

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEMİK REJENERASYONUNDA TROMBOSİTTEN ZENGİN  
PLAZMA VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN SAĞLIKLI VE  
DENEYSEL OLARAK DİABET OLUŞTURULMUŞ DENEK  
HAYVANLARINDA İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Dt. Vedat TARI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Belgin GÜLSÜN

AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR-2012

VEDAT TARI

DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DOKTORA TEZİ  
2012

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEMİK REJENERASYONUNDA TROMBOSİTTEN ZENGİN  
PLAZMA VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN SAĞLIKLI  
VE DENEYSEL OLARAK DİABET OLUŞTURULMUŞ DENEK  
HAYVANLARINDA İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

**Doktora Tezi**

**Dt. Vedat TARI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Belgin GÜLSÜN**

**AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR**

**2012**

**Bu doktora tezi Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinatörlüğünce desteklenmiştir.**

**Proje No:10-DH-89**

## TEŞEKKÜR

Tezimin aşamalarındaki bilimsel katkı ve yönlendirmelerinden dolayı yardımını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve tezimin hazırlanmasında çok emekler sarf eden değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Belgin GÜLSÜN** 'e,

Doktora eğitimim boyunca her konuda desteğini gördüğüm ve göreceğim, çalışmalarımı engin mesleki bilgi ve tecrübesinden yararlanarak yaptığım, tezimde çok büyük katkıları olan, değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Gülten ÜNLÜ**' ye,

Yoğun çalışmaları arasında, tezimin histolojik değerlendirilmesi için bana vakit ayıran, sabır ve anlayışıyla tezimin sonuçlanmasında çok değerli katkıları olan Sayın **Prof. Dr. Yusuf NERGİZ**' e ve kendi tez çalışmasını bir yana bırakıp benim çalışmamla ilgilenen Sayın **Dr. Selçuk TUNİK**' e,

Bugünlere gelmemde sonsuz sevgi ve inançlarıyla hep yanımda olan, yürümek istediğim yola yorulmadan ışık tutan **BABAM** başta olmak üzere **sevgili annem, kardeşlerim ve tüm aileme** sonsuz teşekkür ederim.

**Vedat TARI**

## İÇİNDEKİLER

Ön sayfalar	
Kapak	
Onay Sayfası.....	I
İç Kapak.....	II
Teşekkür Sayfası .....	III
İçindekiler Dizini .....	IV
Tablolar Dizini .....	V
Şekiller Dizini .....	VI
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	IX
<b>ÖZET SAYFALARI</b>	
Türkçe Özet .....	X
Summary.....	XIII
<b>TEZ METNİ</b>	
Giriş ve Amaç .....	1
Genel Bilgiler.....	4
Gereç ve Yöntem .....	72
Bulgular.....	84
Tartışma.....	103
Sonuç .....	119
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>121</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>142</b>

## TABLO LİSTESİ

		<u>Sayfa Numarası</u>
<b>Tablo-1:</b>	Kemiğin temel yapıları	12
<b>Tablo 2:</b>	Biyomateryallerin sınıflaması	36
<b>Tablo 3:</b>	Deney Protokolü	72

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi
- Şekil 2 (A):** Kansellöz ve kortikal kemiğin kollajen yapıları
- Şekil 2 (B)** Kortikal kemikte kollajen liflerin yapıları
- Şekil 3(A):**Kortikal kemiğin morfolojik yapısı. Havers ve Volkmann kanallarının kemik yapı içerisindeki yerleşimleri.
- Şekil 3 (B) :** Birden fazla paralel ve farklı yönlerde dizilmiş kollajen liflerinden oluşmuş lameller yapılar
- Şekil 4 (A):** Kansellöz kemiğin morfolojik yapısı . Kansellöz kemiğin gevşek trabeküler yapısının görünümü.
- Şekil 4 (B)** Kansellöz kemiğin trabeküler yapısının ve kemik iliği ile kan damarı içeren örgülü yapının şematik görünümü
- Şekil 5:** İntramembranöz kemikleşme.
- Şekil 5 (A)** Mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesi
- Şekil 5 (B) :**Mezenkim hücrelerin bölünmesi ve osteoprogenitör hücreye farklılaşıp, s osteoblastlara dönüşmesi
- Şekil 5 (C) :** kalsifikasyonun sağlanması
- Şekil 6:** Enkondral kemikleşme.
- Şekil (A)** Hyalin kırıkta model
- Şekil 6 (B)** Diafiz kırıktağını örten perikondriumun iç katındaki mezenkim hücrelerinin osteoblastlara farklılaşması
- Şekil 6 (C)** Kırıkta modelin ortasında kemik iliği kavitesinin oluşması
- Şekil 6 (D)** Kırıkta modelin epifizleri ile diafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yapması
- Şekil 6 (E)** Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır
- Şekil 7:** Kemik kalitesi sınıflandırması
- Şekil 8:** Kortikal kemiklerde kemik iyileşme süreci
- Şekil 9:** Yoğun tetramoleküler veya eşkenar bağların bilgisayar modeli
- Şekil 10:** Trimoleküler veya eşkenar fibrin bağlarının bilgisayar modeli
- Şekil -11:** TZF' nin bilgisayar modelinde oluşturulmuş görünümü
- Şekil-12:** TZF matriksinin bilgisayar modelinde oluşturulmuş görünümü
- Şekil 13:** Tüplerdeki rat kanları

- Şekil 14:** Santrifüj işlemi
- Şekil 15:** Santrifüj cihazı
- Şekil 16:** Antikoagülsüz tüpte santrifüj sonrası TZF elde edilmesi
- Şekil 17:** TZF Görünümü
- Şekil 18:** Cerrahi prensiplere uygun olarak hazırlanmış operasyon bölgesi
- Şekil 19:** Künt diseksiyon ile tibianın operasyon için hazır hale getirilmesi
- Şekil 20:** Tibiada oluşturulan kemik defekti
- Şekil 21:** Kontrol Grubunda Greft+ TZP uygulananan kemik defektinin görünümü
- Şekil 22:** Kontrol Grubunda Greft+ TZF uygulananan kemik defektinin görünümü
- Şekil 23:** Kontrol Grubunda Greft+ TZF uygulananan kemik defektinin membran ile kapatılmış görünümü
- Şekil 24:** Cilt insizyonunun 5/0 ipek suturele kapatılmış görünümü
- Şekil 25:** Sakrifiye edilen ratlardan çıkarılan tibianın görünümü
- Şekil 26:** Kontrol Greft Grubunun 1. hafta histolojik görünümü.
- Şekil 27:** Kontrol Greft+ TZP grubunun 1.hafta histolojik görünümü.
- Şekil 28:** Kontrol Greft+ TZF grubunun 1. hafta histolojik görünümü.
- Şekil 29:** Kontrol Greft grubunun 2. hafta histolojik görünümü
- Şekil 30:** Kontrol greft+ TZP uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü
- Şekil 31:** Kontrol Greft+ TZF uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü
- Şekil 32:** Kontrol Greft uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü
- Şekil 33:** Kontrol Greft+ TZP uygulanan grubun 7. Hafta histolojik görünümü
- Şekil 34:** Kontrol Greft+ TZF uygulana grubun 7. hafta histolojik görünümü
- Şekil 35:** Diabet oluşturulan ratlarda greft uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü
- Şekil 36:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZP uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü
- Şekil 37:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü
- Şekil 38:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü
- Şekil 39:** : Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZP uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü

**Şekil 40:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü

**Şekil 41:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü

**Şekil 42:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+TZP uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü

**Şekil 43:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 7. Hafta histolojik görünümü



## KISALTMALAR

<b>BF</b>	Büyüme Faktörü
<b>bFGF</b>	basic-Fibroblast Growth Factor
<b>BMP</b>	Bone Morphogenetic Protein (Kemik morfojenetik proteini)
<b><math>\beta</math>- TCP</b>	Beta-trikalsiyum fosfat
<b><math>\beta</math> - TCP/HA</b>	Beta-trikalsiyum fosfat ve Hidroksilapatit karışımı
<b>DBM</b>	Deminerallized Bone Matriks (Deminerallized kemik matriksi)
<b>EGF</b>	Epithelial Growth Factor
<b>FGF</b>	Fibroblast Growth Factor
<b>g</b>	Merkezkaç Kuvveti
<b>GAG</b>	Glikozaminglikan
<b>HA</b>	Hidroksilapatit
<b>HE</b>	Hemotoksilen Eozin
<b>IGF</b>	Insulin-like Growth Factor
<b>IL-1</b>	İnterlökin 1
<b>KGF</b>	Keratinosit Growth Factor
<b>TCP</b>	Trikalsiyum fosfat
<b>PDGF</b>	Platelet Derived Growth Factor
<b>TZP</b>	Trombositten Zengin Plazma
<b>TZF</b>	Trombositten Zengin Fibrin
<b>PPP</b>	Platelet Poor Plasma
<b>PRF</b>	Platelet Rich Fibrin
<b>PRP</b>	Platelet Rich Plasma
<b>PTFE</b>	Politetrafloroetilen
<b>Rpm</b>	Round Per Minute
<b>STZ</b>	Streptozotosin
<b>TGF</b>	Transforming Growth Factor
<b>TGF- <math>\alpha</math>, <math>\beta</math></b>	Transforming Growth Factor Alfa, Beta
<b>TNF- <math>\beta</math></b>	Tumor Necrosis Factor Beta
<b>VEGF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor
<b>YDR</b>	Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
<b>YKR</b>	Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

## ÖZET

# **KEMİK REJENERASYONUNDA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN SAĞLIKLI VE DENEYSEL OLARAK DİABET OLUŞTURULMUŞ DENEK HAYVANLARINDA İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

Günümüzde cerrahi alanında kemikte yapılan işlemler önemli derecede yer tutmaktadır. Kemikte madde kaybına neden olan travma, enfeksiyon, kemik tümörleri veya kistleri ve ortognatik cerrahi girişimler sonrasında çeşitli büyüklükte kemik defektleri ortaya çıkabilmektedir. Kemikte oluşan küçük defektler kemiğin kendini tamir edebilme yeteneği ile onarılabilirken büyük defektler çeşitli greft ve implant materyallerine gereksinim göstermektedir.

Greft ve implant materyallerinin defektleri doldurma özelliklerinin yanında fazla miktarda onarımın gerektiği geniş kemik defektlerinde çevre dokuyu stimüle ederek kemik doku oluşturma özellikleri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Greft materyallerinin daha hızlı ve kaliteli sonuç vermesi için büyüme faktörleri ile karıştırılması gündeme gelmiştir. Büyüme faktörlerinden, Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve Trombositten zengin Fibrin (TZF) bu yöntemlerden bazılarıdır.

Sistemik problemlili olan, özellikle diabetes mellituslu hastalarda yumuşak ve sert dokularda iyileşme geç ve komplikedir. Bu yüzden diabetes mellituslu hastalara greft uygulaması sağlıklı hastalara oranla daha risklidir.

Trombosit zengin plazma (TZP) ve Trombositten zengin fibrin (TZF) vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), 'transforming' büyüme faktörü  $\alpha$  ve  $\beta$  (TGF  $\alpha$  ve  $\beta$ ), epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) vb büyüme faktörlerini içeren ve kanın farklı iki

frekansta sanrifüj edilmesiyle oluşan bir maddedir. Elde edilen plazmadaki trombosit miktarı normal plazmadakinin 3-5 katıdır. Bu ürüne trombin ilavesiyle trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinden çok sayıda mediatör salınır. Bunların hemen hepsi kemik iyileşmesinde görev alan mediatörlerdir. Kolaylıkla kullanılabilir olmaları, hızlı etki göstermeleri ve pıhtı oluşumuyla uyumlu olmaları bu ürünlerin avantajları arasında yer almaktadır. Klinik olarak sinir anastomozlarında, yumuşak doku defektlerinde hemostaz ve keratinosit kültürleriyle birlikte yara iyileşmesi amaçlı kullanılmaktadır. Deneysel olan bir başka kullanımında ise, kültürde üretilmiş periosteal hücrelerle taşıyıcı olarak kırık iyileşme alanlarına uygulanmıştır.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide araştırmacılar sürekli olarak kemik greftleme tekniklerini geliştirmek, daha hızlı ve daha yoğun kemik rejenerasyonu elde edecek bir yöntem geliştirmek için çalışmaktadırlar. TZP ve TZF yara iyileşmesini ve rejenerasyonunu arttırmak için baş boyun cerrahisi, oral ve maksillofasiyal cerrahi, plastik cerrahi ve kardiyovasküler cerrahide rutin olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; trombosit konsantrasyonları dışında benzer olan TZP ve TZF nin, kemik defektlerinin greftle kombinasyonunda ve deneysel olarak oluşturduğumuz diabetik ve sağlıklı hayvanlardaki iyileşmede etkilerinin histolojik olarak karşılaştırılmasıdır.

Deneysel çalışmamız 80 adet Wistar albino cinsi rat üzerinde yapılmıştır. 8 rat TZP ve TZF' in elde edilişi sırasında kullanılmış, kalan 72 rat ise sağlıklı ve diabetik olmak üzere 2 gruba ayrılmış ve her grup kendi içinde Greft, Greft+ TZP ve Greft+ TZF olmak üzere 3 ayrı gruba ayrılmıştır. Tüm gruplara kollajen membrane ve greft uygulanmıştır. Deney hayvanlarının anestezisi, 0.1 ml Xylozin Hydrochlorid (RompunR, Bayer, Türkiye) ve 0.2 ml Ketamin' in (KetalarR, Eczacıbası, Türkiye) intramusküler enjeksiyonu ile sağlanmıştır. Ratların sağ arka bacağının iç yüzü traşlandıktan sonra, antiseptik solüsyon ile silindi. Tibiada insizyon yapılarak açığa çıkartılan kemikte 10x3x2 mm ebadında defekt oluşturuldu.

Postoperatif 7., 14. ve 42. günlerde ratlar sakrifiye edilerek, tibiaları histopatolojik olarak değerlendirildi. 42. günde her üç grupta, Greft, Greft+ TZP ve Greft+ TZF gruplarında yeni kemik oluşumunun arttığı gözlemlendi.

Greft+ TZP ve Greft+ TZF gruplarında tek başına greft uygulanan gruba kıyasla daha iyi bir yara iyileşmesi olduğu görüldü. Greft+ TZF grubunda osteoblastik aktivite Greft+ TZP grubuna oranla daha iyi olduğu tespit edildi. Histolojik çalışma sonunda greftle birlikte PRF kullanıldığında kemik oluşumunun daha etkili olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak greft ile birlikte TZP ve TZF kullanımının yeni kemik oluşumunu olumlu yönde etkiledikleri tespit edilmiştir. TZF de bulunan büyüme faktörlerinin iyileşme sürecinde etkili olduğu fakat kemik iyileşmesi üzerine etkisinin daha da araştırılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Trombositten Zengin Plazma, Trombositten Zengin Fibrin, Greft, Diabet, Rejenerasyon

## **SUMMARY**

### **The Histological Comparison of Platelet Rich Plasma and Platelet Rich Fibrin Effects In the Bone Regeneration in Healthy and Experimentally Diabetes Mellitus Induced Animals.**

At the present time, bone procedures play an significant role in surgery. Bone defects in various sizes occur as a result of bone loss triggering trauma, infection, bone tumors or cysts and orthognatic surgery. While defects in small sizes are repaired by self-repair capability of bone, defects in big sizes need various graft and implant materials.

Beside of defect filling properties of graft and implant materials; various studies are carried on bone generation property by stimulation of peripheral tissues in large bone defects that need comprehensive repair. The mixture of graft materials with growth factors has come up for faster and more qualified results. Thrombocyte Rich Plasma (PRP) and Thrombocyte Rich Fibrin (PRF) are two of growth factors.

In patients with systemic disorders, especially diabetes mellitus; healing in soft and hard tissues are late and complicated. Hence, graft application to the patients with diabetes mellitus is have more risk than that to healthy patients.

Plasma rich plasma (PRP) and Plasma Rich Fibrin (PRF), vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor  $\alpha$  and  $\beta$  (TGF  $\alpha$  and  $\beta$ ) epidermal growth factors (EGF), fibroblast growth factor (FGF), insulin like growth factor (IGF) etc. are growth factors including substances produced by the centrifuge of blood in two different speeds. Thrombocyte level in acquired plasma is 3-5 times of the level in normal plasma. A lot of mediators are secreted from thrombocyte  $\alpha$ -granules by the addition of thrombin to this product. These are all mediators that play a role in bone healing. The advantages of these products include easy usage, fast effect and compability with thrombin generation. Clinically, these are used for healing in nerve anastomosis, soft tissue defects with homeostasis and kerotinocyte cultures. Another experimental usage is the application in fracture healing as transporter with periostal cells produced in cultures.

In oral and maxillofacial surgery, researchers try to develop bone grafting techniques as well as faster and denser bone regeneration techniques. PRP and PRF are used routinely to improve wound healing and regeneration in head, throat and neck surgery, oral and maxillofacial surgery, plastic surgery and cardiovascular surgery.

The aim of this study is to compare the histological effects of PRP and PRF, similar except thrombocyte concentration, in the integration of bone defects with grafts and in the healing of experimentally diabetes mellitus induced and healthy animals.

Our experimental study were performed on 80 wistar albino rats. 8 rats are used to obtain PRP and PRF, 72 rats were divided into diabetic and healthy groups and each groups divided into 3 groups: Graft, Graft+ PRP and Graft+ PRF groups. Collagen membrane and graft was applied in all groups. Anesthesia of the rats was inducted by the intramuscular administration of 0.1 ml Xylozin Hydrochlorid (Rompun<sup>R</sup>, Bayer, Türkiye) and 0.2 ml Ketamin (Ketalar<sup>R</sup>, Eczacıbaşı, Türkiye). The leg of the rats were shaved and cleaned with antiseptic solution. The tibia were surgically exposed and bone defects were prepared in size of 10x3x2 mm.

Rats were sacrificed in postoperative 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 42<sup>th</sup> days and tibia were evaluated histopathologically. The quality of newly formed bone and the effect of PRP were evaluated by histological methods. The results showed no significant difference on 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days. On the 42<sup>th</sup> day, the results in new bone formation showed an increase in all three groups; Graft, Graft+ PRP and Graft+ PRF. Graft+ PRP and Graft+ PRF was better healing process than Graft alone group. In Graft+ PRF groups osteoblastic activity better than Graft+ PRP groups in both healthy and diabetic groups. The histological study revealed that the bone formation was more effective when PRF was used with graft.

In conclusion, it was found that using the graft combined with PRP and PRF leads differences in new bone formation. The growth factor in PRF maintains better healing process but the effect of PRF on bone healing process should be furtherly investigated.

**Keywords:** Platelet Rich Plasma, Platelet Rich Fibrin, Graft, Diabetes Mellitus, Regeneration

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde cerrahi alanında kemikte yapılan işlemler önemli bir yer tutmaktadır. Kemikte madde kaybına neden olan travma, enfeksiyon, kemik tümörleri, kemik kistleri ve ortognatik cerrahi girişimler sonrasında çeşitli büyüklükte kemik defektleri ortaya çıkabilmektedir. Kemikte oluşan küçük defektler kemiğin kendini tamir edebilme yeteneği ile onarılabilirken, büyük defektler ise çeşitli greft ve implant materyallerine gereksinim göstermektedirler.

İyileşmeyi olumsuz yönde etkileyen lokal ve sistemik faktörler mevcuttur. Özellikle sistemik hastalıkların iyileşme üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir. Bunlardan diabetes mellitus, yaygın olarak görülen sistemik hastalıklardan biridir. Diabetes mellitus karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını etkileyen kronik bir hastalıktır. Hatalı ya da yetersiz insülin salgılanması sonucu karbonhidrat tüketiminin bozulması, diabet için karakteristik bir bulgu olan hiperglisemi ile sonuçlanır. Uzun süreli idiopatik diabetes mellitus etkisini, temel olarak vasküler sistem üzerinde ateroskleroz ve küçük damar hastalığı olarak gösterir. Diabetli hastalar; mikroanjiopatiden kaynaklanan iskemi, bozulmuş lökosit işlevleri ve yara bölgesinde kan akımının azalmasından dolayı bakteriyel enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılığa sahiptirler. Diabet aynı zamanda hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında da değişime neden olmaktadır. Kemik mineral içeriğinde azalma ise, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kemik iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterizedir.

Greft ve implant materyallerinin defektleri doldurma özelliklerinin yanı sıra, fazla miktarda onarımın gerektiği geniş kemik defektlerinde, çevre dokuyu stimüle ederek yeni kemik doku oluşturma özellikleri (osteoinduksiyon) üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Bir deformitenin rekonstrüksiyonunda; immün reaksiyon oluşturmayan, erken revaskülarizasyon gösteren, osteoindüktif, osteokondüktif potansiyeli ve osteojenik hücrelere sahip olma gibi avantajlar bulunduran ve altın standart olarak tanımlanan "otojen greftler" öncelikli olarak tercih edilmektedir. Ancak otojen greftlerin ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, donör bölgede morbidite oluşturması, istenilen miktarda elde edilememesi, operasyon



süresinin uzaması, kan kaybının ve post-operatif ağrının artması gibi bir takım dezavantajları nedeniyle allogreftler, heterogreftler ve alloplastik materyaller geliştirilmesine karşın, bu materyallerin hiç biri otojen greftin iyileşme düzeyine ulaşamamıştır.

Travma, gelişimsel anomaliler, onkolojik rezeksiyonlar, enfeksiyon ve patolojiler kemik iskeletinde defektlere neden olabilirler. Bu kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu maksillofasiyal cerrahide ciddi bir problem yaratmaktadır. Oral ve maksillofasiyal cerrahi, ortopedi, nörocerrahi ve rekonstrüktif cerrahide araştırmacılar, kemik greftleme tekniklerini geliştirmek, daha hızlı ve daha yoğun kemik rejenerasyonu elde edecek bir yöntem geliştirmek için yıllardan beri çalışmaktadırlar. Büyüme faktörleri, Bone Morfogenetik Protein (BMP), Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve Trombositten Zengin Fibrin (TZF) bu yöntemlerden bazılarıdır.

Bu büyüme faktörleri; osteogenezis ve kemik rejenerasyonunun bütün önemli aşamalarında olan kemotaksis, mitogenezis ve farklılaşma gibi hücrel olayları düzenlemektedir. Aynı zamanda kemik yenilenme sürecini hızlandırabildiği için, kemik greft materyallerine katılmaktadır. Bu etkiyi oluşturmak için otojen TZP veya TZF kullanılmaktadır.

Trombositten Zengin Plazma ve Trombositten Zengin Fibrin; donörden alınan venöz kanın santrifüj işlemlerine tabi tutulması sonucunda, trombositlerin kan elemanlarından ayrıştırılması ile elde edilen, yumuşak ve sert doku iyileşmesinde avantaj sağladığı düşünülen ve büyüme faktörleri içeren bir ajandır.

Çalışmamızda greft materyali olarak tercih ettiğimiz Mineross (MinerOss, BioHorizons, Birmingham, AL) mineralize insan kaynaklı bir kemik grefti olup %50 mineralize allogreft kortikal ve kansellöz kemik tozu karışımıdır. Bu greft materyali, 750-1400 µm por büyüklüğüne sahip olup, optimal hücrel penetrasyonu ve vaskülarizasyonu destekleyen bir yapıya sahiptir. Tek bir donörden alınan her iki tip kemik tozunun da kullanılabilmesi avantajını sağlar. Kansellöz kemik, hızlı kemik oluşumu için ostokondüktif bir iskelet görevi görür. Yavaş rezorbe olan kortikal kemikler ise grefte yer sağlayarak hacim oluştururlar. Bu materyal tek başına, allogreftlerle veya otojen greftlerle karıştırılarakta kullanılabilir. .

Bu alışmamızdaki amacımız, sistemik olarak sağlıklı ve deneysel olarak diabet oluşturduğumuz ratların tibiaında hazırlanan defektlere yerleştirilen greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membranın, gerek greft ve TZP ile karışımının, gerekse greft ve TZF ile kombinasyonunun kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik olarak karşılaştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus (DM), pankreas bezinin yeterli miktarda insülin hormonu üretmemesi ya da ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması durumunda gelişen hiperglisemi ile karakterize olan metabolik hastalıktır.

İnsüline bağımlı diabetes mellitus, Tip I, Jüvenil başlangıçlı diabet veya ketozise yakın diabet olarak da adlandırılan birinci tip, bütün idiopatik diabetiklerin %10'unda görülür. Geriye kalan %90'ı ise diğer tipi oluşturur ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus olarakta bilinir. Bu tip hastalık, sıklıkla yetişkin yaşamda ortaya çıkar ve yetişkin başlangıçlı ya da Tip II diabet olarakta bilinir.

İdiopatik Diabetes Mellitus, insüline yanıt ve köken açısından birbirinden ayrılan iki tipten oluşur (1,2).

#### 2.1.1. İnsülin Bağımlı (Tip I) Diabet

Bu tip diabet, ciddi ve mutlak bir insülin yetmezliğinden kaynaklanır. Plazma insülin düzeyi, bu tip hastalığın karakteristiği olan beta hücresi yıkımından dolayı düşüktür. Bu hastaların yaşayabilmesi için dışarıdan insülin almaları gerekir ve bundan dolayı da insüline bağımlı terimi kullanılır (3). Etyolojisinde; çevresel etkiler, genetik duyarlılık ve otoimmünite olmak üzere birbiri içerisine girmiş üç mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca diabetes mellitusun nedeni olarak, yıllarca virüslerden de şüphelenilmiştir. Bu viral enfeksiyonlar içerisinde kabakulak, kızamık, koksaki B, sitomegalovirüs, kızamıkçık ve enfeksiyöz mononükleozis vardır. Son yıllarda, bu gruba beta hücrelerine tropizm gösteren slow virüsler de eklenmiştir. Virüs ve tanımlanamayan diğer çevresel ajanların, genetik olarak eğilimi olan kişilerde, otoimmün reaksiyonu başlatarak ya da ortaya çıkmasını sağlayarak etki ettiği düşünülmektedir. Tip 1 diabetin patogenezinde otoimmünitenin rolü oldukça büyüktür. Glukagon fazlalığının da, DM 'taki metabolik bozukluklara zemin hazırladığına dair görüşlerde mevcuttur (1,2).

### **2.1.2. İnsülin Bağımsız (Tip II) Diabet**

Bu tip diabet, insülin sekresyonundaki gecikme ya da bazı olgularda glukoz yüklemesine karşı göreceli bir yetmezlik ve buna eklenen periferik dokuların insüline yanıt vermedeki yetmezliği ile ilişkilidir(1,2).

Glikoz homeostazisi göz önüne alındığında, klinik açıdan belirgin tip 2 diabet, tipik olarak aşağıdaki sıra ile gelişen ve hastalık sürecinin farklı evrelerini temsil etmesi olası üç patofizyolojik fenomen ile karakterizedir:

- İnsülin duyarlılığında azalma veya insülin direnci
- Göreceli insülin yetersizliği ile birlikte pankreas beta- hücrelerinin fonksiyon bozukluğu
- Karaciğerde glikoz üretiminde artış (4).

### **2.1.3. İnsidans**

Genetik düzeyde DM' u saptamak mümkün olmadığından, diabetin gerçek prevalansı bulunamamıştır ve taramalar semptomların varlığına dayandırılmaktadır. Bu sınırlamalar dahilinde yetişkin popülasyonda DM' un %1-2 oranında olduğu tespit edilmiştir (1,2).

### **2.1.4. Kalıtım**

Uzun süreden beri diabetes mellitusun kalıtsal bir hastalık olduğu bilinmektedir. Buna karşın zemin hazırlayan gen ya da genlerin gerçek kalıtım mekanizmaları bilinmemektedir (1,2).

Hem Tip I ve hem de Tip II diabette genetik faktörlerin bazı rollerini destekleyen bilgilere karşın; hastalığın her iki tipinde de özgül kalıtım şekli henüz açıklanamamıştır. Gerçekte otozomal dominant, otozomal resesif ve multifaktöriyel gibi bütün geçiş şekilleri sorumlu tutulmuştur. Günümüzde kabul gören görüş ise, her ikisinin de multifaktöriyel bir hastalık olduğu görüşüdür (2).

### **2.1.5. Çevresel Etkiler**

Birçok çevresel ve yapısal faktör, diabet yapıcı olarak diabetes mellitusa yatkınlık hazırlar ve genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde insidansı önemli bir şekilde etkiler. Bunların arasında en önemlisi şişmanlıktır. Tip II diabetli hastaların % 80'i şişmandır ve diğer yandan normalin üzerinde ağırlığı olan kişilerde % 60 oranında glukoz tolerans testinde gösterilebilir karbonhidrat intoleransı vardır. Diabetli olmayanlarda kilo kaybı sıklıkla

karbonhidrat metabolizmasındaki anormallikleri düzeltir, diabetiklerde ise karbonhidrat intoleransını anlamlı şekilde normale doğru çeker (1,2).

Gebelik bir başka diabet yapıcı etkidir; bunun etkisi insüline karşı direnç gelişmesine ya da insülin etkisinde bazı azalmalara bağlanır (2). Kalıtsal eğilimi olanlarda travma, enfeksiyon, hipoksi ve hipertermi gibi bütün stres şekilleri diabeti açığa çıkarabilir. Bütün streslerin özellikle enfeksiyonların, insülin gereksinimini arttırdığı klinik olarak gözlenmiştir. Stres etkisini, glikojenolizis ve lipolizise neden olan katekolamin salgısını arttırmakla yapmaktadır. Glikojenolizis, beta ( $\beta$ ) hücrelerinin daha çok uyarılmasına sebep olur ve serbest yağ asitlerine insülin antagonisti olarak etki eder. Bunun için her ne kadar diabetik durum, genetik eğilim şeklinde bir kalıtım karakteri gösterse de, bu genotipin ortaya çıkışı çevresel etkiler tarafından düzenlenir (2).

### **2.1.6. Patogenezis**

#### **2.1.6.1. Normal İnsülin Metabolizması**

Yapılan araştırmalarda insülinin normal yapısı, biyosentez ve sekresyon temelleri tüm ayrıntıları ile anlaşılmıştır. İnsülin; pankreasın  $\beta$ -hücreleri içerisinde proinsülinde sentez edilmekte ve golgi kompleksinden kaynaklanan membranla çevrili granüller içerisinde depo edilmektedir.  $\beta$ -hücrelerinden salgılanması, insülinin iki kaynağını ilgilendiren iki fazlı bir süreç olarak gelişir. Örneğin glukoz düzeyindeki bir yükselme öncelikle beta granülleri içerisinde depolanmış olan insülinin erken salgılanmasını başlatır. Eğer salgılanma için uyarı devam ederse, bunu aktif insülin sentezini kapsayan gecikmiş ve uzamış yanıt izler. İnsülinin salgılanmasını tetikleyen ajanlar olarak bilinen maddelerin içerisinde en önemlisi, glukozdur. Glukoz, insülinin hem sentezini hem de salgılanmasını başlatır (2).

İnsülin temel bir anabolik hormondur. Bu hormon;

- 1- Aminoasitler ve glukozun membranlardan geçişi,
- 2- Karaciğer ve iskelet kaslarında glukojen yapılması,
- 3- Glikozun trigliseridlere dönüşümü,
- 4- Nükleik asit sentezi ve
- 5- Protein sentezi için gereklidir.

Temel metabolik işlevi, organizmadaki bazı hücrelerin içerisine glukoz taşınma oranını arttırmasıdır. Bu hücreler; çizgili kas hücreleri (myokard

liflerini de içerir), fibroblastlar ve yağ hücreleridir ki, bunlar bir arada bütün vücut ağırlığının 2/3'ünü oluşturur (2).

İnsülinin hedef hücreler ile nasıl etkileştiği tam olarak açık değildir. Olay, insülinin bir hücre yüzey reseptörüne bağlanması ile başlar. Hücre yüzeyine bağlanan insülin miktarı, varolan reseptörlerin sayısından etkilendiği için reseptörlerin sayısı ve işlevi, insülin etkisinin düzenlenmesinde önemlidir. Reseptöre bağlanmış insülin, hücre membranının iç yüzünde sitozol içerisine salgılanan bir seri ikincil habercilerin oluşumunu tetikler. Oligopeptid olduğuna inanılan ikincil haberciler; mitokondria, endoplazmik retikulum, nukleus ve diğer hücre içi yerleşimlerde insüline duyarlı enzimleri aktive ya da inaktive etmeye yararlar. İkincil habercilerden kaynaklanan ve insülinin önemli erken etkilerinden biriside, glukozun hücresel tutulumunu sağlayan glikoz taşıyıcı transport biriminin golgi cisimciğinden plazma membranına doğru yer değiştirmesini sağlamaktır. Böylece glukozun hücre içine alınışı kolaylaşır (2).

#### **2.1.6.2. Diabetes Mellitus'daki Metabolik Bozukluklar:**

Genetik ve çevresel zemin ile başlangıç yaşına bakılmaksızın, bütün diabetikler genel bir bulgu olarak, belli bir oranda ya da tümüyle insülin yetmezliği ya da yetersiz insülin işlevi gösterirler. Glukozun kandan kas ve yağ dokusuna taşınması insüline bağımlı olduğundan, diabetikler glukozu yeterince kullanamazlar. Aynı zamanda normalde insülin tarafından inhibe edilen glikojenoliziste de uyarılma oluşur. Her iki bozukluk kanda, böbrek glukoz reabsorbsiyon eşiğini aşan ve glikozüri ile sonuçlanan bir glukoz birikimine (hiperglisemi) yol açar. Yağ dokusunda depolanmış trigliseridlerden serbestleşen yağ asitleri, ana enerji kaynağını oluştururlar. Karaciğerde yağ asitleri keton cisimlerine (asetoasetik asit, aseton ve betahidroksi bütirik asite) oksitlenirler ve kas, kalp, böbrek ile beyin tarafından kullanılırlar. Tip I diabette ve daha az olarak Tip II diabette keton cisimlerinin oluşum oranı, kullanım oranını aşabilir ve ketozisle birlikte metabolik asidoz gelişebilir. Dokularda glukoz açığı olduğu için diyetten ve dokudan gelen proteinler, glukoneogenezis için kullanılır. Glikojen, trigliserid ve protein sentezi gibi anabolik süreçler; glikojenolizis, glukoneojenezis ve yağların mobilizasyonu gibi katabolik süreçle yer değiştirir. Sonuçta insülin

yetmezliği olarak başlayan diabetik durum, sürekli genişleyen bir daireye dönüşür. Diabetin iki büyük alt tipi arasında metabolik farklılıklar varsa da Tip II diabetteki metabolik bozukluklar daha az şiddetlidir ve ketoasidozis daha seyrek tir. Bu zeminde diabetes mellitusun etyolojik faktörleri üç ana alt grupta toplanabilir (1,2).

1- Pankreatik  $\beta$  hücrelerinin yitiminden, sağlam  $\beta$  hücrelerinin insülin salgılamaya bozukluğuna kadar değişen anomaliler,

2- Dolaşan antiinslin antikörleri gibi plazma içi anomaliler ve

3- İnsülinin hedef hücreler üzerindeki etki anomalileri, insülin reseptör düzeylerinin azalması ya da bağlanmış insülinin ikincil haberci oluşturmasındaki yetersizlik, plazmadaki anomaliler, seyrek olarak diabetin nedenleri arasındadır (2).

Diabetin klinik tablosu bu hastalığın iki önemli özelliğinden kaynaklanır. Bunlar;

1- Metabolik bozukluklar ile

2- Damar ve organ tutulumlarıdır.

#### **2.1.6.2.1. Metabolik Bozukluklar**

Özellikle insülin bağımlı diabetes mellitusta (Tip I diabet) bozulmuş olan metabolizma klinikte poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve zayıflık ile birlikte biyokimyasal hiperglisemi ve glukozüri ile ortaya çıkar. Koma ile birlikte ketoasidozis herhangi bir zamanda gelişebilir. Tip II diabette poliüri ve polidipsi bulunabilir, fakat Tip I diabetin aksine hastalar sıklıkla yaşlı ve şişmandır. Tip II diabette metabolik bozukluklar gelişirse de bunlar göreceli, hafif şiddette ve kontrol edilebilir olup, bu tip diabette enfeksiyonlar ve stres araya girmedikçe ketoasidozis komplikasyonları sık görülmez (2).

#### **2.1.6.2.2. Damar ve Organ Tutulumları:**

**Pankreas:** zellikle Tip I diabette, Langerhans adacık hücrelerinde iki tip lökosit infiltrasyonu vardır. En sık rastlanan şekil "insülitis" olarak bilinen; adacıkların içindeki ve çevresindeki yoğun lenfosit infiltrasyonlarıdır (2).

**Vasküler sistem:** Diabet, bedelini vasküler sisteme detir. Başlangıç yaşı ne olursa olsun, 10-15 yıllık hastalık sürecinde diabetiklerin büyük çoğunluğunda vasküler anomaliler gelişir. Yapılan araştırmalarda

diabetiklerde görülen kardiyomyopati ve IGF-1 arasında bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (5,6,7). Diabetiklerin en sık ölüm sebebi, koroner arterlerin atherosklerozisinden kaynaklanan myokard enfarktüsüdür (7,8).

**Böbrekler:** Böbrekler diabetin birinci hedefidir. Ölüm nedenleri arasında, myokard enfarktüsünden sonra ikinci sırayı almaktadır (9).

**Gözler:** Görme kaybı ve hatta kimi zaman total körlük, uzun süreli diabetin en çok korkulan sonuçlarından birisidir. Göz tutulumu retinopati, katarakt oluşumu ya da glokom şeklinde olabilir (2).

**Sinir sistemi:** Santral ve periferik sinir sistemi de, diabetin olumsuz etkisinden kendini kurtaramaz. En sık görülen tutulma şekli, özellikle duyuşal işlevleri etkileyen, motor bozukluklara da yol açan ve alt ekstremiteleri tutan periferik sistemik nöropatidir (10).

Diabetli hastalar mikroanjiopatiden kaynaklanan iskemi, bozulmuş lökosit işlevleri ve yara bölgesinde kan akımının azalmasından dolayı, bakteriyel enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılığa sahiptirler. Tüm bu etkenlerin birbirine eklenmesi nedeniyle oluşan gangren, bakteriyemi ve pnömoni gibi giderek ölüme yol açan komplikasyonlar ortaya çıkabilir. (4,7,9,11-15).

