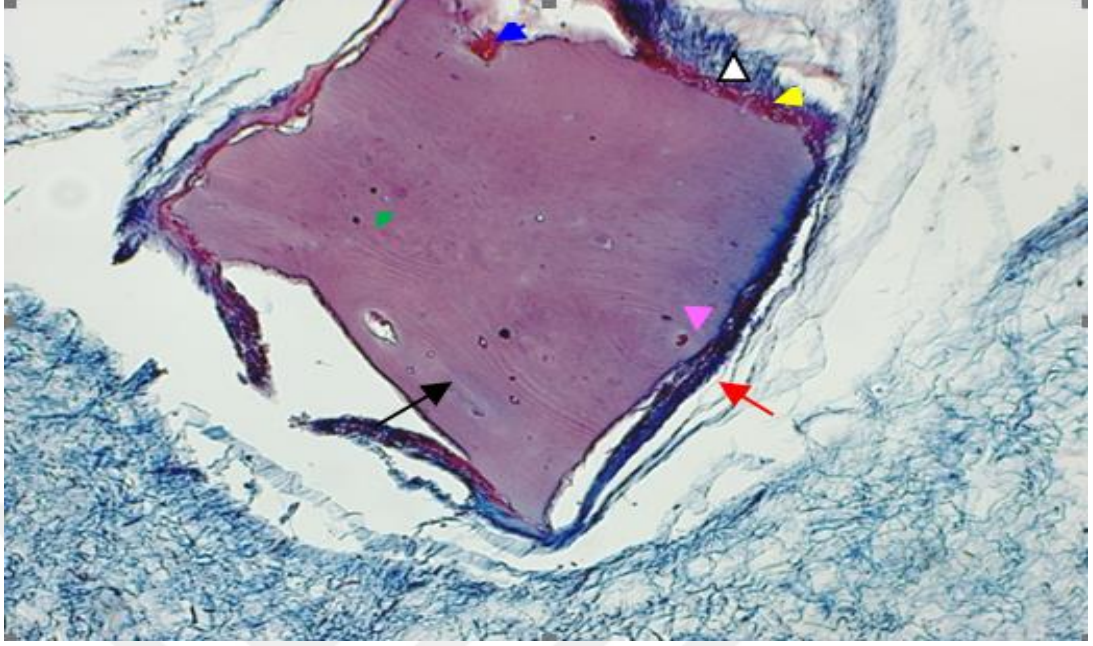
8. hafta ozon + denosumab grubunda kalvarial kemiğe ait greft uygulanan bölgede, genişlemiş kemik trabekülerinde yeni kemik oluşumuna uygun tüm elemanlar şekillenmeye başladı. Osteoblastik hücrelerde belirgin bir hipertrofi, lakuna içine yerleşmiş osteosit hücreleri sayıca artmış bir durumda gözlemlendi. Osteon yapıları belirgin görünmekle birlikte trabekül alanları içinde kemik iliği şekillenmeye başlamıştır. Trabekül etrafında kollojen lifler kalın ve sıkı bantlar biçiminde tertiplenmiş ve bağ doku hücreleri kümeler şeklinde artış göstermiştir. Bu grupta yeni kemik oluşumuna ait bütün bulgular olumlu yönde görülmüştür. (Resim 5.22, 5.23, 5.24)



**Resim 5.22:** 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

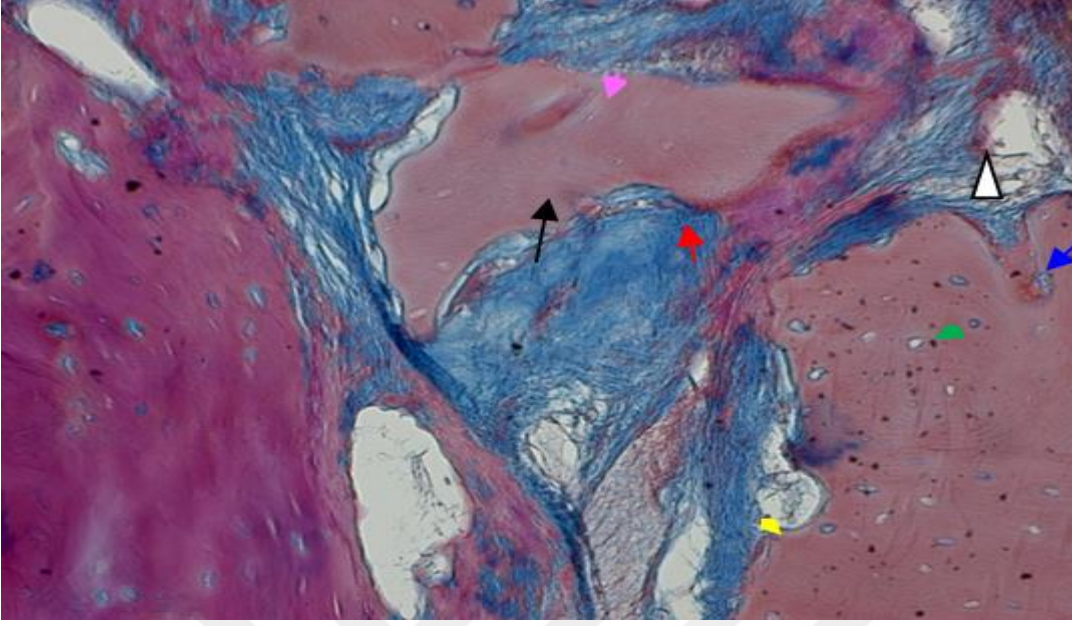
Genişlemiş kemik trabekülleri (→), kalın ve sıkı bantlar şeklinde kollajen lifler (→), artmış bağ doku hücreleri (△), oldukça fazla sayıda artmış Osteosit hücreleri (→) ve Osteoblast hücreleri(→), belirgin Osteon (→), şekillenmiş kemik iliği (→) (Boyama:Hematoksilen-Eozin (H-E), bar: 50μ).





**Resim 5.23:** 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

Genişlemiş kemik trabekülleri (→), kalın ve sıkı bantlar şeklinde kollajen lifler (→), artmış bağ doku hücreleri (△), oldukça fazla sayıda artmış Osteosit hücreleri (→) ve Osteoblast hücreleri (→), belirgin Osteon (→), şekillenmiş kemik iliği (→) (Boyama: Trikrom-Masson , bar: 50µ).



