

**T.C.**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİYABETİK RATLARDA CERRAHİ OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK  
DEFEKTLERİNDE ALLOPLASTİK KAYNAKLI TRİKALSİYUM FOSFAT  
KEMİK GREFTİ VE KANAMA DURDURUCU BİTKİ EKSTRESİNİN (ABS)  
KOMBİNE KULLANIMININ KEMİK REJENERASYONUNA ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**Dt. Abdulsamet TANİK**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Arzum GÜLER DOĞRU**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR 2017**

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABETİK RATLARDA CERRAHİ OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK  
DEFEKTLERİNDE ALLOPLASTİK KAYNAKLI TRİKALSİYUM FOSFAT  
KEMİK GREFTİ VE KANAMA DURDURUCU BİTKİ EKSTRESİNİN (ABS)  
KOMBİNE KULLANIMININ KEMİK REJENERASYONUNA ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Abdulsamet TANİK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Arzum GÜLER DOĞRU

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2017

Bu doktora tezi Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Koordinatörlüğünce desteklenmiştir.

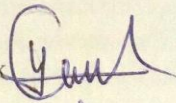
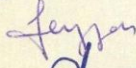
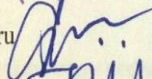
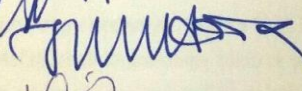
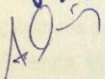
Proje No: DİŞ.15.008

T.C  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRLÜĞÜ

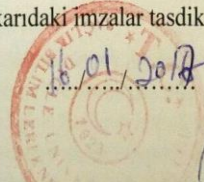
“ Diyabetik Ratlarda Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Alloplastik Kaynaklı Trikalsiyum Fosfat Kemik Grefti Ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin (ABS) Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisinin İncelenmesi ” isimli Doktora Tezi **13.01.2017** tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı :Doç. Dr. Arzum Güler Doğru  
Tezi Teslim Eden :Dt. Abdulsamet Tanik

Jüri Üyesinin

	Ünvanı	Adı Soyadı
Başkan	:Prof. Dr. Yasin Çiçek	
Üye	:Prof. Dr. Beyza Kaya	
Üye	:Doç. Dr. Arzum Güler Doğru	
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Serkan Dündar	
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Ahmet Günay	

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.



Doç.Dr. Hakkı Murat BİLGİN  
Dicle Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜRLER

Doktora eğitimim boyunca bilgi birikimden istifade ettiğim, değerli deneyimleriyle bana her türlü desteği ile sürekli yanımda olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Arzum Güler DOĞRU'ya, tezimin yazımında büyük katkıları olan ve eğitimimde yardımını esirgemeyen, bölümümdeki diğer hocalarıma ve kendinden çok şey öğrendiğim Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Günay'a ve tezimin uygulamaların bana yardımcı olan değerli asistan arkadaşım Dt. Mehmet GÜL ve Dt. Nurullah DÜĞER'e ve birçok paylaşımda bulunduğum tüm asistan arkadaşlarıma, tezimin histoloji kısmında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Engin DEVECİ'e, ilaçların doz ayarlamasında önemli katkıları olan Doç. Dr. Hasan AKKOÇ'a, çalışmamızın biyokimyasal analizlerinde bize yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İbrahim Halil YILDIRIM'a, temizin radyolojik analizlerinde önemli katkısı olan Doç. Dr. Veysi AKPOLAT'a, istatistiksel çalışmalarda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İsmail YILDIZ ve Yrd. Doç. Dr. Ersin UYSAL'a, desteğini her zaman arkamda hissettiğim ailem ve sevgili eşim Sayın Nuray TANİK' a çok teşekkür ederim.

Abdulsamet TANİK

## İÇİNDEKİLER

Ön Sayfalar	Sayfa No
Kabul ve Onay Sayfası.....	I
Teşekkür Sayfası .....	II
İçindekiler Dizini .....	III
Resimler Dizini .....	VI
Şekiller Dizini .....	IX
Tablolar Dizini .....	X
Grafikler Dizini .....	XI
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	XII
Türkçe Özet.....	XIV
İngilizce Özet .....	XVI
<b>1. Giriş ve Amaç.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Genel Bilgiler .....</b>	<b>4</b>
2.1. Periodontal Hastalıklar .....	4
2.2. Periodontal Dokularda Kemik Dokusunun Yıkımı .....	5
2.3. Kemik .....	6
2.3.1. Kemik iyileşmesi aşamaları.....	9
2.3.1.1. İnflamatuar Safha .....	9
2.3.1.2. Granülasyon Dokusu Safhası .....	10
2.3.1.3. Kallus safhası.....	10
2.3.1.4. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi (Remodeling) Safhası.....	11
2.3.2. Kritik Boyutlu Kemik Defekti.....	11
2.3.3. Kemik Greftleri .....	12
2.3.3.1. Otojen Greftler(Otogreft): .....	13
2.3.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları .....	13
2.3.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları .....	14
2.3.3.2. Allogreftler .....	14

2.3.3.3. Ksenogreftler(Heterogreftler).....	16
2.3.3.4. Alloplastlar .....	17
2.3.3.5. Seramikler .....	17
2.3.3.5.1. Sentetik Hidroksiapatit .....	17
2.3.3.5.2. Trikalsiyum Fosfat(TCP) .....	18
2.3.3.5.3. Bioaktif Cam .....	19
2.3.3.5.4. Kalsiyum Karbonat.....	19
2.3.4. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması .....	20
2.3.4.1 Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi.....	21
2.3.4.2. Allogreftlerin Kemik Greftlerinin İyileşmesi.....	22
2.3.4.3. Ksenogreftlerin İyileşmesi.. .....	22
2.3.4.4. Alloplastik Kemik Greftlerinin İyileşmesi .....	23
2.4. Diabetes Mellitus(DM).....	23
2.4.1. İnsülin Metabolizması .....	24
2.4.2.1. Tip I Diyabet .....	24
2.4.2.2. Tip II Diyabet .....	24
2.4.3. Diyabetin Kemik Üzerine Etkisi .....	25
2.4.4. Diyabetin Komplikasyonları .....	26
2.4.5. Deneysel Diyabet Modelleri.....	26
2.4.5.1. Streptozosin(STZ) .....	27
2.5. Ankaferd Blood Stopper® (ABS) .....	27
2.5.1. ABS'nin Etki Mekanizması .....	29
2.5.2. ABS'nin Cerrahi Girişimlerde Kullanımı .....	29
2.5.3. ABS'nin Diş Hekimliğinde Kullanımı.....	30
2.5.4. ABS'nin Diğer Etkileri .....	32
2.5.5. ABS'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi .....	33
<b>3. Gereç ve Yöntem .....</b>	<b>34</b>
3.1. Ratlarda Diyabetin Oluşturulması .....	34
3.2. Cerrahi yöntem .....	35
3.3. Çalışmadaki Deney Hayvanların Gruplandırılması .....	40
3.4. Histolojik Değerlendirme İçin Kesitlerin Hazırlanması.....	44
3.5. İmmünohistokimyasal Değerlendirme İçin Kesitlerin Hazırlanması .....	45

3.5. 1. Osteonektin ve Osteopontin İmmün Boyama Yöntemi .....	45
3.5. 2. Western Blotting Yöntemi.....	46
3.5.2.1. Hücre lizisi ve protein kantitasyonu.....	46
3.5.2.2. SDS(sodyum dodesil sülfat)-PAGE(Poliakrilamit jel elektroforesi) .....	46
3.5.2.3. Proteinlerin membrana transferi ve antikorla boyama .....	46
3.6. Dual Enerji X-Ray Absorpsiyometri (DEXA).....	47
3.7. İstatistiksel Analiz.....	48
<b>4. Bulgular</b> .....	<b>49</b>
4.1. Histolojik Bulguları .....	49
4.1.1. 28. Gün Histopatolojik Bulguları .....	49
4.1.2. 56. Gün Histopatolojik Bulguları .....	54
4.2. İmmünohistokimyasal Bulguları .....	58
4.2.1. 28. Gün İmmünohistokimyasal Bulguları .....	58
4.2.1.1. 28. Gün Osteopontin Bulguları .....	58
4.2.1.2. 28. Gün Osteonektin Bulguları .....	62
4.2.2. 56. Gün İmmünohistokimyasal Bulguları .....	67
4.2.2.1. 56. Gün Osteopontin Bulguları .....	67
4.2.2.2. 56. Gün Osteonektin Bulguları.....	71
4.3. Western Blotting Bulguları .....	77
4.3.1. Nondiyabetik ratların osteonektin ve osteopontin ekspresyon bulguları .....	77
4.3.2. Diyabetik ratların osteonektin ve osteopontin ekspresyon bulguları .....	78
4.4. İstatistiksel Bulgular .....	80
4.4.1. Histopatolojik İstatistiksel Bulgular .....	80
4.4.2. DEXA Bulguları.....	89
<b>5. Tartışma</b> .....	<b>97</b>
<b>6. Sonuç ve Öneriler</b> .....	<b>128</b>
<b>7. Kaynaklar</b> .....	<b>132</b>
<b>8. Özgeçmiş</b> .....	<b>150</b>
<b>9. Turnitin Orijinallik Raporu</b> .....	<b>151</b>

## RESİMLER

**Resim 1:** Deneklerde kullanılan intramusküler anestezi maddeleri.

**Resim 2:** Anestezi yapılmış ratın kafasının traş edilmesi ve operasyon masasındaki sabitlenmiş görünümü.

**Resim 3:** Ratların povidon iodine antiseptik solüsyonu ile operasyon alanının boyanmış görünümü.

**Resim 4:** Orta hatta kafa derisi insizyonun yapılması ve frontal kemiğin açığa çıkartılmış görüntüsü.

**Resim 5:** 7 mm çapındaki trephen frez ve trephen frez takılmış anguldurva görünümü.

**Resim 6:** 7 mm çapındaki dairesel tam kemik kesisinin görüntüsü.

**Resim 7:** Dura mater ve sinüslerin korunarak oluşturulan dairesel tam bir kemik kesisinin görünümü.

**Resim 8:** Deri insizyonunun 3/0 ipek suture ile primer kapatılmış görünümü.

**Resim 9:** Defektlerde kullanılan  $\beta$ -TCP greftin görünümü.

**Resim 10:** Defektin  $\beta$ -TCP grefti ile doldurulması görünümü.

**Resim 11:** 24 x 2 ml'lik ABS ampüllerin görünümü.

**Resim 12:** ABS uygulanmış defektin görünümü.

**Resim 13:**  $\beta$ -TCP greft + ABS' nin defekte uygulanmasının görünümü.

**Resim 14:** Dexa cihazı ve ratın çekim öncesi görünümü.

**Resim 15:** Nondiyabetik grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 16:** Diyabetik kontrol grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.



**Resim 17:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 18:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 19:** Nondiyabetik ABS grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 20:** Diyabetik ABS grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 21:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 22:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 23:** Nondiyabetik grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 24:** Diyabetik kontrol grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 25:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 26:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 27:** Nondiyabetik ABS grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 28:** Diyabetik ABS grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 29:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 30:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan histopatolojik kesitinin görünümü.

**Resim 31:** Nondiyabetik grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 32:** Diyabetik kontrol grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 33:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 34:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 35:** Nondiyabetik ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 36:** Diyabetik ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 37:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 38:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 39:** Nondiyabetik grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 40:** Diyabetik kontrol grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 41:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 42:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 43:** Nondiyabetik ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 44:** Diyabetik ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 45:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 46:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 47:** Nondiyabetik grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 48:** Diyabetik kontrol grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 49:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 50:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 51:** Nondiyabetik ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 52:** Diyabetik ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 53:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 54:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteopontin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 55:** Nondiyabetik grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 56:** Diyabetik kontrol grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 57:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 58:** Diyabetik  $\beta$ -TCP grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 59:** Nondiyabetik ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 60:** Diyabetik ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 61:** Nondiyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

**Resim 62:** Diyabetik  $\beta$ -TCP + ABS grubun 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteonektin ekspresyonunun görünümü.

## TABLÖLAR

**Tablo 1:** 2ml ampul formundaki ABS<sup>®</sup>'nin içeriği.

**Tablo 2:** Diyabetsiz Ratların 28. ve 56. günde Histopatolojik Değerlerlerinin Karşılaştırılması.

**Tablo 3:** Diyabetli Ratların 28. ve 56. günde Histopatolojik Değerlerlerin Karşılaştırılması.

**Tablo 4:** Diyabetli ve Nondiyabetli Grupların Gruplar Arası Histopatolojik İncelenmesi.

**Tablo 5:** Diyabetik Olmayan Ratların Gruplar Arası KMM Ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması.

**Tablo 6:** Diyabetik Ratların Gruplar Arası KMM Ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması.

**Tablo 7:** Diyabetik Olmayan Ratların Grup İçi KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması.

**Tablo 8:** Diyabetik Ratların Grup İçi KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması.

**Tablo 9:** Diyabetli ve Nondiyabetli Grupların KMM ve KMY Değerlerin Karşılaştırılması.

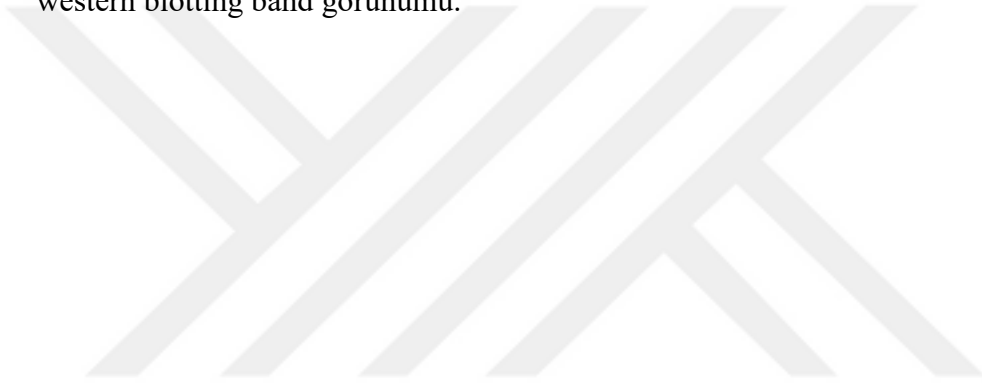
## ŞEKİLLER

**Şekil 1:** Nondiyabetik ratların kalvaryum dokusunda osteonektin ekspresyonunun western blotting band görünümü.

**Şekil 2:** Nondiyabetik ratların kalvaryum dokusunda osteopontin ekspresyonunun western blotting band görünümü.

**Şekil 3:** Diyabetik ratların kalvaryum dokusunda osteonektin ekspresyonunun western blotting band görünümü.

**Şekil 4:** Diyabetik ratların kalvaryum dokusunda osteopontin ekspresyonunun western blotting band görünümü.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

**ABS:** Ankaferd Blood Stopper

**BMP:** kemik morfogenetik proteinleri

**$\beta$ - TCP:** Beta trikalsiyum fosfat

**DM:** Diabetes mellitus

**mm:** Millimetre

**PMNL:** Polimorf çekirdekli lökositler

**TGF- $\beta$ :** Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

**Ca:** Kalsiyum

**P:** Fosfat

**AIDS:** Acquired Immune Deficiency Syndrome

**FB:** Dondurulmuş kemik

**FDB:** Dondurulmuş - kurutulmuş kemik

**DFDB:** Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik

**C°:** Santigrat

**GTR:** Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

**HA:** Hidroksiapatit

**TCP:** Trikalsiyum Fosfat

**$\alpha$ -TCP:** Alfa Trikalsiyum Fosfat

**$\mu$ m:** Mikrometre

**PDGF:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

**pH:** Hidrojenin Gücü

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**STZ:** Streptozosin

**NO:** Nitrik oksit

**LPS:** Lipopolisakkarit

**mg:** Milligram

**ml:** Millilitre

**HCl:** Hidroklorik asit

**PBS:** Fosfat Tamponlu Tuz

**EDTA:** Etilendiamin tetraasedik asit

**AEC:** Aminoetil Karbazol

**SDS:** Sodyum dodesil sülfat

**PAGE:** Poliakrillamit

**DTT:** DL-ditiyotretol

**PVDF:** Poliviniliden florid

**ECL:** Enhanced kemiluminesans reaktif

**DEXA:** Dual Enerji X-Ray Absorpsiyometri

**KMM:** Kemik Mineral Miktarı

**KMY:** Kemik Mineral Yoğunluğu

**Ort:** Ortalama

**SS:** Standart sapma

**P:** İstatistiksel anlamlılık

**µg:** Mikrogram



**kD:** Kilodalton

**MSC:** Mezenkimal kök hücre

**BCP:** Bifazik kalsiyum fosfat

**PRP:** Platelet Rich Plazma

**EMD:** Mine matriks türevi

**bFGF:** Bazik fibroblast büyüme faktörü

**PRF:** Trombositten Zengin Fibrin

**ON:** Osteonektin

**OC:** Osteokalsin

**TCC:** Topikal Tripeptid Bakır Kompleksinin

**VEGF:** Vasüler Endotelyal Büyüme Faktörü

**OPN:** Ostoeopontin

**MMP:** Matriks metalloproteinaz

**$\mu$ l:** Mikrolitre

**3D- $\mu$ CT:** Yüksek çözünürlü üç boyutlu mikrobilgisayarlı tomografiler

**CT:** Bilgisayarlı tomografi

# **DIYABETİK RATLARDA CERRAHİ OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNDE ALLOPLASTİK KAYNAKLI TRİKALSİYUM FOSFAT KEMİK GREFTİ VE KANAMA DURDURUCU BİTKİ EKSTRESİNİN (ABS) KOMBİNE KULLANIMININ KEMİK REJENERASYONUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

## **ÖZET**

Doğal dişleri destekleyen alveol kemiklerde gelişen rezorbsiyonlar ve periodontal hastalığın gelişiminde dokuda oluşan inflamasyonun, kemik morfolojisinde meydana getirdiği değişiklikler sonucunda kemik dokusunda kayıplar gerçekleşebilir. Bu nedenle meydana gelen deformitelerin kemik greftleriyle onarılması gerekir. Bu amaçla günümüzde farklı greft materyalleri uygulamanın yanı sıra Ankaferd blood stopper(ABS) gibi erken kemik rejenerasyonunda etkili olduğu düşünülen alternatif yöntemler kullanılarak osteogenezin hızlandırılması amaçlanmaktadır.

Periodontal hastalıklarda birincil etken mikrobiyal dental plak olmasına rağmen bireylerdeki mevcut sistemik hastalıkların, hastalığın şiddetini ve prognozunu etkileyerek periodontal hastalık riskini arttırdığı kabul edilmiştir. Bu sistemik hastalıklardan toplumda en yaygın olanı diabetes mellitus(DM)'dur.

Çalışmamızda, kemik yara iyileşmesinde etkinliği olan ABS ve  $\beta$ -TCP'nin birlikte kullanımının, nondiyabetik ve diyabetik ratlarda kemik rejenerasyonunda geç dönem etkilerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, 128 adet Wistar Albino erkek rat kullanılmıştır. Ratların kalvaryumunda 7 mm çapında kemik defekti oluşturulmuştur. Bu ratlar diyabetik ve nondiyabetik olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Bu iki grup da kendi aralarında 4 farklı alt gruba ayrılmıştır. Nondiyabetik 1a grubu defekt boş bırakılmış, 1b grubuna, 0.125 cc  $\beta$ -TCP greft, 1c grubuna, 0.125 cc ABS, 1d grubuna, 0.125 cc ( $\beta$ -TCP + ABS) karışımı uygulanmıştır. Diyabetik 2a grubu defekt boş bırakılmış, 2b grubuna, 0.125 cc  $\beta$ -TCP greft, 2c grubuna, 0.125 cc ABS, 2d grubuna, 0.125 cc ( $\beta$ -TCP + ABS) karışımı uygulanmıştır. Her gruptan 8 rat 28. günde ve geri kalan 8 rat da 56.

günde sakrifiye edilmiştir. Elde edilen nünunelerin histopatolojik, immünohistokimyasal ve radyolojik(DEXA) analizleri yapılmıştır.

Yapılan histopatolojik analiz sonucunda; 28. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta osteoblastik aktivite kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 28. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan gruplarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemaraji kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). 28. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Yapılan histopatolojik analiz sonucunda; 56. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta osteoblastik aktivite kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 56. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemaraji kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır( $p<0,05$ ). 56. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Yapılan histopatolojik analiz sonucunda; 28. günde diyabetik ratlar gruplar arası karşılaştırılmasında  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta osteoblastik aktivite kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 28. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemaraji kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır( $p<0,05$ ). 28. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Yapılan histopatolojik analiz sonucunda; 56. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta osteoblastik aktivite kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 56. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemaraji de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). 56. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) uygulanan grupta yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Yapılan biyokimyasal analizde, western blotting bulgularında nondiyabetik ratlarda 28. günde osteonektin ve osteopontin ekspresyonu  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP + ABS grubunda anlamlı derecede artmıştır. Diyabetik ratlarda ise; osteonektin ekspresyonu 28. ve 56. günde  $\beta$ -TCP + ABS grubunda ve osteopontin ekspresyonu 28. günde  $\beta$ -TCP + ABS grubunda anlamlı derecede artmıştır.

Yapılan radyolojik analizde, 28. günde nondiyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP ve ( $\beta$ -TCP + ABS) gruplarında KMM değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur( $p<0,05$ ). 28. ve 56. günde nondiyabetik ratlarda ise KMY değerleri istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır( $p>0,05$ ). 28. günde diyabetik ratlarda  $\beta$ -TCP, ABS ve ( $\beta$ -TCP + ABS) gruplarında KMM değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur( $p<0,05$ ). 28. ve 56. günde diyabetik ratlarda ise KMY değerleri istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır( $p>0,05$ ).

Sonuç olarak, ABS'nin hem diyabetik hem nondiyabetik gruplarda yara iyileşmesinde ve yeni kemik oluşumunda olumlu etkileri olmasına rağmen tam bir kemik rejenerasyonunun istendiği durumlarda mutlaka bir kemik grefti ile birlikte kullanımının daha başarılı sonuçlar oluşturulacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Ankaferd blood stopper, Kemik iyileşmesi, Alloplastik greft, Dual Enerji X-Ray Absorpsiyometri.

# **THE EFFECT OF APPLICATION OF COMBINED ALLOPLASTIC DERIVED TRICALCIUM PHOSPHATE BONE GRAFT BONE GRAFT AND HAEMOSTATIC PLANT EXTRACT (ABS) ON BONE REGENERATION DIABETIC AND NONDIABETIC RATS WITH SURGICALLY CREATED BONE DEFECTS**

## **ABSTRACT**

Resorption in the alveolar bones supporting the natural teeth and inflammation in the tissue in the development of periodontal disease may result in changes in bone morphology. For this reason, the deformities from the bifurcation must be repaired with bone grafts. For this purpose, it is aimed to accelerate osteogenesis using different methods besides applying different graft materials.

Despite the presence of microbial dental plaque as the primary agent in periodontal disease, it has been accepted that existing systemic diseases in individuals increase the risk of periodontal disease by affecting the severity and prognosis of the disease. Among these systemic diseases, diabetes mellitus (DM) is the most common in the society.

In our study, it was aimed to evaluate the histopathologic and immunohistochemical evaluation of late effects of bone regeneration in nondiabetic and diabetic rats using ABS and  $\beta$ -TCP, which are active in bone wound healing.

In our study, 128 Wistar Albino male rats were used. A bone defect of 7 mm in diameter was formed in the calvarial of the rats. The rats were divided into two main groups as diabetic and nondiabetic. These two groups are divided into 4 different subgroups. The nondiabetic group 1a was left empty and the mixture of group 1b, 0.125 cc  $\beta$ -TCP graft, group 1c, 0.125 cc ABS, group 1d, 0.125 cc ( $\beta$ -TCP + ABS) was applied. The diabetic group 2a was left empty and the mixture of group 2b, 0.125 cc  $\beta$ -TCP graft, group 2c, 0.125 cc ABS, group 2d, 0.125 cc ( $\beta$ -TCP + ABS) was applied. 8 rats from each group were sacrificed on day 28 and the remaining 8 rats were sacrificed on day 56. Histopathological, immunohistochemical and radiological (DEXA) analyzes of the obtained samples were performed.

As a result of histopathological analysis; On the 28th day, in the level of osteoblastic activity of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant increase compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th day, in the level of inflammatory cell infiltration of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant decrease compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th day, in the level vascular dilatation and hemorrhagic of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant decrease compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th day, in the level of the new bone formation of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant increase compared to control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ).

As a result of histopathological analysis; On the 56th day, in the level of osteoblastic activity of  $\beta$ -TCP and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant difference compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On day 56, in the level of inflammatory cell infiltration and vascular dilatation and hemorrhage of  $\beta$ -TCP and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant decrease compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 56th day, in the level of the new bone formation of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant difference increase in the group compared to the control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ).

As a result of histopathological analysis; On the 28th day, in the level of osteoblastic activity of  $\beta$ -TCP and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant difference compared to the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th day, in the level of inflammatory cell infiltration and vascular dilatation and hemorrhage of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) were a statistically significant decrease compared to the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th day, in the level of the new bone formation of  $\beta$ -TCP and  $\beta$ -TCP + ABS were significantly higher than the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ).

As a result of histopathological analysis; On the 56th day, in the level of osteoblastic activity of  $\beta$ -TCP, ABS and  $\beta$ -TCP + ABS were significantly higher than the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ). On day 56, in the level of

inflammatory cell infiltration and vascular dilatation and hemorrhage of  $\beta$ -TCP and ( $\beta$ -TCP + ABS) groups were a statistically significant decrease compared to the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 56th day, in the level of the new bone formation of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) groups were a statistically significant difference compared to the control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ).

In the biochemical analysis, On the 28th day, western blotting showed a significant increase in osteonectin and osteopontin expression of  $\beta$ -TCP and  $\beta$ -TCP + ABS groups in nondiabetic rats. In diabetic rats; Osteonectin expression was increased in the  $\beta$ -TCP + ABS group on 28th and 56th day and osteopontin expression was significantly increased in the  $\beta$ -TCP + ABS group on 28th day.

On the radiological analysis, on the 28th day, KMM values of  $\beta$ -TCP and ( $\beta$ -TCP + ABS) groups were found to be significantly higher than control group in nondiabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th and 56th days, On the 28th and 56th days, there was no statistically significant difference between KMY values in nondiabetic rats ( $p > 0,05$ ). On the 28th day, KMM values of  $\beta$ -TCP, ABS and ( $\beta$ -TCP + ABS) groups were found to be statistically significantly higher than control group in diabetic rats ( $p < 0,05$ ). On the 28th and 56th days, there was no statistically significant difference between KMY values in diabetic rats ( $p > 0,05$ ).

As a result, we believe that the use of ABS together with a bone graft will lead to more successful results in cases where full bone regeneration is desired despite the positive effects of wound healing and new bone formation in both diabetic and nondiabetic groups.

**Key words:** Ankaferd blood stopper, Bone healing, Alloplastic graft, Dual Energy X-ray Absorptiometry

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontal hastalık; periodonsiyumu oluşturan dokuların bakteriyel kronik iltihabı ile gelişen, periodontal doku ve kemik kaybı ile karakterize olan enfeksiyöz bir hastalıktır. Periodontal hastalığın etyolojik faktörü mikrobiyal dental plak ve ağız boşluğunda bulunan patojen bakterilerdir. Bakteriler periodontal hastalığın oluşmasından tek başına sorumlu değildir. Periodontal hastalığın gelişiminde dokuda oluşan inflamasyonun, kemik morfolojisinde meydana getirdiği değişiklikler sonucunda kemik dokusunda bozulmalar gerçekleşebilir(1).

Bununla birlikte; periodontal defektlerde, diş çekimi, travma ve kistlere bağlı oluşan deformitelerin giderilmesinde çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır. Kemik greftleme işlemlerindeki amaç kemik hacminde artış sağlamaktır. Bu uygulamalarda istenilen başarıyı sağlamak için deneysel ve klinik çalışmalar halen yapılmaktadır. Fakat bu çalışmalara rağmen kaybedilen dokuların tekrar eski haline dönmesini ve kemik defektlerinin tamamen dolmasını sağlayacak ideal özellikte bir greft materyalli henüz bulunmamıştır(2). Çalışmalar; kemiğin yapısı, kemik greft materyallerinin tipleri, kemik metabolizmasına etki eden etkenler üzerine odaklanmış ve kemik rejenerasyonunu hızlandırmayı hedeflemiştir(2).

Travma, patolojik ve konjenital anomalilerin olup olmaması defektlerin rejenerasyonu için tedavi sürecinde çok önemlidir. Dejeneratif, enflamatuvar, enfeksiyöz ve neoplastik kaynaklı deformitelerin restorasyonu için çeşitli biyomateryal greft maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde bu amaçla otojenik, allojenik ve alloplastik kemik greftleri kullanılmaktadır(2,3). Kemik greftlerinin büyük kemik defektlerindeki hızlı ve öngörülebilir rejenerasyon kapasitesi sınırlıdır. Bunun nedeni kemik greftlerinde kemiğin yerine geçmesini modifiye ederek kemik oluşumunu sağlayan biyolojik aktif moleküller, kemik morfogenetik proteinleri(BMP) ve diğer büyüme faktörlerinin yeterince olmamasıdır(4,5).

Otojen greft materyallerinin başlıca avantajı, yapısında taze osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona neden olmaması olarak gösterilmektedir. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç duyulması, uzun



sürekli ağrı ve hareket kısıtlılığı görülmesi ve bakım süresinin uzun olması bu greft tipinin dezavantajıdır(6).

Sentetik alloplast olan beta trikalsiyum fosfat ( $\beta$ - TCP); osteokondüktif, biyoaktif özelliği olan, güvenli ve biyouyumlu bir greft materyalidir.  $\beta$ - TCP kısmen rezorbe olan, kemiğe mekanik tutunan ve greft ile kemiğin yer değiştirmesini sağlayan biyolojik doldurucu olarak rol alır. Ancak uygun olmayan porözitesi, küçük grenli olması ve 6 hafta gibi bir zaman diliminde çözünmesi gibi nedenlerden dolayı zayıf bir kemik greftidir(7).

Toplumun her kesimini değişik oranlarda etkileyebilen periodontal hastalıklarda asıl etyolojik ajan olan dental plağın yanı sıra yaş, cinsiyet, etnik köken ve genetik gibi değiştirilemeyen risk faktörleri ile çevresel faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir. Periodontoloji alanında yapılan epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın sıklığı ve oranı hakkında bilgi sağlamak ve ayrıca hastalık için farklı risk belirleyicilerini ortaya koymaktadır. Son yıllarda yapılan kesitsel, vaka-kontrol ve kohort çalışmalarda periodontitisin, pek çok sistemik durumla ilişkili, artmış morbidite ve mortalite için potansiyel risk faktörü olduğuna ve aynı zamanda sistemik durumların da periodontal hastalıkların seyrini ve şiddetini etkileyebileceğine işaret edilmektedir(8).

Periodontal hastalıklarda birincil etken mikrobiyal dental plak olmasına rağmen bireylerdeki mevcut sistemik hastalıkların, hastalığın şiddetini ve prognozunu etkileyerek periodontal hastalık riskini arttırdığı kabul edilmiştir. Bu sistemik hastalıklardan toplumda en yaygın olanı diabetes mellitus(DM)'tur(9).

Hem insan hem de hayvan çalışmalarında DM kemik özelliklerini değiştirdiği ve kırık iyileşmelerinde olumsuz etkilere sahip olduğu bildirilmiştir(10). Diyabet osteoblastik aktiviteyi ve kemik mineralizasyonunu azaltır. Ayrıca diyabetin mikrovasküler komplikasyonları ve bu nedenle kan akışının azalması kemik kırılabilirliğini arttırmaktadır(11).

Ankaferd Blood Stopper®(ABS)(Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş., İstanbul, Türkiye); Glycrrhiza Glabra (Meyan), Vitis Vinifera (Asma), Alphina Officinarum'un (Havlıcan) kurutulmuş yaprak ekstreleri, Urtica Dioica' nın (Isırgan)

kurutulmuş kök ekstresi, Thymus Vulgaris'in (Kekik) ise kurutulmuş ot ekstralarını içeren, Türk tıbbında kanama durdurucu ajan olarak kullanılan ilk bitki ekstratıdır (12).

ABS eritrosit agregasyonunu destekleyen bir protein ağı üretir. Ayrıca ABS' nin erken kemik iyileşmesi üzerine yararlı etkisi olduğu rapor edilmiştir(13). İkinci bir özellik olarak ABS' nin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisi olduğu bildirilmiştir. Kemik üzerine geç dönemde etkisi kesin olarak belirlenmemiştir(14).

ABS' nin geç dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan hareketle, tez çalışmamızda bir alloplast greft materyalli olan sentetik beta trikalsiyum fosfat( $\beta$ -TCP) ve kanama durdurucu ajan olarak bilinen ABS' nin kombine kullanımının kemik rejenerasyonuna etkisini histolojik, immunohistokimyasal ve western blot yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık, etyolojisinde lokal faktörler, konak cevabı, çevresel faktörler, genetik eğilimler ve alınan ilaç tedavilerin önemli rol oynadığı, karmaşık bir patogeneze sahip olan, periodontal doku ve kemik kaybı ile karakterize olan enfeksiyöz ‘eko-genetik’ bir hastalıktır(15). Periodontal hastalık klasik bir enfeksiyon hastalığından farklı olarak fırsatçı bir enfeksiyon hastalığıdır. Ağız boşluğunda periodontal mikrobiyal çevrede sürekli var olan bakterileri yok etmek mümkün değildir. Periodontal hastalığın meydana gelmesinde her ne kadar mikrobiyal dental plağın varlığı gerekli olsa da hastalığın şiddeti ve ilerleme şekli tek başına var olan mikrobiyal dental plağın miktarı ile ilişkilendirilemez. Konağın bu patojenlere vermiş olduğu doku cevabı periodontal hastalıkta bağ dokusu yıkımı ve kemik kaybından asıl sorumludur(1).

Periodontal hastalık patogenezi, sağlıklı periodontal dokudan periodontal cep oluşumuna, dişeti ve periodontal bağ dokusunda ataçman kaybına ve alveolar kemiğin rezorbsiyonuna kadar ilerleyen olaylar dizisidir. Periodontal hastalıklar dişeti bağ dokusuna penetre olan mikroorganizmalar tarafından meydana gelen enfeksiyonlardır. Ayrıca periodontal hastalığın bazı formlarında periodontal dokuların derinliklerine yayılan bakteriler olduğu bildirilmiştir. Dental plak bakterileri gingival sulkusun girişinde çoğalarak subgival bölgenin periodontal patojenlerce kolonize olma safhasını başlatırlar. Bu süreçten sonra bağ dokusu ve kemik ataçmanının kaybına ve periodontal ceplerin oluşmasına neden olurlar(16).

Ataçman kaybı periodontal hastalığın pasif olduğu dönemlerde yavaş gelişirken, hastalığın aktif dönemlerinde ataçman kaybı kısa sürede hızlı ilerlemektedir. Bu durum klinikte, periodontal hastalarda ve aynı hastanın farklı bölgelerinde veya değişik zamanlarda farklı klinik seyir gösterebileceği görülmüştür. Hangi bireylerde daha şiddetli klinik tablo gelişeceğini, şimdilik bilinen tekniklerle önceden tahmin etmek mümkün değildir. Periodontal dokulardaki yıkım, cep derinliği, ataçman kaybının ölçülmesi ve radyolojik olarak alveolar kemik kaybının

belirlenmesi ile değerlendirilmektedir. Günümüzde periodontal hastalık aktivitesini belirleyen en güvenilir klinik parametre sondlamada kanamadır. Sondlamada kanamanın olmaması, periodontal hastalığın pasif olduğunun güçlü bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Sondalamada kanamanın varlığı, aktif doku yıkımının devam ettiğinin göstergesidir(17).

Periodontoloji alanında bugüne kadar yapılmış çalışmalarda belirlenen Periodontal hastalıkta risk faktörleri; değiştirilemeyen risk faktörleri(yaş, cinsiyet, etnik köken ve gen polimorfizmi) ve çevresel, kazanılmış ve davranışsal risk faktörleri(sosyoekonomik durum, spesifik mikroorganizmalar, sigara, diyabet, osteoponi, HIV enfeksiyonu ve psikolojik rahatsızlıklar)'dır. Risk faktörü belirli bir zaman diliminde etki etmiş olabilir, dönemsel veya devamlı olabilir. Risk faktörünün uzaklaştırması veya etkisinin azaltılması, kişinin hasta olma riskini azalmasına neden olur. Risk faktörü periodontal hastalığın sıklığını ve şiddetini arttırmaktadır. Özet olarak, spesifik mikroorganizmaların düzeyinin yüksek olması, sigara kullanımı ve kontrolsüz diyabet periodontal hastalıklar için temel risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Diğer risk faktörlerinin periodontal hastalığa olan etkilerinin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bilgiler, toplumda koruyucu ve tedavi stratejilerinin geliştirmesinde olumlu katkısı olacaktır(8,18).

## **2.2. Periodontal Dokularda Kemik Dokusunun Yıkımı**

Konağın immün sistemi dental plak patojenleri yok edip periodontal dokuları korumak üzere işlev görmektedir; ancak periodontal dokulardaki enflamatuar olayların önleyememesi sonucu düzensiz immün cevaplar enflamatuar sitokinlerin ve doku kökenli enzimlerin aşırı salgılanmasına neden olur. İlerleyen aşamalarda enflamasyonun periodontal ligamente ve dişleri destekleyen alveolar kemiğine doğru yayılmasıyla birlikte alveolar kemikte rezorbsiyonu meydana gelir. Periodontal hastalıklarda alveolar kemiğin yımından doku kökenli enzimler, çeşitli sitokinler ve diğer mediyatörler sorumludur(1). Periodontal hastalık sonucu oluşan alveolar kemik kaybı sonucunda farklı tipte kemik defektleri oluşmaktadır. Periodontal kemik

defektlerini belirlemek için radyolojik tetkikler yapmak gerekir; ancak dikkatli periodontal sondalama ve flap operasyonu ile bölgenin açılarak gerçek şekil ve boyutları görülebilir. Klinik parametrelere göre komşu dişle arasındaki mesafe, alveolar kemiğin morfolojisi ve niteliği, kök yüzeyindeki konkavite, fissürler alveolar kemiğin şeklini etkileyebilir(19).

Periodontitislerde vertikal ve horizontal olmak üzere iki tip kemik kayıpları görülmektedir. Horizontal kemik kayıpları en yaygın görülen kemik kayıp tipidir. Ayrıca marjinal kemik düzeyinin altına inen defektler intrabony ve infrabony terimleriyle açıklanmaktadır. İnfrabony defektler vertikal defektler ve intrabony defektler ise, spesifik üç duvarlı kolayca rejenere olabilen defektler olarak adlandırılmaktadır. Kemik içi defektler duvar sayısına göre bir, iki, üç duvarlı kemik defekti olarak sınıflandırılmaktadır; ancak kemik içi defektlerde genellikle kompleks bir anatomi görülmektedir(20).

### **2. 3. Kemik**

Kemik özelleşmiş bir bağ dokusu çeşidi ve biyolojik organizmanın en önemli yapıtaşını oluşturur. Kemik vücudu çepeçevre destekleyen oldukça spesifik olan rijidite, sertlik, onarım ve rejenerasyonla karakterize bir dokudur(21). Kemik dokusu organik ve inorganik kısımlardan oluşmaktadır. Organik kısımda, kollajen lifleri(Tip I), glikozaminoglikanlar, proteinler( osteopontin, osteonektin, osteokalsin ve kemik sialoprotein), amorf madde ve çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler bulunmaktadır. İnorganik kısımda ise, hidroksiapatit kristal tuzları( kalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, magnezyum fosfat ve kalsiyum florür) bulunmaktadır. Kemik; mekanik, beslenme ve hormonal etkilere tepki olarak sürekli yenilenen bir dokudur. Buna ek olarak, kalsiyum ve fosfat gibi iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için bu iyonların depolanmasını sağlar(22).

Kemik dokusu; preosteoblast hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik örtü hücrelerden oluşmaktadır. Preosteoblast hücreler, birçok serbest ribozom birleşimine, sadece birkaç endoplazmik retikuluma ve inaktif morfolojik

fibroblast görünümüne sahiptir. Preosteoblastlar farklılaşma sırasında, komşu preosteoblastlarla veya daha önceden farklılaşmış osteoblastlarla iletişime geçerek stoplazmik polariteyi geliştirir, endoplazmik retikulumun ve golgi cisimciğinin miktarını arttırmasını sağlarlar. Osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelerden oluşurlar ve kemik yüzeylerinde yeni kemik matriksinin sentezinden sorumludur. Osteoblastlar kemik içinde matriks tarafından sıkıştırılınca osteosit adını alırlar. Osteoblastlar diğer osteoblastlarla iletişimi sağlayan stoplazmik uzantılara sahiptir(23).

Osteoklastlar, kemik rezorbsiyon yeteneğine sahip olduğu bilinen hücrelerdir. Büyük ve çok çekirdekli olan osteoklastlar monosit makrofaj birleşimi ile oluşan mononükleer öncü hücrelerden elde edilir. Kemik matriksinin rezorbsiyonu için asit, kollajenaz ve bazı proteolitik enzimler salgırlarlar(24). Osteositler, osteoblastlardan köken alan kemik lamelleri arasındaki lakünelara yerleşmişlerdir. Osteositler normalde alkalın fosfataz salgılamazlar; ama osteokalsin, galektin 3, hiyalüronatın hücre adezyon reseptörü yanı sıra çok sayıda diğer kemik matris proteinleri salgırlar. Osteositler, hücreler arası adezyonu sağlayan çeşitli matriks proteinleri salgırlar ve lakünelar içindeki kemik sıvısı ile kanaliküler ağı arasındaki mineral değişimini düzenler. Osteositler lizozomal enzimlere sahip olduğundan osteoliz sırasında aktif olarak işlev görebilir(24). Kemik örtü hücreleri, düz sitoplazmik uzantılarıyla kemik yüzeyini örten hücrelerdir. Toplam olarak kemik yüzeyinin % 80'ni kemik örtü hücreleri tarafından oluşturulmaktadır. Kemik örtü hücrelerin birleşmesi, bölünmesi ve osteoblastlara dönüştürülmesi timidin tarafından stimule edilmektedir. Kemik örtü hücrelerinin osteoprogenitör kapasitesi, artmış stress ve bir kırık kemik kallusun onarımı sırasında önemli rol oynar(22,17).

Kemik yapısal olarak dış kısmında kortikal(kompakt) kemik ve iç kısmında trabeküler(spongioz) kemikten oluşur. Yetişkin insan iskeletinin % 80'i kortikal ve %20'si trabeküler kemikten oluşmaktadır. Kortikal kemik yoğun ve katı haldedir; buna karşın trabeküler kemik, kemik iliği bölgesinde plakalar ve dallar şeklini almış bir bal peteği görünümündedir. Hem kortikal hem de trabeküler kemikte osteonlar mevcuttur(24). Kortikal osteonlar havers sistemleri olarak adlandırılır. Havers sistemleri, silindir şeklinde olan ve yaklaşık 400 mm uzunluğunda ve 200

mm genişliğinde ve kortikal kemik içinde ağ biçiminde dallanma gösterirler. Havers duvar sistemleri merkezi bir kanal etrafında oluşur. Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden volkmann kanallarına sahiptir ve bu kanallar içinde kan damarları, sinirler, lenf damarları ve gevşek bağ dokusunu içerir. Volkmann kanalları, kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim sağlamaktadır. Havers kanalları çevresinde osteoblastlar tarafından yapılan lameller bulunmaktadır. Bu lamellerde kollajen lifler mevcuttur ve içlerinde küçük lakünalar bulunur. Her havers sisteminin çevresini birkaç kollajen lif ve mineralize amorf matriksten oluşan bir madde tarafından çevreler(22,26).

Trabeküler osteonlar ise paketler olarak adlandırılır ve trabeküler kemik ortalama 50 mm ile 400 mm kalınlığında levhalar ve dallardan oluşmaktadır. Trabeküler osteonlar yarım ay şeklinde, normal olarak yaklaşık 35 mm kalınlığında konsantrik lamellerden oluşmaktadır. Trabeküler kemik süngerimsi görünümündedir. Ayrıca bu yapı kemiğin dayanıklı olmasına ek olarak hafif olmasını sağlamaktadır. Trabeküler kemik aynı zamanda yoğunluğu düşük ve kanlanması en fazla olan kemik türüdür. Bu da kemikte oluşan yaraların erken iyileşmesini sağlamaktadır( 22,26).

Normal olarak kemik rezorbsiyonu ve kemik oluşumu koordineli bir şekilde düzenli bir döngüde gerçekleşir. Kemikteki yapım ve yıkım olaylarında osteoklastlar ve osteoblastların aktivasyonu etkilidir. Kemikte sürekli olarak yeni kemik oluşumu ve eski kemiğin yıkımını sağlayan mekanizmalar, hasar görmüş kemik dokusunun onarımını ve fosfat-kalsiyum metabolizmasının hemostazisini düzenleyerek kemik dokusunun dinamik bir doku olmasını sağlar(27).

Kemiğin yeniden şekillenmesi sırasında; travma ve cerrahi girişimlere bağlı olarak gelişen nekroz gibi durumlarda ilk olarak kan akımı artar. Kırık hattında hızlı bir şekilde olgunlaşmamış osteojenik hücrelerin sayısı artar ve preosteoklastlar osteoklastlara farklılaşarak kemik yıkımını gerçekleştirirler. Daha sonra osteojenik hücrelerden osteoblastların üretimi gerçekleşir. Osteoblastlar, yeni oluşan rezorbsiyon alanlarını lameller kemik yapımıyla doldururlar(28). Kemikteki yapım ve yıkım dengesinin bozulması birçok sistemik hastalığın oluşmasına neden

olmaktadır. Osteoklastik aktivitenin artması osteoporoz gibi hastalıklara neden olurken, osteoblastik aktivitenin artması ise kemik büyümesi ve buna benzer birçok patolojik rahatsızlıklara yol açar(29).

### **2.3.1. Kemik iyileşmesi aşamaları**

Kemik iyileşmesi; kemiğin sistematik, fizyolojik, biyokimyasal, hücrel olarak bozulan bütünlüğünün yeniden sağlanmasıdır. Kemik dokusunda skar oluşmaz(30). Kemik iyileşmesindeki amaç doku hasarını en aza indirmektir. Kemik dokusunun iyileşmesi, yeniden şekillenme şeklinde olmakta ve nekroz olmuş veya hasar görmüş hücrelerin rejenerasyonu ya da replasmanı ile meydana gelmektedir. Kemik iyileşmesi 4 önemli safhadan oluşur.

#### **2.3.1.1. İnflamatuar Safha**

Travma ile birlikte dokuya gelen kuvvet sonucunda periost ve çevre yumuşak dokularda yırtılma ve damarlarda hasar meydana gelir. Kırık hattında hasar gören kan ve lenf damarlarında sıvı birikimi görülür. Kanın pıhtılaşması ile hematom oluşur. Hematom oluşumu sonucunda ortamdaki trombositlerden ve bazı hücrelerden büyüme faktörleri, sitokinler ve çeşitli proteinler salınır(31).

Kırık bölgesinde kılcal damar geçirgenliğine bağlı olarak 24 saat içinde ödem oluşur. Ödemli bölgeye polimorf çekirdekli lökositler(PMNL), lenfositler, monositler ve akut enflamatuar hücreler göç ederler. Nötrofil göçü 3. ve 4. günde en yüksek seviyeye ulaşır. 5. günde makrofajların sayısı artar ve rejenerasyon boyunca ortamda bulunurlar(32).

Yara bölgesinde hematom 48 saat içinde organize olur ve içindeki kas ve kemik parçalarından fibröz bir yapı oluşur. Fibrin liflerinden kemik yapımı için hücre proliferasyonu gerçekleşir(30).



### 2.3.1.2. Granülasyon Dokusu Safhası

İnflamatuvar safhanın sonlarına doğru yabancı maddelerin beyaz kan hücreleri tarafından uzaklaştırılması sonucu yara iyileşmesinin diğer safhaları başlar. Bu evrede makrofajlar tarafından salgılanan ve fibroblastlar için kemoatraktan olan TGF- $\beta$  (Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta)' nin etkisiyle fibroblastlar yara bölgesine göç ederler. Osteojenik hücreler ve fibrin matriksindeki fibroblastların farklılaşmasıyla granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar ve diğer mezenkimal hücrelerden kollajen, glikozaminoglikan, mukoproteinler ve proteoglikanlar sentezlenir(30).

Kırık bölgesinde kan damarları 2-3 günde oluşmaya başlar ve bir hafta sonra belirginleşir. Kan damarlarının gelişimi yavaş olduğundan ve kemiğe yakın kısımlarda beslenme daha iyi olduğundan, kemiğe yakın hücreler osteoblastlara farklılaşırlar. Kan damarlarının gelişim hızı osteojenik hücrelerin çoğalma hızına yetişemediğinden buradaki hücreler kondroblastlara dönüşerek kırık dokuyu oluştururlar. Osteoblastlar kanlanmanın yeterli olduğu alanlarda trabeküler oluşturmaya başlar. Yumuşak kallus, ilk 7-12 günde fibröz doku ve kırıkdaktan oluşur(31,33).

### 2.3.1.3. Kallus safhası

Kallus dokusunun gelişimi için kan damarlarının gelişimi ve osteoidin kalsifikasyonu gereklidir. Bu safhada osteoid ve kondrosit matriksinin mineralizasyonu gerçekleşir. Osteoidin mineralizasyonu için osteoblastlar tarafından oluşturulan tropokollajenin hücre içinde hareket etmesiyle kollajen lifleri oluşur. Bu kollajen lifler arasındaki boşluklara kalsiyum(Ca) ve fosfat(P) iyonlarının çökmesiyle kalsiyum hidroksiapatit kristalleri oluşur. Kırık bölgesinde kemik miktarı birikerek fusiform bir kallus kitlesi meydana gelir.

Kırık dokusu kondrositlere dönüştüğü zaman alkalin fosfataz salgılanır. Kondrositler kırık dokusu matriks vezikülleri oluştururlar ve kırık dokusu matriks kalsifiye

olur. Kalsifiye doku içindeki kondrositler beslenmediğinden ölürlere ve buldukları alanlarda lakünalar oluşur ve bu lakünalar kan damarı ve kemik hücreleri girerler. Trabeküler kemik içinde kırıldak artıkları görülebilir(31,34).

Kallus oluşumu 4-16 hafta arasında oluşur. Kallus yetişkinlerde, çocuklara göre daha yavaş gelişir; kompakt kemik ise, trabeküler kemiğe nazaran yetişkinlerde daha yavaş gelişir. Kallus oluşumu ile kemikte kaynama gerçekleşir; ancak kaynama henüz tamamlanmamıştır(31).