**Kemik:** Diabet, hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında değişime neden olur. Bu değişiklikler; kemik mineral içeriğinde azalma, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kırık iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterizedirler (15-19).

Tip I diabet ile osteopeni ve azalmış osteoblastik aktivite arasında ilişki olduğuna dair bilgiler mevcuttur. Bununla beraber insülin tedavisinin, bozulmuş yara ve kemik iyileşmesini büyük ölçüde restore ettiği rapor edilmiştir (19,20).

### **1.7. Deney hayvanlarında diabet modeli oluşturmak için kullanılan kimyasallar:**

Bu amaçla; alloksan, streptozotosin (STZ), 2,4-dinitrofenol diazoksit, siproheptadin gibi kimyasal ajanlar veya epinefrin, somatotropin, kortikotropin gibi hormonlardan yararlanılmaktadır (21,22).

Alloksan; 2,4,5,6-tetra oksi primidin yapısında bir siklik üre analogudur. Monohidrat formu sık kullanılır. Aktivite çalışmalarında diabet oluşturmak amacıyla 150 mg/kg dozlarda subkütan, intraperitoneal, intravenöz yolla



verilir. Alloksan ile kronik diabet oluştururken deney hayvanlarında hipoglisemiye bağlı ölümleri önlemek için alloksan verilmesinden 4-6 saat sonra glikoz çözeltisi verilir. Takip eden 24 saat boyunca glikoz çözeltisiyle beslenme sağlanır. Kan-glukoz konsantrasyonu değerleri 5-8. günlerde ölçülür, 150 mg/dl ve üzeri diabetik grup olarak kabul edilir (23). Alloksan, pH=3'ün altında normal koşullarda oda ısısında solüsyon içerisinde stabil, pH=7'de ise asit dönüşümü önlemek için 4°C'de saklanmalıdır. Seçici olarak pankreatik  $\beta$  hücrelerinde yıkıma neden olur ve uzun süreli diabet oluşturur.

Transporte olabilen şekerler, alloksanı bloke edemez. Glukoz transportu ile glukoreseptör bölgesinde etkili olabileceği bildirilmiştir (23). İnorganik fosfatlar mitokondrial transport sistemini inhibe eder. Buna bağlı olarak intrasellüler pH düşer ve hücre ölümü görülür. Alloksan da, STZ gibi proinsülin sentezini önlemektedir (23).

### **1.8. Diabetin Kemik Dokusu Üzerine Etkisi:**

Diabetes mellitus gibi bazı sistemik hastalıklar, kırık iyileşme mekanizmasını önemli ölçüde bozmaktadır. Bunlar:

- Biyomekanik özelliklerde bozulma
- Diabetik kırık kallusunda azalmış hücre proliferasyonu
- Kırık iyileşmesinin erken safhasında kollajen sentezindeki azalma gibi faktörlerdir.

Yukarıdaki etkilerin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak insülinin anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Rat osteoblast hücrelerinde insülin reseptörleri tanımlanmıştır ve insülinin osteoblastik hücrelerde nükleotid sentezini stimüle ettiği gösterilmiştir (21,24,25).

## **2.2. KEMİK DOKUSU**

Oral ve maksillofasiyal cerrahi ile rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında en çok kullanılan biyomateryal, kemiktir. Bu nedenle kemiğin yapısını ve kemik defektlerinin iyileşme mekanizmasını detaylı bir şekilde bilmek gerekmektedir.

### 2.2.1. Kemiğin Yapısı

Kemik, vücudun yumuşak dokularını taşıyan iskelet sistemini oluşturan bir yapıdır. Hassas dokuları korumak, eklemlere destek sağlamak ayrıca fosfor, kalsiyum, sodyum ve magnezyum gibi iyonları depolamak görevleri arasındadır. Günümüzde çeşitli sebeplerle dişlerin çekilmesi veya fizyolojik olarak gelişen kemik rezorpsiyonları ile alveol kemiğinin hacmi ve seviyesi azalır ve büyük iltihabi lezyonlar, gömülü diş ameliyatları, kist ve tümör operasyonları, periodontal hastalıklar ve travma sonucunda kemik defektleri oluşur. Bu defektlerin tedavisinde kemik dokusunun ogmentasyonuna yardımcı olabilen materyallere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu materyallere örnek olarak Paris alçısı, dura mater, dentin tozları, otojen kemik, allogreft ve alloplastik materyaller gösterebilir. Kemik dokusu ogmantasyonunda kullanılan bu biyomateryaller; periodontal defektlerin tedavisinde, sinüs yükseltme işleminde oluşan boşluğun doldurulmasında, yetersiz alveol kretlerin desteklenmesinde ve diş çekim boşluğunun iyileşmesinin daha hızlı olmasını sağlamak amacıyla oral cerrahide kullanılır (26).

Günümüz dişhekimliğinde kemik defektlerinin tedavisinde biyomateryallerin kullanımı, rutin bir işlem haline gelmiştir.

Kemik; vücudun iskeletini oluşturan, kaslara ve organlara destek görevi yapan, organı dış etkenlere karşı koruyan, bazı hormonlar aracılığı ile vücudun iyon dengesini sağlayan, sertliğini içine depolamış olduğu minerallerden alan bir bağ dokusudur. Bu doku, makroskobik olarak incelendiğinde iki farklı yapı gözlenir (2).

1. Yoğun yapı ( kompakt ya da kortikal kemik)
2. Süngerimsi yapı (spongiöz ya da kansellöz kemik)

Kemiğin porözitesi %0 dan %100'e kadar değişebilir, bununla birlikte çoğu bölgenin pörözitesi ya çok düşüktür ya da çok yüksektir. Olguların çoğunda hem kortikal hem kansellöz yapı tüm kemik bölgelerinde bulunur, ama kantitesi ve dağılımı değişmektedir. Kemikte mineralize olmayan bölge damarları, sınırları ve çeşitli hücreleri içeren kemik iliği bulunmaktadır. Kemik iliğinin ana görevi, kanda bulunan temel hücreleri üretmektir. Kemik iliği aynı

zamanda dental bölgedeki greftleme gibi ekstrasellüler iskeletsel bölgeye yerleştirildiğinde kemik formasyonunu stimüle edebilen bir materyaldir (3).

Vücuttaki toplam kemiğin % 85'ini oluşturan kortikal kemik uzun kemiklerin gövdesinde bulunur ve vertebralar ile diğer süngerimsi kemiklerin etrafında bir kabuk şeklindedir. Bu doku, havers sistemi denilen bir santral kan damarı etrafında güçlenen kemik silindirinde organize olur. Kılcal damarları ve sınırları içeren Havers kanalları, birbirleriyle ve kemiğin dış yüzeyi ile kısa ve transvers olan Volkmen kanalları ile bağlanır (3).

Vücuttaki toplam kemiğin %15'ini oluşturan kansellöz kemik ise, küboidal ve düz kemikler ile uzun kemiklerin sonlarında bulunur (3).

### 2.2.1.1. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Kemik dokusu mikroskopik olarak incelendiğinde, iki temel yapı gözlenir. Bu yapılar Tablo-1'de gösterilmiştir.

A. Hücreler	B. Hücreler arası doku (Kemik Matriksi)
I- Osteoprogenitör hücreler	I- Organik matriks
II- Osteoblastlar	a) <i>Kollajen</i>
III- Osteositler	b) <i>Esas Madde</i>
IV- Osteoklastlar	II- Mineral Matriks

**Tablo-1:** Kemiğin temel yapıları

#### 2.2.1.1.1. Hücreler

**I) Osteoprogenitör hücreler:** Periosteum ve endosteumda bulunan, embriyonal mezenkim hücrelerin farklılaşması sonucu oluşan ve bir uyarı geldiğinde mitozla çoğalarak osteoblastlara dönüşen öncü hücrelerdir. Osteoprogenitör hücreler, iğ şeklinde ve oval çekirdekli dirler. Bu hücreler kemik büyümesi sırasında son derece aktif rol oynarlar (2,5).

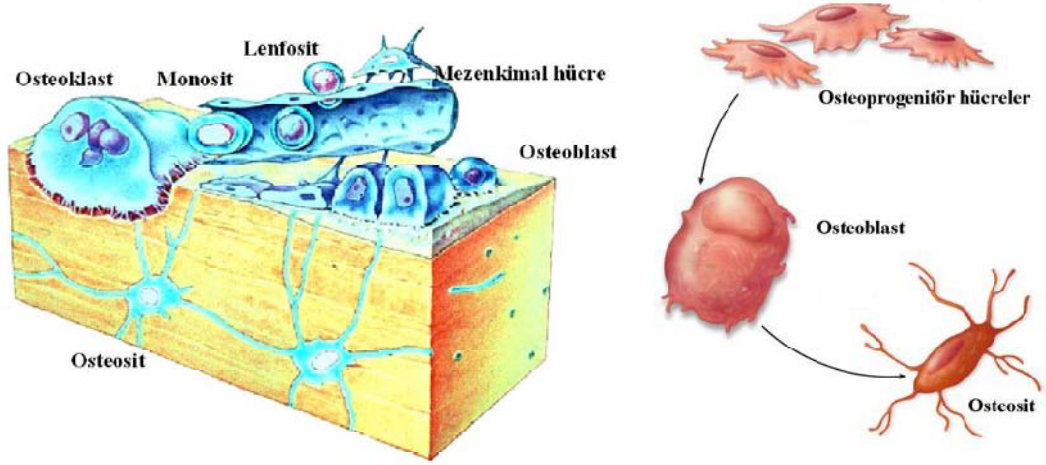
**II) Osteoblastlar:** Kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezi, rezorpsiyonu ve mineralizasyonunda rol oynarlar. Kemik yüzeylerinde epitelyum hücrelerini andıran bir şekilde yan yana dizilirler. Bazofilik

sitoplazmalı ve kemik yüzeyinin distaline doğru eksentrik konumlu çekirdekleri tipiktir. Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olup, osteoid dokuyu, kemik matriksini oluşturan tip I kollogeni, glikoproteinleri, proteoglikanları ve osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgırlar. Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde, oluşturdıkları matriks içinde kalarak osteositlere dönüşürler. Ayrıca kemik rejenerasyonundaki görevleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmeye devam eden, bone morphogenetic protein (BMP), TGF-  $\beta$ , IGF-I, IGF-II, interleukin- 1, PDGF gibi sinyal proteinleri de salgırlar. Osteoblastların yüzeyinde çeşitli hormonlar, vitaminler ve sitokinler bulunur. Osteoblastlar yeni sentez edilmiş matriks ile sarıldığında “osteosit” adını alır. Hücrelerin yüzeyi alkale fosfataz aktivitesi bakımından oldukça zengindir. Hücrelerin ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması, laküna ve kanalları belirgin bir hale getirir. Osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında “osteoid” adını alan yeni, ancak henüz kalsifiye olamamış matriks oluşur. Bu olaya “kemik apozisyonu” denir (26-36).

**III) Osteositler:** Osteoblastların mineral matriks ile çevrenmeleri sonucu meydana gelirler ve matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşirler. Her lakünada sadece bir osteosit bulunur. Komşu osteositler sitoplazmik uzantıları ile birbirleriyle alışverişte bulunurlar. İnsan kemiklerinde milimetreküpdeki osteosit sayısı 20.000-30.000 kadardır. Osteositler osteoblastlara nazaran, elips seklindedir. Kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynar, kan kalsiyum düzeyini dengede tutar ve besin maddelerinin hücre geçişini sağlar, ancak fonksiyonlarını kaybettikleri zaman kemik rezorpsiyonu baslar (26-33).

**IV) Osteoklastlar:** Osteoklastlar, 4 ile 40 arasında değişen sayıda çekirdekleri ve sitoplazmalarında da birkaç adet mitokondrileri bulunan kemik yıkıcı hücrelerdir. Çekirdekleri, hücrenin düzgün sınırlı üst yüzeyine yakın konumlanmıştır. Osteoklastlar düzensiz sınırları ve osteoid dokunun olmayışı ile karakterize, rezorbe kemik yüzeylerinde tek veya gruplar halinde görülebilen, büyük ve oldukça dallanmış hücrelerdir. Bu hücreler, kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde enzimatik olarak açılmış howship lakünasında lokalizedirler. Osteoklastlar kökenini kandan alan monositlerin birleşmesi sonucu oluşturdıkları “mononükleer fagositik sistemin” içinde de

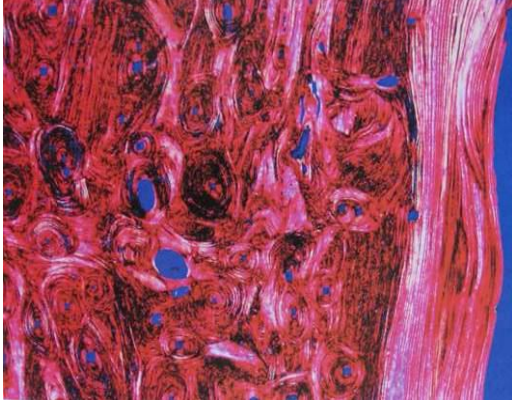
yer alırlar. Ayrıca İnterlökin-1,-3,-6 ve -11 tumor necrosis factor-  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) ve transforming growth factor-  $\alpha$ ' nın, osteoklast oluşumunu düzenleyen faktörler olduğu da düşünülmektedir. Osteoklastlar salgıladıkları asit fosfataz ile kemiğin mineral matriksini yıkar, lizozomal enzimler aracılığı ile de kollojen ve diğer organik matriks yapıları sindirerek, rezorpsiyonu gerçekleştirirler (26-30,31- 34,36).



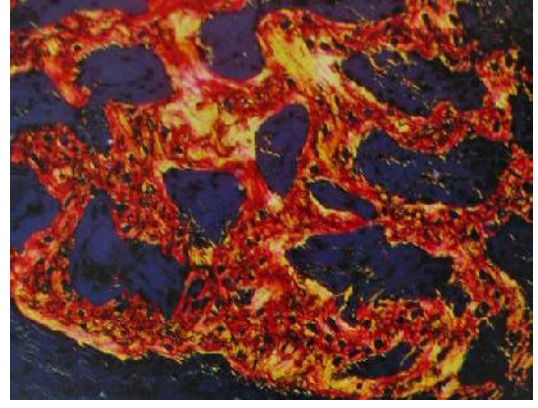
**Şekil 1:** Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi (37).

#### 2.2.1.1.2. Hücreler Arası Doku (Kemik Matriksi)

Kemik matriksi, organik ve inorganik yapılardan meydana gelir ve % 10-29'unu su, % 60-70'ini inorganik yapı (kemik tuzları) ve % 30-40'ını organik yapı oluşturur. Organik yapının % 90-96'sı, bağ dokusunun ana bileşeni olan ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü oluşturan kollojendir. Kemik kollojeni diğer bölgelerde görülen kollojenden, mineralize olması ve birbirlerine paralel seyreden lamellae denilen bantlar şeklinde döşenmesi yönünden farklılık gösterir. Kemiğin organik yapısında kollojen dışında, non-kollajenöz proteinler olarak da adlandırılan proteoglikanlar ve glikoproteinler bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminglikanlardan (GAGs) oluşan, versican decorin biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise osteonektin, trombospondins, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteini sayılabilir. Non-kollojenöz proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin inorganik matrikse tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda etkili oldukları ileri sürülmüştür (33,34,36-39).



**Şekil 2-A**



**Şekil 2-B**

**Şekil 2:** Kansellöz ve kortikal kemiğin kollajen yapıları **(A)** Tipik, gelişigüzel kollajen lif dağılımı sergileyen kansellöz kemik kesiti. **(B)** Kortikal kemikte kollajen liflerinin düzenli paralel ve havers sistemini oluşturan yapısını gösteren kemik kesiti (40)

### **I) Organik matriks**

- a) Kollajen ve
- b) Esas maddeden meydana gelir.

#### **a) Kollajen**

Kollajen; 1000 aminoasit kapsayan üç polipeptit zincirin üçlü sarmal şeklini alarak, hidrojenle birbirlerine bağlanması sonucu oluşan, uç uca kollajen birimlerinden meydana gelen bir yapıdır. Kollajenin kapsadığı aminoasitlerin 113'ü glisindir. Bunun dışında, % 21-23 oranında protein ve hidrokisprolin ve az miktarda da hidrokisilizini içerir. Beş farklı tipi bulunan kollajen yapının bileşimi dokudan dokuya değişebileceği gibi, bir doku içinde birden fazla tipi de bulunabilir (26).

Şimdiye kadar 18 çeşit kollajen tespit edilmiştir. Dokularda en çok görülen kollajen tipleri şunlardır;

**Tip I:** Kemik omurga diskleri ve tendonlarda bulunur.

**Tip II:** Kıkırdak dokularda bulunur.

**Tip III:** Kıkırdaktan daha yumuşak ve daha kolay eğilebilen dokularda bulunur.

**Tip IV:** Genelde bazal membranda bulunur.

**Tip V:** Kemik kırıkta ve bazal membranda bulunur.

Kemik kollajeni aynı özelliklere sahip olmamasına karşın derideki kollajene benzer, ancak kemik kollajeni daha yoğun, daha az çözünür ve mekanik kuvvetlere karşı dirence sahiptir. Kemik kollajeni galaktoz monosakkarid, glutamik asit, aspartik asit ve fosfat aminoasitleri bakımından yumuşak doku kollajeninden daha zengindir. Kollajen, kemik mineralinin atipik fazının oluşumunda çekirdekleştirici bir etki yapar. Kollajen liflerin sentezi mezenkimal kökenli osteoblastlar tarafından meydana getirilir (26).

### **b) Esas madde**

Kollajen fibriller ve kemik kristalleri etrafındaki değişik makromolekül yapılarıdır. Çeşitli glikozaminoglikanlar, gliko ve mukoproteinler ile fosfolipidlerden oluşur. Biyokimyasal olarak incelendiğinde yapısında glikozaminoglikan olarak kondroitin sülfat A ve C, hyalüronik asit ve keratösülfat bulunur.

Glikoproteinler sialoprotein yapısındadırlar. Bu yapının yarısı proteinler, yarısı da karbonhidratlardan meydana gelmiştir. Bu protein yapıya osteomukoid de denilmektedir. Osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenen bir glikoproteindir. Bu madde karaciğerde üretilen 2 HS glikoprotein ile birlikte kemikteki kalsiyumun depozisyonunda rol oynar. Osteoblastlar tarafından salgılanan bir glikoproteindir. Kollajen lifler; kemik kristalleri ve osteositler arasında adhezyonu sağlar. Fosfolipidler, glikozaminoglikanlar, fosfoproteinler kemiğin diğer organik maddeleridir. Bu maddeler özellikle kemiğin erken mineralizasyonunda ve kalsiyum tuzlarının, olgunlaşmış kemikte korunmasını sağlarlar (26).

### **II- Mineral matriks (Kemik tuzları)**

Kemik matriksi organik ve inorganik bileşenleri olan bir yapıdır. Matriks kuru ağırlığının yaklaşık %50'si inorganik madde tarafından oluşturulmaktadır.(26) İnorganik yapı içerisinde yüksek oranlarda kalsiyum ve fosfat bulunur. Bu moleküller kemikte hidroksiapatit kristali  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  oluştururlar. Bu kristal yapıların 20-40 nm uzunluğa ve 3-6 nm genişlikte sahip iğne-biçimli kristaller olduğu bilinmektedir. Kalsiyum ve fosfatın yanı sıra magnezyum,

bikarbonat, sodyum, hidroksil, potasyum, klor, sitrat ve flor da inorganik kemik matriksi içinde yer almaktadır. Hidroksiapatitlerin yüzey iyonları hidrate olmuş durumdadır. Oluşan bu tabakaya hidrasyon tabakası denir. Bu katman, kristaller ile vücut sıvıları arasındaki iyon değişimini sağlar. Kemik matriksinin inorganik komponentinin yaklaşık %90-95'lik kısmı tip I kollajenden oluşmaktadır.(26,28)

Kollajen dışında organik matriks yapı içerisinde amorf yapıda bir yerel madde vardır ki, bu madde glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Matrikse ait nonkollajenöz kısımda serumdan geçiş gösteren albümin ve 2-HS glikoproteinler, -karboksiglutamik asit içeren kemik GLA proteini (BGP), osteokalsin ve bir matriks GLA proteini, glikoprotein yapıda olan osteonektin, bir fosfoprotein olan osteopontin, sialoproteinler, trombospondin ve özellikleri tam anlaşılamamış diğer bazı proteinler bulunmaktadır(29)

Bunların bir kısmı kalsiyuma sıkça bağlanırlar ve kemik matriksinin kalsifikasyonundan sorumludurlar. Kondroitin-4 sülfat, kondroitin- 6 sülfat ve keratan sülfat kemik dokuya ait glikozaminoglikanlardır (26).

#### **2.2.1.2. Periosteum ve Endosteum**

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Dıştakine, periosteum içtekinde de endosteum denir.

Periosteumun dış tabakası, kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Demetler halinde periostal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip yassı hücreler açısından zengindir.

Endosteum ise kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden endosteum, periosteuma göre oldukça incedir.

Periosteum ve endosteumun temel işlevleri; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır (29).



### 2.2.1.3. Kemik Tipleri

Kemiğin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu, iki farklı tip kemik bulunduğu ortaya konmuştur. Bunlar primer, olgunlaşmamış ya da kaba lifli kemik ve sekonder, olgun ya da lameller kemiktir. Primer kemik, embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine, primer kemik rastgele ve değişik dağılmış ince kollajen lifleri ile özellik kazanmaktadır. Enine kesilmiş kemik kesitleri kabaca incelendiğinde; boşluksuz yoğun sahaların kompakt kemiği, çok sayıda birbirleri ile ilişkili boşluklardan oluşan alanların ise süngerimsi kemiği oluşturduğu görülür.

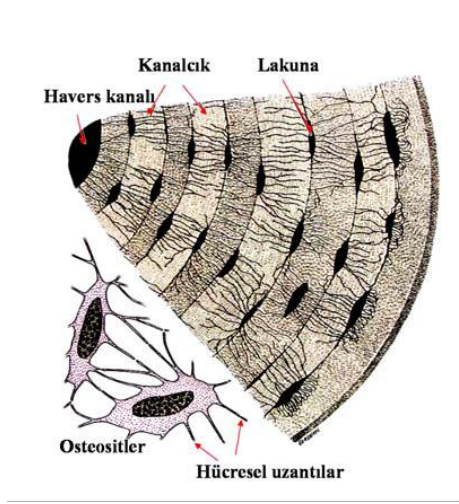
Primer kemik, ilk ortaya çıkan kemik dokusudur. Geçicidir ve kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerlerin dışında yerini sekonder kemiğe bırakır. Sekonder kemikten daha az mineral ve daha fazla osteosit içerir.

Sekonder kemik dokusu, genellikle yetişkinlerde bulunur. Kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanalın etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe "havers sistemi" ya da "osteon" denir. Osteositleri içeren lakünalar, lamellerin arasında ve nadiren de içinde bulunur. Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden Volkman kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır. Büyüme sırasında ve hatta yetişkin kemikte havers sistemleri sürekli yıkılarak yeniden yapıldığı için, çoğu zaman oldukça büyük bir merkezi kanal ve bir iki lamelden ibaret sistemler görülebilir (29).

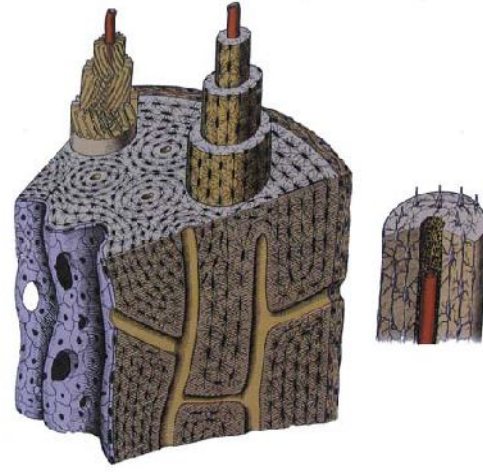
### Morfolojik sınıflama

Kemik morfolojik olarak nonlameller, kortikal ve kansellöz kemik olarak üçe ayrılır. **Nonlameller kemik** embriyonik dönemde, kırık iyileşmesinde, hiperparatiroidizm ve Paget hastalığı gibi patolojik süreçlerde oluşur. Bu kemik gelişigüzel dizili kollajen lifler ve osteoblastlar ile dōşeli düzensiz vasküler boşluklardan oluşur. Daha sonra yeniden yapılanma ile kortikal veya kansellöz kemiğe dönüşür. **Kortikal kemik**, kompakt veya lameller kemik olarak da adlandırılır. Nonlameller kemikten yeniden yapılanma sonucu oluşur. Yassı kemiklerin iç ve dış tabakalarını, uzun kemiklerin dış

yüzünü oluşturur. Kortikal kemiğin ana yapısı “Havers sistemi” olarak da adlandırılan osteondur. Osteon, uzunlamasına dizili vasküler kanalları (Havers kanalları) saran silindirik şekilli vasküler kemikten oluşur. Horizontal dizimli kanallar (Volkman kanalları) komşu osteonları birleştirir. Volkman kanalları sayesinde, Havers kanalları kemik iliği ve periosteumla bağlantı kurar. Sert bir matrikse sahip olan kemik dokusunda diffüzyon olanağı olmadığından, kanal ve kanaliküllerle kemiğin dışından içine kadar ilişki kurulur ve bu şekilde metabolizma için gerekli maddeler damar ve kanaliküllerle hücrelere kadar ulaşır. Kortikal kemiğin mekanik gücü osteonların sıkı dizilimine bağlıdır (**Şekil 3 A, B**). (34,41,42)



**Şekil 3 A**

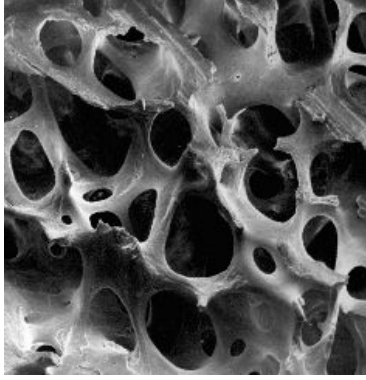


**Şekil 3 B**

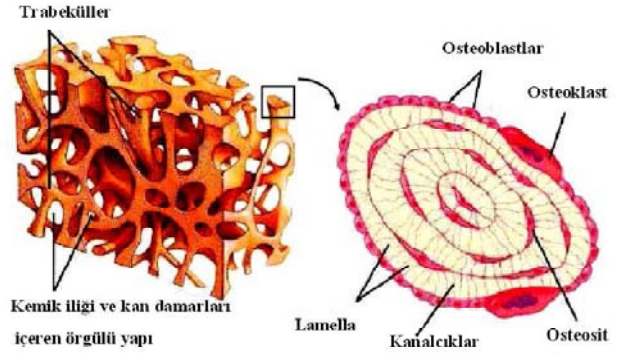
**Şekil 3:** Kortikal kemiğin morfolojik yapısı (**A**) Havers ve Volkman kanallarının kemik yapı içerisindeki yerleşimleri. Sağda içerisinden kapiller geçen bir havers sistemi ve etrafındaki lameller yapı görülmektedir. (**B**) Birden fazla paralel ve farklı yönlerde dizimli kollajen liflerinden oluşmuş lameller yapılar izlenmektedir. Lakunadan uzanan birden fazla sayıdaki kanalikül yapılarla, Havers kanalları arasındaki bağlantı sağlanmaktadır (40).

**Kansellöz kemik** (trabeküler kemik); kortikal kemik yüzleri arasında, balpeteği görümlü, boşluklarında hematopoetik elemanlar içeren, 1 mm kalınlığında trabeküllerden oluşur. Kortikal kemiğe göre daha gevşek yapıda olmasına rağmen, bu kemiğin özellikle femur başında ve vertebralarda trabeküllerin kortekse dik yerleşimli dizilimi sayesinde dış yüklenmeye

yapısal karşı koyma gücü oluşur. Kansellöz kemik, iç endosteal yüzeyde sürekli yeniden yapılanma oluşturur (**Şekil 4 A,B**) (34,41,42).



**Şekil 4 A**



**Şekil 4 B**

**Şekil 4:** Kansellöz kemiğin morfolojik yapısı (**A**) Kansellöz kemiğin gevşek trabeküler yapısının görünümü. (**B**) Kansellöz kemiğin trabeküler yapısının ve kemik iliği ile kan damarları içeren örgülü yapının şematik görünümü. (37)

#### 2.2.1.4. Kemik Oluşumu ( Osteogenesis)

Kemik, var olan konnektif dokunun yer değiştirmesiyle sürekli büyür. Kemikleşmenin tanımlanan iki farklı modeli vardır. İlki kemik oluşumunun primitif konnektif dokudan meydana geldiği 'intramembranöz kemikleşme' dir. Diğeri ise daha önce var olan kıkırdak dokusundan oluşan 'endokondral kemikleşme' dir (27).

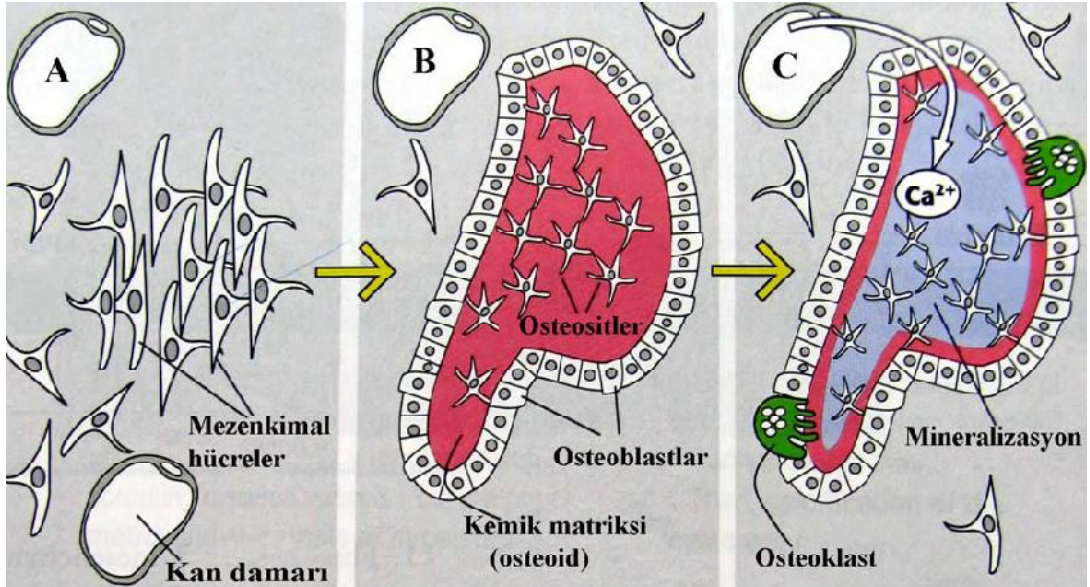
Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu, primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu alır. Büyüme sürecinde, primer kemik alanları, rezorbe olan alanlar ve lamelli kemik alanları yan yana bulunur. Kemik sentezi ve yıkımı (yeniden şekillenme-remodeling olayı) sadece büyümekte olan kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder (29).

##### 2.2.1.4.1. Intramembranöz Kemikleşme

Intramembranöz kemik gelişimi yaklaşık olarak gebeliğin 8. haftasında başlar (4). Pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı 'intramembranöz kemikleşmeye' mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için, bu ad

verilmiştir (5). Frontal, parietal, oksipital, temporal kemik ve mandibulanın bir kısmı intramembranöz kemikleşmeyle büyür (2). Bu tip kemikleşmenin, kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır (29).

Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya, primer kemikleşme merkezi denir. Olay bir grup mezenkimal hücrenin, osteoblasta dönüşmesiyle başlar. Yeni kemik matriksinin oluşmasını kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler “osteosit” haline gelir. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesitlerdeki görüntülerinden ötürü spikül (iğnecik) adı verilir. Kemikleşme merkezinde böyle gruplar ortaya çıkar ve bunlar birleşerek zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile kemik iliği hücreleri de meydana gelir. (Şekil-5 A, B, C)



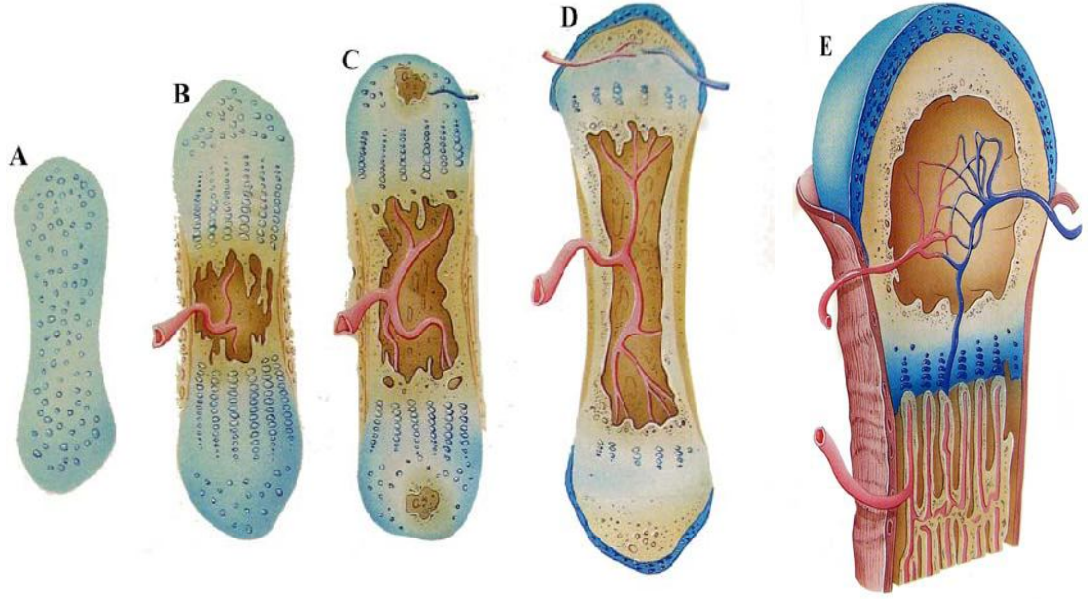
**Şekil 5:** İntramembranöz kemikleşme. (A) Mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesidir. (B) Mezenkim hücreleri hızlı bölünme gösterir ve osteoprogenitör hücreye farklılaşıp, sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirirler. (C) Kılcal damarlardan osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonları taşınıp, osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu sağlarlar (37).

#### **2.2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme**

Endokondral kemikleşme, meydana getirilecek kemiğin şekline benzeyen hyalin kıkırdaktan oluşmuş küçük bir model içinde oluşur. Bu tür kemikleşme, kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur.

Temel olarak endokondral kemikleşme iki aşamadan ibarettir. İlk aşama, kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Bu olaydan geriye kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayrıldığı genişlemiş lakünalar kalır. İkinci aşamada ise, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk, dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan alanlara girer. Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, kemikleşmenin başlamasına destek olur. Kıkırdağı saran perikondriumun iç kısmında kemik manşeti adı verilen silindirik bir kemik tabakası meydana gelir. Yeni oluşan kemiği sardığı için perikondriuma “periosteum” adı verilir. Yeni meydana gelen kemik manşetin içinde kalan kondrositler dejenere olur ve kıkırdak matriksinin devamlılığını sağlama yetenekleri ortadan kalkar, kalsiyum çökmeye başlar ve kıkırdak matriksi kalsifiye olur (Şekil 6).





**Şekil 6:** Enkondral kemikleşme. **(A)** Hyalin kıkırdak model **(B)** Diafiz kıkırdağını örten perikondriumun iç katındaki mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, onlar da osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini yapar. Böylece yeni kemiğin periosteumu ile kıkırdak dokusu arasında kemik manşet oluşur. **(C)** Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde hipertrofiye, ardından ölümlerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında kemik iliği kavitesi oluşur. **(D)** Kıkırdak modelin epifizleri ile diafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar. **(E)** Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (43)

### 2.2.1.5. Kemik Kalitesi

Kemik dokusunun iyileşmesinde, gelen kuvvetlerin dağılımında ve kemik rezorbsiyon sürecinde mevcut kemiğin kalitesi en etkili faktörlerden biridir. Kemik kalitesi, Branemark ve ark. tarafından sınıflandırılmıştır (Şekil:7).



**Şekil 7:** Kemik kalitesi sınıflandırması (26).

Bu sınıflamada;

1. Homojen kalın kompakt kemik,
2. Çevresinde yoğun kompakt kemik içinde yoğun trabeküler kemik,
3. Çevrede ince kortikal kemik ortada yoğun trabeküler kemik ve
4. Çevrede ince kortikal kemik ortada az yoğun trabeküler kemik gösterilmektedir.

Kemik kalitesinin konvansiyonel radyografilerle tespiti her zaman mümkün değildir. Çevresindeki kortikal yapı, iç kısımdaki kemik yapısının görüntüsünü engellediğinden radyografik tanı sırasında net olarak kemik kalitesi tespit edilemez. Kemik kalitesi kesin olarak, ancak cerrahi işlem sırasında anlaşılabilir (26). Kemik kalitesinin sınıflandırılmasındaki 1. ve 2. tip daha çok mandibulada, 3. ve 4. tip ise daha çok maksillada bulunmaktadır (31).

#### **2.2.1.6. Kemik Defektinin İyileşme Mekanizması**

Organizmada hasar gören dokuların tamirinde esas olan fibröz skar ile onarımdır. Bunun vücuttaki önemli istisnası kemik dokusudur. Bu dokuda oluşan hasar sonrasında uygun şartlar sağlanırsa, yeni bir kemik dokusu oluşarak bölge tamamen normal hale gelmektedir. Birincil kırık iyileşmesi, rijit internal fiksasyondan sonra görülür ve belirli bir dış kallus oluşmadan sadece iç kallusla devam eden temas iyileşmesidir. Kırık kapalı yöntemle tedavi edilirse, ikincil kırık iyileşmesi meydana gelir ve evrelere bölünebilir. Histolojik görünüme göre yapılan sınıflamalarda genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer evrelemeler yapılmıştır. Genel olarak 3 evrede incelenir: erken inflamatuvar dönem, onarım dönemi, yeniden yapılanma dönemi (remodeling). Evreleri birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayırmak güçtür ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur (46,47).