**Resim 5.24:** 8. hafta ozon ve denosumab grubu kalvarial kemiğe ait greft alanı görünümü

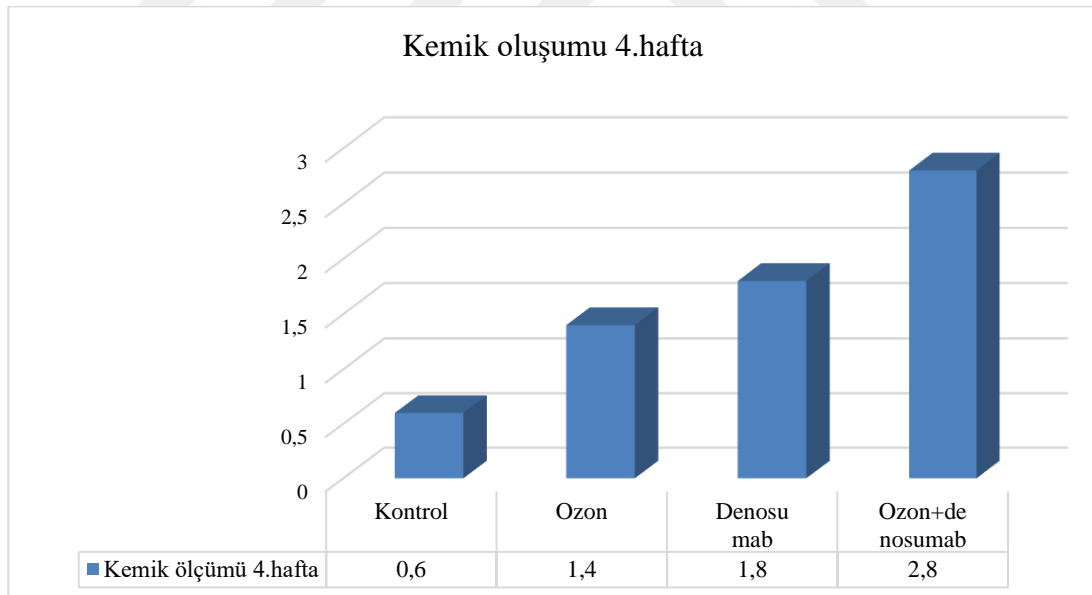
Genişlemiş kemik trabekülleri (→), kalın ve sıkı bantlar şeklinde kollajen lifler (→), artmış bağ doku hücreleri (△), oldukça fazla sayıda artmış Osteosit hücreleri (→) ve Osteoblast hücreleri (→), belirgin Osteon (→), şekillenmiş kemik iliği (→) (Boyama: Mallory-Azan, bar: 50μ).

## 5.2. İstatistiksel Bulgular

Kemik oluşumu 4. hafta skorları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubunun (K) kemik oluşumu 4. hafta skoru, ozon ve denosumab grubuna (O+D) göre anlamlı derecede düşüktür.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
Kemik oluşumu 4. hafta	Kontrol	5	0,6	1	0	1	0,55	4,2	14,388	0,002
	Ozon	5	1,4	1	1	2	0,55	8,8		
	Denosumab	5	1,8	2	1	2	0,45	11,6		
	Ozon ve denosumab	5	2,8	3	2	3	0,45	17,4		
	Toplam	20	1,65	2	0	3	0,93	1-4		

**Tablo 5.1:** Kemik oluşumu 4. hafta skorları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu

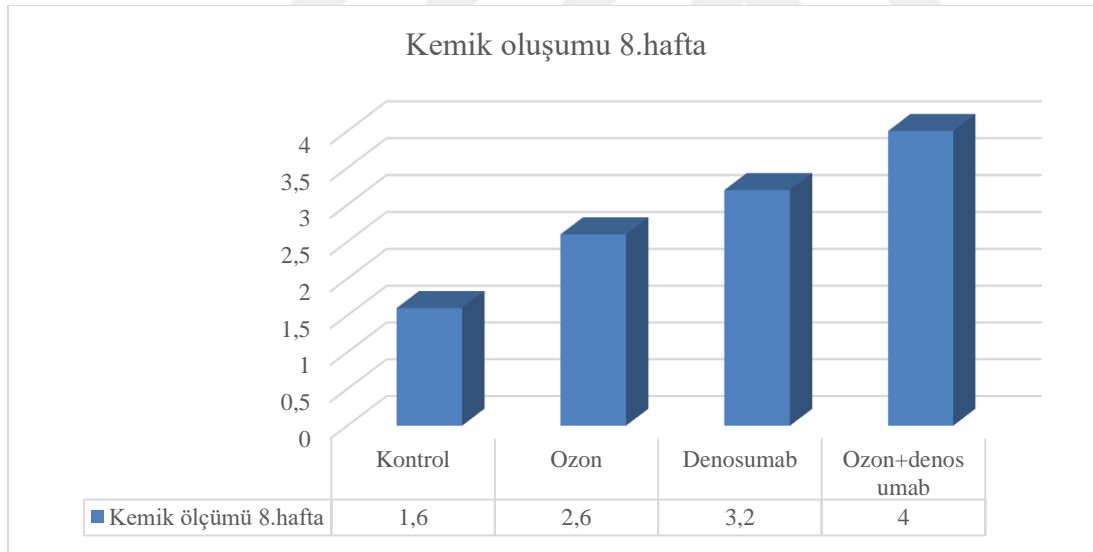


**Şekil 5.1:** Kemik oluşumu 4. hafta skorlarının gruplara göre dağılım grafiği

Kemik oluşumu 8. hafta skorları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubunun kemik oluşumu 8. hafta skoru, ozon ve denosumab grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
Kemik oluşumu 8. hafta	Kontrol	5	1,6	2	1	2	0,55	3,6	16,139	0,001
	Ozon	5	2,6	3	2	3	0,55	8,6		
	Denosumab	5	3,2	3	3	4	0,45	12,3		
	Ozon ve denosumab	5	4	4	4	4	0	17,5		
	Toplam	20	2,85	3	1	4	0,99	1-4		

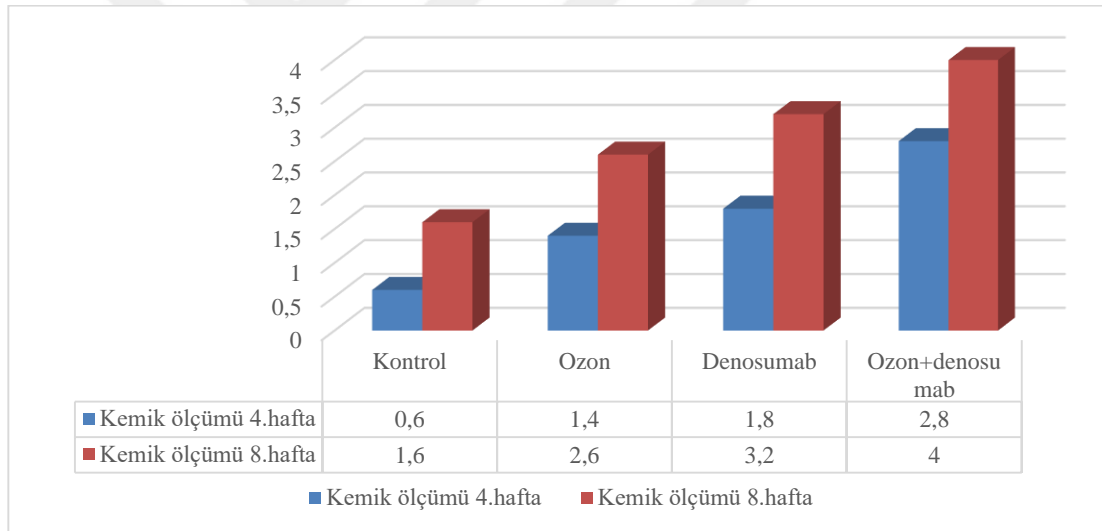
**Tablo 5.2:** Kemik oluşumu 8. hafta skorları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu



**Şekil 5.2:** Kemik oluşumu 8. hafta skorlarının gruplara göre dağılım grafiği

								Wilcoxon Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	z	p
Kontrol	Kemik oluşumu 4.hafta	5	0,6	1	0	1	0,55	0	-2,236	0,025
	Kemik oluşumu 8.hafta	5	1,6	2	1	2	0,55	3		
Ozon	Kemik oluşumu 4.hafta	5	1,4	1	1	2	0,55	0	-2,121	0,034
	Kemik oluşumu 8.hafta	5	2,6	3	2	3	0,55	3		
Denosumab	Kemik oluşumu 4.hafta	5	1,8	2	1	2	0,45	0	-2,07	0,038
	Kemik oluşumu 8.hafta	5	3,2	3	3	4	0,45	3		
Ozon ve denosumab	Kemik oluşumu 4.hafta	5	2,8	3	2	3	0,45	0	-2,121	0,034
	Kemik oluşumu 8.hafta	5	4	4	4	4	0	3		

**Tablo 5.3:** Grup içinde kemik oluşumu 4. hafta ve 8. hafta skorları arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon Testi sonucu



**Şekil 5.3:** Grup içinde kemik oluşumu 4. hafta ve 8. hafta skorlarına ilişkin dağılım grafiği

Kontrol grubunda kemik oluşumu skorları bakımından 4. hafta ve 8. hafta bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubunda kemik oluşumu 4. hafta skoru 8. hafta skoruna göre anlamlı derecede düşüktür.

Ozon grubunda kemik oluşumu skorları bakımından 4. hafta ve 8. hafta bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,05$ ). Ozon grubunda kemik oluşumu 4. hafta skoru 8. hafta skoruna göre anlamlı derecede dūřüktür.

Denosumab grubunda kemik oluşumu skorları bakımından 4. hafta ve 8. hafta bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ( $p<0,05$ ) Denosumab grubunda kemik oluşumu 4. hafta skoru 8. hafta skoruna göre anlamlı derecede dūřüktür.

Ozon ve denosumab grubunda kemik oluşumu skorları bakımından 4. hafta ve 8. hafta bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ( $p<0,05$ ) Ozon ve denosumab grubunda kemik oluşumu 4. hafta skoru 8. hafta skoruna göre anlamlı derecede dūřüktür.

## 6. TARTIŞMA

Maksillofasiyal cerrahinin en önemli uğraş alanlarından biri de herhangi bir sebeple kaybedilen kemik hacminin yeniden kazandırılmasıdır. 1950 yılından bu yana modern tıbbın yanı sıra yenileyici ve tamamlayıcı tıp yaklaşımlarının bazı hastalık grupları üzerinde kullanılması belirgin bir şekilde artmıştır. Rejeneratif ve tamamlayıcı tıbbın gözde uygulamalarından birisi olan ozon tedavisi ülkemizde de uzun yıllardır özel tedavi merkezlerinde uygulanmaktadır. Ozon, üç oksijen atomu içeren doğal olarak oluşan bir bileşiktir. Normal olarak atmosferde bulunmaktadır ve güneşin zararlı ultraviyole ışınlarını süzmektedir. Ozon terapi, ozon/oksijen karışımının dolaşıma ya da vücut boşluklarına uygulanmasıdır. Ozon terapi, uzun yıllardır tıp ve diş hekimliğinde uygulanmaktadır. Ozon, antimikrobiyal, antihipoksik, immünomodülatör, biyosentetik ve analjezik gibi çeşitli etkilere sahiptir (75).

Ozon tedavisi genellikle ozonun çeşitli gazlar ve sıvılarla karıştırılmasını ve vajina, rektum ve kas içi veya deri altı dahil olmak üzere vücuda enjekte edilmesini içeren bir dizi yöntemle uygulanabilir (76).

Diş hekimliğinde ozon kullanımını göz önüne alan yayınlanmış makalelerin çoğu, ozonun antimikrobiyal etkileriyle ilgilidir (77) (78) (79) (80). Ayrıca, oral ve maksillofasiyal cerrahide ozon uygulamasının yeterli kanıtı yoktur (81). Ozonun yara iyileşmesini kolaylaştıran ve kan akışını iyileştiren terapötik etkisinden dolayı bizde tezimizde ozonu kullanmayı tercih ettik.

Bocci ve ark. küçük bir ozon dozunun, birkaç yararlı biyokimyasal mekanizmayı tetikleyebileceğini ve antioksidan sistemi yeniden aktive edebileceğini belirtmişlerdir (82).

Ozon tedavisinin etkinliği farklı kemik patolojileri üzerinde de denenmiştir. Birinci çalışmada, ozon tedavisi bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozlu hastalarda uygulanmış ve halihazırda uygulanmakta olan cerrahi ve farmakolojik tedavilerin etkinliklerini arttırdığı gösterilmiştir (83).

Yine Agrillo A. ve arkadaşlarının yaptığı 131 hastadan oluşan başka bir retrospektif çalışmada, çeşitli hastalıklar için bifosfonat alan hastalarda gelişen çene kemiği osteonekroz vakalarında ozon tedavisinin etkinliği araştırılmış ve doku rejenerasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (84).

Benzer bir çalışma da, boyun bölgesindeki bir tümör nedeniyle radyoterapi alan ve osteonekroz için yüksek risk grubundaki bir hastanın olgu sunumudur. Bu olguda hastaya uygulanan ozon tedavisinin osteonekroz gelişimini önlediği ve ekstraksiyon sonrası yaraların iyileşmesini hızlandığı bildirilmiştir (85).

Patrick ve ark., maksillofasial cerrahi sonrası iyileşme bozukluğu görülen 3 hastada lokal infiltrasyonla ozon tedavisinin etkinliğini araştırmıştır. Hastaların önceden kullandıkları antibiyotik rejimleri durdurulmuş ve eksiksiz bir oral hijyen sağlanması dışında herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. Her gün 3-5  $\gamma$  konsantasyonundaki 3-5 cc lik ozon-oksijen karışımı intramukozal/subkütanöz olarak defekt kaybolana dek uygulanmıştır. Sonuç olarak tüm vakalarda tamamen iyileşme sağlandığı görülmüştür. Ayrıca, metabolik hastalıklar veya alkol ve sigara kullanımı gibi enfeksiyon riskini arttıran durumlarda her zaman geleneksel antibiyotik tedavisinin başarılı olamadığını ve bu gibi cerrahi yaralarda tamamen iyileşmeyi sağlayacak alternatif metod arayışlarında, ozon terapisinin oldukça yararlı ve geçerli bir teknik olduğunu belirtmişlerdir (86).