#### **2.3.1.4. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi (Remodeling) Safhası**

Kemiğin yeniden şekillenmesi safhası uzun süren bir evre olup, bu safhada düzensiz sert kallusun normale yakın düzenli lameller kemiğe dönüşümü gerçekleşir. Kemiğin şekillenmesi kemiğin gücünü ve mineral dengesini koruyarak yenilenen bir süreçtir. Eski kemiğin paket şeklindeki düzensiz kısımları uzaklaştırılır ve yeni sentezlenmiş proteinler bu paket kısımlarına yerleştirilir, daha sonra yeni kemik formunun mineralizasyonu başlar. Yeni oluşan kemikte mikro düzeyde oluşan zararları önlemek için eski kemiğin rezorbsiyonu ve yeni kemik oluşumu ölünceye kadar devam eder(24,30).

Hücreden zengin ve düzenli olmayan örgü kemiği zamanla lameller kemiğe dönüşür. Lameller kemik kas kuvveti ve mekanik streslere bağlı olarak düzenli osteonlardan oluşur. İlik kanalı içindeki boşluklar, osteoklastlar tarafından yeniden şekillendirilir(30,32).

#### **2.3.2. Kritik Boyutlu Kemik Defekti**

Kritik boyutlu defekt, bir canlının yaşamı boyunca herhangi bir osteopromotif bir materyal kullanmadan spontan olarak kemik yapımı ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik yarası olarak tanımlanmaktadır. Bu tip kemik defektlerinde yara iyileşmesi fibröz bağ dokusu ile olmaktadır(35).

Kalvariyal kemikler genellikle çift, simetrik ve diğer kemiklerden biyolojik olarak daha dirençli bir yapı gösterirler. Bu özelliğinden dolayı kanlanması yetersiz ve az miktarda kemik iliğiyle ilişkilidir. Kalvaryum, anatomik olarak 2 kortikal tabaka içerir ve bu açıdan mandibulaya benzerlik gösterir. Bunun yanı sıra fizyolojik olarak da kalvariya atrofik bir mandibulaya benzerlik gösterir. Deney hayvanlarında kalvariyal defektlerin rejeneratif kapasitelerinin insanlardakinden daha iyi olduğu rapor edilmiştir(35). Kullanılan deney hayvanlarının yaşlarının küçük olması ve vücut metabolizmasının insanlara göre daha hızlı olması rejeneratif kapasitesinin daha iyi olmasını sağlamaktadır. Ayrıca hayvanlarda kalvariyal kemiklerin kanlanması farklı bir yapı göstermektedir (35).

Farklı kaynaklarda farklı rakamlar verilse de, kalvariyal defeklerde kritik boyutlu kemik defekti ratlarda 8 mm, tavşanlarda 15 mm, köpek ve maymunlarda 20 mm olarak genel geçerlilik kazanmıştır. Ancak kritik boyutlu kemik defektlerinde yaş ve hayvan türü iyileşmeye etki eden faktörlerden en önemlisi olarak görülmektedir(35).

### **2.3.3. Kemik Greftleri**

Greft terimi, canlı dokunun transplantasyonu ve organların kazanılmış veya konjenital defektlerinin rekonstrüksiyonunda yer tutucu özelliğın yanı sıra, kemik yapımını uyaran tüm materyaller için kullanılır (36). Rekonstrüksiyonda başarılı sonuçlara ulaşmak için alıcı yataktaki kan akımı ve fibroblastik hücrelerin yanı sıra transplante edilen kemiğın osteojenik kalitesi de önemlidir. Kritik boyutlu kemik defektlerinde iyileşme kendiliğinden olmadığı için en ideal yöntem antijenik özellikleri benzer olan başka bir kemik dokusu ile doldurulmasıdır(37).

Oral ve maksillofasiyal cerrahi uygulamalarında en çok kullanılan biyomateryal kemiktir. Kemik dokusu, tamir olayında skar dokusu oluşturmaz yeniden şekillenme ve yer değıştirme olaylarında yer alan tek dokudur.

Kemk greftleri 4 gruba ayrılır:

### **2.3.3.1. Otojen Greftler(Otogreft):**

Otojen greftlerde bazı hücreler canlılığını koruyabilirler ve özellikle osteojenik ve osteokondüktif özellikleri yoluyla kemik iyileşmesini sağladığı kabul edilir. Otojen greftleri osteojenik özelliğinden dolayı altın standart olarak kabul edilir ve zamanla osteojenik etkisi azalır, osteoindüktif ve osteokondüktif etkisi devam eder. Bu greftler yavaş yavaş rezorbe olur ve yerine yeni canlı kemik alır. Ayrıca potansiyel sorunlar olan doku uyumsuzluğu ve hastalık bulaşması bu greft türlerinde görülmez. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona gerek duyulması, uzun süreli operasyon sonrası ağrı ve hareket kısıtlılığı görülmesi ve bakım süresinin uzaması bu greftlerin dezavantajlarıdır(29).

Kortikal yapıdaki kemik greftleri, dayanıklı sert bir yapı oluştururken, osteogenezisi artırıcı etkisi yoktur. Kansellöz yapıdaki kemik grefti ise belirgin bir şekilde osteogenezisi artırma yeteneğine sahiptir. Ancak mekanik olarak sağlamlık sağlayamamaları bilinen tek dezavantajıdır(2,29). Kortikokansellöz kemik greftlerinin günümüzde popülaritesi artmıştır. Bu greft hem kortikal hem de kansellöz kemiklerin özelliklerine sahiptir. Kortikokansellöz kemik kansellöz kemik kadar osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir; çünkü daha nonporöz bir yapısı olan kortikal tabakasına sahiptir. Ancak mekanik sağlamlık ve form kazandırması bir avantaj olarak görülmektedir(2). Bu greftler ağız içi ve ağız dışı alanlardan elde edilirler.

#### **2.3.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları**

Ağız içi kemik kaynakları üst çene tüber bölgesi, dişsiz bölgeler, ekzositozlar, iyileşmekte olan çekim yaraları, ramus mandibula, kökler arası alveol kemiği, alt çene simfiz bölgesi ve operasyon esnasında çıkan kemik parçalarıdır(2,38). Ağız içi kemik greftleri diğer kemik onarım yöntemleriyle karşılaştırıldığında, daha kısa sürede iyileşme ve iyi bir kemik kalitesiyle neticelenir. Ağız içi operasyonlarda sınırlı miktarda kemik grefti gerektiğinde, alınmasının kolay olması önemli bir avantajıdır.

Büyük defektler için yeteri kadar elde edilememesi, taşınmasının zor olması, bakteriyel kontaminasyon riski, ikinci bir cerrahi operasyona gerek duyulması, verici bölgenin enfeksiyon riski, sınırlı miktarda greft alınması, dişlere yakın bölgelerden alınması diş köklerine zarar verebilmesi ve çene ucu greft alımında duyuusal sinirlere hasar verilmesi gibi dezavantajlara sahiptir. Periodontal rejenerasyon tedavisinde intraoral kaynaklı otogreftler kemik yapma potansiyeli yüksek hücreler barındırdığından en çok tercih edilen greftlerdir.

#### **2.3.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları**

Daha büyük defektlerde yeterli miktarda greft elde etmek için insan vücudundan iliak kemik, kalvaryum, tibia, kostalar, fibula ve diğer endokondral kemikler kullanılabilir(38). İntramembranöz kaynaklı (kalvaryum kemik, mandibula) olan greftler, endokondral kaynaklı (iliak, kostalar) olan greftlerden daha önce damarlanırlar ve rezorbsiyonu ise daha geç olur; çünkü intramembranöz tipteki kemik greftlerinin iyileşmesi direkt olarak kemik dolumu ile olurken, endokondral tipteki kemik greftlerindeki iyileşme kartilaj oluşumu fazı aracılığıyla meydana gelir(39).

Ekstraoral kaynaklı kemik greftleri daha çok maksillofasial defektlerin tedavisi ile ileri derecede kemik kaybı meydana gelen maksilla ve mandibulada uygulanacak implant operasyonu öncesinde tercih edilebilir(20). En çok tercih edilen ağız dışı otojen kemik kaynakları kaburgalar ve iliak kemik bölgesidir.

#### **2.3.3.2. Allogreftler**

Otogreft elde etmek için mutlaka bir verici bölgeye ihtiyaç duyulduğundan ikinci bir yara bölgesi meydana gelmektedir. Bununla beraber benzer potansiyelde tamir yapan ve hastada ek bir cerrahi travma oluşturmayan başka bir greft türünün kullanılması hasta ve hekim için avantaj olacaktır.

Allogreft, kemik büyümelerini stimüle eden BMP'leri içerir. Bu proteinlerden günümüze kadar 13 tanesi tanımlanmıştır. Bu greftler osteoindüktif özelliğe sahiptir. Bu materyaller başlangıçta sinyal veren ve spesifik dokuların oluşumunu düzenleyen bir ajan gibi görev yaparak yeni kemik oluşumuna yardımcı olur. Bu etkileşimler mezenşimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasıyla neticelenen bir gelişim serisine öncülük eder(40). Allogreftler canlı kemik hücrelerini içermemesine rağmen sıklıkla kemiğin organik komponentlerinden olan tip I kollajen sağlarlar(41).

Allogreftler, genetik olarak farklı aynı canlı türünden elde edilen greft çeşididir. İnsanlardan ve kadavralardan alınan kemikler doku bankalarında saklandığından elde edilmeleri kolaydır. Donör sahanın eliminasyonu, anestezi ve operasyon süresinin kısalması, kan kaybının azalması ve komplikasyonların azlığı avantaj sağlar. Diğer taraftan başka bir insandan dokunun alınması dezavantajdır. Dejeneratif kemik hastalıkları, bakteriyel enfeksiyonlar, hepatit B ve C, AIDS gibi bulaşıcı hastalıkların transferini önlemek ve antijenik özelliklerini ortadan kaldırmak için dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiolojik yöntemler veya radyasyon gibi çeşitli özel işlemlerden geçirilirler(2,20,29). Üç tipte allogreft bulunmaktadır:

1. Dondurulmuş kemik (FB)
2. Dondurulmuş - kurutulmuş kemik (FDB)
3. Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik (DFDB)

Dondurulmuş kemik greftleri, verici dokudan ölümden sonraki ilk 12 saat içinde alındığı için antijenik reaksiyon oluşturma ve hastalık bulaştırma riskine sahiptir (42). Verici dokunun donma oranının kontrolü ve soğutma ajanlarına maruz bırakılması kontrollü bir şekilde gerçekleştirilir. Bunun için en sık kullanılan ajanlar gliserol ve dimetil sülfoksit'dir(2).

FDB, bu greftler -76 C°'de sıvı faz olmaksızın dondurulur ve kurutulur. Dondurmanın etkisiyle dokuda irreversibl doku hasarına neden olur. Ancak kolay nakil ve depolama uygulamaları için oda sıcaklığına döndürülür. Homojen FDB

allogreftler alveol defektleri ve kronik fistüllerin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılır ve hastalık bulaştırma riski düşüktür(1). FDB allogreftlerde kemik osteojenik indüksiyon kapasitesi yeterli olmadığından ve greft rezorbsiyonu sırasında kısmen fibröz doku ile yer değiştirdiği için greft alanında bir küçülme beklenilir. Bu küçülme en az % 50 civarında olmaktadır(29,43).

DFDB allogreftlerinde, kemikte var olan minerallerin uzaklaştırılmasıyla, kemik matriksinde var olan nonkollajen proteinler ve BMP'ler açığa çıkarılmaktadır. Bu özelliklerden dolayı osteoindüktif potansiyele sahiptir. DFDB allogreftleri daha çok oral ve maksillofasial cerrahide ve kuvvetin gelmediği küçük defekt alanlarında kullanımında başarı sağlanmaktadır. Ancak daha güçlü biyomateryallerle kombine kullanımı uygun bulunmaktadır(2).

Periodontal defektlerde DFDB'nin kullanılması ile önemli derecede sondalanabilen cep derinliğinde azalma, ataçman seviyesinde kazanç ve kemik rejenerasyonu sağladığı çalışmalarda gösterilmiştir(44).

### **2.3.3.3. Ksenogreftler(Heterogreftler)**

Farklı türde canlı dokulardan elde edilen greftlerdir. Bu greftler sıklıkla maksillofasial bölgede kullanılırlar. Daha çok çene kemiklerindeki küçük defektleri doldurmak için önerilmiştir. Birçok araştırmacı bu greftlerin herhangi bir osteojenik etki göstermediğini, fakat kemik oluşumunda matriks görevi yaptığını bildirmişler, çalışmalarda geç rezorbe olmasından dolayı iyileşme mekanizmasını yavaşlattığını ifade edilmişlerdir(29,45).

Günümüzde sığır kaynaklı ve doğal mercan kaynaklı 2 tip heterogreft mevcuttur. Bu greftler etilen diaminde 24 saat bekletilerek organik komponentleri uzaklaştırılır ve daha sonra kalsiyum matrikste sterilize edilerek greftin immünojenitesinin çoğunu kaybetmesi sağlanır. Bu greftlerin osteotomi alanlarında uygulamalarda başarılı sonuçlar verdiği, ancak posttravmatik deformiteler ve hypoplastik bölgelerdeki düzeltmelerde başarılı olmadığı bildirilmiştir(45).

Doğal mercan kemiğe benzer yapıda olması ve biyolojik olarak uyumlu olması nedeni ile ideal bir greft materyalidir. Doğal mercan greftlerde osteoklastik ve osteoblastik aktivite 8-24 hafta arasında gözlemlenir. Biocoral® doğal mercandan elde edilmiş pöröz, kalsiyum karbonat yapılı, biyoyumlu ve trabeküler kemiğe benzer yapıdadır(29,46).

Sığır kaynaklı ksenogreftler biyoyumlu, rezorbe olan ve osteokondüktif etki gösteren, proteinsiz kalsiyum apatit kristallerinden oluşur. Ancak bu greftlerin rezorbsiyon sürelerinin farklı olduğu ve rezorbsiyon çok yavaş meydana geldiğini belirtmişlerdir(47). Piyasalarda Bio-Oss® jenerik ismiyle satılmaktadır ve son zamanlarda önem kazanmıştır. Bio-Oss®'un periodontal defektlerde, sinüs ve implant çevresinde kullanımında önemli ölçüde yeni ataçman ve kemik rejenerasyonu sağladığı rapor edilmiştir(44).

#### **2.3.3.4. Alloplastlar**

Katı ya da kafes şeklindeki metaller, gözenekli polimerler, hidroksiapatitler(HA), kalsiyum trifosfat seramikleri ve diğer sentetik materyallerin kombinasyonundan oluşurlar. Bu biyomateryaller rezorbe olan veya rezorbe olmayan, mikropöröz veya pöröz olmayan yapıda olabilirler(29).

Alloplastlar kolay uygulanması, operasyon zamanının az olması, büyüklük ve form çeşitliliği ve verici bölgenin olmaması gibi avantajlara sahip olmasının yanı sıra yabancı cisim reaksiyonu, inflamasyon bölgesinde kemiğin rezorbe olma olasılığı, osteojenik ve osteoindüktif özelliğinin olmaması gibi dezavantajlara sahiptirler(2).

#### **2.3.3.5. Seramikler**

##### **2.3.3.5.1. Sentetik Hidroksiapatit**

Nonpöröz, pöröz, rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan gibi çeşitli tipleri vardır. Rezorbe olabilen HA farklı oral ve maksillofasial uygulamalarda



kullanılmaktadır. Subperiostal yerleştirilebilir ve defektlerin augmentasyonlarında, şekil bozukluklarında kullanılabilir. Gözenekli HA (dens HA) seramikler rezorbe olmadıklarından kalıcı kemik implantı olarak değerlendirilir. HA seramiklerin en önemli dezavantajları kolay kırılması ve düşük sıkıştırılma rezistansına sahip biyomateryaller olmalarıdır(2, 29).

Pöröz HA por büyüklüğü 190- 200 µm olup, fibrovasküler gelişime ve sonrasında kemik oluşumuna izin verir. Dens HA' teki gibi rejenerasyon defektin sadece apikal kısmı ile sınırlıdır. HA' ler osteokondüktif etki gösterirler. Kemik defektlerinde, diş çekimi soketinde alveoler sırtın korunması, sinüs augmentasyonlarında, kemik içi implant uygulamalarında kullanılmaktadır. Ayrıca HA' li greftlerle yapılan çalışmalarda klinik defekt dolumu, sondlama derinliğinde azalma, ataçman kazancı olduğu bildirilmiştir(16).

Sentetik HA lokal ve sistemik reaksiyon göstermez, direkt kemik üzerine fikse edildiğinde kemik ile implant aralığında fibroz doku ve granülasyon dokusu oluşumu meydana gelmez(29).

#### **2.3.3.5.2. Trikalsiyum Fosfat(TCP)**

TCP ve HA yapısal olarak birbirine benzerdir ve her ikisi de kalsiyum fosfat yapısındadır. İçindeki kalsiyum/ fosfat oranı 1.5'tir. TCP; biyoyumludur, inflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonuna neden olmaz. Osteokondüktif özelliğe sahip olup, osteogenez, sementogenez ve en çok arzu edilen yeni ataçmanı oluşturmazlar(16). TCP'nin sinterizasyon sıcaklığına bağlı olarak farklı kristal fazlarının oluşması sonucu  $\alpha$ -TCP ve  $\beta$ -TCP olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır.  $\alpha$ -TCP formu çok yavaş rezorbe olmasına rağmen  $\beta$ -TCP formu 8-12 ay sonra tamamen yeni kemik ile yer değiştirir.

$\beta$ -TCP greftler biyoyumlu, rezorbe olabilen ve kemik rejenerasyonunda iskelet görevi gören osteokondüktif materyallerdir. Bu greftler sıklıkla kraniofasial ve maksiller bölgelerdeki kemik defektlerinde tamir amacıyla kullanılmaktadır. TCP

greftlerin por büyüklüğü 10-150 µm arasında değişmektedir. Kemik oluşumu için ideal por büyüklüğünün 50-150 µm olması gerekmektedir(4,16).

%85 HA ve %15 β-TCP greftleri kombine olarak uygulanmaktadır ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu greftlerde ilave olarak uygun kemik formasyonu için trombosit kaynaklı büyüme faktörü(PDGF), osteonektin gibi osteojenik büyüme faktörlerinin eklenmesi başarılı sonuçlar vermektedir (4,16).

### **2.3.3.5.3. Bioaktif Cam**

Bioaktif cam greftler kalsiyum ve sodyum tuzları, fosfatlar ve silikon dioksitten oluşurlar. Günümüzde bioaktif camların; granül, blok ve çubuk şeklinde tipleri mevcuttur. Ayrıca rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan formları da vardır. Dental uygulamalarda kullanılan bioaktif camlar düzensiz partikül büyüklüğüne sahip olup, por büyüklüğü 90-355 µm arasında değişmektedir. Bu materyaller, doku sıvıları ile temas ettiğinde, parçacıkların yüzeyi hidroksikarbonat apatit kaplanmış olur, kondroidin sülfat ve glikozaminoglikanlar gibi organik temel proteinleri birleştirir ve osteoblastları aktivite ederek hızlı bir şekilde kemik oluşmasını sağlar(48). Biyoaktif cam greftler aynı zamanda kollajen ile kapsüllenmiş olarak görünürler(44).

Bioaktif cam greftlerin özellikle membranlar ile birlikte uygulandığında klinik ataçman düzeyinde rejeneratif olarak kabul edilen olumlu katkılarının olabileceği ifade edilmiştir(20).

### **2.3.3.5.4. Kalsiyum Karbonat**

Mercan kaynaklıdır. Klinik periodontolojide, doğal mercan ve mercan kaynaklı pörözlü hidroksiapatit olmak üzere iki farklı formu kullanılmaktadır. Her iki çeşidi de biyouyumludur; fakat doğal mercan formu yavaş rezorbe olurken pöröz hidroksiapatit formu rezorbe olmaz veya rezorbsiyonu yıllar boyu sürer(44).

Bu materyallerle yapılan klinik çalışmalarda cep derinliğinde azalma, ataçman kazancı ve kemik düzeyinde artış sağladığı bildirilmiştir. Doğal mercan formunun membranlarla birlikte uygulanması ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Her iki greft materyalinde mikroskopik olarak sement ve kemik oluşumu gözlemlenmiştir; fakat yavaş rezorbsiyon veya eksik rezorbsiyon pratik olarak klinik başarısını gölgelemiştir(44).

#### **2.3.4. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması**

Kemik greftlerinin biyolojik iyileşme mekanizması 3 farklı yolla gerçekleşir;

1. Osteogenezis: Verici sahadan alınan greft materyalinde canlı prekürsör osteoblast hücrelerinden direkt olarak yeni kemik oluşumu sağlanır. Otojen greftler osteojenik kapasiteye sahip tek biyomateryaldir. Otojen greftlerin 5 gün içinde osteojenik özelliklerini kaybetmesine rağmen osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerinin devam ettiğini destekleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır(49).

2. Osteoindüksiyon: Canlı kemikte bulunan BMP'lerin etkisiyle farklılaşmamış hücrelerin osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşmesidir. Bu etkileşim kemik greftlerinde bulunan indükleyici protein ajanların etkisi sonucu oluşur. Genellikle kemik kırıklarında iyileşme osteoindüksiyon şeklinde oluşur. Otojen greftler, ksenogreftler ve allogreftler bu tip iyileşme mekanizması ile iyileşme gösterirler.

3. Osteokondüksiyon: Greft materyalinin uygulandığı alanda iskelet görevi görmesi ve greftin kademeli olarak rezorbsiyona uğraması sonucu yeni kemik oluşumu gerçekleşir. Kemik oluşumu çevre kemikteki farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin varlığında gerçekleşir. Osteokondüktif materyaller biyoyumludur ve bu greftler direkt olarak kemikleşmeyi sağlamaz; fakat kemik oluşumuna rehberlik ederler. Allogreftler, ksenogreftler ve alloplastlar bu yolla iyileşme gösterirler.

Greftlerde iyileşme; birleşme, yer değiştirme, şekillenme ve bölgesel hızlandırıcı fenomenler olmak üzere 4 fazda gerçekleşir. Bu fazlarda başarı gerçekleştiğinde mekanik olarak başarılı bir kemik-greft birleşimi elde edilmiş olur.

Kemik greftleri uygulandıktan hemen sonra rezorbsiyon ve şekillenme süreci başlar. Greft hacminde oluşan rezorbsiyonlar greftin boyutuna, kalitesine, biyomekanik özelliklerine, alıcı bölgedeki kemik kalitesine ve greftin çevre kemiğe implantasyon derecesine bağlıdır(38). Greft rezorbsiyonunda ortam pH'ı, greftin porözitesi, partikül büyüklüğü, partikül kompozisyonu ve greftin türü olmak üzere birçok faktör etkilidir.

#### **2.3.4.1. Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi**

Kansellöz ve kortikal otojen greftlerinde cerrahi operasyonu takiben oluşan hemoroji sonucu dokudan ve kandan çeşitli inflamatuvar mediatörler, fagositler ve pluripotent hücreler salgılanır. Devam eden uyarılar sonucu mezenseyal hücreler; endotelial hücrelere, fibroblastlara ve osteoblastlara farklılaşarak yeni kan damarları ve konnektif dokuların oluşumunu gerçekleştirir. Alıcı yataktaki greftin birkaç saat için revaskülarizasyonu gerçekleşebilir. Kansellöz greftin revaskülarizasyonu birkaç hafta içinde gerçekleşirken, kortikal greftlerin revaskülarizasyonu 2 ayda tamamlanır. Kansellöz greftlerde osteoklastların kemik rezorbsiyonu olmadan, osteoblastlar eski trabekül seviyesinde dizilerek osteoid oluşumunu gerçekleştirir. Bundan sonraki süreçte organik kemik dokusu mineralize olur ve immatür kemik oluşumu gerçekleşir. Daha sonra oluşan immatür kemik osteoklastlar tarafından rezorbe edilerek olgun lameller kemik oluşur (50).

Kortikal kemik greftinde ise osteoklastların mevcut olan havers kanallarını rezorbe ederek genişleyen alanda kemik apozisyonunu gerçekleştirmesi sonucu kortikal grefti rezorbe olur ve yeni kemik oluşur (50).

Sjöstrom ve ark.(51) yaptığı çalışmada, onley tarzı iliak greftin uygulandığı dişsiz mandibulada ilk 6 ay içerisinde % 37 oranında rezorbsiyon gerçekleştiğini

bildirmişlerdir. Ayrıca Sbortone ve ark.(52) iliak greft kullanımı ile dişsiz mandibulada 1. yılın sonunda hacimsel olarak değişimin % 35-51 olduğunu, anterior maksilla bölgede rezorbsiyonun % 42 oranında ve posterior mandibula bölgesinde ise % 59 oranında olduğunu bildirilmişlerdir (5).

#### **2.3.4.2. Allogreftlerin Kemik Greftlerinin İyileşmesi**

Allogreftin iyileşme süreci otojen greftlerin iyileşme süreci ile benzerdir. Bu greftlerde, otojen greftlerin içerdiği canlı hücrelerin yokluğundan dolayı kemik oluşumu gecikir. Otojen greftlere nazaran kemik-greft birleşimi düşük seviyede gerçekleşir. Bu greft çeşitlerinde iyileşme osteoindüktif özellik göstermektedir.

DFDB ve BMP'nin beraber kullanıldığı 28 günlük bir hayvan deneyinde, yapılan hem intramembranöz hem de endokondral kemik oluşumu gözlemlenmiştir. Kemik formasyonundaki bu farklılıkların greftin stabilitesi ve lokal kan damarlarına olan yakınlığına bağlı olduğu ifade edilmiştir (53). Allogreftlerin kemik defektlerinin büyüklüğüne bağlı olarak maksimum 1.5 yılda tamamen rezorbe olduğu ve yeni kemik oluşumu sağladığı bildirilmiştir (54).

#### **2.3.4.3. Ksenogreftlerin İyileşmesi**

Ksenogreftler osteoindüktif ve osteokondüktif özelliğe sahip materyallerdir. Bu greftler özellikle implant çevresi defektlerin rejeneratif tedavisinde kemik formasyonunu uyarmak için önem kazanmıştır. Bu greftlerin de iyileşme mekanizması otojen greftin iyileşme prosedürlerine benzemektedir. Ksenogreftlerin rezorbsiyon süreleri farklılık gösterir ve rezorbsiyonu çok yavaştır. Schlegel ve Donath mandibula kemik defektlerinde sığır kaynaklı HA greft uygulandıktan 6 yıl sonra bile greft materyallinin bulunduğunu bildirmişlerdir (50). Ksenogreftlerden sığır kaynaklı olan greftlerin ortalama rezorbsiyon süresi 6-9 aydır.

Ksenogreftlerin rezorbsiyonu çok yavaş olduğundan kemik oluşumu uzun sürer ve düzgün bir kemik şekillenmesi gerçekleşir.

#### **2.3.4.4. Alloplastik Kemik Greftlerinin İyileşmesi**

Alloplastik greftler, diğer greftlerin bazı dezavantajlara sahip olması nedeniyle bir alternatif olarak son yıllarda kullanılmaya başlanılmıştır. Oral ve maksillofasial bölgelerdeki defektlerde sıkça kullanılan alloplastların, yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaması önemli bir avantaj olarak görülmektedir. Alloplastlar osteokondüktif özelliğe sahip olup, defekt bölgesinde iskelet teşkil ederek konak doku hücrelerine rehberlik ederler ve kemik oluşumunu sağlarlar. Alloplast greftlerin iyileşme süreci otojen greftlerin iyileşme süreci ile benzer özellikte gerçekleşir. Fakat greft içinde canlı hücreler olmamasından dolayı kemik oluşumu gecikir. Otojen greftlere nazaran alıcı bölgeyle daha az birleşme gerçekleşir (55). Alloplastlar otojen greftlere oranla epitelizasyon, greft adaptasyonu ve bağ doku iyileşmesi açısından bazı dezavantajlara sahiptir.

Alloplast greftlerin rezorbsiyon süreleri farklılık göstermektedir. Büyük partiküllü greftler uzun sürede rezorbe olur ve defekt bölgesinde uzun süre rezorbe olmadan kalırlar, kristalize greftler ise daha uzun sürede rezorbe olur, amorf türü greftler kristalize greftlere oranla biraz daha hızlı rezorbe olurlar.

#### **2.4. Diabetes Mellitus(DM)**

İnsülinin kısmi veya tam eksikliğiyle oluşan ve hiperglisemiyle karakterize, hareketsiz yaşam, obezite, yüksek kalorili beslenme ve genetik yatkınlık gibi çevresel faktörlerin etken olduğu ve protein ve yağ metabolizmasının bozulması ile sonuçlanan toplumda en sık rastlanan kronik bir metabolizma ve endokrin sistem hastalığıdır (56,57). Son yıllarda diyabet prevalansı hızla artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ) şu anda 346 milyon kişinin diyabet olduğunu ve bu sayının 2030 yılına kadar 439 milyona ulaşacağını ön görmektedir (58).

### **2.4.1. İnsülin Metabolizması**

İnsülin, pankreasın langerhans adacıklarının beta( $\beta$ ) hücresinden salgılanan polipeptid yapılı ve kan glukoz dengesini düzenlemede primer düzenleyici görev yapan anabolik bir hormondur. Bu hormon aynı zamanda yağ ve protein metabolizmasında önemli rol oynar(57).

Kaslar, yağ dokusu, karaciğer ve meme bezi hücreleri gibi hücrelerin membranlarında insüline özgü resöptörler vardır. Bu hücreler enerji için glukoz kullanacağı zaman glukozun hücrelere girişine izin verir. Hiperglisemi, Langerhans adacıklarının  $\beta$  hücrelerin disfonksiyonu sonucu insülin salgılamasındaki yetersizlik veya çizgili kaslar ve karaciğer dokusundaki insüline karşı direnç gelişmesi veya bu ikisinin beraber gelişmesi sonucu görülmektedir. Hipergliseminin kronikleşmesi durumunda; kalp, göz, böbrekler, sinirler ve dolaşım sistemi gibi birçok dokuda hasar meydana gelmektedir (58).

### **2.4.2.1. Tip I Diyabet**

Tip 1 diyabet, pankreatik  $\beta$  hücrelerinin harap olması ve mutlak insülin salgılamasının eksikliğine bağlı olarak oluşur. Bu tip diyabet genellikle çocuklar ve gençlerde görülür ve diyabetlilerin %5-10'unu oluşturmaktadır. Etyolojisinde daha çok viral hastalıkların olduğu oto-immün bir hastalıktır. Bu hastalarda semptomlar ani olarak başlar ve kilo kaybı ve ketoasidoz koması sıklıkla görülür. Tip I diyabette insülin üretimindeki eksiklikten dolayı hastalar yaşam boyu insülini dışarıdan almak zorundadır ve bunun için bu diyabet tipine " insüline bağımlı diyabet " denilmektedir (59).

### **2.4.2.2. Tip II Diyabet**

İnsüline bağımlı olmayan diyabet olarak tanımlanmaktadır ve diyabetli vakaların %90-95'ini oluşturmaktadır. Bu tip diyabette insülin salgılanmaktadır, ancak insülin salgılanmasında eksiklik veya merkezden uzak dokularda insüline

direnç söz konusudur. Bu tip hastalar genellikle 40 yaşın üzerinde olup etyolojisinde genetik faktörlerin rol aldığı çoğu obez hastalardır. Dolaşım sistemindeki yağ asitlerinin artışı, glukoz alımını ve glikojen sentezini artırarak insüline karşı direnç oluşmasına neden olmaktadır (57,58).

### **2.4.3. Diyabetin Kemik Üzerine Etkisi**

Metabolik bir hastalık olan diyabetin, kemik iyileşmesi üzerine negatif etkileri vardır. Diyabetik kemik kallusunda özellikle kemik kırığı iyileşmesinin erken dönemlerinde hücre proliferasyonu ve kollajen sentezinde azalma ve kemiğin mekanik yapısında bozulmalar birçok çalışmada gösterilmiştir (60,61). DM birçok mekanizma ile hem osteoblastların farklılaşmasını hem de kemik oluşumu etkileyen büyüme faktörlerinin salgılanmasını engeller(62).

DM'de kemik mineral yoğunluğunun azalması, osteoporöz, kırık riskinde artış, kemik kırıklarında iyileşme ve rejenerasyonunda bozulmalara neden olur. Hiperglisemi, osteoblastik farklılaşmayı engellenmekte, fosfor ve kalsiyum metabolizmasını düzenleyen paratiroid hormonunun cevabını değiştirmektedir(58).

DM'nin mikrovasküler komplikasyonları kan akışını azaltarak kemik kırılabilirliğini artırır. DM osteoblastik aktiviteyi ve kemik mineralizasyonu azaltır ve kemik fraktürlerinin iyileşmesini geciktirir(63).

Diyabetik yara, bozulmuş hücre infiltrasyonu ve uygun olmayan granülasyon doku oluşumuna neden olur. DM'ün osteoblast, osteoklast, osteoid ve osteokalsin üretimini azaltarak kemik yapım ve yıkım döngüsünü ve kemiğin şekillenmesini bozduğu in vivo çalışmalarda rapor edilmiştir (64).

İnsülinin osteoblastlar üzerinde uyarıcı etkisi olduğu ve insülin hormonun eksikliğinde osteoblast sayısında azalma, osteoid oluşumunda azalma ve hücrel bozukluklar meydana geldiği ve ayrıca insülin eksikliğinde kemiğin kalsifikasyonunda azalma olduğu ifade edilmiştir (65,66).



#### **2.4.4. Diyabetin Komplikasyonları**

Diyabet komplikasyonları, kandaki glikoz düzeyleri, dolaşım sistemi ve sinir sistemindeki patolojik değişikliklerle yakından ilişkilidir. Diyabet komplikasyonları akut ve kronik komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Akut komplikasyonlar; diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar nonketotik koma, hipoglisemi koması, laktik asidoz komasıdır.

Kronik komplikasyonları, diyabetin diğer organ ve sistemlerde meydana getirdiği biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerdir. Bunlar büyük damarlara ait komplikasyonları (koroner arter hastalıkları, periferik damarlarda iskemi ve nekroz), küçük damarlara ait komplikasyonları (retinopati, nefropati, nöropati), dermatolojik komplikasyonları (mantar enfeksiyonları, fronkül-karbonkül ve benzeri deri lezyonları)'dır.

Diyabetin klasik klinik semptomları; poliüri, polidipsi, polifaji olup bunlara eşlik eden kilo kaybı, görme bozukluğu, halsizlik, ağız kuruluğu, bayılma, bulantı, kusma ve ketoasidozdur (56). Diyabetin sıklıkla görülen komplikasyonları; retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalıklar ve gecikmiş yara iyileşmesidir. Son yıllarda diyabetin periodontal hastalıklar için bir risk faktörü olduğu ve periodontitisin diyabetin 6. komplikasyonu olduğu bildirilmiştir (57,67).

#### **2.4.5. Deneysel Diyabet Modelleri**

Birçok hastalığın patogenezinin anlaşılması, hastalıkların engellenmesi ve tedavi imkanlarının araştırılması için deneysel hayvan modellerinin kullanımı giderek artmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde rasyonel bir çalışma için gereken şartlar, çevresel faktörlerin etkilerini belirlemek için kontrol grubun kullanılması, genetik olarak uygun hayvan türünün seçilmesi ve istatistiksel değerlendirme için örnek hacminin yeterli olmasıdır (68). İlaç araştırmaları çoğu deneysel hayvan modelinde insana benzer genetikte olan hayvanlar üzerinde yapılır. Deneysel hayvan modellerinin insanın tam karşılığı olmadığı göz ardı edilmemelidir.

Çeşitli deneysel diyabet modelleri vardır;

1. Spontan diyabet
2. Kimyasal diyabet: Alloksan veya streptozosin kullanılır.
3. Viral diyabet
4. Cerrahi diyabet: Pankreasın cerrahi olarak çıkartılması ile oluşturulur.

#### **2.4.5.1. Streptozosin(STZ)**

Pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin harabiyeti sonucu diyabet oluşturulmasına dayanır. N-(Methylnitrosocarbamoyl)- $\alpha$ -D-glucosamine yapısındadır. Işıktan etkilenir. Ortam pH'sı 4-4.5 olmalıdır. Pankreastaki  $\beta$  hücrelerine zarar vererek hem Tip I hem de Tip II diyabete neden olmaktadır. Diyabet, tek doz STZ'nin(40-60 mg/kg) intravenöz veya intraperitoneal yolla uygulanması sonucu oluşturulur(69).

STZ kullanıldığında karaciğerdeki glikojen hızlı bir şekilde yıkıma uğratılır. Yaklaşık 2 saat içinde kandaki glikoz seviyesi geçici olarak yükselir. Üç gün içinde diyabet oluşur, ancak dolaşım sistemindeki bozuklukların meydana gelmesi için 2-12 hafta beklenmesi gerekir. Bu süreler arasında vasküler bozuklukların birbirinden farklı olmadığı bildirilmiştir (69).

#### **2.5. Ankaferd Blood Stopper® (ABS)**

Ülkemizde kullanılan hemostatik ajanlara alternatif olarak geliştirilen bitkisel kökenli bir hemostatik ajandır. Herhangi bir pıhtılaşma faktörünü etkilemeden, meydana getirdiği protein ağ içindeki eritrositlerin agregasyonu ile hemostatik etkisini göstermektedir. ABS içindeki 5 farklı bitkinin farklı oranlarda karışımından meydana gelmektedir. Bunlar; *Urtica dioica*, *Vitis vinifera*, *Glycrrhiza glabra*, *Alpinia officinarum*, *Thymus vulvaris*'dir(Tablo 1). Bu karışımdaki bitkilerin her birinin kan hücreleri, hücre proliferasyonu, endotel hücreleri, anjiogenez ve çeşitli mediatörler üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (12). Bu bitkilerin birçok tıbbi alanda

kullanım endikasyonu vardır. ABS'nin antimikrobiyal etkisinin daha çok gram(-) ve gram(+) bakteriler üzerine olduğu gösterilmiştir (70).

*Urtica dioica*, ısırgan otu olarak bilinmektedir. Bu bitkinin çiçekli kısmında histamin, asetilkolin, serotonin bulunmaktadır ve kökünde ise lektin, steroid, polisakkarit yapılar mevcuttur. Bu bitkinin sıçanda endotel orijinli hipotansif cevap oluşturduğu ve bunun da endotelden nitrik oksit (NO) salıverilmesi ve potasyum kanallarının açılması sonucu gelişen vazodilatasyona ve negatif inotropik etkiye bağlı olabileceği ifade edilmiştir (71).

*Vitis vinifera*, asma veya üzüm olarak bilinir. Medikal olarak bu bitkinin yaprakları ve meyvesi kullanılır. Deneysel hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda antioksidan, sitotoksik, vasküler, sitoprotektif ve kemopreventif etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Bu bitki ayrıca kollajen stabilizasyonunu da destekler ve kıl folikül hücrelerinin çoğalmasını sağlar. Çeşitli deri hastalıkları, variköz venlerde, diyabetik retinopatilerde ve kapiller incelmede antioksidan olarak kullanılmaktadır. Bu bitkinin içerdiği prosiyanidinler kapiller duvarları stabilize ederek oluşan ödemi inhibe eder (72).

*Glycyrrhiza glabra*, halk arasında meyan olarak bilinir. Tıbbi olarak bu bitkinin köklerinden yararlanılmaktadır. Bu bitkinin antitrombotik, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antifungal etkileri olduğu bildirilmiştir. İçeriğindeki glisirizin ve likokalkon flovonoid, trombin ile indüklenen trombosit agregasyonunu inhibe ederek antirombin üzerinde etki ederler (73).

*Alpinia officinarum*, havlıcan otu olarak bilinir. Medikal olarak gövdesinden yararlanılmaktadır. Antibakteriyel, antispazmatik ve antifungal etkiye sahiptir. Lipopolisakkaridle (LPS) aktive edilmiş fare peritonelindeki makrofajlarda NO oluşumunu inhibe ettiği ileri sürülmüştür (74).

*Thymus vulvaris*, halk arasında kekik olarak bilinmektedir. Tıbbi olarak kök, gövde, yaprak ve çiçekleri kullanılmaktadır. Antiviral, antispazmodik, antibakteriyel,

antiprotozoan ve antioksidan etkisi vardır. Antioksidan özelliği ile yağların oluşturduğu ateroskleroz oluşumunu inhibe eder (75).

Hemostatik amaçla kullanılan ABS'nin ticari olarak ampul, sprey ve tampon formları mevcuttur.

**Tablo 1: 2ml ampul formundaki ABS®'nin içeriği**

Etken madde adı	Etken madde miktarı (mg)
Thymus vulvaris(kekik) ¶	0.10
Alpinia officinarum(havlıcan)	0.14
Vitis vinifera(asma)	0.16
Glycrrhiza glabra(meyan)	0.18
Urtica dioica(ısırgan otu) †	0.12

¶ kurutulmuş ot ektresi, || kurutulmuş yaprak ektresi, † kurutulmuş kök ektresi.

### 2.5.1. ABS'nin Etki Mekanizması

ABS, doku bütünlüğünün bozulduğu bölgelerde fibrinojen başta olmak üzere diğer protein moleküllerinin agregasyonunu oluşturarak bir protein ağı meydana getirir. Bu protein ağı oluşumunda eritrositler, trombositler ve kırmızı kan hücreleri etkilidir ve bu ağ üzerinde özellikle eritrosit agregasyonu oluşur. Bu fizyolojik süreç tüm hemostatik safhaları etkiler. Hemostatik süreçte hiçbir pıhtılaşma faktörünün etkili olmadığı tamamen fizyolojik bir süreç olarak gerçekleşir (76). Ayrıca bu yöntemin hemofili hastalarında da etkili olduğu düşünülmektedir. ABS uygulamasından sonraki süreçte plazma fibrinojen etkinliğinde ve fibrinojen miktarında azalma ve trombin zamanında uzama olduğu rapor edilmiştir(12).

### 2.5.2. ABS'nin Cerrahi Girişimlerde Kullanımı

ABS ile ilgili gerekli testler yapıldıktan sonra, ABS ürünü eksternal ve dental kanamalarda kullanılmak üzere T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından 26 Ekim 2007'de onaylanmıştır.

Akalin ve ark.(77) çalışmasında ABS'nin ciltte oluşturulan yaraların iyileşmesi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. 20 rat iki gruba ayrılmıştır. 1. gruptaki cilt yaralarında sadece serum fizyolojik çözeltisi uygulanmış, 2. gruptaki cilt yaralarında ABS uygulanmıştır. ABS uygulanan gruptaki ratların 10. ve 14. günde inflamasyon skorları, tip I/ tip II kollajen miktarı ve yara kenarlarının kapanma oranları ABS uygulanmayan gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Kılıçgün ve ark.'nın (78) yaptığı deneysel hayvan çalışmasında ABS'nin kanama ve akciğerdeki hava kaçağı üzerine etkinliği araştırılmış ve ABS'nin akciğer parankimasında son hava kaçağında önemli ölçüde etkili olduğu gösterilmiştir. ABS kullanılmayan grupla karşılaştırıldığında önemli bir farklılık bulunmamıştır, ancak kanamanın kesilmesinde anlamlı bir fark bulunmuştur.

Karabulut ve ark.(79) 20 hastada yaptıkları nazal operasyonlar sırasında ABS'nin kanama kontrolü üzerine etkisini araştırılmıştır. Nazal pasajın bir tarafına ABS emdirilmiş polivinil asetal tampon uygulanırken, diğer nazal pasaja sadece polivinil asetal tampon uygulanmıştır. ABS emdirilmiş tamponlar perioperatif ve postoperatif kanama üzerine etkili bulunmuştur. Tamponlar uzaklaştırıldıktan sonraki kanama miktarı ve sıklığı, ABS emdirilmiş tamponların uygulandığı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

### **2.5.3. ABS'nin Diş Hekimliğinde Kullanımı**

Dental girişimlerde sıklıkla karşılaşılan en ciddi problemlerden biri de kanamanın kesilmemesi sorunudur. Bu amaçla kullanılan birçok topikal kanama durdurucu mevcuttur. Bunlar, kollajen esaslı olanlar(Avitene® v.s.), jelatin esaslı olanlar(Surgifoam, Gelfoam v.s), selüloz esaslı olanlar(Surgicel v.s), polisakkarit esaslı olanlar(HemCon, ChitoSeal v.s) ve fibrin türevli olanlar(Tisseel, Vivostat v.s).

Diş hekimlerinin karşılaştığı en hayati sorunlardan olan hemostazın sağlanmaması birçok hastada dental girişimler sırasında ve sonrasında ciddi hemoroji sorunu oluşturabilir. Bu durum cerrahi uygulamalarda daha çok risk oluşturabilir. Hemostatik başarısızlığı ortadan kaldırmak amacıyla ABS diş hekimliğinde de kullanılmaya başlanmıştır. ABS kanamalarda protein ağ oluşturarak kanın durmasına yardımcı olmaktadır(80).

Erçetin ve ark.'nın (81) yaptıkları çalışmada intraoral kanamaya eğilimli bir sistemik hastalığı olan 25 hastada; gingivektomi, diş çekimi ve subgingival küretaj gibi kanamalı girişimler uygulandıktan sonra hemostaz için ABS sprey formu kullanılmıştır. Çalışma sonunda topikal 1-2 ml'lik ABS dozun bu dental girişimler için ideal olduğu ve kanamanın ABS uygulanmasından sonra 1-3 saniyede kesildiğini bildirmiştir. Bu verilere göre ABS'nin post-operatif dönemde oluşan kanamaların durdurulmasında başarılı olduğu saptanmıştır.

Çakarer ve ark.'nın (82) yaptıkları çalışmada antitrombotik tedavi gören 25 hastada basit dişlerin çekimlerinde ABS'nin erken hemostatik etkisini araştırmış, 1. grup diş çekimi sonrasında steril gazlı bezle tamponlanmış ve 2. grup diş çekimini takiben 1-2 ml'lik ABS emdirilmiş steril gazlı bezle tamponlanmıştır. Çalışmanın sonucuna göre ABS uygulanmış çekim soketlerindeki kanama zamanı kontrol çekim soketlerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Buna göre antitrombotik tedavi gören hastalarda diş çekimleri gerçekleştirildikten sonra meydana gelen hemorojinin ABS ile güvenli ve etkili bir şekilde kontrol altına alınabileceği bildirilmiştir.

ABS'nin yara iyileşmesi üzerine etkisi de araştırılmıştır. 72 rat palatinal mukozasında punch aleti ile 4 mm'lik dairesel yaralar oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan ratların eksizyonel yara bölgelerine, topikal 0.1 ml ABS uygulanmış ve diğer gruba serum fizyolojik uygulanmıştır. Yapılan histolojik değerlendirmede 7. günde ABS uygulanan grupta reepitelizasyon miktarı kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Biyokimyasal analizlerde 14. günde ABS uygulanan grupta VEGF protein düzeyi kontrol grubuna göre

artmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ABS'nin yara iyileşmesinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir(83).

#### **2.5.4. ABS'nin Diğer Etkileri**

ABS'nin hemostatik etkisinin yanı sıra antibakteriyel, antimikrobiyal ve antifungal etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar da mevcuttur.

Deveci ve ark.(84) 57 vakada ABS'nin antitüberküloz etkinliği araştırmış ve ABS'nin topikal olarak kullanılan 16 kat dilüe edilmiş konsantrasyonunun tüberküloz basillerine etkili olduğunu saptanmışlardır. Çalışmaya göre ABS'nin kütanöz tüberkülozun neden olduğu osteomyelit ve lenfadenit gibi tüberküloz odakların cerrahi olarak uzaklaştırıldıktan sonra antitüberküloz ilaçlarla beraber kullanılmasının tüberküloz tedavisinde destekleyici olabileceği bildirilmiştir.

Fisgin ve ark.'nın (70) yaptıkları çalışmada, ABS'nin in vitro antimikrobiyal etkinliği 102 hastada araştırılmıştır. Bu çalışmada çoğu ilaca dirençli olan 15 farklı mikroorganizma üzerinde çalışılmıştır. Gram(-) ve gram(+) mikroorganizmalardan oluşan ortalama 15 mm çapında 10-18 mm aralığında bir bölge oluşturulmuş ve ABS'nin antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Sonuçta ABS'nin gram(+) mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Akkoç ve ark.(85) hastalıkların ve gıda bozulmalarının etkeni olan gram(-) ve gram (+) bakterilerin bulunduğu 26 endikatör suşa ABS'nin antimikrobiyal etkisini in vitro olarak değerlendirmiştir. ABS'nin test edilen tüm bakterilere karşı etkili olduğu belirtilmiştir. ABS'nin hemostatik etkisinin yanı sıra antimikrobiyal etkisinin olduğu bildirilmiş ve gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu bakteriyel bozulmalara karşı gıda koruyucu olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir.

Fırat ve ark.'nın (86) yaptığı ABS'nin antifungal etkinliğinin araştırıldığı in vitro bir çalışmada; ABS'nin *Mucor rouxii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Mucor*

brunnea, Candida albicans, Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus türü mantarlara karşı yüksek düzeyde antifungal etki gösterdiği bildirilmiştir.

#### **2.5.5. ABS'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi**

Bugüne kadar ABS'nin kemik iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar yeterli düzeyde değildir ve literatürde daha çok ABS'nin erken dönemde kemik üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu konuda ilk araştırmalar Demircan ve ark.'nın (79) yaptığı erken dönemde kemik dokusundaki iyileşmeyi inceleyen çalışmadır. Yapılan araştırmadaki histolojik incelemelerde, yeni kemik oluşumu ABS uygulanan gruplarda daha yüksek bulunmuştur. Bu verilere göre ABS kullanımının erken dönemde kemik dokusu iyileşmesinde etkili olduğu ifade edilmiştir.

ABS'nin geç dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan hareketle, tez çalışmamızda bir alloplast greft materyali olan sentetik beta trikalsiyum fosfat( $\beta$ -TCP) ve kanama durdurucu ajan olarak bilinen ABS'nin kombine kullanımının kemik rejenerasyonuna etkisini histolojik, immunohistokimyasal ve western blot yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmıştır.