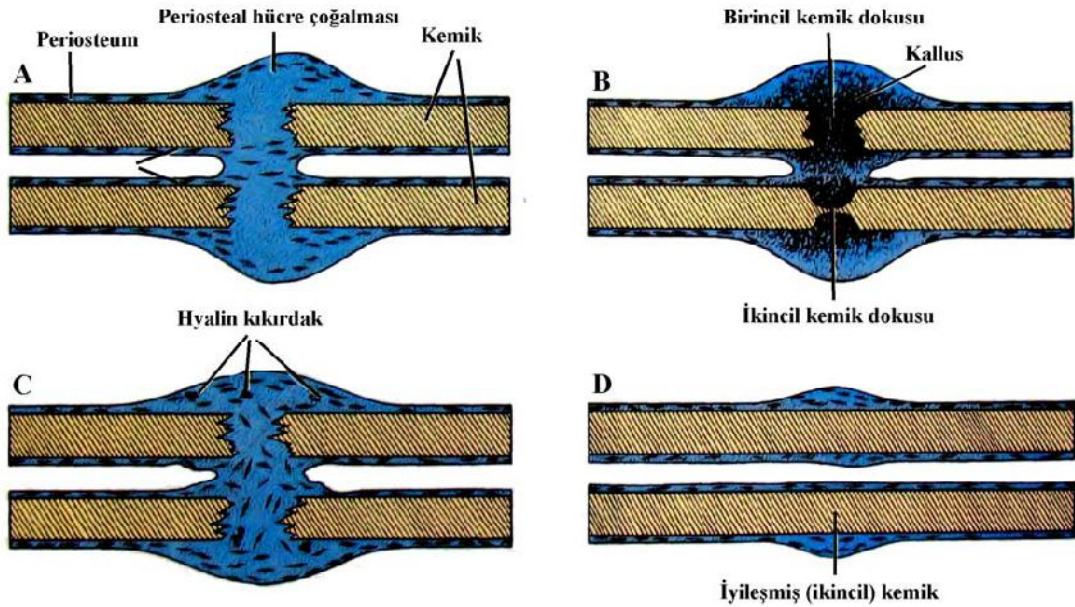
İnflamatuvar fazda önce, kırık bölgesinde yaralanan damarlardan kanama, pıhtılaşmayı sağlamak için trombositlerin toplanmasıyla moleküler araçların yaralanma bölgesine salınması ve bunun sonucu olarak pıhtılaşma ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematom oluşur. Hematom ikincil kırık iyileşmesinde önemli rol sahibidir. Yarattığı basınçla kırık uçlarını bir arada tutar, ortamındaki trombositler ile diğer hücrelerden salınan büyüme faktörü ve proteinler ile hücre göçünü, periosteal hücre çoğalmasını ve onarım dokusu matriksinin sentezini başlatır. Açık kırıklarda hematom boşalmasına bağlı kemik iyileşmesinde gecikme gözlenir. Erken dönemde oluşan vazokonstrüksiyonu, vazodilatasyon takip eder ve salınan prostoglandinlerin de yardımıyla bölgeye akut yangı hücreleri (nötrofiller, monositler, lenfositler) göç eder. Kırık uçlarında bozulan dolaşıma bağlı, kemik dokuda daha geniş olmak üzere nekroz bölgesi oluşur. Ortama gelen nötrofiller ve makrofajlar hasarlı dokuyu ortadan kaldırırlar. Kırık bölgesindeki hematom 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Nötrofiller ve makrofajların yardımı ile fibrin matriks oluşur. Fibrin matriks içindeki öncü hücreler, lokal biyolojik etkilerle değişik dokuları oluşturmak için farklılaşmaya hazırdır (46-48).

Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7–12 gün sürer. Bu evrede lokal aracılı mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya ve düzenlenmeye başlar. Bunlar granülasyon dokusundan, periosteumun osteojenik tabakası ve endosteumdan köken alan pluripotent hücrelerdir. Bu aşamada kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılar söz konusudur. Prostoglandinlerin etkisi ile yeni osteoklast oluşumu ve mevcut osteoklast aktivitesinde artış olurken; fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoidi salgırlar. Fibroblastlar, vasküler oluşuma yardım etmek üzere stromaya yerleşmeye başlar. Vasküler oluşum arttıkça, kollajen matriks belirginleşir. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen kapsamıyla yakın ilişkilidir. Bu esnada osteoid sekresyonu ve takiben mineralizasyon olur. Kırık hattı bölgesi ve çevresinde yumuşak kallus oluşur. İlk 4–6 haftalık süre içinde oluşan bu kallusun harekete karşı direnci düşüktür. Bu nedenle tespitin sağlam olması



önemlidir. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemdeyse besleyici damarlar, kılcak damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Sonuçta kallus ossifiye olur ve kırık yüzleri arasında nonlameller kemik köprüsü oluşturur. Eğer uygun immobilizasyon yapılmazsa kallus ossifikasyonu yeterince oluşamaz, instabil fibröz birleşme gelişebilir. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdaki uzaklaştırılması kırık iyileşmesini yavaşlatır (46,47,48).

Kemik iyileşmesi en uzun faz olan ve yıllarca sürebilen yeniden yapılanma evresi ile sonlanır. Bu fazda kemik orijinal güç, şekil ve yapısını kazanır. Aksiyal yüklenme ile güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümü gerçekleşir. Wolf kanuna göre kemiğin işlevsel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrik yüklenmiş olduğundan, osteoklastik aktivitenin egemen olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Yani, “kırığın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında geri emilim” olur (46-48). (Şekil 8) .



**Şekil 8:** Kortikal kemiklerde kemik iyileşme süreci (40)

Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler yerel ve genel faktörler olarak incelenir. Yerel faktörler; yüksek enerjili travma, kırık uçlarının ucuca gelmemesi, yetersiz immobilizasyon ve kanlanma, eşlik eden yumuşak doku yaralanması, enfeksiyon ile kanser gibi yerel patolojiler sayılabilir. Genel faktörler içinde ise ileri yaş, sigara, sistemik hastalıklar ve enfeksiyonlar, beslenme bozuklukları, hormonal bozukluklar, vitamin eksiklikleri (A, C, D, B6, K), bazı ilaçlar (nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, steroid, sitotoksik ilaçlar) ve radyoterapi sayılabilir (46-48).

### **2.1.7. Kemik Dokusunun Histolojik İnceleme Yöntemleri**

Kemik dokusu sert bir doku olduğundan, diğer dokulardan farklı incelenir. Bunun için iki yöntem vardır:

**a-) Dekalsifikasyon Yöntemi:** Kemik dokusunu asitlerle, kesilebilir düzeyde yumuşatan yöntemdir. Yumuşamadan sonra, bilinen rutin histolojik yöntemlerle takibi yapılarak, preparat haline getirilip inceleme yöntemidir.

**b-) Masserasyon Yöntemi:** Kemiğin kurutularak incelenmesi yöntemidir. Kemikte kuruma evresinde, organik maddeler çürütülür. Daha sonra kemikten kesilen küçük parçalar, bileme ya da zımpara ile iyice inceltir. İnceltirilen parça lam-lamel arasına konur ve incelenir. Çürüyen organik maddelerin yerleri boş olacağından, bunlar siyah renkte görülürler (32).

### **2.2.2. BİYOMATERYALLER**

Canlı organizmada herhangi bir etken sonucu meydana gelen eksikliğin giderilmesinde ve fonksiyona dönebilmesinde ya da bu eksikliğin organizma tarafından düzenli ve hızlı bir şekilde tamamlanmasına yardımcı olan tüm maddelere 'Biyomateryal' adı verilir.

İdeal bir biyomateryali elde etmek için, uzun yıllar çalışmalar yapılmış ve henüz kaybedilen dokuların tekrar elde edilmesi veya kemik defektlerinin tamamen dolmasını sağlayabilecek özelliklere sahip bir materyal bulunamamıştır (26).

Heimke; greft materyallerini biyouyumluluklarına göre 3 sınıfa ayırmıştır; Biyotolere materyaller, Biyoinert materyaller ve Biyoaktif materyaller. Biyotolere materyaller, kollajenden zengin ana tabakanın formasyonu ve öncül hücrelerin osteoblastlara yeterli farklılaşmasıyla konakçı doku etrafında irritasyona sebep olur. Biyoinert materyaller, hücre sel cevap düzeyinde çevre dokularda hiçbir yan etki göstermez ve kontakt osteogenezisi oluştururlar (34).

### **2.2.2.1. Biyomateryaller ile içinde buldukları doku ya da organla ilişkilerinin değerlendirilmesi**

#### **2.2.2.1.1. Biyokompatibilite**

Biyolojik ortamda sürekli kalması planlanan materyalin, yakın ve uzak dokularda kısa ve uzun süreli etkileri olacaktır. Bu etkilerin organizma için potansiyel risk faktörü taşımaması gereklidir. Kısaca, kullanılan materyalin çevre dokularına uyumlu olması gereklidir. Biyouyumluluk, materyalin girdiği ortamdaki biyolojik uyumluluğu ve ilgili organa ait kesintiye uğramış fonksiyonları sağlayabilme özelliğidir. Bu iki özelliğin bir arada bulunması her zaman olası değildir. Örneğin seramik implantlar biyolojik olarak uyumlu oldukları halde, aşırı yüklenmeye karşı dirençsizdir. Bu özelliğin sonucu olarak, uzun dönemde yüzeyinde aşınmalar ve kopmalar meydana gelebilir (26).

#### **2.2.2.1.2. Biyofonksiyonalite**

Yerleştirildiği ortamdaki fonksiyonları sırasında, biyomateryalin karşılaştığı kuvvetler, yapısında bazı değişikliklere neden olur. Bu durumda materyalin, biofonksiyonalite yönünden yetersiz olduğu düşünülebilir (26).

Görüldüğü gibi, biyomateryalin vücut ortamında uzun süre kalabilmesi ve fonksiyonlarını yerine getirebilmesi oldukça karmaşık bir süreçtir. Konuyu daha iyi anlayabilmek için biyomateryalleri ve bu materyallerin fonksiyonları sırasında çevre dokularla olan etkileşimlerini incelemek gereklidir (26).

Kraniomaksillofasial cerrahide çeşitli nedenlerden dolayı bozulan karmaşık kemik yapısının estetik ve fonksiyonel olarak rekonstrüksiyonu, modern cerrahi ile oldukça zor bir tedavi yöntemidir. Bu tip rekonstrüksiyonlarda otojen kemik greftlerinin kullanımı, en sık tercih edilen

yöntemdir. Bununla beraber, otojen kemik greftlerinin istenilen miktarda elde edilememesi, şekil verme zorluğunun olması, donör morbidite ve ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi gibi dezavantajları vardır. Ayrıca bu işlem; kanama, enfeksiyon, hematoma, ağrı, his kaybı ve yara iyileşme problemleri gibi riskleri de beraberinde getirmektedir. Otojen kemik greftlerinin bu olumsuz yanları, araştırmacıları başka materyaller bulmaya yöneltmiştir (26).

Otojen kemik greftlerine alternatif olarak, allojenik kemik ve ksenojenik kemik greftlerinin ve çeşitli alloplastik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir. Kemik greftlerine alternatif olarak geliştirilen alloplastik materyallerin kullanımı, son 20 yılda oldukça artmıştır. Bu materyallerin kullanım amacı, kemik gelişimine izin veren nonrezorbe bir matriks oluşumunu sağlamaktır. Bunlar alveol rekonstrüksiyonunda, periodontal defekt restorasyonunda ve diş çekimini takiben socketin immedat implantasyonunda başarılı bir alloplastik materyal olarak kullanılmaktadır (26).

Çeşitli ksenojenik greftler de (heterojenik), otojen kemik greftlerine alternatif olarak geliştirilmişlerdir. Bunlardan biri olan sığır kemiği, uzun yıllardan beri, özellikle kraniomaksillofasiyal ve ortopedik cerrahinin uygulama alanına girmiştir. Ağız, diş ve çene cerrahisi açısından biyomateryaller kraniomaksiller, mandibuler, nazozigomatik, orbital, temporomandibuler eklem rekonstrüksiyonlarında ve ortognatik cerrahide ogmantasyonlarda kullanılmaktadırlar (26).

Yapısal olarak çeşitli türleri geliştirilmiş olan biyomateryallerin seçiminde;

1. Materyalin yük uygulanabilirliği fiziksel özelliklerinin, fonksiyon sırasında kaldıracağı yüke karşı olan direncini ve

2. Materyalin yüklü veya yüksüz olarak çevre dokulardaki etkilerini göz önüne almak gerekir (26).

#### **2.2.2.2. Kemik Greft Materyalleri ile Kemik Şekillenmesi**

Diğer dokuların tersine, kendini tamamen yenileme kapasitesi olan tek doku kemiktir (9). Buna karşın kemik defektlerinin kemik dokusuyla iyileşmesinde başarısızlıklar görülebilir. İyileşmeyi kolaylaştırmak ve

hızlandırmak için, kemik greft materyalleri kemik defektlerine yerleştirilir (36). Greftin başarılı bir şekilde osseointegrasyonu için, alıcı bölgenin yeterli vaskülarizasyonunun olması gerekmektedir (3). Ancak; nonregüle diabetli hastalarda yara iyileşmesinde gecikmeler görülür. Bozuk sirkülasyon, protein katabolizmasındaki artış, bozulmuş beslenme statüsü yaranın iyileşmesini geciktirmektedir. Hiperglisemik hayvan modellerinde, granülasyon doku formasyonunda gecikmeler görülmüştür.

Kemik greft materyalleri üç farklı mekanizma ile kemik oluşumunu sağlar. Bunlar;

- A. Osteogenezis,
- B. Osteoindüksiyon ve
- C. Osteokondüksiyondur (28).

#### **2.2.2.2.1. Osteogenezis**

Kemik greft materyalleri, direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturma kapasitesine sahip organik materyaller içerirler. Doğada farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile, bu tür organik maddeler osteogenezis kabiliyetine sahiptir. Osteogenezisi yapan kemik greft materyalleri, canlı kemik hücrelerinin bir bileşimidir. Bu nedenle osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali, otojen kemiktir (26).

#### **2.2.2.2.2. Osteoindüksiyon**

Son zamanlarda kemik rejenerasyonunda olumlu bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Uygulanan kemik greftinin, yerleştirildiği sağlam kemikteki osteoblastları etkilemesi sonucu, osteoblastlar greftin içine doğru hareket ederek yeni kemik oluşumu sağlanmış olur. Kemik, dentin ve osteosarkom dokusundan alınan kemik morfojenetik proteini (BMP), kemik ve kırıldaktaki mezenşimal hücre değişimine sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, demineralize kemik matriksi kullanmak şimdilik umut verici, fakat greftlerin depolama ve sterilizasyonu henüz tam olarak açık değildir. Kollajen ve faktör VIII' in osteoindüktif etkisi oldukça yüksektir. (49,50, 51, 52)

### **2.2.2.2.3. Osteokondüksiyon**

Alıcı yatağından transplante edilen materyal içerisine osteoprogenitör(mezenşimal) hücrelerin ve kapillerlerin büyümesidir. Transplante materyaller cam, seramik ve plastik gibi biyolojik olmayan materyaller olabileceği gibi otoklavlanmış, deproteinize, dondurulmuş veya dondurulmuşkurutulmuş kemik transplantları gibi cansız biyolojik materyaller ya da taze non-vasküler veya vasküler greftler olabilir (53,54).

### **2.2.2.3.Greftin İyileşmesi**

Enfeksiyon dışında greftin iyileşmesinde greft dokusu, konak kemik dokusunun fonksiyonel bir parçası haline gelir veya greft birleşmede başarısız olur ve derece derece kaybolur.

Greftin konak kemik dokusunun fonksiyonel bir parçası olması için; birbirini takip eden birleşme, yer değiştirme, şekillenme ve bölgesel hızlanma fenomeni olmak üzere 4 iyileşme fazının başarıyla tamamlanması gereklidir. Bu olay genellikle büyük greftlerde, küçük greftlere göre daha uzun bir zaman almaktadır. Bu fazların herhangi birinde oluşan başarısızlık, greftin başarısızlığı ile sonuçlanır (31).

### **2.2.2.3.1. Birleşme**

Ölü grefti çevreleyen sert ve yumuşak konak doku tabakası canlı ve iyi bir kanlanmaya sahip olmalıdır. Canlı olmayan konak kemiğindeki greftin başarı oranı çok düşüktür. Greftleme operasyonlarını takip eden haftalarda konak tabaka interstisyel hücreler ve materyaller, yeni damarlar ve yeni kemik oluşumunu üstlenen osteoblastlar üretir. Tüm bu elemanlar, greft ve yeni oluşan kemik kompleksini oluşturur. Sement çizgileri, greft ve yeni oluşan kemiği bir arada tutmaktadır ve konak kemiğe mekanik destek sağlamaktadır. Bu gereklilik, greftler için uygun olan materyalleri sınırlamaktadır. Bu açıdan otojen kansellöz kemik greftleri, en iyi materyaldir.

Bu işlemler; hücrel proliferasyona, hücrel göçe, farklılaşmaya, fonksiyona, genetik duruma, adezyona ve apoptozise ihtiyaç duyan birçok

non-mekanik faktöre bağlıdır. Bu faktörler; kemik matriksi, bölgesel hücreler ve kandan gelmektedir. Bu birleşim fazı 4 aydan daha uzun süre alabilir (31).

#### **2.2.3.2. Yer değiştirme**

Birleşme fazı biterken temel multisellüler birimlerin (TMB) yeniden şekillenmesi, greft–kemik doku kompleksinin lameller kemik ile yer değiştirmesi ile gerçekleşir. Tam bir yer değiştirme, bir yıldan daha fazla zaman alabilir. Yeniden şekillenme, grefti yavaşça ortamdan uzaklaştırır (31).

#### **2.2.2.3.3. Şekillenme**

Daha büyük miktarlarda gerilim verildiğinde, greft-kemik kompleksi internal ve eksternal olarak tekrar şekillenir. Bu işlem, yeni lameller kemik parçalarını yerel mekaniksel ihtiyaçlara göre dizer ve ayrıca bu dizim işlemiyle, kompleksin trabekülleri ile korteksini şekillendirir ve güçlendirir. Burada da sement çizgileri yeni lameller kemiği önceden var olan kemiğe, greft materyaline ve konak kemiğe birleştirir. Bu fazın tamamlanması bir yıldan fazla zaman alabilir ve yaşlı insanlarda ergenlerden daha da uzun sürebilir (31).

#### **2.2.2.3.4. Bölgesel Hızlanma Fenomeni (BHF)**

Greftleme işleminin travması, normalde konak yatağındaki tüm bölgesel doku işlemlerini hızlandırır. Bu reaksiyon, bölgesel hızlanma fenomenidir (BHF). Cerrahi işlem sırasında başlar ve 2 yıldan daha fazla sürebilir. BHF, kemik grefti iyileşme fazlarının hepsini hızlandırmaktadır. Başarısız olan BHF'leri iyileşme hızını düşürür ve enfeksiyona olan direnci azaltır. Bu başarısızlık, sinirsel dağılımın olmadığı bölgelerde ve bazı kronik hastalıklarda (tip I diabetlerde, pulmoner yetersizlik, konjestif kalp yetmezliği ve hepatik sirozda) görülebilir. Bazı nonsteroid antienflamatuar ajanlarda BHF'ni baskılayabilir, greft iyileşmesinin yer değiştirmesini ve şekillenme fazını yavaşlatabilir (31).

#### **2.2.2.4. Kemik Direnci**

Kemik direnci, çevre faktörlerin ve kendi yapısının etkisi altındadır. Kemik, birçok kuvvetlerin etkisi altında yeniden şekillenebilir, hatta kırılabilir.

Bu değişiklikler uygulanan kuvvetin yönüne, süresine ve şiddetine bağlı olmakla beraber, daha çok kemiğin histolojik ve biyokimyasal yapısına bağlıdır. Dirençte en etkili faktörlerden biri, kollajendir. Kemikte bulunan kollajen, vücutta bulunan kollajenler içinde en dirençli olanıdır. Kollajen fibrillerin yönü ve üzerine çökelen mineral miktarı, kemik direncini etkiler. Kollajen fibriller üzerine minerallerin çökmesi; fibriller üzerinde bulunan girintilerin genişliğine, ortamın mineral doygunluğuna, protein ve glikozaminoglikanların bulunmasına bağlıdır. Fibriller üzerine çökelen kemik tuzlarının, %50' den fazlasını hidroksilapatit (HA) oluşturur. Bu yapı, kemik defektlerinin tedavisinde, HA ve fibrillerin "biyomateryal olarak" kullanılmasında yol gösterici bir faktör olarak rol oynar. Kemik tuzlarının fibrillere çökmesini ve adezyonunu osteonektin ve osteokalsin adlı proteinler sağlar. Glikozaminoglikanlar (özellikle kondroitin 4 sülfat) ise, çökelen minerallerin ve kalsiyum iyonlarının olgun kemikte stabilitesini sağlarlar.

Sonuç olarak, kemik çok değişken bir metabolizmaya sahip olsa da direnci, kollajen miktarına, fibrillerin dizilişine, ortamda bu fibrillerin üzerine minerallerin çökmesini sağlayacak olan protein ve glikozaminoglikanların bulunmasına ve en önemlisi yeterince mineral bulunmasına bağlıdır (26).

#### **2.2.2.4.1. Kemik Direncinin Fiziksel Etkileşimi**

Greftler ile konak arasında, greft-kemik kompleksinin direnci birçok faktöre dayanmaktadır.

##### **a) Kütle ve Yapı**

Katılık, esas direnç ve eğilme noktası kemiğin gücünü belirler. Lameller kemik, bu açılardan bakıldığında spongioz kemikten daha iyidir. Bu temelde genetik olarak belirlenen materyal özellikleri; yaş, cinsiyet, tür ve birçok hastalıkla değişkenlik gösterebilmektedir. Kemik greftinin direnci, çapraz kesitinde ne kadar kemik depoladığıyla da alakalıdır. Kemik miktarı arttıkça greft de o derece kuvvetli olur. Olgunlaşan greftin şekli, büyüklüğü, kortikal veya trabeküler kemiğe dağılımı direnci etkilemektedir.

Kemik greftini daha dirençli yapmak için, materyal özelliklerinden ziyade kaliteli bir yapı ve fazla kemik miktarı gereklidir (31).



## **b) Mikrohasar**

Mikroskobik yorgunluk hasarı veya mikrohasar, kemiğin yapısına ve kütlesine etki etmeksizin kemiği güçsüzleştirir. Çatlaklar ve tabakalaşmalar, ışık mikroskobunda görülebilir. Yükler ve gerilimler ikiye katlandığında, mikrohasar 400 kata kadar artmaktadır.

2000 mikrogerilim altındaki gerilimler, remodelasyonun temel multisellüler üniteleri tarafından tolere edilir. Daha fazla olan gerilimler ise tolere edilemeyecek kadar stres oluşturdukları için, mikrohasar yorgunluğuna bağlı olarak fraktürleri ortaya çıkarabilmektedir. Bu açıdan bakıldığında 2000–4000 arası bir mikrohasar, operasyon mikrohasar aralığını (MESp) belirtmektedir. Ortalama 3000 mikrogerilimdir. Karşılaştırma amacıyla söylenmesi gerekirse, normal kemik fraktürleri 25.000 mikrogerilim civarında oluşmaktadır (31).

### **2.2.2.6. Biyomateryallerin Taşınması Gereken Özellikler**

Biyomateryal olarak kullanılacak maddelerin, bir takım temel özellikler taşınması gereklidir. Bu niteliklerden fazlasını taşıyan materyal, en uygun ve en fazla kullanılabilir materyal olacaktır.

- Biyolojik uygunluk: Uygulanan biyomateryal doku tarafından kabul edilebilir olmalıdır. Spesifik ve nonspesifik immün mekanizmaları harekete geçirmeyecek, immün sistem tarafından mümkün olduğu kadar tolere edilebilecek bir madde olmalı
- Biyoinert, biyoyumlu olmalı
- Osteokondüktif veya osteojenik olmalı
- İmmediat sabitlik özelliği olmalı ve stabilizasyonun artmasına olanak sağlayacak şekilde yüzey porözitesi olmalı
- Toksik olmamalı
- Kimyasal olarak bozulmadan sterilize edilebilmeli
- Enfeksiyona karşı dirençli olmalı
- Çevre dokuları etkileyebilecek renk özellikleri olmamalı

- Uygulaması kolay olmalı, uygulama esnasında minimum travmaya neden olmalı
- Kırılma ve bükülmeye karşı dirençli olmalı, elastik olmalı, elastisitesi uygulandığı dokuya yakın olmalı, greft ile doku arasındaki bağlantıyı geliştirmek ve estetiği sağlayabilmek için kolaylıkla bükülebilir olmalı
- Bazı özel uygulamalarda materyale önceden form verilmiş blok halinde olmalı ve uygulama sırasında kesilip şekillendirilebilmeli
- Rezorbsiyona dirençli olmalı
- Uygulama hasta tarafından kabul edilebilir olmalı
- Uygulaması kesin sonuçlar vermeli
- Başarısızlık durumunda kolaylıkla çıkartılabilmeli veya kesilebilmeli
- Saklanması ve depolanması kolay olmalı
- Ucuz ve elde edilmesi kolay olmalıdır (26).

#### **2.2.2.7. Biyomateryal Çeşitleri**

Biyomateryaller elde edildikleri dokulara göre sınıflandırılmışlardır (Tablo-2) (1).

**Tablo 2:** Biyomateryallerin sınıflaması (26)

<b>BİYOMATERYALLER</b>	
<b>A. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller Olmayan (Alloplastlar)</b>	<b>B. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller</b>
<b>a) Otojen kemik grefti (Otogreft)</b>	<b>a) Biyoseramikler</b>
I- Kortikal kemik	I- Trikalsiyum fosfatlar
II- Kansellöz kemik	II- Hidroksilapatitler (HA)
1) <i>Ağız içi kaynaklı</i>	1) <i>Yoğun, poröz olmayan, rezorbe olmayan HA</i>
2) <i>Ağız dışı kaynaklı</i>	2) <i>Poröz, rezorbe olmayan HA</i>
III-Kortikal ve kansellöz kemik	3) <i>Düşük ısıda üretilen rezorbe olan HA</i>
<b>b) Homojen kemik grefti (Homogreft)</b>	<b>b) Biyoaktif Camlar</b>
I- İzogreft: taze kansellöz kemik iliği	<b>c) Polimerler</b>
II- Allogreft	I- Polimetilmetakrilat
1) <i>Taze Dondurulmuş kemik</i>	II- Proplast
2) <i>Dondurulmuş kurutulmuş kemik</i>	III- Slikon
3) <i>Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik</i>	IV- Polietilen
<b>c) Heterojen kemik grefti (Ksenogreft)</b>	V- Politetrafloroetilen
I- Demineralize edilmiş kemik	
II- Proteini çıkarılmış kemik	
<b>d) Doku kaynaklılar</b>	
I- Dentin	
II- Sklera	
III- Kıkırdak	
IV- Sement	
V- Durameter	
<b>e) Metaller</b>	
<b>f) Jelatin film</b>	
<b>g) Kalsiyum sülfat</b>	
<b>h) Kalsiyum karbonat</b>	

### **2.2.2.7.1. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller**

Fasiyal iskelet onarımında yüzyıllardan beri, çeşitli kemiksel biyomateryaller kullanılmaktadır. Bu materyaller; bir travma sonucu oluşan defektlerin tedavisinde, konjenital deformitelerin ve tümör cerrahisi sonucu oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanılır. Destruksiyona uğrayan bir dokunun tedavisi için yerleştirilen maddeler 'greft' olarak adlandırılır. Organ veya doku grefti uygulamalarında, transplante edilen materyaller immunolojik orijinlerine göre sınıflandırılmaktadır. Günümüzde oral ve maksillofasiyal cerrahide, otojen kemik greftleri (otogreft), homojen kemik greftleri (allogreftler), heterojen kemik greftleri (ksenogreftler) ve alloplastik materyaller kullanılmaktadır (26).

#### **a) Otojen kemik grefti (Otogreft)**

Dokunun aynı bireyde, bir yerden başka bir yere transferini ifade eder(12,18).

Otogreftler diğer kemik transplantlarının değerlendirilmesi için altın standart olarak tanımlanmaktadır. Dezavantajları;

- Normal iskelet yapısının kaybı
- Morbiditede artış
- Alınabilecek miktarın sınırlı olması
- Verici sahanın mekanik gücünün azalmasıdır.

Otojen transplantlarına alternatif allojenik kaynaklardır (54,55).

Bu greftler değişik bölgelerden değişik formlarda elde edilebilir. En sık otojen kemik elde edilebilen ekstraoral bölgeler iliak kemik, kostalar, kranial kemikler ve tibia olurken; intraoral bölgeler ise mandibular simfiz, ramus, maksiller tüber veya ekzostozlardır. En uygun verici bölge, olgunun özelliğine göre gerekli olan hacim ve kemik rejenerasyon tipine bağlı olarak seçilir (28).

Kemik greftleri yapısal olarak

- I. Kansellöz
- II. Kortikal
- III. Kortiko-kansellöz şekilde olabilir (26).

#### a) Ağız içi kaynaklı kansellöz kemik:

Kemik alınan bölgeler üst çene tüber bölgesi, dişsiz bölgeler, ekzostozlar, iyileşmekte olan çekim yerleri, ramus mandibula, kökler arası alveol kemiği, alt çene semfiz bölgesi ve operasyon esnasında ortaya çıkan kemik parçalarıdır (38).

Son zamanlarda operasyon alanındaki kanın aspirasyonu esnasında, operasyon ortamındaki kemik parçalarını toplamak amacıyla, aspiratöre takılan "Bone collector" adı verilen özel bir alet yapılmıştır. Bu sayede, hastanın kendi kemiğini greft materyali olarak kullanmak mümkün olmaktadır. Ağız içi kemik greftleri diğer kemik onarım yöntemleriyle karşılaştırıldığında, daha kısa bir iyileşme süresi ve iyi bir kemik kalitesiyle sonuçlanır (26).

Ramus mandibuladan kemik alınması esnasında sinir ve damarların zarar görmemesi için, mandibular kanal anatomisi hakkında bilgili olmak gerekir. Kanalın pozisyonundaki değişikliğe karşın, anatomik ortalamalar operasyon planlanmasında yardımcı olabilir. Ramus bölgesinden alınan greftlerin, semfiz bölgesinden alınanlara göre bazı avantajları vardır. Semfiz bölgesi greftlerinde yumuşak doku konturlarında postoperatif bir değişikliğe rastlanmamış olmasına karşın, hastaların bu bölgeden kemik çıkarılması konusunda bazı kaygıları olabilmektedir. Ağız içi alanlardan, ağız dışı alanlara oranla oldukça az greft elde edilir (28).

Ağız içi operasyonlarda sınırlı miktarda kemik grefti gerekiyorsa, morbidite oranının düşük olması, alınmasının kolay olması gibi nedenlerle ağız içi otojen kemik greftleri tercih edilir (26).

#### b) Ağız dışı kaynaklı kansellöz kemik:

İliak kemik, tibia, kostalar ve diğer endokondral kemiklerden elde edilir (1).

**III- Kortiko-kansellöz kemik:** Bu greftlerinin kullanımı son zamanlarda popülerite kazanmıştır. Ancak bu greft hem kortikal hem de kansellöz kemiklerin özelliklerini aynı derecede taşımamaktadır ve bu kemik grefti, kansellöz kemik kadar osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir, çünkü nonporöz yapısı olan kortikal kemik tabakasına da sahiptir.

Kortiko-kansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlılık ve form kazandırması, bir miktar da osteogeneziste artış elde etmesidir. Bu tip greftler, en çok kosta veya ilium kaynaklıdır (26). Otojen kemik grefti yerleştirilen bölgedeki kemik dokusu üç aşamada iyileşir:

Birinci aşamada, canlı hücreler osteogenezis ile osteoid yapımından sorumludurlar. Greft uygulamasından sonraki dört hafta içerisinde bu hücreler en aktif düzeydedir.

İkinci aşama, osteoindüksiyon safhasıdır. Greft uygulamasından 2-6 hafta sonra başlar ve altı ay arasında en üst seviyeye ulaşır.

Üçüncü aşamada ise, kemiğin anorganik komponentleri, matriks ve minerallerin kaynağını oluşturarak, *ostekondüksiyon* ile kemik oluşumu başlatır (26).

#### **b) Homojen kemik grefti (Homogreft)**

##### **I- İzogreft:**

Alıcı ile aynı genetik yapıya sahip canlılardan alınan dokulara *İzogreft* ya da 'Singenesiyoplastik greft' denir (26).

##### **II- Allogreft:**

Allogreftler, bir kişiden diğer bir kişiye transplantasyon için toplanan kemik greftleridir ve geniş oranda kullanılırlar. (56)

Kemik allogreftleri değişik genetik tipte farklı insanlardan ve kadavralardan çıkarılan kemiklerden elde edilir ve bir seri işleme tabi tutularak kemik bankalarında muhafaza edilirler. (57)

Allogreftler konjenital travmatik, dejeneratif ve neoplastik orjinli kemik defektlerinin tedavisinde önemli bir yere sahiptirler. Bu greftler osteojenik değildirler ve kemik formasyonu ise uzun zaman alır.(49) Allogreftlerin avantajları;

- Hazır bulunması, hastada donör alana ihtiyaç olmaması, anestezinin azalması
- Kan kaybının azalması, operasyon süresinin kısılması
- Düşük seviyede komplikasyonlardır (51).
-

Allogreftlerin dezavantajları ise;

- Başka canlıdan alınan dokuların kullanılıyor olması. Bu nedenle donör kişilerin enfeksiyon, malign neoplazma, dejeneratif kemik hastalıkları, hepatit B ve C, AIDS gibi bulaşıcı hastalıkları olup olmadığı, tıbbi anamnez ile çok iyi bir şekilde araştırılmalıdır. (58)
- Grefti hazırlama işleminin materyalin yoğunluğunu ve osteojenik potansiyelini düşürmesi ve immünolojik tepkinin, ana kemikle birleşmesini azaltmasıdır. (56)

Otojen greftlerin avantajları ve dezavantajları şunlardır; Biyouyumluluklarını iyi olması, hareketsizliğin kolay sağlanması, vaskülarizasyonun bulunması ve enfeksiyon oranının düşük olması otojen greftlerin avantajları arasındadır (26).

Az miktarda elde edilebilmesi, ikinci operasyon bölgesine ihtiyaç göstermesi, morbiditeyle sonuçlanma ihtimali ve yeniden şekillendirilememesi bu greftlerin dezavantajlarından (26). Bu dezavantajlar alternatif bir greft materyali olarak, allogreftlerin ve alloplastların geliştirilmesine neden olmuştur (28).

### **Dondurulmuş Kemik Allogreftleri (DKA)**

Taze dondurulmuş kemiğin fasiyal iskeletteki yararları sınırlıdır. Başlıca kullanımı, ortopedik onarımda osteokondral allogreftler içindir. Allogreftler vericiden, ölümden sonraki 12 saat içinde steril bir şekilde alınmalı, alınan kemik multiple bakteriyolojik çalışmalarla işlem öncesi ve sonrası, periferik ve kemik iliği kültürüne tabi tutulmalıdır. Genelde onarıma katılır ve maksillofasiyal alandaki onarımın fonksiyonunu sınırlar. Preparasyon aşaması, yapışık dokunun ayrılması ile yumuşak dokunun kaldırılmasını içerir. Yapışık kapsüller kesilir. Bu da intrakapsüler yolun donmasına izin verir. Donma, biyolojik olarak kanamada hücre ölümüne ve doku hasarına yol açar. Dokunun donma oranının kontrolü ve soğutma ajanlarına maruz bırakılması, kontrol altında gerçekleştirilir (57).

## **2) Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri (DKKA)**

Dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftleri 1950 yılından beri maksillofasiyal iskeletin onarımında başarı ile uygulanmaktadır. Donmanın etkileri irreversible doku hasarına neden olur, bu yüzden uygulanabilir değildir. Greft materyallerinin antijenitesinin ayarlanabilmesi ise avantajdır. Kemik -76° C 'de dondurulur ve sonra çeşitli kurutma işlemlerinden geçirilir ve yavaş yavaş ısı artırılır, bu da tutulmuş suyun dışarı çıkmasını sağlar. Bu dehidratasyon için iki hafta gereklidir. Mikrobiyolojik örnekler dondurma işlemi öncesinde ve sonrasında alınır, nakil ile depolama ise steril bir biçimde yapılır. Uygulanan kemiğin revaskülarizasyonu yavaştır ve otojen greftlerden daha fazla rezorptif aktivitesi vardır. Revaskülarizasyon mekanizması akut inflamasyon yanıtı ile başlar ve uzun sürer, sonra kronik inflamasyon gözlenir. Bu kronik inflamasyon bir kaç ay predominant durumdadır ve fibröz doku besiyeri gelişebilir, greft kapsülle çevrilebilir (57).

Bu kronik inflamasyon çok değişkendir ve nispeten erken önlenebilir veya aylarca devam edebilir. Revaskülarizasyonun 8 ayda tamamlanmadığı ve revaskülarize olmayan kemik cepleriyle karşılaşıldığı rapor edilmiştir. Osteodepozisyon tarafından periferde meydana gelen mineralizasyon, kortikal kemik otogreftlerindeki gibidir, fakat daha yavaş ve daha az olarak görülür. Dondurulmuş kemik uygulamalarında, hücresele immunolojik yanıtla karşılaşılır (57).

Homojen donmuş kuru kemik, osteokondüktif materyaller olarak değerlendirilir (9). Sadece oluşan alveol defektleri ve kronik fistüllerin tedavisinde başarılı olarak kullanılırlar ve hastalık nakil riski enderdir (57).

## **3) Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri (DDKKA)**

Hidroklorik asit ile demineralizasyon işlemi, inorganik kemik matriksi içindeki kemik oluşumunu uyarıcı proteinlerin açığa çıkmasını sağlar. Kemik oluşumunu uyaran bu proteinlerin tümü birden "bone morphogenetic protein" (BMP) olarak adlandırılır (9,10). DDKKA' ların iyileşmesi konusunda tartışmalar vardır. Bazı yazarlar bu tür greftlerin osteoindüksiyon ile iyileştiklerini ileri sürerler. Bu süreç, greftin yerleştirildiği alıcı doğal kemikten kaynaklanan potansiyel hücreleri kapsar. Bölgeyi dolduran bu hücreler



farklılaşarak osteoblastlara dönüşür. DDKKA elde edilme kolaylığı, güvenilirliği ve ileri sürülen osteoindüktif özellikleri nedeniyle en çok kullanılan allogreftlerdir.