Özdemir ve ark., rat kalvaryumunda oluşturulan kritik boyutlu kemik defektlerinde, otojen kemik grefti ve ozonun topikal uygulaması ile yeniden yapılan kemik defektlerinin, yalnızca otojen kemik grefti ile rekonstrüksiyon yapılan ve kemik grefti konulmayan örneklerden daha iyi iyileşme gösterdiğini bildirmişlerdir (87). Bizim çalışmamızda da yukarıdaki çalışmaya benzer olarak, kontrol grubu ve ozon grubu kıyaslandığında ozon grubunda anlamlı olarak daha iyi bir kemik oluşumu gözlenmiştir.

Kazancıoğlu ve arkadaşları, bifazik kalsiyum fosfat greft materyali ile doldurulmuş rat kalvaryumundaki kritik boyutlu kemik defektlerinin, düşük seviyeli lazer tedavisine kıyasla ozonun topikal uygulaması ile iyileşmede daha fazla ilerleme gösterdiğini bulmuşlardır (88).



Erdemci ve ark., ozonun uzun dönem preoperatif ve postoperatif sistemik uygulamasının, topikal ozon uygulaması ve tek başına preoperatif sistemik ozon uygulaması ile karşılaştırıldığında, ratlarda maksilladaki ekstraksiyon soketlerinde istatistiksel olarak daha yüksek seviyede trabeküler kemik oluşumu değerlerine sahip olduğunu gösterdi. Bu araştırmacılara göre, postoperatif sistemik ozon uygulamasıyla elde edilen daha iyi sonuçlar iki şekilde açıklanabilir: Birincisi iyileşme süreci postoperatif dönemde başlamıştı ve ikincisi kan- pıhtı formasyonu ve alveolar kemiği örten yumuşak doku, topikal olarak uygulanan ozon ile yara bölgesi arasındaki teması önledi (89).

Alpan ve ark. ise diyabetik ratlarda oluşturdukları kalvariyal defekti, ksenogreft ile tedavi etmişler ve ozonun kemik rejenerasyonu üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Ksenogreft uyguladıkları ve boş bıraktıkları kritik boyuttaki defektlere 2 hafta boyunca hergün 140 ppm at 2 L/g, 2.24 mg dozunda ozon gazı uygulamışlardır. 4 haftalık dönemde en fazla osteoklast sayısı ksenogreft ile birlikte ozon uyguladıkları grupta gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre gaz halinde uygulanan ozonun diyabetik ratlarda ksenogreft rezorpsiyonunu arttırdığı ve erken dönem kemik iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir (90).

Amany ve ark., siklosporin A verdikleri tavşanlara implant uygulamışlar ve ozonlanmış yağın etkisini incelemişlerdir. 20 tavşana siklosporin A verdikten sonra, 10 tavşanın implantına ozonlanmış yağ (0.55 ml) uyguladıktan sonra diğer 10 tavşanın implantlarına herhangi bir işlem uygulamadan yerleştirilmişlerdir ve denekler 8. haftada sakrifiye edilmiştir. 8. haftada sonundaki radyografik değerlendirme sonucu her iki grup arası kemik kalitesi açısından bir fark bulunmamıştır. Histolojik analizler sonucunda ozonlanmış yağ uygulanan grupta daha organize bir kemik oluştuğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre immüsupresif tedavi altında ozonun kemik hacmini ve kalitesini artırarak implant osteointegrasyonunda faydalı olabileceği gösterilmiştir (91).

Sunarso ve ark.nın yaptıkları in vitro çalışmada ise gaz ozon uygulamasıyla süperhidrofilik hale getirilen implant yüzeyinin makrofaj hücreleri ile mezenşimal kaynaklı kök hücreleri üzerine biyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada güçlü bir oksidize edici ajan olan gaz ozonun titanyum yüzeyindeki hidrofobik özellikteki

karbon kontaminasyonunu azaltarak titanyum yüzeyinin hidrofilik yapısının artırılması sağlanmıştır. 24 saat uygulanan gaz ozon titanyum implant yüzey topografisinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Gaz ozon tedavisinin alkalin fosfataz aktivitesinde yükselme ile osteoblastik hücre proliferasyonunu artırdığı buna karşın makrofajlardan salınan proenflamatuvar sitokinleri azalttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar gaz ozon tedavisinin osteokondüktiviteyi artırarak ve anitenflamatuvar etkiyi azaltarak primer implant stabilitesini artırabileceğini öne sürmüşlerdir (92).

Gerspach ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada ozonun periimplantitis üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada ozonun titanyum ve zirkonyum implantlar üzerindeki bakterilerde yarattığı antimikrobiyal etkiler ve ozon uygulanan yüzeylere osteoblast benzeri hücrelerin yapışabilme kapasitesi incelenmiştir. Ozonun implantlar üzerindeki *P. gingivalis*'i tamamen, *S. sanguinis* türünü ise 90% oranında elimine ettiği ve ozon uygulamasının implant yüzeyine osteoblast tutunmasını negatif yönde etkilemediği bildirilmiştir (93).

Buyuk ve ark. (2015) 48 adet sıçanla yaptıkları çalışmada çeşitli konsantrasyonlardaki ozonun kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sıçanlar 4 gruba ayrılmış, premaksiller suturda yapılan genişletme bölgesine 10, 25, 40 µg/ml ozon, kontrol grubuna ise 1 ml salin solüsyonu enjekte edilmiştir. Sütür bölgesindeki kemik rejenerasyonu histomorfometrik olarak incelenmiş ve yeni kemik alanı, fibrotik alan, osteoblast, osteoklast sayısı ve vaskülarizasyona bakılmıştır. Bakılan bütün parametreler deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 25 µg/ml ozon uygulanan grupta ise değerlerin hem diğer deney gruplarından hem de kontrol grubundan yüksek bulunduğu bildirilmiştir (94).

Maksillofasiyal cerrahi alanında yapılan tez çalışmalarında çeşitli hayvan türleri kullanılmaktadır. Literatüre baktığımızda denosumab ile yapılan hayvan çalışmalarında daha çok rat, fare, tavşan ve maymun türlerine rastlanmıştır (95, 96, 97, 98). Biz de çalışmamızda literatüre uygun olarak rat kullanmayı tercih ettik.

Schmitz and Hollinger 1986 yılında kritik büyüklükteki kemik defekti'ni 'Organizmanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik içi defekt' olarak tanımlamışlardır (99). Bu defektler kemik iyileşme modellerinde kullanılırlar. Ratlarda kritik büyüklükteki kranial kemik defektinin primer fibröz kallus dokusu ile dolduğu fakat üç aylık sürede minimum derecede kemikleşmenin olduğu tespit edilmiştir (100).