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

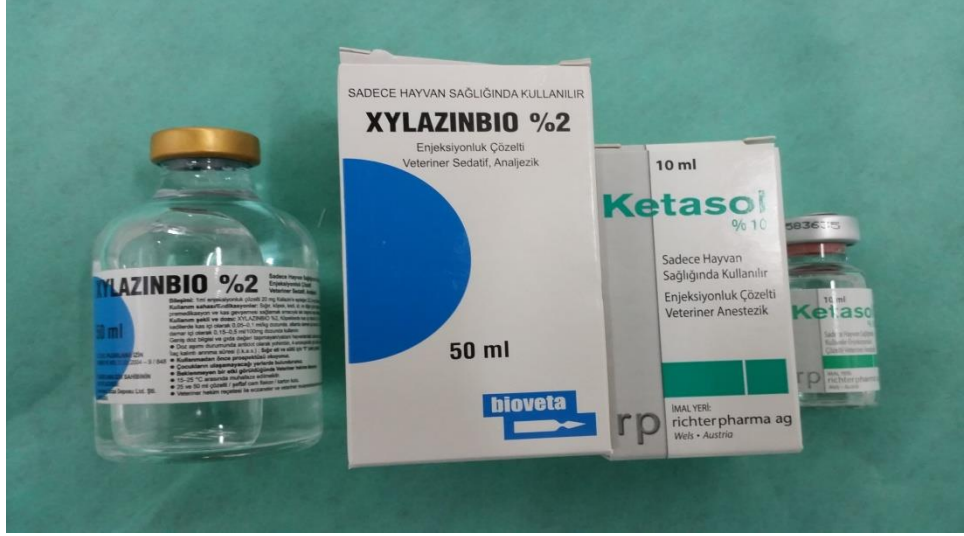
DİŞ.15.008 nolu projemiz 06.03.2015 tarihinde Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi (DÜBAP)'ne önerilmiş ve 20.05.2015 tarihinde onaylanmıştır. Dicle Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu (DÜHADEK)'nin 18.02.2015 toplantı tarihi ve 2015/13 protokol numarası ile etik kurul onayı alınmıştır. Deneysel hayvanlarında yapılan operasyonlar, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM) ameliyathanesinde; Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda; Radyolojik incelemeler ise Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Bu çalışmada DÜSAM'nde yetiştirilen, ortalama ağırlıkları 300 gr olan 128 adet 4 aylık Wistar cinsi erkek Albino rat kullanılmıştır. Deneysel hayvanlarına 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusu olacak şekilde yaşamaları sağlanmıştır. Deneklere su ve yiyeceğe serbest erişim olanağı (Ad Libitum) sağlanmış ve oda ısısı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Buldukları odanın nem oranı % 30-40 arasında olacak şekilde, odanın havalandırma sistemi filtre edilerek, kontaminasyon riski önlenmiştir. Ratların birbirine zarar vermemesi için ayrı kafeslerde ve altlarında talaş olacak şekilde yerleştirilmeleri sağlanmıştır.

#### 3.1. Ratlarda Diyabetin Oluşturulması

Sodyum sitrat çözeltisi için, 0.294 g sodyum sitrat dihidrat alınarak saf su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı ve Hidroklorik asit(HCl) ile pH'ı 4,5'a sabitlendi. STZ(Streptozocin®, Sigma-Aldrich, Çin) çözeltisi için, hazırlanan sodyum sitrat tamponundan 21 mg/ml olacak şekilde alınarak STZ çözdürülerek hazırlandı. Diyabet oluşturulacak 64 rata, tek doz 50 mg/kg STZ çözeltisi intraperitoneal enjeksiyonla verildi. STZ enjeksiyonu yapıldıktan 3 gün (72 saat) sonraki gecede ratlar aç olacak şekilde, ratların kuyruk veninden kan örneği alınarak glukometre(Optima®, Ok Biotech CO., Ltd., Hsinchu, Tayvan) cihazında glukoz ölçümleri yapıldı ve bu ölçümler sonucunda açlık kan glukoz seviyesi 250 mg/dl veya üstü ise ratlar diyabetik olarak kabul edildi.

### 3.2. Cerrahi yöntem

Deney hayvanları cerrahi operasyondan 12 saat önce aç bırakıldı. Ratların 45 mg/kg % 10'luk Ketamin HCl(Ketasol®, Richter Pharma, Wels, Avusturya) ve 3 mg/kg % 2'lik Xylazine HCl(Xylazinbio®, Bioveta, İntermed Ecza Deposu, Ankara, Türkiye) kullanılarak intramusküler enjeksiyon yöntemi ile anestezisi yapıldı (Resim 1). Uygun anestezi derinliği için göz kapağı refleksinin kaybolması beklendi ve kafa derisi ve enseden alna kadar olan operasyon alanı traş edilerek %10'luk povidon iodine(Betakon®, Aroma, Tekirdağ, Türkiye) antiseptik solüsyonu ile boyandı (Resim 2,3). Ratların başları serbest konumda olacak şekilde 15 nolu paslanmaz çelik cerrahi bisturi ( Winmed®, Huaiyin Medical Instruments CO.,Ltd., Huaian, Çin) ile koronal orta hatta kafa derisine insizyon yapıldı ve periost elevatörü ile frontal kemik açığa çıkarıldı (Resim 4). Bu işlem sonrasında 7 mm çapında trephen frezle(Trephine®, SC Medikal Ürünler Sanayi ve Tic. Ltd. Şti., İzmir,Türkiye) orta hatta dairesel şekilde bir tam kat kemik kesisi gerçekleştirildi. Operasyon esnasında dura mater ve superior sagittal sinüslerin korunmasına özen gösterildi (Resim 5, 6, 7). Gerçekleştirilen 7 mm çapındaki defektlere her deney grubu için ayrı uygulamalar yapıldı. Operasyon sonrasında oluşturulan cilt insizyonu 3/0 ipek suture(Silk®, Jinhuan Medical Products Ltd., Çin) ile primer olarak kapatıldı (Resim 8). Profilaksi amaçlı her ratın sağ gluteal kası içerisine operasyondan hemen sonra tek seferde tek doz 50 mg/kg antibiyotik (Betamoxla®, Etkin, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı.



**Resim 1: Deneklerde kullanılan intramusküler anestezik maddeler.**



**Resim 2: Anestezi yapılmış ratın kafasının traş edilmesi ve operasyon masasındaki sabitlenmiş görünümü.**



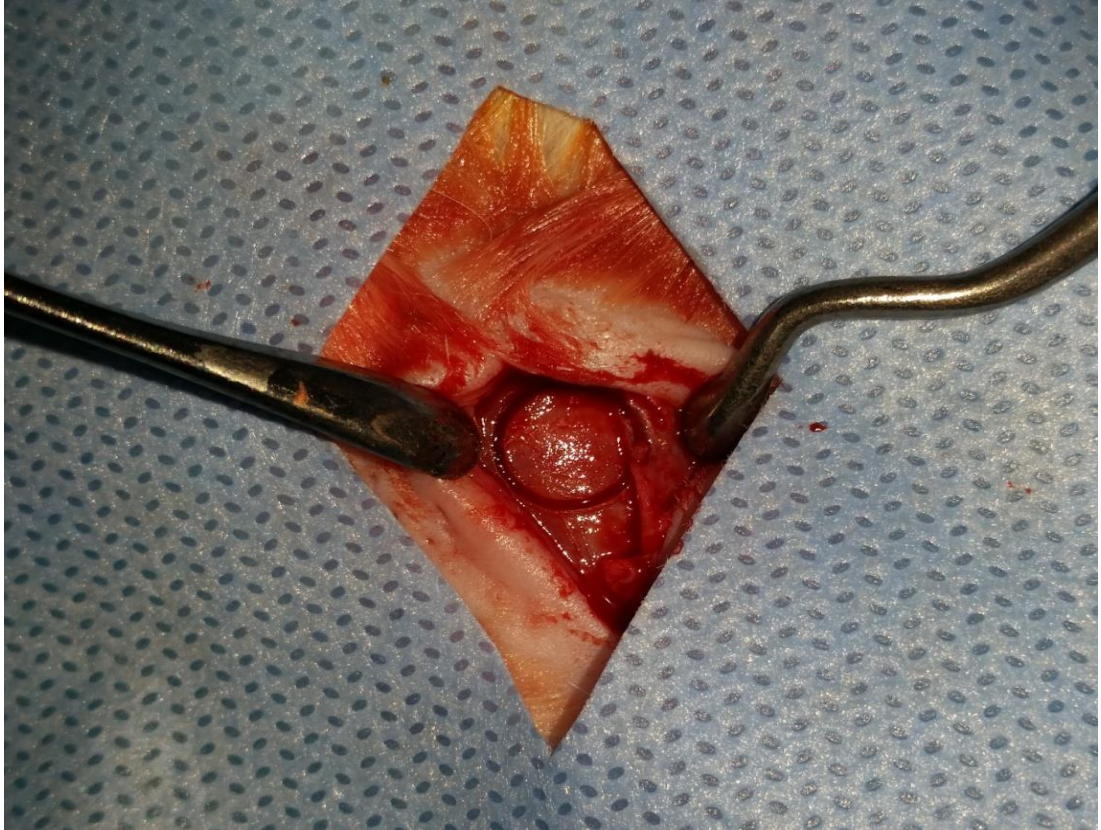
**Resim 3:** Ratların povidon iodine antiseptik solüsyonu ile operasyon alanının boyanmış görünümü.



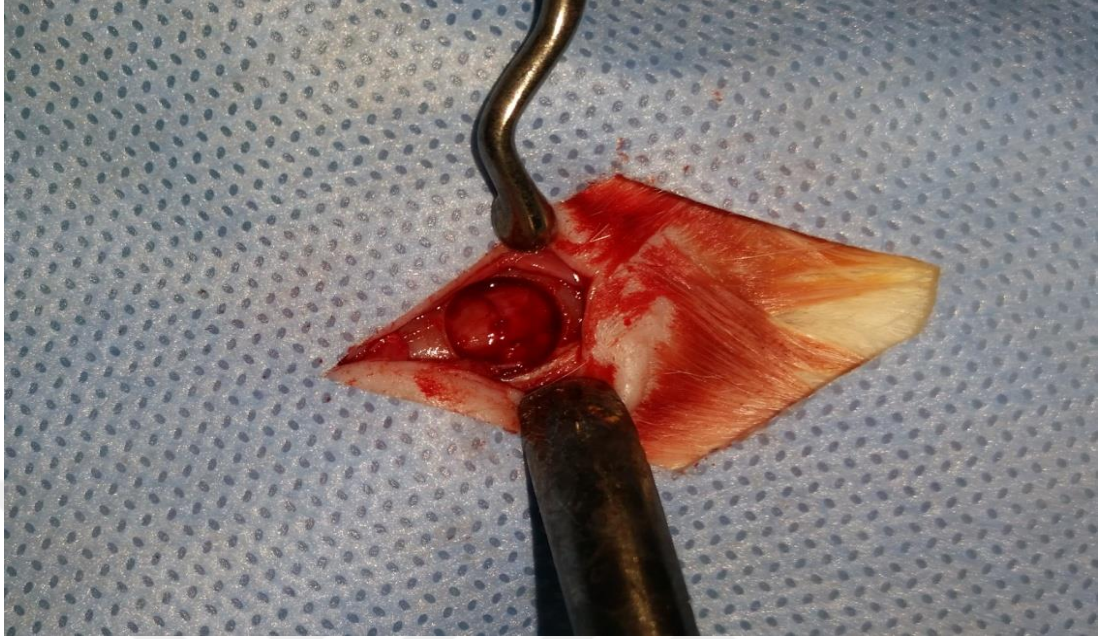
**Resim 4:** Orta hatta kafa derisi insizyonun yapılması ve frontal kemiğin açığa çıkartılmış görüntüsü.



**Resim 5: 7 mm çapındaki trephen frez.**



**Resim 6: 7 mm çapındaki dairesel tam kemik kesisi.**



**Resim 7: Dura mater ve sinüslerin korunarak oluşturulan dairesel tam bir kemik kesisi.**



**Resim 8: Deri insizyonunun 3/0 ipek suturelerle primer kapatılmış görünümü.**

### 3.3. Çalışmadaki Deneş Hayvanların Gruplandırılması

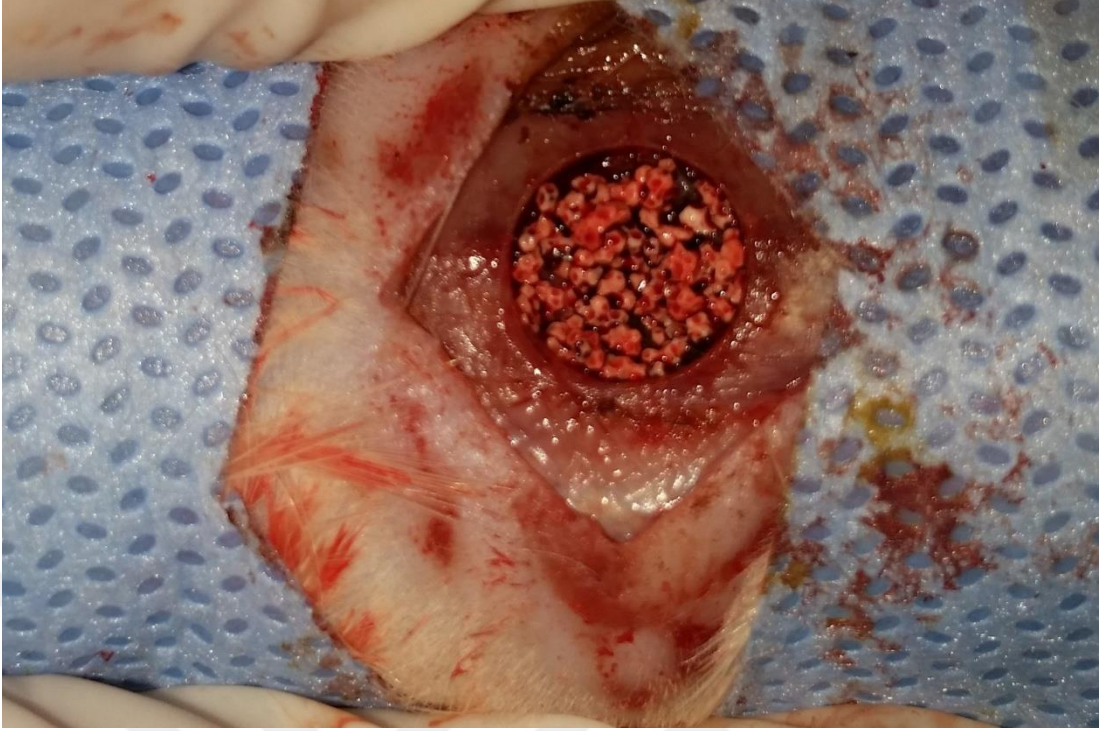
Çalışmamızda kullanılan ratlar, 28. gün ve 56. gün olmak üzere 2 farklı dönem için planlandı. Grup 1: nondiyabetik ve grup 2: diyabetik olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve bu 2 grup da kendi aralarında 4 alt grup olmak üzere toplam 8 farklı gruba ayrıldı:

**Grup 1a:** 16 adet ratta oluşturulan kemik defektlerine herhangi bir işlem yapılmadı ve defekt boş bırakılarak cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.

**Grup 1b:** 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.25-1 mm partiküllü 0.125 cc  $\beta$ -TCP greft (Kreaos®, İspanya) yerleştirildi (Resim 9, 10). Greftle doldurulan defektler 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.



Resim 9: Defektlerde kullanılan  $\beta$ -TCP grefti.



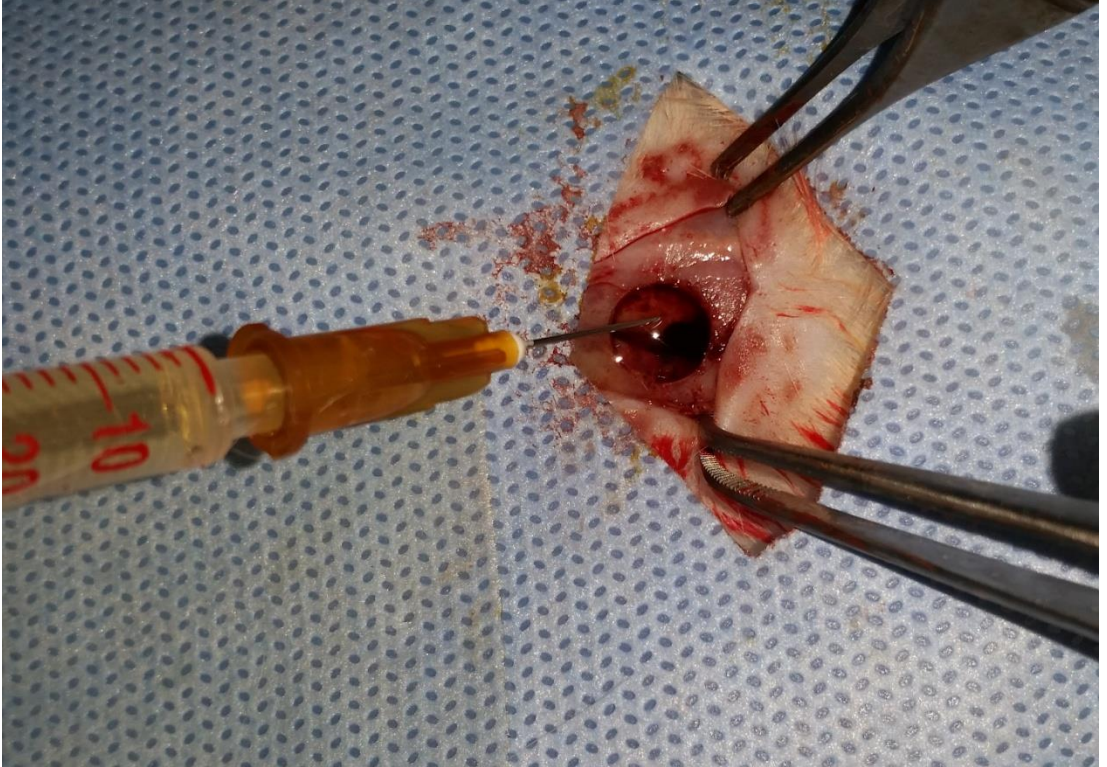
**Resim 10: Defektin  $\beta$ -TCP grefti ile doldurulması.**

**Grup 1c:** 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.125 cc ABS(Ankaferd Blood Stopper®, Mefar İlaç sanayi A.Ş, İstanbul, Türkiye) uygulandı (Resim 11, 12). Defekte ABS uygulandıktan sonra cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.





Resim 11: 24 x 2 ml'lik ABS ampüller



Resim 12: ABS uygulanmış defektin görünümü.

**Grup 1d:** 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.125 cc ( $\beta$ -TCP greft + ABS) yerleştirildi (Resim 13). Daha sonra cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.



**Resim 13:**  $\beta$ -TCP greft + ABS' nin defekte uygulanması.

**Grup 2a:** Diyabetik 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine herhangi bir işlem yapılmadı ve defekt boş bırakılarak cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.

**Grup 2b:** Diyabetik 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.25-1 mm partiküllü 0.125 cc  $\beta$ -TCP greft yerleştirildi. Greftle doldurulan defektleri 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.

**Grup 2c:** Diyabetik 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.125 cc ABS uygulandı. Defekte ABS uygulandıktan sonra cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.

**Grup 2d:** Diyabetik 16 adet ratta oluşturulan kemik defektine 0.125 cc ( $\beta$ -TCP greft + ABS) yerleştirildi. Bu işlemlerden sonra cilt insizyonu 3/0 ipek suture ile primer olarak kapatıldı. Deneklerin 8 tanesi 28. günde ve geride kalan 8 tanesi 56. günde sakrifiye edildi.

Deney hayvanları cerrahi operasyon sonrasında önceden hazırlanmış uygun ortam koşullarının sağlandığı kafeslerde 28. ve 56. günlük iyileşme periyotlarını geçirmişlerdir ve ratların iyileşmeleri sorunsuz gerçekleşmiştir.

Deney hayvanlarında ötenazi işlemleri ratlardan 64 tanesi 28. günde, diğer 64 tanesi de 56. günde yapılmıştır. Ratlar 45 mg/kg % 10'luk Ketamin HCl anestezisi ile uyutuldu ve letal doz 60 mg/kg olan Sodyum tiyopental ( Pental Sodyum®, İ.E Ulagay, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. Bu aşamadan sonra ratların kalvaryumunda uygulama yapılan kısımları cerrahi olarak kesilip çıkarıldı.

### **3.4. Histolojik Değerlendirme İçin Kesitlerin Hazırlanması**

Ratlara ötenazi yapıldıktan sonra defekt alanını içine alacak şekilde rond frezle dairesel biçiminde kalvaryum kemiği alındı. Alınan örnekler % 10'luk formaldehit çözeltisi içine konuldu. Örnekler histoloji laboratuvarında doğrudan nötral tamponlanmış formalin çözeltisi içinde fikse edildi. Alınan örneklerin tam fiksasyonu yapıldıktan sonra 12 saat kadar su altında yıkanmaları için bekletildi. Daha sonra dehidratasyon işlemi için dereceli artan alkol derişimde (%30,%50,%70,%80,%90,%96 ve %100) 12'şer saat süreyle bekletildi. Xyolde şeffaflaştırma işleminden sonra dokuların infiltrasyonu yapıldıktan hemen sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler edildikten sonra, rutin boyama için Hematoksilen-Eozin boya ile boyandı.

### **3. 5. İmmünohistokimyasal Değerlendirme İçin Kesitlerin Hazırlanması**

#### **3. 5. 1. Osteonektin ve Osteopontin İmmün Boyama Yöntemi**

Parafin bloklardan 5µm'lik kesitler poli-L-lysin kaplı lamların üzerine alındı. Oda ısısında bekletildi. Bir gece 60 C° lik etüvde bekletildi. Kesitler soğuduktan sonra 2 defa 5 dakika ksilende tutuldu. Ardından sırasıyla; %96, %80, %70 ve %60' lik etil alkolde 5'er dakika bekletildi. Alkol derişimlerden geçtikten sonra 5 dakika distile su içinde bekletildi. Daha sonra kemik dokusunun çözünmesi için EDTA solüsyonuna konuldu. Lam üzerine alınan örneklerin etrafı dakopen kalem ile sınırlandırıldı. Mikrodalga fırında 7+5 dakika sitrik asit içerisinde bekletilip antijen maskelenmesi kaldırıldı. Daha sonra 20 dakika oda ısısında bekletilerek soğuma işlemi gerçekleştirildi. PBS(Fosfat Tamponlu Tuz) çözeltisi ile 3X5 dakika yıkandı. Endojen peroksit blokajı sağlamak için %3'lük hidrojen peroksit içinde 20 dakika tutuldu. Kesitler tekrar 3x5 dakika PBS içinde tutuldu ve inkubasyon kabı içine alındı. Daha sonra yapılan tüm işlemler bu inkubasyon kabı içinde gerçekleştirildi. Alınan kesitler üzerine Blok solüsyonu (non-immun serum) damlatılarak 1 saat kadar beklendi ve hemen sonra kesitlere osteonektin ve osteopontin antikorları uygulandı. Primer antikör damlatılarak 1 saat süreyle beklendi. PBS solüsyonu ile 3X5 dakika yıkandı. Primer antikör ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikör damlatıldıktan sonra, oda ısısında kapalı nemli kutuda 30 dakika bekletildi. PBS solüsyonu ile 3X5 dakika yıkandıktan hemen sonra, hazırlanan streptavidinle işaretli sekonder antikör damlatılıp, oda ısısında kapalı nemli kutuda 30 dakika bekletildi. PBS solüsyonu ile 3X5 dakika yıkandı. Kromojen olarak AEC(Aminoetil Karbazol) solüsyonu damlatıldı. Distile su ile yıkanarak antijen-antikör reaksiyonunun engellenmesi sağlandı. Mayer hematoksileni ile zıt boyama yapıldı. Tekrar distile su ile yıkanarak lamel ile kapatıldı. Son aşamada kör değerlendirme için kesitler fotomikroskopla immünohistopatolojik olarak değerlendirilip görüntülendi.

### **3. 5. 2. Western Blotting Yöntemi**

#### **3.5.2.1. Hücre lizisi ve protein kantitasyonu**

Sıvı azotta dondurulmuş kalvaryum dokusu porselen havanda toz haline getirildi. 50 mg toz haline getirilmiş plasenta dokusu proteaz inhibitörü karışımı içeren 250 µl RIPA liziz solüsyonunda 1 saat süreyle buz içerisinde bekletildi. Liziz edilmiş plasenta örnekleri -86 °C’ de muhafaza edildi. Protein degradasyonunu önlemek için bütün basamaklar buz üzerinde gerçekleştirildi. Total hücresel protein konsantrasyonu BCA kiti (Pierce, Thermo scientific) kullanılarak firmanın talimatlarına uyularak yapıldı. BCA ölçümü 96-kuyucuklu plaka içerisinde mikropilaka okuyucu ile (Multiscan™ GO, Thermo Scientific) yapıldı.

#### **3.5.2.2. SDS(sodyum dodesil sülfat)-PAGE(Poliakrilamid jel elektroforesi)**

Protein örnekleri 1xSDS yükleme solüsyonunda (% 2 SDS, % 5 gliserol, %, 0.01 bromofenol mavisi, % 8 DL-ditiyotretol (DTT)) hazırlanarak 5 dakika 95 °C sıcaklıkta kaynatıldı. 20 µg protein örneği % 10’ luk poliakrilamid jele yüklendi ve SDS koşuturma solüsyonunda (2.4 mM Tris, 19.2 mM glisin, % 0.01’ lik SDS) 200 V’da 1 saat boyunca elektroforez edildi.

#### **3.5.2.3. Proteinlerin membrana transferi ve antikorla boyama**

Ayrıştırılmış proteinler SDS-PAGE’den 100V’da 1 saat süreyle transfer solüsyonu (25 mM Tris, 192 mM glisin, % 20 metanol, pH 8.3) içerisinde PVDF( poliviniliden florid) membrana transfer edildi. Transferden sonra membran PBS-T (PBS+ % 1 Tween-20) solüsyonu içerisinde hazırlanmış % 5’ lik süt tozu içerisinde 1 saat oda sıcaklığında bloke edildi. Bloklama işleminden sonra membran primer antikorlar (anti-Osteonectin ve anti-Osteopontin 1:200 dilüsyon Santa Cruz ve anti-β-actin 1:1000 Abcam) ile 2 saat oda sıcaklığında muamele edildi ve membran 4 defa PBS-T ile 30 dakika süre boyunca yıkandı. Yıkama işleminden sonra membran horseradish peroksidaz konjuge sekonder antikorlarla 1: 10000 dilüsyon oranında 1 saat oda sıcaklığında muamele edildi. Membran tekrar 4 defa PBS-T ile 30 dakika

süre boyunca yıkandı. Protein bantları ECL (enhanced kemiluminesans reaktif) kimyasalı (Bio-Rad) kullanılarak görüntülendi. Resimler ChemiDoc™ MP- Bio-Rad cihazı kullanılarak alındı.

### **3.6. Dual Enerji X-Ray Absorpsiyometri (DEXA)**

DEXA, günümüzde sıklıkla kullanılan gelişmiş bir kemik dansitometre yöntemi olup, bütün vücut, ön-arka ve lateral lumbal omurga ve femur ölçümü yapılabilir. Bu sistemlerde radyon kaynağı olarak röntgen tüpü mevcuttur. X ışınları dual fotonludur. Bu sistemlerde X ışınının çapının küçük olması diğer sistemlere göre daha yüksek derecede doğruluk ve yüksek rezolüsyon sağlar. DEXA'nın hata oranı %1.3 olarak bildirilmiştir. DEXA, çeşitli anatomik alanlarda kemik mineral yoğunluğunu iki boyutlu ( $\text{gr}/\text{cm}^2$ ) olarak ölçebilmektedir. Ölçülen değerler gr olarak Kemik Mineral Miktarı (KMM) veya  $\text{gr}/\text{cm}^2$  olarak Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) şeklinde ifade edilmektedir. DEXA ölçümleri trabeküler kemikten ziyade kortikal kemik hakkında bilgi verir (87).

Çalışmaya dahil edilen tüm ratların kemik mineral dansitesi ölçümlerinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda bulunan QDR 450 ACCLAIM SERIES ELITE HOLOGIC marka DEXA(Hologic®, Bedford, Amerika) cihazı (Resim 14) ile bütün rat vücudu çekilmiş; ancak sadece ratın baş kısmının kemik mineral ölçümü değerlendirilmiştir. Bütün ratlar enjeksiyonla uyutulduktan sonra başlangıç ve sakrifiye edilmeden önceki DEXA'ları çekilmiştir. Diyabetik gruplarda ise diyabet oluşuktan 1 hafta sonra başlangıç DEXA'ları çekilmiştir. Ölçümler KMM (gr) ve KMY( $\text{gr}/\text{cm}^2$ ) değerleri şeklinde elde edilmiştir.



**Resim 14: DEXA cihazı ve ratın çekim öncesi görünümü**

### **3.7. İstatistiksel Analiz**

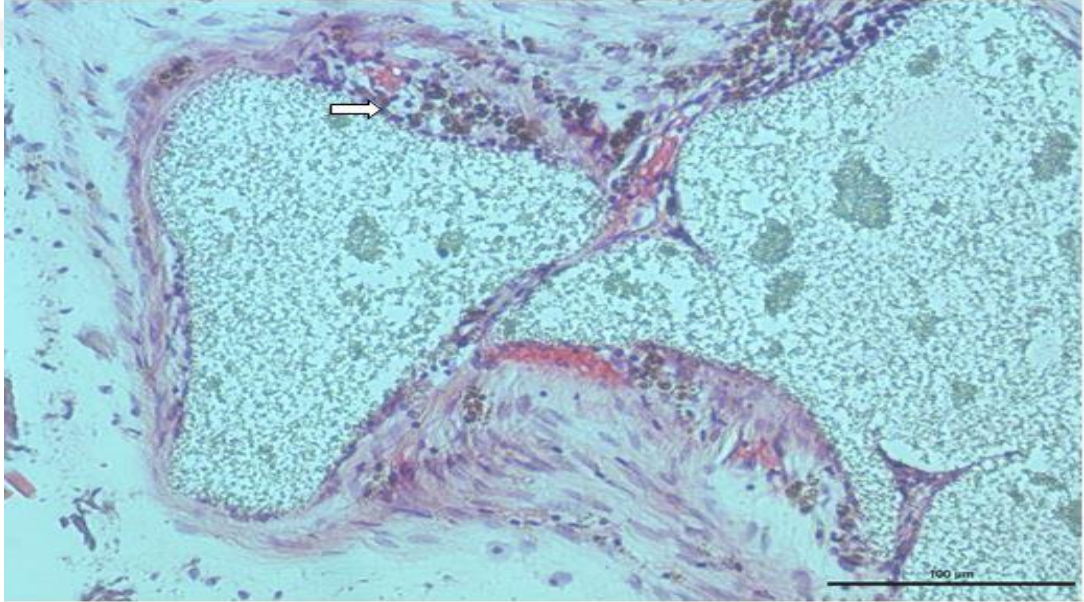
Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (IBM® Ver; 21.0 Windows, Şikago, Amerika) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Radyolojik ve histolojik veriler; rakamsal değerler, ortalama(Ort) ve standart sapma(SS) olarak gösterildi. Verilerin değerlendirilmesinde normal dağılım göstermeyen verilerin ikili grup arasındaki karşılaştırmada Mann Whitney U testi ve ikiden fazla gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. İkiden fazla grupların karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi yapıldı. Grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon testi kullanıldı. Western blot yöntemiyle osteopontin ve osteonektin proteinlerinin değerlendirilmesinde istatistiksel band şekilleri kullanıldı. Bütün istatistiksel testlerde  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histolojik Bulguları

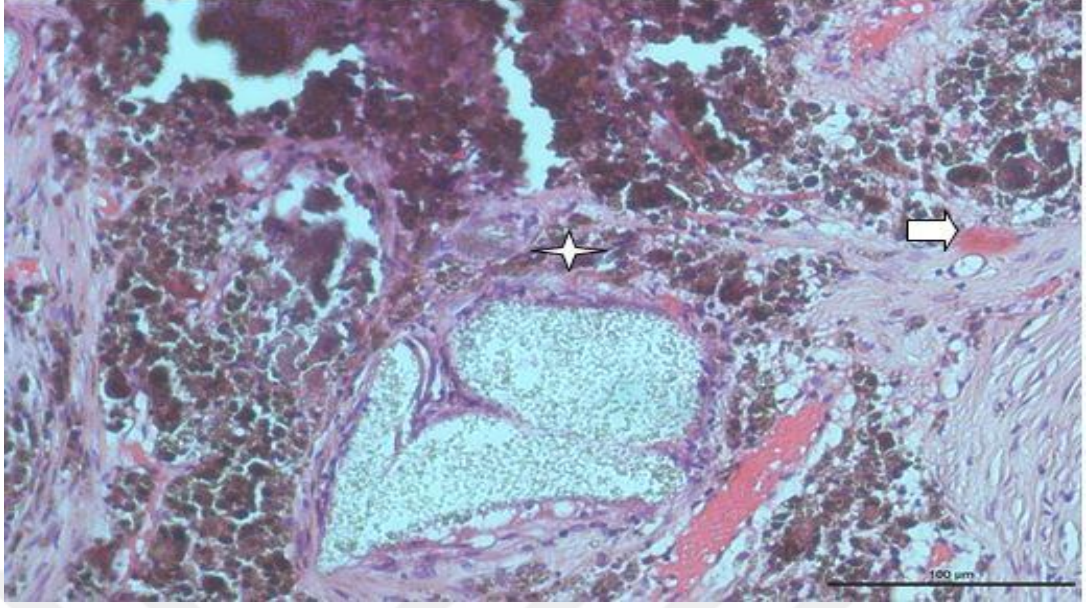
#### 4.1.1. 28. Gün Histopatolojik Bulguları

Grup 1a'da 28. günde yapılan histolojik analizde, defekt bölgesinde damar etrafındaki inflamatuvar hücreler belirgin görülmekle birlikte, fibröz dokuda artış saptanmış, kemik trabekülleri ve osteoblastik hücrelerin belirginleştiği görülmüştür (Resim 15 ). Grup 2a'nın 28. gününde ise, defekt bölgesinde yoğun vaskülarizasyon ve fibröz dokuda artış gözlemlendi. Kemik trabeküllerinin gelişeceği alanlarda vakuoler yapılar ve az sayıda osteoblastik hücreler görülmüştür (Resim 16)



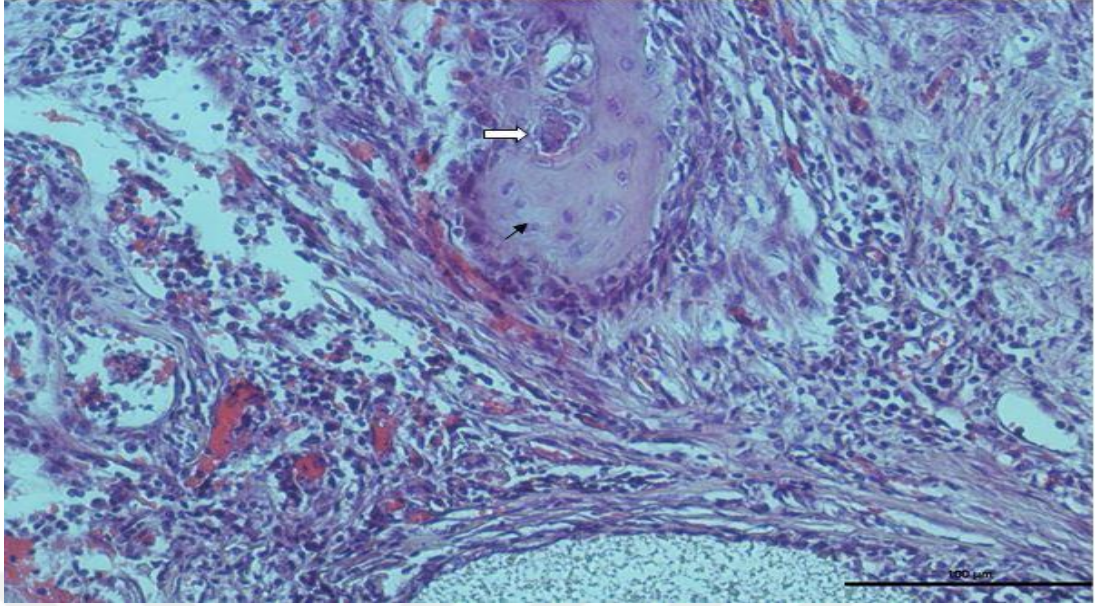
**Resim 15:** Grup 1a'dan 28. günde alınan histopatolojik kesitte inflamatuvar hücreler(ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



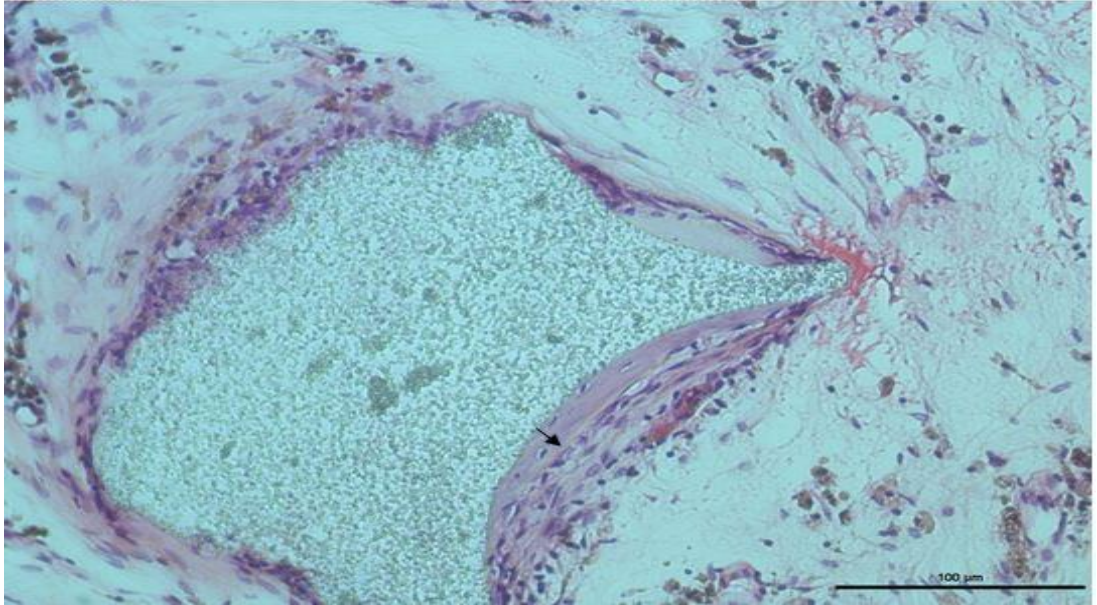


**Resim 16: Grup 2a'dan 28. günde alınan histopatolojik kesitte vaskülarizasyon (yıldız) ve osteoblastik hücreler (beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.**

Grup 1b'de 28. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, hücrel infiltrasyonun yoğunlaştığı, damar hemorajilerinin azaldığı gözlemlendi. Osteoklastik aktivitenin azalarak osteoblast hücrelerin aktifleştigi ve osteosit hücrelerinin laküner yapılar ile kemik trabeküllerinde belirginleştigi gözlemlendi. Genişleyen kemik trabeküllerinin orta kısımlarında küçük adacık halinde kemik iliği bölümleri izlenmiştir (Resim 17). Grup 2b'nin 28. gününde ise, vaskülarizasyonda azalma, defekt bölgesi dışındaki alanda diffüz mononükleer hücreler görüldü. Defekt halkalarının bulunduğu alanda kemik trabeküllerinin belirginleştigi osteoblastik aktivitenin artması ile birlikte osteosit hücrelerinin belirginleştigi gözlemlendi (Resim 18).



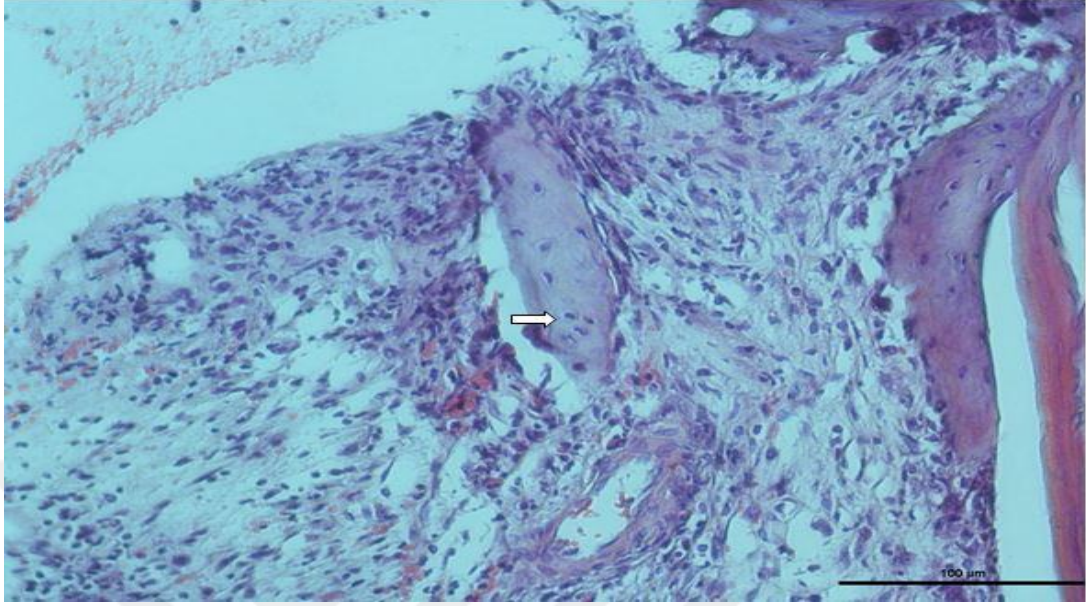
**Resim 17:** Grup 1b'den 28. günde alınan histopatolojik kesitte osteosit hücrelerinin laküner yapıları (ince siyah ok) ve kemik iliği bölümleri(kalın beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



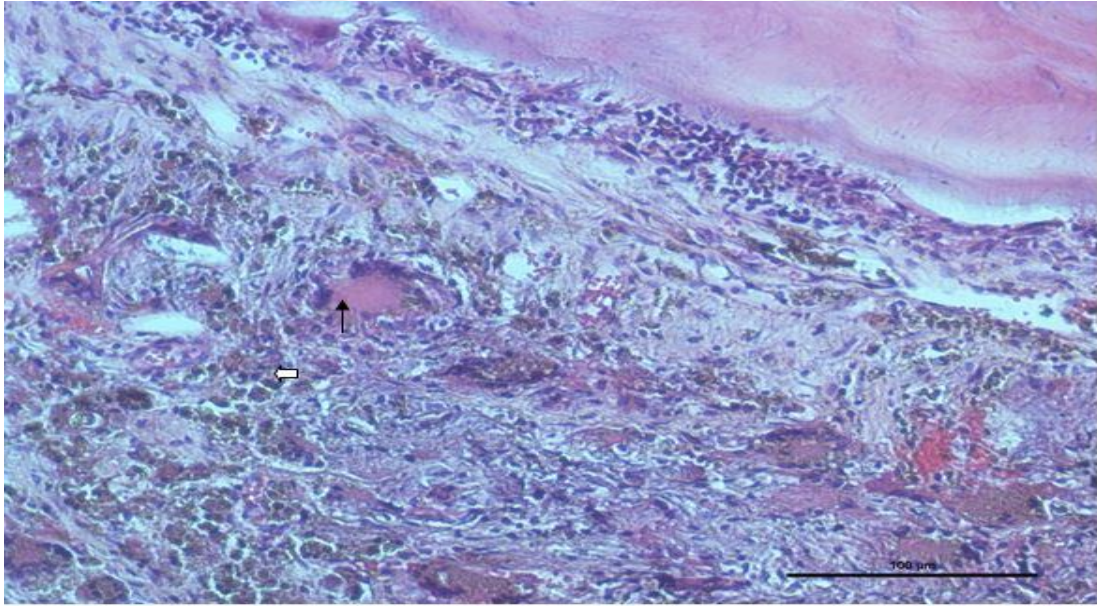
**Resim 18:** Grup 2b'den 28. günde alınan histopatolojik kesitte; osteosit hücreleri (ince siyah ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

Grup 1c'de 28. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, kemik trabeküllerinin belirginleştiği ve osteoblastik aktivite ve osteosit oluşumunun geliştiği gözlemlendi. Bağ dokusunda hücreli aktivite kollajen lif gelişiminin arttığı gözlemlendi (Resim 19). Grup 2c'nin 28. gününde ise, vaskülarizasyonda ve inflamatuvar hücrelerde küçük artışlar görülürken, küçük trabeküler parçalarda

osteoblastik hücrelerin belirginleşmeye başladığı ve adacık şeklinde kemik parçaların oluştuğu gözlemlendi (Resim 20).



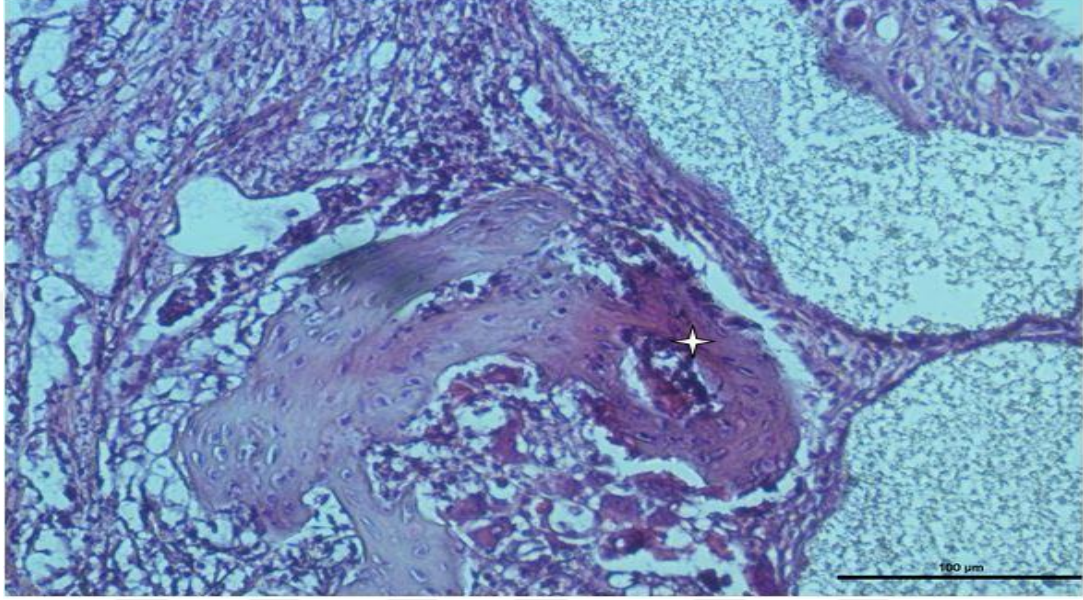
**Resim 19:** Grup 1c'den 28. günde alınan histopatolojik kesitte osteoblastik aktivite ve osteosit oluşumu (kalın beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



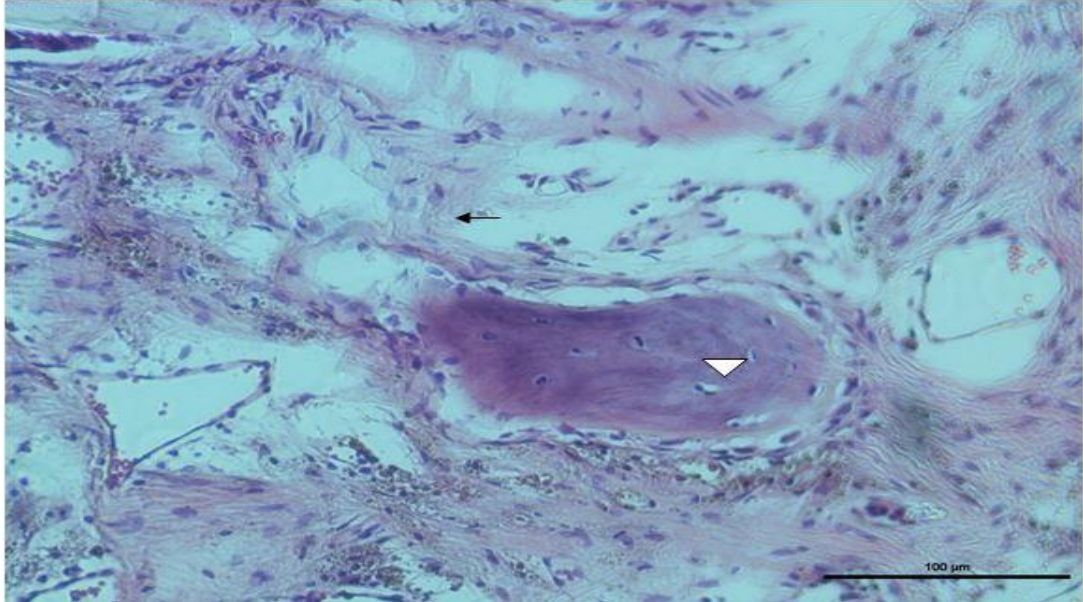
**Resim 20:** Grup 2c'den 28. günde alınan histopatolojik kesitte vaskularizasyon ve inflammatuar hücreler (beyaz ok) ve adacık şeklinde kemik parçaları (siyah ince ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

Grup 1d'te 28. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, kemik trabeküllerinin olgunlaştığı, kemik iliğinin belirginleştiği gözlemlendi. Yeni kemik

oluşumunun şekillendiği izlendi. Kollajen lif ve bağ doku hücresel artışı belirgin olarak görülmüştür (Resim 21). Grup 2d'nin 28. gününde ise, defekt bölgesinde kollajen liflerde artış, inflamatuvar hücrelerde bir azalma gözlenirken, osteoblastik aktivite ve osteosit hücrelerin gelişiminde bir artış gözlenmiştir. Kemik trabekülleri genişlemiş ve laküna içindeki osteositler belirginleşmiştir (Resim 22).