Kortikal kemik allogreftlerinin antijenik özellikleri, kansellöz kemik allogreftlerine oranla çok daha azdır. Aynı zamanda kansellöz kemikten daha yüksek konsantrasyonda BMP içerirler. Bu nedenle DDKKA greftlerinden kortikal kemikten elde edilenleri tercih edilmelidir (12). Allogreft uygulamalarında hastalık transferi riski önemli bir konudur. Doku bankaları kullanacakları kadavralarda, HIV antikor ve antijeni aramakta ve lenf bezi biyopsileri yapmaktadırlar. Ayrıca, yalnızca dondurma işlemi uygulanmış olan allogreftlerde HIV bulunma olasılığı 8 milyonda 1 dir. HCl ile demineralizasyon işlemi HIV'i inaktive etmektedir. Allogreft hazırlanmasındaki standart işlemler kabaca şöyle sıralanabilir (39):

1. Ölümden sonraki 12 saat içinde kemik steril koşullarda alınır.
2. Kemik 0,5-5 mm lik parçalara ayrıldıktan sonra % 100 lük etanol içinde 1 saat bekletilir. Etanol kortikal kemiğe tümüyle penetre olur (% 100 lük etanol içinde 1 dakika bekletildikten sonra viral enfeksiyonlar saptanmamaktadır).
3. Kemik dondurulur, hastalık transferi riski azaltılır.
4. Kortikal kemik, periodontal defektler için uygun partikül büyüklüğüne getirilir.
5. Greft tekrar etanol içine konulur.
6. Greft demineralize edilir veya edilmez.
7. Greft dondurularak kurutulur.

Bu işlem uzun süre saklanabilmesine izin verir. Ayrıca antijenik özelliğini daha da azaltır. Dondurarak kurutma, allogreftlerin antijenik özelliklerini tümüyle yok etmez, minimize eder. DDKKA' leri ile elde edilen sonuçlar farklılıklar göstermektedir. Bunun en önemli nedenlerinden biri üretilen DDKKA'lerin birbirlerinden farklı özelliklerde olmasındandır. Ticari kemik bankaları ürettikleri her bir greftteki BMP miktarını veya greftin osteoindüktif kapasite düzeyini standardize edememektedirler. Greftin elde edildiği kadavranın yaşı, cinsiyeti, geçirmiş olduğu hastalıklar, kullanmış olduğu ilaçlar, genetik özellikleri, ölümden sonra geçen süre ve saklanma koşulları ile doku bankasının greft üretim protokolü gibi birçok faktör, greftin

kalitesini etkilemektedir. Greftlerdeki BMP miktarı da önemlidir. Vericideki BMP miktarı minimal 2µg/40mg yaş ağırlık, optimal 10µg olmalıdır (39).

Dondurulmuş veya dondurulmuş kurutulmuş farklı oral cerrahi uygulamaları için hazırlanmış allojenik kemikler, değişik anatomik şekillerde kullanıma sunulur. Kansellöz iliak kemik, kemik içi defektlerde kullanılmak üzere yaklaşık 2–10 mm çapta parçacıklara ayrılır. Küçük kansellöz parçacıklar periapikal alanlarda küretaj sonrasında, sınırlı alveoler kenar düzeltmelerinde kullanılırlar (34,39).

Alloplastik kemik materyalleri (hidroksilapatit, β- trikalsiyumfosfat vb) ve kemik allogreftlerinin sadece osteokondüktif etki göstermeleri, otojen kemik greftlerinin ise verici bölgede postoperatif komplikasyonlara sebep olması araştırmacıları hem osteoindüktif hem de osteokondüktif karakterli, allojenik, düşük antijenik özelliklere sahip kemik grefti elde etmeye yönlendirmiştir. Bu amaçla, otolize, antijeni çıkartılmış (deantijenize) allojenik kemik ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. İnsan allojenik kemiğinin, hazırlanması sırasında kemik matriksi içerisindeki mikroorganizmaların tamamen zarar görmesinden dolayı, HIV dahil enfeksiyöz hastalıkların taşınmaması konusunda güvenilir olduğu bildirilmiştir. Liyofilize ve steril insan allojenik kemiği parça veya toz formlarda kullanıma sunulmuştur. Bu kemiğin granül formları, kemik kavitelerinin doldurulması için önerilmektedir (28,39).

Allojen kemik greftlerinin; donör sahanın eliminasyonu, anestezi ve operasyon süresi ile kan kaybının azalması ve düşük seviyede komplikasyonlar gibi pek çok avantajı vardır (28).

Dezavantajı ise başka bir kişiden dokunun alınmasıdır. Bu nedenle donör kişilerin; infeksiyon, malign neoplazma, dejeneratif kemik hastalıkları, hepatit B, C ve AIDS gibi bulaşıcı hastalıkları olup olmadığı tıbbi anamnez ile çok iyi bir şekilde araştırılmalı, bununla birlikte bazı hastalıkların kemik kalitesini yakından ilgilendirdiği unutulmamalıdır (26).

### **c) Heterojen Kemik Grefti (Heterogreft, Ksenogreft )**

Farklı bir türde vericiden alınan greftlere denir. Heterojen greft ismi de kullanılabilir. Tespit edilen ilk transplantasyon işlemi, 1668' de Jobi Van Meekren tarafından uygulanan ksenogreftir. (49)

İnsanlarda heterojen kemik grefti uygulamaları, 17. yüzyıldan beri var olmasının yanısıra, maksillofasiyal bölgede kullanımı sık olmamakla birlikte yenidir. Heterojen kemik greftleri çenelerdeki küçük defektleri doldurmak için önerilmiş ve birçok klinisyen bu greftlerin osteojenik potansiyel sağlamadıklarını, bunun yerine kemik oluşumu için matriks oluşturduklarını belirtmişlerdir. Kabul edilmeme veya çeşitli başarısızlıklardan dolayı uzun ömürlü kullanıma sahip olmayan ksenogreftler, olabilecek immünolojik komplikasyonlardan dolayı insanlarda kullanım için pek uygun değildirler (59).

Bazı organik çözücüler ile hazırlanan ve bu sırada immünojenitesinin çoğunu kaybeden dana kemiği, en genel ksenojen greft kaynağıdır. Bu kemik etilen diamin' de 24 saat bekletilip organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra kalsiyum matriks sterilize edilerek, greft kullanıma hazır hale getirilir. Bu şekilde hazırlanan greft, alıcıda herhangi bir immun reaksiyona neden olmaz. Anorganik dana kemiği ile yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği ancak, posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde ise yetersiz kaldığı görülmüştür (58).

### **I- Demineralize Edilmiş Kemik**

Kemikte var olan minerallerin, demineralize edilmesi ile elde edilir. Kemiğin demineralizasyonu ile kemik matriksinde mevcut olan nonkollajen proteinler ortaya çıkar. Kemik demineralizasyonu düşük derecede sınırlı tutulan nonkollajen proteinlerin geniş fraksiyonları osteoindüksiyon potansiyeline sahiptir (58).

Kuvvetin gelmediği küçük greft alanlarında ve üç duvarlı defektlerde kullanımı başarılıdır. Daha güçlü materyallerle kullanımı uygundur. Yönlendirilmiş doku membranları ile uygulanabilmektedir (58).

### **II- Proteini Çıkarılmış Kemik**

İnorganik ve proteinsiz kemik, kemiğin organik kısmının çıkarıldığı sadece doğal kalsiyum fosfat materyalinin bırakıldığı materyaldir. Bu materyal doymamış kalsiyum apatit kristallerinden oluşur. (58).

Bu materyal, osteoblastlar tarafından yapılan rejenerasyonlara maruz kalarak onarım sağlar. Klinik araştırmalarda yalnız kemik ve otojen kemikle

birleşiminde başarılı sonuçlar alınmıştır. Kistik kaviteelerde, alveol sırtı agumentasyonunda ve implant yerleştirmek için çıkarılan alanlarda kullanılmıştır. Sinüs lifting ameliyatlarında demineralize kemik kullanımı şekil verilemeyen biyomateryallere göre daha sıktır (36,58).

#### **2.2.2.7.2. Kemik Kaynaklı Olmayan Biyomateryaller (Alloplastlar)**

Alloplastik materyaller sentetik, inorganik, biyoyumlu, biyoaktif ve osteokondüktif greft materyalleridir (36,38). En sık kullanılan alloplastik materyaller; biyoseramikler, polimerler ve biyoaktif camlardır (36).

##### **a) Biyoseramikler**

Hidroksilapatit tozlarının yüksek ısı ve basınç altında birbirleriyle kaynaştırılması (sinterizasyon) ile elde edilirler. Kalsiyum fosfat greft maddeleri olarak da adlandırılırlar. Esasen porsuz olan bu maddeler daha sonra bazı kimyasal işlemlerle porlu hale getirilirler. Ancak bu porlar, kalsiyum karbonat greft materyallerinde olduğu gibi, birbirleriyle bağlantılı değildir (39).

Bilindiği gibi, kalsiyum ve fosfor mineralleri, kemik ve dişlerin inorganik yapısında yer alan esas elementlerdir. Kalsiyum fosfat greft materyallerinin doku uyumu mükemmeldir, herhangi bir iltihabi ve yabancı cisim reaksiyonuna neden olmazlar. Kalsiyum karbonatlar gibi osteokondüktif etki gösterirler, osteoindüktif etkileri yoktur (35).

Trikalsiyum fosfatlar ile hidroksilapatitler arasındaki fark, içerdikleri kalsiyumun fosfata oranıdır. Hidroksilapatit greft materyallerinde, kalsiyumun fosfata oranı 1:67 dir. Rezorbe olan ve olmayan tipleri vardır. Trikalsiyum fosfat greft materyallerinde ise, kalsiyumun fosfata oranı 1:5 tir ve bu greft materyalleri rezorbe olurlar (35).

##### **b) Biyoaktif Camlar**

Biyoaktif camlar esas olarak silikon dioksit, sodyum oksit, kalsiyum oksit ve fosfor oksitten ibarettir. Doku sıvılarıyla karşılaştıklarında meydana gelen yüzey reaksiyonları, "hidroxy-carbonate apatite" tabakası oluşumunu sağlar. Greft parçacıklarının bu tabakayla kaplanması, uygulamadan sonraki birkaç saat içinde gerçekleşir. Bu kalsiyum fosfattan zengin tabaka, osteoblastlar

tarafından mineralize ekstrasellüler matriks oluşturmak için kullanılan proteinlerin absorpsiyon ve konsantrasyonunu artırır. Bu biyoaktif özelliklerin osteogenezisi yönlendirip artırarak, hızlı yeni kemik oluşumuna neden olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, alıcı bölgede oluşan yeni kemikle doğrudan bir bağlantı sağladıkları da ifade edilmektedir (35).

#### **b) Polimerler:**

HTR (Hard Tissue Replacement) günümüzde kullanılan tek polimer esaslı greft maddesidir. Polimetilmetakrilat, polihidroksietilmetakrilat ve kalsiyum hidroksitten meydana gelen, rezorbe olmayan, doku uyumlu, mikroporöz bir greft maddesidir (35).

Alveol kemiği ile yakın temasta olduğunda yeni kemik oluşumu için bir yapı iskelesi görevi görür, osteokondüktif etki gösterir ve rezorbe olmaz. Partiküllerin negatif yüzey enerji ile yüklü olması kemiğe yakınlaşmalarını sağlarken, hidrofilik özelliği pıhtı oluşumunu kolaylaştırır (39).

Alloplastik materyallerin avantajları ve dezavantajları şunlardır; Kolaylıkla uygulanırlar. İkinci bir operasyon gerektirmediği için hem operasyon süresi kısadır, hem de ikinci bir cerrahi alan oluşmaz. İstenilen boyutta ve şekilde ticari formları bulunmaktadır. Yabancı vücut ve inflamasyon reaksiyonlarına neden olabilir. Reaksiyon oranı, otojen materyallerden daha çoktur. İnflamasyon alanında kemiğin rezorbe olma olasılığı vardır ve doku kılıfının yeterli nitelik ve nicelikte olması gerekmektedir (39).

#### **2.2.2.8. Biyomateryallerin Klinik Uygulamaları**

Deformitelerin düzeltilmesinde ve ogmantasyonlarda dikkat edilmesi gereken ilk konu, implante edilecek materyallerin üzerini tam ve gerilimsiz örtbilecek epitelin varlığıdır. Deformitenin yaygın, doku kayıplarının büyük olduğu hallerde biyomateryalin uygulanmasından önce cilt ve yumuşak doku transplantasyonu gerekebilir. Eğer kemik dokusundaki defekt çok genişse mutlaka greft düşünülmeli ve alıcı bölgedeki fonksiyonel stres dikkate alınmalıdır (26).

Her cerrah hazırlanan plan doğrultusunda kullanacağı tekniği, biyomateryali belirlemeli ve model üzerinde uygulamalıdır. Ameliyat

sırasında mümkün olduğu kadar atravmatik çalışılmalı, kullanılan materyalin defekt kontürlerine uygunluğu, stabilizasyonu, hastanın estetiği düşünülmesi ve ameliyat sırasında biyomateryalde yapılacak şekillenmelerde uygun aletler kullanılmalı, materyal keskin veya düzensiz kenarlar oluşturmayacak şekilde manüple edilmelidir. Stabilizasyon; dikiş, tel ve vidalarla sağlanır. İnsizyonun iyi kapatılması, postoperatif dönemde önemlidir. Ameliyat sonrası uygun antibiyotiklerle hasta postoperatif bakıma alınır. Operasyonun ve ogmentasyonlarının her safhasının dikkatle değerlendirilmesi, sonuçta başarıyı getirir (26).

#### **2.2.2.9. Biyomateryallere Karşı Gelişen Biyolojik Reaksiyonlar**

Biyomateryalin vücut ortamına yerleştirilmesi ile birlikte, her cerrahi girişim sonrasında görüldüğü gibi akut enflamasyon belirtileri başlar. Erken dönemde biyomateryal çevresinde; histiositler, polimorfonükleer lökositler ve makrofajlar görülür. Daha sonra fibrositler ortama hakim olur ve kollajen salgırlar. Normal yara iyileşmesinden farklı olmayan bu durum makrofajların artması ile reaksiyonu problemlili hale getirir. Vücut kendini bir yabancı cisme karşı immün sistem ile korur (26).

Bilindiği gibi immün sistemin önemli fonksiyonlarından biri de fagositozdur. Bu işlev, makrofajlardan ve bunlardan gelişerek vücudun çeşitli doku ve organlarında yerleşen hücrelerle sağlanır. Örneğin, karaciğerde Kupfer hücreleri, bağ dokusu histiositleri, kemikte osteoklastlar, inflamasyonda yabancı cisim dev hücreleri gibi, implante edilen materyale karşı oluşan cevap nonimmünojeniktir ve lenforetiküler sistem dışında gelişir. Bir başka ifade ile, biyomateryallerin doku içine yerleştirilmeleri ile T lenfositler değil, makrofajlar aktive olurlar. Bu hücrelerin ilgili yüzeye adezyonu tamamı ile rastlantıdır. Tam olarak bu mekanizma açıklanamamış olmakla beraber, hidrofobik materyallerin makrofajlara kolayca adezyon gösterdikleri bildirilmiştir. Makrofajlarla kontakt oluşturduktan sonra serbestlenen enflamasyon mediatörleri, lokal reaksiyonu başlatır. Ancak genel olarak küçük polimerlerin makrofajlar tarafından fagosite edildiği, daha büyük parçaların ise dev hücreleri uyardığı düşünülmektedir (26).

Ağız cerrahisinde çalışılan doku genellikle kemik dokusu olduğundan, cerrahi girişim sırasında meydana gelen kemik defektleri ve kan pıhtısı akut

enflamasyonu başlatır. Osteoklastların ve makrofajların, ortak hücrelerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu hücreler kollagenaz, lizozomal enzimler ve prostoglandinleri salgılayarak rezorbsiyon sağlarlar. İyileşme döneminde ise, fibroblast ve osteoklastlar tarafından tamir süreci başlatılır. Bu iyileşme süreci tamamlanamadığında materyal bir kuvvetle karşılaşır, immobilize edilmemiş kemikte görülen iyileşme meydana gelir ve relatif mobilizasyon sonucu fraktür alanında fibrinoid birikir. Fibrinoid bilindiği gibi, asellüler, kollajen ve esas maddeden meydana gelir. Böylece defektli alanda normal iyileşme ve mineral yerine fibröz doku gelişir. Fibröz dokunun oluşması, relatif bir hareketlilik sağlar ve kemikte rezorbsiyon başlar. Bu rezorbsiyonun oluşumu, üç nedene bağlanabilir. Bunlar;

- Çevre kemiklerde mikrofraktürler,
- Gerilim kuvveti ve
- Makrofajlardır.

Kısaca, doku ile materyal arasındaki alanda sellüler aktiviteyi başlatan yani, mikroskobik düzeyde direkt hücre-materyal bağlantısının sağlanmasında tetikleyici olay, yüklenme ve materyalin immobilizasyonudur. Biyomekanik olarak materyal-hücre bağlantısı, materyalin içinde bulunduğu ortamdan kaynaklanan aminoasit adezyonu ile sağlanır. Proteinler yüzeylere yapışma eğilimindedir ancak, bu yapışma irregüler karakterli olup, materyalin yüzey özellikleri, kimyasal kompozisyonu ve serbest yüzey enerjisi gibi parametrelerle belirlenir (26).

Doku içine yerleştirilen biyomateryallere karşı gelişen reaksiyonlar bazı kriterlere bağlıdır. Bunlar:

**1.** Biyomateryaller biyolojik uyumluluğu olan materyaller olmakla beraber, bazıları inert bazıları ise reaktiftir. Bu reaktivitenin esasları şunlardır:

- a. Doku sıvıları ile biyomateryal arasındaki elektron değişimi.
- b. Moleküllerin elektriksel olarak kutuplaşması ile biyomateryal yüzeyinde oluşan yapışma ve
- c. Materyalden çevreye iyon serbestlenmesidir.

2. Yerleştirilen materyalin formu (poröz, solid, ağ şeklinde, vs.),
3. Materyalin yüzey özellikleri
4. Dokunun sağlıklı olması
5. Cerrahi teknik
6. Biyomateryal üzerine gelecek yükün zamanı ve miktarı.

Sonuç olarak; hangi tür greft materyali uygulanırsa uygulansın elde edilecek sonuçları önceden tahmin etmek mümkün değildir. Zira bu konuda birçok faktörün etkisi söz konusudur. Hasta seçimi, kemik defektinin morfolojisi, greftin tipi, dokunun iyileşme potansiyeli ve hastada plak kontrolünün çok iyi yapılması gibi faktörlerin sonuçlar üzerine etkisi büyüktür (26).

### **2.2.3. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR)**

Oral ve maksillofasiyal cerrahide özellikle geniş rekonstrüktif cerrahi içeren olgularda fibröz iyileşme, istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkmakta ve osteogenezisi lokal olarak stimüle etmek amacıyla geliştirilen yöntemlerle her zaman istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Son yıllarda bu klinik başarısızlıkları önlemek için, Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR) prensibi geliştirilmiştir (61).

YDR, özellikle periodontal defektlerin tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Bariyer materyalin defekt üzerine yerleştirilmesi ile dişeti bağ dokusu hücrelerinin içeri göçünü engelleyerek periodontal ligamentten organize olan hücrelerin gelişmesine yardımcı olur (62,63).

Defekt alanlarına, bağ dokusu ile epitel hücrelerinin göçünü engellemek amacı ile yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensibinden yola çıkılarak, bariyer membranları kullanılmaktadır. Bu membranlar, bazı olgularda greft materyalleri ile birlikte de uygulanmaktadır. Membranlar ile allogreft veya alloplastik greft materyallerinin birlikte kullanılmasına “Kombine Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Tekniği” adı verilmiştir (26).

1959 yılında kemik defektlerinin üzerine membran bariyer yerleştirilerek yeni kemik rejenerasyonu oluşturma çalışmaları yapılmış, bu tekniğe Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR) tanımı yapılmıştır. Bir membran



bariyeri ile fibroblastları defektten uzak tutarak osteoblastların defekt içindeki kemik iyileşmesini organize etmesine olanak tanıyan YKR tekniği, uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulmuş olup, çoğu merkezde başarıyla kullanılmaktadır (61). Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu teknikte kullanılan membranların rezorbe olanlar ve olmayanlar olarak gruplandırıldığı görülmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, daha biyouyumlu olmasının yanısıra, iyileşme sürecinde defekt boşluğunu koruyacak kapasitesinin olması, bariyer ile defekte komşu kemik yüzeyi arasına yumuşak doku büyümesini engelleyecek periferel sızdırmazlık sağlaması ve klinik olarak kolay kullanılabilir olması özelliklerini bünyesinde barındıran rezorbe olabilen materyaller ve özellikle kollajen membranlar üzerinde yoğunlaşmıştır (61). Bu teknikte amaç, bariyer membranların iyileşme bölgesine yerleştirilmesi ile rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin defekt bölgesine proliferasyonu sağlanarak, doku iyileşmesini elde etmektir.

Membranların diğer önemli bir rolü de, defekt üzerinde bir çatı oluşturarak, alttaki pıhtının, defektin tabanındaki hücrelerin ve kan damarlarının gelişimi için bir iskelet oluşturmasına olanak sağlamasıdır (26).

Son yıllarda bu teknik klinik olarak; augmentasyonlarda ve implantın çevresinde kemik rejenerasyonu için kullanılmaktadır. Ayrıca bu yöntem; tümör ve kistlerin oluşturduğu kemik defektlerinde; kraniyal ve maksillofasiyal konturların düzeltilmesinde, dehisens ve fenestrasyon oluşmuş implantlarda kemiğin yeniden elde edilmesinde, atrofik alveolün yeniden yapılanması ile sabit ve hareketli protezlerin sert doku desteğini arttırmada ve doku estetiğini sağlamada da kullanılmaktadır (64,65).

Periodontal cerrahide ise bu teknik, kök yüzeyinde epitel ve dişeti hücrelerinin gelişimi yerine periodontal bağ dokusu büyümesinin sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknik aynı zamanda kemik içi alloplastik implant etrafında daha iyi bir ossöz doku oluşturmada, implant etrafında fibröz kapsül gelişimini önlemekte ve klinik tedaviyi zorlaştıran primer rezorbsiyonun oluştuğu yerde ilave kemik dokusu meydana getirmektedir (66).

Maksillofasiyal cerrahide özellikle geniş rekonstrüktif cerrahiyi de içine alan operasyonlarda, fibröz dokunun neden olduğu kaynamama (non-union)

istenmeyen bir sonuçtur. Kaynaşmanın olmaması, fibroblastik hücrelerin pıhtıda ossöz hücrelerden daha önce organize olması ile meydana gelmektedir. Bu durum, fibroblastların osteoblastlara göre migrasyon hızının daha fazla olması şeklinde açıklanmıştır. YDR ise, fibroblastların pıhtıda organize olmasını engelleyip, migrasyon hızı daha yavaş olan osteoblastların organizasyonuna olanak sağlayarak ossöz bir iyileşmeyi oluşturur (67).

YDR bariyeri olarak kullanılan nonrezorbe membranlar da bu amaçla kullanılırlar, ancak rezorbsiyon oluşmadığı için iyileşme tamamlandıktan sonra cerrahi olarak çıkarılmaları gerekmektedir. Rezorbe olabilen membran kullanmak; doku sıvısı geçişine izin verip arzu edilmeyen hücrelerin pıhtıya geçişini engellemesi ve cerrahi olarak çıkarılmasının gerekmemesi açısından nonrezorbe membranlara göre daha avantajlıdır (66).

Rezorbe olabilen membranların, kemik oluşumu süresince fiziksel bariyer özelliğini koruması ve osteoblastlara sağladığı boşluğu muhafaza etmesi istenilen özelliklerdendir (63).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, uzun yıllar rezorbe olmayan politetrafloroetilen (PTFE) yapısında sentetik membranlar kullanılmıştır. Bu membranlar, günümüzde de yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda en sık kullanılan materyallerdir. Yapılan birçok çalışmada bu tip membranların, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. Rezorbe olmayan bu membranların; yumuşak dokularda açılmaların meydana gelmesi, membranların kollabe olması, enfeksiyon riski ve bunlara bağlı oluşan kemik rezorbsiyonları gibi çeşitli dezavantajlarının olduğu literatürde vurgulanmaktadır. Bu tip membranların ayrıca ikinci bir cerrahi işlem ile çıkartılmaları gerekmekte ve bu işlem de kemik kaybı ile sonuçlanabilmektedir (67).

Membran tekniğinde kullanılan non-rezorbe materyallerin dezavantajları göz önünde bulundurularak, rezorbe olabilen, biyouyumlu membran arayışları başlamıştır. Bu amaçla yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda; kollajen yapılı membranlar, oksidize sellüloz, dondurulmuş kurutulmuş dura mater ve glikolid ile laktinin sentetik kopolimerleri ve poliglaktine gibi non-kollajenöz yapıdaki membranlar kullanılmaktadır (67).

#### Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunun Amacı;

- Kemik iyileşmesini arttırmak,
- Kemiğin yeniden şekillenmesini sağlamak,
- Kemik grefti uygulamalarının başarılı sonuçlarını arttırmak,
- Yeni kemik oluşumunu meydana getirmek ve
- Yumuşak dokunun kemik dejenerasyonu olacak bölgeye doğru büyümesini engellemektir (26).

#### Membranın görevleri;

- Defekt alanı yumuşak dokudan tamamen korunur.
- Osteojenik güce sahip hücrelerin defekt içlerine dolması sağlanır.
- Yeni oluşan kemik sınırları belirlenir ve iskeletsel kontürün elde edilmesini sağlar.
- İmplant ve kemik defekti yüzeyinden dişeti dokularını ayırmak için kullanılan bir fiziksel bariyer görevi yaparak, boşluğun korunmasını sağlar ve bu boşluğun kemik hücreleri ile doldurulmasını temin eder.
- İkinci bir flep gibi rol oynayarak, boşluktaki pıhtının korunmasını ve yaranın stabil kalarak iyileşmesini sağlar.
- Flep üzerine gelecek olan mekanik streslerden pıhtıyı koruyarak stabil kalmasını sağlar (26).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kullanılacak membranda aranılan özellikler;

- \* Uygulaması kolay olmalı,
  - \* Epitel ve bağ dokusu hücreleri için engelleyici olmalı,
  - \* İyileşme sırasında stabilitesini koruyabilmeli,
  - \* Biyoyumlu olmalı,
  - \* Steril olmalı,
  - \* Defekt alanının içine doğru çökmemeli ve doku içerisinde kalması isteniyorsa ekspoze olmamalı,
  - \* Üzerinde bakteri retansiyonu için uygun bir yapısı olmamalıdır (26).
- Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniğinde kullanılan farklı tipteki membranlar 3 ana grupta klasifiye edilmektedir (26).

## **A- Non Rezorbe Bariyer Membranları**

### **1- Filtreler**

- Milipore
- Nükleopore
- Biopore filtre

### **2- Silikon Esaslı Olanlar**

- Sartorius
- Emflon
- Zitex

### **3- Genişletilmiş Politetrafluoroetilen (ePTFE)**

- Gore-Tex (ePTFE)
- Titanyum ile desteklenmiş Gore-Tex

### **4- Yüksek Yoğunluklu**

- Politetrafluoroetilen (nPTFE)
- Teflon
- FD, Cytoplast

## **B- Rezorbe Olabilen Bariyer Membranları**

### **1- Polilaktik Asit Esaslılar**

- Polyglactin 910 (Vicryl)
- Vicryl-kollajen karışımı

### **2- Polilaktik Asit-Sitrik Asit Esteri Esaslılar**

- Guidor

### **3- Laktik-Glusalit Ko-Polimer Esaslılar**

- Resolut

### **4- Poliüretan Esaslılar**

### **5- Polilaktit Esaslılar**

- Poliglikolit

## **6- Polikaprolakton Esaslılar**

## **7- Okside Edilmiş Selüloz Esaslılar**

- Oxidized Cellulose Mesh

## **8- Sternum ve Sternuma Bağlı Kostalar Arası Kıkırdak**

## **9- Öküz bağırsağı**

- Cargile

## **10- Dondurulmuş-Kurutulmuş Dura Mater**

- Dura Mater

## **11- Kollajenler**

- a) Sığır Derisi Tip 1 Kollajeni
- b) Sığır Achilles Tendon Tip-1 Kollajeni - Biomend
- c) Fare Kuyruğu Tip-1 Kollajeni
- d) İnsan Tip-I Kollajeni

## **C- Hastanın Kendi Dokuları**

- Otojen Periostal Membran
- Otojen Bağ Dokusu
- Trombositten Zengin Fibrin membranı (TZF)

Otogreft ve diğer greftlerin dezavantajları gözönüne alındığında iyileşme döneminde görev alan bazı büyüme faktörlerinin greftlerle karıştırılarak kullanılması son dönemde gündeme gelmiştir. Bu yöntemle iyileşme sürecinin hızlandığı ve daha yoğun kemik rejenerasyonunun sağlandığı rapor edilmiştir. Trombositten zengin plazma ve trombositten zengin fibrin bu büyüme faktörlerini taşıyan yapılar olup, son yıllarda kullanımları yaygınlaşmıştır (58).

### **2.2.3.4.Trombositten zengin plazma (TZP)**

Trombositler, hem pıhtı formasyonundaki rolleri, hem de yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerini salgılamalarıyla, yara iyileşmesinde primer rol oynarlar (68).

Otojen elde edilen **trombositten zengin plazma** (TZP) kullanımının temel mantığı, yara bölgesindeki trombosit sayısını arttırmak ve böylece trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin lokal konsantrasyonunu yükseltmektir (69,70,71).

Yara iyileşmesinde kemik rejenerasyonunun başlangıcını hızlandırmak ve yeni kemiğin kalite ve kantitesini arttırmak hedeflenir (71). TZP'nin sahip olduğu yüksek fibrin içeriği nedeniyle "yapışkan" olmasından dolayı, hemostatik ve stabilizasyon ajanı olarak da rol aldığı ve defekt bölgesinde pıhtı formasyonu ile kemik greftinin immobilizasyonuna yardımcı olduğu bildirilmiştir (72,73,74). Bu biyolojik yapıştırıcı özelliği ile yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda adeta bir membran gibi, epitelin apikale göçünü engelleme potansiyeli olabileceği ileri sürülmüştür (75,76).

Martinez-Gonzales ve arkadaşları prekanseröz lezyonların varlığı ve karsinojenlere maruz kalma hikayesi ya da şüphesi olan bireylerde, TZP içerisindeki büyüme faktörlerinin kanserojenik hücre aktivitesini tetikleyebileceğinden dolayı, TZP uygulamasının tercih edilmemesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir (77). TZP, otojen elde edildiği için, hastalık geçişi veya immun reaksiyon oluşturma riski yönünden avantajlıdır (76,78). TZP uygulamalarında enfeksiyon veya hastalık geçişi gibi yan etkilerin görüldüğüne dair bir çalışma, literatür bilgilerimiz dahilinde bulunmamaktadır. TZP'nin hazırlanması sırasında farklılıklar dikkati çekmektedir. Hastadan alınan kana ilave edilen antikoagülan sitrat bileşiklerinin etkisini inhibe etmek için, TZP'ye kalsiyum bileşiklerinin ilave edildiği (71,74,76,79,80), bazı çalışmalarda ise böyle bir uygulama yapılmadığı (75,81,82,83) görülmüştür. Ancak, kalsiyum bileşiklerinin kullanılması ya da kullanılmaması arasındaki farkı ortaya koyan kanıtlara ya da ortak kabul görmüş bir yaklaşıma rastlanamamıştır. Hazırlanan TZP'ye trombositlerin aktivasyonu amacıyla, Tisseel fibrin (73), ITA jel (82), sığır trombin (71,74,80,84,85) veya otojen trombin (8,15,18) gibi farklı preparatların ilave edildiği görülmektedir. Ancak, sığır trombin kullanımının trombin, pıhtılaşma faktörü V ve XI' e karşı antikor oluşumu sonucu koagülopatilere yol açabileceği de iddia edilmiştir. (81,86,87)

Ticari trombin preparatlarının, hastalık transmisyonu ve immunolojik reaksiyonlar açısından TZP'nin güvenilirliğini azaltacağı düşüncesiyle otojen

trombin kullanımı savunulmaktadır. (75,82,84) Trombositlerde bulunan ve dolayısıyla TZP içeriğinde saptanmış başlıca büyüme faktörleri trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor, PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (transforming growth factor-beta, TGF-  $\beta$ ), insülin benzeri büyüme faktörü (insulin like growth factor, IGF), endotelial büyüme faktörü (endotelial growth factor, EGF) , fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) ve damarsal endotelial büyüme faktörü (vascular endotelial growth factor, VEGF'dir (71,78,81,88,89 ). Bunlar arasında PDGF ve TGF-  $\beta$  predominant büyüme faktörleridir (71).

Mitogenez, anjiyogenez ve makrofaj aktivasyonunun düzenlenmesinde PDGF'in; osteoblastogenezin ve osteoblastlardan kollajen matrix salınımının stimülasyonu, osteoklastogenezin düzenlenmesinde TGF-  $\beta$ 'nın önemli rol oynadığı bilinmektedir (71). IGF ve FGF'de osteoblast proliferasyonunu stimüle etmektedir (71,78,90). PDGF, TGF ve IGF'nin kombine uygulamalarında, tek tek uygulanmalarına kıyasla daha olumlu sonuçlar görülmüştür (91,92).

Kültüre edilmiş yetişkin insan osteoblastlarında maksimum proliferasyonun PDGF, IGF-1, TGF-  $\beta$  ve EGF kombinasyonu ile elde edildiği bildirilmiştir (93).

#### **2.3.4.1 TZP İçerisindeki Trombosit ve Büyüme Faktörü Konsantrasyonu**

Sağlıklı bireylerde periferal kanda trombosit sayıları 150.000-400.000/ $\mu$ l (1,5-4 x 10<sup>8</sup>/ml kan) olarak bilinmektedir (77). TZP hazırlanmasıyla % 300-700 oranında trombosit zenginleştirilmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir (81). TZP uygulamasının, bölgedeki trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin toplam konsantrasyonunu % 338'e kadar arttırılabildiği bildirilmiştir (71).

Tsay ve ark., ELISA yöntemi ile TZP içerisindeki büyüme faktörlerini incelediklerinde periferal kana göre, PDGF oranınının 30 kat, TGF-  $\beta$ 'nin ise 7 kat arttığını bildirmişlerdir (87). Ancak TZP' nin büyüme faktörü içeriği ile venöz kan veya TZP' deki trombosit miktarı arasında bir korelasyon bulunamamıştır (83,89). Weibrich ve ark., sistemik sağlıklı bireylerde ne venöz kan örneğinde, ne de bu örnekten hazırlanan TZP' de yapılan trombosit sayımlarının, TZP içindeki büyüme faktörü miktarını tahmin etmede kullanılamayacağını bildirmişlerdir (89). Yaş veya cinsiyet ile trombosit ve büyüme faktörü miktarları arasında bir ilişki saptanamamış ve

bu nedenle henüz tanımlanamamış başka faktörlere bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (83).

#### **2.3.4.2. TZP' nin Saklama ve Etki Süresi**

TZP içindeki PDGF ve TGF-  $\beta$ ' nin venöz kan alımını takiben, 4 saat ile 3 gün arasında, hücre büyümesini stimüle edici etkilerinin giderek azaldığı bildirilmiştir (94). Trombositlerin agregasyon cevaplarında da belirgin düşüş rapor edilmiştir (95). Hatakeyama ve arkadaşları materyal kontaminasyonu ve hastalık taşıyıcılığı risklerini düşük tutmak açısından da gunluğu ve yeni kemik matriksi alanı açısından 15 gün sonra gruplar arasında fark bulamadıklarını bildirmişlerdir (96).

Jakse ve arkadaşları koyunlarda sinus tabanı elevasyonunda otojen kemik ile TZP/otojen kemik kombinasyonunu 4. ve 12. haftalarda histomorfometrik olarak inceleyen çalışmalarında, TZP ilavesi ile %3-4'lük yeni kemik artışı saptamışlar, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ve TZP' nin otojen kemiğin rejeneratif potansiyelini arttırmada etkisinin düşük olduğunu ileri sürmüşlerdir (70).

Butterfield ve arkadaşları da, tavşanlarda bilateral sinüs tabanı elevasyonu çalışmalarında, otojen kemik greftleriyle elde edilen sonuçlara TZP katkısının istatistiksel olarak önemsenecek düzeyde olmadığını bildirmişlerdir (97).

#### **2.2.3.4.3. TZP ile Ksenogreft ve Alloplastik Kemik Grefti Uygulamaları**

TZP etkisinin vital hücreler üzerine olduğunu savunan Marx, TZP'nin hücrel olmayan greft materyalleri ile birlikte uygulandığı zaman etkisiz olabileceğini ileri sürmüştür (98).

Aghaloo ve arkadaşları deneysel tavşan çalışmalarında, Bio- Oss, TZP/Bio-Oss ve otojen kemik uygulamışlar ve son bölgeyi kontrol olarak boş bırakarak 1., 2. ve 4. aylarda histomorfometrik olarak TZP ilavesinin kemik formasyonu yüzdesini artırdığını, ancak yine de otojen kemiğin bütün gruplara karşı üstünlüğünü koruduğunu göstermişlerdir (99). Fürst ve arkadaşları ise mini-domuzlar üzerinde Bio-Oss ve TZP/Bio-Oss kullanarak, bilateral sinüs tabanı elevasyonu sırasında dental implant yerleştirmişlerdir. 3., 6. ve 12. haftalarda yaptıkları bilgisayarlı tomografi incelemelerinde, implant greft kontakt yüzdesinde ve greft uygulanmış kemik ile implant



arasındaki kontakta artış gözlemişler; ancak TZP' nin istatistiksel olarak önemli bir katkısını saptayamamışlardır (100).

Kim ve arkadaşları köpeklerde implant çevresindeki kemik defektlerinde, Paris alçısı ile TZP/Paris alçısı uygulamışlar, 6. ve 12. haftalarda histolojik ve histomorfometrik olarak kemik dolumu ve osseointegrasyon açısından, kombinasyon grubunun istatistiksel üstün sonuçlarını bildirmişlerdir (101).