Takagi ve Urist ratlarda oluşturdukları 8mm çapındaki kemik defektini 6 ay sonra incelemişler ve bu süre sonunda fibröz iyileşme gerçekleştiğini bildirmişlerdir (101). Yapılan diğer bir çalışmada Mulliken ve Glowacki ratların pariyetal kemiklerinde 2 mm çapında bir defekt oluşturmuşlar ve 6 ay sonra ideal bir kemik dolumu bulamamışlardır (102, 103). Yukarıdaki çalışmalar gibi çeşitli çaplarda defektler oluşturulmuş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bizde çalışmamızda 5mm çapında defekt oluşturmayı tercih ettik.

Denosumabın insan ve hayvan çalışmalarında kullanılarak kemik kütlelerini, mikromimarisini ve dayanıklılığını arttırdığı kanıtlanmış, osteoporoz tedavisinde kullanılan antirezorptif potansiyele sahip yeni bir ajandır. RANKL'a karşı olarak geliştirilmiş olan ilaç, insan monoklonal antikordur. Bunların yanı sıra; osteoklastların farklılaşmasını ve fonksiyonunu engelleme görevini de üstlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda denosumab uygulamasının kemik şekillenmesinde antirezorptif etkisinin olduğu rapor edilmiştir (104). Denosumab, RANKL'a bağlanarak bir tuzak reseptör gibi işlev görür ve RANK'a bağlanmamasını sağlar. RANKL/RANK bağlantısı engellenince, preosteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşması, aktive olması ve canlılıklarını sürdürmeleri inhibe edilmiş olur ve RANKL kemik rezorpsiyonu oluşturamaz. Böylece kortikal ve trabeküler kemikte rezorpsiyonu azaltmış olur.

Denosumab ilacı antirezorptif özelliğini kemik yıkımına yol açan osteoklastların yaşamını ve yapımını bloke ederek gösterir. Ayrıca kemik döngüsünü azaltıp ve kemik mineral yoğunluğunda artış sağlamaktadır (105)

Denosumabın kemikler üzerindeki olumlu etkilerinin olduğunu gösteren osteoporotik veya osteoporotik olmayan çok sayıda hayvan çalışması rapor edilmiştir. Ancak, literatüre baktığımızda denosumab ilacının etkisinin defektlerle ve ozon ile birlikte değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır.

Ominsky ve ark. ovarektomize maymunlar üzerinde denosumabın etkisini araştırmışlar. Denosumabın kemiğin yeniden şekillenmesindeki biyolojik markerları azalttığını ayrıca kortikal ve trabeküler kemik kütlesini arttırdığını bildirmişlerdir. Denosumabın kemik kalitesini koruyarak ve kemik kütlesini artırarak kemik dayanıklılığını artırdığını rapor etmişlerdir (106)

Kostenuik ve ark. yapmış olduğu çalışma sonucunda denosumab ile tedavi edilen maymunlarda hem trabeküler hem de kortikal kemik kütlesinde artış tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda trabeküler kemikteki porozite ve aşınma miktarını azalttığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da kontrol ve denosumab grupları karşılaştırıldığında denosumab ilacının yeni kemik alanı oluşumunu anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür (107).

Denosumab uygulamasının kırık bölgesinde kemik rejenerasyonunu desteklediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Gerstenfeld ve ark. yapmış olduğu çalışmada fare modelinde alendronat ve denosumab'ın kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Femur bölgesinde kırık hattı oluşturup gruplar halinde denosumab (10 mg/kg) ve alendronat (0.1 mg/kg) enjeksiyonu yapılmış. Çalışmada denosumab ile tedavi edilen grup ile kontrol ve alendronat grubu karşılaştırıldığında denosumab uygulanan grubun kırık hattında kemik hacminin daha fazla olduğunu ve kemik yapılarının daha sert ve dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir (108).

Bernhardsson ve ark. ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada denosumabın vida fiksasyonu üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada ratların tibialarına vidalar yerleştirip subkütan olarak alendronate ve denosumab uygulamışlardır. Sonuçları pull out testi ve micro CT yardımıyla değerlendirerek denosumabın vida fiksasyonunda sıyrılma kuvvetini alendronattan daha fazla artırdığını bildirmişlerdir. Denosumab ilacının kemik yoğunluğunu alendronattan

daha fazla artırdığını ayrıca denosumabın kansellöz kemikteki vida fiksasyonunu bifosfonattan daha fazla artırdığını rapor etmişlerdir (109).

Helas ve ark. denosumabın kemik kaybının önlenmesi üzerine etkisini ratlar üzerinde araştırdıkları bir çalışmada denosumabın vasküler kalsiyum birikmesini azalttığını tespit etmiş ve denosumabın kemik kaybını önlemedeki etkisinin bu sonuçla ilgili olabileceğini bildirmişlerdir (110).

Molon ve ark. çenesinde osteonekroz oluşturulan ratlar üzerinde çalışma yapmışlardır. İlaça bağlı osteonekrozlarda denosumab ve zoledronik asit'in etkisini araştırdıkları bu çalışmada, ilaç kullanımının bırakılmasıyla osteonekrozun etkilerinin tersine dönüp dönmeyeceğini araştırmışlardır. Osteonekrozda zoledronik asit ilacının kesilmesinin iyileşme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını fakat denosumab ilacının kesilmesinin osteonekroz semptomlarının azaltabileceğini bildirmişlerdir (111).

## 7. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde şu sonuçlara varılmıştır:

1. Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda tek başına ozon uygulamasının yeni kemik oluşumunu arttırdığı gözlemlendi.
2. Kemik defektlerinin onarımında antirezorptif özelliği bulunan denosumab uygulamasının tek başına kullanıldığında yeni kemik oluşumunu arttırdığı görüldü.
3. Ozon ve denosumab birlikte kullanıldığında sinerjik etki göstererek yeni kemik oluşumunda daha iyi sonuçlar verdiği tespit edildi.
4. Literatürde ozonun yeni kemik oluşumunda pozitif etkisinin olduğu birçok farklı çalışma vardır. Bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.
5. Ortaya çıkan sonuçlar doğrultusunda kemik hacmini artırmaya yönelik operasyonlarda denosumab uygulamasının kullanılabilirliğini düşünmekteyiz. Bu konuda uzun dönem sonuçların araştırıldığı çalışmalar yapılabilir. Öte yandan bu tedavinin klinik uygulamalar öncesinde daha geniş deney grupları içeren hayvan ve klinik çalışmalar ile doz ve süre açısından değerlendirilmesi gerekli görülmüştür.
6. Tezimizin sonuçlarına baktığımızda klinik çalışmalara fayda sağlayacağını ancak ek çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