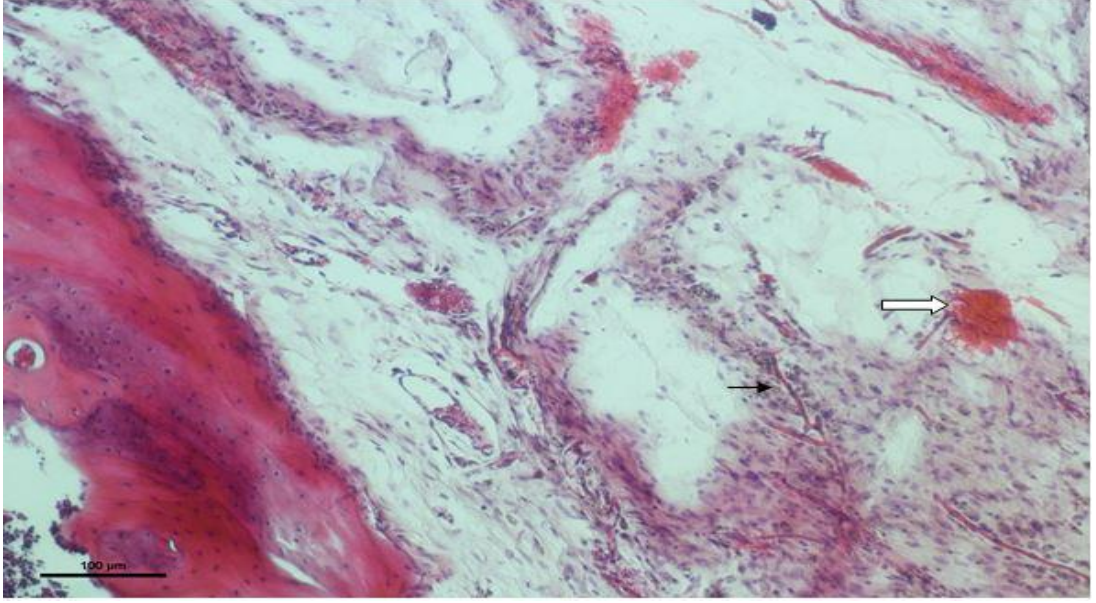
**Resim 21:** Grup 1d'ten 28. günde alınan histopatolojik kesitinde kemik iliği (yıldız) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



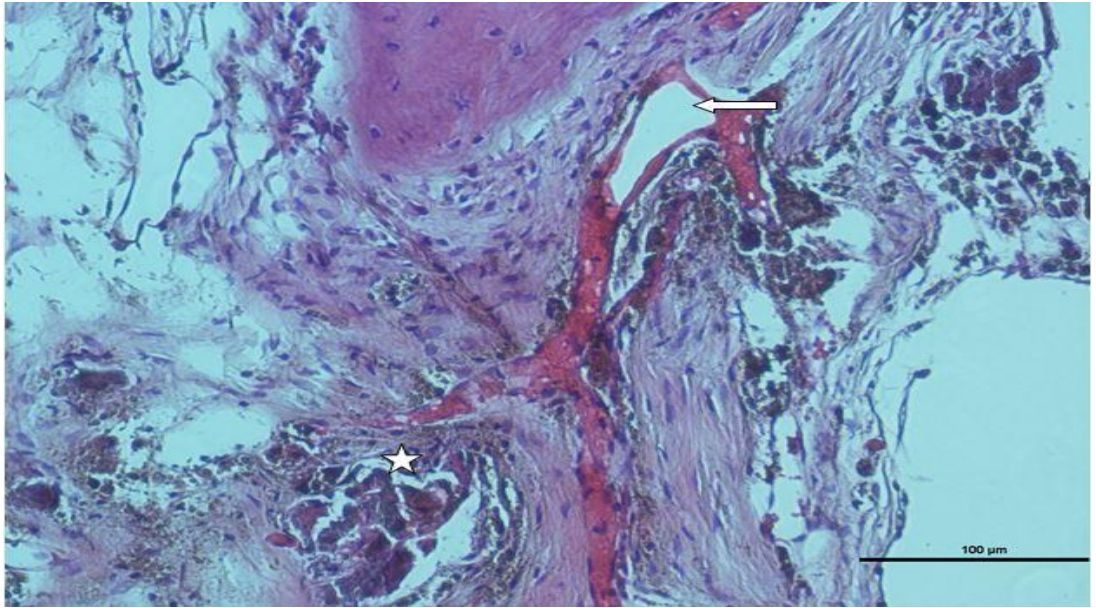
**Resim 22:** Grup 2d'ten 28. günde alınan histopatolojik kesitinde kollajen lifleri (ince siyah ok) ve laküna içinde osteosit (üçgen) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

#### 4.1.2. 56. Gün Histopatolojik Bulguları

Grup 1a'da 56. günde yapılan histopatolojik analizde, fibröz doku ile birlikte kollajen lif artışı ve küçük adacıklar şeklinde kemik trabekülleri belirmeye başlamıştır (Resim 23). Grup 2a'nın 56. gününde ise, kan damarlarında dilatasyon ve hemoraji, inflammatuar hücre infiltrasyonu ve fibröz dokuda artış gözlemlendi (Resim 24).

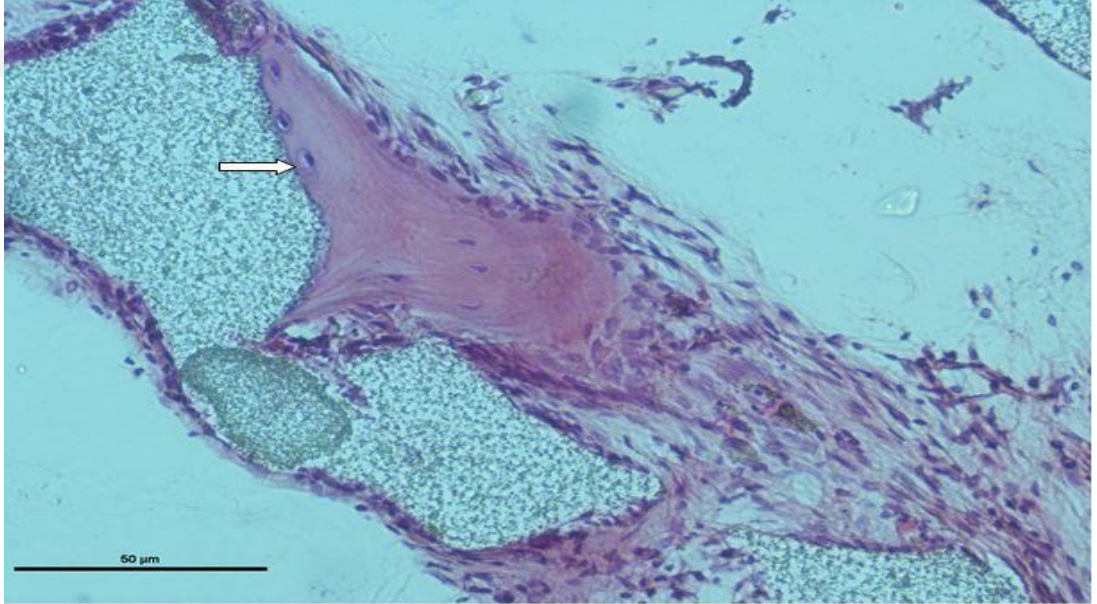


**Resim 23:** Grup 1a'dan 56. günde alınan histopatolojik kesitinde kollajen lifleri ve fibröz doku (ince siyah ok) ve adacık şeklinde kemik trabekülleri (kalın beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

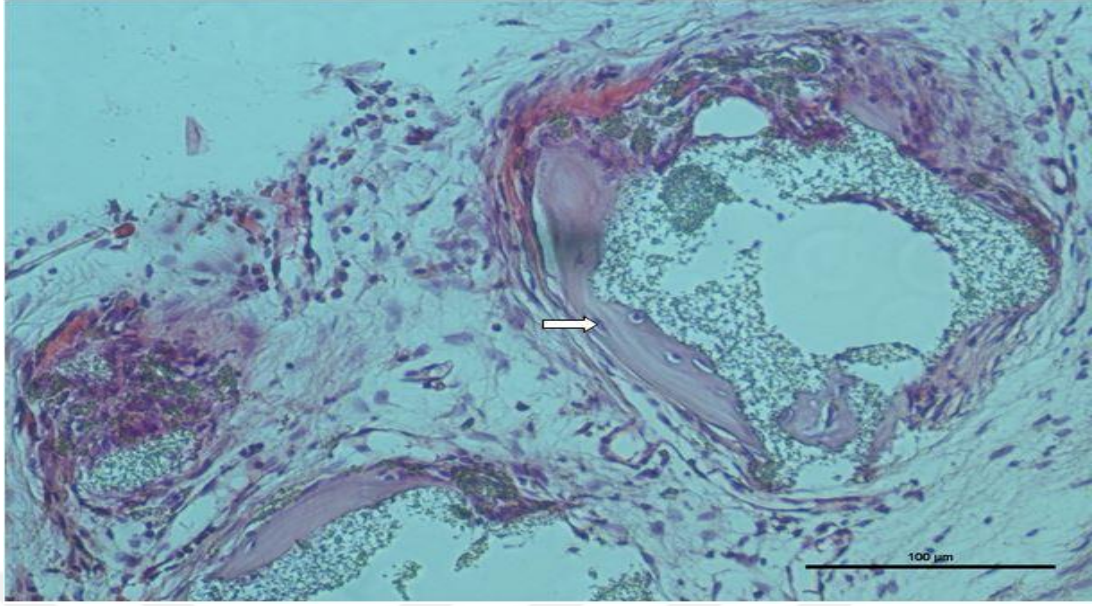


**Resim 24:** Grup 2a'dan 56. günde alınan histopatolojik kesitinde kan damarlarında dilatasyon (kalın beyaz ok) ve inflamatuvar hücreler (yıldız) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

Grup 1b'de 56. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, kollajen liflerde ve bağ doku hücrelerinde belirgin bir artış ve osteoblastik aktivitede bir artma ile birlikte osteosit hücreleri laküner yapının içine yerleşmiştir. Kemik tabeküllerinin yeni kemik oluşumu için genişlediği gözlemlendi (Resim 25). Grup 2b'nin 56. gününde ise, greft etrafında osteoblastik aktivitesi artış ve osteosit oluşumu gelişmiş kemik tabekülleri belirgin olarak izlemlendi. Kümeler şeklinde inflamatuvar hücreler ile birlikte kan damarlarında hemoraji görüldü (Resim 26).

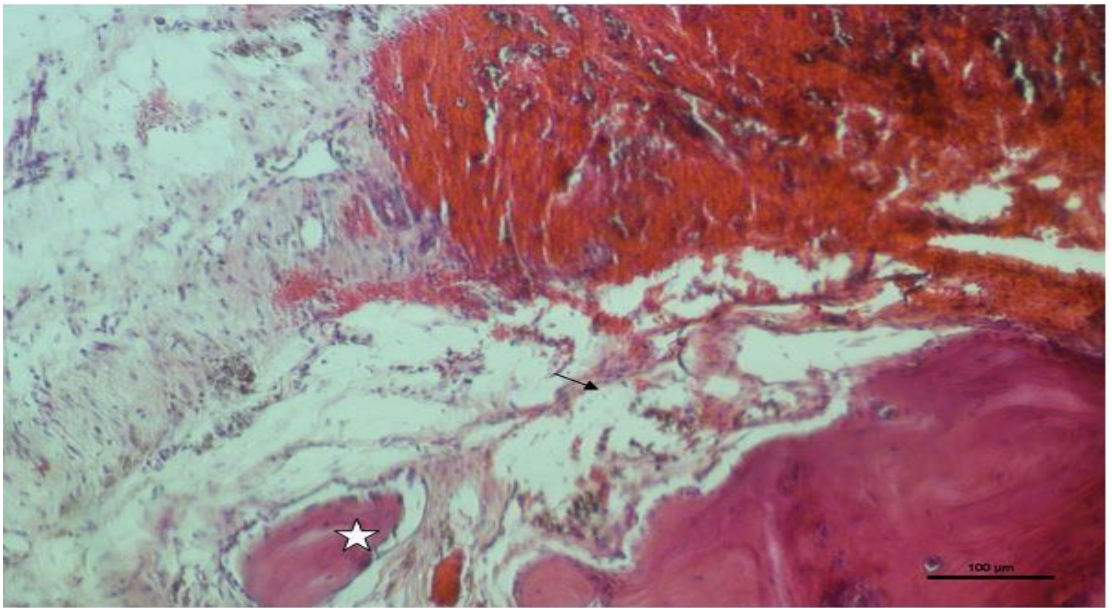


**Resim 25:** Grup 1b'den 56. günde alınan histopatolojik kesitinde osteosit hücreler (kalın beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 50µm.

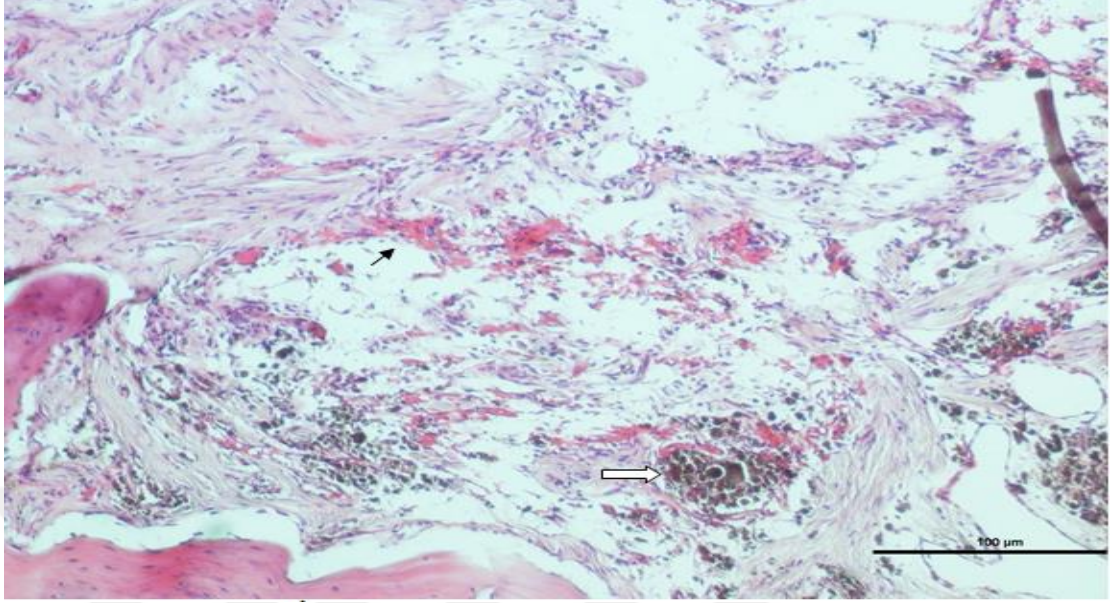


**Resim 26:** Grup 2b'den 56. günde alınan histopatolojik kesitinde osteosit oluşmuş gelişmiş kemik trabekülleri (kalın beyaz ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

Grup 1c'te 56. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, kan damarlarında dilatasyon ve serbest halde dağılmış eritrositler, inflamatuvar hücrelerde kısmen azalma, osteoblastik aktivite belirginleşme ve osteositler şekillenmeye başlamış yeni kemik öncüleri kemik trabekülleri küçük parçalar halinde oluşmuştur (Resim 27). Grup 2c'nin 56. gününde ise, kan damarlarında dilatasyon görülmüş, inflamatuvar hücreler kümeler şeklinde yerleşirken, küçük kemik trabeküllerinde osteoblastik aktivite başlamış ve greft etrafını sarmaya başlamıştır (Resim 28).



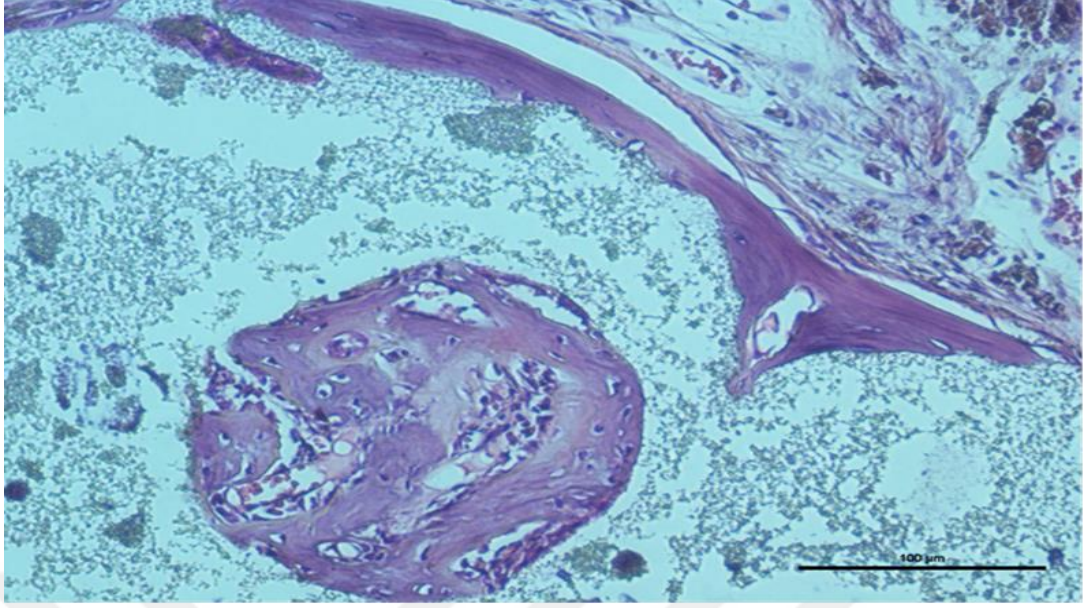
**Resim 27:** Grup 1c'den 56. günde alınan histopatolojik kesitte eritrosit hücreleri (ince siyah ok) ve kemik trabeküller parçaları (yıldız) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



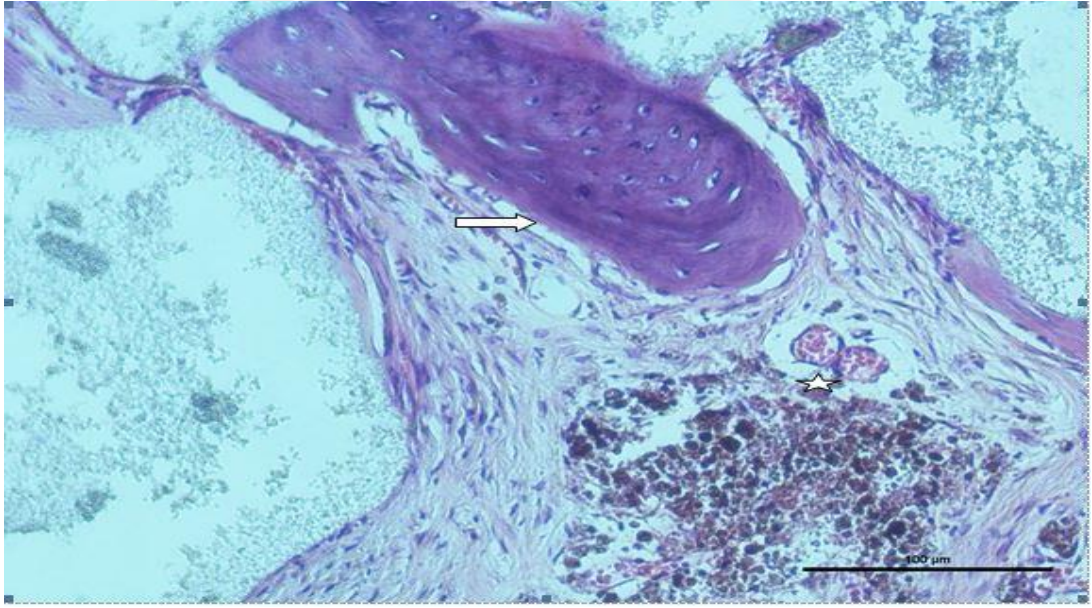
**Resim 28:** Grup 2c'den 56. günde alınan histopatolojik kesitte; inflamatuvar hücreleri (kalkın beyaz ok) ve osteoblastik aktivite başlaması (ince siyah ok) ile gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

Grup 1d'te 56. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, yeni kemik oluşumuna ait kemik trabekülleri aşırı genişleyerek aralarında kemik iliği hücreleri oluşmaya başlamıştır. Osteoblastik aktivite ve osteosit oluşumu iyice gelişmiş greft alanına yayılmıştır (Resim 29). Grup 2d'nin 56. gününde ise, kan damarlarında yer yer hemoraji ve inflamatuvar hücre yoğunluğu ile birlikte kollajen lifler paralel dağılım göstermiştir. Genişleyen kemik trabeküllerinde osteoblastik aktivite ile birlikte osteosit yapılanması belirgin olarak izlendi. Yeni kemik oluşumu şekillenmeye başlamıştır (Resim 30).





**Resim 29:** Grup 1d'ten 56. günde alınan histopatolojik kesitte; kemik trabeküller genişleyerek kemik iliği oluşturmuş ve osteositler greft alanına yayılmıştır. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.



**Resim 30:** Grup 2d'ten 56. günde alınan histopatolojik kesitinde inflamatuvar hücreler (yıldız) ve osteositlerin belirginleşmesi (kalın beyaz ok) yayılmıştır. Hematoksilen-Eozin boyama Bar 100µm.

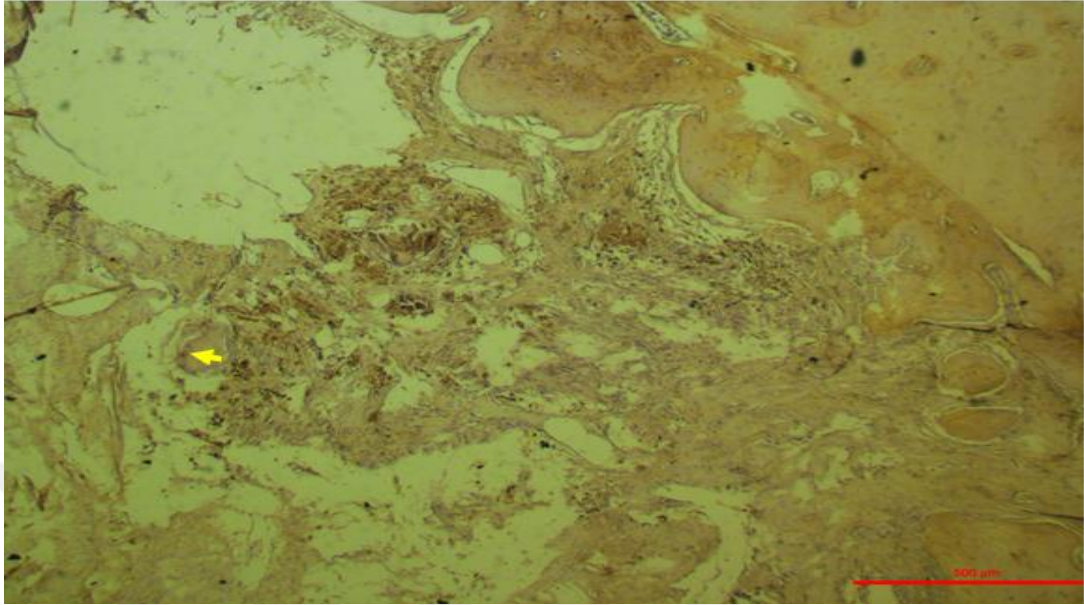
## **4.2. İmmünohistokimyasal Bulguları**

### **4.2.1. 28. Gün İmmünohistokimyasal Bulguları**

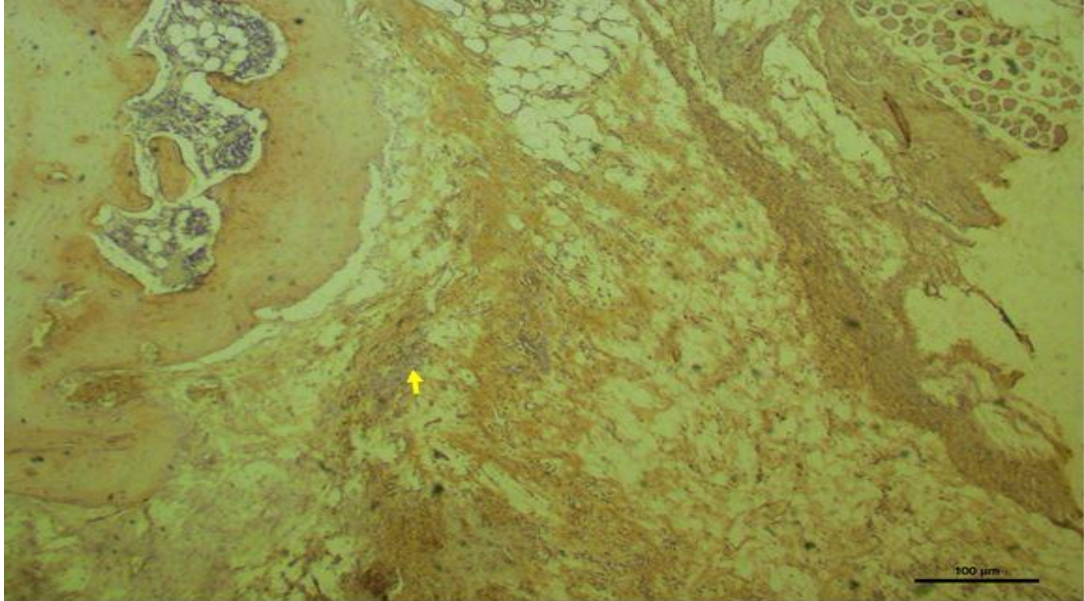
#### **4.2.1.1. 28. Gün Osteopontin Bulguları**

Grup 1a'da osteopontin boyamasının 28. gününde yapılan analizde, küçük kemik parçalarında mevcut osteoblastlarda pozitif osteopontin ekspresyonu olduğu

görülmüştür (Resim 31). Grup 2a'nın 28. gününde ise, osteoblastlarda negatif osteopontin ekspresyonu gözlemlenmiştir (Resim 32).



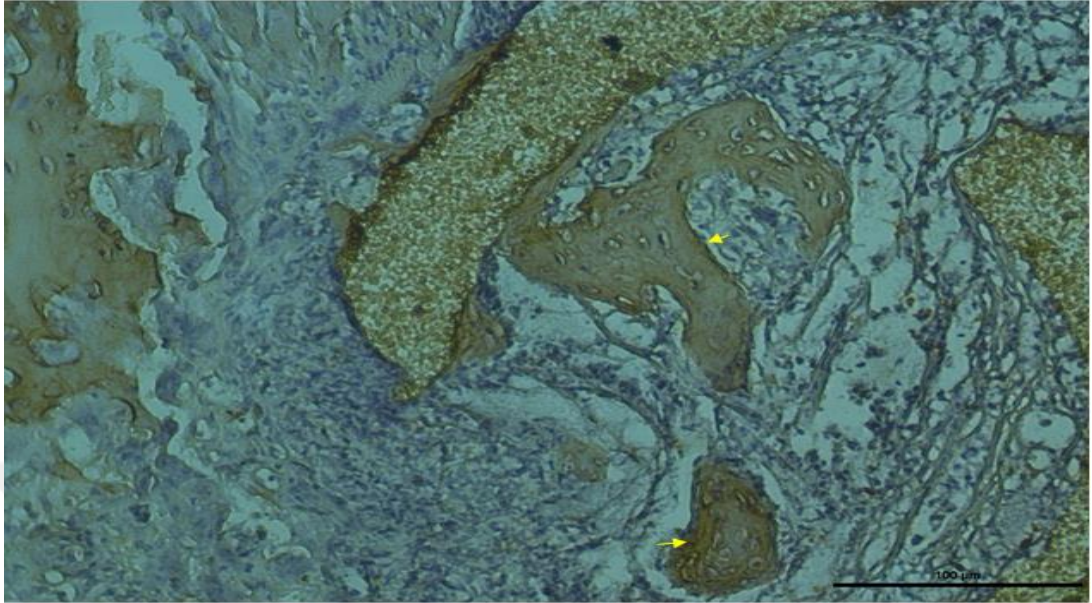
**Resim 31:** Grup 1a'dan 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte osteoblastlarda pozitif osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immün boyama Bar 500µm.



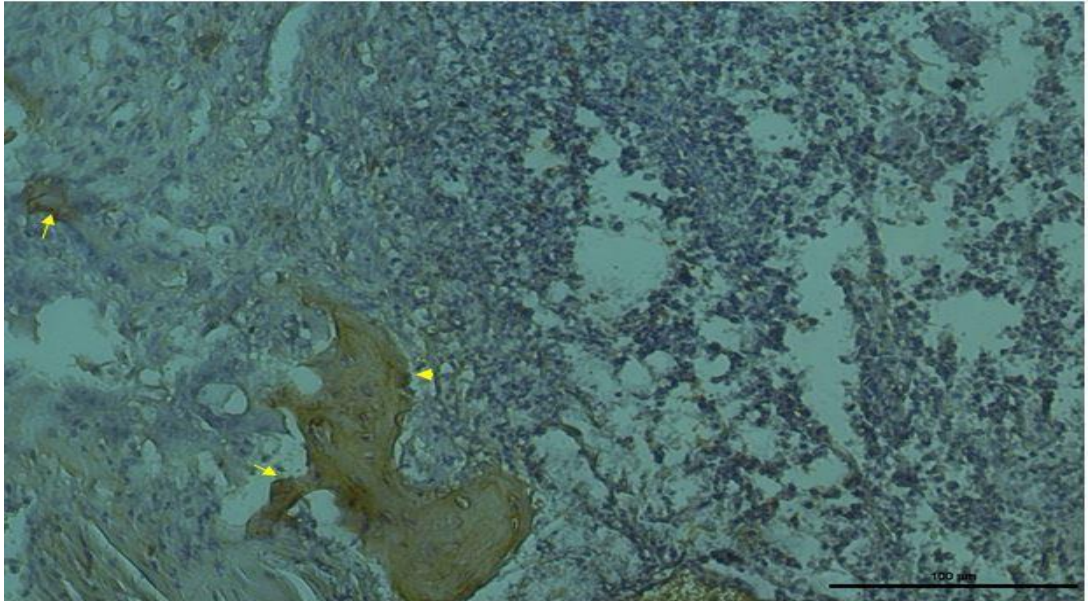
**Resim 32:** Grup 2a'dan 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte osteoblastlarda negatif osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immün boyama Bar 100µm.

Grup 1b'de 28. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanları arasında genişlemiş kemik trabeküllerinde osteoblast hücrelerinde osteopontin ekspresyonu pozitif görülmüştür (Resim 33). Grup 2b'nin 28. gününde ise, kemik

trabeküllerinin periferindeki osteoblast hücrelerinde osteopontin pozitif ekspresyonu izlenmiştir(Resim 34).

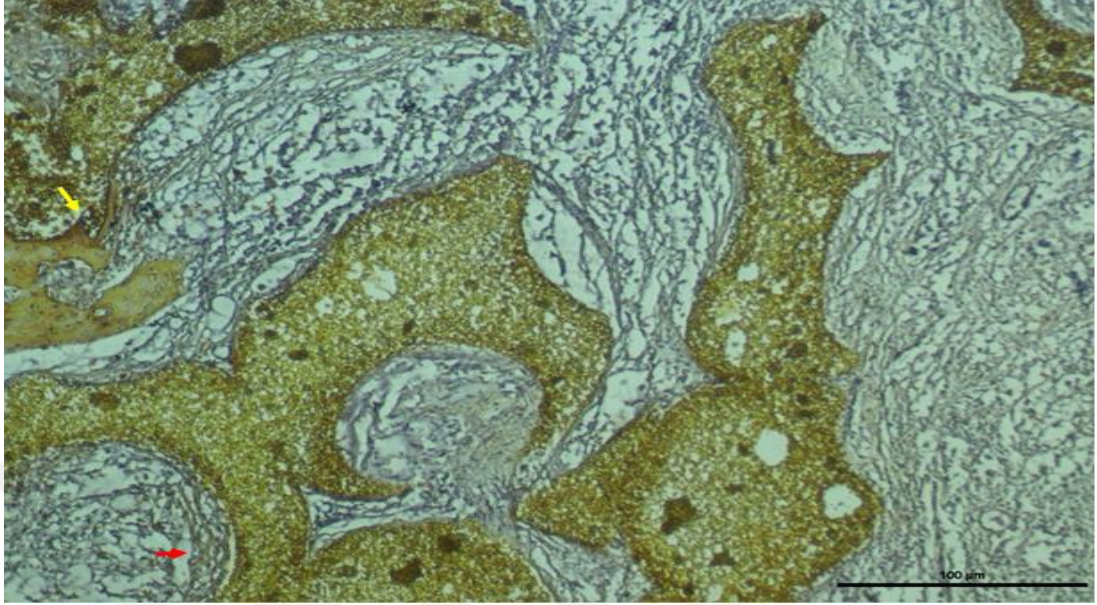


**Resim 33: Grup 1b'den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; kemik tabeküllerinde osteopontin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.**

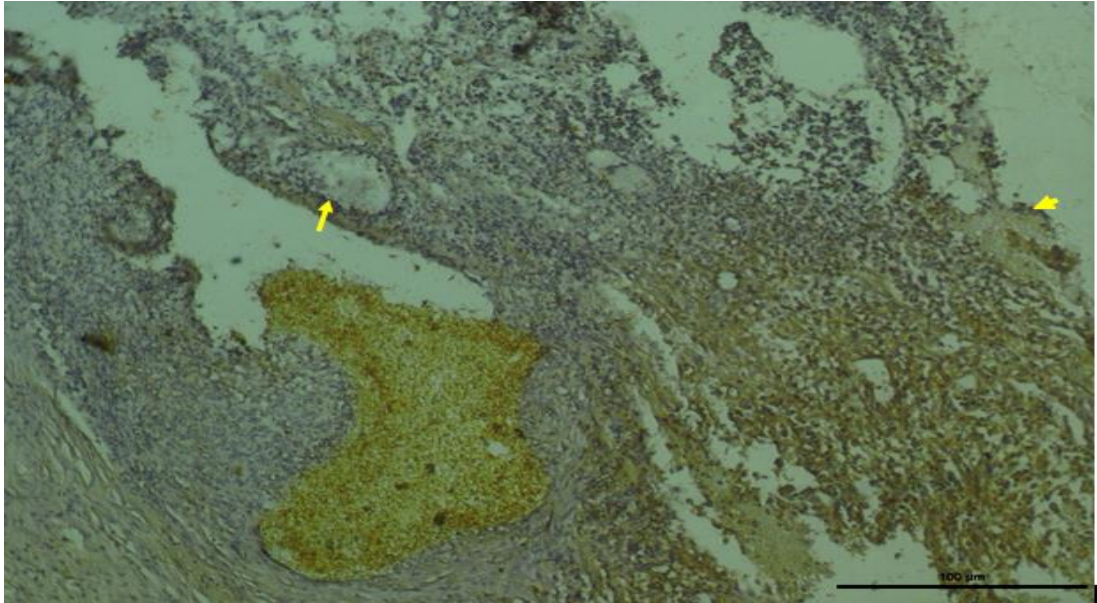


**Resim 34: Grup 2b'den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde periferindeki osteoblast hücreleri osteopontin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.**

Grup 1c'de 28. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, osteoblastik aktivitede artış ve osteoblast hücrelerinde osteopontin pozitif reaksiyon verdiğini tespit edilmiştir (Resim 35). Grup 2c'nin 28. gününde ise, inflamatuvar hücreler arasındaki küçük kemik trabeküllerinde osteopontin pozitif ekspresyon izlenmiştir(Resim 36).



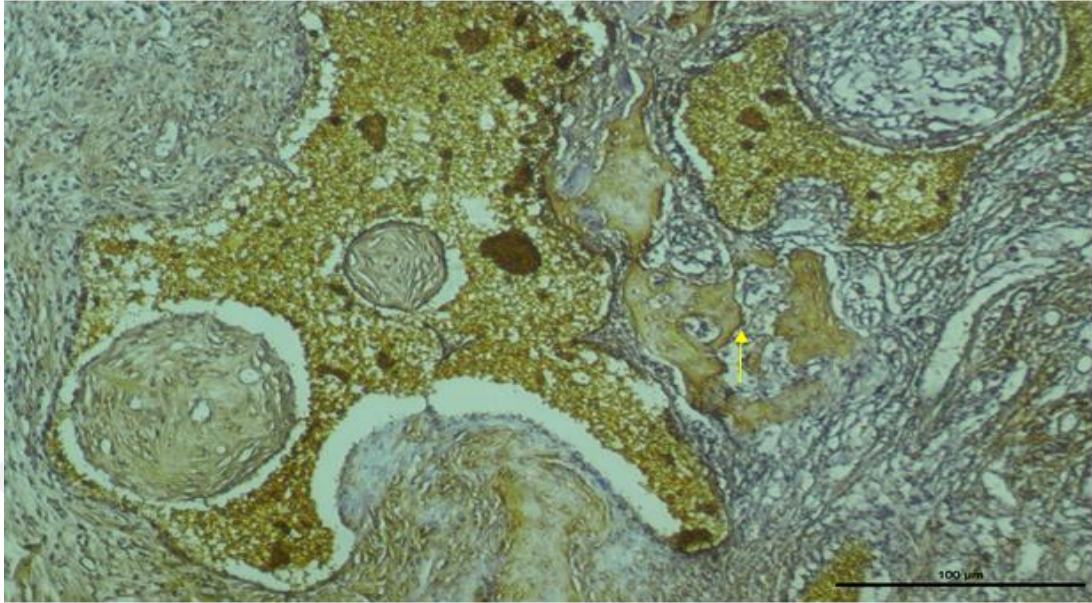
**Resim 35:** Grup 1c'den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblastik artış (kırmızı ok) ve osteopontin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteopontin immün boyama Bar 100µm.



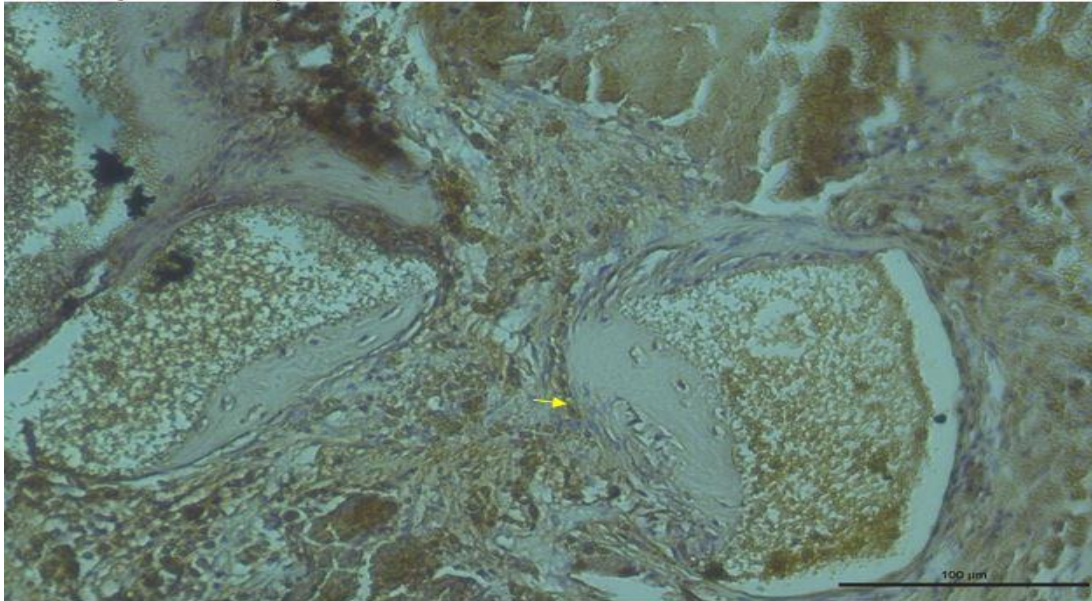
**Resim 36:** Grup 2c'den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde kemik trabeküllerinde osteopontin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteopontin immün boyama Bar 100µm.

Grup 1d'te 28. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanları arasında gelişmiş kemik trabeküllerinde osteoblast hücrelerinde osteopontin ekspresyonunda artışı gözlemlendi (Resim 37). Grup 2d'nin 28. gününde ise, greft

alanında yassı kemik parçalarında osteoblast hücrelerinde pozitif osteopontin ekspresyonu gösterilmiştir (Resim 38).



**Resim 37:** Grup 1d'ten 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblast hücreleri osteopontin ekspresyonu artışı (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

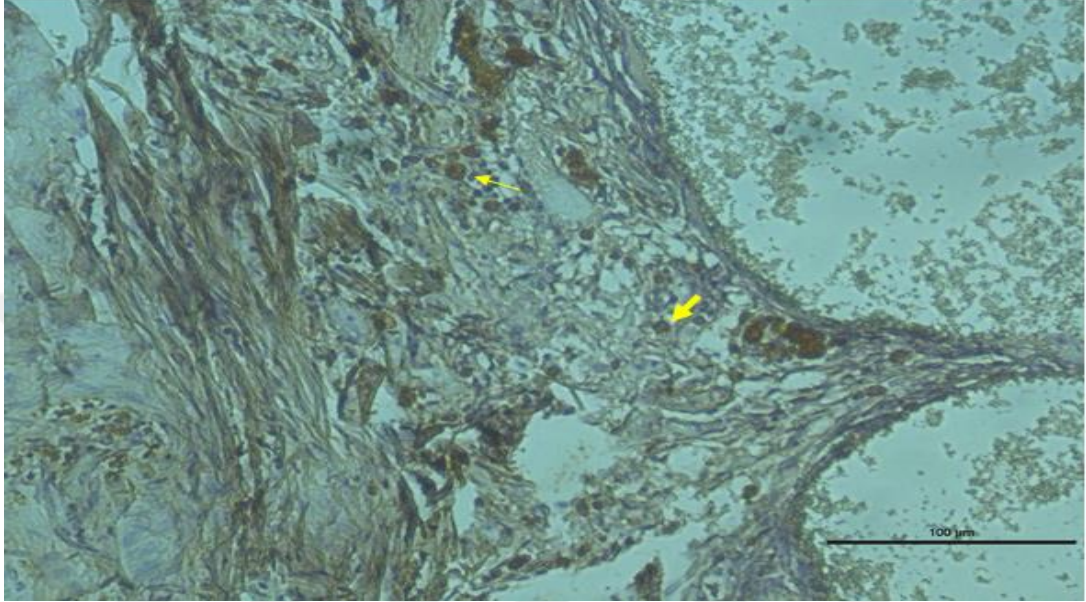


**Resim 38:** Grup 2d'ten 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

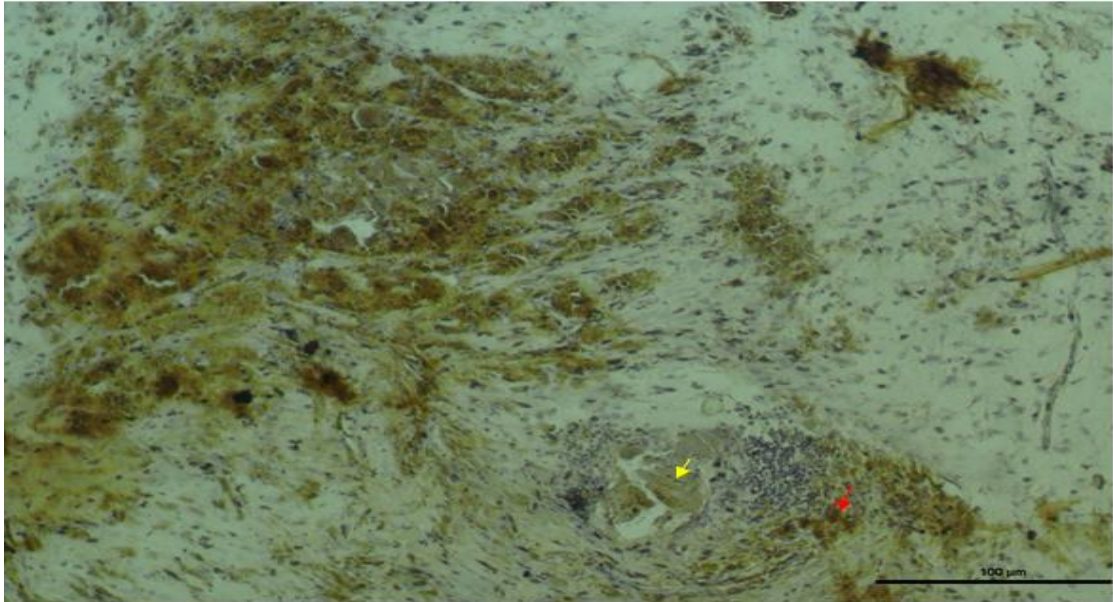
#### 4.2.1.2. 28. Gün Osteonektin Bulguları

Grup 1a'da osteonektin boyamasının 28. gününde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanları dışında bazı öncü bağ doku

hücrelerinde osteonektin ekspresyonları pozitif olarak gözlemlendi. (Resim 39). Grup 2a'nın 28. gününde ise, inflamatuvar hücreler arasında kollajen lif alanlarının bulunduğu yerdeki bağ doku hücrelerinde pozitif ekspresyon gözlenirken, küçük kemik parçalar içindeki osteosit hücrelerde osteonektin negatif reaksiyon göstermiştir (Resim 40).

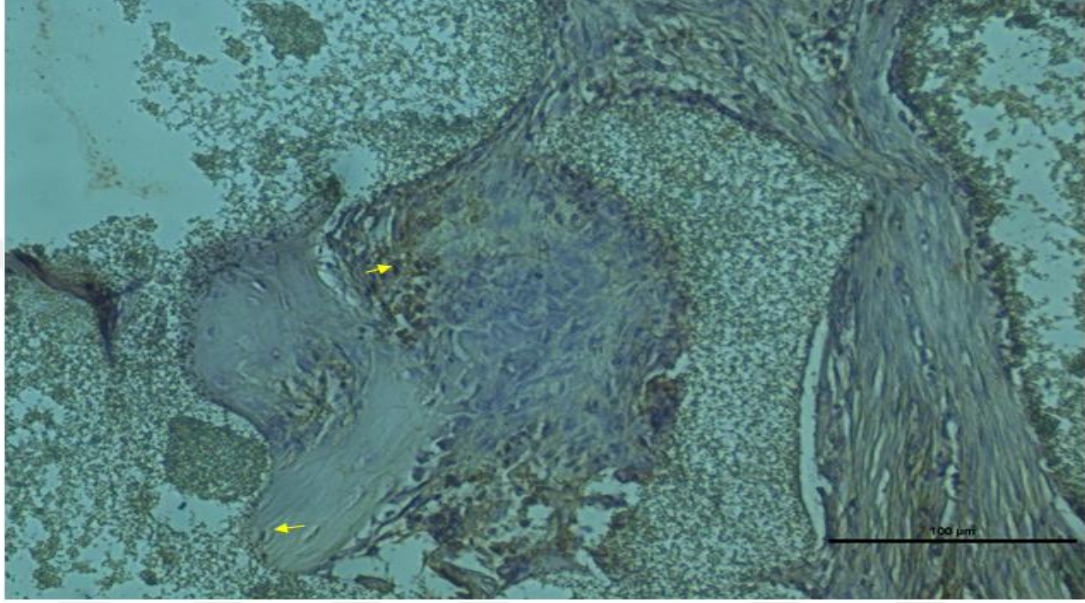


**Resim 39:** Grup 1a'dan 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; bağ dokusu hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (sarı ok) . Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

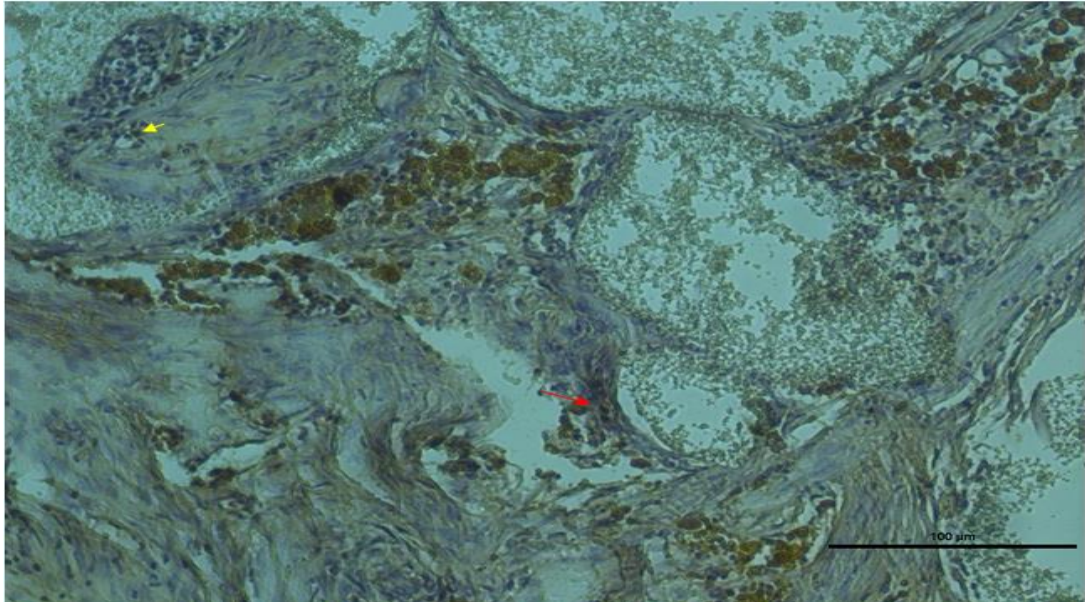


**Resim 40:** Grup 2a'dan 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde bağ dokusu hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (kırmızı ok) ve kemikteki osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu negatif (sarı ok) . Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

Grup 1b’de 28. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft parçalarının arasında genişleyen trabekülleri içinde osteosit hücrelerinde osteonektin pozitif ekspresyonları belirgin olarak izlenmiştir (Resim 41). Grup 2b’nin 28. günde ise, greft alanları etrafındaki kollajen lifler arasındaki bazı bağ doku hücrelerinde osteonektin pozitif reaksiyon daha az iken, kemik trabekülleri içinde az sayıdaki osteosit hücrelerinde osteonektin pozitif ekspresyonu gözlemlendi (Resim 42).

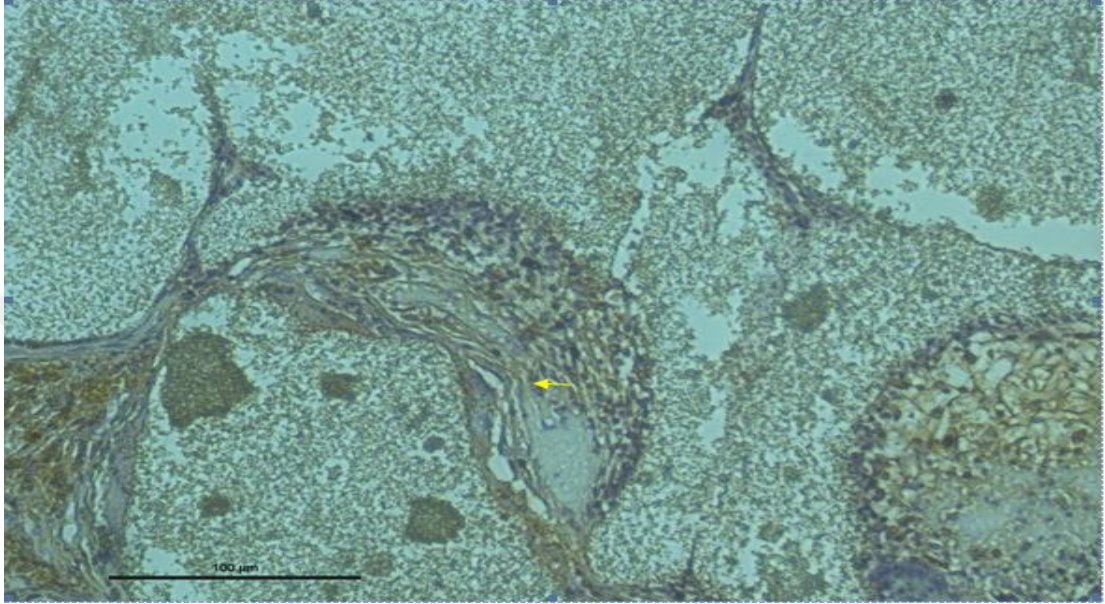


**Resim 41: Grup 1b’den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.**

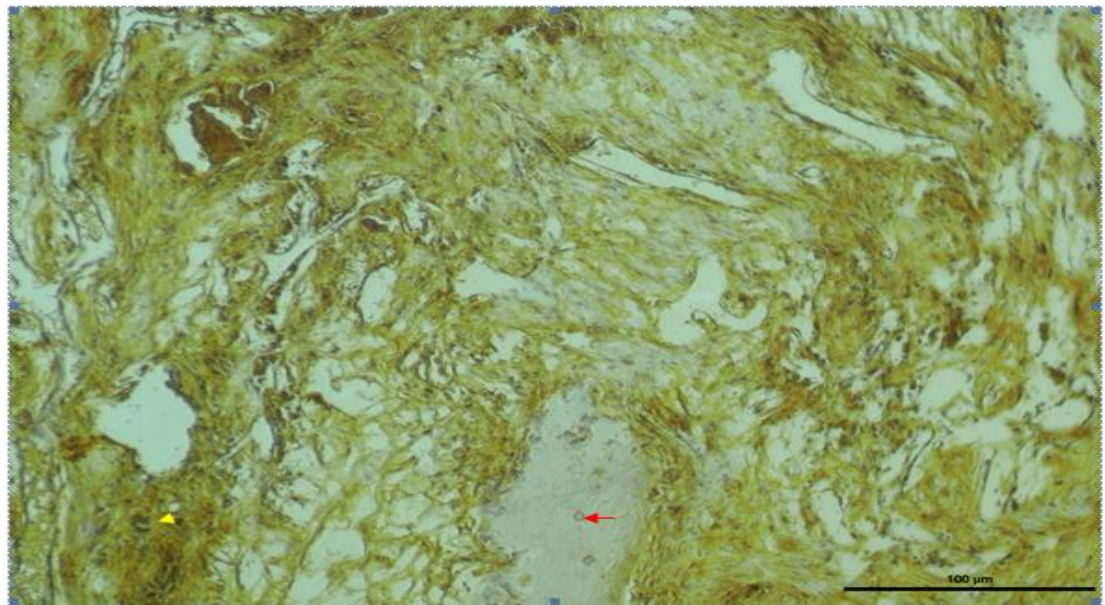


**Resim 42: Grup 2b’den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde bağ dokusu hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (kırmızı ok) ve kemikteki osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif(sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.**

Grup 1c’de 28. günde yapılan analizde, greft alanı içinde oluşan küçük kemik trabekülleri arasında az sayıdaki osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu izlenmiştir (Resim 43). Grup 2c’nin 28. gününde ise, bazı kemik trabeküllerinin içindeki osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu gözlenirken, bazı trabeküllerinde negatif ekspresyon görüldü (Resim 44).