Kovacs ve arkadaşları ise, köpeklerde oluşturulan mandibular defektlerde,  $\beta$ -TCP alloplastik kemik greftini tek başına ve TZP ile birlikte uygulamışlar ve yeni oluşan kemiğin kalitesini histolojik ve histomorfometrik metodlarla 6. ve 12. haftalarda incelemişlerdir. Araştırmacılar TZP ilavesi ile istatistiksel anlamlı daha hızlı kemik transformasyonu sağladıklarını bildirmişlerdir (102). Aynı grup tarafından 2005 yılında yayınlanan benzer çalışmada da, TZP/ $\beta$ -TCP kombinasyonu ile elde edilen kemik formasyonunun, 6 ve 12. haftalarda,  $\beta$ -TCP'a üstün olduğu ve kalite olarak otojen kemik ile benzerlik taşıdığı, kemik yoğunluğu ölçümleri ve histomorfometrik verilerin istatistiksel analizleriyle gösterilmiştir (103).

Bu sonuçlardan farklı olarak, 2008 yılında Tamura ve arkadaşları tavşan kalvaryaya modelinde venöz kan ya da TZP ile ıslatılmış  $\beta$ -TCP blokların uygulandığı gruplar arasında 3. ay sonunda kemik mineralizasyonu açısından fark bulamadıklarını bildirmişlerdir (104).

Wiltfang ve arkadaşları 2003 yılında, maksiller sinüs elevasyonunda TZP/ $\beta$ -TCP uygulayarak, 6 ay sonunda implant yerleştirilmesi sırasında trephine frezlerle bölgeden aldıkları örnekleri histomorfometrik değerlendirdikleri klinik çalışmalarında, TZP ilavesi ile % 8-10 oranında daha fazla kemik oluşumu saptadıklarını bildirmişlerdir (105).

Demiralp ve arkadaşları da olgu raporlarında, devital bir dişteki periapikal kemik içi defekte TZP/ $\beta$ -TCP uygulayarak 1 yıllık süreçte klinik olarak gözlemlemişler ve TZP' nin kemik oluşumunu indüklemeye potansiyeline sahip olabileceği yorumunu yapmışlardır (106).

Velich ve arkadaşları, hidroksiapatit esaslı kemik grefti,  $\beta$ -TCP ve TZP/ $\beta$ -TCP uygulayarak, 186 olguda bilateral ve 438 olguda ise unilateral sinüs tabanı elevasyonu yapmışlar ve ortopantomograf ile bilgisayarlı tomografi değerlendirmelerinde, her üç grupta da 6. ve 12. aylarda tatmin

edici sonuçlar saptanmasına rağmen, en hızlı kemik oluşumu, olgunlaşması ve şekillenmesini TZP/β- TCP bölgelerinde gözlemlediklerini bildirmişlerdir (107).

#### **2.2.3.4.4. TZP ile Allogreft Uygulamaları**

Kim ve arkadaşları deneysel çalışmalarında iliak kemiğe yerleştirdikleri dental implantlar etrafında kemik defektleri oluşturarak, TZP' li ve TZP' siz dondurulmuş-kurutulmuş demineralize kemik tozu (freeze-dried demineralized bone powder, FDDB) uygulamışlar ve histomorfometrik olarak, TZP' li grubun en yüksek yeni kemik ve kemik olgunlaşması oranlarına ve en düşük fibröz bağ dokusu temasına sahip olduğunu ve 6. haftada implant çevresinin tamamının yeni kemik ile çevrelendiğini saptamışlardır (101).

Harris ve arkadaşları ise, köpeklerin zigomatik arklarında mineralize kemik greftini TZP'li ve TZP'siz uygulamışlar; ancak gruplar arasında, 4. ve 12. haftalarda, radyolojik ya da histolojik olarak belirgin bir fark saptayamadıklarını bildirmişlerdir (108).

Tek başına absorbe olabilen kollajen süngerler (AKS) ile TZP kombinasyonunun, sıçanlarda oluşturulan kalvaryum defektlerinde karşılaştırıldığı bir çalışmada ise, 8 haftada TZP/ AKS ile %81 ve AKS ile %64 kemik dolumu bulunmasına rağmen, fark istatistiksel anlamlı olmadığından, TZP' nin lokal kemik formasyonuna etkisinin sınırlı olabileceği sonucuna varılmıştır (109).

Kassolis ve arkadaşları çalışmalarında, 15 bireyde maksiller sinüs tabanı elevasyonu ve/veya kret augmentasyonunda, TZP ve dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti kombinasyonunu uygulamışlar; 4-5 ay sonra klinik ve trephine frezlerle elde edilen histolojik verilerine dayanarak, TZP ve FDBA birlikte kullanıldığında, yeni kemik oluşumu ve olgunlaşmasının istatistiksel olarak anlamlı seviyede arttığını bildirmişlerdir (75).

İlgenli ve arkadaşları, demineralize dondurulmuş- kurutulmuş kemik allogreftini TZP' li ve TZP' siz olarak peridental kemik içi defektlere uygulamışlar ve 18 ay sonunda klinik ve radyografik incelemelerinde TZP' nin anlamlı katkısını saptadıklarını rapor etmişlerdir (110).

#### **2.2.3.4.5. TZP ile Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Uygulamaları**

Gurgel ve arkadaşları, köpek mandibularında uyguladıkları titanyum implantların vestibülünde dehisens tipi kemik defektleri oluşturarak, TZP, titanyumla güçlendirilmiş polietrafloroetilen membran (Gore-Tex) ve TZP/ Gore- Tex kombinasyonu uygulamışlar ve sonuncu defekti ise kontrol amacıyla boş olarak iyileşmeye bırakmışlardır. 3 ay sonra kemik-implant teması, kemik yoğunluğu ve yeni kemik alanı açısından, TZP' nin dental implantlar etrafında oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesine ilave katkıları olmadığını bildirmişlerdir (111).

Lekovic ve arkadaşları ise, kemik içi defektlerde TZP/ Bovin poröz kemik minerali ve bu kombinasyonun YDR ile uygulanması arasında, 6. ayda klinik açıdan istatistiksel fark bulunmadığını, bu nedenle de TZP etkisinin sadece hemostatik değil, aynı zamanda kök yüzeyine yapışarak flepten epitel ve bağ dokusu hücrelerinin apikale migrasyonunu engellediğini ileri sürmüşlerdir (76).

Yassıbağ-Berkman ve arkadaşları, periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde  $\beta$ -TCP, TZP/  $\beta$ -TCP ve TZP/  $\beta$ -TCP/kollajen membran uygulamalarının sonuçları karşılaştırdığında, 6, 9 ve 12. haftalarda klinik ve radyografik olarak gruplar arasında fark bulamadıklarını bildirmişlerdir (112).

#### **2.2.3.4.6. Tek Başına TZP Uygulamaları**

Aghaloo ve arkadaşları, tavşan kraniyal defektlerinde tek başına uygulanan TZP'nin, hiçbir materyal uygulanmayan kontrol grubuna göre belirgin bir avantaj getirmediğini bildirmişlerdir (99).

Fontana ve arkadaşları ise sıçan modelinde tibiaya TZP' li (Ti/TZP) ve TZP' siz titanyum (Ti) implant uygulamışlar, radyografik ve histomorfometrik olarak 30 gün sonra, Ti/TZP grubunda yeni oluşan peri-implant kemik miktarını  $30 \pm 7 \text{ cm}^2$ , Ti grubunda ise  $16 \pm 3 \text{ cm}^2$  bulduklarını ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (113).

Anitua isimli araştırmacı, 20 sistemik sağlıklı bireyde, kök kırığı veya periodontitis sonucu çekilen dişlerin soketlerine uyguladığı TZP ve kontrol grubunu içeren karşılaştırmalı çalışmasının 10. ve 16. haftalarda, implant yerleştirilmesi sırasında kemik örneklerini incelemiş ve TZP bölgelerinde negatif yan etkiler olmadığını, epitelizasyon ve kemik rejenerasyonunun da daha iyi olduğunu bildirmiştir (78).

Benzer olarak Mancuso ve arkadaşları da 3. Molar diş çekim bölgelerine TZP yerleştirildiğinde kontrol bölgelerine göre daha az alveolar osteitis ve ağrı, daha fazla radyografik kemik dolumu olduğunu rapor etmişlerdir (114).

Jain ve arkadaşları, tek başına TZP uygulamasının, flep operasyonları ile elde edilen sonuçlara istatistiksel anlamlı katkıda bulunmadığını bildirmişlerdir (11).

Monov ve arkadaşları, 7 hastanın mandibular anterior bölgesinde, TZP'li ve TZP'siz uyguladıkları implantların stabilite ölçümlerini değerlendirmişler ve 6 haftalık iyileşme döneminde iki grup arasında fark bulamamışlardır (85).

Sammartino ve arkadaşları ise 18 sistemik sağlıklı bireyde, bilateral gömülü 3. molarların çekimini takiben 2. molarların distalindeki periodontal defektlerin tedavisinde TZP uygulamışlar ve 12 hafta sonunda, yeni kemik oluşumu, cep derinliğindeki azalma ve ataşman kazancı açısından TZP grubunu, boş bırakılan kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulduklarını bildirmişlerdir (116).

Cieslik-Bielecka ve arkadaşları, odontojenik kistlerin enükleasyonunu takiben mandibular kemik içi defektlerde test grubunda TZP uyguladıkları ve kontrol grubunu boş bıraktıkları çalışmalarında TZP ile oral mukozanın daha hızlı iyileştiğini ve 24 haftalık çalışma sürecinde istatistiksel olarak da anlamlı daha fazla kemik mineral yoğunluğunu saptamışlardır (11).

Keçeli ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmalarında, Miller I/II tip dişeti çekilmelerinin tedavisinde bağ dokusu greftini tek başına ve TZP ile kombine ederek uygulamışlar ve 6. hafta, 6. ay ile 12. ayda yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda, TZP'li grupta dişeti çekilmesi genişliğindeki azalma açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç aldıklarını bildirmişlerdir (118).

#### **2.2.3.5. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)**

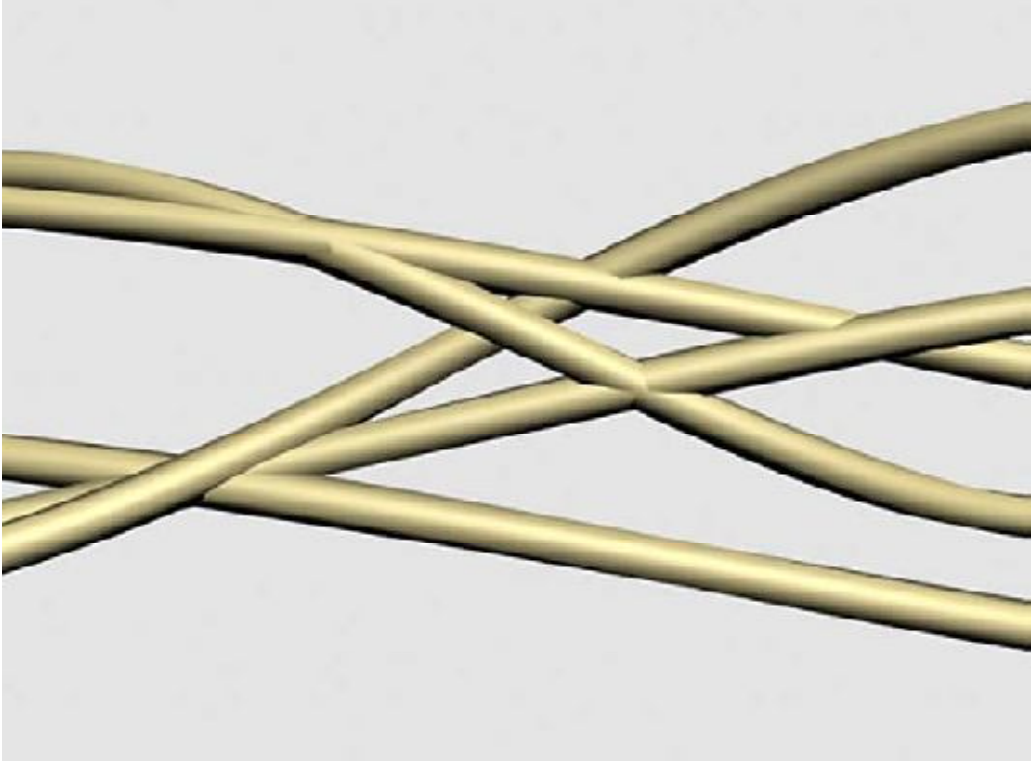
TZF ilk olarak oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılmak üzere Choukroun ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (16). Bu teknikte en dikkat çekici olan, antikoagülan veya hayvansal trombin kullanılmamasıdır. TZF protokolü çok basittir: kan örnekleri, içerisinde antikoagülan bulunmayan 9 ml' lik tüplere alınır. Bu tüpler dakikada 3000 tur döndürülerek, 10 dakika santrifüj edilir Antikoagülan kullanılmaması, tüp duvarları ile doğrudan

temasa geçen kandaki aktivasyonun birkaç dakika içinde başlamasına sebep olur. Fibrinojen başta tüpün üst kısmında yüksek miktarda bulunur ve trombin, fibrinojeni fibrine çevirir. Bu fibrin kısmı tüpün orta kısmında, altındaki kırmızı hücreler ve üstündeki hücresel plazma arasında kalır. Trombositlerde bu fibrin yığınları arasında kalır. Bu tekniğin başarısı, kan alınma işleminin ve santrifüje transfer işleminin süresine bağlıdır. Tüpte antikoagülan bulunmadığı için alınan kan, tüp duvarlarına temas eder etmez koagüle olmaya başlar. Bu sebeple kan alımı ve santrifüje transfer işleminin hızlı olması, alınacak olan TZF' nin klinik olarak kalitesini doğrudan etkiler. Eğer bu evreler yeterince hızlı olmazsa, sonuç başarısız olur. Fibrin tüp içinde polimerize olur ve çok az miktarda yoğun olmayan pıhtı elde edilir. Sonuç olarak, TZF protokolünde serum ve trombositlerden zengin fibrin pıhtısı elde edilir. Bu fibrin matristeki sıvılar uzaklaştırılarak, oldukça sağlam otojen fibrin membranlar elde edilir. Bu işlemin temel özelliği, işlem sırasında antikoagülan kullanılmamasıdır. Kanın alınması ile trombositlerin aktivasyonu ve böylece içerdikleri değişik sitokinlerin salınımı başlar. Bu çözünebilir partiküllerin TZF içinde tutulmasını açıklayacak bir teori henüz bulunmamaktadır (119).

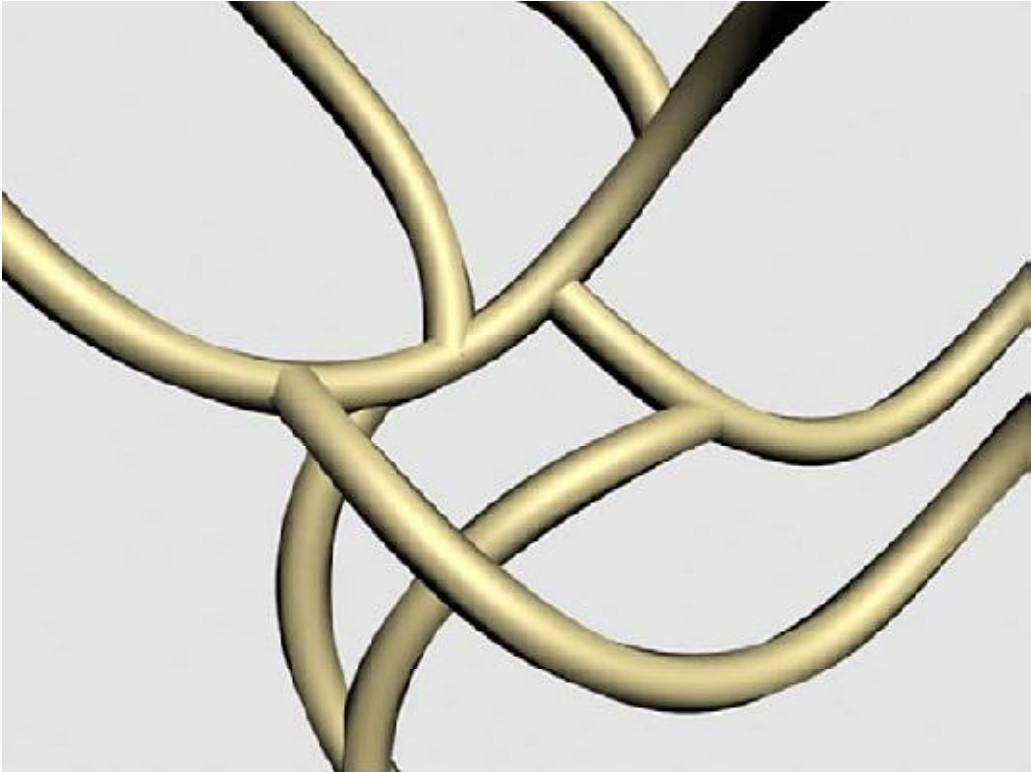
Fibrin adezivlerin (TZP ve TZF) aralarında belirli farklılıklar vardır; Bunlardan biri jel formuna gelmelerindeki farklılık diğeri ise fibrin adezivler ve TZP' da hayvansal trombin ve kalsiyum kloridin kullanılmasıdır (17,18). Kullanılan bu materyallerin miktarı ve uygulanma hızı, elde edilen fibrin matrisinin mekanik ve biyolojik özelliklerini etkiler. TZF' de ise, santrifüj sırasında oluşan polimerizasyon doğal ve yavaştır. Herhangi bir hayvansal trombin eklenmediğinden, fibrinojen üzerine etki eden trombin tamamen fizyolojiktir. Bu özellik, fibrin ağın 3 boyutlu organizasyonunu etkiler. Jel formuna geçerken fibrin fibrilleri 2 farklı biyokimyasal yapıda oluşur;

- 1) Yoğun tetramoleküler veya eşkenar bağlantılar (Şekil 9)
- 2) Trimoleküler veya eşkenar bağlantılar.

Yoğun tetramoleküler veya eşkenar bağlantılar sayesinde, sitokin salınımı ve hücresel migrasyona pek olanak vermeyen fibrin polimerlerinin kalınlaşmasını sağlayan güçlü trombin konsantrasyonları elde edilir. Bu şekildeki bir jelin direnci, biyolojik dokuları sıkıca kapatması için uygundur. Bu tip membran oluşumu TZP' de görülür (120).

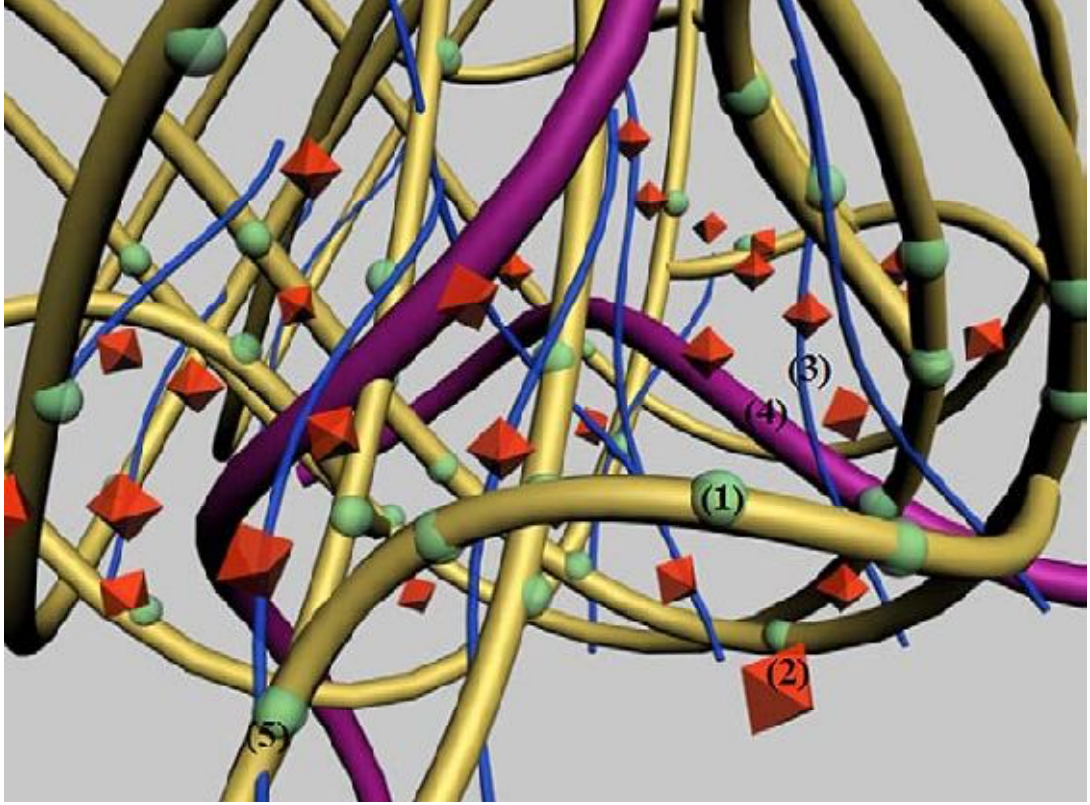


**Şekil 9:** Yoğun tetramoleküler veya eşkenar bağların bilgisayar modeli (Yapının rijiditesi dikkati çekmektedir.) (120).



**Şekil 10:** Trimoleküler veya eşkenar fibrin bağlarının bilgisayar modeli (Yapının esnekliği dikkati çekmektedir.) (120)

Zayıf trombin konsantrasyonları ise, yüksek trimoleküler veya eşkenar bağlantılar sağlar. Bu bağlantılar ise, sitokin salınımını ve hücrel migrasyonu destekleyen iyi ve esnek fibrin ağı oluşturur. Ayrıca bu 3 boyutlu organizasyon, fibrin matrise yüksek derecede elastisite ve güç kazandırır. Bu tip membran oluşumu TZF ' de görülür (Şekil 10) (123).



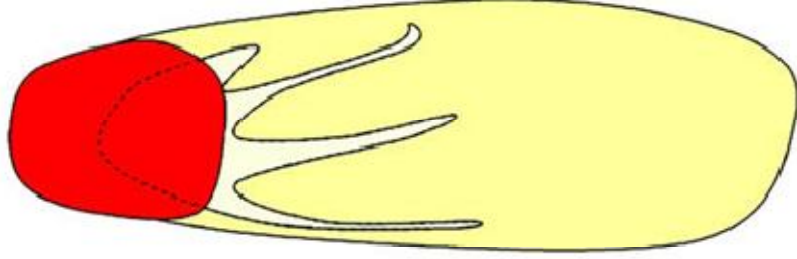
**Şekil -11:** TZF' nin bilgisayar modelinde oluşturulmuş görünümü

Fibrin matrisi içinde bulunan yapısal glukoproteinler, fibronektin ve ekstrinsek sitokinler dikkati çekmektedir. TZF' nin yavaş polimerizasyonu fibrin polimer içerisinde intrinsek glikanik zincirlere ve sitokinlere izin verir. TZF doğal fibrin trombusa çok yakın özellikler taşır: 1-fibrin fibrilleri arasında bulunan intrinsek sitokin, 2- çözülmüş trombosit sitokinleri (ekstrinsek olarak fibrin polimerleri ile bağlantılıdır), 3-fibrin ile bağlantılı glikanik zincirler, 4- dolaşımdaki glukoproteinler (fibronektin), 5- glikanik zincirlerle ve intrinsek sitokinlerle bağlantılı fibrin fibrilleri (Şekil -11) (120)

#### **2.2.3.5.1.TZF İçinde Trombosit Dağılımı**

Yapılan hematolojik çalışmalarda, hücrel sıvıda (TFP) veya kırmızı hücre kısmında trombosit bulunmadığı gösterilmiştir. Santrifüje edilmiş tüpte trombosit dağılımını gösteren çalışmalarda, trombositlerin en çok fibrin

pıhtısının alt kısmında, özellikle kırmızı hücrelerle olan bağlantı kısmında toplandığı gösterilmiştir (124).



- Kırmızı trombüs: kırmızı kan hücreleri ve trombositler**  
kalın fibrin matris içinde sarılmışlardır.
- Fibrin pıhtı**
- "Buffy coat" : beyazımsı çizgiler TZF fibrin matris içerisinde**  
hapsolmuş trombositleri göstermektedir.

#### **Şekil-12:** TZF matrisinin bilgisayar modelinde oluşturulmuş görünümü

TZF fibrin pıhtı yapılış evresini izleyerek oluşan 3 kısım TZF matrisi kandaki ve trombositlerdeki glikozaminoglikanları da (heparin, hyaluranik asit) tutmaktadır. Alcian mavisi ile boyandıklarında bu glikanik yapılar, fibrin polimerleri içinde görülmektedirler. Glikozaminoglikanların dolaşımdaki küçük peptitlere (trombosit sitokinleri gibi) bağlanma kabiliyetleri yüksek olduğu için, hücre migrasyonu iyileşme işlemini artırıcı kapasiteleri vardır (124).

#### **2.2.3.5.2.TZF ve LÖKOSİT AKTİVASYONU**

Klinik veriler, TZF' nin iyileşme için etkili bir matris oluşturduğunu ve inflamasyonu önlediğini göstermektedir. TZF pıhtısı içinde cerrahi sonrası inflamasyonu kontrol edecek pek çok hemostatik regülatör molekül bulunur. Trombosit sekresyonu inflamatuvar reaksiyonu düzenleyen sitokinleri de içerir (125,126,127) .



### 2.2.3.5.2.1. İnflamatuvar Sitokinler

İnflamatuvar dönemde bulunan mediatörlerin sayısı çok önemlidir. Bu mediatörlerden öncelikle 3 temel inflamatuvar sitokine bakmak gerekir: IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ . Bu 3 sitokin inflamasyon için temel anahtar görevi yaparlar:

**1) İnterlokın 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ):** IL-1, aktive olmuş makrofajlar, notrofiller, endotelyal hücreler, fibroblastlar, keratinositler ve Langerhans hücreleri tarafından salınır. İnflamasyon kontrolündeki ana mediatördür (30,31). 2 genden gelişen  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki farklı türü vardır. IL-1 $\beta$  daha yaygın formudur.

IL-1 salınımını; TNF- $\alpha$ , interferonlar ve bakteriyel endotoksinler kontrol eder. IL-1'in temel görevi, T- hepler lenfositlerinin stimülasyonudur. TNF- $\alpha$  ve IL-1 beraber çalışırsa, osteoklast aktivasyonu sağlarlar ve kemik formasyonunu azaltırlar (129).

**2) İnterlokın 6 (IL-6):** IL-6; IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ ' ya bağlı inflamatuvar bir sitokindir (130). Aktive olmuş monositler, fibroblastlar ve endotelyal hücrelerden salınırlar. Ayrıca az da olsa makrofajlar, T ve B lenfositler, granülositler, mastositler, kondrositler ve osteoblastlar da IL-6 salınımı yaparlar. IL-1; bakteriyel endotoksinler ve TNF- $\alpha$ 'nın ve PDGF' ler ise IL-6 salınımını stimüle ederler. IL-6, kendi salınımını artırma veya azaltma yeteneğine de sahiptir (131).

B lenfositleri için farklılaşma faktörü iken, T lenfositleri için aktivatördürler. IL-2 varlığında matür ve immatür T lenfositlerini, sitotoksik T lenfositlerine çevirirler. IL-4 tarafından hücre aktivasyonu sağlandığında, B lenfositlerini salınım yapan plazmositlere çeviren son farklılaşmayı da yaparlar. B lenfosit popülasyonunda, IL-6 antikor salınımını stimüle ederler. Bu stimülasyon 120 ile 400 kat arasında değişebilir. Ayrıca in-vitro olarak IL-6 ve IL-3'ün hematopoetik kök hücre proliferasyonunda da sinerjik etki yaptığı bilinmektedir. IL-6 immün hücreler için sinyal taşıyan ve bu sinyalleri arttıran ana bir yoldur. İnflamasyon, destrüksiyon ve olgunlaşmada etkilidir (132,133).

### **3) Tümör nekroz faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ):**

TNF- $\alpha$ , bakteriyel endotoksin agregasyonuna karşı inflamatuvar cevap olarak ilk salınan sitokinlerden biridir. Monositler/makrofajlar, nötrofiller, polimorfonükleer lökositler ve T lenfositleri tarafından salınırlar. Salınımı IL-6

ve TGF- $\beta$  tarafından kontrol edilir (134). TNF- $\alpha$  monositleri ve fibroblastların olgunlaşma kapasitelerini aktive eder. Ayrıca fagositozu, nötrofil sitotoksitesini artırır ve IL-1 ile IL-6 gibi temel mediatörlerinin salınımını da kontrol eder (135,136) .

#### **2.2.3.5.2. İyileştirici Sitokinler**

**1) İnterlokın 4 (IL-4):** Aktive olmuş T hücreleri tarafından salınırlar. Aktive olmuş B hücrelerinin proliferasyonunu ve diferansiasyonunu desteklerler. Etkileri çevredeki diğer sitokinlere bağlıdır (137,138).

İnflamasyon sırasında temel görevi inflamasyonu modere ederek iyileşmeyi desteklemektir. Örneğin fibroblastlardan fibriler kollojen sentezini artırırken, IL-1 $\beta$ 'dan da, MMP-1 ve MMP-3 sentezini azaltır. IL-1 $\beta$  kaynaklı tüm sinyalleri nötralize eder (139).

**2) Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF):** Vasküler büyüme düzenleyicileri arasındaki en güçlü moleküldür (140).

Endotelyal hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu, spesifikasyonu ve yaşam döngüsü üzerinde etkin bir rolü vardır (141,142). İnflamatuvar sitokinler (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) ve iyileştirici sitokinler (IL-4 ve VEGF) TZF pıhtısı içinde yüksek miktarda bulunmaktadır. Bu sitokinlerin miktarındaki artış, lökosit sayısındaki artışa bağlıdır. TZF elde ederken gerçekleşen yavaş aktivasyon işlemi ile lökosit degranülasyonu artmaktadır (143). Bu sebeple TZF' nin immün sistemi stimüle eden ve inflamasyonu kontrol eden bir etkisi bulunmaktadır.

#### **2.2.3.5.3. TZF' İN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE KLİNİK ETKİLERİ**

TZF ile ilgili yapılan ilk yayınlar ve açıklanan biyolojik özellikleri ışığında iyileşmenin her döneminde olumlu etkisi olduğu öne sürülmektedir. Yayınların çoğunda tüm klinik uygulamalarda etkili bir neovaskülarizasyon gelişimi, hızlı skatrisyel doku olgunlaşması ve artan doku onarımının yanısıra hemen hemen hiç enfeksiyon gelişmemesi vurgulanmaktadır.

İçeriğinde trombosit ve lökosit sitokinlerin bulunması ve fibrin matris tarafından desteklenmesi, TZF' in potansiyel iyileştirme gücünü sağlamaktadır. Fibrin matris'in biyolojik etkileri 4 kategoride incelenir:

i -Anjiogenezis,

- ii -İmmün kontrol,
- iii -Dolaşımdaki kök hücrelerini bünyesinde bulundurma ve
- iv –Epitelizasyon (144,145).

### **2.2.3.5.3.1.Fibrin ve Anjiyogenezis**

Anjiyogenezis doku içerisinde yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Migrasyona olanak sağlayan ekstra hücresel matrise, bölünmeye ve endotelial hücrelerin fenotiplerinin değişmesine ihtiyaç duyar (146).

Fibrin matrisin anjiyogenezis üzerindeki etkisi, fibrin jelin 3 boyutlu yapısı ve ağ üzerinde bulunan sitokinlerin eş zamanlı etkisi ile açıklanabilir (147). Ayrıca fibroblast büyüme faktörü (FGFb), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiopoetin ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi çözünebilen temel anjiyogenezis faktörleri de fibrin jel içinde bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, FGFb ve PDGF' un fibrine çok yüksek afinite ile bağlanabildiğini göstermektedir (148,149) .

Matrisin rijiditesi, endotelial hücrelerin FGFb veya VEGF stimülasyonu ile gelişen kapiller formasyonunu artırır. Fibrin matris konfigürasyonundaki bu farklılıklar fibrin yapıştırıcılar, TZP ve TZF' nin biyolojik kinetikleri arasındaki ayrımı anlamamızı sağlar (146) .

Anjiyogenezis için önemli noktalardan biri de, endotelial hücrelerin gerçekleştirdiği ve hücrelerin fibrin, fibronektin ve vibronektine bağlanmalarını sağlayan  $\alpha\beta 3$  integrinin çoğalmasıdır. Bu integrinin önemli derecede artmasının, fibrinin kendisinden kaynaklanmakta olduğu ve insan endotelial hücre kültürlerinde fibrinin  $\alpha\beta 3$  integrin çoğalmasını sağladığı gösterilmiştir (148) .

### **2.2.3.5.3.2. Fibrin ve İmmunite**

Fibrin ve fibrinojen degranülasyon ürünleri (FDU) nötrofillerin migrasyonunu stimüle eder ve CD11c/CD18 reseptörünün membrandaki ekspresyonlarını artırır. Bu reseptör, nötrofilin endotelyuma ve fibrinojene adezyonuna ve transmigrasyonuna izin verir (150). Ayrıca nötrofillerin fagositozu ve enzimatik degranülasyonu da FDU tarafından düzenlenir.

Monositler, yaralanan bölgeye nötrofillerden sonra gelir. Dokunun makrofajlar tarafından tutulmasını, fibrinin kimyasal ve fiziksel özellikleri ile pıhtı içinde kalan kemotaksik ajanlar sayesinde fibronektinin kontrol ettiği belirtilmiştir (151).

Örnek olarak, insan promonositik hücrelerine katılan FDU, D-dimer IL-1 ve plazminojen aktivatör seviyelerini arttırmış ve inflamatuvar durumda fibrinin etkisini göstermiştir (152).

### **2.2.3.5.3.3. Fibrin ve Dokunun Örtülmesi**

Fibrin matris, epitelyal hücrelerin ve fibroblastların metabolizmalarına etki ederek, yaralı dokunun kapanmasına rehberlik eder. Doku marjinlerinde, epitelyal hücreler bazal ve apikal polaritelerini kaybederler, dokuya doğru bazal ve lateral genişleme yaparlar. Hücreler; fibrinojen, fibronektin, tenaskin ve vitronektin tarafından yapılan geçici matrise migrasyona başlarlar. Bu migrasyon basit bir yer değiştirmeden çok, matris degranulasyonu şeklindedir. Fibrin, fibronektin, PDGF ve transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ); integrin ekspresyonu, fibroblast proliferasyonu ve doku içine migrasyonları açısından vazgeçilmez yapılardır. Bu yapılar fibrine değişik integrinler sayesinde direkt bağlanırlar. İn-vitro fare fibroblastlarında yapılan bir çalışmada, fibrin jelin  $\alpha$  zincirleri arasında optimum çapraz bağları sağladığı gösterilmiştir (153). Bu da hızlı polimerize olan TZP ile yavaş polimerize olan TZF arasındaki, en önemli farklardan biridir. Fibrinin migrasyon ve degranülasyonundan sonra, fibroblastlar kollojen sentezine başlarlar (154).

Dolayısıyla TZF, klinik uygulamalarda mikrovaskülarizasyonu geliştiren ve kendi yüzeyine epitelyal hücre migrasyonuna rehberlik eden doğal fibrin bazlı bir biyomateryal olarak gözükmektedir. Böyle bir membran, açık yaraları koruma ve iyileştirme amaçlı kullanılabilir.

### **2.2.3.5.4. Fibrin ve Kemik Dokusu**

İyileşme sırasında fibrin ve kemik hücrelerinin etkileşimi, henüz yeterli olarak belirtilememiştir. Diğer taraftan yapılan bazı hayvan çalışmalarında, fibrinin kemik iyileşmesini pozitif olarak etkilediği bilinmektedir. Alınan sonuçlar çelişkilidir (155). Bunun sebebi kullanılan hayvan tipleri, kemik defektleri ve fibrin jeller arasındaki farklılıklar olabilir (156).

Ancak literatürde farklı görüşler olsa da, gerçek olan fibrin matrisin kemik morfojenik proteinleri (BMP) için iyi bir destek sağladığıdır. BMP ile etkileşimde olan fibrin matris; anjiotropik, hemostatik ve osteokondüktif

özelliğe sahiptir (157). Fibrin içinde bulunan BMP' ler kas içi dokulara transplante edildiğinde kemik oluşumu gelişmektedir.

### **2.3.5.5. DİŞ HEKİMLİĞİNDE TZF' NİN KLİNİK KULLANIMI**

TZF, tıp alanında göğüs cerrahisinden, ortopediye pek çok alanda klinik kullanıma girmiştir (158,159). Diş hekimliğinde de kullanım alanları gün geçtikçe artmaktadır (156,160,161) .

Toffler ve arkadaşları yayınladıkları çalışmalarında (162), 110 hastaya osteotom ile kapalı yöntem sinüs tabanı elevasyonu işlemi yapmışlar ve oluşturdukları soketlerde TZF' yi greft materyali olarak uygulamışlardır. 6. ve 12. haftalar ile 1. yıl sonunda implantların çevresindeki kemik seviyelerine bakarak çalışmanın sonucunda ortalama 3,5 mm kemik elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Huang ve arkadaşları ise, 6 gönüllüden aldıkları kanla hazırladıkları TZF' ni, çekilmiş 3. molar diş pulparları ile kültüre etmişlerdir. 5 günlük inkübasyon periyodu sonucunda TZF' nin zamana bağlı olarak dental pulpa hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşma kapasitesini arttırdığını rapor etmişlerdir (162).

Gassling ve arkadaşları ise topladıkları insan periosteal hücrelerini, kollojen bir membrana ve elde ettikleri TZF' e yerleştirmişler ve bunu da elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. TZF' e yerleştirilen hücrelerde proliferasyonun diğer gruptan daha yoğun olduğunu göstermişlerdir (161).

Jankovic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise, TZF'i koronel yönlü flaplerde kullanmışlar ve olumlu sonuçlar elde etmişlerdir (163).