## 8. KAYNAKLAR

1. Pejrone G, Lorenzetti M, Mozzati M, Valente G, Schierano GM. Sinus floor augmentation with iliac bone block grafts: a histological and histomorphometrical report on the two-step surgical technique. *Int J Maxillofac Surg*: 41, 383-388, 1999.
2. Korkmaz H, Küçükkolbaşı H. Diş Hekimliğinde Ozon Uygulamaları Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. Cilt: 7 ve 125-134, 2013.
3. Eşrefoğlu, M. (2004). Genel ve Özel Histoloji. İstanbul : PelikanYayınları.
4. Gartner LP, Hiatt James I. Color Textbook of Histology 3rd edition. Saunders Elsevier, 2007, 114-130.
5. Schenk Robert K. Biology of fracture. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, Trafton P (Eds) Skeletal Trauma. Saunders, Philadelphia, Vol 1: 29-74, 2003.
6. Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi, 3. Baskı, İstanbul, Beta Basın Yayın Dağıtım, 1989: 252-265.
7. Kılıçoğlu Sibel Serin. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 55(2):143-150, 2002.
8. Garg KA. Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. 1 th ed. Chicago, Quintessence Publishing Company, 2004: 1-56.
9. Nancy A, Whitson SW, Bianco P. Ten Cate's oral Histology. Nancy A, ed. St. Louis, Missouri: Mosby, 2003: 111-145.
10. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Solkoğlu S Aytekin Y, çev. Nobel Tıp Kitap Evleri, 2009, 121-182.
11. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş. Demir R, çev. ed. Palme Yayıncılık, İstanbul, 2006, 118-140.
12. Augustin, G., Antabak, A., Davila, S. (2007) The periosteum Part 1: Anatomy, histology and molecular biology. *Injury*, 38 (10). pp. 1115-1130.

13. Radionuclide and Hybrid Bone Imaging, DOI 10.1007/978-3-642-02400-9\_2, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012.
14. Ross M. Pawlina W. Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology 6th Edition. Philadelphia, Macmillan Company, 2011 :218-244.
15. Erdoğan D, Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C: Genel Histoloji, Ankara ; Hatiboğlu Yayınevi, 1999; 107-117.
16. Huri P.Y., Hasırcı N., Hasırcı, V.(2010). Bone Tissue Engineering. Archives Medical Review Journal, 19(4),206-219.
17. Özturan Kutay Engin, Kemik Yaralanması ve Onarımı, <http://totek.totbid.org.tr/files/TBAOMalatya/010.pdf>, 18.12.14.
18. Ülgen, Prof.Dr.Mustafa. Ortodonti Anomaliler,Sefalometri,Etyoloji,Büyüme ve Gelişim, Tanı. Ankara : Ankara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları Yayın No: 30, 2010. 975-482-533-5.
19. Caplan AI, Pechak D. The cellular and molecular biology of bone formation. Peck WA, ed. Bone and Mineral Research. Newyork: Elsevier, 1987, 117.
20. Marieb EN. Human anatomy and physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1998:6.
21. Kılıçoğlu S. S. Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası I Cilt 55, Sayı 2, 2002; 143-150.
22. Volkan B. Alt Ekstremitte Kırıklarının Plak ile Biyolojik Tespiti Uzmanlık Tezi İstanbul 2005.
23. Tuskan C. , Yaltırık M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller, İstanbul 2002.
24. Yurdakul M., Sağlam M.,Kedi ve köpeklerde ekstremitte uzun kemiklerinin diyafizer kırıklarının sağaltımında uygulanan biyolojik osteosentez tekniklerinin klinik değerlendirilmesi Ankara Üniv Vet Fak Derg, 56, 31-36, 2009 .



25. Aydın K. B. Pentoksifilin Kullanımının Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Ratlarda İncelenmesi, Uzmanlık Tezi ,İstanbul, 2007 .
26. Ozaki A.Role of fracture hematoma and periyosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periyosteum in the initial step of the healing process. J. Orthop. Sci 2000: 5(1):64-70.
27. Ham AW, Cormack DH. Histophysiology of Cartilage, Bones and Joints. J.B. Philadelphia and Toronto: Lippincott Company 1979.
28. Weber, B. G., Cech,O. Pseudoarthrosen. Verlang Hans Huber, Bern 1973.
29. Sandy C. Marks, J.R. and Steven N. Popoff: Bone Cell Biology: The regulation of devoelopment, structure and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy; 1988; 183: 1-44.
30. Gross D. ,Williams W. S Streaming potential and electromechanical response of physiologically moist bone. J Biomech. 1982; 15: 277-295.
31. Vanable J. Integumentary potentials and wound healing. Electric Fields in Vertebrate Repair. R. Borgens. Newyork, Alan Liss Inc. 1989; 171-224.
32. Develioğlu H. Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş.
33. Paff G.H.: Anatomy of the head and neck. Philadelphia WB. Saunders . p.77,1973. .
34. Sirola K.: Regeneration of defects in the calvaria. an experimental study. Annals of Medicine and Experimental Biology of Finland. 38 (suppl.2 ) 1.1960 .
35. Frame JW.: A convenient animal model for testing bone substitute materials . J.Oral Surg. 38:176 ,1980. .
36. Prolo DJ., Gutierrez RV., DeVine JS., Oklund SA.:Clinicial utility of allogenal skull discs. in human craniotomy. Neurosurgery 14.183..1984 .

37. Freeman E., Turnbull R.S.: The role of osseous coagulum as a graft material. J.Periodont. Res.8: 229,1973. .
38. Turnbull RS., Freeman E.: Use of wounds in the parietal bone of the rat for evaluating bone marrow for grafting into periodontal defects J.Peridont. Res.9:39.1974. .
39. Takagi K., Urist MR.: The reaction of the dura the bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. Ann.Surg.196.:100,1982. .
40. Prolo DJ., Gutierrez RV., DeVine JS., Oklund SA:.Clinicial utility of allogenal skull discs. in human craniotomy. Neurosurgery14.183.2014.
41. Prolo DJ. Pedrotti PW .Burres KP, Oklund S: Superior osteogenesis in transplanted allogeneic canine skull following chemical sterilization. Clin. Orthop.108:230.2012.
42. Najjar. T.A. ,Kahn D.: Comparative study of healing and remodeling in varios bones.J. Oral Surg.35.375.1977 .
43. Schmitz JP., Schwartz Z., Hollinger JO., Boyan BD. Characterization of rat calvarial nonunion defects. Acta Anat(Basel).;138(3):185-92,2010.
44. Robinson RA.: Healing of bone discontinities in puppies and dogs. J.Bone Joint Surg.53A:1017,2001.
45. Şimşek A, Çakmak G, Cila E TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi 2004 • Cilt: 3 Sayı: 3-4.
46. Tuskan C. , Yaltırık M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller. İ.Ü. Basın ve Yayınevi Müd; 2002.
47. Betz RR. Limitations of autograft ang allograft. New synthetin solutions orthopedics. 2002; 25. 561-570.
48. De Putter, C.F., De Rotter, C., De Groot, J. (1993). Transmukosal İmplants Of Dense Hydroxylapatite. J. Prosthet Dent.49: 87-95 .