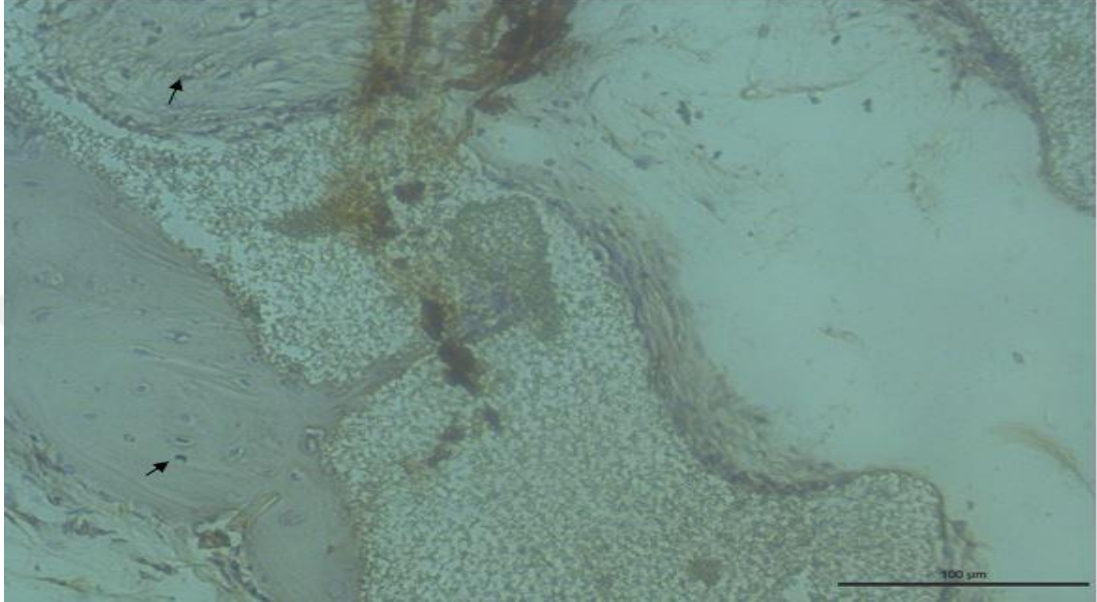
**Resim 43:** Grup 1c’den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.



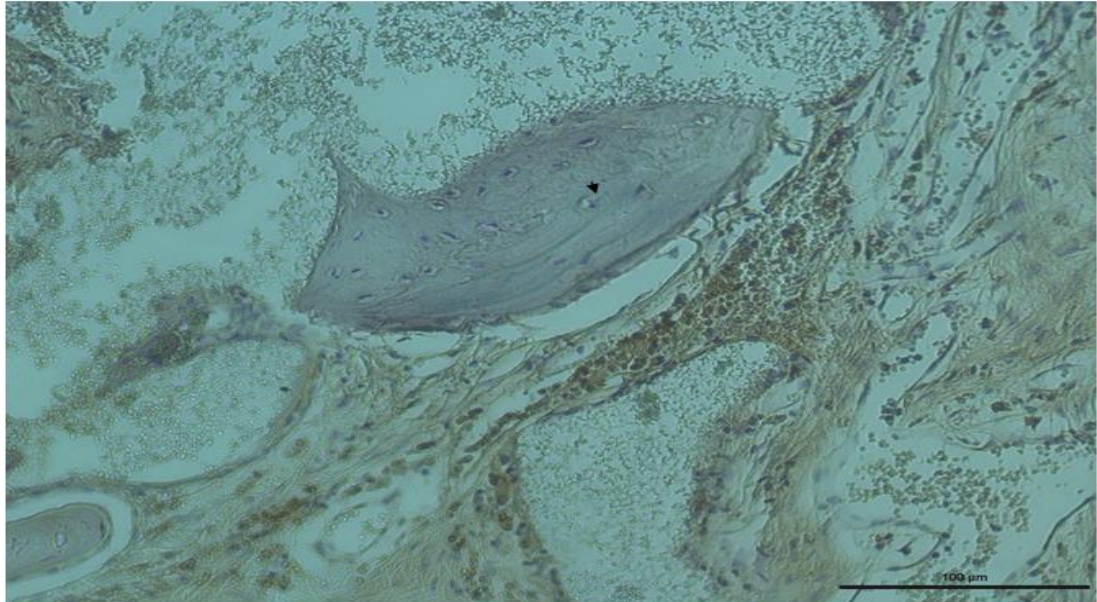
**Resim 44:** Grup 2c’den 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif (sarı ok başı) ve kemik trabeküllerinde negatif osteonektin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.



Grup 1d'te 28. günde yapılan analizde, greft parçaları ile birleşme eğilimindeki kemik trabekülleri içinde osteosit hücreleri pozitif osteonektin ekspresyonu göstermiştir (Resim 45). Grup 2d'nin 28. gününde ise, kemik trabeküllerinde osteosit hücrelerde osteonektin ekspresyonu gösterilmiştir(Resim 46).



**Resim 45:** Grup 1d'ten 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (ince siyah ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

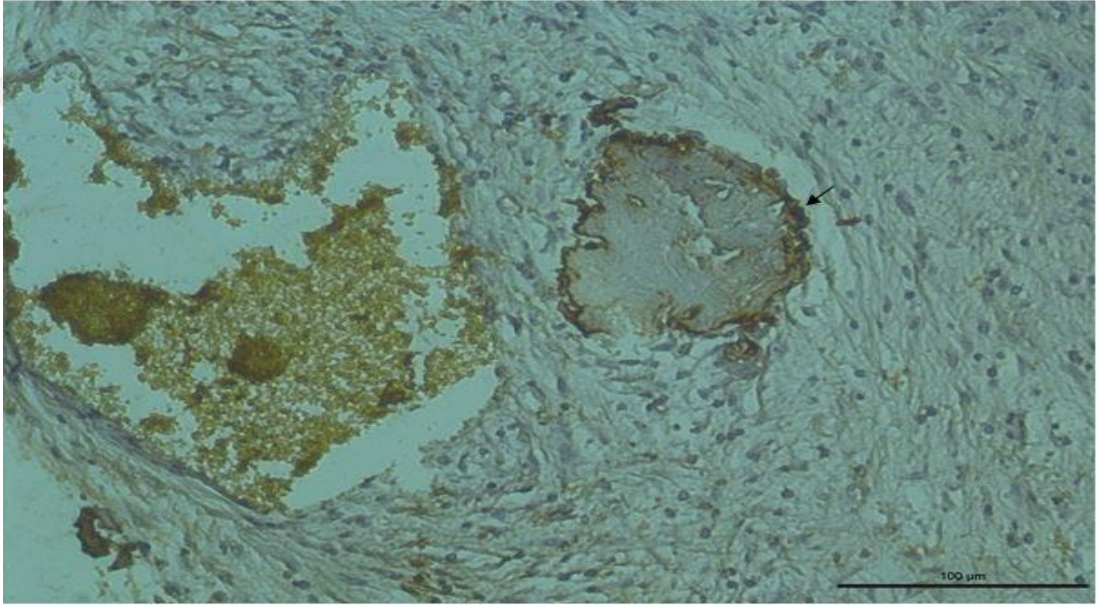


**Resim 46:** Grup 2d'ten 28. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu (ince siyah ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

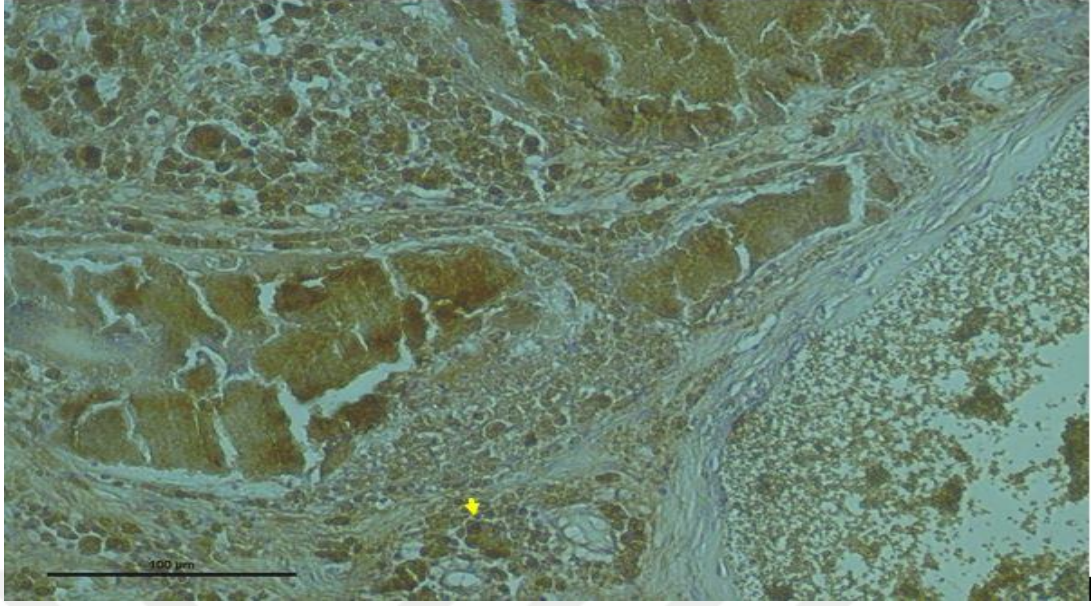
## 4.2.2. 56. Gün İmmünohistokimyasal Bulguları

### 4.2.2.1. 56. Gün Osteopontin Bulguları

Grup 1a'da osteopontin boyamasında 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanı dışında bağ doku artışı ile birlikte kemik trabekülleri periferinde osteoblastik hücrelerde pozitif osteopontin ekspresyonu gözlemlendi (Resim 47). Grup 2a'nın 56. gününde ise, greft alanları dışında inflamatuvar hücreler arasında küçük parçalar dış tarafında osteoblast hücrelerinde osteopontin ekspresyonu gösterilmiştir ( Resim 48).

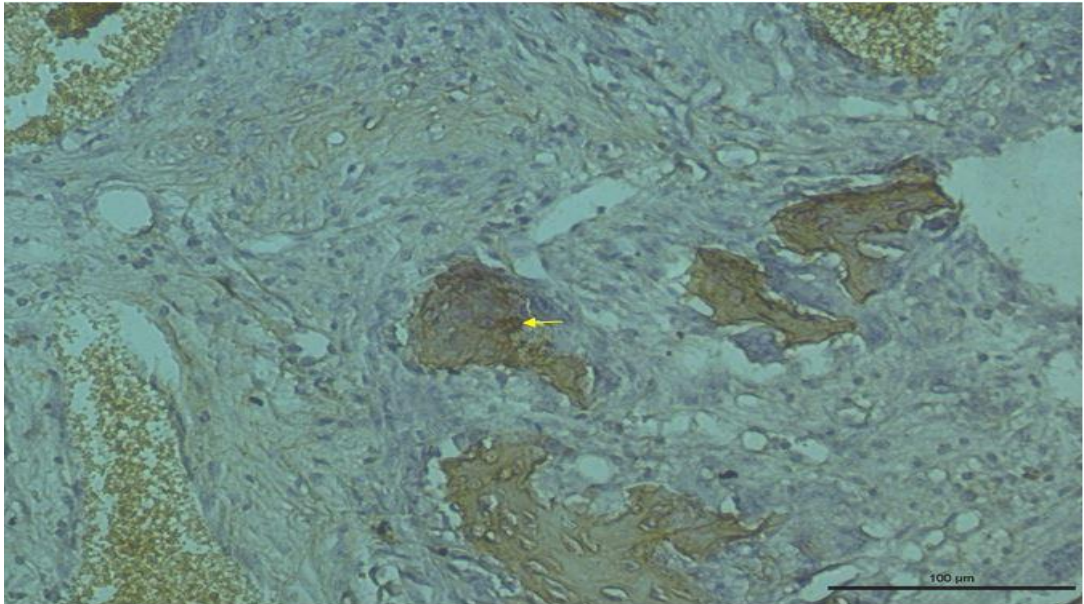


**Resim 47: Grup 1a'dan 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblast hücreleri osteopontin ekspresyonu artışı (ince siyah ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.**

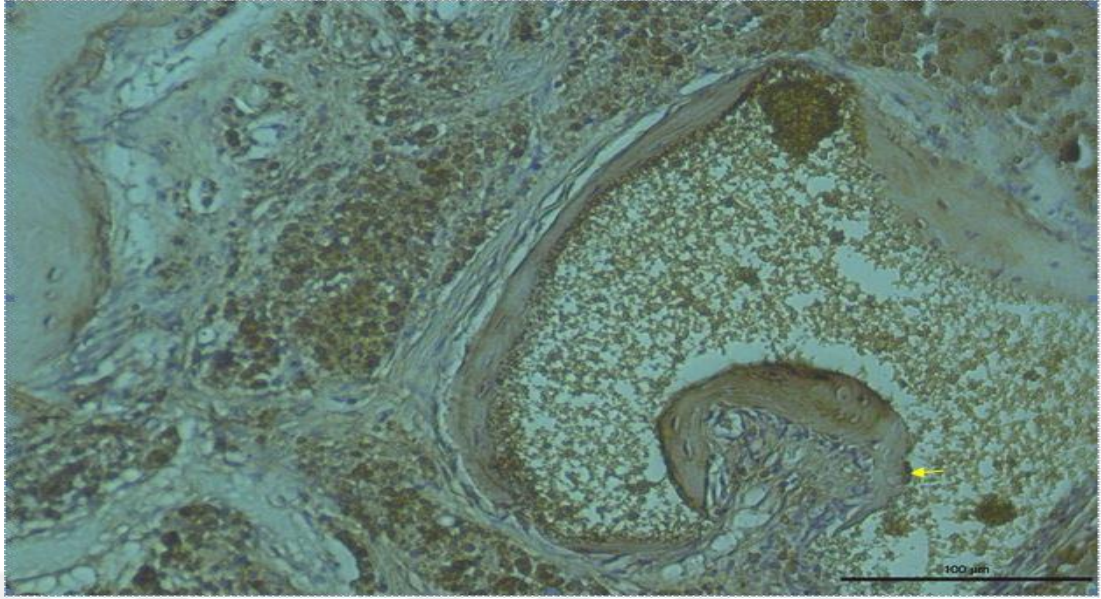


**Resim 48:** Grup 2a'dan 56. günde alınan immünohistokimyasal kesittinde osteoblast hücreleri osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100μm.

Grup 1b'de 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, kemik trabeküllerinin sayısı artmaya başlamış ve osteoblast hücrelerinde osteopontin ekspresyonu belirgin ve osteosit hücreler şekillenmiştir. (Resim 49). Grup 2b'nın 56. gününde ise, greft bölgesi içinde kemik trabeküllerinde osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu göstermiş ve osteosit hücreleri şekillenmiş yeni kemik oluşumu başlamıştır ( Resim 50).

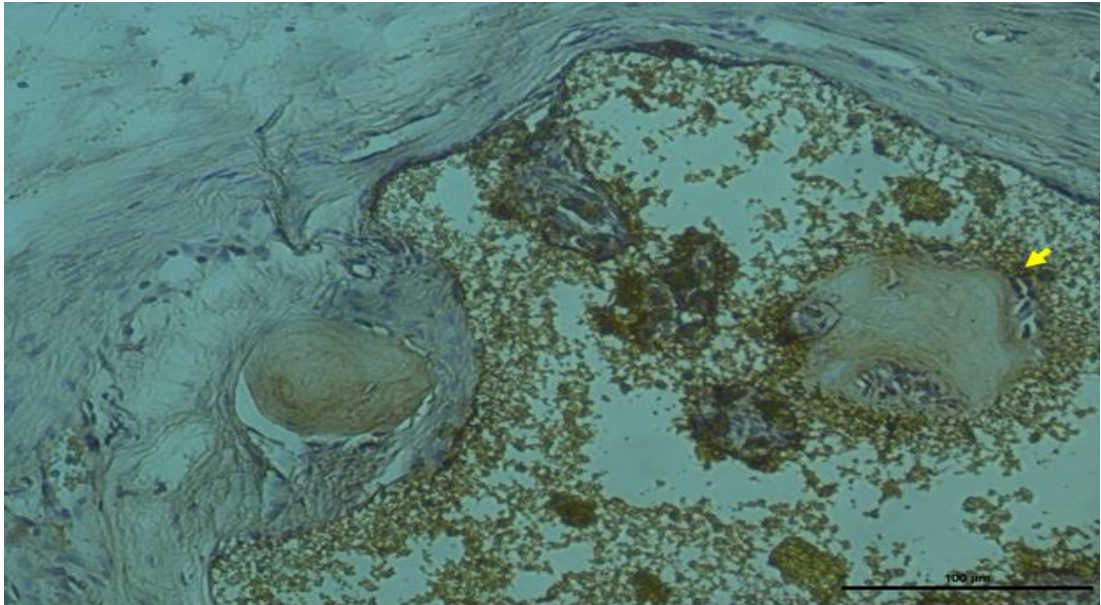


**Resim 49:** Grup 1b'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblast hücreleri osteopontin ekspresyonu belirgin (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100μm.

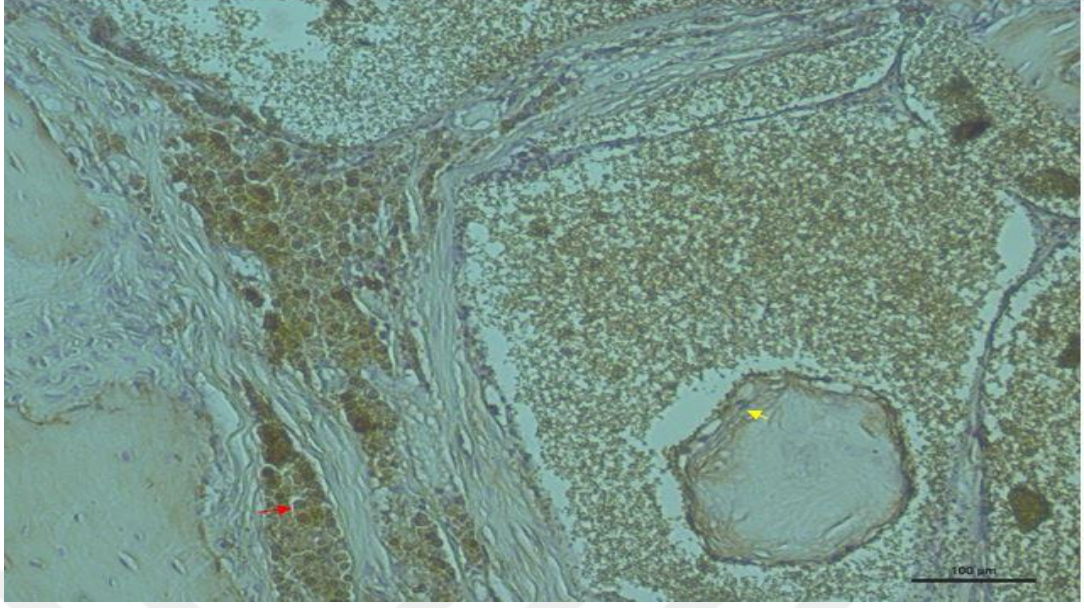


**Resim 50:** Grup 2b'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu belirgin (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

Grup 1c'de 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanı içinde farklı şekilde kemik trabekülleri dışındaki osteoblast hücrelerinde pozitif osteopontin ekspresyonu görülmektedir (Resim 51). Grup 2c'nin 56. gününde ise, greft alanı içindeki kemik trabekülleri dışındaki osteoblast hücrelerinde zayıf osteopontin ekspresyonu ve inflamatuvar hücreler arasında pozitif osteopontin ekspresyonu izlendi ( Resim 52).

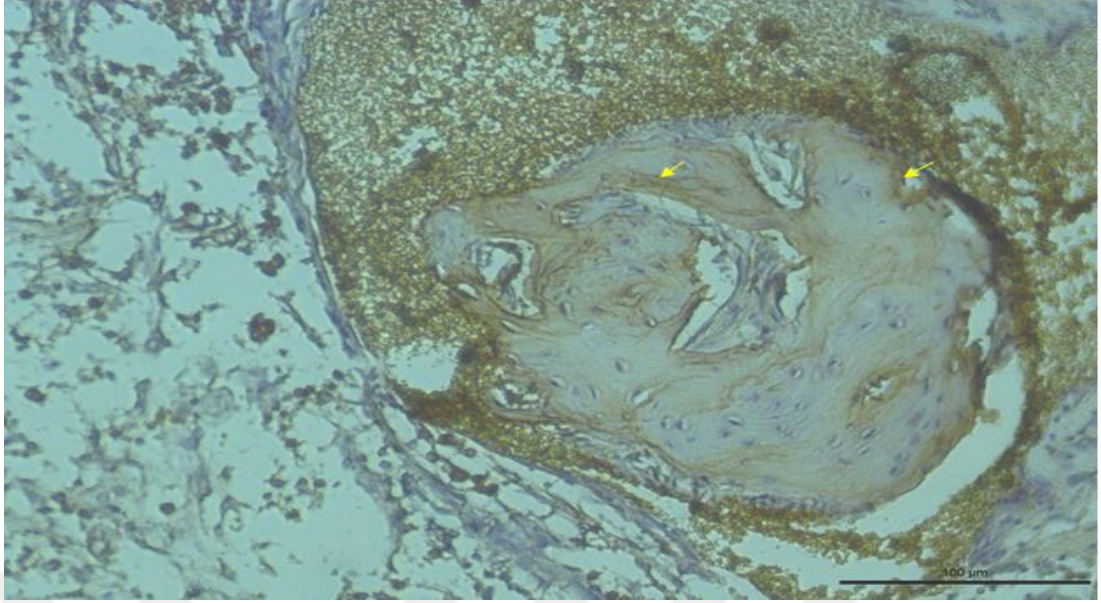


**Resim 51:** Grup 1c'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

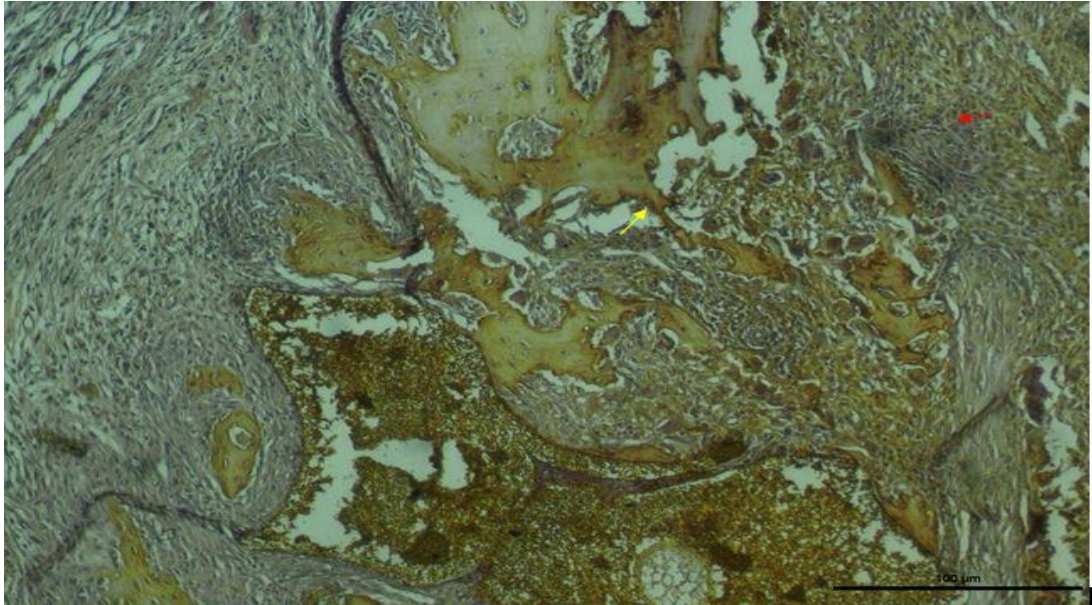


**Resim 52:** Grup 2c'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte osteoblast hücreleri zayıf osteopontin ekspresyonu (sarı ok) ve inflamatuvar hücrelerde pozitif osteopontin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100 $\mu$ m.

Grup 1d'de 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanı içinde geniş kemik trabekülleri dışında osteoblast hücrelerinde ve matris alanı içinde pozitif osteopontin ekspresyon oluşurken, yeni kemik yapısı tam olarak şekillenmeye başlamıştır (Resim 53). Grup 2d'nin 56. gününde ise, greft alanları dışında farklı büyüklükte kemik trabeküllerinin dışında osteoblastlarda osteopontin pozitif ekspresyonu ve bağ dokusu içindeki hücrelerde osteopontin pozitif hücreler görüldü (Resim 54).



**Resim 53:** Grup 1d'ten 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu (sarı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

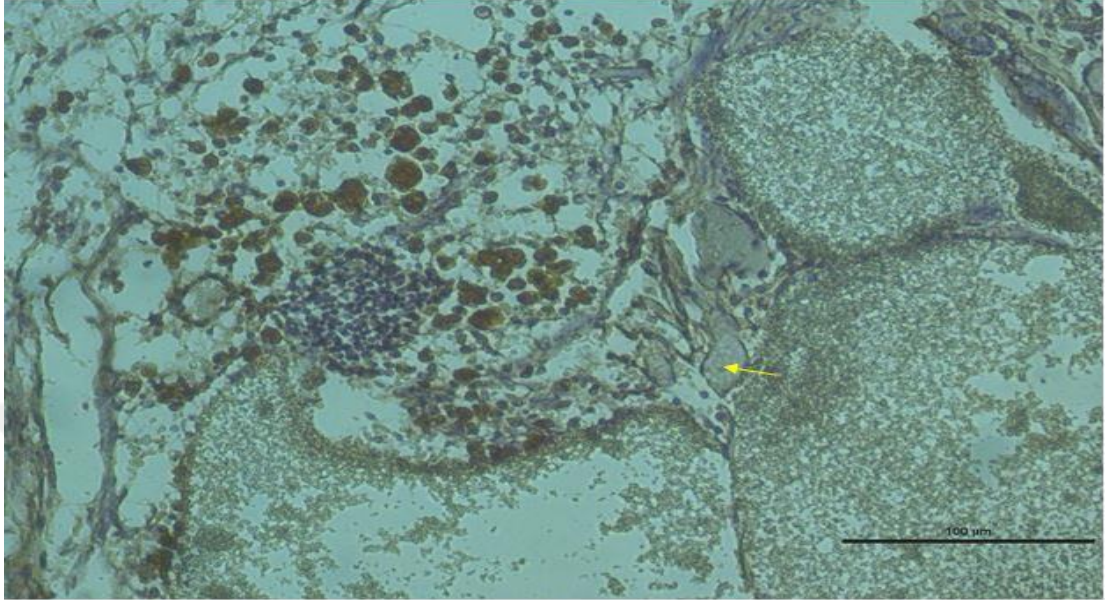


**Resim 54:** Grup 2d'ten 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; kemikteki osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu (sarı ok) ve bağ dokusundaki osteoblast hücreleri pozitif osteopontin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteopontin immun boyama Bar 100µm.

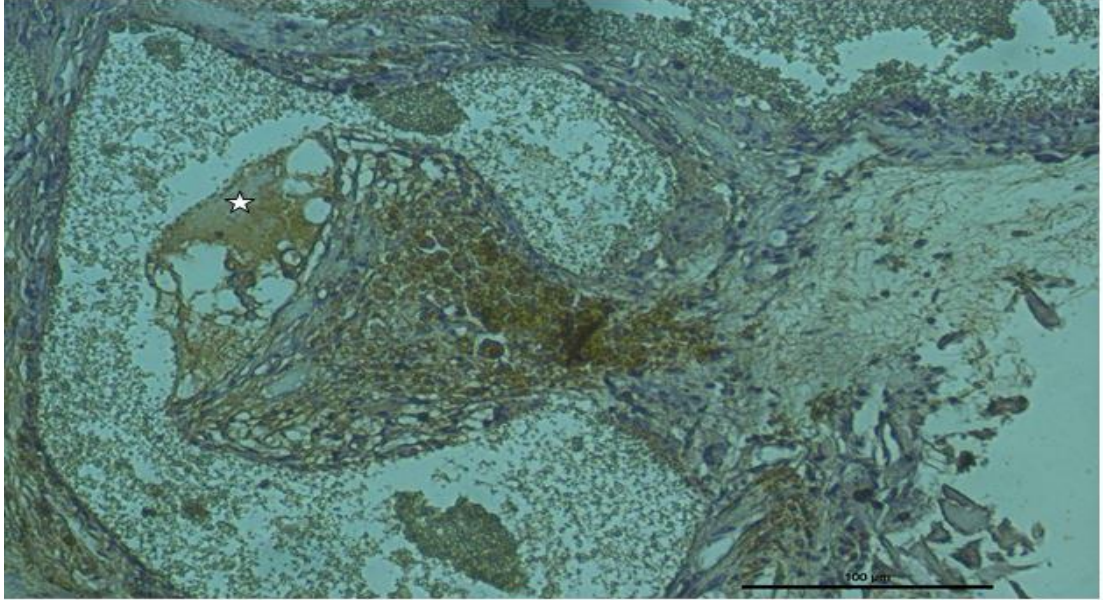
#### **4.2.2.2. 56. Gün Osteonektin Bulguları**

Grup 1a'da osteonektin boyamasında 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanları dışındaki bölgede küçük kemik

trabeküllerinde negatif osteonektin ekspresyonu izlenmiştir (Resim 55). Grup 2a'nın 56. gününde ise, greft alanı içindeki kemik trabeküllerinde osteosit hücreleri oluşmamış ve osteonektin ekspresyonu negatif olarak gösterilmiştir (Resim 56).



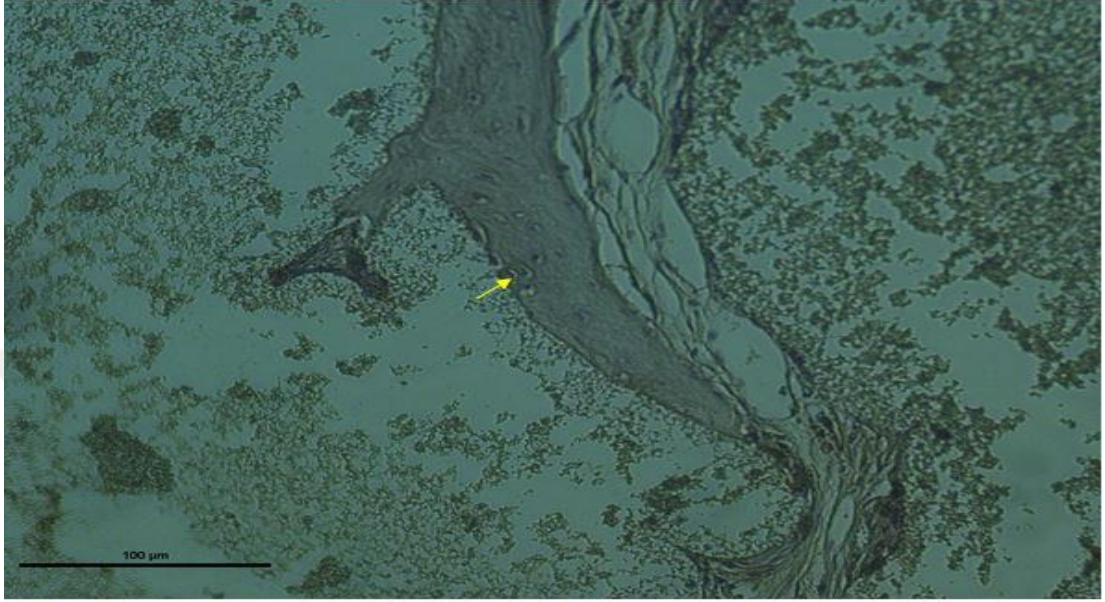
**Resim 55:** Grup 1a'dan 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde negatif osteonektin ekspresyonu (sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.



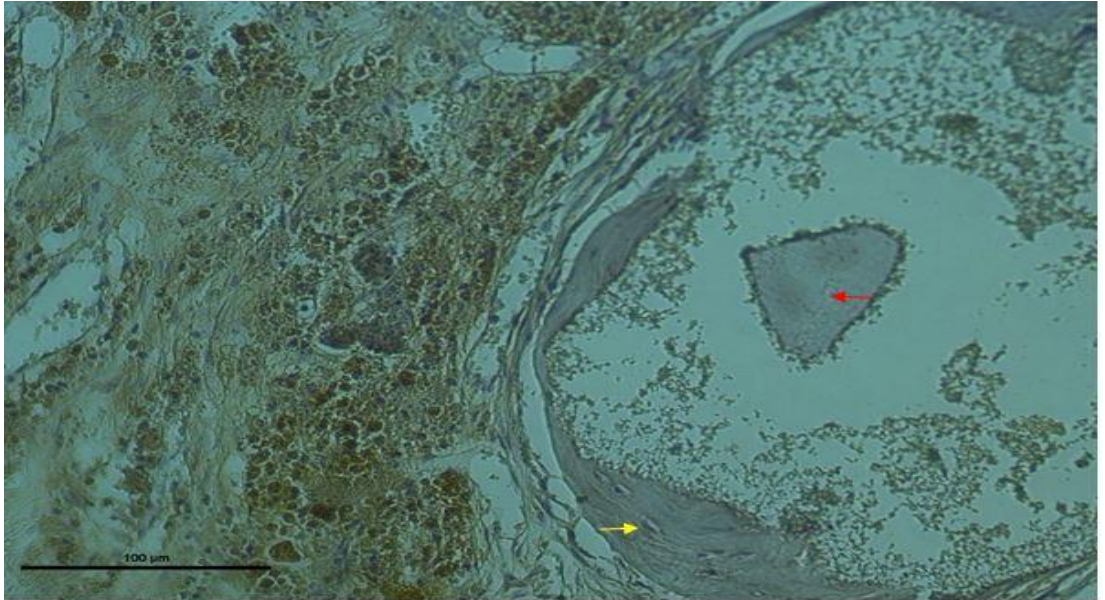
**Resim 56:** Grup 2a'dan 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteosit hücrelerinde negatif osteonektin ekspresyonu (yıldız). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

Grup 1b'de 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanı içinde kemik trabekülleri gelişmeye başlamış ve kemik trabeküllerindeki osteosit hücrelerinde ekspresyon pozitif olarak gözlemlenmiştir (Resim 57). Grup 2b'nin 56.

gününde ise, greft bölgesi dışındaki bağ doku içinde kemik trabekülleri olgunlaşmaya başlamış ve osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif gözlenmiştir. Graft alanı içindeki trabeküllerde ise osteosit hücrelerinde negatif ekspresyon gözlemlendi ( Resim 58).



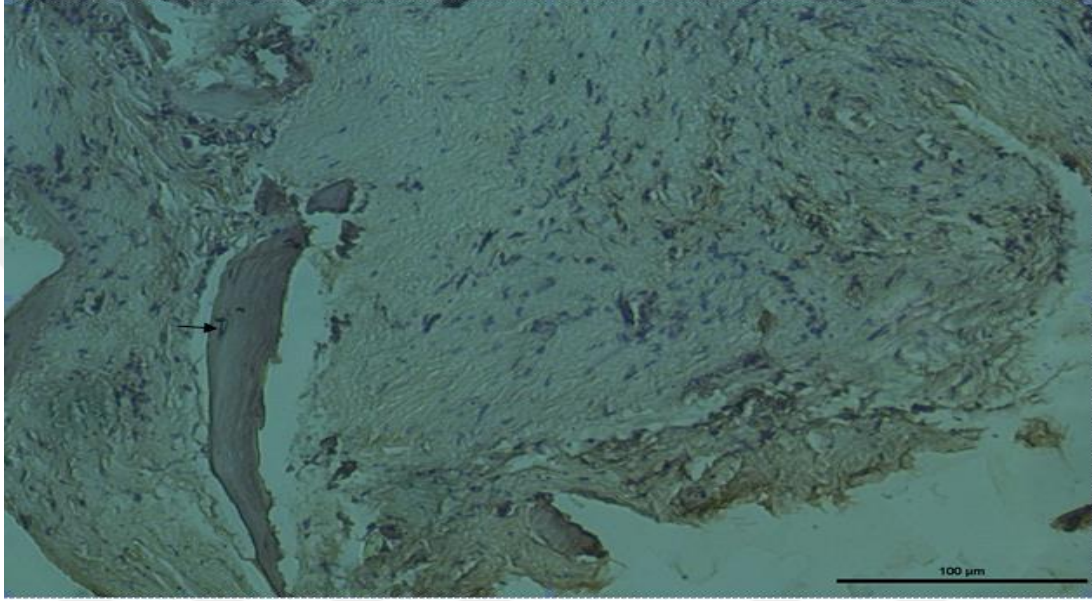
**Resim 57:** Grup 1b'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.



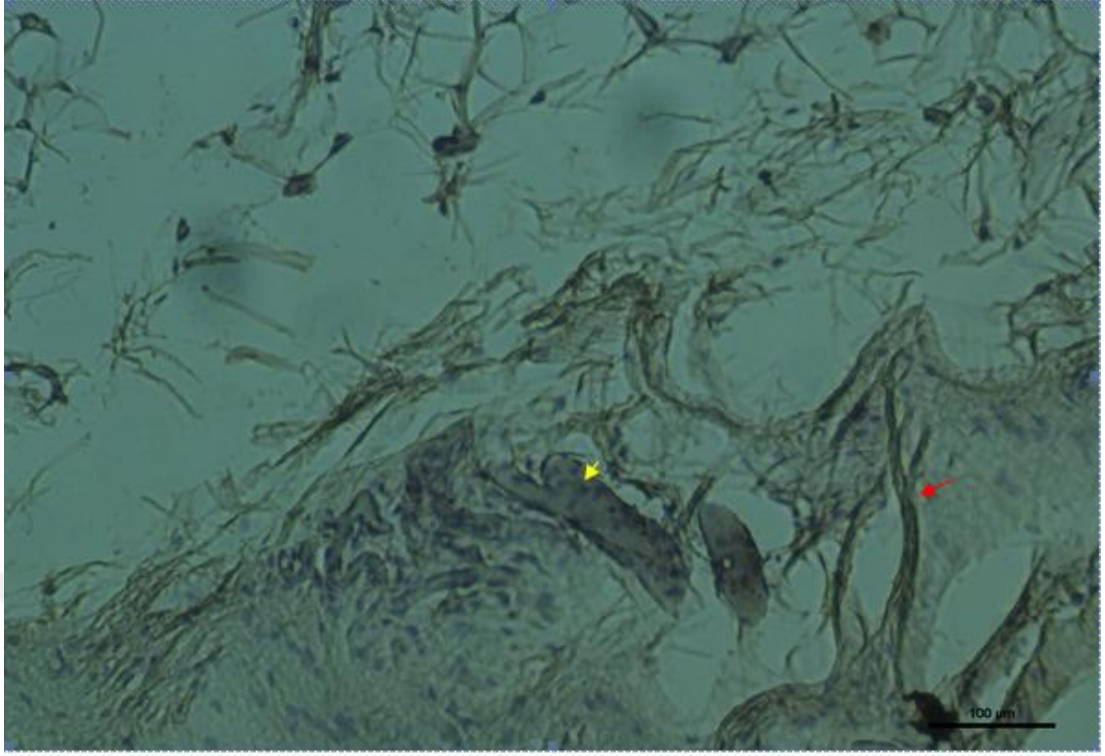
**Resim 58:** Grup 2b'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (sarı ok) ve greft içindeki kemikteki osteosit hücrelerinde negatif osteonektin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.



Grup 1c'den 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, uzun kemik trabeküllerinde az sayıda osteosit hücrelerinde osteonektin pozitif ekspresyon ve kemik matriksinde belirginleşme gösterilmiştir (Resim 59). Grup 2c'nin 56. gününde ise, küçük kemik trabeküllerindeki osteosit hücrelerinde zayıf osteonektin ekspresyonu ve kalınlaşmış kollajen bantlarda osteonektin ekspresyonu pozitif olarak görülmüştür (Resim 60).

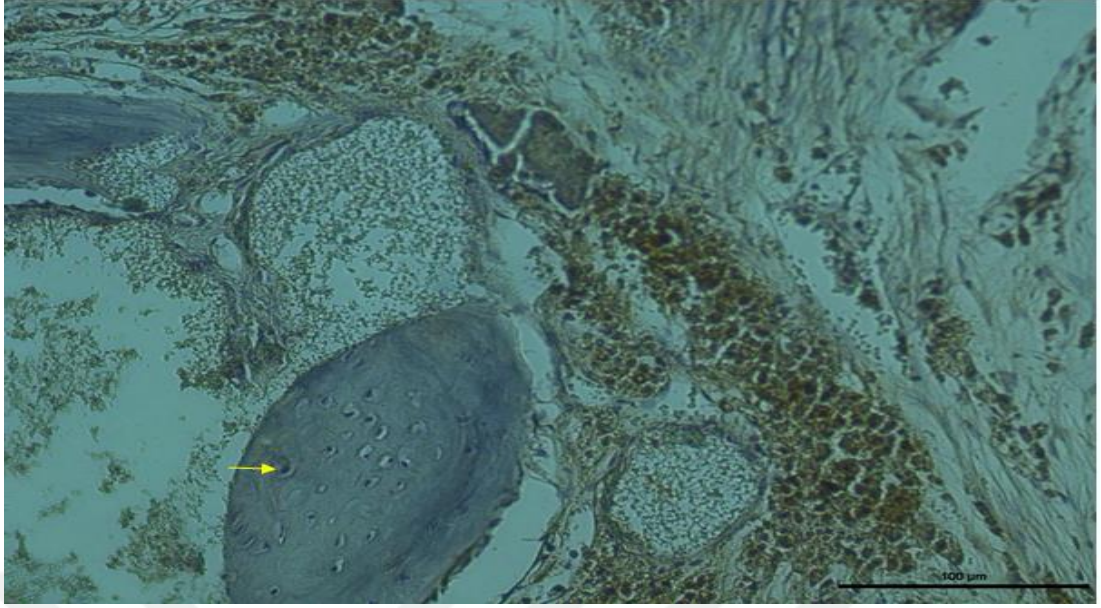


**Resim 59:** Grup 1c'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (siyah ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

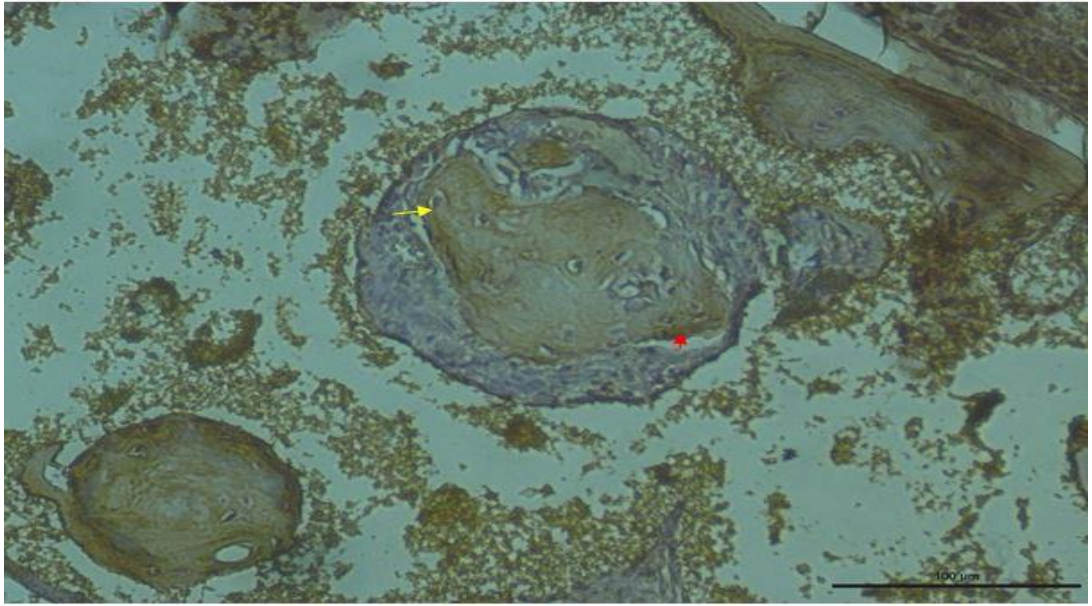


**Resim 60:** Grup 2c'den 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde zayıf osteonektin ekspresyonu (sarı ok) ve kollajen bantlarda pozitif osteonektin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100μm.

Grup 1d'dan 56. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, greft alanı içinde kemik trabekülleri genişlemiş ve osteosit hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif olarak gözlenmiştir (Resim 61). Grup 2d'nin 56. gününde ise, greft alanında bağ doku hücreleri arasında yerleşen kemik trabeküllerinde az sayıda osteosit hücrelerinde ekspresyon pozitif gözlenirken, kemik matriksinde osteonektin ekspresyonu pozitif olarak gözlenmiştir ( Resim 62).



**Resim 61:** Grup 1d'ten 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitte; osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (sarı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

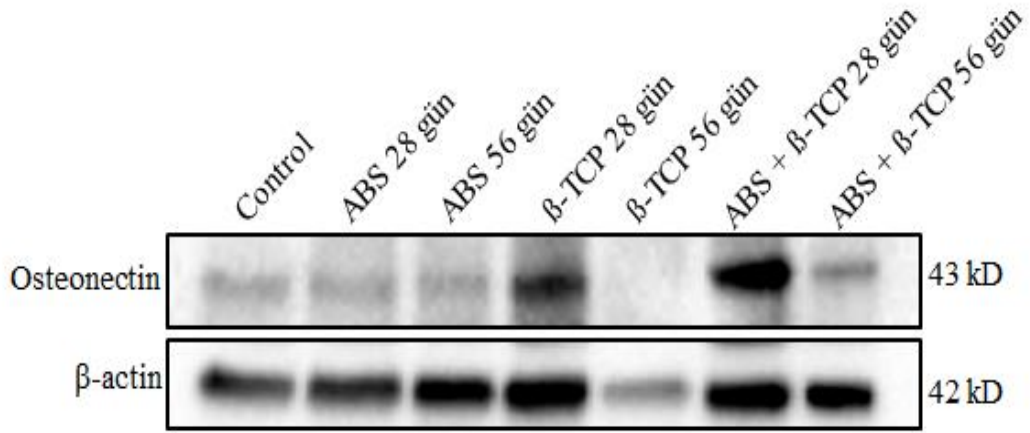


**Resim 62:** Grup 2d'ten 56. günde alınan immünohistokimyasal kesitinde kemikte osteosit hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu (sarı ok) ve kemik matriksinde pozitif osteonektin ekspresyonu (kırmızı ok). Osteonektin immun boyama Bar 100µm.

### 4. 3. Western Blotting Bulguları

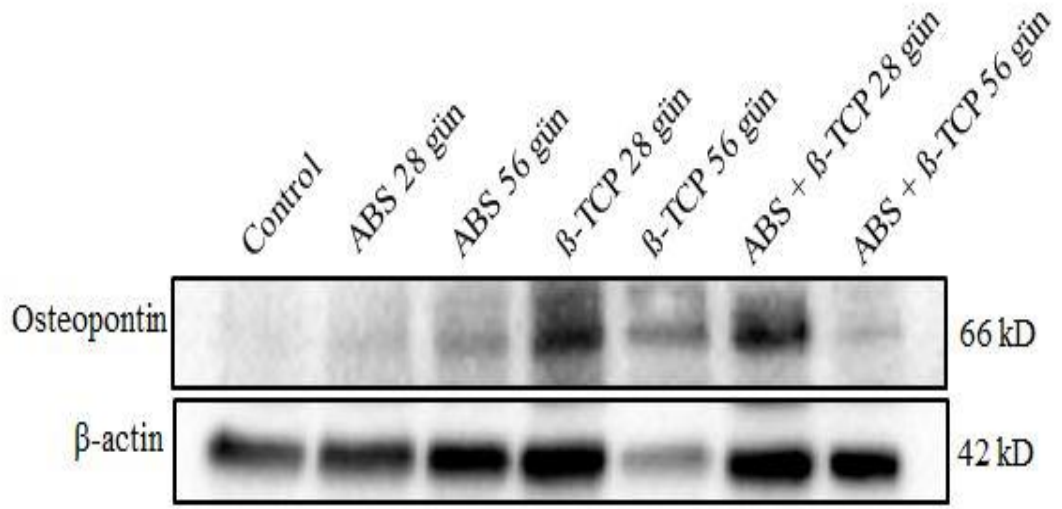
#### 4.3.1. Nondiyabetik ratların osteonektin ve osteopontin ekspresyon bulguları

Kalvaryum dokusundaki osteonektin ekspresyon düzeyi 28. günde  $\beta$ -TCP ve ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında dramatik bir şekilde artmıştır (Şekil 1). 20  $\mu$ g total protein jelde koşturuldu. Anti-osteonektin ve anti- $\beta$ -aktin antikolları kullanılarak Western Blotting yöntemi ile analiz edildi.  $\beta$ -actin yükleme kontrollü olarak kullanıldı.



Şekil 1: Kalvaryum dokusunda osteonektin ekspresyonu 28. günde  $\beta$ -TCP ve ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında anlamlı derecede artmıştır.