Laio ve arkadaşları ise köpek kemik iliklerinden topladıkları mezenşimal kök hücrelerini, yine köpeklerin çenelerinde oluşturdukları çift taraflı 1,5 x 1,5 cm boyutlarındaki defektlere sırasıyla: MEDPOR ve otojen TZF yapıştırıcı ve mezenşimal kök hücre karışımı, Otojen TZF yapıştırıcı ve mezenşimal kök hücre karışımı ve MEDPOR yerleştirmişlerdir. 2. ve 4. ayda bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonuçlarında sırasıyla % 53, % 26, % 15 oranlarında yeni kemik oluşumunun sağlandığını rapor etmişlerdir (164).

Jang ve arkadaşları ise, hayvan modellerinde frezle oluşturdukları defektlere implantlar yerleştirmişler ve deney grubunda implantın boyun kısmı greft ve TZF karışımı ile kapatmışlardır. Diğer implantın boyun bölgesi

ise kapatılmamış ve 8 hafta sonra implantların stabilizasyonuna ve yeni kemik oluşumuna bakılmıştır. Yeni kemik oluşumu deney tarafında %51 iken, kontrol tarafında %11'dir. İmplantların stabilizasyonu ise deney tarafında 30 N.cm iken, kontrol tarafında 21 N.cm'ye çıkmıştır. Jang ve arkadaşları bu sonuçlar ışığında immedat yükleme yapılan periimplant defektli alanlarda TZF' i başarılı bulmuşlardır (165).

Mazor ve arkadaşları ise, 20 hastada 25 sinüs lift operasyonu yapmışlar ve greft materyali olarak sadece TZF kullanmışlardır. Hastalara, aynı seans implantları da yerleştirilmiştir. Operasyonu izleyen 6. ayda tüm hastaların ilgili bölge radyografik incelemeleri yapılırken, ayrıca 9 hastadan ilgili bölgeden biyopsi örneği alınmıştır. Çalışmanın sonucunda herhangi bir implant kaybı olmadığı ve ortalama 10,1 mm' lik yeni kemik oluşumu izlendiği gösterilmiştir. Biyopsiler incelendiğinde ise, tüm örneklerde iyi organize olmuş canlı kemik dokuları saptanmıştır (166).

TZF, greft maturasyonunu hızlandırmak amacıyla da kullanılmaktadır. Choukroun ve arkadaşları yaptıkları 9 sinüs lift operasyonunun 6'sında greft materyalini TZF ile karıştırırken, 3'ünde ise grefti tek başına kullanmışlardır. 4 ay sonra araştırma grubundan, 8 ay sonra ise kontrol grubundan implant yerleşimi sırasında kemik almışlar ve histolojik analiz yapmışlardır. Her iki grupta da benzer yeni kemik oluşumunun izlendiğini ve TZF' nin greft matürasyonunu hızlandığını belirtmişlerdir (167).

TZF; üretiminin ve kullanımının kolay, maliyetinin ise düşük olması nedeniyle dişhekimliğinde klinik geçerlilik kazanmıştır. TZF ile yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmakta ve yeni kullanım alanları oluşmaktadır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kuruluna 12.01.2010 /1 toplantı sayılı 1 karar numaralı proje olarak sunulmuş olup, etik kurul onayı alınmıştır. Araştırmamızda Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri ve Uygulama Merkezi'nden (DÜSAM) elde edilen 200-250 gr ağırlığında 80 adet erişkin dişi Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar, DÜSAM' da 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörlerle sürekli havalandırılan 21-30°C lik odada tutuldular. Gruplar ayrı kafeslerde, ad-libitum standart pelet sıçan besi yemi ile beslendiler. Su gereksinimleri için günlük değiştirilen taze musluk suyu kullanıldı.

Çalışmamızda 80 adet ratın 8' i tüm kanları intrakardiyak alınarak TZP ve TZF elde etmek için kullanıldı. Geriye kalan 72 adet rat; kontrol grubu ve diabet grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Daha sonra bu gruplar kendi içinde tekrar alt gruplara bölündü. Oluşan alt gruplar ve rat sayıları Tablo 3' teki gibi sınıflandırıldı. Buna göre diabetik grupta ve kontrol grubunda 36'şar rat bulunmaktaydı.

**TABLO 3: Deney Grupları**

GRUPLAR	Hayvan sayısı
<b>Kontrol Grubu</b>	<b>36</b>
Kontrol Graft Grubu	12
Kontrol Graft + TZP Grubu	12
Kontrol Graft + TZF Grubu	12
<b>Diabetik Grup</b>	<b>36</b>
Diabet Graft Grubu	12
Diabet Graft + TZP Grubu	12
Diabet Graft + TZF Grubu	12

**3.1.A. KONTROL GRUBU (n=36):** Bu gruptaki sıçanlar kendi içlerinde üç alt gruba ayrıldı:

**A. 1. Kontrol Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine sadece greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran implante edildi.

**A. 2. Kontrol Greft+ TZP Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine, TZP ile karıştırılan greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran implante edildi.

**A. 3. Kontrol Greft+TZF Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine, TZF ile karıştırılan greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran yerleştirildi.

**B. Diabet Grubu (n=36):** Gecedan aç bırakılan sıçanlara intraperitoneal yoldan 65 mg/kg Streptozotosin tek doz olarak uygulandı. Ani glikoz düşüşünü önlemek amacıyla, ilk 24 saat oral olarak % 5'lik dekstroz çözeltisi verildi. İlaç uygulamasından 48 saat sonra sıçanların kuyruklarından alınan, kapiller kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl'yi aşanlar diabetik olarak kabul edildi. Diabetik sıçanlara günde 2 kez, 4 IU NPH (**Neutral Protamine Hagedorn**) insan insülini IP (intraperitoneal) olarak uygulandı.

Bu gruptaki diabetik sıçanlar kendi içlerinde üç alt gruba ayrıldı. Bu gruplar:

**B. 1. Diabet Greft Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine, sadece greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran yerleştirildi.

**B. 2. Diabet Greft+ TZP Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine, TZP ile karıştırılan greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran yerleştirildi.

**B. 3. Diabet Greft+ TZF Grubu (n=12):** Bu gruptaki sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektine, TZF ile karıştırılan greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran yerleştirildi.

### **3.2.Trombositten zengin plazmanın (TZP) hazırlanışı**

TZP, trombositten zengin plazma kiti ve santrifüj cihazı (RA Tıbbi Cihazlar San. ve Tic. A.Ş.) kullanılarak elde edildi. TZP ve TZF hazırlamak için ayrılan ratlardan 4' ünün anestezisi, Xylazine HCl (Alfazyne® ) 5mg/kg



ve Ketamin HCl (Alfamine®) 35mg/kg kombinasyonu ile intramusküler olarak sağlandı. Anestezi sağlandıktan sonra, ratın tüm kanı intrakardiyak olarak enjektörle çekilip sodyum sitrat tüplerine boşaltıldı (Şekil-13). Tüpteki bu kanlar daha sonra Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında 2400 rpm de 10 dakika santrifüj edildi (Şekil-14,15). Bu yöntemle TZP ve TFP' nin (Trombositten Fakir Plazma) , kırmızı kan hücre fraksiyonlarından ayrılarak en üstte toplanması sağlandı. TZP ve TFP başka tüpe alınıp, bunları birbirinden ayırmak için tekrar 15 dakika 3600 rpm 'de santrifüj edildi ve konsantrasyonu arttırılmış TZP elde edildi. Operasyon öncesinde TZP hazırlandığı için, cerrahi sürede herhangi bir uzama ve zaman kaybı yaşanmadı.



**Şekil 13:** Tüplerdeki rat kanları



**Şekil 14:** Santrifüj işlemi



**Şekil 15:** Santrifüj cihazı

### **3.3.Trombositten Zengin Fibrinin (TZF) hazırlanışı**

Kalan 4 ratın anestezisi sağlandıktan sonra ratların tüm kanı intrakardiyak olarak enjektörle çekilip, antikoagülansız bir tüpe boşaltıldı ve zaman kaybetmeden 3000 rpm' de 10 dk süresince santrifüj işlemine tabi tutuldu. İlk birkaç dakika içinde ortamda antikoagülan bulunmadığı için, trombositler tarafından koagülasyonun ilk basamağı gerçekleşti. Kanın santrifüj işlemi sonucunda en üstteki tabaka hücresiz plazma, orta tabaka

TZF ve en alttaki tabaka ise eritrosit birikmesine bağlı olarak tüpte 3 ayrı tabaka oldu (Şekil 16-17).



**Şekil 16:** Antikoaglansız tüpte santrifüj sonrası TZF elde edilmesi



**Şekil 17:** TZF Görünümü

#### **3.4. Cerrahi teknik**

Araştırmada kullanılacak deneklerin anestezisi için Xylazine HCl (Alfazyne® ) 5mg/kg ve Ketamin HCl (Alfamine®) 35mg/kg kombinasyonu intramuskuler olarak uygulandı. Gerekli asepsi-antisepsi kurallarına bağlı kalınarak steril ortam hazırlandı.

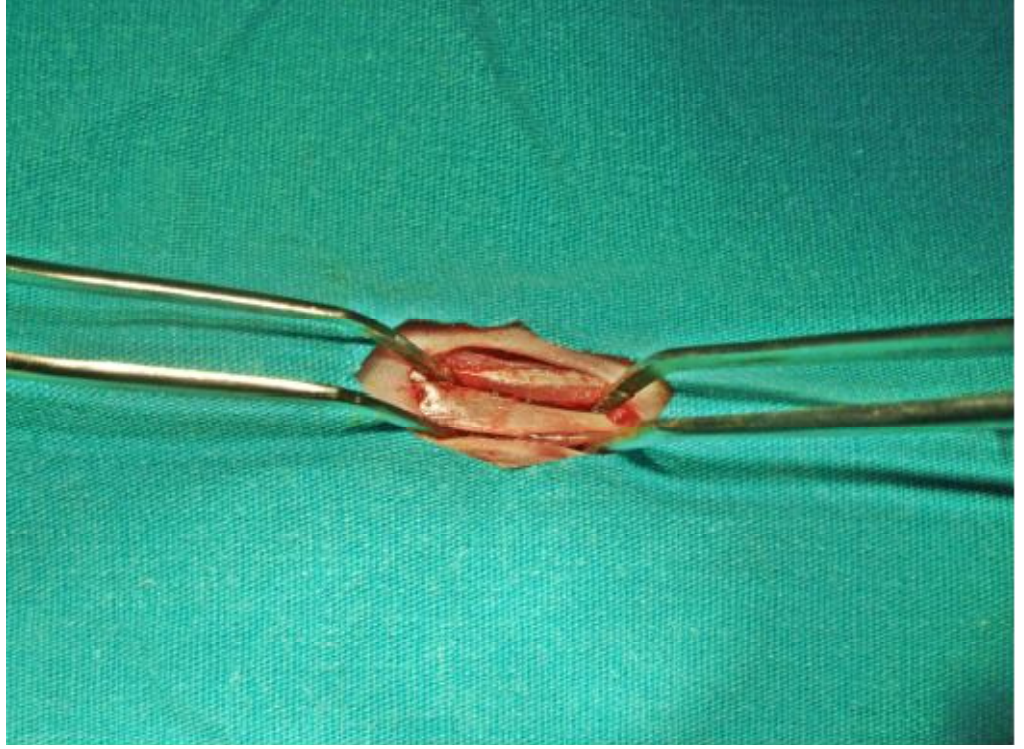
Tüm sıçanlarda yeterli anestezi derinliği sağlandıktan sonra bacak bölgesi tıraŐlandı, cerrahi alan antiseptik solüsyon (Betadine, Kansuk, Türkiye) ile temizlendi ve delikli kompres örtülerek steril koşullarda cerrahiye baŐlandı(Şekil -18).



**Şekil 18:** Cerrahi prensiplere uygun olarak hazırlanmış operasyon bölgesi

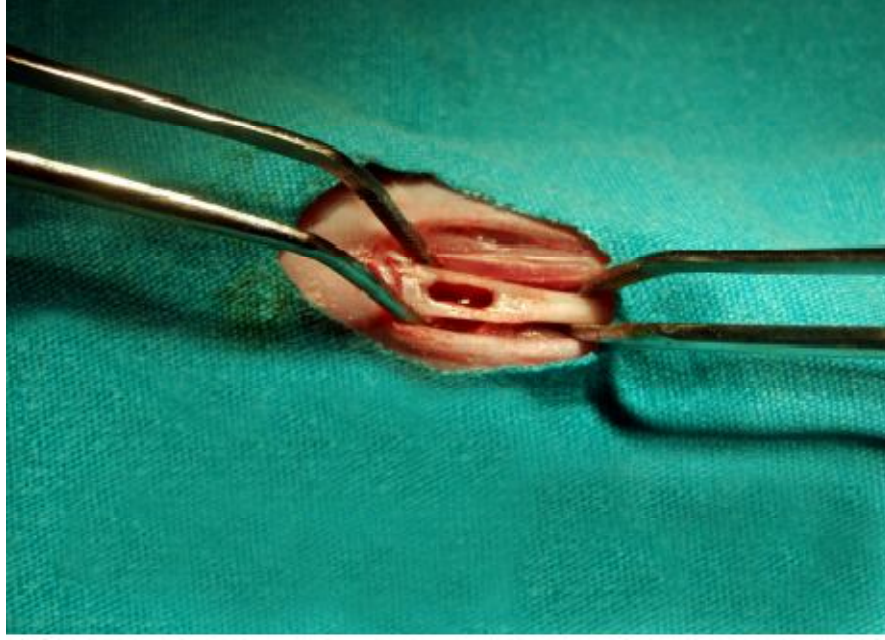
Kesim tibia bölgesinde longitudinal yönde yaklaşık 1-1,5 cm'lik insizyon ile cilt, cilt altı ve periost kesilerek kemik korteks yüzeyine ulaşıldı. Ekartörler yardımıyla yumuşak dokular ekarte edildi.





**Şekil 19:** Künt diseksiyon ile tibianın operasyon için hazır hale getirilmesi

Tibia üzerinde serum fizyolojik irrigasyonu altında, 0.14 numara rond frez (Komet, Germany) kullanılarak yaklaşık 10 mm uzunluğunda, 3 mm derinliğinde ve 2 mm genişliğinde kemik kavitesi açıldı. Defekt bölgesi doku debrislerini ve olası yabancı cisimleri uzaklaştırmak için irrigate edildi ve kanama kontrolü yapıldı(Şekil 19).



**Şekil 20:** Tibiada oluşturulan kemik defekti

Oluşturulan bu defektler;

Kontrol Grubunda, sadece greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran,

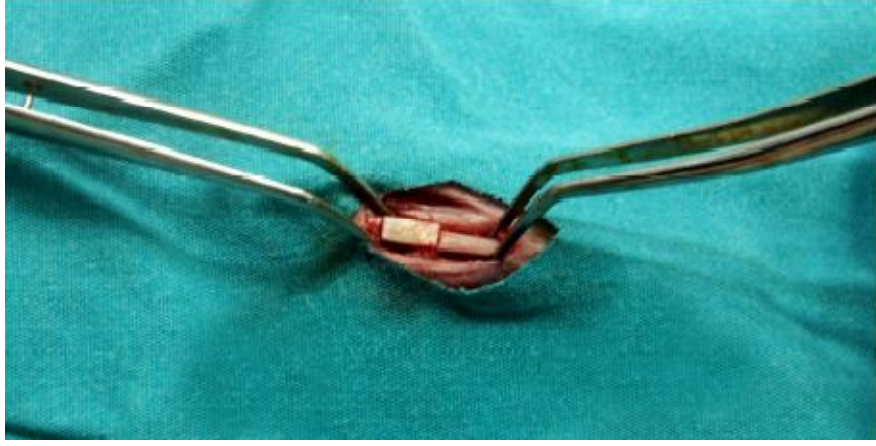
Kontrol Greft+ TZP Grubunda, greft materyali ile karıştırılan TZP ve rezorbe olabilen kollajen membran,

Kontrol Greft+ TZF Grubunda, greft materyali ile karıştırılan TZF ve rezorbe olabilen kollajen membran,

Diabet Greft Grubunda, sadece greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membran,

Diabet Greft+ TZP Grubunda, greft materyali ile karıştırılan TZP ve rezorbe olabilen kollajen membran,

Diabet Greft+ TZF Grubunda, greft materyali ile karıştırılan TZF ve rezorbe olabilen kollajen membran ile rekonstrükte edildi.



**Şekil 21:** Kontrol Grubunda Greft+ TzP uygulananan kemik defektinin görünümü



**Şekil 22:** Kontrol Grubunda Greft+ TZF uygulananan kemik defektinin görünümü





**Şekil 23:** Kontrol Grubunda Greft+ TZF uygulananan kemik defektinin membran ile kapatılmış görünümü

Tüm bu işlemleri takiben, yumuşak doku katlar halinde 4/0 rezorbe olabilen suture materyali (katgut) ile cilt ise 4/0 ipek suture materyali ile primer olarak kapatıldı. Ameliyat sonrası infeksiyon profilaksisi amacıyla, tüm hayvanlara 0,5 ml/kg penisilin-G prokain (Pronapen,300000 IU, Pfizer İlaçları A.Ş.) intramusküler olarak tek doz uygulandı.





**Şekil 24:** Cilt insizyonunun 5/0 ipek suturele kapatılmış görünümü

Postoperatif dönemde ayrı kafeslerde rutin diyet uygulaması yapılan denekler 1. 2. ve 7. haftaların sonunda rastgele seçimle 4'er adet alınarak, ratlara Xylazine HCl (Alfazyne®) 5mg/kg ve Ketamin HCl (Alfamine®) 35mg/kg kombinasyonu intramusküler olarak uygulandı. Daha sonra yüksek dozda İM tiopental sodyum (Pentothal Sodium 1 gr, Abbott Lab. A.Ş.) enjeksiyonu ile ratlar sakrifiye edildi. Bu işlemi takiben ilgili bölgedeki tibia çıkartıldı. Tibia etrafındaki yumuşak dokular uzaklaştırılarak defektlerin bulunduğu kısımlar, çevrelerinde sağlıklı kemik dokusu bırakılacak şekilde uygun aletlerle ayrıldı. Deney bitiminde spesmenler %10'luk nötral formalinde fikse edilip histoloji laboratuvarına gönderildi.



**Şekil 13:** Sakrifiye edilen ratlardan çıkarılan tibianın görünümü

### 3.5. Histolojik Değerlendirme

- % 10' luk nötral formalinde fikse olan tibialar %5 'lik nitrik asitte 3-5 gün dekalsifiye edildi.
- Dokular akarsuda yıkandı.
- % 70, % 80, % 90, % 95 ve % 100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.
- Ksilolde şeffaflandırıldı.
- Etüvde parafin banyolarından geçirilerek taze parafinde bloklandı.
- Parafin bloklardan rotary mikrotomu yardımıyla 5 µm kalınlığında kesitler elde edildi.
- Lam üzerine alınan bu parafin kesitler Hemotoksilin-Eosin (H-E) ve Masson Trikrom boyama yöntemleriyle boyandı.
- Boyanan dokular entellan damlatılarak bir lamelle kapatıldı.

Bu şekilde elde edilen kalıcı preparatlar Olympus BH-2 ışık mikroskopuyla değerlendirilip, mikrofotoğrafları çekildi. Bütün örnekler bir histolog tarafından incelenmiştir.

#### **Histopatolojik incelemelerde;**

- Primer kemik trabekülü oluşumu,
- Sekonder kemik trabekülü oluşumu,
- Damarlanma,
- Kemik iliği oluşumu ve
- Bağ dokusu oluşumu gibi parametreler göz önüne alınmıştır.

## 4. BULGULAR

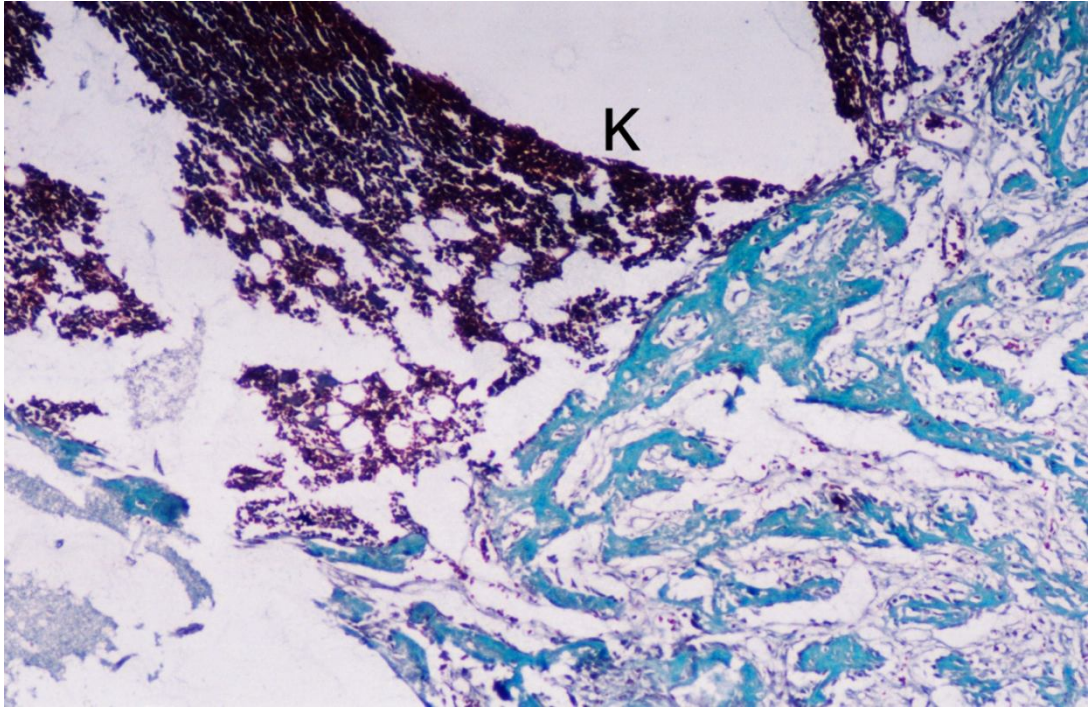
Kontrol grubundaki deney hayvanlarının cerrahi işlemleri iyi tolere ettiği, diabetik grupta ise postoperatif dönemde 4 ratın ext olduğu gözlemlendi. Ext olan ratların yerine, yenileri dahil edildi. Herhangi bir beslenme problemi görülmedi.

Yapılan histopatolojik incelemeler; 1. 2. ve 7. haftalarda kontrol ve diabetik grubun her 3 alt grubunu da kapsayacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### 4.1. A-Kontrol Grubu

#### A1-1. Hafta Kontrol Greft Grubu

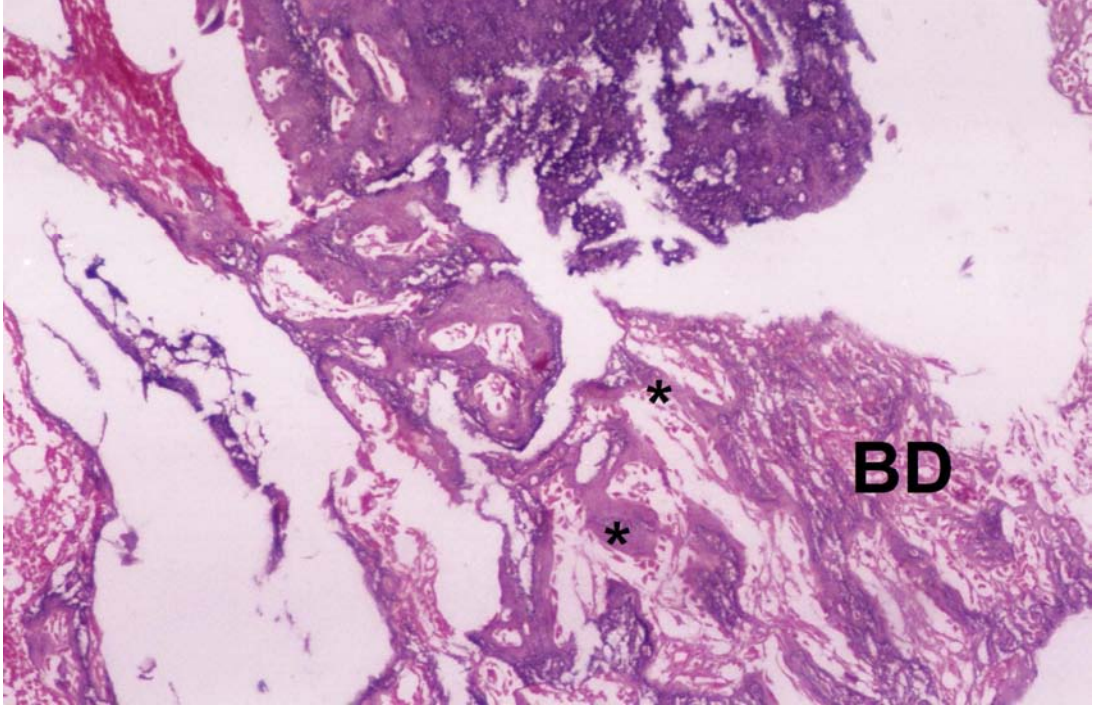
Defekt bölgesinde açılan kavitede kanlanmada artış gözlenirken endokondreal kemikleşmenin başladığı alanda ise bağ dokusu oluşumu görüldü. Bölgede enflamasyon saptanırken, kansellöz kemikte ise herhangi bir aktif kemik iliği ve korteks oluşumu gözlenmedi (Şekil- 26).



Şekil 26: Kontrol greft grubunun 1. hafta histolojik görünümü. (K: Kavite )  
(Trikrom Masson, orjinal büyütme X40)

## A2- 1.Hafta Kontrol Greft+ TZP Grubu

Defekt alanında kanlanmada artışın yanısıra kavite boşluğunu dolduran primer (birincil) kemik trabekülleri ve çevresinde bağ dokusu izlendi. Greft etrafında kemik iliği oluşumu ve osteogenezis gelişimi saptanmadı. Ancak kavitenin çeperinde osteoblastik aktivitenin başladığı ve buna bağlı olarak yeni kemik oluşumunun geliştiği izlendi (Şekil 27).

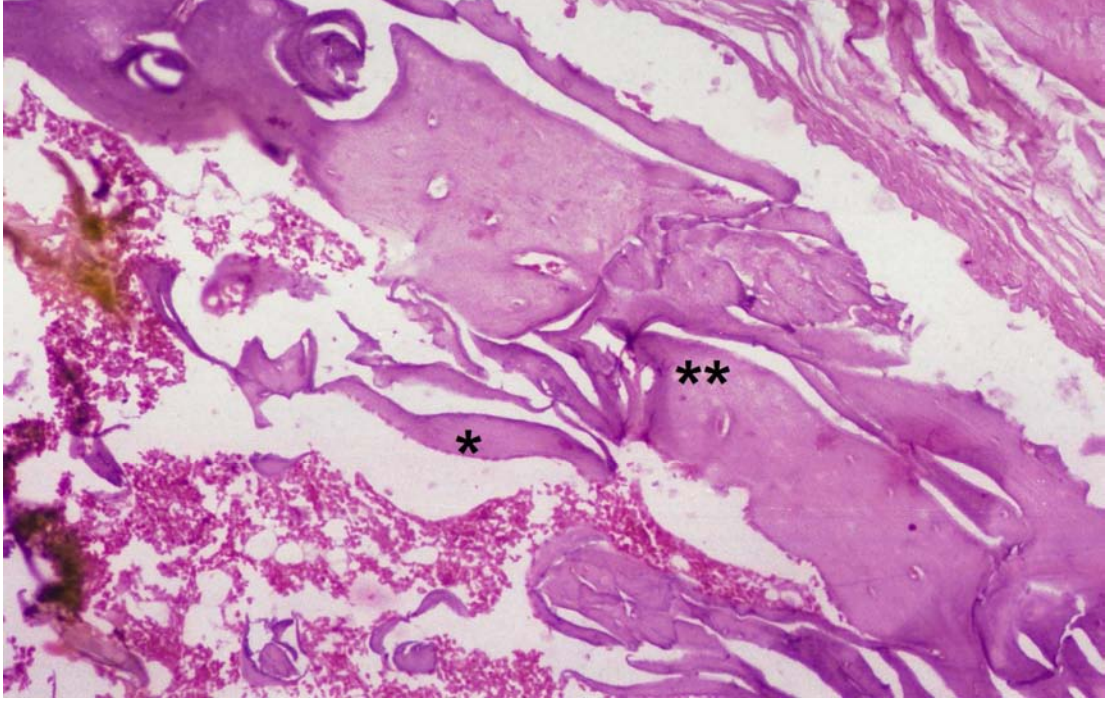


**Şekil 27:** Kontrol Greft+ TZP grubunun 1.hafta histolojik görünümü. (\*:Primer kemik trabekülleri, **BD:** Bağ dokusu), (H.E. boyama, orijinal büyütme X40).



### A3-1.Hafta Kontrol Greft+ TZF Grubu

Defekt alanında primer ve sekonder kemik trabekülleri izlendi. Bu kesitlerde kavitenin tabanında ve duvarında yeni kemik oluşumu mevcuttur. Osteoblastik aktivitenin gelişimine bağlı primer ve sekonder kemik trabeküllerinin meydana geldiği gözlemlendi (Şekil - 28)

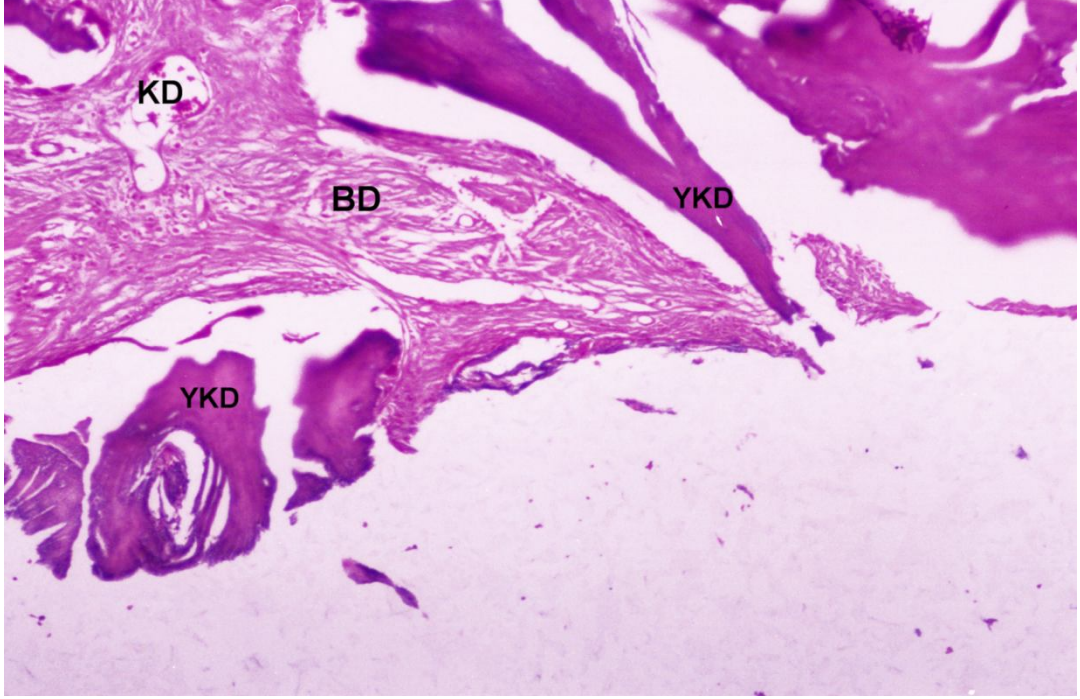


**Şekil 28:** Kontrol Greft+ TZF grubunun 1. hafta histolojik görünümü.

(\*: Primer kemik trabekülleri, \*\*: Sekonder kemik trabekülleri) (H.E. orijinal büyütme X40).

#### A4-2. Hafta Kontrol Greft Grubu

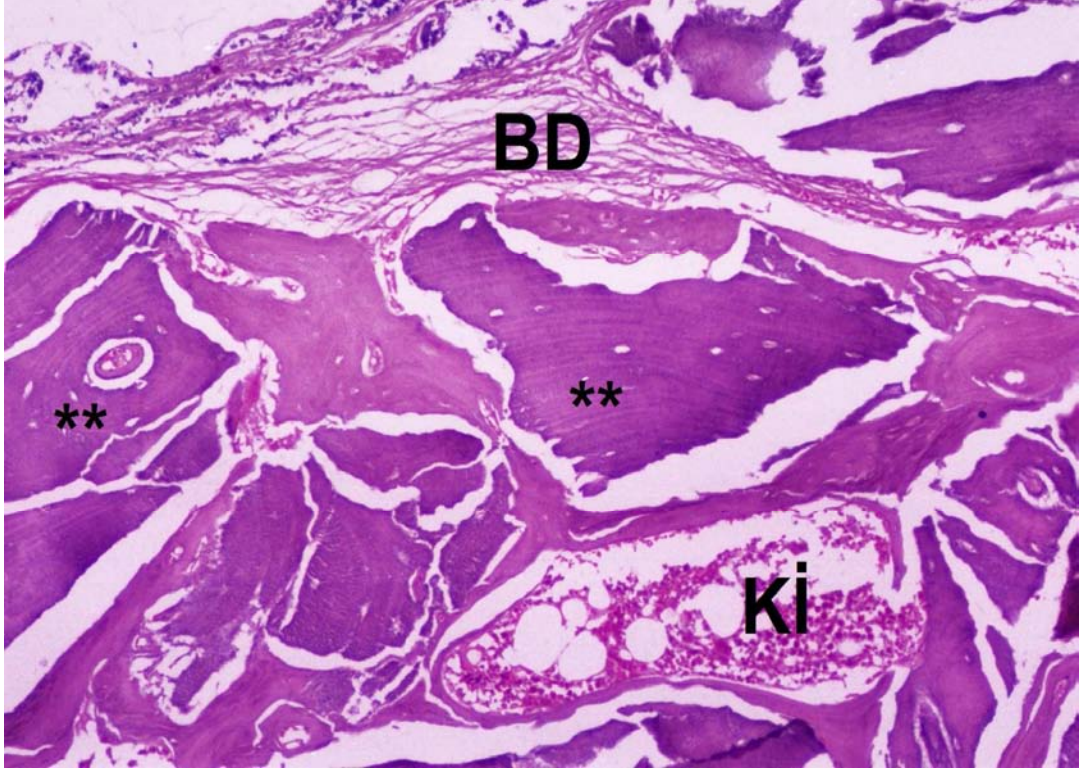
Defekt alanında, yeni oluşan kemik dokusu ile aralarında bol kan damarı içeren bağ dokusu izlendi. Osteoblastik aktivitenin ise devam ettiği görüldü. Bağ dokusunda oluşumunda artış ve enflamasyon geliştiği izlendi (Şekill 29).



**Şekil 29:** Kontrol Greft grubunun 2. hafta histolojik görünümü (YKD: Yeni oluşan kemik dokusu, KD: Kan damarı, BD: Bağ dokusu) (H.E. orijinal büyütme X40).

### A5-2.Hafta Kontrol Greft+ TZP Grubu

Defekt alanında, bağ dokusu zemininde sekonder kemik trabekülleri ve aralarında kemik iliği belirgin olarak izlenmiştir (Şekil 30).

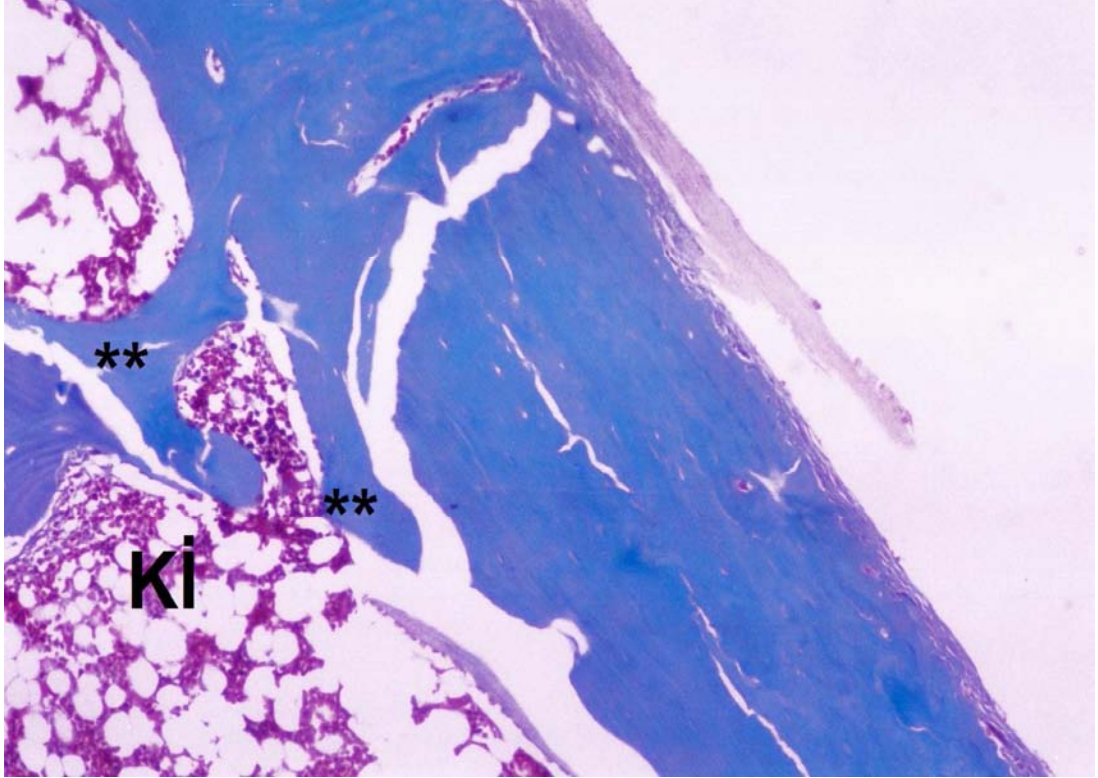


**Şekil 30:** Kontrol greft+ TZP uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü (BD: Bağ dokusu, \*\*: Sekonder kemik trabekülleri, Ki: Kemik iliği) (H.E. orijinal büyütme X40).



## A6-2. Hafta Kontrol Greft+ TZF Grubu

Defekt alanında, sekonder kemik trabekülleri ve araların ise kemik iliği ile onarıldığı gözlemlendi (Şekil 31).