49. Prolia ® injection [package insert]. Thousand Oaks , CA: Amgen Inc.; June 2010.
50. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006;354:821-31.
51. GEHRET, Candice. Denosumab: A new therapy for osteoporosis. *Cleveland Clinic*, 2010, 8.
52. Burkiewicz JS, Scarpace SL, Bruce SP. Denosumab in osteoporosis and oncology. *Ann Pharmacother* 2009;43:1445-55.
53. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, Kendler DL, Wang H, Liu Y, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2149-57.
54. Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, Murphy R, Martin SW, Leese PT, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2004;19:1059-66.
55. Body JJ, Facon T, Coleman RE, Geurs F, Fan M, et al. A study of the biological receptor activator of nuclear factor kappaB ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:1221-8.
56. Lewiecki EM. RANK ligand inhibition with denosumab for the management of osteoporosis. *Expert Opin Biol Ther* 2006;6:1041-50.
57. Mascelli MA, Zhou H, Sweet R. Molecular, biologic, and pharmacokinetic properties of monoclonal antibodies: impact of these parameters on early clinical development. *J Clin Pharmacol* 2007;47:553-65.
58. Lewiecki EM. Denosumab: an investigational drug for the management of postmenopausal osteoporosis. *Biologics* 2008;2:645-53.

59. Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nature Rev* 2007;7:715-25.
60. Seidler V, Linetskiy I, Hubalkova H, Stankova H, Smucler R, Mazanek J. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. *Prague Med Rep* 2008;109(1):5–13.
61. Gujjari GK, Gujjari AK, Patel PV, Shubhashini PV. Comparative evaluation of ultraviolet and microwave techniques for toothbrush decontamination. *J Int Soc Prev Community Dent* 2011;1:20.
62. Garg R, Tandon S. Ozone: a new face of dentistry. *Int J Dent Sci* 2009;7:2.
63. Kagan J. Are You Ready For This – Ozone Therapy. *Ozone Information for Clinicians* [online], 2003 [cited 2010 January 13].
64. . Bayson A, Lynch E. Antimicrobial effects of ozone on caries. In: Lynch E, editor. *Ozone: the revolution in dentistry*. London Quintessence Publishing Co.; 2004. p. 165–72.
65. Greene AK, Few BK, Serafini JC. A comparison of ozonation and chlorination for the disinfection of stainless steel surfaces. *J Dairy Sci* 1993;76(11):3617–20.
66. Bezirtzoglou E, Cretoiu SM, Moldoveanu M, Alexopoulos A, Lazar V, Nakou M. A quantitative microbiota organisms colonizing toothbrushes. *J Dent* 2008;36:600-5.
67. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent*. 2008;36:104-16.
68. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008;9:75-84 .
69. Das S. Application of ozone therapy in dentistry. *Indian J Dent Adv* 2011;3(2):538–42.
70. Maslennikov O, Kontorshchikova C, Gribkova I. *Ozone Therapy In Practice*. Nizhny Novgorod Rusya. 2008.

71. Stübinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int* 2006;37:353-9. .
72. Kazancioglu HO, Kurklu E, Ezirganli S. Effects of ozone therapy on pain, swelling, and trismus following third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(5):644.
73. Hammuda A, Hamid MS, Elsharrawy EA, Elsholkamy MA Iskandar A. Use of ozone in temporomandibular joint arthrocentesis, clinical study. *J Am Sci* 2013;9(7).
74. Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SM, Gallucci C, et al. New therapeutic protocol in the treatment of avascular necrosis of the jaws. *J Craniofac Surg* 2006;17:1080–3.
75. Research2006, 34. Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. state of the art. *Archives of Medical ve* 37:425–35.
76. 2011, Borrelli E. Mechanism of action of oxygen ozone therapy in the treatment of disc herniation and low back pain. *Acta Neurochir Suppl ve* 108:123–5.
77. Polydorou O, Halili A, Wittmer A, Pelz K, Hahn P. The antibacterial effect of gas ozone after 2 months of in vitro evaluation. *Clin Oral Investig* 2012 ve 16:545–550.
78. Huth KC, Jakob FM, Saugel B et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci* 2006 ve 114:435–440.
79. Polydorou O, Pelz K, Hahn P. Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. *Eur J Oral Sci* 2006 ve 114:349–353.
80. Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. *Am J Dent* 2004 ve 17:56–60.
81. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 2008 ve 104–116., 36:.

82. Bocci V, Zanardi I, Borrelli E, Travagli V. Reliable and effective oxygen–ozone therapy at a crossroads with ozonated saline infusion and ozone rectal insufflation. *J Pharm Pharmacol* 2012 ve 64:482–9.
83. 86. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in the treatment of a vascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofac Surg*.2007 ve 18:1071-5.
84. 87. Agrillo A, Filiaci F, Ramieri V, Riccardi E, Quarato D, Rinna C, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.2012 ve 16:1741-7.
85. 88. Batinjan G, Filipovic Zore I, Vuletic M, Rupic I. The use of ozone in the prevention of osteoradionecrosis of the jaw. *Saudi Med J*.2014 ve 35:1260-3.
86. 50. Patrick VG, Vismara GP, Vismara D, Nocini P-F. Applications of ozone therapy in maxillofacial Surgery *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 36 (2008) Suppl. 1 Abstracts, EACMFS XIXCongress.
87. Ozdemir H, Toker H, Balcı H, Ozer H. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. *J Periodont Res* 2013 ve Sons, 48: 722–726. © 2013 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley &.
88. Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS: Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J Craniofac Surg* 24:2141, 2013.
89. Erdemci F, Gunaydin Y, Sencimen M, et al: Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 43:777, 2014.
90. Alpan, A.L., H. Toker, and H. Ozer, Ozone Therapy Enhances Osseous Healing in Rats With Diabetes With Calvarial Defects: A Morphometric and Immunohistochemical Study. *Journal of periodontology*, 2016. 87(8): p. 982-989.



91. El Hadary, A.A., et al., Evaluation of the effect of ozonated plant oils on the quality of osseointegration of dental implants under the influence of cyclosporin a: an in vivo study. *Journal of Oral Implantology*, 2011. 37(2): p. 247-257.
92. Toita, R., K. Tsuru, and K. Ishikawa, A superhydrophilic titanium implant functionalized by ozone gas modulates bone marrow cell and macrophage responses. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2016. 27(8): p. 1-9.
93. Gerspach IH, Vadaszan J, Deronjic I, Gass C, Meyer J, Dard M, Waltimo T, Stübinger S, Mauth C. Influence of gaseous ozone in peri-implantitis: bactericidal efficacy and cellular response. An in vitro study using titanium and zirconia. *C Oral Inves.*16:4.104.
94. Buyuk SK, Ramoglu SI, Sonmez MF. The effect of different concentration of topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Eur J Orthod.*Jul 1.pii: cjvo45.
95. Çay M. *Deney Hayvanları Fizyolojisi, Refah ve Davranış Özellikleri*, Elazığ, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2004.
96. Ominsky L. Denosumab, a fully human RANKL antibody, reduced bone turnover markers and increased trabecular and cortical bone mass, density, and strength in ovariectomized cynomolgus monkeys. *The bone Journal* 2011, 49 (2): 162–73.
97. HelaS A. Inhibition of Receptor Activator of NF-B Ligandby Denosumab Attenuates Vascular Calcium Deposition in Mice. *The American Journal of Pathology* 2009, 175(2): 473-8.
98. Kostenuik PJ. Effects of Denosumab, Alendronate, or Denosumab Following Alendronate on Bone Turnover, CalciumHomeostasis, Bone Mass and Bone Strength in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. *Journal of Bone and Mineral Research* 2015, 30(4): 657–69.
99. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.*1986 ve 299-308, (205):.

100. Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001 ve 58-62., 30(1):.
101. Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic proteininduced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin Orthop Relat Res* 1982 ve 224-231., (171):.
102. Glowacki J, Altobelli D, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcif Tissue Int.* 1981 ve 71-76., 33(1):.
103. Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plast Reconstr Surg.* 1980 ve 553-560., 65(5):.
104. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı. *Turkish Journal of Biochemistry* 2007, 32 (4): 178–84.
105. Suresh E and Abrahamsen B. Denosumab: A novel antiresorptive drug for osteoporosis. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* 2015, 82: 2.
106. Ominsky L. Denosumab, a fully human RANKL antibody, reduced bone turnover markers and increased trabecular and cortical bone mass, density, and strength in ovariectomized cynomolgus monkeys. *The bone Journal* 2011, 49 (2): 162–73.
107. Kostenuik P. Decreased bone remodeling and porosity are associated with improved bone strength in ovariectomized cynomolgus monkeys treated with denosumab, a fully human RANKL antibody. *Bone* 2011, 49: 151–61.
108. Gerstenfeld LC. Comparison of Effects of the Bisphosphonate Alendronate Versus the RANKL Inhibitor denosumab on Murine Fracture Healing. *Journal Of Bone And Mineral Research* 2009, 24: 196–208.
109. Bernhardsson D. Anti-RANKL treatment improves screw fixation in cancellous bonein rats. *International Journal Care Injured* 2015, 46: 990–5.

110. Helas A. Inhibition of Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand by Denosumab Attenuates Vascular Calcium Deposition in Mice. *The American Journal of Pathology* 2009, 175(2): 473-8.

111. Molon E. OPG-Fc but Not Zoledronic Acid Discontinuation Reverses Osteonecrosis of the Jaws (ONJ) in Mice. *Journal of Bone and Mineral Research* 2015, 4: 1-14.





TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



## 9.ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı</b>	Ersin	<b>Soyadı</b>	KESKİN
<b>Doğum Yeri</b>	Maden	<b>Doğum Tarihi</b>	19.01.1990
<b>Uyruğu</b>	T. C	<b>Tel</b>	0536 036 01 43
<b>E-posta</b>	dtersin.keskin@gmail.com		

## EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
<b>Tezli Yüksek Lisans</b>	Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2013
<b>Lise</b>	Elazığ 75. Yıl Lisesi	2007

## İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Dişhekimi	Diyarbakır Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	2014- Devam ediyor

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	71,25							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>ALES Puanı</b>	83		

## 10. EKLER

### 10. 1. Etik Kurul Onayı

**T.C.DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ**  
**ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**  
**(DÜHADEK)**

**ETİK KURUL KARARI**

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	TOPLANTI SAYISI
30.05.2017	5	6

**KARAR**

Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cer. Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Beyza KAYA'nın yürütücüsü olduğu Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ ve Dt. Ersin KESKİN'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Kritik boyutlu kemik defeklerinde Denosumab ve Ozon uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılması" başlıklı ve 2017/09 protokol numaralı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sıçan (Sprague-Dawley)	Erkek	40	350 gr

Etik Kurulumuzca görüşülmüş olup araştırmanın oy birliği ile etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Feran YOKUŞ  
(BAŞKAN)

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA  
(RAPORTÖR)

Doç. Dr. Selma TÜNİK  
(ÜYE)

Doç. Dr. Hasan AKKOÇ  
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Ulaş ALABALIK  
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Feran ALTAN  
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Akın KOÇHAN  
(ÜYE)

Prof. Dr. Ebru İNCE BOSTANCI  
(ÜYE)

Doç. Dr. Ayşe MENE  
(ÜYE)

Doç. Dr. Ramazan DEMİREL  
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hüseyin ALKAN  
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK  
(ÜYE)

Veteriner Hekim İlyas ALAK  
(ÜYE)

Öğr. Mehmet Yavuz KAHRAMAN  
(ÜYE)

İletişim: DÜBTAM binası, Zemin Kat, DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sur /DİYARBAKIR  
E-posta: [dusam@dicle.edu.tr](mailto:dusam@dicle.edu.tr) Sekreteryaya: 0 412 248 8431 (3956) Vet.Hekim: 0 412 2488001-16 hat (4423)



# 11.ORIJİNALLIK RAPORU

Doküman Görüntüleyici

## Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 23-May-2019 22:13 +03  
NUMARA: 1135014135  
Kelime Sayısı: 9244  
Gönderildi: 1

ersin tez Ersin Keskin tarafından

Kaynağa göre Benzerlik	
Benzerlik Endeksi	
<b>%24</b>	
İnternet Sources:	%19
Yayınlar:	%5
Öğrenci Ödevleri:	%15

[alıntıları çıkar](#) [bibliyografyayı çıkar](#) [5 kelime > çıkanlar eşleşmeler](#) [İndir](#) [yenile](#) [vazdır](#) mod: [raporu hızlı görüntüle \(klasik\)](#) [Change mode](#)

2% match (18-Eki-2017 tarihli öğrenci ödevleri)	<a href="#">Submitted to Cumhuriyet University on 2017-10-18</a>	X
2% match (15-Mar-2016 tarihli internet)	<a href="http://docplayer.biz.tr">http://docplayer.biz.tr</a>	X
2% match (16-May-2015 tarihli internet)	<a href="http://dfd.atauni.edu.tr">http://dfd.atauni.edu.tr</a>	X
1% match (23-Mar-2016 tarihli internet)	<a href="http://acikerisim.deu.edu.tr">http://acikerisim.deu.edu.tr</a>	X
1% match (11-Eyl-2018 tarihli internet)	<a href="https://www.sporhekimligidergisi.org/eng/full-text/8/tur">https://www.sporhekimligidergisi.org/eng/full-text/8/tur</a>	X
1% match (08-Kas-2015 tarihli internet)	<a href="http://w2.anadolu.edu.tr">http://w2.anadolu.edu.tr</a>	X
1% match (21-May-2015 tarihli internet)	<a href="http://acikerisim.dicle.edu.tr">http://acikerisim.dicle.edu.tr</a>	X
1% match (24-Tem-2015 tarihli internet)		X