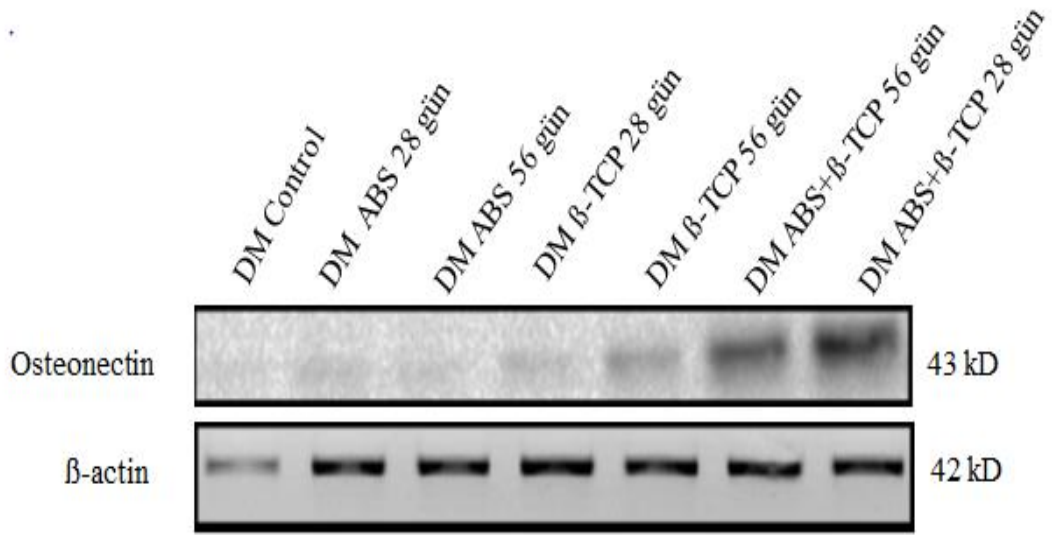
Kalvaryum dokusundaki osteopontin ekspresyon düzeyi 28. günde  $\beta$ -TCP ve ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında dramatik bir şekilde artmıştır (Şekil 2). 20  $\mu$ g total protein jelde koşturuldu. Anti-osteopontin ve anti- $\beta$ -aktin antikolları kullanılarak Western Blotting yöntemi ile analiz edildi.  $\beta$ -aktin yükleme kontrollü olarak kullanıldı.



Şekil 2: Kalvaryum dokusunda osteopontin ekspresyonu 28. günde  $\beta$ -TCP ve ABS + $\beta$ - TCP gruplarında anlamlı derecede artmıştır.

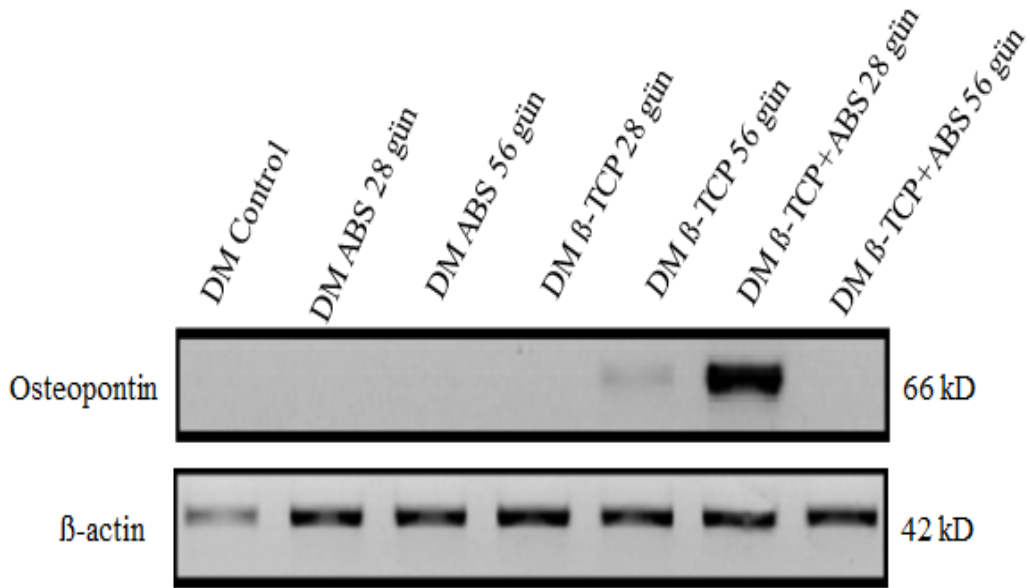
#### 4.3.2. Diyabetik ratların osteonektin ve osteopontin ekspresyon bulguları

Diyabetli ratların kalvaryum dokusundaki osteonektin ekspresyon düzeyi ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında 28. ve 56. günde anlamlı bir şekilde artmıştır (Şekil 3). 20  $\mu$ g total protein jelde koşturuldu. Anti-osteonektin ve anti- $\beta$ -aktin antikorları kullanılarak Western Blotting yöntemi ile analiz edildi.  $\beta$ -actin yükleme kontrollü olarak kullanıldı.



Şekil 3: Diyabetli kalvaryum dokusunda osteopontin ekspresyonu 28. günde ABS +  $\beta$ -TCP ve 56. günde ABS +  $\beta$ -TCP gruplarında anlamlı derecede artmıştır.

Diyabetik ratların kalvaryum dokusundaki osteopontin ekspresyon düzeyi 28. günde ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında dramatik bir şekilde artmıştır (Şekil 4). 20  $\mu$ g total protein jelde koşturuldu. Anti-osteopontin ve anti- $\beta$ -aktin antikolları kullanılarak Western Blotting yöntemi ile analiz edildi.  $\beta$ -aktin yükleme kontrollü olarak kullanıldı.



Şekil 4: Diyabetli kalvaryum dokusunda osteopontin ekspresyonu 28. günde ABS +  $\beta$ -TCP grubunda anlamlı derecede artmıştır.

#### 4.4. İstatistiksel Bulgular

##### 4.4.1. Histopatolojik İstatistiksel Bulgular

Diyabetsiz ratların kalvaryumundan 28. günde alınan kemik örneğinin histopatolojik incelemesinde; grup 1a'da ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $1,38\pm 0,52$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $3,00\pm 0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $2,50\pm 0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $1,38\pm 0,52$  iken grup 1b'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,38\pm 0,74$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,50\pm 0,53$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,00\pm 0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $3,00\pm 0,54$  ve grup 1c'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,50\pm 0,54$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $2,00\pm 0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,63\pm 0,52$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $2,63\pm 0,52$  ve grup 1d'te ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $3,00\pm 0,54$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,00\pm 0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,00\pm 0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $3,00\pm 0,54$  olarak ölçüldü. Osteoblastik aktivite, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar dilatasyonu ve hemoraji ve yeni kemik oluşumu skorlarının değerleri, tüm gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı ve tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 2) ( $P<0,001$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetik olmayan gruplara bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Osteoblastik aktivite skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1c ve grup 1a ile grupta 1d anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,014$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,004$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,004$ ). Damar dilatasyonu ve hemoraji skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1c, grup 1a ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c ve grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,010$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,036$ ,  $p=0,036$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yeni kemik oluşumu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında;

grup 1a ile grup1b, grup 1a ile grup 1c ve grup 1a ile grup 1d’te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla; p=0,001, p=0,002, p=0,001) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 2).

**Tablo 2: Diyabetsiz Ratların 28. ve 56. Günde Histopatolojik Değerlerinin Karşılaştırılması**

Gruplar		Grup 1a	Grup 1b	Grup 1c	Grup 1d	P	P <sub>1a-1b</sub>	P <sub>1a-1c</sub>	P <sub>1a-1d</sub>	P <sub>1b-1c</sub>	P <sub>1b-1d</sub>	P <sub>1c-1d</sub>
Osteoblastik aktivite	28. Gün	1,38±0,52	2,38±0,74	2,50±0,54	3,00±0,54	<0,001**	0,014*	0,003*	0,001**	0,814	0,077	0,085
	56. Gün	1,75±0,46	2,87±0,35	2,00±0,54	3,62±0,52	<0,001**	0,001**	0,332	<0,001**	0,004*	0,008*	0,001**
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	28. Gün	3,00±0,54	1,50±0,53	2,00±0,54	1,00±0,54	<0,001**	0,001**	0,004*	<0,001**	0,085	0,085	0,004*
	56. Gün	2,50±0,54	1,25±0,46	2,50±0,54	0,75±0,46	<0,001**	0,002*	1,000	<0,001**	0,002*	0,053	<0,001*
Damar dilatasyonu ve hemoroji	28. Gün	2,50±0,54	1,00±0,54	1,63±0,52	1,00±0,54	<0,001**	0,001**	0,010**	0,001**	0,036*	1,000	0,036*
	56. Gün	2,50±0,54	1,38±0,52	2,87±0,35	1,00±0,54	<0,001**	0,003*	0,117	0,001**	0,001**	0,175	<0,001*
Yeni kemik oluşumu	28. Gün	1,38±0,52	3,00±0,54	2,63±0,52	3,00±0,54	<0,001**	0,001**	0,002*	0,001**	0,175	1,000	0,175
	56. Gün	1,25±0,46	3,25±0,46	1,88±0,35	3,50±0,54	<0,001**	<0,001**	0,015*	<0,001**	<0,001**	0,317	<0,001*

\*P<0,05, gruplar arasındaki anlamlı,

\*\*P<0,001, gruplar arasındaki çok anlamlı,

P, Kruskal Wallis testi; P<sub>1a-1b</sub>, P<sub>1a-1c</sub>, P<sub>1a-1d</sub>, P<sub>1b-1c</sub>, P<sub>1b-1d</sub> ve P<sub>1c-1d</sub>, Mann Whitney U testi.



Diyabetsiz ratların kalvaryumundan 56. günde alınan kemik örneğinin histopatolojik incelemesinde; grup 1a'da ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $1,75\pm0,46$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $2,50\pm0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $2,50\pm0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $1,25\pm0,46$  iken grup 1b'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,87\pm0,35$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,25\pm0,46$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,38\pm0,52$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $3,25\pm0,46$  ve grup 1c'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,00\pm0,54$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $2,50\pm0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $2,87\pm0,35$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $1,88\pm0,35$  ve grup 1d'te ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $3,62\pm0,52$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $0,75\pm0,46$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,00\pm0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $3,50\pm0,54$  olarak ölçüldü. Osteoblastik aktivite, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar dilatasyonu ve hemoraji ve yeni kemik oluşumu skorlarının değerlerinin, tüm gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı ve tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 2) ( $P<0,001$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetik olmayan 56. günlük ratların bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Osteoblastik aktivite skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c, grup 1b ile grup 1d ve grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,008$ ,  $p=0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c ve grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Damar dilatasyonu ve hemoraji skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c ve grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,003$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p<0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yeni kemik oluşumu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1c ve grup 1a

ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c ve grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p<0,001$ ,  $p=0,015$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 2).

Diyabetli ratların kalvaryumundan 28. günde alınan kemik örneğinin histopatolojik incelemesinde; grup 2a'da ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $1,00\pm0,53$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $3,63\pm0,52$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $3,13\pm0,64$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $1,13\pm0,36$  iken grup 2b'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,63\pm0,52$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,38\pm0,52$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $2,00\pm0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $2,50\pm0,54$  ve grup 2c'de ratların ortalama osteoblastik aktivite  $1,00\pm0,54$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $2,88\pm0,64$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,50\pm0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $1,38\pm0,52$  ve grup 2d'te ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,63\pm0,52$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,25\pm0,46$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,38\pm0,52$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $3,38\pm0,52$  olarak ölçüldü. Osteoblastik aktivite, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar dilatasyonu ve hemoraji ve yeni kemik oluşumu skorlarının değerlerinin, tüm grupların gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 3) ( $P<0,001$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetli olan 28. günlük ratların bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Osteoblastik aktivite skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2d ve grup 2b ile grup 2c ve grup 2c ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c, grup 2a ile grup 2d, grup 2b ile grup 2c ve grup 2c ile grup 2d'te anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla;  $p<0,001$ ,  $p=0,028$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Damar dilatasyonu ve hemoraji skorlarının gruplar arası

karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c, grup 2a ile grup 2d ve grup 2b ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,004$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,036$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yeni kemik oluşumu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2d ve grup 2b ile grup 2c, grup 2b ile grup 2d ve grup 2c ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,010$ ,  $p<0,001$  ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 3).



**Tablo 3: Diyabetli Ratların 28. ve 56. Günde Histopatolojik Değerlerin Karşılaştırılması**

Gruplar		Grup 2a	Grup 2b	Grup 2c	Grup 2d	P	P <sub>2a-2b</sub>	P <sub>2a-2c</sub>	P <sub>2a-2d</sub>	P <sub>2b-2c</sub>	P <sub>2b-2d</sub>	P <sub>2c-2d</sub>
Osteoblastik aktivite	28. Gün	1,00±0,53	2,63±0,52	1,00±0,54	2,63±0,52	<0,001**	0,001**	1,000	0,001**	0,001*	1,000	0,001**
	56. Gün	1,00±0,54	2,75±0,46	2,13±0,35	2,75±0,46	<0,001**	0,001**	0,001**	0,001**	0,015*	1,000	0,015*
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	28. Gün	3,63±0,52	1,38±0,52	2,88±0,64	1,25±0,46	<0,001**	<0,001*	0,028*	<0,001*	0,001*	0,602	0,001**
	56. Gün	2,88±0,64	1,13±0,36	2,00±0,54	1,13±0,64	<0,001**	0,001**	0,013*	0,001**	0,004*	0,945	0,013*
Damar dilatasyonu ve hemoraji	28. Gün	3,13±0,64	2,00±0,54	1,50±0,54	1,38±0,52	<0,001**	0,004*	0,001**	0,001**	0,085	0,036*	0,626
	56. Gün	3,38±0,52	1,00±0,54	1,75±0,46	1,25±0,46	<0,001**	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,013*	0,332	0,053
Yeni kemik oluşumu	28. Gün	1,13±0,36	2,50±0,54	1,38±0,52	3,38±0,52	<0,001**	0,001**	0,264	<0,001*	0,003*	0,010*	<0,001**
	56. Gün	0,75±0,46	2,75±0,46	2,25±0,46	2,75±0,46	<0,001**	<0,001*	<0,001*	0,001**	0,053	0,880	0,082

\*P<0,05, gruplar arasındaki anlamlı,

\*\*P<0,001, gruplar arasındaki çok anlamlı,

P, Kruskal Wallis testi; P<sub>2a-2b</sub>, P<sub>2a-2c</sub>, P<sub>2a-2d</sub>, P<sub>2b-2c</sub>, P<sub>2b-2d</sub> ve P<sub>2c-2d</sub>, Mann Whitney U testi

Diyabetli ratların kalvaryumundan 56. günde alınan kemik örneğinin histopatolojik incelemesinde; grup 2a'da ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru 1,00±0,54, inflamatuar hücre infiltrasyonu skoru 2,88±0,64, damar dilatasyonu ve hemoraji skoru 3,38±0,52 ve yeni kemik oluşumu skoru 0,75±0,46 iken grup 2b'de

ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,75\pm0,46$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,13\pm0,36$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,00\pm0,54$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $2,75\pm0,46$  ve grup 2c'de ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,13\pm0,35$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $2,00\pm0,54$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,75\pm0,46$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $2,25\pm0,46$  ve grup 2d'te ratların ortalama osteoblastik aktivite skoru  $2,75\pm0,46$ , inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru  $1,13\pm0,64$ , damar dilatasyonu ve hemoraji skoru  $1,25\pm0,46$  ve yeni kemik oluşumu skoru  $2,75\pm0,46$  olarak ölçüldü. Osteoblastik aktivite, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar dilatasyonu ve hemoraji ve yeni kemik oluşumu skorlarının değerlerinin, tüm gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulanmıştır ve tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 3) ( $P<0,001$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetik 56. günlük gruplara bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Osteoblastik aktivite skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c ve grup 2a ile grup 2d, grup 2b ile grup 2c ve grup 2c ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,015$ ,  $p=0,015$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c ve grup 2a ile grup 2d, grup 2b ile grup 2c ve grup 2c ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,013$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Damar dilatasyonu ve hemoraji skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c, grup 2a ile grup 2d ve grup 2b ile grup 2c'de anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,013$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yeni kemik oluşumu skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c ve grup 2a ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,001$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 3).

Diyabetik ve diyabetik olmayan grupların gruplar arası karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi uygulanmıştır ve 28. günde (1c-2c) gruplar arası karşılaştırılmasında osteoblastik aktiviteleri arasında anlamlı fark saptandı ve diğer gruplarda anlamlı fark bulunmamıştır(sırasıyla;  $p=0,175$ ,  $p=0,511$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,175$ ). 28. günde (1a-2a) ve (1c-2c) gruplar arası karşılaştırılmasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu arasında anlamlı fark saptandı ve diğer gruplarda anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla;  $p=0,036$ ,  $p=0,626$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,332$ ). 28. günde (1b-2b) gruplar arası karşılaştırılmasında damar dilatasyonu ve hemorajileri arasında anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark tespit edilmemiştir(sırasıyla;  $p=0,059$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,626$ ,  $p=0,175$ ) ve 28. günde (1c-2c) gruplar arası karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu arasında anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark bulunmamıştır(sırasıyla;  $p=0,264$ ,  $p=0,085$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,175$ ). 56. günde (1a-2a) ve (1d-2d) gruplar arası karşılaştırılmasında osteoblastik aktiviteleri arasında anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark tespit edilmemiştir(sırasıyla;  $p=0,013$ ,  $p=0,535$ ,  $p=0,589$ ,  $p=0,007$ ). 56. günde gruplar arası karşılaştırılmasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu arasında anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla;  $p=0,232$ ,  $p=0,535$ ,  $p=0,085$ ,  $p=0,199$ ). 56. günde (1a-2a) ve (1c-2c) gruplar arası karşılaştırılmasında damar dilatasyonu ve hemorajileri arasında anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla;  $p=0,010$ ,  $p=0,175$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,332$ ) ve 56. günde (1d-2d) gruplar arası karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu arasında anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark tespit edilmemiştir(sırasıyla;  $p=0,053$ ,  $p=0,053$ ,  $p=0,090$ ,  $p=0,015$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4: Diyabetli ve Nondiyabetli Grupların Gruplar Arası Histopatolojik İncelenmesi.**

Gruplar		Osteoblastik aktivite		İnflamatuvar hücre infiltrasyonu		Damar dilatasyonu ve hemaroji		Yeni kemik oluşumu	
		Ort+SS	P	Ort+SS	P	Ort+SS	P	Ort+SS	P
Grup 1a-2a	28. gün	1,19±0,53	0,175	3,32±0,53	<b>0,036*</b>	2,82±0,59	0,059	1,26±0,44	0,264
	56. gün	1,38±0,50	<b>0,013*</b>	2,69±0,59	0,232	2,94±0,53	<b>0,010*</b>	1,00±0,46	0,053
Grup 1b-2b	28. gün	2,51±0,63	0,511	1,44±0,53	0,626	1,50±0,54	<b>0,004*</b>	2,75±0,54	0,085
	56. gün	2,81±0,41	0,535	1,19±0,41	0,535	1,19±0,53	0,175	3,00±0,46	0,053
Grup 1c-2c	28. gün	1,75±0,54	<b>0,001*</b>	2,44±0,59	<b>0,013*</b>	1,57±0,53	0,626	2,01±0,52	<b>0,002*</b>
	56. gün	2,07±0,45	0,589	2,25±0,54	0,085	2,31±0,41	<b>0,001**</b>	2,07±0,41	0,090
Grup 1d-2d	28. gün	2,82±0,53	0,175	1,13±0,50	0,332	1,42±0,53	0,175	3,19±0,53	0,175
	56. gün	3,19±0,49	<b>0,007*</b>	0,94±0,55	0,199	1,13±0,50	0,332	3,13±0,50	<b>0,015*</b>

\*P<0,05, gruplar arasındaki anlamlı,

\*\*P<0,001, gruplar arasındaki çok anlamlı; P, Mann Whitney U testi.

#### 4.4.2. DEXA Bulguları

Diyabetsiz ratların kalvaryumundaki kemik defektinde KMM ve KMY miktarları ölçüldü. Grup 1a'da ratlarda ortalama KMM skoru  $2,34\pm 0,21$  ve KMY skoru  $0,30\pm 0,01$  iken grup 1b'de KMM skoru  $2,25\pm 0,10$  ve KMY skoru  $0,30\pm 0,01$  ve grup 1c'de KMM skoru  $2,25\pm 0,11$  ve KMY skoru  $0,31\pm 0,01$  ve grup 1d'te ortalama KMM skoru  $2,26\pm 0,11$  ve KMY değeri ise  $0,30\pm 0,02$  olarak ölçüldü. 28. günlük ratların KMM ve KMY değerleri ölçüldü. Grup 1a'da ortalama KMM skoru  $2,44\pm 0,11$  ve KMY skoru  $0,31\pm 0,11$  iken grup 1b'de KMM skoru  $2,76\pm 0,20$  ve KMY skoru  $0,32\pm 0,01$  ve grup 1c'de KMM skoru  $2,55\pm 0,03$  ve KMY skoru  $0,31\pm 0,01$  ve grup 1d'te ortalama KMM skoru  $2,73\pm 0,09$  ve KMY değeri ise  $0,31\pm 0,01$  olarak ölçüldü. 56. günlük ratların KMM ve KMY değerleri ölçüldü. Grup 1a'da ortalama KMM skoru  $2,88\pm 0,12$  ve KMY skoru  $0,33\pm 0,01$  iken grup 1b'de KMM skoru  $3,03\pm 0,07$  ve KMY skoru  $0,34\pm 0,01$  ve grup 1c'de KMM skoru  $2,81\pm 0,17$  ve KMY skoru  $0,33\pm 0,02$  ve grup 1d'te ortalama KMM skoru  $3,10\pm 0,16$  ve KMY değeri ise  $0,35\pm 0,02$  olarak ölçüldü. Ortalama KMM ve KMY verilerinin, gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı ve bu teste göre gruplar arasında başlangıç KMM istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo 5), ( $p=0,904$ ) ve 28. ve 56. günlük ratların KMM değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla  $p=0,005$  ve  $p=0,040$ ). KMY değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında başlangıç, 28. ve 56. günlük ratlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0,669$ ,  $p=0,074$ ,  $p=0,076$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetik olmayan 28. günlük ratlara bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. KMM değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 1a ile grup 1b, grup 1a ile grup 1d, grup 1b ile grup 1c, grup 1c ile grup 1d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,014$ ,  $p=0,014$ ,  $p=0,020$ ,  $p=0,021$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. 58.günlük ratlardan KMM skoru anlamlı olan grup 1b ile grup 1c, grup 1c ile grup 1d karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,043$ ,  $p=0,043$ ) ve diğer grupların gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 5).



**Tablo 5: Diyabetik Olmayan Ratların Gruplar Arası KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması**

		Grup 1a	Grup 1b	Grup 1c	Grup 1d	P	P <sub>1a-1b</sub>	P <sub>1a-1c</sub>	P <sub>1a-1d</sub>	P <sub>1b-1c</sub>	P <sub>1b-1d</sub>	P <sub>1c-1d</sub>
<b>KMM</b>	<b>Başlangıç</b>	2,34±0,21	2,25±0,10	2,25±0,11	2,26±0,11	0,904	-	-	-	-	-	-
	<b>28. gün</b>	2,44±0,11	2,76±0,20	2,55±0,03	2,73±0,09	<b>0,005*</b>	<b>0,014*</b>	0,110	<b>0,014*</b>	<b>0,020*</b>	1,000	<b>0,021*</b>
	<b>56.gün</b>	2,88±0,12	3,03±0,07	2,81±0,17	3,10±0,16	<b>0,040*</b>	0,050	0,539	0,065	<b>0,043*</b>	0,663	<b>0,043*</b>
<b>KMY</b>	<b>Başlangıç</b>	0,31±0,01	0,30±0,01	0,31±0,01	0,30±0,02	0,669	-	-	-	-	-	-
	<b>28. gün</b>	0,31±0,11	0,32±0,01	0,31±0,01	0,31±0,01	0,074	-	-	-	-	-	-
	<b>56.gün</b>	0,33±0,01	0,34±0,01	0,33±0,02	0,35±0,02	0,076	-	-	-	-	-	-

\*P<0,05, gruplar arasındaki anlamlı,

P, Kruskal Wallis testi; P<sub>1a-1b</sub>, P<sub>1a-1c</sub>, P<sub>1a-1d</sub>, P<sub>1b-1c</sub>, P<sub>1b-1d</sub> ve P<sub>1c-1d</sub>, Mann Whitney U testi.

Diyabetli ratların kalvaryumundaki kemik defektinde başlangıçta ratların KMM ve KMY değerleri ölçüldü. Grup 2a'da ortalama KMM skoru 2,25±0,09 ve KMY skoru 0,30±0,01 iken grup 2b'de KMM skoru 2,28±0,10 ve KMY skoru 0,31±0,01 ve grup 2c'de KMM skoru 2,26±0,08 ve KMY skoru 0,29±0,03 ve grup 2d'te ortalama KMM skoru 2,30±0,07 ve KMY değeri ise 0,30±0,03 olarak ölçüldü. 28. günlük ratların KMM ve KMY değerleri ölçüldü. Grup 2a'da ortalama KMM skoru 1,97±0,20 ve KMY skoru 0,30±0,04 iken grup 2b'de KMM skoru 2,65±0,17 ve KMY skoru 0,31±0,01 ve grup 2c'de KMM skoru 2,75±0,12 ve KMY skoru 0,31±0,01 ve grup 2d'te ortalama KMM skoru 2,89±0,33 ve KMY değeri ise 0,33±0,03 olarak ölçüldü. 56. günlük ratların KMM ve KMY değerleri ölçüldü. Grup

2a'da ortalama KMM skoru  $2,61\pm0,21$  ve KMY skoru  $0,31\pm0,03$  iken grup 2b'de KMM skoru  $2,78\pm0,26$  ve KMY skoru  $0,32\pm0,01$  ve grup 2c'de KMM skoru  $2,81\pm0,13$  ve KMY skoru  $0,32\pm0,01$  ve grup 2d'te ortalama KMM skoru  $2,76\pm0,15$  ve KMY değeri ise  $0,33\pm0,01$  olarak ölçüldü. Ortalama KMM ve KMY verilerinin gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı ve bu teste göre gruplar arasında başlangıç KMM değerleri istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo 6) ( $p=0,800$ ) ve 28. günlük KMM değerleri ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p=0,021$ ). KMY değerleri karşılaştırılmasında başlangıç, 28. ve 56. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0,708$ ,  $p=0,301$ ,  $p=0,560$ ).

Kruskal Wallis testinde anlamlı çıkan diyabetli 28. günlük ratlara bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. KMM değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a ile grup 2b, grup 2a ile grup 2c, grup 2a ile grup 2d'te anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla;  $p=0,021$ ,  $p=0,021$ ,  $p=0,020$ ) ve diğer grupların karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 6).

**Tablo 6: Diyabetik Ratların Gruplar Arası KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması**

		Grup 2a	Grup 2b	Grup 2c	Grup 2d	P	P <sub>2a-2b</sub>	P <sub>2a-2c</sub>	P <sub>2a-2d</sub>	P <sub>2b-2c</sub>	P <sub>2b-2d</sub>	P <sub>2c-2d</sub>
<b>KMM</b>	<b>Başlangıç</b>	2,25±0,09	2,28±0,10	2,26±0,08	2,30±0,07	0,800	-	-	-	-	-	-
	<b>28. gün</b>	1,97±0,20	2,65±0,17	2,75±0,12	2,89±0,33	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,020*</b>	0,663	0,146	0,375
	<b>56.gün</b>	2,61±0,21	2,78±0,26	2,81±0,13	2,76±0,15	0,442	-	-	-	-	-	-
<b>KMY</b>	<b>Başlangıç</b>	0,30±0,01	0,31±0,01	0,29±0,03	0,30±0,03	0,708	-	-	-	-	-	-
	<b>28. gün</b>	0,30±0,04	0,31±0,01	0,31±0,01	0,33±0,03	0,301	-	-	-	-	-	-
	<b>56.gün</b>	0,31±0,03	0,32±0,01	0,32±0,01	0,33±0,01	0,560	-	-	-	-	-	-

\*P<0,05, gruplar arasındaki anlamlı,

P, Kruskal Wallis testi; P<sub>2a-2b</sub>, P<sub>2a-2c</sub>, P<sub>2a-2d</sub>, P<sub>2b-2c</sub>, P<sub>2b-2d</sub> ve P<sub>2c-2d</sub>, Mann Whitney U testi

Diyabet olmayan ratların kalvaryumundaki kemik defektinde yapılan grup içi karşılaştırılmasında; grup 1a, grup 1b, grup 1c ve grup 1d'te, başlangıç ile 28. günde ratlar arasındaki KMM değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla; p=0,345, p=0,066, p=0,068, p=0,068) ve başlangıç ile 56. günde ratlar arasındaki gruplar içi KMM değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla; p=0,068, p=0,068, p=0,068, p=0,068). Grup 1a, grup 1b grup 1c ve grup 1d'te, başlangıç ile 28. günde ratlar arasındaki KMY değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla; p=0,655, p=0,066, p=0,655, p=0,180) ve başlangıç ile 56. günde ratlar arasındaki gruplar içi KMY

değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla;  $p=0,059$ ,  $p=0,066$ ,  $p=0,102$ ,  $p=0,068$ ) (Tablo 7).

Diyabet olmayan ratların kalvaryumundaki kemik defektinde yapılan gruplar arası karşılaştırmasında; grup 1a'da, 28. ile 56. günde arasındaki KMM değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,009$ ) ve 28. günde ile 56. günde gruplar arasındaki KMY değerleri karşılaştırılmasında ise anlamlı fark bulunmamıştır( $p=0,166$ ). Grup 1b'de ise, 28. ile 56. günde gruplar arasındaki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla;  $p=0,042$ ,  $p=0,015$ ). Grup 1c'de ise, 28. ile 56. günde gruplar arasındaki KMM değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,043$ ) ve 28. ile 56. günde gruplar arasındaki KMY değerleri karşılaştırılmasında ise anlamlı fark tespit edilmemiştir( $p=0,089$ ) ve grup 1d'te ise, 28. gün ile 56. gün gruplar arasındaki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla;  $p=0,021$ ,  $p=0,017$ ) (Tablo 7).

**Tablo 7: Diyabetik Olmayan Ratların Grup İçi KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması**

		Başlangıç	28. Gün	56. Gün	$P_{0-28}$	$P_{0-56}$	$P_{28-56}$
Grup 1a	KMM	2,34±0,21	2,44±0,11	2,88±0,12	0,345	0,068	<b>0,009*</b>
	KMY	0,31±0,01	0,31±0,11	0,33±0,01	0,655	0,059	0,166
Grup 1b	KMM	2,25±0,10	2,76±0,20	3,03±0,07	0,066	0,068	<b>0,042*</b>
	KMY	0,30±0,01	0,32±0,01	0,34±0,01	0,066	0,066	<b>0,015*</b>
Grup 1c	KMM	2,25±0,11	2,55±0,03	2,81±0,17	0,068	0,068	<b>0,043*</b>
	KMY	0,31±0,01	0,31±0,01	0,33±0,02	0,655	0,102	0,089
Grup 1d	KMM	2,26±0,11	2,73±0,09	3,10±0,16	0,068	0,068	<b>0,021*</b>
	KMY	0,30±0,02	0,31±0,01	0,35±0,02	0,180	0,068	<b>0,017*</b>

\* $P<0,05$ , iki grup arasındaki anlamlı,

$P_{0-28}$  ve  $P_{0-56}$ , Wilcoxon testi;  $P_{28-56}$ , Mann Whitney U testi

Diyabetik olan ratların kalvaryumundaki kemik defektinde yapılan grup içi karşılaştırılmasında; grup 2a, grup 2b, grup 2c ve grup 2d'te, başlangıç ile 28. günde ratlar arasındaki KMM değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,144$ ,  $p=0,068$ ,  $p=0,068$ ,  $p=0,068$ ) ve 28. ile 56. günde ratlar arasındaki grup içi KMM değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,068$ ,  $p=0,068$ ,  $p=0,068$ ,  $p=0,068$ ). Grup 2a, grup 2b, grup 2c ve grup 2d'te, başlangıç ile 28. günde ratlar arasındaki gruplar içi KMY değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,713$ ,  $p=1,000$ ,  $p=0,144$ ,  $p=0,144$ ) ve 28. ile 56. günde ratlar arasındaki grup içi KMY değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla;  $p=0,414$ ,  $p=0,180$ ,  $p=0,144$ ,  $p=0,144$ ) (Tablo 8).

Diyabetik ratların kalvaryumundaki kemik defektinde yapılan gruplar arası karşılaştırılmasında; grup 2a'da, 28. ile 56. günde ratlar arasındaki KMM değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,021$ ) ve 28. ile 56. günde ratlar arasındaki KMY değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,375$ ). Grup 2b'de ise, 28. ile 56. günde ratlar arasındaki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında da anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,189$ ,  $p=0,129$ ). Grup 2c ise, 28. ile 56. günde ratlar arasındaki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında ise anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla;  $p=0,772$ ,  $p=0,369$ ) ve grup 2d'de ise, 28. ile 56. günde ratlar arasındaki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,561$ ,  $p=1,000$ ) (Tablo 8).

**Tablo 8: Diyabetik Ratların Grup İçi KMM ve KMY Değerlerinin Karşılaştırması**

		<b>Başlangıç</b>	<b>28. Gün</b>	<b>56. Gün</b>	<b>P<sub>0-28</sub></b>	<b>P<sub>0-56</sub></b>	<b>P<sub>28-56</sub></b>
<b>Grup 2a</b>	<b>KMM</b>	2,25±0,09	1,97±0,20	2,61±0,21	0,144	0,068	<b>0,021*</b>
	<b>KMY</b>	0,30±0,01	0,30±0,04	0,31±0,03	0,713	0,414	0,375
<b>Grup 2b</b>	<b>KMM</b>	2,28±0,10	2,76±0,20	2,78±0,26	0,068	0,068	0,189
	<b>KMY</b>	0,31±0,01	0,32±0,01	0,32±0,01	1,000	0,180	0,129
<b>Grup 2c</b>	<b>KMM</b>	2,26±0,08	2,75±0,12	2,81±0,13	0,068	0,068	0,772
	<b>KMY</b>	0,29±0,03	0,31±0,01	0,32±0,01	0,144	0,144	0,369
<b>Grup 2d</b>	<b>KMM</b>	2,30±0,07	2,89±0,33	2,76±0,15	0,068	0,068	0,561
	<b>KMY</b>	0,30±0,03	0,33±0,03	0,33±0,01	0,144	0,144	1,000

\*P<0,05, iki grup arasındaki anlamlı,

**P<sub>0-28</sub>** ve **P<sub>0-56</sub>**, Wilcoxon testi; **P<sub>28-56</sub>**, Mann Whitney U testi.

Diyabetik ve diyabetik olmayan ratların ortalama KMM ve KMY verilerinin gruplar arası karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi uygulanmıştır ve bu teste göre başlangıç KMM'sinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla; p=0,451, p=0,465, p=0,770, p=0,564) ve 28. günde (1a-2a) ve (1c-2c) gruplar arası karşılaştırılmasında KMM'sinde anlamlı fark bulunmuştur ve diğer gruplarda anlamlı fark tespit edilmemiştir (sırasıyla; p=0,014, p=0,561, p=0,021, p=0,245). 56. günde (1b-2b) ve (1d-2d) gruplar arası karşılaştırılmasında KMM'sinde anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla; p=0,050, p=0,020, p=0,561, p=0,043). Başlangıçta gruplar arası karşılaştırılmasında KMY'de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla; p=0,500, p=0,356, p=0,297, p=0,884) ve 28. günde (1b-2b) gruplar arası karşılaştırılmasında KMY'de anlamlı fark saptanmıştır ve diğer gruplarda anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla; p=0,211, p=0,044, p=0,508, p=0,180). 56. günde (1b-2b) gruplar arası

karşılaştırılmasında KMY’de anlamlı fark bulundu ve diğer gruplarda anlamlı fark saptanmamıştır(sırasıyla; p=0,614, p=0,044, p=0,240, p=0,063) (Tablo 9).

**Tablo 9: Diyabetli ve Nondiyabetli Grupların KMM ve KMY Değerlerin Karşılaştırılması.**

Gruplar		KMM		KMY	
		Ort+SS	P	Ort+SS	P
Grup 1a-2a	<b>Başlangıç</b>	2,30±0,15	0,451	0,31±0,01	0,500
	<b>28. Gün</b>	2,21±0,16	<b>0,014*</b>	0,31±0,08	0,211
	<b>56. Gün</b>	2,75±0,12	0,050	0,32±0,02	0,614
Grup 1b-2b	<b>Başlangıç</b>	2,27±0,10	0,465	0,31±0,01	0,356
	<b>28. Gün</b>	2,71±0,19	0,561	0,32±0,01	<b>0,044*</b>
	<b>56. Gün</b>	2,91±0,17	<b>0,020*</b>	0,33±0,01	<b>0,044*</b>
Grup 1c-2c	<b>Başlangıç</b>	2,26±0,10	0,770	0,30±0,02	0,297
	<b>28. Gün</b>	2,65±0,08	<b>0,021*</b>	0,31±0,01	0,508
	<b>56. Gün</b>	2,81±0,15	0,561	0,33±0,02	0,240
Grup 1d-2d	<b>Başlangıç</b>	2,28±0,09	0,564	0,30±0,03	0,884
	<b>28. Gün</b>	2,81±0,21	0,245	0,32±0,02	0,180
	<b>56. Gün</b>	2,93±0,16	<b>0,043*</b>	0,34±0,02	<b>0,063*</b>

\*P<0,05, iki grup arasındaki anlamlı,

P; Mann Whitney U testi.

## 5. TARTIŞMA

Periodontal hastalık sonucunda kemiğin hacminde ve morfolojisinde oluşan değişiklikler sonucunda alveolar kemik ve yumuşak dokular arasındaki uyum birçok yönden bozabilir. Periodontal tedavide amaç, periodontal hastalık sonucu bozulmuş kemiğin yeniden oluşumunu sağlamaktır. Bu amaca yönelik çeşitli tedavi yöntemleri vardır ve bunlardan biri kemik defektlerine greft materyali uygulamaktır. Bu materyallerin kullanılmasının temel amacı kemik dokusundaki iyileşme sürecini hızlandırarak, alveolar kemiğin restorasyonunu, klinik ataçman kazancını, cep derinliğinde azalma ve rejenerasyon bölgesinde istenilen kemik iyileşmesini sağlamaktır(16,20).

Kemik dokusu yapısında barındırdığı hücreler, ara madde, organik ve inorganik maddeler bakımından özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik dokusunun iyileşmesinin birçok biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik süreçler tarafından etkilendiği rapor edilmiştir(88,89).

Kemik dokusunun devamlılığı ve direnci farklı sebeplerden dolayı bozulabilir. Periodontal hastalıklar, gelişimsel anomaliler, dejeneratif değişiklikler, enflamatuvar, akut ve kronik patolojik süreçler, kistler ve travma hastalarında kranial kemik kaybı görülebilir. Küçük kemik defektleri hiçbir cerrahi müdahaleye ihtiyaç duymadan kendiliğinden iyileşebilir; fakat büyük kemik defektlerinde rekonstrüktif cerrahi gereklidir. Kemik rejenerasyonunun başarısı defekt morfolojisine ve greft materyaline bağlıdır. Rejeneratif prosedürlerin uygulanabilirliği sınırlıdır ve istenilen yeni kranial kemik oluşumunu elde etmek hala güçtür. Bunun için kemik mühendisliği ve doku rejenerasyonunu hedefleyen yöntemler araştırılmaktadır. Kemik kaybı olan bölgelerde kemik rejenerasyonu ve hücre proliferasyonunu sağlamak için doku mühendisliği uygulamaları kullanılmaktadır. Doku mühendisliği geleneksel biyomateryal uygulamalardan farklı olarak yalnız kaybedilmiş dokulara ait defekt bölgelerinin dolumunu değil, rejenerasyon kapasitesi olan dokuların oluşumunu da amaçlamaktadır (20,90,91).



Deneysel hayvan çalışması yapılırken en çok köpek, tavşan, fare, domuz ve hamster kullanılır; çünkü bu deney hayvanlarının doku yapısı insana benzerlik göstermektedir. Köpekler üzerinde deneysel çalışma yapmak için etik olarak izin almanın zorluğu, domuzlarda çalışmanın güç olması ve beslenme ve barınmasının zor olması, hamsterlerin yeterince temin edilememesi ratların tercih edilmesine neden olmuştur(92). Ayrıca ratların bulunması kolay olması, maliyetin az olması, çalışma ve doku örneği alımının kolay olmasından dolayı araştırmalarda daha çok ratlar kullanılmaktadır. Biz de bu nedenlerden dolayı çalışmamızı ratlar üzerine gerçekleştirdik.

Ratlarda kritik kemik defektinin boyutu konusunda tam bir görüş birliği mevcut değildir. Birçok yazar 8 mm'yi kabul ederken, diğerleri de 4, 5 ve 6 mm'yi kritik büyüklükte kemik defekti boyutu olarak tanımlamışlardır (93, 94, 95). Bizim çalışmamızda ise 7 mm'lik kritik boyutta kemik defekti oluşturulmuştur.

Kemik iyileşmesinin ikinci safhası olan granülasyon safhası kemik yarasından 2-3 gün sonra başlamasına rağmen yapısal olarak 7-12 gün sürmektedir. Bu safhadan sonra oluşan granülasyon dokusu yavaş olarak yumuşak fibrötik kallusa dönüşmektedir. Bu süreçte oluşan yumuşak kallusa Ca ve P tuzlarının çökmesiyle daha sert olan kallus oluşmaktadır. Kallus oluşumu 4-16 hafta arasında gerçekleşmektedir (31,33). Çalışmamızda kullandığımız deney hayvanlarının ötenazi günleri ratlardaki kemik iyileşme hızı ve literatürdeki benzer çalışmalar referans alınarak kararlaştırılmıştır. ABS'nin kemik iyileşmesi üzerindeki erken dönemdeki etkileri için 28. günde ve ABS'nin kemik iyileşmesi üzerindeki geç dönemdeki etkileri için 56. günde ötenazi planlanmıştır.

Alveoler kemiklerde çeşitli sistemik hastalıklar, cerrahi operasyonlar, travma, periodontal hastalıklar ve konjenital nedenler sonucunda hastaların estetik ve fonksiyonunu etkileyen farklı özellikte defektler meydana gelmektedir. Değişik miktarda madde kaybı oluşan kemik dokusunun arzu edilen formda ve sürede iyileşmesi için, birçok organik, yarı sentetik, tam sentetik ve alloplastik greft materyalleri kullanılmıştır (96,97).

Günümüzde çeşitli biyomateryaller kullanılmaktadır. Bunlardan osteogenezis, osteoindüktif ve osteokondüktif etkiye sahip olan otogreftler sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak otogreftlerde ikincil bir cerrahi operasyon, donörlerden alınan greft miktarının sınırlı olması, hastalarda morbidite (ağrı, şişlik, enfeksiyon ve fonksiyon kaybı) riskinin yüksek olması, operasyon sonrası erken rezorbsiyon riskinin var olması otogreftlerin tercih edilmesini sınırlar (98,99).

Otogreftlere alternatif olarak allogreftler önem kazanan materyallerdir. Bu greftler, otogreftlerin elde edilmesinin sınırlı olmasından dolayı büyük kemik defektlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu greftler farklı genetikteki canlılardan elde edildiğinde güçlü bir immün yanıtı neden olmaktadır. Ayrıca bu greftlerde var olan osteojenik özellikler nedeniyle çeşitli hastalıkların taşınması, yabancı cisim reaksiyonu ve enfeksiyon bulaşma riski vardır (2,20,29).

Son yıllarda araştırmalar alloplastik greftler üzerine yoğunlaşmıştır. Bu greftlerden  $\beta$ -TCP defekt alanında uzun süre fiziksel yapısını koruyan geç rezorbe olan bir greft türüdür. Bazen bu rezorbsiyon süresi 1-1,5 yıla kadar uzamaktadır. Bu süreç boyunca defekt alanında kemik dokusu ile fonksiyonel ve anatomik bir bütünlük içinde yer değiştirdiği bildirilmiştir. Kemik greft materyellerinde rezorbsiyon süresi ve hızı önemlidir. Erken rezorbsiyon kemik dokusunda istenilen kemik rejenerasyonu elde edilememesi ile sonuçlanabilmektedir(100).

Sentetik TCP ve HA greftleri biyouyumlu olmaları ve osteokondüktif özelliklerinden dolayı otojen kemik greftleri yerine yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.  $\beta$ -TCP radyografilerde ve SEM'de en erken 4 haftada rezorbe olmaktadır.  $\beta$ -TCP kullanımı sonrası; materyal birleşimine, por büyüklüğü, geometrisine ve partikül yapısına bağlı olarak yeni kemik oluşumu farklılık göstermektedir(101).

$\beta$ -TCP'nin por büyüklüğü 1-1000  $\mu\text{m}$  arasında değişmesine rağmen ideal por büyüklüğü 50-150  $\mu\text{m}$  arasındadır (16). Bizim çalışmamızda kullandığımız  $\beta$ -TCP greftin por büyüklüğü 25-100  $\mu\text{m}$  arasındadır.

$\beta$ -TCP lakünelarda kalan osteojenik hücreler arasında intersellüler iletişimi sağlayarak çok güçlü osteokondüktif etki sağlar, buna karşın  $\beta$ -TCP çok kırılmandır. Güçlü mekanik kuvvetlere karşı iskelet yapısı dayanıklı değildir(102). Defekt alanında bu grefti kondanse ederken fazla kuvvet uygulamaktan kaçınmak gerekir; çünkü  $\beta$ -TCP'nin fiziksel geometrisinde değişiklikler ve yapısal kırılmalar gerçekleşebilir.

Goshima ve ark. (103) tavşan tibiasında segmental kemik defekti oluşturdukları çalışmanın histolojik analizinde; 2. haftada granülasyon dokusu, inflamatuvar hücreler ve az miktarda immatür kemik formasyonu saptamışlardır. 4. haftada ise granülasyon dokusunun mineralize olmaya başladığını ve osteoklastların ortaya çıktığını izlemişlerdir. 6. ve 8. hafta incelemelerinde ise greft partiküllerinin bir kısmının rezorbe olmaya başladığını ve yeni kemik adacıklarının oluştuğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da diyabetik olmayan grupların 28. günde  $\beta$  – TCP gruplarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır. Yine damar dilatasyonu ve hemorojide bu gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır.

Çalışmamızda histolojik olarak değerlendirdiğimiz damar dilatasyonu ve hemoraji açısından literatürde benzer bir çalışma bulunmamıştır. Damar dilatasyonu ve hemorajinin kemik iyileşmesi üzerine etkisi inflamasyonun etkisine benzerdir. Çünkü yara alanında konak cevabı için ilk olarak damarların genişlemesi gerçekleşir ve daha sonra inflamasyonla ilgili hücreler kan damarlarından dokuya geçerek yara alanında etkilerini gösterirler. Yara iyileşme süreci boyunca inflamasyon ve damar dilatasyonu ve hemorojide azalma meydana gelmektedir.

Ağaçayak ve ark. (100) kritik büyüklükteki kemik defektlerinde mezenkimal kök hücrelerin etkisinin araştırıldığı çalışmada, 90 adet ratta 7 mm çapında karvaryal

kemik defekti oluşturmuşlardır. Çalışma dizaynında, 1. gruba bifazik kalsiyum fosfat(BCP) uygulanmıştır, 2. gruba BCP + PRP uygulanmıştır, 3. gruba BCP+ mezenkimal kök hücre (MSC) uygulanmıştır, 4. gruba BCP+ PRP+ MSC uygulanmıştır ve 5. gruba herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 2., 8. ve 12. haftada yapılan histopatolojik analizde, ostogenezis, osteoblastik aktivite ve kemik hücreleri yoğunluğu(osteosit yoğunluğu) değerlendirilmiştir. 2. haftada osteoblastik aktivite çok az oranda gerçekleşirken, 8. haftada bu oran artmış ve 12. haftada çok ciddi artış olduğu bildirilmiştir. 2., 8. ve 12. haftada yapılan değerlendirmede, osteopontin ve osteonektin ekspresyonu, greft+PRP+MSC grubunda en yüksek bulunmuş, bunu sırasıyla greft+ MSC grubu, greft +PRP grubu izlemiştir ve en son olarak greft grubunda olduğu görülmüştür ve greft grubunda, kontrol grubuna göre osteonektin ve osteopontin boyamada anlamlı fark olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmaya benzer olarak diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında osteoblastik aktivite  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara göre  $\beta$ -TCP gruplarında hem 28. günde hem de 56. günde osteoblastik aktivitenin olması kemik iyileşmesinin devam ettiğini ve defekt dolununun gerçekleştiğini göstermektedir.

Shirakata ve ark.(104) köpeklerde tek duvarlı periodontal kemik defektlerindeki iyileşme üzerine  $\beta$ -TCP, mine matriks türevi (EMD) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)'nin etkisinin araştırıldığı çalışmada, 4 adet köpekte periodontal defekt oluşturulmuştur.  $\beta$ -TCP, kontrol,  $\beta$ -TCP+EMD,  $\beta$ -TCP+bFGF ve bFGF+EMD+  $\beta$ -TCP olmak üzere 5 farklı gruba ayrılmıştır. 10. haftalık histopatolojik çalışma sonucunda tüm gruplarda yeni kemik oluşumu olduğunu ve gruplar arasında yeni kemik oluşumu açısından herhangi bir anlamlı fark olmadığı; ancak bFGF+EMD+  $\beta$ -TCP grubunda diğer gruplara göre yeni sementum oluşumunda artış olduğu görülmüş; ancak bunun anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Dinçer ve ark. (105) domuz tibiasında kemik defektlerinin rejenerasyonunda  $\beta$ -TCP ve Trombositten Zengin Fibrin (PRF)'in etkisinin değerlendirildiği

çalışmasında, 3 adet domuz tibiasında bilateral 10 mm aralıklarla 4 adet 5 x 5 mm<sup>2</sup> olmak üzere toplam 24 adet defekt oluşturulmuştur. Bu çalışmada; kontrol, PRF,  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ PRF olmak üzere 4 eşit grup oluşturulmuştur. 12 hafta sonra yapılan histolojik ve stereolojik analizler sonucunda,  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna yeni kemik oluşumu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ve en yüksek artışın  $\beta$ -TCP+ PRF uygulanan grupta olduğu bildirilmiştir.

Krause ve ark.'nın(106) tavşan tibiasında yeni enjekte olabilen  $\beta$ -TCP kemik greft maddesinin metafizik kemik oluşumu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, 24 adet tavşanın bilateral tibiasında 5.7 mm çapında kemik defektleri oluşturmuştur. Çalışma dizaynında tavşanların yarısına  $\beta$ -TCP ve diğer kalan yarısına herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 1., 4., 12. ve 24 haftada yapılan histopatolojik ve histomorfometrik değerlendirme sonucuna göre  $\beta$ -TCP erken kemik oluşumunu stimüle etmektedir. Ayrıca intramedüller kemik onarımı ve olgunlaşmasını hızlandırdığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da 28. günde  $\beta$ -TCP grubunda osteoblastik aktivitede artış saptanmış ve yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Tavşanlarda bilateral sinüs tabanını yükseltmek için kullanılan üç biyomateryalin kemik rejenerasyonundaki etkisinin değerlendirildiği çalışmada, tavşanlarda sığır hidroksi apatiti,  $\beta$ -TCP ve bifazik kalsiyum fosfat kullanmıştır. Her gruptaki biyomateryelin osteogenezisin hızlandırılmasında etkili olduğu ve en yüksek greft partikül rezorbsiyonunun  $\beta$ -TCP uygulanan grupta görüldüğü bulunmuştur (107).

Chawla ve ark.(108) 12 periodontal bilateral kemik içi defekti olan hastada  $\beta$ -TCP etkisinin değerlendirdikleri klinik çalışmada, deney grubuna  $\beta$ -TCP ve kontrol grubuna hiçbir biyomateryal uygulanmamıştır. Başlangıç ve 6 ay sonra klinik ve radyolojik değerlendirme yapılmıştır. Bu çalışma sonucuna göre, her iki grupta da önemli derecede cep derinliğinde azalma ve klinik ataçman düzeyinde kazanç olduğu ve  $\beta$ -TCP uygulanan grupta, kontrol grubuna göre defekt dolumunun anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir.

Yuan ve ark.(102) köpeklerde pöröz  $\beta$ -TCP ve stromal kemik iliği hücrelerinin mandibular kemik defektlerinin onarımında iyileşmeye etkisinin araştırıldığı çalışmada, 16 adet köpeğin 6 tanesine  $\beta$ -TCP+ kemik iliği hücreleri, 6 tanesine yalnızca  $\beta$ -TCP uygulanmış ve 4 tanesine herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 4., 12., 26. ve 32. haftada sonrasında alınan radyolojik (DEXA), biyomekanik ve histolojik sonuçlara göre,  $\beta$ -TCP+kemik iliği hücreleri uygulanan grupta 4. haftada yeni kemik oluşumu gözlemlenmiş ve kemik birleşimi 32. haftada gerçekleşmiştir.  $\beta$ -TCP uygulanan grupta az miktarda yeni kemik oluşumu ve fibröz doku görülmüştür. Biyomekanik analizlere göre,  $\beta$ -TCP+kemik iliği hücreleri uygulanan grupta 32. haftada kemik birleşim yerindeki kemik dokusunda eğilme dayanıklılığı, eğilme stresi ve young modülü açısından başarılı bulunmuştur. Bu araştırma sonucunda rezorbe olabilen  $\beta$ -TCP+kemik iliği hücrelerinin birlikte kullanımı kritik boyuttaki segmental mandibular defektlerin onarımında başarılı olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre 32. haftada KMY değerleri açısından,  $\beta$ -TCP+kemik iliği hücreleri grubu ile  $\beta$ -TCP arasında anlamlı fark bulunmasına rağmen  $\beta$ -TCP+kemik iliği hücreleri grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır.  $\beta$ -TCP grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Wash ve ark.(109) tavşanlarda bilateral tibial defektlerinde  $\beta$ -TCP kemik grefti türevleri ile yapılan çalışma modelinde, 66 adet tavşanda 5 x15 mm<sup>2</sup> boyutta tibial defekt oluşturulmuştur. Bu defektlere vitoss (1-4 mm), osferion(1-3 mm), chronos (1.4-2.8 mm ) üç benzer kimyasal özellikte ticari markadan  $\beta$ -TCP greftleri uygulanmıştır. Araştırma sonucunda, bütün materyallerin osteokondüktif etkiye sahip olduğu ve defektlerde ve implant çevresinde yeni kemik oluştuğu bildirilmiştir. Materyaller arasında rezorbsiyon zamanı farklılık göstermiş ve vitossun diğer materyallerden daha hızlı rezorbe olduğu başlanmıştır. Partikül geometrisi, por yapısı ve birleştiricisinin farklı olma ihtimali olabileceği belirtilmiştir.

Rojbani ve ark.(101) ratların kalvariyal defektlerinde simvastatin, HA,  $\beta$ -TCP ve  $\alpha$ -TCP kombinasyonunun osteokondüktif etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 72

adet ratta 5 mm çapında kalvariyal defektlere simvastin+(HA,  $\beta$ -TCP,  $\alpha$ -TCP) ve yalnızca HA,  $\beta$ -TCP,  $\alpha$ -TCP ve kontrol grubu olmak üzere 7 farklı grup oluşturmuştur. 6. ve 8. hafta sonra ratlar sakrifiye edilerek alınan örneklerin radyolojik ve histolojik analizler sonucunda, HA,  $\beta$ -TCP,  $\alpha$ -TCP materyalin osteokondüktif etkiye sahip olduğu ve en hızlı rezorbsiyonun  $\alpha$ -TCP'de ve en geç rezorbsiyonun HA'da olduğu gözlenmiştir.  $\beta$ -TCP ve  $\alpha$ -TCP'de yeni kemik oluşumu daha yüksek olarak saptanmıştır. Simvastatinin bu greftlerle kombinasyonunda yeni kemik oluşumunda ve rejenerasyonunda artış olduğu bildirilmiştir.

Yukarıdaki çalışmalara benzer olarak diyabetik olmayan ratların 28. ve 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu,  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Buna göre  $\beta$ -TCP grefti ile yapılan çalışmaların çoğunda 4. haftadan itibaren yeni kemik oluşumunun anlamlı derecede artırması Rojbanı ve ark.(101)'nın sentetik TCP ve HA greftlerle yaptığı çalışma sonuçları ile uyumludur.

Ogese ve ark.(110) insanlarda yüksek saflıkta  $\beta$ -TCP greftin histolojik olarak değerlendirildiği çalışmasında, 14. günde greftin seramik yüzeyinde osteoblastik hücre tutulumu, makroporlarda vasküler invazyon ve osteoklastlar tarafından gerçekleşen erken rezorbsiyon, 28. günde  $\beta$ -TCP ve kemik arasında, önceden var olan kemik ile direkt kemik bağlantısı, 72. günde  $\beta$ -TCP yüzeyinin neredeyse tümüyle lameller kemik ile kaplanmış ve ayrıca osteoblastik alanda ve osteoklast gibi büyük hücreler gözlemlenmediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında, osteoblastik aktivitenin  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunun saptanması, bu çalışmadaki bulgular ile benzerlik göstermektedir. Osteoblastik aktivitenin yüksek olması defekt alanlarında kemik yapımı olduğunun göstergesidir.

Lee ve ark.(111) tavşanların kranial kemiğinde  $\beta$ -TCP greftin kemik rejenerasyonundaki etkisinin incelendiği deneysel çalışmasında, 4., 8. ve 12. haftada sakrifiye edilerek alınan örneklerin immünohistokimyasal analizler sonucunda, yeni

kemik formasyonu otojen greft 4. haftada ve  $\beta$ -TCP greft 8. haftada oluşmuştur. Bu çalışma sonucunda; kemik rejenerasyonunda ve kemik iyileşmesinde otojen greftin daha üstün olduğu bildirilmiştir.

Özdemir ve ark.(112) tavşanların kalvaryum defektlerinde çift PRF uygulaması sonrasında osteonektin (ON) ve osteokalsin(OC) ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmada, 28 adet tavşanda bilateral kalvaryum defektleri oluşturulmuştur. Açılan defektlere sırasıyla tek PRF, tek PRF +  $\beta$ -TCP, çift PRF, çift PRF+ $\beta$ -TCP uygulanmıştır ve kontrol gruplarına ise herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 30. günde sakrifiye edilen tavşanların immünohistokimyasal analizlerinde, çift PRF; tek PRF ve kontrol grubuna göre ON ve OC yüzdelerinde anlamlı derecede artış olmadığı görüldü.  $\beta$ -TCP uygulanan gruplarda,  $\beta$ -TCP uygulanmayan gruplara göre ON yüzdelerinde anlamlı artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında, İnflamatuar hücre infiltrasyonu  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır.  $\beta$ -TCP ile ABS grupların kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma olmasına rağmen  $\beta$ -TCP ile  $\beta$ -TCP+ABS grubu arasında inflamasyonda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma bulunmamıştır. Bunun nedeninin, ABS'nin inflamasyonu baskılamada geç dönemdeki etkilerinin sınırlı olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. 56. gündeki gruplar arası histolojik skorların karşılaştırılmasında damar dilatasyonu ve hemoraji açısından;  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları ile kontrol grubu ve  $\beta$ -TCP grubu ile ABS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir.

ABS; thymus vulgaris, glycyrrhiza glabra, vitis vinifera, alpinia officinarum ve urtica dioica gibi bitkilerden standart bir karışım şeklinde elde edilen bitkisel esaslı bir hemostatik ajandır. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından 26 Ekim 2007 tarihinde onaylanmıştır. Bütün bu bitkiler endotelyum, kan hücreleri, anjiyogenezis, hücrel proliferasyon, vasküler dinamikler ve mediyatörler üzerine



ayrı ayrı olarak etkilerini gösterirler. ABS'nin temel mekanizması, protein ağı oluşumu yoluyla eritrosit agregasyonu için odak noktaları oluşturmaktır. ABS kullanımı sonrasında, plazmada fibrinojen antijen seviyelerinde bir düşüş ve fibrinojen aktivitesinde bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle trombin zamanı uzamıştır. Ayrıca plazma, toplam protein, albumin ve globulin seviyeleri anlamlı ölçüde azalmıştır. Buna bağlı olarak, ABS eritrosit agregasyonunu uyarmak için protein ağı oluşumu sağlamakta ve fibrinojen-eritrosit aglütinasyonunu etkilemektedir(12,113)

ABS'nin hemostatik ajan olarak diş çekimi, cerrahi operasyon, subgingival küretaj ve periodontal plastik cerrahi sonrası oluşan hemorajiyi kontrol etmek için kullanıldığını bildiren pekçok çalışma mevcuttur(80,81,82). Ayrıca ABS'nin hemostatik etkisinin yanı sıra antibakteriyel, antimikrobiyal ve antifungal etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur(70,84,85,86). ABS'nin kemik ve yumuşak doku yara iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır ve halen de yapılmaktadır(79,81). ABS'in yara iyileşmesi sürecinde kan pıhtısının oluşumu, sitotoksikite ve yeni kemik oluşumu üzerine pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir(80).

Tek ve ark.(80) 3. molar dişin çekiminden sonra ABS'nin gelişen alveolitin iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirmişler ve ABS uygulanan grupta alveolit gelişme oranında artış olmadığını bildirmişlerdir.

Gül ve ark.(114) ABS'nin sıçan kalvaryal defektlerindeki kemik rejenerasyonuna etkilerini inceledikleri çalışmada, ABS uygulanan grupta iyileşmenin hızlandığını; ancak bu osteogenetik aktivitenin kesin mekanizmasının anlaşamadığını bildirmişlerdir.

Aktop ve ark.(115) varfarin ile tedavi edilen sıçanlarda iki farklı lokal hemostatik ajanın kısa dönemde yumuşak doku iyileşmesi üzerine olan etkilerini karşılaştırıldığı çalışmada, sistemik yolla varfarin verilen 24 sıçanın 12 tanesini deney grubu, diğer 12 tanesini de kontrol grubu olarak 2'ye ayırmışlardır. Sıçanların sırt derisine birbirlerinden 2 cm aralıklarla 2 cm uzunluğunda 3 adet bistüri insizyonu

yapılmıştır. Oluşturulan yaralardan birine Celox®, diğerine ABS uygulanmıştır ve diğer yaraya hiçbir hemostatik ajan uygulanmamıştır. Sonuç olarak her iki ajanın da kanama kontrolünde etkili olduğunu; ancak Celox®'un uygulandığı grupta kaliteli bir iyileşme oluşurken, ABS'nin uygulandığı grupta hızlı bir iyileşme olduğunu rapor etmişlerdir.

Gülsatar ve ark.(116) yaptığı çalışmada ABS ve Topikal Tripeptid Bakır Kompleksinin (TCC) ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin incelenmiştir. 24 adet rat 3 eşit gruba ayrılmıştır. Ratların skapularının kaudal sınırına yakın 1.5x 1.5 cm<sup>2</sup> cilde yara yüzeyi oluşturulmuştur. Oluşturulan yara yüzeyine 1. gruba ABS, 2.gruba TCC ve 3. gruba kontrol olarak hiçbir medikal ürün uygulanmamıştır. Histopatolojik ve biyopsi örnekleri; 0., 7., 14. ve 21. günde alınmıştır. Çalışma sonucunda ABS ve TCC uygulanan grupta ortalama iyileşmemiş yara alanın daha az ve küçük iyileşme yüzdesinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Akalın ve ark.(77) ABS'nin sekonder yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini histolojik ve fotoğrafik olarak incelenmişlerdir. Sıçanların sırt bölgesinde tam kalınlık deri defekti oluşturmuşlardır. Oluşturulan yara defektine ABS uygulanmış ve fibroblast hücrelerinin proliferasyon derecesi, damarlanma derecesi, yara kontraksiyon oranı ve tip I/tip III kollajen oranı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Aktaş ve ark.(117) deneysel rat modelinde ABS'nin erken yumuşak doku iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışma sonucunda, yumuşak doku iyileşmesini etkileyen önemli markırları içeren hücrelerin sayısı ve biyolojik aktivitesini arttırmasından dolayı, ABS'nin erken yumuşak doku yara iyileşmesinde hızlandırıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir.

İşler ve ark.'nın(14) ABS' nin erken dönem kemik iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendikleri çalışmada 16 adet sıçanın tibiasında 3 x 2 mm<sup>2</sup> kemik defekti oluşturmuşlardır. Defektlerden birine ABS uygulamışlar, diğer defekt ise boş bırakılmıştır. 7. günde ratlardan aldıkları örneklerin histopatolojik incelemesinde

inflamasyon, nekrozis, fibrozis ve yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. ABS uygulanan defekt grubunda daha az enfeksiyon, inflamasyon, nekroz saptanmış ve yeni kemik oluşumunun daha fazla görüldüğü bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda da nondiyabetik ratlarda 28. günde gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemoraji incelenmiş, bu skorlarda ABS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma bulunmuştur. ABS grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olması İşler ve ark.'nın(14) yaptığı araştırmanın sonucu ile uyumluyken, Güven G.'nin(118) ve Yüce ve ark.'nın (119) yaptıkları çalışmaların bulguları ile uyumlu değildir.

ABS' nin kemik yüzeylerine geç dönemde etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 30 adet ratın femuruna bilateral olarak 3 mm çapında kemik defekti oluşturulmuştur. Deney grubuna 0,5 ml ABS uygulanmış, kontrol grubuna herhangi bir madde uygulanmamıştır. Histopatolojik inceleme sonucunda 7. günde ABS uygulanan grupta yeni kemik yapımının diğer günlere göre daha fazla olduğu bulunmuştur. 28. ve 42. günlerde ise kontrol grubu ile benzer sonuçlar bulunmuştur. Buna göre ABS' nin erken dönem kemik iyileşmesini hızlandırdığı ve hiçbir yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadığı ifade edilmiştir (113).

Ankaferd kanama durdurucu ve heterolog kemik greftin sinüs tabanı yükseltilmesi uygulamalarında kemik iyileşmesine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, 1.haftada hiçbir grupta yeni kemik oluşumu görünmediğini; ancak diğer haftalarda tüm gruplarda yeni kemik oluşumunda artış olduğu ve en fazla artışın ABS+ heterogreft grubunda görüldüğü ve 8. hafta sonunda tüm gruplarda sonuçların benzer olduğu bildirilmiştir(120).

Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu;  $\beta$ -TCP+ABS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olmasına rağmen ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu

çalışma aynı zamanda  $\beta$ -TCP'nin 56. günde gösterdiği etki ile uyumludur.  $\beta$ -TCP+ABS grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı derecede yüksek fark olması Çakir ve ark.'nın(120) ve Öztemel A.'nın(121) yaptığı çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur.

Günay ve ark.(122) ABS'nin rat femur kemiğindeki fraktürün iyileşmesi üzerine etkileri inceledikleri yapılan çalışmada, 48 adet ratı ABS grubu ve kontrol grubu olarak ayırmıştır. 7., 21. ve 45. günlerde yapılan radyografik değerlendirmede, ABS uygulanan grup ile kontrol grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu açısından; ABS ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ABS ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması; ABS'nin hem erken hem de geç dönemde kemik iyileşmesinde etkili olduğunu göstermektedir. Şimşek ve ark.'nın(113), Günay ve ark.'nın(122) ve Öztemel A.'nın(121) çalışmalarıyla uyumlu değildir.

ABS'nin kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 30 adet tavşanın tibiasında bilateral olarak 5 mm çapında 2 adet kemik defekti oluşturulmuştur. Sol tibiadaki defektlere sırasıyla ksenojenik kemik grefti + ABS ve diğer defekte 0,1 cc ABS uygulanmış, sağ tibiada oluşturulan defektlere sırasıyla ksenojenik kemik grefti ve 0,1 cc serum fizyolojik uygulanmıştır. 7., 15., 30. ve 45. günlerde ratlardan alınan örnekler incelenmiştir. İnceleme sonucunda, ABS uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında kemik dolum miktarı bakımından herhangi bir fark bulunmamıştır. ABS uygulanan gruplarda ABS uygulanmayan gruplara göre daha fazla inflamasyon görülmüş ve greft veya greft + ABS uygulanan gruplar ile diğer gruplar arasında inflamasyon açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. ABS uygulanan defektlerde 15. günde inflamasyon düzeyi daha düşük bulunmuştur. ABS uygulanan gruplarda 7. ve 30. günde endosteal kemikleşme miktarı anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Hiçbir bir grupta yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadığı ifade edilmiştir ve immünohistokimyasal

değerlendirmede, ABS uygulanan gruplarda Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ve OC ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir(121). Bizim çalışmamızda da diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında İnflamatuar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemoraji açısından,  $\beta$ -TCP+ABS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma bulunmuştur. Bu sonuçlara göre çalışmamızın bulguları bu çalışma sonuçları ile uyumludur. Ayrıca, ABS ile  $\beta$ -TCP+ABS grupların kendi aralarında da istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur.  $\beta$ -TCP+ABS ile ABS grubu arasında anlamlı fark olması,  $\beta$ -TCP 'ın erken dönemde inflamasyonu baskılamadaki olumlu etkilerinden kaynaklanmış olabilir.

ABS'nin terapötik düzeyde warfarin sodyum uygulanan ratlarda diş çekim sonrasında yara ve kemik iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, 84 adet ratta sağ üst 1. molar dişin çekimi sonrası oluşan çekim boşluğuna ABS ve serum fizyolojik uygulanmıştır. 7., 14., 21. ve 30. günlerde sakrifiye edilen ratlardan alınan örneklerin histopatolojik ve histomorfometrik incelemesinde, ABS uygulanan gruplarda 14. günde yeni kemik oluşumunda anlamlı derecede artış olduğu ve yara epitelizasyonu ve bağ dokusu miktarında az miktarda artış olduğu ve ABS'nin yara iyileşmesinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bildirilmiştir(123). Bizim çalışmamızda da diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu; ABS grubunda kontrol grubuna göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark saptanmıştır. ABS grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olması Gül ve ark.'nın(114) ve Tetik A.'nın (123) sonuçları ile uyumludur; fakat Şimşek ve ark.'nın(113), Günay ve ark.'nın(122), Yüce ve ark.'nın(119) ve Güven G.'nin(118) çalışmalarının sonuçlarıyla uyumlu değildir.

ABS'nin kemik ve yumuşak doku yara iyileşmesi üzerine erken ve geç dönem etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 48 sıçan 24 adet olmak üzere 2 gruba eşit şekilde ayrılarak alt çene angulus bölgesinde defekt oluşturulmuştur. Deney grubuna topikal ABS uygulanmış, diğer defekt alanı boş bırakılmıştır. 5., 15. ve 30.

günde sıçanlar sakrifiye edilerek alınan örneklerin histopatolojik olarak iltihaplanma, yabancı cisim reaksiyonu, nekroz, fibrozis, damarlanma, epitel dejenerasyonunu ve yeni kemik oluşumunun değerlendirilmiştir ve ABS grubu ile kontrol grubu arasında herhangi bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre, ABS'nin topikal olarak kemik dokusu yara iyileşmesi üzerinde herhangi bir olumlu ve olumsuz etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (118).

Sıçanlarda diş çekimi sonrasında ABS'nin doku iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, 24 adet sıçanın alt sağ-sol 1. molar dişleri çekilerek toplam 48 adet çekim bölgesi elde edilmiştir. Bu çekim bölgeleri; ABS, Celox® uygulanan deney grubu ve kontrol grubu olmak üzere eşit sayıda üç gruba ayrılmıştır. 2., 7. ve 21. günlerdeki histolojik analizlerde ABS'nin kısa dönemde doku iyileşmesinde etkili olduğu bulunmuştur (124).

Yüce ve ark.(119) çekim soketinde ABS'nin erken kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmasında, inflamasyon infiltrasyonu, osteoit farmasyonu ve mineralize alanların, ABS grubunda kontrol grubuna göre biraz fazla olduğunu; ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda ABS'nin çekim soketinde topikal uygulanmasının erken kemik dokusu iyileşmesinde etkisi saptanmamış ve ABS'nin in vivo ortamda inflamasyonu artırdığı bildirilmiştir.

Pamuk ve ark.(125) hastalardaki periodontal kemik içi defektlere kemik greftleri uygulandıktan sonra ABS'nin kemik iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirmişler, 15 kronik periodontitis hastasında split-mouth çalışma dizaynında çapraz 30 bölgede çalışma yapmışlardır. Gruplar, otogreft kortikal kemik grefti veya otogreft + ABS şeklinde iki farklı gruba ayrılmıştır. Başlangıç ve periodontal cerrahiden 6 ay sonrası alınan plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği, klinik ataşman düzeyi, dişeti çekilmesi ve dişeti oluk sıvısı miktarındaki değişimler ölçülmüştür. Bu ölçümlere göre, ABS vasküler endotel hücre fonksiyonu ve anjiogenezi stimüle ederek otogreft tarafından doldurulmuş periodontal defektlerin

iyileşme sürecinde yumuşak dokuların iyileşmesini hızlandırmıştır. Dişeti çekilmesini önlemiş ve sonuç olarak klinik ataçman kazancı sağladığı bildirilmiştir.

ABS,  $\beta$ -TCP ve PRF'in tavşanlarda kemik iyileşmesi üzerine etkisini incelemek için yapılan çalışmada, 21 adet tavşanda 9 mm'lik kalvaryal kemik defektleri oluşturulmuştur. Deneysel tavşan modelinde; ABS+  $\beta$ -TCP, PRF+  $\beta$ -TCP ve sadece  $\beta$ -TCP olmak üzere her grupta 7 adet tavşan olacak şekilde 3 ayrı gruba ayrılmıştır. 1., 3. ve 6. ayda sakrifiye edilen tavşanlardan alınan radyolojik ve histolojik değerlendirmede, erken dönemde ABS ve PRF'nin kemik iyileşmesini hızlandırdığı; ancak istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda ABS ve PRF'nin erken dönemde yeni kemik oluşumunu arttırarak kemik iyileşme sürecinde pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir (126).

Domuzlarda cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde ABS ve sığır kaynaklı ksenogreftin kemik rejenerasyonu üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 9 adet domuzda  $10 \times 5 \text{ mm}^2$  boyutta 3 tane defekt oluşturulmuştur. Her bir domuzdaki defekt alanına sırasıyla; ABS+ ksenogreft, mikroküreler içinde ABS+ ksenogreft ve üçüncü defekt boş bırakılmıştır. 10. haftalık histomorfometrik analizler sonucunda, hem ABS hem de ksenogreftin kombine kullanımı, kontrol grubuna göre kemik rejenerasyonunda anlamlı derecede artış saptanmıştır; fakat mikroküreler içine yerleştirilmiş ABS+ ksenogreft karışımı ile ABS solüsyonu+ ksenogreft karışımı arasında yeni kemik oluşumu açısından herhangi bir anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir (50). Bizim çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında yeni kemik oluşumu; ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları kontrol grubuna göre ve (ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS ) grupların kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.  $\beta$ -TCP+ABS ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması; Sanrı M.'nin(50) çalışmaları ile uyumlu olmasına rağmen Çakir ve ark.'nın (120) yaptığı çalışma sonuçları ile uyumlu değildir. Bu sonuçlara göre  $\beta$ -TCP greftin 56. günde kemik rejenerasyonu üzerinde hem tek başına hem de ABS ile birlikte kullanımında olumlu bir etkisinin olduğunu ve en yüksek etkinin ABS ile birlikte kullanımında olduğu bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında, osteoblastik aktivitenin ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmasına rağmen ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS grubu ile kontrol grubu arasındaki osteoblastik aktivitenin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sonuç ABS'nin erken dönemde osteoblastik aktivasyonunda ve yeni kemik oluşumundaki olumlu etkilerine bağlanabilir. Grupların kendi aralarında bir fark olmaması  $\beta$ -TCP'nin yeni kemik oluşumunda erken dönem etkilerinin sınırlı olması nedeniyle olabilir.

Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında osteoblastik aktivite;  $\beta$ -TCP+ABS grubunda kontrol grubuna göre ve ABS ile  $\beta$ -TCP+ABS grupların kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ABS grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.  $\beta$ -TCP+ABS grubu ile kontrol grubu arasında osteoblastik aktivitenin anlamlı fark olması; kemiğin rejenerasyonu üzerine  $\beta$ -TCP'nin olumlu etkisinin olduğu göstermektedir.

Nondiyabetik ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorların karşılaştırılmasında İnflamatuar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemoraji incelediğinde;  $\beta$ -TCP+ABS grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptanmıştır.

Diyabet insülinin yetersizliğine veya yokluğuna bağlı olarak oluşan ve hiperglisemiyle karakterize olan, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının kronik ve sistemik bir hastalığıdır. Son zamanlarda obezite ve sedanter yaşam tarzının artmasına bağlı olarak Tip II diyabet prevalansında artış saptanmaktadır(127). Gecikmiş yara iyileşmesi diyabetin yaygın bir komplikasyonudur. Diyabet yara iyileşmesinde bozulmuş hücre infiltrasyonu ve uygun olmayan granülasyon doku oluşumuna neden olur. Yapılan çalışmalarda



diyabet kemiğin şekillenmesinde yara iyileşmesini etkilemektedir. Diyabetin kemik dokusunda osteoblast, osteoklast, osteoid ve osteokalsin üretimini azaltarak kemik yapım ve yıkım dengesini bozduğu rapor edilmiştir (127,128).

Diyabet sonucu oluşan komplikasyonlar hedef dokuda kollajen metabolizmasında, endotel hücre fonksiyonunda, damarların büyümesi ve çoğalmasında bir bozukluk oluşturarak yara iyileşmesinde gecikmeye neden olur (64).

Periodontal hastalıklarda birincil etken mikrobiyal dental plak olmasına rağmen bireylerdeki mevcut sistemik hastalıkların, hastalığın şiddetini ve prognozunu etkileyerek periodontal hastalık riskini arttırdığı kabul edilmiştir. Bu sistemik hastalıklardan toplumda en yaygın olanı DM' dir(9).

Diyabet ile kötü kemik yarası iyileşmesi, bozulmuş kemik rejenerasyonu, osteopeni, osteoporöz ve kemikte fraktür riski arasında potansiyel bir ilişki vardır (59). Diyabette oluşan hiperglisemide, osteoblast sayısında azalma ve osteoklast sayısında artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca fosfor ve kalsiyum metabolizmasından sorumlu olan paratiroid hormonunun cevabını değiştirmektedir ve kemik mineral yoğunluğunda azalma meydana getirmektedir (63).

Kimyasal, viral ve cerrahi yolla deneysel diyabet hayvan modelleri oluşturulabilir. STZ, kimyasal yolla tek doz olarak uygulanmasıyla pankreas  $\beta$  hücrelerinde kısmi hasar oluşturarak diyabet oluşturulabilir(129). Junod ve ark.'ın STZ uygulama dozunun 25-100 mg/kg olduğunu rapor edilmiştir. Literatürlerde 55-65 mg/kg STZ dozları arasında diyabetik etki olarak herhangi bir fark olmadığı bildirilmiştir(130). Ayrıca STZ ile oluşturulan diyabetik ratlardaki diyabetin genel metabolizması insandaki DM metabolizması ile benzerdir(128). Çalışmamızda tek doz olarak 50 mg/kg STZ ile diyabetik ratlar oluşturulmuştur.

Literatürde deneysel diyabet modelinde STZ'nin enjeksiyon sonrası ne kadar sürede kemik dokusundaki etkilerinin oluşacağı konusunda tam bir görüş birliği yoktur. STZ enjeksiyonu yapıldıktan sonra üç gün içinde diyabet oluşur, ancak

dolaşım sistemindeki bozuklukların meydana gelmesi için 2-12 hafta beklenmesi gerekir. Bu süreler arasında vasküler bozuklukların farklı olmadığı bildirilmiştir(70).

Diyabetik ratlarda cerrahi olarak oluşturulan 5 mm'lik kalvaryal defektlerde farklı greft materyali ve ozonun kombine kullanmasının kemik rejenerasyonu üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 84 rat STZ ile diyabet oluşturulmuştur ve her grupta 14 rat olacak şekilde 6 eşit gruba ayrılmıştır. Bu deneysel çalışmada; 1. gruba otojen greft, 2. gruba ksenogreft, 3. gruba ozon, 4. gruba otojen greft+ozon, 5. gruba ksenogreft+ozon uygulanmış ve 6. grup boş bırakılmıştır. Histolojik değerlendirmede, 4. haftada otojen greft+ozon ve ksenogreft+ozon gruplarında, diğer gruplardan daha fazla defekt dolumu gözlemlenmiştir. 8.haftadaki defekt dolum miktarı açısından tüm gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (130).

Park & Kang (131) diyabetik ratlarda çekim soketlerinde diyot lazerin yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, 48 adet ratın sağ-sol maksiller 1. molar dişleri çekilmiştir. 1. grupta sol maksiller 1. molar dişi çekilmiş, 2. grupta sağ maksiller 1. molar dişi çekilmiş ve lazer uygulanmış, 3. grupta diyabetik ratlarda sol maksiller 1. molar dişi çekilmiş ve 4. grupta diyabetik ratlarda sağ 1. maksiller dişi çekilmiş ve lazer uygulanmıştır. 3., 5., 7. ve 14. günde yapılan incelemede; 2. grupta 5. günde osteoblastlar ve osteoid dokusu gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda en erken 14. günde yeni kemik oluşumu görülmüştür. 3. grupta 3. günde inflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğun ve kan pıhtısı yüzeyel olarak gözlemlenmiştir. 3. grupta yeni kemik oluşumu ve osteoid dokusu 7. ve 14. günde bütün gruplardan daha az olduğu gözlemlenmiştir. Bizim alışmamızda da osteoblastik aktivite diyabetik ratlarda 28. günde gruplarda artış göstermiştir.

Bulut ve ark.(62) diyabetik ratlarda kemik iyileşmesi zerine ABS'nin etkisinin değerlendirildiği çalışmalarında, 48 adet ratın 24 tanesinde STZ ile diyabet oluşturulmuş ve diğer 24 tanesi sağlıklı kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hem diyabetli gruba hem de kontrol grubuna 12 tanesine antibiyotik profilaksisi uygulanmıştır. Bütün ratların mandibulasında bilateral kemik defekti oluşturulmuş ve mandibulanın sağ tarafına ABS uygulanmış, sol tarafı ise boş bırakılmıştır. 7. ve 14.

gün sonra ratlar sakrifiye edilerek örnekler değerlendirilmiştir. Diyabetik grupta yeni kemik oluşumu miktarında hem 7. gün hem de 14. günde kontrol grubuna göre önemli derecede az kemik oluştuğu saptanmıştır. ABS uygulanan hem diyabetli hem de diyabetsiz grupta kontrol grubuna göre daha fazla yeni kemik oluşumu miktarı olduğu gözlemlenmiştir. ABS ve antibiyotik profilaksisi uygulanan diyabetli ratlarda yeni kemik oluşumu açısından önemli bir fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda diyabetik olan ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında, osteoblastik aktivite  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmasına rağmen ABS ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İnflamatuar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemoraji  $\beta$ -TCP, ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece azalmıştır. Yeni kemik oluşumunun  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olmasına rağmen ABS ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grubu ile kontrol grubu arasında yeni kemik oluşumunda anlamlı derecede yüksek fark olması, Alpan AL.(130) adlı yazarın bulguları ile uyumludur. ABS ile kontrol grubu arasında yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması, Bulut ve ark.'nın (62) yaptığı çalışma ile uyumludur. Sonuç olarak diyabetik ratlarda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bizim çalışmamızda  $\beta$ -TCP'nin osteoblastik aktivitenin artışı, inflamasyon ve damar dilatasyonun azalmasında ve yeni kemik oluşumunda kemik rejenerasyonunda etkili olduğu görülmüştür. ABS, 28. günde osteoblastik aktivite ve yeni kemik oluşumunda artış yapmamasına rağmen kemik iyileşmesinde inflamasyon ve damar dilatasyonu ve hemorojinin azalmasında olumlu bir etkisi vardır. ABS tek başına yeni kemik oluşumunda etkili olmamasına rağmen  $\beta$ -TCP ile birlikte kullanımının yüksek derecede etkili olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda diyabetik olan ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında, osteoblastik aktivite ve yeni kemik oluşumu  $\beta$ -TCP, ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur. inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar dilatasyonu ve hemoraji  $\beta$ -TCP, ABS ve  $\beta$ -TCP+ABS grupların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmasına rağmen  $\beta$ -TCP ile  $\beta$ -TCP+ABS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grubu ile kontrol grubu arasında yeni kemik oluşumunda anlamlı fark olması, Alpan AL.'nin(130) çalışması ile uyumlu değildir.  $\beta$ -TCP ve ABS'nin geç dönemde kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkisinin olduğu bulunmuştur; fakat  $\beta$ -TCP'nin kemik üzerindeki etkisi ABS'nin etkisinden daha yüksek bulunmuştur. ABS'nin defekt alanında oluşturduğu pıhtının kısa sürede rezorbe olmasından kaynaklanmış olabilir.

Bizim çalışmamızda diyabetik ve nondiyabetik ratların 28. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında; osteoblastik aktivite ve yeni kemik oluşumu ABS grubunda nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından değerlendirildiğinde; kontrol ve ABS gruplarında nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Damar dilatasyonu ve hemoraji;  $\beta$ -TCP grubunda nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda diyabetik ve nondiyabetik ratların 56. gündeki gruplar arası histolojik skorlarının karşılaştırılmasında; osteoblastik aktivite kontrol ve ABS+  $\beta$ -TCP gruplarında grubunda nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Damar dilatasyonu ve hemoraji; kontrol ve ABS gruplarında nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yeni kemik oluşumu; ABS+  $\beta$ -TCP grubunda nondiyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre; yapılan çalışmaların aksine bazı diyabetli ve nondiyabetli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamsız fark bulunmasının nedeni, glukometre ile yapılan ölçümlerde her ratın kan şekeri ölçümünün 250-600 mg/dl arasında olmasından dolayı bazı gruplarda kan şekeri değerinin diğer gruplardaki değerlerden fazla olması ve diyabetin kemik metabolizması, kollajen ve endotel dokusu üzerinde oluşturduğu bozukluklara bağlı olarak kemik yara iyileşmesindeki farklılıklar nedeniyle olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda kullandığımız immünohistokimyasal boyama yöntemi sonucu ortaya çıkan osteonektin ve osteopontin ekspresyonlarının pozitif veya negatif olarak sübjektif değerlendirmesini ortadan kaldırmak için daha güvenilir sonuçlar ortaya koyan serolojik yöntemlerden western blot yöntemi kullanılmıştır. Western blot metodu ile daha spesifik protein bantları oluşturulmaktadır. Böylece çok sayıda protein arasından yalnızca belirli proteinleri hassas bir şekilde tespit etmeye imkan vermektedir.

Osteopontin (OPN), ilk kez hayvan kemiğinden elde edilen ekstrasellüler kemik matriksinin major bir sialoproteinidir. Kemiğin yapısında bulunan hidroksiapatite yüksek derecede afinite göstermektedir ve hidroksiapatit ile hücreler arasında köprü görevi gören bir kemik proteinidir. Ayrıca OPN'nin içinde barındırdığı integrinlerin hücre migrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir ve OPN, birçok reseptör ve birkaç interaktif sinyal yolları ile hücre aktivasyonunu stimüle eder. Yara iyileşmesi, metastaz yapan kanserler, diyabet, obezite ve mineralizasyon gibi durumlarda OPN aktivasyonunda değişiklik olduğu bildirilmiştir (132,133).

OPN, kemikte farklı düzeyde osteoblastik hücrelerin üretimini ve farklılaşmasını sağlar. OPN kemik, dentin, sement, böbrek, embriyonik stromadaki fibroblast ve yara iyileşme alanları gibi birçok doku hücrelerinden salgılanır(132).

ON, kemik matriksinde osteoblastlar tarafından sentezlenen kollajen olmayan asidik özellikte ekstrasellüler matriks glikoproteinidir. Periodontal ligamentte, sementte, kemikte, fibroblast ve osteoblast hücrelerinde bulunur. ON, kemik ve kıkırdağın başlangıçtaki kalsifikasyonunun oluşmasında, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücrelerin göçünde rol almaktadır(134). Mineralizasyonda kalsiyum tuzlarının kollajen lifler üzerine çökmesini proteoglikanlar ve ON sağlar; çünkü ON kalsiyum tuzlarının bağlanmasında yüksek afinite göstermektedir(135).

ON, anjiogenezi ve matriks metalloproteinazların (MMP) ürünlerini stimüle eder. Büyüme faktörleri ve diğer aktif kemik ajanları ON ekspresyonunu regüle etmektedir (136).

ON, osteoidin derin katmanlarını göstermekte kullanılır ve kemik matriksinin mineralizasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (137).

Özdemir ve ark.(112) tavşanlarda çift trombositten zengin plazma uygulaması sonrasında osteokalsin ve osteonektin ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmada, 28 tavşanda çift taraflı kalvaryal defektler oluşturmuşlardır. 30. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, çift taraflı PRP grubu ile kontrol grubu arasında ON ve OC ekspresyonu açısından anlamlı fark bulunmamıştır; ancak  $\beta$ -TCP grubunda kontrol grubuna göre ON ve OC ekspresyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Perrien ve ark.(138) ratlarda distraksiyon osteogenezisinde osteopontin ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak araştırıldığı çalışmada, ratların sol tibialarında küçük osteotomilerle distraktörler yerleştirilmiştir. 14. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, OPN ekspresyonu her bir ekstrasellüler kemik matriks zonda gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın bulgularına göre OPN'nin distraksiyon osteogenezisi boyunca kemik oluşumu ve kemik yapımının başlanmasında etkili olduğu saptanmıştır.

Nagata ve ark.'nın(139) ratlarda kritik büyüklükte kemik defektlerinde otojen kemik grefti/ PRP kemik iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 25 adet rat kalvaryumunda 5 mm çapında defektler oluşturmuşlardır. 5 grup oluşturulmuştur. 1. grup kontrol grubu, 2. gruba otojen kemik grefti, 3. gruba otojen kemik +PRP-50  $\mu$ l, 4. gruba otojen greft+ PRP- 100  $\mu$ l, 5. gruba otojen greft+ PRP- 150  $\mu$ l uygulanmıştır. 30. günde yapılan immünohistokimyasal analizde, OPN ekspresyonunun ve kemik yara iyileşmesinin en fazla olduğu grubun otojen greft+ PRP- 100  $\mu$ l olduğu bildirilmiştir.

Thorwarth ve ark.'nın(140) domuzlarda sığır kollajeni ve PRP ile kemik formasyonu boyunca kemik matriks proteinlerinin ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmalarında, 24 adet domuz 6 eşit gruba ayrılarak her domuzun kalvaryumunda 10 mm çapında kemik defekti oluşturulmuştur. 1. gruba otojen kemik grefti, 2. gruba

otojen kemik grefti+PRP1, 3. gruba otojen greft+ PRP2, 4. gruba sığır kollajeni, 5. gruba sığır kollajeni + PRP1, 6. gruba sığır kollajeni + PRP2 uygulanmıştır. 2., 4., 12. ve 26. haftalarda yapılan analiz sonucunda, osteonektin ve osteopontin bütün örneklerde erken kemikleşme döneminde etkili olduğu bildirilmiştir.

Ivanovski ve ark.'nın(141) köpeklerde periodontal yara iyileşmesinde bariyer membranla ilişkili matriks moleküllerinin çalışıldığı araştırmada, 4 adet köpeğin alt çenesinde bilateral 2. premolar dişin 5 mm apikalinde kemik kaldırılarak dişin kökünde sement kazınmıştır. Diş kökünün yüzeyinde oluşturulan defekte politetrafluroetilen membran yerleştirilerek flep mine-sement hizasında suturlanmıştır. 4. haftada yapılan immünohistokimyasal analizde, osteopontin ekspresyonunun defekt içinde sement ve kemik rejenerasyonunda çok güçlü lokalize olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda diyabetik olmayan 28. gündeki ratlarda OPN ve ON ekspresyonlarda artış olduğu görülmüştür. OPN ekspresyonunda artış olması, Nagata ve ark.'nın(139) ve Thorwarth ve ark.'nın(140) yaptığı çalışmalarla uyumludur. ON ekspresyonda artış olması, Thorwarth ve ark.'nın(140) yaptığı çalışmayla uyumludur. Çalışmamızda OPN ve ON ekspresyonlardaki artışın hangi gruplarda anlamlı olduğunu belirlemek için western blot yöntemi kullanılmıştır. OPN ve ON ekspresyonu 28. günde  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP +ABS gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. OPN ve ON ekspresyonunun bu iki grupta anlamlı yüksek olması osteoblast hücrelerinin ve osteosidin yoğun olarak gözlendiğinin göstergesidir. Bu gruplarda kemik yapımında etkili olan hücrelerin olması, bu defektlerde kemik yapımının olduğu ve osteosidin yoğun olması kemik yapımının gerçekleşmesi bakımından önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda diyabetik olmayan 56. gündeki ratlarda OPN ve ON ekspresyonlarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmamız Ağaçayak ve ark.'nın(101) çalışmalarıyla uyumludur. Ancak artışın hangi gruplarda yüksek olduğunu belirlemek için yapılan western blot yönteminde, OPN ve ON ekspresyonunun hiçbir grupta anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. OPN ve ON

ekspresyonunun erken dönemde daha yüksek olarak görülmesi ve geç dönemde artışın olmaması, osteoblastik aktivitenin erken dönemde daha yoğun ve geç dönemde daha düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda 28. gündeki diyabetik ratlarda OPN ekspresyonu  $\beta$ -TCP +ABS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni erken dönemde osteoblastik aktivitenin yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir. ON ekspresyonu 28. ve 56. günde  $\beta$ -TCP +ABS gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. OPN ve ON ekspresyonlarının  $\beta$ -TCP +ABS gruplarında yüksek olmasının bu iki materyalin birlikte kullanımının sinerjik etki göstererek osteoblastik aktiviteyi artırması nedeniyle olabileceğini düşünmekteyiz.

DEXA sıklıkla osteoporöz hastaların tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntem kemik mineral yoğunluğu ve miktarını, farklı enerji düzeyindeki fotonların absorpsiyon miktarı yoluyla ölçmektedir (142). Günümüzde halen altın standart olarak kullanılmaktadır. Taramalar iki boyutlu olup alansal yoğunluğun belirlenmesinde kullanılır. Bu cihazların ölçümlerinde sıkı güvenlik ve kalibrasyon uygulamaları kullanılmaktadır( 88). Barou ve ark.'nın (143) osteoporöz ratlarda yaptığı çalışmada kemik kayıpları ve değişikliklerini; yüksek çözünürlü üç boyutlu mikrobilgisayarlı tomografiler(3D- $\mu$ CT), DEXA ve histomorfometrikte analizlerle yapılmıştır. DEXA ve 3D- $\mu$ CT kemik kaybı değişikliklerini 13. günde histomorfometriden daha erken tespit etmiştir. Ratlarda kemik trabeküllerinin yoğunluğunun DEXA, histomorfometri ve bilgisayarlı tomografi (CT) ile ölçüldüğü bir başka çalışmada, DEXA ve CT bulguları histometri bulgularından anlamlı derecede farklı bulunmuştur; çünkü DEXA ve CT kortikal ve kansellöz kemik ölçümü yaparken, histomorfometri sadece kansellöz kemik ölçümü yapmaktadır(142). Bu nedenle çalışmamızda erken dönemde kemik iyileşmesinin hem kortikal hem de kansellöz kemik iyileşmesinin değerlendirilmesinde DEXA kullanılmıştır.



Fındık ve ark.'nın(142) düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının otojen kemik grefti iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, 32 adet ratın her iki femurunda 3 mm çapında kemik defekti oluşturulmuştur. Ratların sağ femurundaki defekte otojen kemik grefti yerleştirilmiştir ve 15 günde her gün 20 dakika ultrason dalgaları uygulanmıştır. Ratların sol femurundaki defekte sadece otojen kemik grefti uygulanmıştır. 18. günde yapılan radyolojik (DEXA) analiz, gruplar arasında karşılaştırılmasında KMY ve KMM değerleri arasında anlamlı fark olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre ultrason dalgalarının kemik iyileşmesinde olumlu etki yaptığı rapor edilmiştir.

Distraksiyon osteogenezisinde kemik dokusu iyileşmesi üzerine lazer uygulanmasının incelendiği çalışmada, 14 adet tavşanın bilateral mandibulasında özel tasarlanmış distraktör apareyi yerleştirilmiştir. Sol mandibulaya sadece distraktör yerleştirilmiştir ve sağ mandibulaya distraktör + lazer uygulanmıştır. 30. ve 60. günde yapılan DEXA analizinde KMY değerlerinde lazer grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. Lazer grubunun başlangıç ve deney sonucu bulgularının grup içi karşılaştırılmasında KMY değerlerinde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (144). Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların 28. ve 56. gündeki ratların gruplar arası karşılaştırılmasında, KMM değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur; ancak KMY değerleri açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır. 28. ve 56. günde ratların KMM ve KMY değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışma bulguları bizim çalışmamızda gruplar arası karşılaştırılmasındaki KMM değerleri ile uyumludur; ancak KMY değerlerinin grup içi karşılaştırılmasındaki bulgular ile uyumlu değildir. Bu çalışmanın bulgularının bizim çalışmamızın bulgularından farklı olması bizim çalışmamızda ratların kalvaryumunda geniş bir defektin oluşturulması ve bu defekte yerleştirdiğimiz greft materyalinin kemik dokusuna dönüşmemiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Reikeras ve ark. (145) ratlarda tibial kırığın iyileşmesinde yumuşak dokunun etkisinin araştırıldığı çalışmada, 30 adet ratta 8 mm<sup>2</sup>'lik kemik kırık hattı tibiada

oluşturulmuştur. 8 hafta sonra DEXA analizinde, kırık iyileşmesinde gruplar arasında KMM ve KMY değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların gruplar arası karşılaştırılmasında KMY değerleri Reikeras ve ark.'nın (145) çalışma bulguları ile uyumludur ve Fındık ve ark.'nın (142) çalışma bulguları ile uyumlu değildir. Çalışmamızın bulgularının Fındık ve ark.'nın(142) yaptığı çalışmanın bulguları ile uyumlu olmamasının sebebi, Fındık ve ark.'nın(142) çalışmasında kullandığı otojen kemiğin erken rezorbe olması ile yeni kemik oluşumun hızlanması sonucunda kemik yoğunluğunda bir artış olabileceğidir. Bizim çalışmamızda kullandığımız alloplastik greft mateyalinin rezorpsiyon süresinin uzun olması nedeniyle KMY değerleri düşük bulunmuştur. Pala E. (144) ve arkadaşlarının çalışmasında ise, distraksiyon osteogenezisinde kemik yara kenarları arasındaki defektin küçük olmasından dolayı kemik rejenerasyonunda etkili olan kemik hücrelerinin defekt bölgesine repopüle olmasının hızlı olması ve sonuç olarak kemik oluşumunda arttıktan kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Diyabetik olmayan ratların 28. gündeki KMM değerleri  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları ile kontrol grubu arasında,  $\beta$ -TCP grubu ile ABS grubu arasında ve ABS grubu ile  $\beta$ -TCP+ABS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark bulunmuştur. Bu çalışmanın bulgularına göre,  $\beta$ -TCP grefti ve ABS'nin 28. günde radyolojik olarak kemik miktarını arttırdığını; ancak  $\beta$ -TCP greftin kemik rejenerasyonunda daha etkili olduğu tespit edilmiştir.  $\beta$ -TCP+ABS ile  $\beta$ -TCP grefti kemik rejenerasyonunda etkilerinin benzer olduğu bulunmuştur.

Nondiyabetik grubun 56. gündeki KMM değerleri değerlendirildiğinde,  $\beta$ -TCP grubunda ABS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark saptanmıştır. Aynı şekilde ABS grubu ile  $\beta$ -TCP+ABS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın bulgularına göre 56. günde radyolojik olarak  $\beta$ -TCP grefti, ABS'den fazla ve  $\beta$ -TCP+ABS ile benzer miktarda kemik miktarını arttırdığı bulunmuştur. 28. ve 56. gündeki gruplar arası karşılaştırılmasında KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yuan ve ark.'nın (102) yaptığı çalışmada 32. haftada gruplar arası

KMY değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında,  $\beta$ -TCP grefti ile kontrol grubu arasında fark bulunmuştur. Bu çalışmaya göre,  $\beta$ -TCP grefti uzun süreli çalışmalarda KMY değerleri anlamlı fark bulunabilir. Bizim alışmamızda planlanan 8 haftalık süre KMY değişimi açısından az olduğundan anlamlı sonuç saptanmamıştır. Genel olarak literatürde yapılan kısa süreli çalışmalarda da KMY değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda diyabetik olmayan ratların başlangıç ile 28. gündeki ve başlangıç ile 56. gündeki DEXA'ların grup içi karşılaştırılmasında KMM ve KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamızın bulguları Pale E.(144) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuç bulgularını desteklemektedir. Bunun nedeni çalışmamızın süresinin yeterince uzun olmaması nedeniyle olabilir ve kullandığımız sentetik greft materyalinin geç rezorbe olmasından kaynaklanmış olabilir.  $\beta$ -TCP'nin materyal birleşiminden, por büyüklüğü, geometrisi ve partikül yapısından kaynaklanmış olabilir. Diyabetik olmayan ratların 28. günde ile 56. günde arasındaki gruplar arası karşılaştırılmasında,  $\beta$ -TCP grubu ve  $\beta$ -TCP + ABS grubu hem KMM hem de KMY değerleri arasında, ABS grubunda ise sadece KMM değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark bulunmuştur.

İnsüline bağlı DM hastalarda DEXA ile KMY'nin ölçüldüğü çalışmada, 94 hastanın yaşları 20-56 arasında değişen 1-35 yıl arasında değişen DM yks olan hastalarda femur ve lomber spinada yapılan radyolojik analizde (DEXA), DM komplikasyonları olan hastalarda KMY değerlerinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır(146).

Bizim çalışmamıza benzer çalışma olmamasından dolayı çalışmamıza yakın olan çalışmalar referans alınmıştır. 28. ve 56. günde diyabetik ratlar arasındaki KMM ve KMY değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında sadece 28. günde KMM değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın KMY bulguları AboElAsrar ve ark.'nın (147) ve Duartae ve ark.'nın (148) alışma sonucu bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızda saptanan 28.

gündeki KMM bulguları AboElAsrar ve ark.'nın(147) yaptıkları çalışmaların bulguları ile uyumlu değildir. Çalışmamızda plandığımız 4 haftalık sürenin AboElAsrar ve ark.'nın (147) takip ettiği süreden kısa olması nedeniyle çalışmamızın sonuçları ile farklı bulgular bulunmuş olabilir. 56. gündeki KMM değerlerin bulguları AboElAsrar ve ark.'nın (147) yaptığı çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızın sonucuna göre, 28. ve 56. günde diyabetik ratlarda yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda KMY değerleri AboElAsrar ve ark.'nın (147) yaptığı çalışma bulguları ile uyumludur. 56. gündeki KMM ve KMY değeri açısından AboElAsrar ve ark.'nın (147) çalışması ile uyumludur.

Çalışmamızda 28. gündeki diyabetik ratlarda, tüm grupların kontrol grubuna göre KMM değerleri açısından anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Bu kullanılan greft ve ABS'nin diyabetin erken döneminde az da olsa etkilerinin görülmesi nedeniyle olabilir. 56. gündeki KMM değerleri açısından ise kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun nedeni süre uzadıkça diyabetik komplikasyonların kemik yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkisinden kaynaklanmış olabilir. 28. ve 56. gündeki KMY değeri de gruplar arasında anlamlı fark bulunmaması literatür sonuçları ile uyumludur. DM kemikte trabeküllerde azalmaya neden olduğu için kemik yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız diyabetik ratların başlangıç ile 28. gündeki ve başlangıç ile 56. gündeki DEXA değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında KMM ve KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamızda anlamlı sonuç ortaya çıkmamasının nedeni diyabetin kemik üzerindeki olumsuz etkilerinin yara iyileşmesini geciktirmesinden, greft materyalinin geç rezorbe olmasından ve ABS'nin etkisinin yetersiz olması nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Diyabetik olan ratların 28. günde ve 56. günde gruplar arası karşılaştırılmasında, sadece kontrol grubundaki KMM değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark bulunmuştur. Bu sonuçlar bize diyabetin kemik rejenerasyonundaki olumsuz etkisini göstermesi açısından önemlidir.

AboElAsrar ve ark.'nın(147) Tip 1 DM hastalarda cross-talk ve büyüme faktörü-1 sitokinlerin insüline bağlı etkisinin araştırıldığı çalışmada, 100 hastanın 60'ı Tip 1 DM ve 40'ı sağlık bireylerden oluşmaktadır. 10 aylık hasta takibi sonucunda DEXA analizlerine göre, bütün vücut ve bel bölgesi KMM ve KMY değerleri açısından diyabetli grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır; diyabetik grubun kendi içindeki iyi kontrollü ve kontrolsüz diyabetik hastalar arasında da bütün vücut ve bel bölgesi KMM ve KMY değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Badescu ve ark.'nın(149) deneysel diyabet oluşturulmuş ratlarda mürver çiçek ekstratsının kemik mineral yoğunluğu mekanizması üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, 48 adet ratı 4 eşit gruba ayrılmıştır. 1. grup kontrol grubu diyabet olmayan, 2. grup diyabet grubu, 3. grupta ise diyabet olmayan ve mürver çiçek ekstratı uygulanmıştır ve 4. grupta diyabet oluşturulmuş ve mürver çiçek ekstratı uygulanmıştır. 16. haftada DEXA analizinde, KMM ve KMY değerleri açısından deney grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Duarte ve ark.'nın(148) DM ile ilişkili kemik hastalıklarının değerlendirildiği çalışmada, 50 adet erkek rat 25 diyabet olmayan kontrol grubu ve diğer 25 diyabet oluşturulmuş deney grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır. 120. günde yapılan DEXA analizinde femur ve mediafizal bölgede KMY değerleri diyabetik grupta azalmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Öktem ve ark.'nın (150) tip 2 DM hastalarında kemik mineral yoğunluğunun araştırıldığı çalışmada, 67 kadın hastayı; 36'sı tip 2 DM olan diyabet grubu ve 31'si diyabet olmayan kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Hastaların DEXA analizinde diyabetik grup ile kontrol grubu arasında KMY değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Patrocínio-Silva ve ark.'nın(151) diyabetik ratlarda kemik dokusunda düşük düzeyli lazerin etkisinin incelendiği çalışmada, 30 adet ratın tibia ve femurunda defektler oluşturmuştur. Ratlar 3 gruba ayrılmıştır. 1. grup kontrol grubu, 2. grup

diyabetik kontrol ve 3. grup ise diyabetik lazer uygulanan grup olarak adlandırılmıştır. 6. haftada alınan radyolojik analizlerde (DEXA), diyabetik kontrol grubundaki KMM ve KMY değerleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Ayrıca histopatolojik analizde diyabetik lazer uygulanan grupta osteoblastik aktivitenin arttığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda diyabet olmayan ve diyabetik olan ratların 28. ve 56. gündeki DEXA değerlerinin KMM ve KMY skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında, genel olarak AboElAsrar ve ark.'nın (147), Öktem ve ark.'nın (150), Duarte ve ark.'nın(149) ve Patrocínio-Silva ve ark.'nın (151) yaptığı çalışmanın sonuçları ile benzerlik saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda nondiyabet ve diyabetik ratların gruplar arası DEXA değerlerinin karşılaştırılmasında, gruplar arasında başlangıçtaki KMM ve KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır, 28. gündeki gruplardan kontrol ile ABS gruplarının KMM değerleri ve  $\beta$ -TCP grupların KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark bulunmuştur. 56. gündeki gruplardan  $\beta$ -TCP grupları ile  $\beta$ -TCP+ ABS gruplarının KMM değerleri ve  $\beta$ -TCP gruplarının KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark bulunmuştur. Bu bulgulara göre diyabetli ratların KMM ve KMY değerleri diyabet olmayan ratlara göre düşük bulunmuştur ve bu bulgular literatür sonuçları ile uyumludur.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, diyabetik ve nondiyabetik ratlarda cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde alloplastik kaynaklı beta trikalsiyum fosfat kemik grefti ( $\beta$ -TCP) ve kanama durdurucu bitki ekstresinin (ABS) kombine kullanımının kemik rejenerasyonuna etkisi histopatolojik, immünohistokimyasal, Western blot ve radyolojik (DEXA) olarak incelenmiştir.

### **Kemik defektlerin histopatolojik değerlendirmesinde;**

1. Diyabetik olmayan ratlarda 28. günde osteoblastik aktivitede artışın; ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP gruplarında kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu; ancak ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları da kendi aralarında anlamlı fark olmadığı ve 56. gündeki ratlarda ise  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol ve ABS grubuna göre daha belirgin olduğu,
2. Diyabetik olmayan ratlarda 28. gündeki inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemorajide incelendiğinde ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark olduğu ve 56. gündeki ratlarda ise  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark olduğu,
3. Diyabetik olmayan ratlarda 28. gündeki yeni kemik oluşumunda incelemesinde ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı; ancak bu üç grubun kendi aralarında anlamlı derecede artış olmadığı ve 56. gündeki ratlarda ise ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derece artmış; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grubu kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur,
4. Diyabetik ratlarda 28. gündeki osteoblastik aktivitede artış  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP gruplarının kendi aralarında anlamlı derecede fark olmamasına

- rağmen ABS grubuna göre artışın belirgin olduğu ve 56. gündeki ratlarda ise ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre artışın daha belirgin olduğu; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark olduğu,
5. Diyabetik ratlarda 28. gündeki inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar dilatasyonu ve hemorajide azalma ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark olduğu ve 56. gündeki ratlarda ise ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu; ancak  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen ABS grubuna göre anlamlı fark olduğu,
  6. Diyabetik ratlarda 28. gündeki yeni kemik oluşumunda artış  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derece arttığı ve  $\beta$ -TCP, ABS ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kendi aralarında da anlamlı derecede artış olduğu ve 56. gündeki ratlarda ise ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP grupları kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı; ancak ABS,  $\beta$ -TCP ve ABS+ $\beta$ -TCP gruplarının kendi aralarında anlamsız fark olduğu,
  7. Diyabetik ratlarla diyabetik olmayan ratların 28. gündeki osteoblastik aktivitede artış ABS gruplarında daha belirgin olduğu, İnflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma ABS ve kontrol gruplarında daha belirgin olduğu, damar dilatasyonu ve hemorajide azalma  $\beta$ -TCP gruplarında daha belirgin olduğu, yeni kemik oluşumunda artış ABS grubunda daha belirgin olduğu,
  8. Diyabetik ratlarla diyabetik olmayan ratların 56. gündeki osteoblastik aktivitede artış kontrol ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında daha belirgin olduğu, İnflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma hiçbir grupta belirgin olmadığı, damar dilatasyonu ve hemorajide azalma kontrol ve ABS gruplarında daha belirgin olduğu, yeni kemik oluşumunda artış  $\beta$ -TCP+ABS grubunda daha belirgin olduğu,



### **İmmunohistokimyasal değerlendirme;**

1. Diyabetsiz ratlarda bütün deney gruplarında osteopontin ve osteonektin ekspresyonu pozitif olarak görülmüş; ancak yapılan western blotta osteopontin ve osteonektin ekspresyonu en fazla 28. günde  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında saptanmıştır.
2. Diyabetli ratlarda bütün deney gruplarında osteopontin ve osteonektin ekspresyonu pozitif olarak görülmüştür; ancak osteopontin ekspresyonu en fazla 28. günde  $\beta$ -TCP+ABS ve osteonektin en fazla 28. ve 56. günde  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında saptanmıştır.

### **Radyolojik(DEXA) değerlendirme;**

1. Diyabetik olmayan ratların 28. gündeki gruplar arası karşılaştırılmasında;  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupların kontrol grubuna ve  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupların ABS grubuna göre KMM artışı daha belirgin olduğu; ancak kendi aralarında anlamlı bir artış olmadığı,
2. Diyabetik olmayan ratların 56. gündeki gruplar arası karşılaştırılmasında;  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupları ABS grubuna göre KMM artışı daha belirgin olduğu; ancak kendi aralarında anlamlı bir artış olmadığı,
3. Diyabetik ratların 28. gündeki gruplar arası karşılaştırılmasında; ABS,  $\beta$ -TCP ve  $\beta$ -TCP+ABS grupların kontrol grubuna göre KMM artışı daha belirgin olduğu; ancak kendi aralarında anlamlı bir artış olmadığı,
4. Diyabetik olmayan ve diyabetik ratların başlangıç ile 28. ve 56.gündeki KMM ve KMY değerlerin grup içi karşılaştırılmasında; hiçbir grupta anlamlı bir artış olmadığı,
5. Diyabetik olmayan ratların 28. gün ile 56. gündeki KMM ve KMY karşılaştırılmasında;  $\beta$ -TCP grupta KMM ve KMY değerinde, ABS grubunda sadece KMM değerinde ve  $\beta$ -TCP+ABS grubunda KMM ve KMY değerinde anlamlı bir artış olduğu,
6. Diyabetik ratların 28. gün ile 56. gündeki KMM ve KMY karşılaştırılmasında; kontrol grubunda KMM değerinde anlamlı bir artış olduğu,

7. Diyabetik olmayan ve diyabetik ratların 28. gündeki KMM ve KMY değerleri karşılaştırılmasında; kontrol gruplarında KMM değerinde,  $\beta$ -TCP gruplarında KMY değerinde, ABS gruplarında KMM değerinde anlamlı bir artış olduğu,
8. Diyabetik olmayan ve diyabetik ratların 56. gündeki KMM ve KMY karşılaştırılmasında;  $\beta$ -TCP gruplarında KMM ve KMY değerinde ve  $\beta$ -TCP+ABS gruplarında KMM değerinde anlamlı bir artış olduğu,

Bu çalışmada diyabetik ve nondiyabetik ratlarda kemik rejenerasyonunda sentetik greft ile ABS kombine kullanımını konu alan, bir çalışmadır. ABS'nin hem diyabetik hem nondiyabetik gruplarda yara iyileşmesinde ve yeni kemik oluşumunda olumlu etkileri olmasına rağmen tam bir kemik rejenerasyonunun istendiği durumlarda mutlaka bir kemik grefti ile birlikte kullanımının daha başarılı sonuçlar oluşturulacağını ve bu konuda yapılacak daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç bulunduğunu düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Çağlayan G. Periodontal Hastalıkların Patogenezi. 1.Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi basımevi, 2010:124-1699.
2. Tanyel C. Greft Materyalleri. Dişhekimliği Dergisi. 2008;84:28-33.
3. Young S., Patel Z.S., Kretlow J.D., Murphy M.B., Mountziaris P.M., Baggett L.S., Ueda H., Tabata Y., Jansen J.A., Wong M. & Mikos A.G. Dose effect of dual delivery of vascular endothelial growth factor and bone morphogenetic protein-2 on bone regeneration in a rat critical-size defect model. Tissue Engineering. Part A 2009; 15: 2347–2362.
4. Xu L., Lv, K., Zhang W., Zhang X., Jiang X. & Zhang F. The healing of critical-size calvarial bone defects in rat with rhPDGF-BB, BMSCs, and b-TCP scaffolds. Journal of Materials Science in Materials in Medicine, 2012; 23: 1073– 1084.
5. Rodriguez R., Kondo, H., Nyan M., Hao J., Miyahara T., Ohya K. & Kasugai S. Implantation of green tea catechin a-tricalcium phosphate combination enhances bone repair in rat skull defects. Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials, 2011; 98: 263–271.
6. Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Kloss FR, Rupprecht S, Kessler P. Degradation characteristics of  $\alpha$  and  $\beta$  tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. J Biomed Mat Res, 2002; 63(2):115-121.
7. Top G. Kemik Greft Materyalleri ve Özellikleri. Bitirme Tezi. İ. Diş Hekimliği Fakültesi. İstanbul; 2006.
8. Çağlayan G. Periodontal Hastalıkların Epidemiyolojisi. 1.Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi basımevi, 2010:204-220.

9. Tunalı M, Erşahan Ş, Aydınbelge M. Periodontal Hastalık ile Diyabet Arasında Çift Yönlü İlişki. Sağlık Bilimleri Dergisi 2014; 23 (1):28-38.
10. Follak N., Klötting I. & Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats. Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 2005; 21: 288–296.
11. Rakel A., Sheehy O., Rahme E. & LeLorier J. Osteoporosis among patients with type 1 and type 2 diabetes. Diabetes & Metabolism, 2008: 34: 193–205.
12. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazlı S, Akman U, Ozturk Y, et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. J Int Med Res, 2008;36:163-170.
13. Odabaş, ME, Ertürk M, Çınar Ç, Tüzüner T, Tulunoğlu Ö. Cytotoxicity of a new hemostatic agent on human pulp fibroblasts in vitro. Med. Oral Pathol. Oral Cir. Bucal, 2013; 16: 584 – 587.
14. İşler SC, Demircan S, Cakarer S, Cebi Z, Keskin C, Soluk M, Yüzbaşıoğlu E. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper on early bone healing. J. Appl. Oral. Sci. 2010;18: 409 – 414.
15. Bartold M. Periodontal tissues in health and disease: introduction. Periodontology 2000, 2006;40:7-10.
16. Ataoğlu T., Gürsel M. Ataoğlu T, editör. Kemik Defektleri ve Tedavisi. 2. Baskı. Konya, Bahçivanlar basımevi, 1999:137-142.
17. Yücel Ö Ö, Gültekin S E. Periodontal Hastalıkların Periodontal Dokulardaki Biyobelirteçleri. Türkiye Klinikleri, 2014;5(1);41-47.

18. Borrel L N, Papapanou P N. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontal*, 2005;32:132-158.
19. Kırtıloğlu T, Aıkgöz G, et. al. İleri Periodontitislerde İzlenen Kemik Defekt Tiplerinin Dağılımlarının Değerlendirilmesi. *OMU Diş. Fak. Derg.* 1999;1(2):15-18.
20. ağlayan G. *Periodontal Tedavide Kemik Kaybı ve Tedavisi*. 1.Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi basımevi, 2010:336-349.
21. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem cell niche. *Blood*, 2005; 105:2631–2639.
22. Garant, P. R. *Oral Cells And Tissues*. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 8, 2003; 195-238.
23. Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004; 20:781–810.
24. Bart C. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008; 3: 131–139, doi: 10.2215/CJN.04151206.
25. Forwood MR, Owan I, Takano Y, Turner CH. Increased bone formation in rat tibiae after a single short period of dynamic loading in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1996;270:419-423.
26. Eriksen EF, Axelrod DW, Melsen F. *Bone Histomorphometry*, New York, Raven Press, 1994, pp 1–12.
27. Fraher L. Biochemical markers of bone turnover. *Clin Biochem*, 1993; 26: 431–432.

28. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, 2004; 3(3-4):21-34.
29. Kökden A, Türker M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi, 1999; 2(2):134-140.
30. Kılıçoğlu, S. Serin: Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 55, Sayı 2, 2002.
31. Gartner Leslie P, Hiatt James L. Color Textbook of Histology. 1997: 114-130.
32. Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd Ed., London: BC Decker Inc, 2004.
33. 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.
34. Khan SN. Bone growth factors: Orthop. Clin. North Am. 2000; 31(3):375-388.
35. Develioğlu H. Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2003; 6(1):60-64.
36. Jablonski P, Goh BL, Maguire J, Glogowski I, Howden BO, Thomson NM, Stein AN: Apoptosis and the expression of genes of the Bcl-2 family and TGF-beta1 in rat renal allografts transplanted after donor-specific blood transfusion. Transplant Proc. 2005; 37(1): 93-95.

37. Başarir K, Selek H, Yıldız Y, Sağlık Y. Nonvascularized fibular grafts in the reconstruction of bone defects in orthopedic oncology. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2005; 39(4): 300-306.
38. Alfaro FH. Bone grafting in oral implantology. Techniques and clinical applications, Spain: Quintessence Books, 2006.
39. Silva RV, Camili JA, Bertran CA, Moreira NH, The use of hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats, *Int. J. Of Oral Maxillofac. Surg.* 2005; 34(2): 178-184.
40. Garg, A. *Practical Implant Dentistry*, 1996; page: 93, Taylor Publishing Company.
41. Minichetti J.C. Greftlenmiş sinüslere, öngörülen diş implantı yerleştirilmesi. *Dental Tribune, Türkiye baskısı*, 2007;4(3):10-13.
42. Misch CE. *Contemporary Implant Dentistry*, St. Louis: Mosby-Year Book, Inc, 1993.
43. Kübler N, Reuther J, Kirchner T, Priessnitz B, Sebald W, Osteoinductive, Morphologic, and Biomechanical Properties of Autolyzed, Antigen-Extracted, Allogeneic Human Bone. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51:1346-1357.
44. Carranza FA., Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza's *Clinical Periodontology* (11th Edition) 67.chapter. Philadelphia Elsevier Saunders company, 2007.
45. Kruger GO. *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*, 6th Ed., St. Louis: The C V Mosby Company, 1984.

46. Papacharalambous SK, Anastasoff KI. Natural Coral Skeluton used as Onlay Graft for Contour Augmentation of the Face. A preliminary report. *Int J Oral and Maxillofar Surg* 1993; 22:260-264.
47. Gençoğlan S. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kritik boyutlu kemik defektlerine uygulanan sığır kaynaklı demineralize kemik greftinin kemik iyileşmesine olan etkisinin otojen, allojenik ve sentetik greftlerle karşılaştırılmasının histomorfometrik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, C. Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Sivas; 2014.
48. Andreeg CR, Alexander DC, Freidman M: A bioactive glass particulate in the treatment of molar furcations, *J Periodontol*, 1999;70:384.
49. Barboza E, Caula A, Machado F. Potential of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration. *Implant Dent*, 1999; 8(4):360-7.
50. Sanrı M. Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti Ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Doktora Tezi, C. Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Adana; 2013.
51. Sjöström M, Sennerby L, Lundgren S. Bone Graft Healing in Reconstruction of Maxillary Atrophy. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011 Jul 11. doi: 10.1111/j.1708-8208.2011.00368.x.
52. Sbordone L, Toti P, Menchini- Fabris G, Sbordone C, Guidetti F. Implant survival in maxillary and mandibular osseous onlay grafts and native bone: a 3-year clinical and computerized tomographic follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24:695-703.
53. Clokie M., Urist M. Bone Morphogenetic Protein Excipients: Comparative Observations on Poloxamer. *Last Reconstr Surg* 2000; 105: 628-637.



54. Atay Herdem M, Yılmaz F.R. İki Farklı Kemik Greftinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Dicle Tıp Dergisi, 2005; 32(4):172-178.
55. Greenberg AM, Prein J. Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery: Principles of Internal Fixation Using the AO/ASIF Technique, New York: Springer, 2002.
56. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med, 1998; 15(7): 539-53.
57. Tokgöz M. Diş hekimliği ve Sistemik Hastalıklar. Diabetes Mellitus. Genişletilmiş. Baskı. İstanbul, Ecem Basımevi, 2004:144-157.
58. Kurtiş, Mazlum Bülent. Diyabetin Periodontal Dokular Üzerindeki Etkisi. Türkiye Klinikleri Journal of Periodontology-Special Topics, 2015;1(1): 1-6.
59. Laakso M, Pyrola, K. Age at onset and type of diabetes. Diabetes Care, 1985;8(2):114-7.
60. Funk JR, Hale JE, Carmines D, et al: Biomechanical evaluation of early fracture healing in normal and diabetic rats. J Orthop Res, 2000; 18: 126-32.
61. Topping RE, Bolander ME, Balian G: Type X collagen in fracture callus and the effects of experimental diabetes. Clin Orthop Relat Res. 1994; 2:220-8.
62. Bulut E, Baş B, Altunkaynak, BZ, et. al. Efficiency of Ankaferd Blood Stopper on bone healing in diabetic rats: a stereological and histopathological study. Biotechnic & Histochemistry, 2014;89(7): 535–543.

63. Ezirganlı Ş, Kazancıoğlu HO, Mihmanlı A, et. al. The effect of local simvastatin application on critical size defects in the diabetic rats. *Clin. Oral Impl. Res.* 2014; 25: 969–976.
64. Bizenjima T, Seshima F, Ishizuka Y, Takeuchi T, Kinumatsu T, Saito A. Fibroblast growth factor-2 promotes healing of surgically created periodontal defects in rats with early, streptozotocin-induced diabetes via increasing cell proliferation and regulating angiogenesis. *J Clin Periodontol*, 2015; 42: 62–71. doi: 10.1111/jcpe.12324.
65. Goodman WG and Hori MT: Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization. *Diabetes*, 1984; 33:825-31.
66. Shires R, Teitelbaum SL, Bergfeld MA, Fallen MD, Slatopolsky E and Avioli LV: The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat. *J Lab Clin Med*, 1981; 97:231-40.
67. Thorstensson H, Kuylensteirna J, Hugoson A. Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin dependent diabetics. *J Clin Periodontol*, 1996;23(3):194-202.
68. Kayaalp O: *Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler*. 2. baskı. Ankara: Hacettepe TAŞ, 2001.
69. Özyazgan, S. Diyabetin vasküler etkileri: Sıçan aortu ve internal mammarian arter çalışmalarımızdan örnekler, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpasa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A.B.D; sayfa:18-27
70. Fisgin NT, Caycı YT, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia*, 2009;80:48-50.

71. Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, Martinotti E. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *J Ethnopharmacol*, 2002; 81:105-9.
72. Barka EA, Belarbi A, Hachet C, Nowak J ve ark. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000;186:91-5.
73. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *Int Immunopharmacol* 2006;6:494-8.
74. Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorg Med Chem*, 2006; 14: 138-42.
75. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 2005; 91:131-137.
76. Haznedaroglu BZ, Haznedaroglu IC, Walker SL, Bilgili H, Goker H, Kosar A, et al. Ultrastructural and morphological analyses of the in vitro and in vivo hemostatic effects of Ankaferd Blood Stopper. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2010; 16: 446-53.
77. Akalin C, Kuru S, Barlas AM, Kismet K, Kaptanoglu B, Demir A, Astarci HM, Ustun H, Ertas E. Beneficial effects of Ankaferd Blood Stopper on dermal wound healing: an experimental study. *Int Wound J*, 2014; 11:64–68.
78. Kılıçgün A, Sarıkas, NG, Korkmaz T, Saydam O, Boran C, Boztas, G. Effect of Ankaferd Blood Stopper on air leakage in the lung and prevention of bleeding: an experimental study. *J Cardiothorac Surg*. 2011;6:20.

79. ANKAFERD BloodStopper araştırma etkinlikleri raporu - 2008. Bölüm 1. Erişim: ([www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008\\_1.pdf](http://www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_1.pdf)) 2008, Erişim tarihi: 02.10.2015.
80. Tek M, Akkas I, Toptas O, Ozan F, Sener I, Bereket C. Effects of the topical hemostatic agent Ankaferd Blood Stopper on the incidence of alveolar osteitis after surgical removal of an impacted mandibular third molar. *Niger J Clin Pract.* 2014;17:75-80.
81. Erçetin S, Haznedaroğlu IC, Kurt M, Önal IK, Aktaş A, Kurt ÖK, Göker H, Özdemir O, Kirazlı Ş, Fırat HC. Safety and efficacy of ankaferd blood stopper in dental surgery. *Int J Hematol*, 2010; 20(1):1-5.
82. Çakar S, Eyüpoğlu E, Güneş OÇ, Küseoğlu GB, et. al. Evaluation of the Hemostatic Effects of Ankaferd Blood Stopper During Dental Extractions in Patients on Antithrombotic Therapy. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2012, DOI: 10.1177/1076029611435836.
83. Seymen G. Tıbbi Bir Bitki Ekstresi Olan Ankaferd Blood Stopper Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara; 2013.
84. Deveci A, Çoban AY, Tanrıverdi Çaycı Y, Acicbe Ö, et. al. Bir Bitki Ekstresi Olan Ankaferd Blood Stopper®'in Mycobacterium tuberculosis İzolatlarına Karşı İn Vitro Etkinliği *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(1): 71-78.
85. Akkoç N, Akçelik M, et al. "In vitro anti-bacterial activities of Ankaferd medicinal plant extract." *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 2009; 29(2): 410-415.

86. Fırat HC, Özdemir O, Koşar A, Göker H, Haznedaroğlu İC. Ankaferd BloodStopper. Annual Review of Ankaferd 08-09, İstanbul: Naviga Scientific Publications, 2009;13-19.
87. Akpolat V. Osteoporoz Tanısında Kullanılan Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçüm Yöntemleri. Dicle Tıp Dergisi, 2008; 35(3): 216-220.
88. Erdem M A, Çankaya B, Oral O, Yalıtık M, Kasapoğlu Ç, Oral C K. Kemik ve Kriyoterapi. Türk Dişhekimler Derg. 2007;14(70):196-199.
89. Dorfman, H D, Czerniak, B. Bone cancers. Cancer, 1995;75: 203-210.
90. Semyari H, Rajipour M, Sabetkish S, Sabetkish N, Mashhadi A F, Kajbafzadeh A M. Evaluating the bone regeneration in calvarial defect using osteoblasts differentiated from adipose-derived mesenchymal stem cells on three different scaffolds: an animal study. Cell Tissue Bank, 2016; 17:69–83.
91. Yun J-H, Yoo J-H et al. Synergistic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on bone regeneration of calvarial defects in rabbits. Tissue Eng Regen Med, 2012;9(1):17–23.
92. Khadra M, Ronald H J, Lyngstadaas S P, Ellingsten J E, Haanes H R: Low-Level Laser Therapy Stimulates Bone-Implant Interaction: An Experimental Study in Rabbits. Clin Oral Impl Res, 2004;15: 325–32.
93. Takagi K, Urist MR: The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. Ann Surg. 196(1): 100-109:1982.
94. 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;30: 58-62.

95. Pryor ME, Susin C, Wikesjo UM: Validity of radiographic evaluations of bone formation in a rat calvaria osteotomy defect model. *J Clin Periodontol.* 2006;33(6): 455-460.
96. Bal E, Şengün O, Günhan Ö. Hidroksilapatitin Çene kemiği Defekt İyileşmesindeki Etkinliğinin Araştırılması G.Ü. Dişhek. Fak. Derg. 1991;8(2): 51 - 70.
97. Al Ruhaimi, Khalid A. Bone graft substitutes: A comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16(1): 105-114.
98. Hadjipovlou AG, Simmons JW, Yang J, Nicodemus CL, Esch O, Simmons DJ. Plaster of Paris as an osteoconductive material for interbody vertebral fusion in mature sheep. *Spine,* 2000; 25(1):10-16.
99. Göğüş A, Şener N, Akman Ş, Bilgiç B :Kemik Defektlerinin İyileştirilmesinde Kalsiyum Sülfat ve Kalsiyum Hidroksiapatitin Karşılaştırılması. *Hacettepe Derg.* 2001;11(2):49-54.
100. Agacayak, S, et al. "Effects of mesenchymal stem cells in critical size bone defect." *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012;16(5): 679-686.
101. Rojbani, Hisham, et al. "Evaluation of the osteoconductivity of  $\alpha$ -tricalcium phosphate,  $\beta$ -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2011;98(4): 488-498.
102. Yuan, Jie, et al. "Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous  $\beta$ -tricalcium phosphate." *Biomaterials,* 2007;28(6): 1005-1013.

103. Goshima K, Nakase J, Xu Q, Matsumoto K, Tsuchiya H. Repair of segmental bone defects in rabbit tibia promoted by a complex of beta-tricalcium phosphate and hepatocyte growth factor. *J Orthop Sci.* 2012;17(5):639-48.
104. Shirakata Y, Takeuchi N, Yoshimoto T, et al. Effects of Enamel Matrix Derivative and Basic Fibroblast Growth Factor with  $\beta$ -Tricalcium Phosphate on Periodontal Regeneration in One-Wall Infrabony Defects: An Experimental Study in Dogs. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry.* 2013; 33(5):641-649.
105. Dincer Y, Dogan N, Ozkan A, et al. Effect of platelet rich fibrin and beta tricalcium phosphate on bone healing. A histological study in pigs. *Acta Cir. Bras.* 2014; 29(1):59-65.
106. Krause M, Oheim R, Catala L Ph. Metaphyseal bone formation induced by a new injectable b-TCP-based bone substitute: A controlled study in rabbits *Journal of biomaterials applications.* 2013; 1-10, DOI: 10.1177/0885328213484816.
107. Lambert F, Léonard A, Lecloux G, et al. A Comparison of Three Calcium Phosphate-Based Space Fillers in Sinus Elevation: A Study in Rabbits. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2013; 28( 2):393-402.
108. Chawla K, Lamba, A K, Faraz F, et al. Evaluation of  $\beta$ -tricalcium phosphate in human infrabony periodontal osseous defects: A clinical study. *Quintessence International.* 2011; 42 (4):291-300.
109. Walsh W R, Vizesia F, Michael D, et al.  $\beta$ -TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model. *Biomaterials,* 2008;29: 266–271.
110. Ogose A, Kondo N, Umezu H, et al. Histological assessment in grafts of highly purified  $\beta$ -tricalcium phosphate (OSferion®) in human bones. *Journal of Biomaterials,* 2006;27: 1542–1549.

111. Lee S H, Han J Y, Hwang K G, et al. The experimental study of the bone regeneration on  $\beta$ -TCP in Rabbit Cranial Bone. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 2004; 30(4): 282-291.
112. Özdemir B, Kurtiş B, Tüter G, et al. Osteocalcin And Osteonectin Expression After Double-application Of Platelet-Rich Plasma In Rabbits *J Istanbul Univ Fac Dent* .2016;50(2):1-9. Doi:<http://dx.doi.org/10.17096/jiufd.40536>.
113. Şimşek H O, Tüzüm M Ş, Baykul T, et al. Experimental Investigation of the Effects of a Blood Stopper Agent (Ankaferd Blood Stopper) on Bone Surfaces. *Turk J Hematol*, 2013;30:177-183.
114. Gül Ş, Bahadır B, Kalaycı M, et al. Effects of Ankaferd Blood Stopper® on Bone Regeneration in Rat Calvarial Defects. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2011;31(2):390-6.
115. Aktop S, Alturfan E E, Özer C. Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un Varfarin Verilmiş Sıçan Derisinde Glutatyon ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2014; 20(1): 16-21.
116. Gülsatar NY, Cangül İ T, Topal A, et al. Effects of Ankaferd Blood Stopper (ABS) and Topical Tripeptide Copper Complex (TCC) on Wound Healing in Rats: An Experimental Study. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2014; 20 (4): 545-551, DOI: 10.9775/kvfd.2013.10555.
117. Aktaş A, Er N, Korkusuz P, et al. Ankaferd-Induced Early Soft Tissue Wound Healing in an Experimental Rat Model. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2013;33(6):1344-53.
118. Güven G. Hemostatik ajan olan ankaferd blood stopper (ABS) 'ın kemik ve yumuşak doku yarası üzerine erken ve geç dönem etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması. Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2012.



119. Yüce HB, Akbulut N, Akbulut S, et al. Effect of Ankaferd Blood Stopper on Early Bone Tissue Healing in Extraction Sockets: An Experimental In vivo Study. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* August, 2015; 14 (8): 1469-1473.
120. Cakir M, Karaca İR, Fırat A, et al. Experimental Evaluation of the Effects of Ankaferd Blood Stopper and Collagenated Heterologous Bone Graft on Bone Healing in Sinus Floor Augmentation. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2015; 30(2):279-285.
121. Öztemel A. Ankaferd Blood Stopper'in Kemik Dokusu İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2013.
122. Günay M, Amanvermez R, Keleş G. Ankaferd Blood Stopper: Does it have a role in fracture healing? *Turk J Med Sci*. 2013; 43: 733-738 doi:10.3906/sag-1209-44.
123. Tetik A. Terapötik düzeyde warfarin sodyum uygulanan sıçanlarda diş çekimi sonrası ankaferd blood stopper uygulamasının yara ve kemik doku iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik ve histomorfometrik olarak tespiti. Doktora Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi; 2012.
124. Arpacı S E. Sıçanlarda diş çekimi sonrasında uygulanan lokal hemostatik ajan Ankaferd'in doku iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul: Marmara Üniversitesi; 2010.
125. Pamuk F, Cetinkaya B O, Keles G C, et al. Ankaferd blood stopper enhances healing after osseous grafting in patients with intrabony periodontal defects. *J Periodont Res*, 2015; doi:10.1111/jre.12334.
126. Çakır M. Tavşan kafataslarına uygulanan sentetik kemik greftinin iyileşmesinde kanama durdurucu preparatın (ankaferd) ve trombosit zengin fibrinin etkilerinin histolojik ve radyolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2015.
127. Duran S. Diabet ve Oral Cerrahi Yönünden Önemi. *Dişhekimliği Dergisi*, 2007;75:42-44.

128. Hatice O, Hanefi O: Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. Genel Tıp Derg. 2007; 17(4):231-6.
129. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold A.E: Diabetogenic Action of Streptozotocin: Relationship of Dose to Metabolic Response. The Journal of Clinical Investigation, 1969; 48: 2129 -39.
130. Alpan A L. Diyabetik ratlarda oluşturulan kalvaryal defektlerde değişik greft materyalleri ile kombine olarak uygulanan ozonun kemik rejenerasyonu üzerine etkinliğinin araştırılması. Doktora Tezi, C. Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Sivas; 2015.
131. Park, Jung Ju, and Kyung Lhi Kang. "Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study." Lasers in medical science, 2012;27 (1): 223-230.
132. Sodek J, Ganss B, McKee MD. Osteopontin. Crit Rev Oral Biol Med. 2000;11:279–303.
133. Rangaswami H, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. Trends Cell Biol, 2006;16:79–87.
134. Bradshaw AD. The role of SPARC in extracellular matrix assembly, J Cell Commun Signal, 2009; 3:239-246.
135. Zhu, Jing-Xu, et al. Temporal and spatial gene expression of major bone extracellular matrix molecules during embryonic mandibular osteogenesis in rats. The Histochemical Journal, 2001; 33(1): 25-35.
136. Delany, A. M., et al. "Osteopenia and decreased bone formation in osteonectin-deficient mice." The Journal of clinical investigation, 2000;105(7): 915-923.
137. Romanowski R., et al. "Immunoelectron microscopy of osteonectin and type I collagen in osteoblasts and bone matrix." Calcified tissue international, 1990;46 (6): 353-360.

138. Perrien Daniel S., et al. "Immunohistochemical study of osteopontin expression during distraction osteogenesis in the rat." *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2002;50(4): 567-574.
139. Nagata Maria, et al. "Influence of the proportion of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: an immunohistochemical analysis in rat calvaria." *Bone*, 2009;45(2): 339-345.
140. Thorwarth M., et al. "Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)—an immunohistochemical analysis." *Biomaterials*, 2005;26(15): 2575-2584.
141. Ivanovski S., et al. "An immunohistochemical study of matrix molecules associated with barrier membrane-mediated periodontal wound healing." *Journal of periodontal research*, 2000;35 (3): 115-126.
142. Fındık Y, Timuçin B. "Effects of low-intensity pulsed ultrasound on autogenous bone graft healing." *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 2014;117(3): 255-260.
143. Barou O, Valentin D, Vico L, et al. Lafage-Proust High-resolution three-dimensional micro-computed tomography detects bone loss and changes in trabecular architecture early: comparison with DEXA and bone histomorphometry in a rat model of disuse osteoporosis *Invest Radiol*, 2002;37 :40–46.
144. Pala E. Distraksiyon osteogenezisinde kemik dokusu iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazer uygulanmasının etkinliğinin deneysel incelenmesi. Doktora Tezi, A. Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara; 2011.
145. Reikeras, Olav, Mona I. Winge, and Magne Røkkum. "Effect of soft-tissue attachment on tibial fracture healing in rats." *Journal of Orthopaedic Surgery*, 2015;23(1): 47.
146. Munoz-Torres, M., et al. "Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus." *Calcified tissue international*, 1996;58 (5): 316-319.

147. AboElAsrar Mohammed A., et al. "Insulin-like growth factor-1 cytokines cross-talk in type 1 diabetes mellitus: relationship to microvascular complications and bone mineral density." *Cytokine*, 2012;59 (1): 86-93.
148. Duarte, Valéria MG, et al. "Osteopenia: a bone disorder associated with diabetes mellitus." *Journal of bone and mineral metabolism*, 2005;23 (1): 58-68.
149. Badescu L, et al. "Mechanism by sambucus nigra extract improves bone mineral density in experimental diabetes." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012;2012.
150. Öktem, İ K, and Hekimsoy Z. "Tip 2 Diyabetes Mellitus' ta Kemik Mineral Yoğunluğu." *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2003;23(5): 371-377.
151. Patrocínio-Silva, Tatiane Lopes, et al. "The effects of low-level laser irradiation on bone tissue in diabetic rats." *Lasers in medical science*, 2014;29(4): 1357-1364.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Bingöl/Genç'te doğdum. İlk ve orta öğrenimini 2001 yılında Genç Yatılı İlköğretim Bölge Okulu'nda, lise öğrenimini 2004 yılında Bingöl Lise'sinde tamamladım. 2010 yılında İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nden mezun oldum. 2012 yılında Dicle Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında doktora çalışmasına başladım. Evli ve bir çocuk babasıyım.





## Turnitin Orijinallik Raporu

doktora tez Abdulsamet Tanik tarafından

abdulsamet tez (doktora) den

31-Ara-2016 00:12 EET' de işleme  
kondu

NUMARA: 755853390

Kelime Sayısı: 26280

Benzerlik Endeksi		Kaynağa göre Benzerlik	
%4		İnternet Sources:	%3
		Yayınlar:	%4
		Öğrenci Ödevleri:	%1

### kaynaklar:

- 1 1% match (yayınlar)  
[Bulbul, Feridun, İku Cakir, Cuma İku, İdris re, Onur Karabatak, and Gokay Alpak. "Childhood trauma in recurrent and first episode depression". Anatolian Journal of Psychiatry. 2013.](#)
- 2 < 1% match (22-Şub-2011 tarihli internet)  
[http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin\\_hast/emine\\_ozel.pdf](http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin_hast/emine_ozel.pdf)
- 3 < 1% match (16-Haz-2016 tarihli internet)  
[http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin\\_hast/dr\\_filip\\_tashan.pdf](http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin_hast/dr_filip_tashan.pdf)
- 4 < 1% match (02-Eyl-2016 tarihli öğrenci ödevleri)  
[Submitted to Konya Necmettin Erbakan University on 2016-09-02](#)
- 5 < 1% match (20-Ağu-2014 tarihli internet)  
<http://www.turkhipertansiyon.org/pdf/16UlusalHT&Bo-Program-SON.pdf>

6 < 1% match (yayınlar)  
GNES, Mehmet, Hilal Selcuk, Suleyman Demir, Aslihan Ibiloglu, Mahmut Bulut, Mehmet Kaya, Ahmet Yilmaz, Abdullah Atli, and Aytekin Sir. "MARITAL HARMONY AND CHILDHOOD PSYCHOLOGICAL TRAUMA IN CHILD MARRIAGE". Journal of Mood Disorders, 2016.

---

7 < 1% match (15-Haz-2016 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Akdeniz University on 2016-06-15

---

8 < 1% match (10-Mar-2014 tarihli internet)  
[http://www.journalagent.com/z4/download\\_fulltext.asp?pdif=turkderm&plng=tur&un=TURKDERM-46872](http://www.journalagent.com/z4/download_fulltext.asp?pdif=turkderm&plng=tur&un=TURKDERM-46872)

---

9 < 1% match (yayınlar)  
EFE, Mehmet, ÖZTÜRK, Füsün and KOPARAN, Şenay. "Bursa İlindeki Faal Futbol Hakemlerinin Problem Çözme ve Atılganlık Düzeylerinin Belirlenmesi". Ankara Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, 2008.

---

10 < 1% match (yayınlar)  
Mermi, Osman, and Murad Atmaca. "Thyroid gland functions are affected in obsessive-compulsive disorder". Anatolian Journal of Psychiatry, 2015.

---

11 < 1% match (03-Haz-2016 tarihli internet)  
<http://dspace.baskent.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11727/2398/10080322.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

---

12 < 1% match (yayınlar)  
tehli, ozkan, nail temiz, mehmet ozer, halil secer, engin gonul, Serhat Pusat, Alparslan KIRIK, and mehmet daneyemez. "The Investigation of Neuroprotective Effects of Aminoguanidin and N-Acetylcystein administration alone and combination in Spinal Cord Trauma model". Gulhane Medical Journal, 2015.

---

---

13

< 1% match (26-Oca-2014 tarihli internet)

[http://www.broadinstitute.org/mpr/publications/projects/Metastasis/DatasetC\\_Rosetta\\_breast\\_outcome.res](http://www.broadinstitute.org/mpr/publications/projects/Metastasis/DatasetC_Rosetta_breast_outcome.res)

---

14

< 1% match (17-Kas-2009 tarihli internet)

<http://www.workingbalance.co.uk/pdf/ueareport.pdf>

---

15

< 1% match (28-Eki-2010 tarihli internet)

<http://www.dentiss.com/>

---

16

< 1% match (22-Nis-2010 tarihli internet)

<http://www.turkpsikiyatri.com/C18S4/03psikiyatrikBirinci.pdf>

---

17

< 1% match (yayınlar)

["Ulusal Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi Sözlü Bildiriler". Acta Orthopaedica Traumatologica Turcica, 2014.](#)

---

18

< 1% match (yayınlar)

[Zeren, Ugur, Mehmet Sonmez, and Erdal Vardar. "Evaluation Of Leptin, Ghrelin, Prolactin Levels In Alcohol Dependent Patients". Bulletin of Clinical Psychopharmacology, 2011.](#)

---

19

< 1% match (31-May-2016 tarihli internet)

<http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/9955/304477.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

---



---

20

< 1% match (31-Ağu-2013 tarihli internet)

[http://istanbul saglik.gov.tr/w/tez/pdf/ic\\_hast/dr\\_hanife\\_sahin\\_balci.pdf](http://istanbul saglik.gov.tr/w/tez/pdf/ic_hast/dr_hanife_sahin_balci.pdf)

---

21

< 1% match (07-Eki-2010 tarihli internet)

[http://ntp.niehs.nih.gov/NTP-DB/NTP\\_Reports/NTP\\_Pathology\\_Tbls/96007\\_tables/01CTRL\\_VS\\_TREATP10.txt](http://ntp.niehs.nih.gov/NTP-DB/NTP_Reports/NTP_Pathology_Tbls/96007_tables/01CTRL_VS_TREATP10.txt)

---

22

< 1% match (14-Eyl-2012 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Yeditepe University on 2012-09-14](#)

---

< 1% match (29-May-2011 tarihli internet)

23

<http://www.manisaeczaciodasi.org.tr/index2.php?tur=1&detay=4&oku=5032>

---

24

< 1% match (27-Ara-2013 tarihli internet)

<http://thd.org.tr/thdData/Books/331/sozel-bildiriler.pdf>

---

25

< 1% match (05-Oca-2011 tarihli internet)

<http://www.dicle.edu.tr/merkez/sagmer/index.htm>

---

26

< 1% match (07-Kas-2010 tarihli internet)

<http://www.gulhanemedicaljournal.org/summary.php3?id=353>

---

27

< 1% match (08-Eki-2010 tarihli internet)

<http://www.stereoloji.org/skaplan/skaplan.html>

---

- 28 < 1% match (yayınlar)  
[&NA;... "Turkish Abstract Translations :". Implant Dentistry, 2014.](#)
- 29 < 1% match (09-Ağu-2013 tarihli internet)  
[http://www.journalagent.com/z4/download\\_fulltext.asp?pdid=istanbuld&plng=tur&un=ITD-87487](http://www.journalagent.com/z4/download_fulltext.asp?pdid=istanbuld&plng=tur&un=ITD-87487)
- 30 < 1% match (22-Şub-2011 tarihli internet)  
[http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin\\_hast/dr\\_esra\\_boybek.pdf](http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kadin_hast/dr_esra_boybek.pdf)
- 31 < 1% match (09-Tem-2013 tarihli internet)  
<http://www.ofthalmoloji.org/tr/makale/72/5/Tam-Metin>
- 32 < 1% match (31-May-2011 tarihli internet)  
<http://www.osteoporozdnyasindan.com/yazilar.asp?yaziid=71&sayiid=>
- 33 < 1% match (yayınlar)  
[KARADAMAR, Meltem; YİĞİT, Rana and SUNGUR, Mehmet Ali. "Ergenlerin kiloları ile ilgili algıları ve kilo kontrolüne yönelik davranışlarının incelenmesi", Turkish Journal of Research & Development in Nursing, 2015.](#)
- 34 < 1% match (yayınlar)  
[BOSNA, Güşen, EKİNCİ, Osman, YILMAZ, Arif, KAPLAN, Bekir, ERDEM, Sıdıka Batan and ÖZGÜLTEKİN, Asu. "Yüksek akımlı ve düşük akımlı anesteziinin hemodinami, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri üzerine etkilerinin karşılaştırılması", Haydarpaşa Numune Hastanesi, 2015.](#)
- 35 < 1% match (yayınlar)  
[KULA, Hale and SÜER, Cem. "Kısa süreli egzersizin antrene sporcularda deri iletkenliğine etkisi", Fırat Üniversitesi, 2006.](#)

36

< 1% match (yayınlar)

[Baskak, Seda Çelik. "Antipsikotik Tedavi Altında Olmayan Şizofreni Hastalarında Periferik T-Lenfosit ve Alt Tip Oranları ve Tedavi Yanıtıyla İlişkisi". Turk Psikiyatri Dergisi/13002163. 20080301](#)

37

< 1% match (yayınlar)

[KONKAN, Ramazan; AYDIN, Erkan; GÜÇLÜ, Oya; ŞENORMANCI, Ğ-mer and SUNGUR, Mehmet Z.. "Panik Bozukluğu Olan Hastalarda Obsesif İnanışlar". Archives of Neuropsychiatry / Noropsikiatri Arsivi. 2013.](#)

#### ödev metni:

1. GİRİŞ ve AMAÇ Doğal dişlerin kaybı sonrasında alveol kretlerde gelişen rezorbsiyonlar ilk 6 ayda daha belirgin biçimde olmak üzere, hızlı bir şekilde devam eder ve sonuçta implant yerleştirilecek alveolar kemik bulunmayabilir. Periodontal hastalığın gelişiminde dokuda oluşan inflamasyonun, kemik morfolojisinde meydana getirdiği değişiklikler sonucunda kemik dokusunda bozulmalar gerçekleşebilir. Bununla birlikte; periodontal defektlerde, diş çekimi, travma ve kistlere bağlı oluşan deformitelerin giderilmesinde çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır. Kemik greftleme işlemlerindeki amaç kemik hacminde artış sağlamaktır. Bu uygulamalarda istenilen başarıyı sağlamak için deneysel ve klinik çalışmalar halen yapılmaktadır. Fakat bu çalışmalara rağmen kaybedilen dokuların tekrar eski haline dönmesini ve kemik defektlerinin tamamen dolmasını sağlayacak ideal özellikte bir greft materyalli henüz bulunmamıştır(1). Çalışmalar; kemiğin yapısı, kemik greft materyallerinin tipleri, kemik metabolizmasına etki eden etkenler üzerine odaklanmış ve kemik rejenerasyonunu hızlandırmayı hedeflemiştir(1). Travma, patolojik ve konjenital anomalilerin olup olmaması defektlerin rejenerasyonu için tedavi sürecinde çok önemlidir. Dejeneratif, enflamatuar, enfeksiyöz ve neoplastik kaynaklı deformitelerin restorasyonu için çeşitli biyomateryal greft maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde bu amaçla otojenik, allojenik ve alloplastik kemik greftleri kullanılmaktadır(1,2). Kemik greftlerinin büyük kemik defektlerindeki hızlı ve öngörülebilir rejenerasyon kapasitesi sınırlıdır. Bunun nedeni kemik greftlerinde kemiğin yerine geçmesini modifiye ederek kemik oluşumunu sağlayan biyolojik aktif moleküller, kemik morfogenetik proteinleri(BMP) ve diğer büyüme faktörlerinin yeterince olmamasıdır(3,4). Otojen greft materyallerinin başlıca avantajı, yapısında taze osteoienik hücreler bulundurması ve immünolojik reaktiviteye neden olmaması olarak österilmektedir.