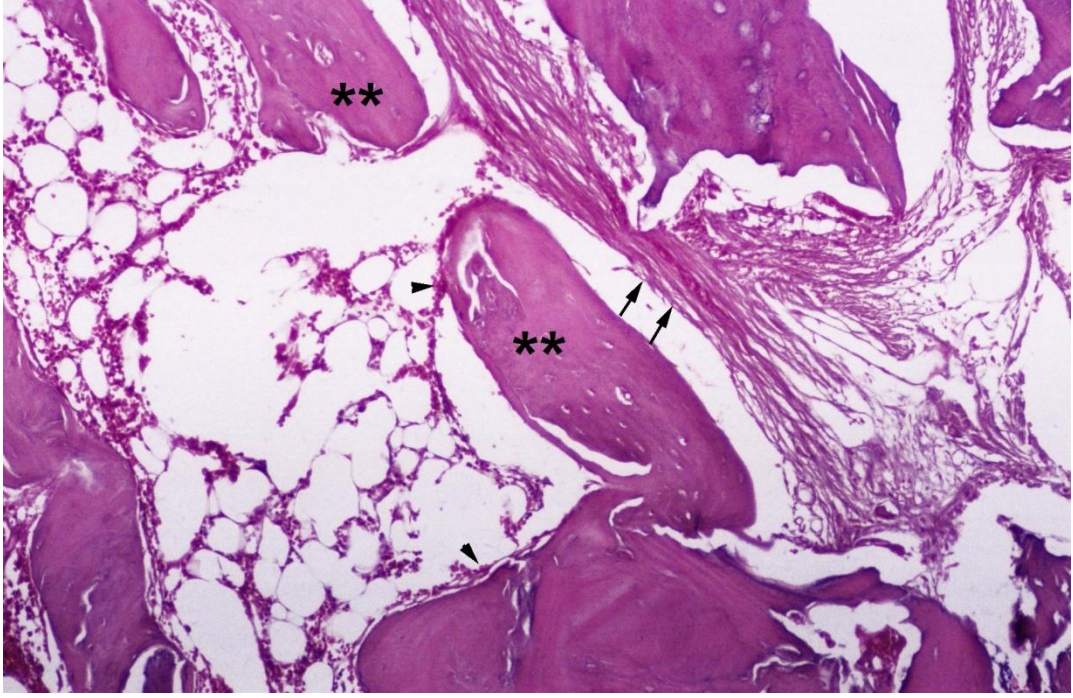


**Şekil 31:** Kontrol Greft+ TZF uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü (\*\*: Sekonder kemik trabekülleri, **Kİ:** Kemik iliği ) (Masson trikrom orijinal büyütme X80).



### A7-7. Hafta Kontrol Greft Grubu

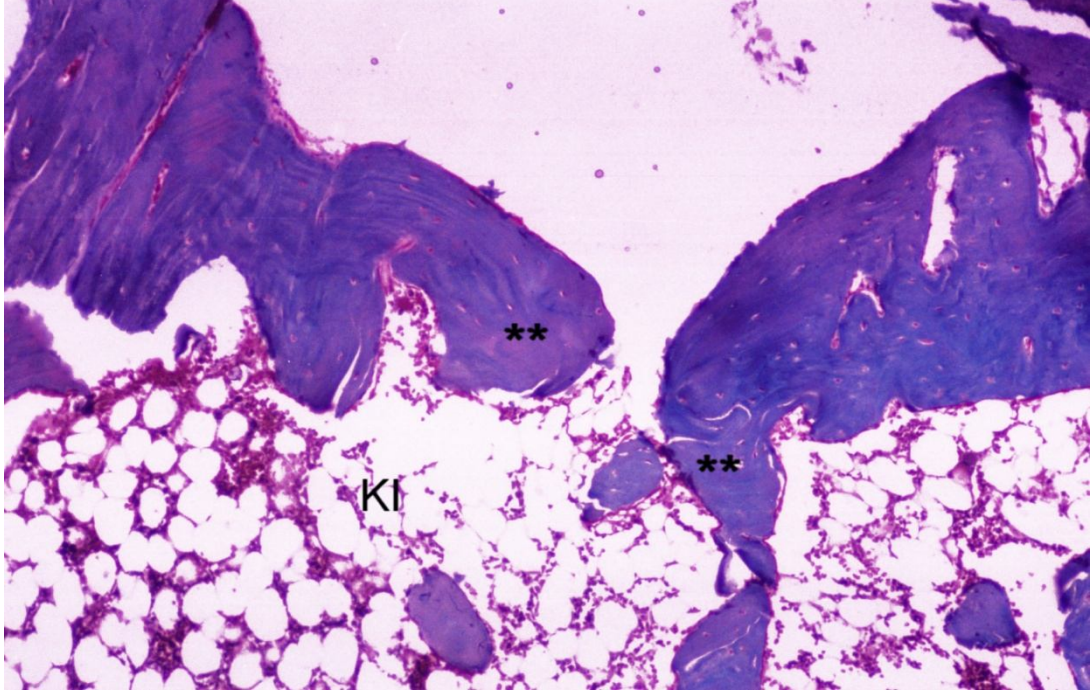
Defekt bölgesinde, kanlanmadaki artış dikkat çekiciydi. Bol kan damarlarının yanısıra oluşan yeni kemik trabekülleri ve trabeküller çevresinde osteoblast hücreleri görüldü. Bazı alanlarda ise kollajen lif demetleri ve fibroblastlar daha yoğun olarak izlendi (Şekil 32).



**Şekil 32:** Kontrol Greft uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü (\*\*: Sekonder kemik trabekülleri, **ok başı:** trabeküllerin çevresinde osteoblastlar, **çift ok:** Kollajen lif demetleri)(H.E. orijinal büyütme X40).

### A8-7.Hafta Kontrol Greft+ TZP Grubu

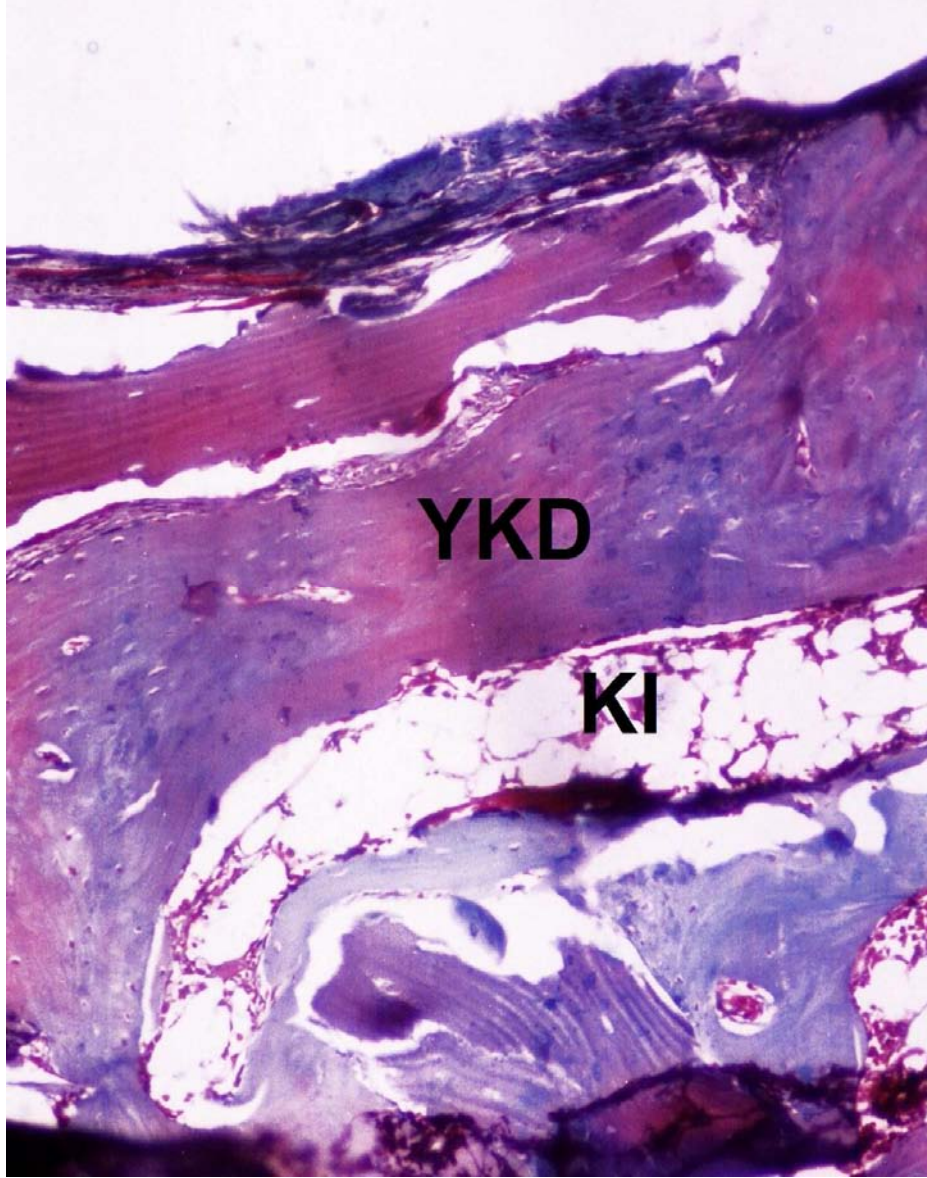
Defekt alanının, sekonder kemik trabekülleri ve kemik iliğiyle onarıldığı gözlemlendi. Osteblastik aktivitenin ise yer yer devam ettiği görüldü (Şekil 33).



**Şekil 33:** Kontrol Greft+ TZP uygulanan grubun 7. Hafta histolojik görünümü (\*\*: Sekonder kemik trabekülleri, KI: Kemik iliği) (Trikrom Masson orijinal büyütme X40).

### A9-7.Hafta Kontrol Greft+ TZF Grubu

Defekt alanındaki kavitenin, yeni kemik trabekülleri tarafından kapandığı ve trabeküller arasında kemik iliği oluşumu net olarak izlendi. Osteogenezis iyi seviyede gelişirken, yeni oluşan kemiğin greftle yapılan ile bağlantı kurduğu izlendi.(Şekil 34).



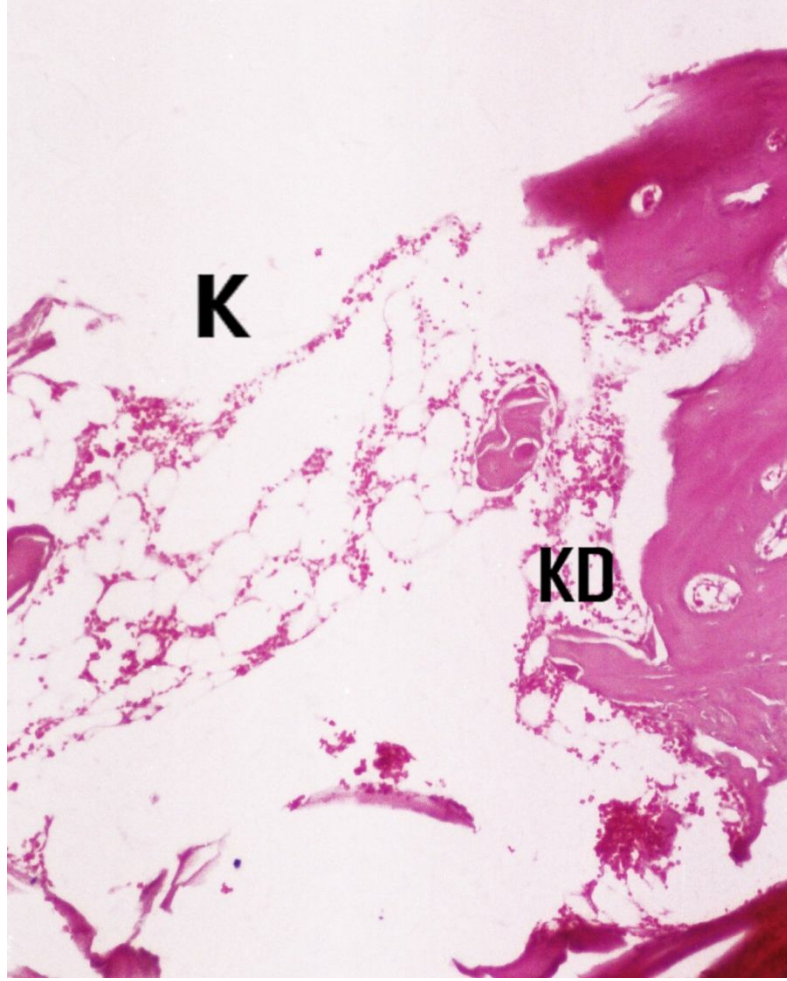
**Şekil 34:** Kontrol Greft+ TZF uygulana grubun 7. hafta histolojik görünümü (KI: Kemik iliği, YKD: Yeni kemik dokusu) (Trikrom masson orijinal büyütme X40)



#### 4.2.B-Diabet Grubu

##### B1-1.Hafta Diabet Greft Grubu

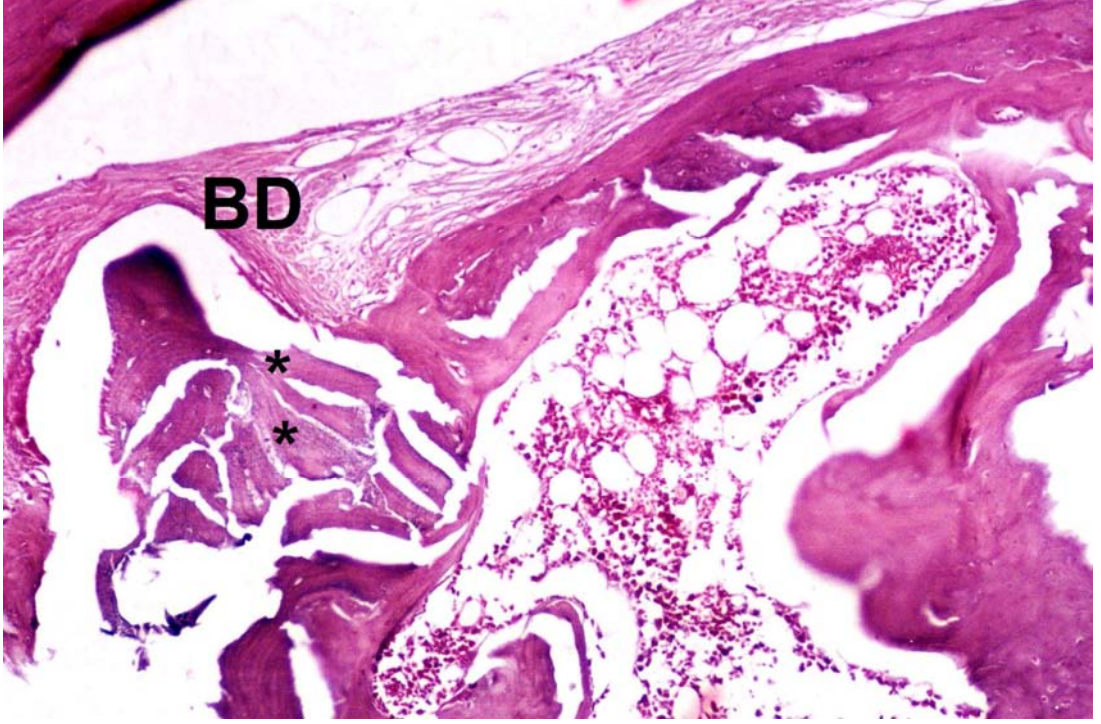
Defekt bölgesinde açılan kavite geniş bir alanda gözlenirken bağ dokusunda içerdiği kan damarlarının, ince kollajen liflerin ve fibroblastların kavitenin içine doğru ilerlediği görüldü (Şekil 35).



**Şekil 35:** Diabet oluşturulan ratlarda greft uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü(**K**: Kavite, **KD**: Kan damarı) (H.E. orijinal büyütme X40).

### B2-1.Hafta Diabet Greft+ TZP Grubu

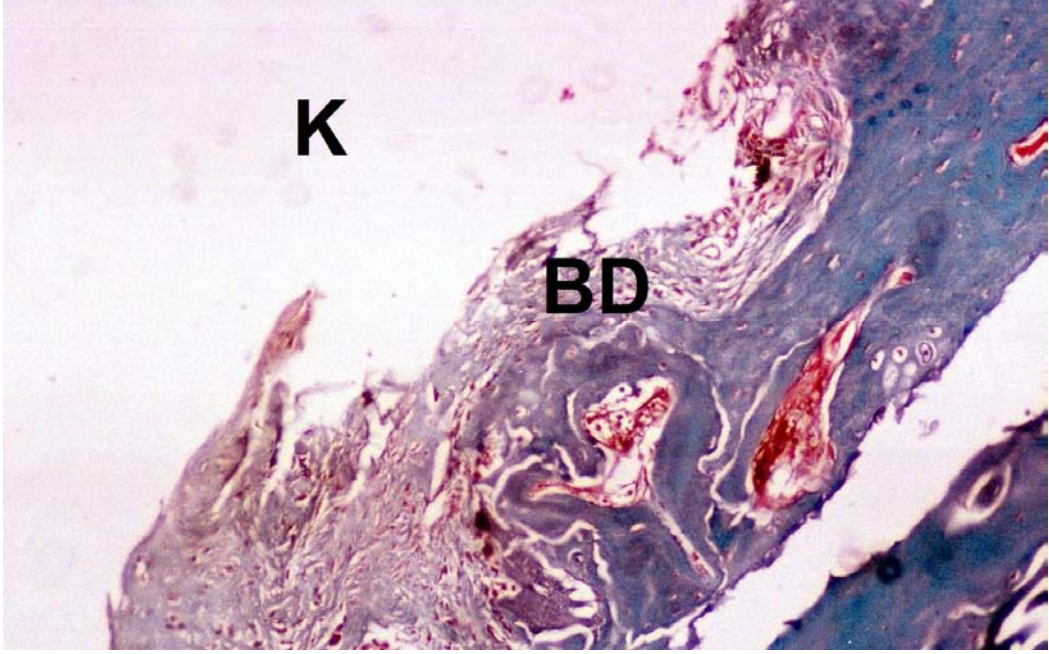
Defekt alanındaki kavitenin duvarlarında primer kemik trabeküllerinin oluştuğu ve trabeküllerin arasını çevreleyen enflamatuvar hücreler izlendi. (Şekil 36).



**Şekil 36:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZP uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü (\*:Kemik trabekülleri )(H.E. orijinal büyütme X40).

### **B3-1.Hafta Diabet Greft+ TZF Grubu**

Defekt bölgesinde açılan kavitenin çeperinde osteoblastik aktiviteye bağlı gelişen yeni kemik oluşumu gözlemlendi. Bölgede bağ dokusu ve enflamatuar hücreler izlendi. (Şekil 37).

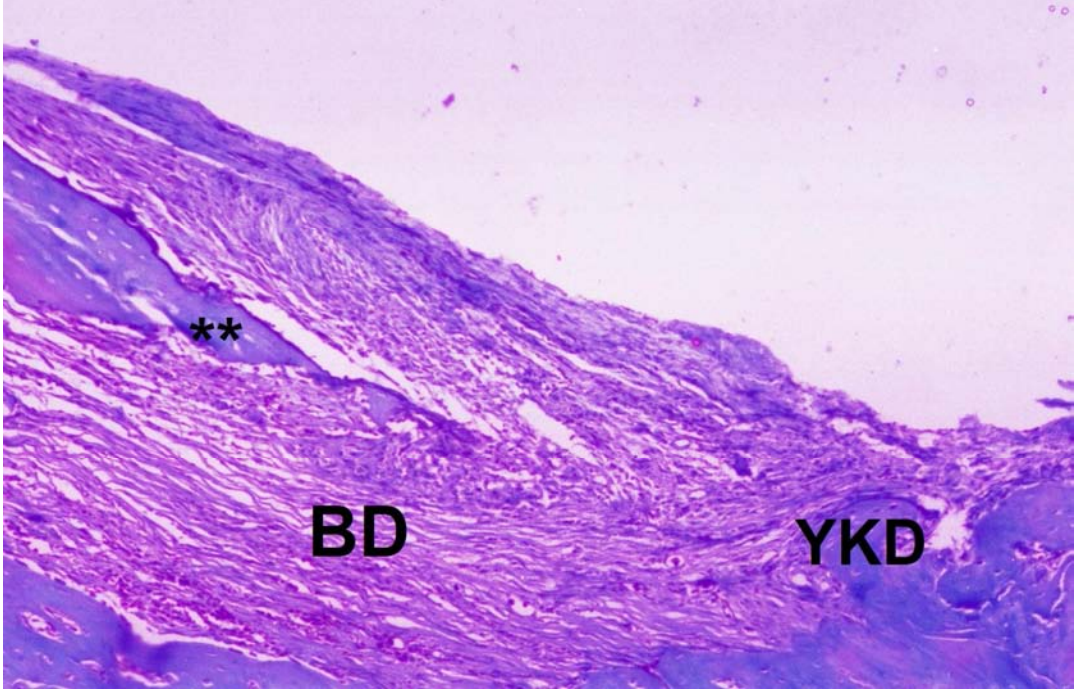


**Şekil 37:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 1. hafta histolojik görünümü (**BD:** Bağ dokusu, **K:** Kavite) (H.E. orijinal büyütme X40).



#### **B4-2.Hafta Diabet Greft Grubu**

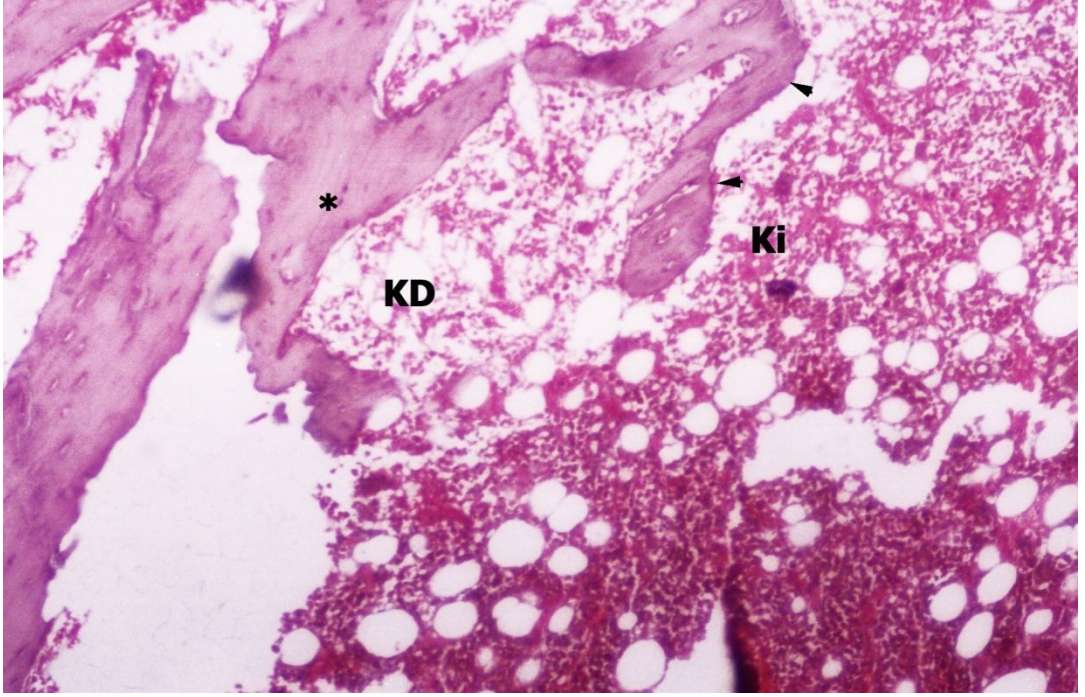
Defekt alanındaki kavitenin yoğun bağ dokusu zemininde yeni kemik trabeküllerinin oluştuğu izlendi (Şekil 38).



**Şekil 38:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü (**BD:** Bağ dokusu, **YKD:** Yeni kemik dokusu, **\*\*:** Sekonder kemik trabekülleri ) (Masson trikrom orijinal büyütme X40).

### B5-2.Hafta Diabet Greft+ TZP Grubu

Defekt bölgesinde, yeni oluşan kemik dokusu ile aralarında bol kan damarı içeren kemik iliği izlendi. Osteoblastik aktivitenin ise devam ettiği görüldü (Şekil 39).

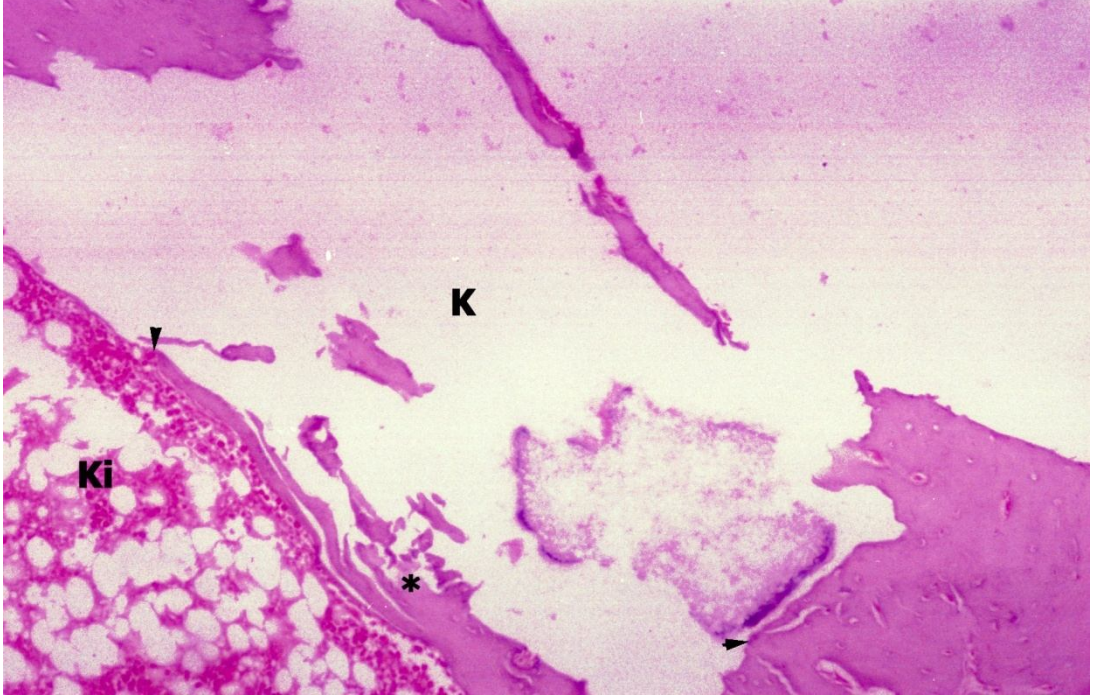


**Şekil 39:** : Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZP uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü (\*: Primer kemik trabekülleri, **KD**: Kan damarı, **Ki**: Kemik iliği, **Ok başı**: Osteoblastik aktivite )(H.E. orijinal büyütme X40).



### B6-2.Hafta Diabet Greft+ TZF Grubu

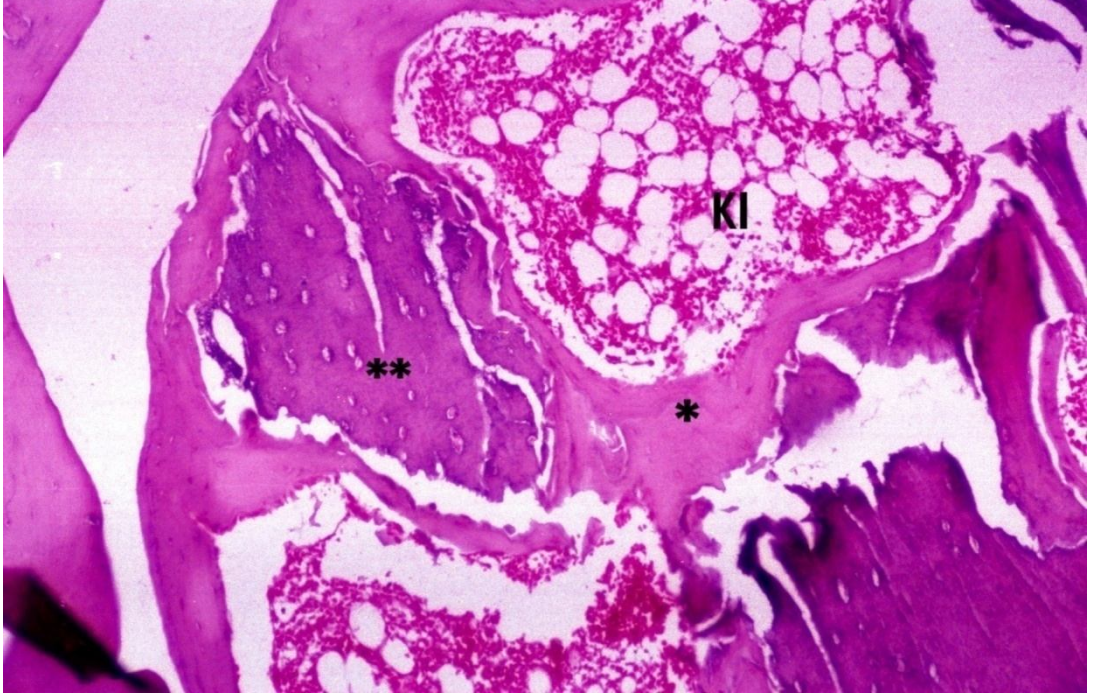
Defekt bölgesindeki kavite dar bir alanda gözlenirken, periferden osteoid doku yapımının ilerlediği görüldü. Bu dokuyla birlikte, bağ dokusunda kollajen lifleri ve başta fibroblastlar olmak üzere kavitenin içine doğru ilerlediği izlendi. (Şekil 40).



**Şekil 40:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 2. hafta histolojik görünümü (K:Kavite, KI: Kemik iliği, \*:Sekonder kemik trabekülü, Ok başı: Osteoblastlar) (H.E. orijinal büyütme X40).

### B7-7. Hafta Diabet Greft Grubu

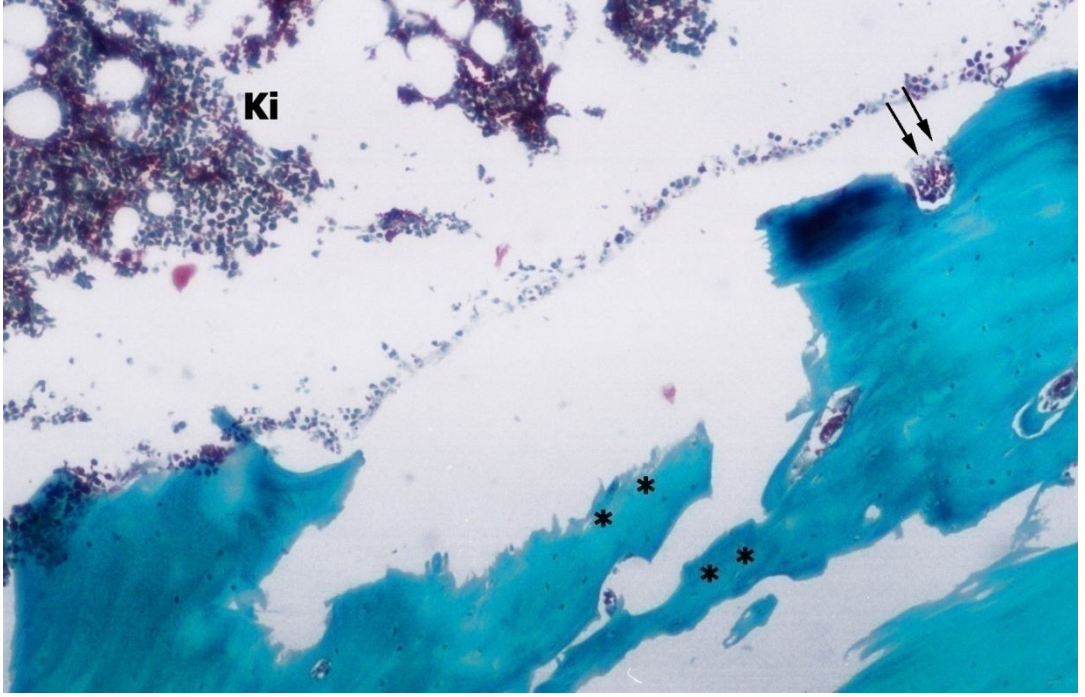
Defekt alanının, primer ve sekonder kemik trabekülleriyle tamamen dolduğu gözlemlendi. Primer kemik trabekülleri arasında kemik iliği izlendi (Şekil 41).



**Şekil 41:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü (\*: Primer kemik trabekülleri, \*\*: Sekonder kemik trabekülleri, **KI**: Kemik iliği ) (H.E. orijinal büyütme X40).

### B8-7.Hafta Diabet Greft+ TZP Grubu

Defekt alanında yeni kemik trabekülleri ve kemik iliği izlenirken, osteoklastik aktivitenin ise devam ettiği görüldü (Şekil 42).

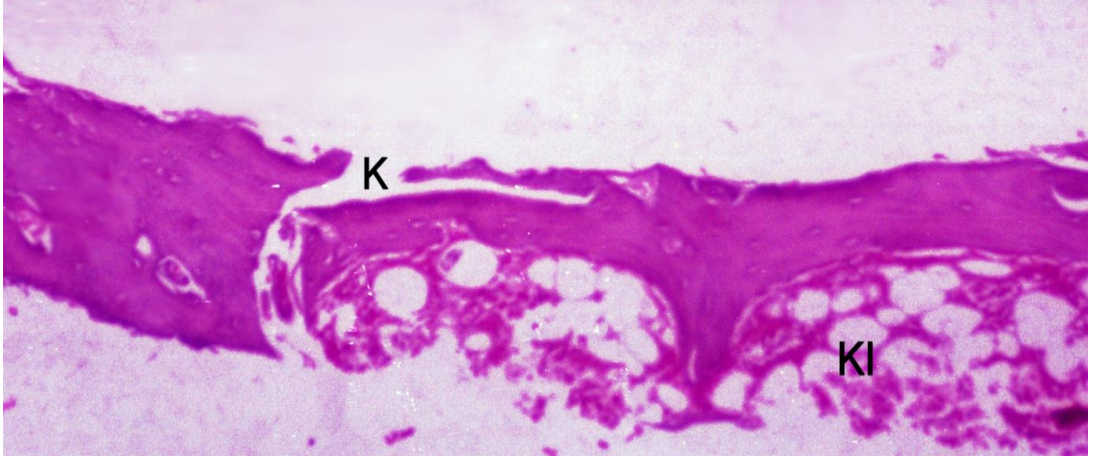


**Şekil 42:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+TZP uygulanan grubun 7. hafta histolojik görünümü (**KI:** Kemik iliği, **\*\*:** Sekonder kemik trabekülleri, **Çift ok:** Osteoklast) (Masson trikrom orijinal büyütme X80).



### **B9-7.Hafta Diabet Greft+ TZF Grubu**

Defekt bölgesindeki kavitede çok az bir açıklık izlenirken bol miktarda kemik iliğinin oluştuğu görülmüştür. (Şekil 43).



**Şekil 43:** Diabet oluşturulan ratlarda Greft+ TZF uygulanan grubun 7. Hafta histolojik görünümü (**K:** Kavite, **KI:** Kemik iliği ) (H.E. orijinal büyütme X40).

**Erken dönem sonuçları** (1. hafta ve 2. hafta) değerlendirildiğinde, gruplar arasında belirgin bir fark bulunmadığı görüldü.

**Geç dönem sonuçları** (7. hafta) değerlendirildiğinde; kaviteye uygulanan biyomateryaller içinde sağlıklı grubun Greft + TZP ve Greft + TZF uygulanan gruplar arasında, kontrol grubuna kıyasla yeni kemik oluşumu açısından anlamlı farklılık görülmüş olup; iyileşmenin istenilen düzeyde gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

- Kontrol grubunun Greft + TZF grubunda 7. hafta sonunda, Greft + TZP grubuna kıyasla vaskülarizasyon ve osteoblastik aktivitenin yoğun olduğu ve sekonder kemik oluşumunun daha fazla olduğu görüldü.
- Diabet grubunun ise Greft + TZP ve Greft + TZF uygulanan gruplar arasında, kontrol grubuna kıyasla yeni kemik oluşumu açısından belirgin farklılıklar görülmüştür. Aynı şekilde Greft + TZF grubunda 7. hafta sonunda Greft + TZP grubuna kıyasla kemik iliği ve sekonder kemik oluşumunun daha fazla olduğu görüldü.

- Sağlıklı ve diabetik gruptaki kemik iyileşmeleri karşılaştırıldığında ise, sağlıklı grupta erken ve geç dönem sonuçların diabetik grupta kıyasla osteoblastik aktivitenin daha iyi olduğu tespit edildi.

## 5.TARTIŞMA

Akkiz veya konjenital nedenlerle oluşmuş kemik defektlerinde ve dentofasiyal deformitelerden dolayı gerçekleştirilen operasyon alanlarında sıklıkla kemik grefti endikasyonu oluşmaktadır. Bu tip defekt alanları spontan iyileşmeye bırakılırsa, fibrotik yapının migrasyonunu takiben bölgede matür fibröz doku oluşumu başlar. Bu tip gerçekleşen bir fibrotik iyileşmeyle birlikte klinik olarak kaynamama (non-union) ve enkapsülasyon gibi komplikasyonlar da oluşabilmektedir. İşte bu komplikasyonlardan kaçınmak için, kemik hücrelerinin bölgede rejenerasyonunu sağlamak amacıyla defektlerin greft materyalleri ile rekonstrüksiyonuna ihtiyaç vardır (64,66).

Oluşan kemik defektlerin rekonstrüksiyonunda, osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik greftleri öncelikli olarak tercih edilip, günümüzde bu greftler "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Otojen kemik; osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon için gerekli olan kemik mineralleri, kollajen, büyüme faktörleri ve osteoprogenitör hücreleri içerir. Kemik kalitesi ve miktarı yönüyle en sık tercih edilen otojen greft, iliak kemik greftidir. Bununla birlikte; ikinci bir operasyon bölgesi gerektirmesi, operasyon süresinin uzaması, sınırlı miktarda elde edilmesi, donör alan morbiditesi ve komplikasyonları, ilave kan kaybı gibi dezavantajlarından dolayı otojen grefte alternatifler aranmıştır. Otojen kemik greftlerine alternatif olarak allogreftler, ksenogreftler ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (168-172).

Oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında araştırmacılar kemik greft tekniklerini geliştirmek, daha hızlı ve daha yoğun bir kemik rejenerasyonu sağlamak için halen uğraşmaktadırlar. Bu nedenle yapılan çeşitli çalışmalarda büyüme faktörlerinin, hem yumuşak dokuda hem de kemik iyileşmesini artırma ve hızlandırmada önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (75). Klinik çalışmalar, büyüme faktörlerinin ksenogreft materyalleri ile kombinasyonunun, kemik yoğunluğunu arttırmak için uygun olduğunu göstermiştir (173).

Preklinik çalışmalar ise trombositlerin, kemik yenilenmesinin de içinde bulunduğu yara iyileşme sürecini stimüle eden ve arttıran büyüme faktörlerine sahip olduğunu kanıtlamıştır (174,175).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kemik iyileşmesinde rol alan birçok uyarıcı faktör tanımlanmıştır. Son yıllarda rekombinant teknolojinin gelişmesi, bu yolla elde edilen büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin daha iyi ortaya konulmasına yardımcı olmuştur. Çalışmalar en çok TGF ailesinden olan Bone Morfogenic Proteinler üzerine yoğunlaşmış olmakla birlikte TGF- $\beta$ , PDGF, FGF, VEGF ve IGF, kemik iyileşmesinde etkisi ortaya konulan diğer büyüme faktörleridir. Bunların deneysel çalışmalarla kemik iyileşmesi üzerine etkinliği gösterilmiş, bazıları sınırlı da olsa klinikte kullanılmıştır. Ancak kullanım alanları oldukça sınırlı kalmıştır. Bu olumsuz durumun önemli nedenlerinden biri de, rekombinant teknolojinin oldukça pahalı olmasıdır (176-178).

Dolaşımda bulunan trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde; VEGF, PDGF, TGF  $\beta$ 1 ve  $\beta$ 2, bFGF gibi pek çok büyüme faktörü depolanmış durumdadır. Çeşitli uyarılara karşı trombosit aktivasyonu olduğunda, bu maddeler granüllerden salınırlar. Bu bilgiye dayanarak, rekombinant teknikle yüksek maliyet nedeniyle yeterince kullanıma girememiş büyüme faktörlerinin, maliyetinin düşürülüp, direkt kişinin kendi kanından hazırlanması amaçlanmıştır. Venöz kandan santrifüje edilerek ayrıştırılıp, fibrinojen içeren plazmanın süspansiyon haline getirilmesiyle trombositten zenginleştirilmiş plazma hazırlanır. Bu TZIP' nin içerdiği trombositlerin trombin ve kalsiyumla aktive edilmesi ilkesine dayanan bu teknikte, birçok büyüme hormonunu aynı anda ve büyük miktarlarda uygulamak mümkündür. Farklı tekniklerle plazmadaki trombosit sayısı 3-8 katına kadar konsantre edilebilir (71,179,180).

Teorik olarak çok şey vaat eden TZIP, Smart PReP (Harvest Technologies, Norwell MA), Plasma Seal (Plasma Seal, San Francisco, CA), Platelet Concentrator (Implant Innovations, Inc. 3i, West Palm Beach, FL) gibi ticari firmaların geliştirdiği cihazlar sayesinde daha kolay ve ucuz elde edilebilir hale gelmiştir. Bu gelişme, beklentinin yüksek olması, uygulamanın kolaylığı, otolog hazırlanması ve otolog olmayan kan ürünlerinin yan etkilerini taşınamaması nedeniyle ürünün klinik uygulamalara hızla girmesini sağlamıştır (181).

TZIP'nin enfeksiyon oluşturabileceğine ait deneysel düşünceler tarafından, TZIP'nin kan pıhtısı olduğunu ve bakteri üretmek için mikrobiyoloji

laboratuvarlarında kan agarı kullanılması örnek gösterilerek ileri sürülmüştür. TZP, her yarada şekillenen kan pıhtısı substratı olarak tanımlanır. Ancak herhangi bir bakteriyel büyümeyi desteklemez. Olgun kan pıhtısının pH'sı 7.0-7.2 iken, TZP'nin pH'sı 6.5-6.7'dir ve bununla birlikte daha asidik bir solüsyondur. Bu konuda bakteriyel büyümeyi inhibe edebileceği yönünde teoriler de vardır (13). Bu soruna yönelik, yeterli çalışma ve ulaşılabilir bilgi yoktur. Literatür bilgilerine göre, benzer tipteki kemik greftlerinin, TZP'li ya da TZP'siz iyileşmelerinin karşılaştırılmasında, enfeksiyonun inhibisyonunda ya da desteklenmesinde bir fark bulunmadığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte klinisyenin TZP' yi hazırlarken aseptik teknik kullanımına dikkat etmesi gerekmektedir (39).

Kemik iyileşmesi ve kemik greftleme; hücrel proliferasyon mekanizması, osteogenesis, osteokondüksiyon, osteoindüksiyon ile oluşturulan yeni kemik rejenerasyonuna bağlıdır. Büyüme faktörlerine olan bağımlılık, osteogenesisin temelinde mevcuttur ve osteogenesis büyüme faktörlerinin seviyesi TZP ile artırılarak çoğaltılabilir. Osteokondüksiyon, TZP' da bulunan üç hücre adezyon molekülünü gerektirir ve bunların greftte artan konsantrasyonu, osteokondüksiyonu artırır. Yapılan çalışmalarda hem yeni kemik rejenerasyonu için, hem de otojen kemik, allogenik materyaller, kemik benzeri veya kompozit greftlerle yapılan greftlemelerde, TZP'nin yeni kemik oluşumunu hızlandırdığı ve çoğalttığı bildirilmiştir (39,182).

Anitua isimli araştırmacı; diş çekimi sonrası oluşan boşluğa TZP uygulamış ve hem epitelizasyon hem de kemik dansitesinde artış rapor etmiştir (183). Trombositten zengin plazma, invitro ortamda fetal osteoblast benzeri hücrelerin rejenerasyon ve fonksiyonelliğini artırıp, mezenkimal kök hücrelerin ortama göçünü sağlamaktadır.

Aghaloo (99) ve Butterfield (97), isimli araştırmacılar ise, kemik greftleriyle yaptıkları deneysel çalışmalarında, TZP'nin üstünlüğünü gösterememişlerdir. Bununla birlikte; TZP'nin osteointegrasyon için kullanılan otojen greftlere eklenmesinin, kemik iyileşmesini hızlandırdığını bildiren araştırmalar mevcut olup, yapılan bir çalışmada ise maksiller artroplastide TZP'nin kemik greftleriyle birlikte kullanımının başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (185).



Kawase ve Okuda isimli araştışıcılar, TZP'nın periodontal ligamentte kollajen sentezini ve invitro osteoblastik aktiviteyi arttırdığını göstermelerinden sonra; Huang ve arkadaşları ise gingival çekilmelerde koronal ilerleme flebine TZP uygulaması yapmışlar, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme artışı saptayamadıklarını rapor etmişlerdir.(186,187).

Siebrecht ve Aspenberg isimli araştışıcılar ise, TZP'nın poröz hidroksiapatit içine kemik ilerlemesini ve kemik oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir. Yine Aspenberg, sıçan aşıl tendonunda yaptığı çalışmasında, TZP uygulanan tendon defektinin tendon kopma kuvvetinde ve tendon kallusunda artışa neden olduğunu saptamıştır (45,188). Farklı çalışmalarda ise ligamentler üzerinde benzer etkiler saptanmış ve artroskopik cerrahide kullanımı önerilmiştir (189).

Aghaloo ve arkadaşları (2002) yaptıkları deneysel bir çalışmada, 15 tavşanın kraniumunda oluşturdukları 4 defektin birini boş bırakıp diğerlerini otojen kemik, otojen kemik + TZP ve sadece TZP ile doldurmuşlardır. Histolojik değerlendirmede otojen kemik ve TZP+ otojen kemik kullanılan defektlerde daha fazla kemik oluşumunun gerçekleştiği gözlenmiştir. Histomorfometrik değerlendirmede ise otojen kemik + TZP uygulanan defektte daha fazla kemik alanına rastlandığı bildirilmiştir(99).

Pieri ve arkadaşları (2009), yaptıkları deneysel çalışmada 8 domuzun bilateral mandibular premolar dişlerini ekstirpe edip, soketleri otojen mandibular kemik, florohidroksilapatit (FHA), TZP+FHA ve mezenkimal kök hücre (MSCs)+TZP+FHA ile greftlemişlerdir. 3 ay sonra hayvanları sakrifiye ederek, biyopsi materyallerinin histomorfometrik incelemelerinde otojen kemik grubunun (%46.97) ve MSCs+TZP+FHA uygulanan grubun (%45.28) diğer gruplara kıyasla daha fazla canlı kemik alanına sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. MSCs+TZP+FHA kullanılan örneklerde, greft parçacıklarıyla yeni kemik arasındaki ilişkinin daha fazla olduğuda (%59.23) gösterilmiştir (41).

Pryor ve arkadaşları yaptıkları deneysel bir çalışmada ise (2005), oluşturulan kranial defektin 18 ratta absorbe olabilen kollojen sünger (ACS) ve TZP karışımıyla, kalan 12 rattaki defektte ise sadece ACS ile doldurarak 4 ile 8 hafta sonraki iyileşmeyi, histolojik ve histomorfometrik olarak

incelemişlerdir. Araştırmacılar TZP kullanılan bölgede, kemik şekillenmesinin oldukça yüksek değerde olduğunu rapor etmişlerdir (109).

Marx ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (1998), kemik greft hücrelerinin trombositlerdeki büyüme faktörlerinin reseptörlerini buldurması gerektiğini bildirmişlerdir. Radyografiler ve bilgisayarlı tomografiler; TZP destekli greftlerin kemik mineral yoğunluğunun, TZP desteksiz kemik greftlerinkinden 1,6- 2,2 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu artış, TZP ile stimüle edilen kemik greftinin, klinik olarak daha hızlı şekillenmesinin ve erken olgunlaşmasının bir göstergesidir. Histomorfometrik çalışmalar; TZP' sız otojen kemik greftinin %55± 8 hacminde kemik trabekülü üretirken, TZP destekli kemik greftinin %74± 11 hacminde kemik trabekülü meydana getirdiğini göstermiştir. Araştırmacılar bu ölçümün, oluşan kemik yoğunluğunun TZP tarafından arttırıldığının bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (71).

Jensen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (2004), 8 köpeğin humerusunda oluşturulan defektler TZP, dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (FDBA), FDBA+ TZP ile rekonstrükte edilmiş ve dental implantlar yerleştirilmiştir. Bu araştırma sonucunda TZP'nin greft uygulanan ya da uygulanmayan implantlarda kemik oluşumunda bir etki göstermediği rapor edilmiştir (190).

Eun-Seok ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel bir çalışmada (2001) ise, 20 Yeni Zelanda tavşanının kalvariumunda oluşturdukları defektin 10 tanesi doğal kansellöz bovin kemik minerali ve TZP karışımı ile diğer 10 tanesi ise sadece doğal kansellöz bovin kemik minerali ile rekonstrükte edilmiştir. Radyografik değerlendirmede test grubunda mineralizasyon oranı; 4 hafta sonra %54,7 ± 5.9 iken, 8 hafta sonra %77,4 ± 4,9 olarak rapor edilmiştir. Kontrol grubunda bu oran 4 hafta sonra %38,3 ±6.5 iken, 8 hafta sonra %51,0 ± 4,0 olarak rapor edilmiştir (191).

Huszar ve arkadaşları ise (2006) periodontal defekti olan hastalara TZP, doğal kemik minerali ve YDR uygulamışlar ve histolojik olarak bu gruplar arasında iyileşmede bir fark olmadığını rapor etmişlerdir (192).

İlgenli ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da (2006), 22 hastada 28 kemik içi defekti, dondurulmuş kurutulmuş demineralize kemik allogrefti (DFDBA)+TZP ve sadece TZP ile doldurulmuştur. Araştırmacılar 18 aylık

radyografik ve klinik takip sonrası, DFDBA+TZP karışımının daha iyi sonuç verdiğini rapor etmişlerdir (110).

Wiltfang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da (2004), 24 domuzun frontal kemiğinde oluşturulan defektlere otojen kemik,  $\beta$ -trikalsiyum fosfat, bovin kansellöz blok, bovin kollajen sponge ve 2 farklı şekilde hazırlanmış TZP ( Curasan, 3i) uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda otojen greftte 3i modeliyle hazırlanan TZP'nin başlangıçta önemli etki gösterdiğini, ksenojenik kemik greftleriyle kullanıldığında ise istenilen etkiyi göstermediğini hatta yan etkilerinin olduğunu, bununla ilgili daha fazla çalışma yapılması gerektiğini rapor etmişlerdir (193).

Lekovic ve ark.'nın çalışmasında da, klinik ataçman kazancı parametresinde TZP/kemik grefti grubunda defekt dolumunun çok iyi seviyede olduğu bildirilmiştir (194).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, peptit büyüme faktör seviyesi fazla olan TZP'nin otojen greft materyalleriyle birlikte kullanıldığında, yeni kemik formasyonunu arttırdığını bildirmektedir (75).

**Yaptığımız bu deneysel çalışmada; ratların tibialarında açtığımız defektlere uyguladığımız mineralize kortikal ve kansellöz kemik grefti + rezorbe olabilen kollajen membran + TZP' nin, histolojik olarak osteoid doku gelişiminin ve mineralizasyonunun, sadece mineralize kortikal ve kansellöz kemik grefti + rezorbe olabilen kollojen membran uyguladığımız gruba oranla daha fazla meydana geldiğini gözlemledik. Bu sonucumuz Marx ve arkadaşları (1998) ve Eun-Seok ve arkadaşlarının (2001) yaptıkları çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir.**

Yara iyileşmesini güçlendirmek ve hızlandırmak amacı ile kan kaynaklı ürünlerin kullanımı, yoğun halde bulunan fibrinojen içeren fibrin yapıştırıcılarının kullanımına dayanır (195). 2001 yılında Fransa' da Choukroun tarafından geliştirilen trombosit konsantrasyonunun ikinci jenerasyonu olarak tanımlanan Trombositten Zengin Fibrin (TZF), yumuşak ve sert doku iyileşmesinde kullanılmıştır. Kan pıhtısı, hem yumuşak doku iyileşmesi hem de kemik rejenerasyonunun başlangıç fazında çok önemli bir rol üstlenir. Yara iyileşmelerinde kan pıhtısı iyileşme sürecini başlatır ve düzenler. TZF, trombositleri konsantre ederek doğal kan pıhtısını

zenginleştirmeye çalışan yöntemlerin en güncel olanıdır. Kandan izole edilen trombositler, büyüme faktörlerinin otojen kaynağı olarak bilinir. Konsantre haldeki trombositler, greft materyallerine uygulanarak daha tatmin edilebilir sonuçlar elde edilmeye çalışılmaktadır. TZF kullanımında da asıl amaç, iyileşme sürecini hızlandırmak ve güçlendirmektir (143,146,156,157).

TZF' in, TZP' ya kıyasla daha üstün özellikleri vardır. Bunlar;

- a) Diğer trombosit konsantrasyonlarının aksine herhangi bir antikoagulan veya trombine ihtiyaç duyulmadan, hastanın kendi kanından elde edildiğinden alerjik reaksiyon oluşturma riski yoktur.
- b) Hastanın kendi kanından elde edildiği için ekonomiktir.
- c) Hazırlanması ve uygulanması çok kolaydır. Operasyon esnasında hastadan kan alınır ve hemen santrifüj edilerek hazırlanır (196).

**TZF' nin uygulanması ve elde edilme yöntemlerinin kolay olmasının klinisyenlere büyük faydalar sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu amaçlarla kullanılan değişik kaynaklı maddelerin özellikle pahalı oluşları göz önüne alındığında, TZF ile ilgili çalışmaların önümüzdeki günlerde büyük yoğunluk kazanacağını düşünmekteyiz.**

Steenvoorde ve arkadaşları, basit veya kompleks yara iyileşmesinde TZF kullanarak tedavi ettikleri yaklaşık 550 hastayı kapsayan çalışmalarında TZF' nin iyileşme üzerine çok etkili olduğunu ve hiçbir yan etki göstermediği sonucuna varmışlardır (197).

Diss ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, 20 hastaya greft ve TZF kullanılarak sinüs lift operasyonu yapılmış ve 35 implant uygulanmıştır. Bir yıl sonunda 1 implantta başarısızlık gerçekleşmiş ve ortalama % 97 başarı oranıyla sinüs tabanından itibaren ortalama 3,2 mm kemik elde edildiği bildirilmiştir (167).

He ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (2009), 14 sağlıklı genç gönüllüden alınan kanlardan elde edilen TZP ve TZF materyalleri invitro ortamda değerlendirilmiştir. Çalışmada rat kalvaryumundan elde ettikleri osteoblastlardan oluşan hücre kültüründe 1., 2., 7.,14.,21. ve 28. günlerde, trombositlerin sert ve yumuşak doku iyileşmesinde en etkili olan TGF- $\beta$  ve PDGF-AB büyüme faktörlerinin değerlendirildiğini ve elde edilen sonuçlara göre;

TGF- $\beta$  faktörü TZP de 1. günde, TZF de 14. günde, PDGF-AB ise TZP de 1. günde, TZF de 7. günde en yüksek değere çıktığını rapor etmişlerdir (198).

Aynı zamanda TZP' de bu büyüme faktörleri, yüksek trombin düzeyinin hızlı bir polimerizasyonu başlatmasına bağlı olarak, TGF- $\beta$  ve PDGF-AB büyüme faktörlerinin % 81' inin ilk gün salgılanmasına ve 3., 7. , 14. günde önemli ölçüde azalmasına sebep olmuştur. Bu olay, erken dönemde kemik iyileşmesinde etkin olduğu şeklinde yorumlanmıştır (198).

**Trombositten zengin fibrin, TZP'dan farklı olarak santrifüj esnasında doğal ve aşamalı bir polimerizasyon gösterdiğinden dolayı, dolaşımdaki sitokinlerin fibrin ağındaki etkileşimi artar. Bu etkileşim sonucu, TZF içinde PDGF-AB ve TGF  $\beta$  oranı artar. Bu nedenden dolayı, TZF içindeki büyüme faktörleri daha kontrollü olup TZP'ye oranla daha uzun süre etkinlik gösterirler. Bu sonuçlara göre TZF' nin sert ve yumuşak dokuda etkinliği, TZP den daha fazladır.**

Tsay ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, büyüme faktörlerinin salgılanma süresinin uzunluğuna bağlı olarak, kemik iyileşme süresinin kısaldığını tespit etmişlerdir (198). Karp ve arkadaşları ise, ortamdaki trombin konsantrasyonuna bağlı olarak, konsantrasyonun yüksek olduğu durumlarda kemik defekti bölgesine hücre göçünün baskılandığını rapor etmişlerdir (87).

Cypher ve arkadaşlarının (199) yaptıkları çalışmada ise greft uygulanan kemik iyileşmesinin inflamasyon, revaskülarizasyon, osteogenezis ve remodeling aşamalarını içerdiği; iyileşmedeki başarının greft bölgesinin mekanik stabilizasyonuna, osteoblastların çoğalması ile farklılaşmasına bağlı olduğu ve bu aşamaların ilk 14 günde gerçekleştiği rapor edilmiştir.

**Yapılan literatür taramalarında, TZP ile ilgili yayınların TZF ile ilgili olanlara oranla daha fazla olduğu, ancak TZF ile yapılan klinik ve deneysel çalışmaların yetersiz olması, deneysel çalışmalara olan ihtiyacı ön plana çıkarmıştır. Aynı zamanda TZF ile TZP' nin deneysel olarak karşılaştırılması ile ilgili raporların da yetersiz olmasından dolayı, çalışmamızın bilimsel literatüre katkı sağlayabileceğini düşündük.**

Rekonstrüktif cerrahide fibröz iyileşme, istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkmakta, osteogenezisi lokal olarak stimüle etmek amacıyla geliştirilen yöntemlerle her zaman istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Son yıllarda bu klinik başarısızlıkları önlemek için “Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR)” prensibi geliştirilmiştir (61). YDR, özellikle periodontal defektlerin tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Bariyer materyalin defekt üzerine yerleştirilmesi ile dişeti bağ dokusu hücrelerinin defekt alanına göçünü engelleyerek, periodontal ligamentten organize olan hücrelerin gelişmesine yardımcı olur (62,63).

Defekt alanlarına, bağ dokusu ile epitel hücrelerinin göçünü engellemek amacıyla yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensibinden yola çıkılarak, bariyer membranları kullanılmaktadır. Bu membranlar, bazı olgularda greft materyalleri ile birlikte de uygulanmaktadır. Membran ile allogreft veya alloplastik greft materyallerinin birlikte kullanılmasına “Kombine Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Tekniği” adı verilmiştir (26).

Yara iyileşmesini hızlandırmak için yapılan çalışmalar, tek başına yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) tekniği ya da kemikle yer değiştiren greft materyalleriyle kombine edilen YDR tekniklerinin ardından, kemik formasyonunu arttırabilen faktörler üzerinde odaklanmıştır (75).

Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu teknikte kullanılan membranların rezorbe olanlar ve olmayanlar olarak gruplandırıldığı görülmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalar; daha biyoyumlu olmasının yanısıra, iyileşme sürecinde defekt boşluğunu koruyacak kapasitesinin olması, bariyer ile defekte komşu kemik yüzeyi arasına yumuşak doku büyümesini engelleyecek periferik sızdırmazlık sağlaması ve klinik olarak kolay kullanılabilir olması özelliklerini bünyesinde barındıran rezorbe olabilen materyaller ve özellikle kollajen membranlar üzerinde yoğunlaşmıştır (61). Bu teknikte amaç, bariyer membranların iyileşme bölgesine yerleştirilmesi ile rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin defekt bölgesine proliferasyon sağlanarak, doku iyileşmesini elde etmektir.

Camargo ve arkadaşlarının, periodontal cerrahide kemik içi defektler için 2 farklı rejeneratif tekniğin klinik olarak karşılaştırılması amacıyla yaptıkları çalışmaya 18 hasta katılmıştır. İnterproksimal kemik defektlerinde,

yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için sadece absorbe olabilen polilaktik asit membran ve kombine TZP, YDR için de bovin poröz kemik allogrefti ve membran birlikte uygulanmıştır. Her iki tedavi yönteminin başlangıç değerleri karşılaştırıldığında, önemli miktarda cep derinliğinde azalma ve klinik ataşman kazancı saptanmıştır. Ayrıca iki grup arasındaki bütün değişkenlerin, istatistiksel olarak anlamlı derecede TZP+BPKA+YDR grubunun lehine olduğu rapor edilmiştir (74).

Camargo ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka seri çalışmada ise (2002), TZP/kemik greftini, YDR ile beraber ve ayrı olarak incelemiştir. Çalışmalarının sonuçları, TZP ile kemik grefti beraber kullanıldığında, ek olarak YDR uygulamaya gerek olmadığını göstermiştir. Bu çalışmalarda TZP' nin kullanılmadığı, sadece kemik greft materyalinin uygulandığı grup bulunmamaktadır. Bundan dolayı sadece kemik greftinin, TZP/greft kombinasyonu ile karşılaştırılması yapılamamıştır(194).

**Bu literatürlerin ışığında, çalışmamızda deneysel olarak oluşturduğumuz defektlerin tümü greft materyali ile dolduruldu ve rezorbe olabilen kollajen membran ile kapatıldı. Çalışmamızda membranın bir bariyer görevi yaparak fibrotik iyileşmeye engel olması ve membran ile greft uygulamalarının defekt alanındaki kemik iyileşmelerinde daha etkili olduğu tespit edildi.**

“Greft” terimi canlı dokunun direkt transplantasyonu anlamında kullanılırken, “implant” terimi cansız dokuların transplantasyonunda kullanılmaktadır. Bu anlamda implant materyalleri grubunda; canlılığını yitirmiş allojenik greft, hayvanlardan elde edilen organik ve inorganik cansız materyaller bulunmaktadır. Hastalık bulaşma gibi komplikasyon riskini azaltma amacıyla son 30 yıldır sentetik kemik grefti materyalleri hızla geliştirilmiştir (200,201).

Sentetik materyal olarak; seramik hidroksilapatitler, trikalsiyum fosfatlar, çeşitli metaller ve bunların farklı formlarının kombinasyonları sayılabilir. Bu maddelere “Alloplastik materyaller” denir ve büyük kemik defektleri söz konusu olduğunda ve yapısal desteğe ihtiyaç duyulduğunda önem kazanırlar (200,202,26).

Alloplastik materyaller, erken kemik rejenerasyonunu osteokondüksiyon yoluyla sağlamaktadırlar. İyileşme periyodunun başında defekti dolduran ve

daha sonra rezorbe olan bir alloplastik materyal, ideal bir kemik materyali olarak görülmektedir (200,202,26).

Doku uygunluğu açısından ideal olan ve iyileşme kapasitesi yüksek olan otojen doku greftlerinin bazı dezavantajları da dikkate alınmalıdır. İlk ve en başta gelen husus, otojen dokunun elverişli olmasıdır. Greftin alındığı donör alan için, ikinci bir cerrahi prosedür gerekmektedir. Otojen greftlerin doku uygunluğu avantajı, mevcut biyolojik uyumlu alloplastların halen başaramadığı bir olaydır. Alloplastik materyaller biyolojik olarak hareketsizdir. Oluşan lokal doku reaksiyonu, alıcı dokunun ara yüzünde meydana gelebilir. Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı; kimyasal birleşimi, biyostabilitesi, fiziksel formu, mekaniksel özellikleri ve implant yapılacak olan saha gibi birçok etkene bağlıdır (201). Homogreftler ise aynı tür içinde bir bireyden alınıp diğer bir bireye greftin implante edilmesi anlamını taşır ve osteointegrasyon ile osteokondüksiyon potansiyeli gösterirler, ancak osteoindüktif değildirler (33,203,204).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, alloplastik implantların birçok avantajı vardır. En göze çarpan avantajı, donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Hastada sekel oluşturmama ve operasyon süresinin azalması da önemlidir. Operasyon süresinin azalması ve 2. bir operasyon alanının olmaması, hasta için tercih edilen bir seçenektir. Ek bir operasyon alanı ve anestezi süresi de oluşmaz (200,202-204).

Walsh ve arkadaşları (1995), kemik defektlerinin iyileşmesini sağlamak için kullanılan kemik greftlerinin önemini vurguladıkları deneysel çalışmalarında, koyunların femurunda oluşturdukları defekt alanlarının birine otogreft implante ederken, diğer defekti spontan iyileşmeye bırakmışlardır. Spontan iyileşmeye bırakılan defekt alanının 12. hafta sonunda yapılan tomografik incelemesinde, kemikleşmenin gerçekleşmediği ve defektin fibrotik olarak iyileştiği gözlemlenmiştir. Otojen greft uygulanan bölgenin tomografik incelemesinde ise, defekt etrafında sağlıklı kansellöz kemiğe benzer yeni kemik dokusunun oluştuğunu rapor etmişlerdir (205).

Kliniğimizde de, defektlerin greftlerle rekonstrüksiyonunun önemini vurgulamak amacıyla deneysel araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalardan olan, Gülsün ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada (1997), sentetik kemik grefti ile ksenojenik kemik greftinin osteogenezis üzerine etkileri



deneysel olarak kıyaslanmış ve araştırmalarında greft uygulanan kavitelere kontrol grubuna göre daha başarılı bir osteogenezisin gerçekleştiğini saptamışlardır. Ayrıca sentetik kemik alloplastlarının daha biyokompatibl özellikte olduğunu bildirerek, bu materyallerin kraniomaksillofasiyal cerrahinin çoğu alanında kullanımları açısından çalışmaların devam etmesi gerektiğini vurgulamışlardır (206).

Tanrıkulu ve arkadaşları ise yaptıkları deneysel çalışmalarında (2001), kemikii defektlerde allojenik kemik grefti ve membran kombinasyonunu kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Rekonstrkte edilen defektlerde tama yakın bir kemik iyileşmesi görülürken, boş bırakılan defektlerin büyük kısmında ise fibrotik bir iyileşme olduğunu rapor etmişlerdir (207).

Kliniğimizde yapılan deneysel bir tez çalışmasında da demineralize kemik matriks partiküllerini içeren kalsiyum sülfat esaslı putty ile  $\beta$ -trikalsiyum fosfat granüllerinin kemik içi kavitelere iyileşme üzerine etkileri histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar iki greft materyali arasında istatistiksel olarak fark olmadığını bildirirken, defektlerin greftle rekonstrüksiyonunun önemini rapor etmişlerdir (208).

Kavak ve arkadaşları ise iki sentetik greft materyalini karşılaştırdıkları çalışmalarında (2005), geniş kemik içi defektlerinde tam bir osteogenezis oluşumu için defektin greft materyalleri ile rekonstrükte edilmesinin gerektiğini bildirmişlerdir (209).

Gülsün ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel tez çalışmasında ise (2011), mezenkimal kök hücreleri, bifazik kalsiyum fosfat seramik grefti ve trombositten zengin plazmanın osteogenezis üzerine etkileri 2. ,8. ve 12. haftalarda incelenmiş ve araştırmanın sonucunda osteoblastik aktivite ve osteogenezisin mezenkimal kök hücrenin kombine edildiği gruplarda ideal sonuçlar verdiğini, osteokondüktif etkili greftte büyüme faktörü içeren TZP ve mezenkimal kök hücrelerin ilavesiyle düzenli bir kemik yapının olduğunu ve osteoindksiyonun sağlandığını tespit etmişlerdir. İstatistiksel olarak yapılan gruplar arası kıyaslamalarda da, Greft+ TZP+ Mezenkimal kök hücre grubunun osteogenezisi 2 kat arttırdığını bildirmişlerdir (210).

Sistemik hastalıklara bağlı olarak, iyileşme mekanizmasında bozukluklar görülebilir. Biyomekanik özelliklerde bozulma, defekt alanında

azalmış hücre proliferasyonu ve kollajen sentezinde azalma gibi iyileşmeyi olumsuz etkileyen faktörlere sahip olan Diabetes mellitus, en sık görülen sistemik hastalıklardandır. Uzun süreli idiopatik diabetes mellitus en önemli etkisini temel olarak vasküler sistem üzerinde, ateroskleroz ve küçük damar hastalığı (mikroanjyopati) olarak gösterir. Bu vasküler sekel, yıkıcı sonuçlara yol açar ve hiçbir organ bu sonuçlardan kendini kurtaramaz.

Diabetes mellitusun, hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında değişime neden olduğu ve kemik mineral içeriğindeki azalmanın, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kırık iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterize olduğu rapor edilmiştir (15,19,211-213,)

Ivers ve arkadaşları (2001) tip 1 ve tip 2 diabet ve fraktür arasındaki ilişkiyi incelemeye yönelik yaptıkları geniş çaplı prospektif çalışmalarında, fraktür oranının Tip 1 diabette, Tip 2 diabete göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. (212).

Krakauer ve arkadaşları ise yaptıkları 12 yıllık bir araştırmada, normal bireyler ile karşılaştırıldığında diabetik insanlardaki kemik formasyonunun azalmış olduğunu rapor etmişlerdir (213).

**Literatürlerle uyumlu olarak streptozotosin ile oluşturduğumuz deneysel diabet modeli, Tip 1 diabetes mellitus ile benzerlik göstermektedir. Deneysel olarak diabet modeli oluşturularak yapılmış pek çok hayvan çalışması vardır. Ancak bu çalışmalarda deneysel olarak diabet oluşturulmasında streptozotosin kullanılmıştır (19,214-216).**

Topping ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise (1994), normal hayvanlar ile karşılaştırıldığında kemik formasyonunun endokondral periyodu boyunca tip 10 kollajen üretiminin, diabetiklerde % 60-70 oranında azaldığı gösterilmiştir. Araştırmacılar diabetik hayvanlardaki matriks proteinlerinin üretiminde azalma olduğunu da rapor etmişlerdir (215).

Santana ve arkadaşları (2003), Tip 1 diabetin kemik iyileşmesi ve kemik formasyonu üzerine etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada, streptozotosin ile diabet modeli oluşturulmuş farelerde kafatasında standart defektler hazırlamışlardır. Bu araştırmanın sonucunda, Tip 1 diabetin intramembranöz kemik iyileşmesini bozduğunu ve diabetik hayvanların

diabetik olmayanlara oranla % 40 oranında daha az iyileşme gösterdiğini bildirmişlerdir (19).

Diabetik ratlardaki yara iyileşmesinin bozulma nedenlerinin;

- kollajen formasyonun,
- kapiller dolaşımın ve
- konak defans mekanizmasının bozulması ile bakteriyel invazyonun olduğu düşünülmektedir (214).

Devlin ve arkadaşları (1996) yaptıkları bir çalışmada, deneysel olarak diabet oluşturulan ratlarda diş çekimi soketlerindeki iyileşmeyi incelemişlerdir. Çalışma grupları; streptozotosin kullanılarak deneysel diabet oluşturulan ratlar diabetik, insülin tedavisi gören diabetik ve sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 3 gruptan oluşmuştur. Tüm ratlarda anestezi altında maksiller molar diş çekimi yapılmış ve iyileşmenin değişik zaman aralıklarında denekler sakrifiye edilmiştir. Elde edilen örnekler, Hemotoksilen eozin (HE) ve periyodik asit schiff (PAS) ile boyanarak değerlendirilmiştir (217). Yapılan değerlendirme sonucunda, diş çekiminden 10 gün sonra kontrol grubu ve insülin tedavisi uygulanan diabetik gruptaki sokette kollajen liflerin kalın, diabetik soketteki kollajen liflerin ise ince ve yetersiz olduğu, özellikle apikal bölgede sınırlı miktarda meydana geldiği görülmüştür. Araştırmacılar, kontrol altında olmayan insülin bağımlı diabetiklerde, kollajen çatı oluşumunun diş çekimi soketinde bozulduğunu, bu durumda gecikmiş iyileşme ve artmış alveoler yıkım ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir (217).

El-Hakim isimli araştırmacı ise (1999), normal ve kontrol altında olmayan diabetik ratlarda fibrin stabilize edici faktörün, mandibuler kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptığı çalışmaya, 80 adet rat dahil etmiştir. Denekleri 40 adet sağlıklı ve 40 adet diabetik olmak üzere 2 gruba ayırmış, bu 2 grubu da kendi içinde deney (fibrin stabilize edici faktör ile tedavi edilen) ve kontrol (saline solüsyonu ile tedavi edilen) grubuna ayırmıştır. Denekler 1., 2., 4. ve 6. haftalarda sakrifiye edilmiş, elde edilen örnekler HE ve Van-Gieson boyaları ile boyanarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonrasında araştırmacı, kontrol altında olmayan diabetik ratlarda fibrin stabilize edici faktörün kollajen depozisyonunu arttırdığını ve lifleri daha düzenli hale getirdiğini bildirmiştir (218).

Diabet ile, osteopeni ve azalmış osteoblastik aktivite arasında ilişki olduğuna dair pek çok görüş mevcuttur. Ancak bütün bu çalışmalara ve elde edilen sonuçlara rağmen, diabet varlığı ile kemik iyileşmesi arasında kesin bir ilişkinin varlığı halen tartışmalıdır. Tip 1 diabet kemik mineral yoğunluğunda azalma ile ilişkili iken, tip 2 diabet aksine artmış kemik mineral yoğunluğu ile karakterizedir. Tip 2 diabette artmış kemik mineral yoğunluğuna karşın, kemik kalitesinin düşük olduğu saptanmıştır. Bununla beraber yapılan çalışmalarda insülin tedavisinin, bozulmuş yara ve kemik iyileşmesini büyük ölçüde restore ettiği de ileri sürülmüştür (15,24,219,).

Nevins ve arkadaşları (1998), streptozotosin ile deneysel olarak oluşturulan diabetin, osseointegrasyon üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmaya 20 adet rat dahil etmişlerdir. 10 adet rat diabetik ve 10 adet rat kontrol grubu olarak ayrılmış, tüm ratların femur kemiğine implantlar yerleştirilmiştir. Denekler implantasyonu takiben 28. ve 56. günlerde sakrifiye edilmiş, elde edilen örnekler histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, kontrol ve diabetik grup ratlar arasında kemik oluşum miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını, ancak diabetik ratların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az kemik-implant kontağı oluşturduğunu bildirmişlerdir (220).

Alkan ve arkadaşlarının (2002), sağlıklı ve deneysel olarak diabet oluşturulmuş ratlarda tibial kemik defekti üzerinde sistemik doksisisiklin uygulamasının etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada diabetik, diabetik+doksisisiklin, kontrol ve kontrol+doksisisiklin olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Operasyon sonrası 10. ve 30. günlerde sakrifiye edilen deneklerden elde edilen örnekler histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacılar operasyon sonrası 10. günde diabetik grup sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha az miktarda yeni kemik oluşumu gözlemlediklerini, ancak 30. günde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirmişlerdir (221).

**Çalışmamızda diabetin yukarıda belirtilen etkilerini göz önüne alarak; deneysel olarak oluşturduğumuz diabetik ratlardaki kemik iyileşme düzeylerinin sağlıklı ratlardaki iyileşmeye göre farklılıklarını histopatolojik olarak araştırmayı hedefledik.**

Yaptığımız çalışmada deneysel olarak oluşturduğumuz diabetik ratların tibialarında açtığımız defektlere greft materyali+ TZP karışımı ile rezorbe olabilen kollajen membranın, greft materyali+ TZF karışımı ve rezorbe olabilen kollajen membranın ve sadece greft materyali ile rezorbe olabilen kollajen membranın defekt bölgesine uygulanması ile diabetin kemik iyileşmesine olan etkisi 1., 2. ve 7. haftalarda histopatolojik olarak karşılaştırıldı. **Bu çalışmanın sonunda diabetli olan ratlardaki defektlere konulan TZF karıştırılmış greft grubunda iyileşmenin daha ideal olduğu görüldü.**

**Bizim çalışma sonuçlarımıza göre; deneysel olarak diabet oluşturulmuş ve sağlıklı (diabet oluşturulmamış) ratlarda spontan iyileşmeye bırakılan defektlerin 7. haftadaki histopatolojik değerlendirmelerinde, defektlerde yeni kemik oluşumu açısından belirgin bir fark görülmüştür. Bunun nedenini, diabetin metabolizmadaki etkilerine bağlı olarak intramembranöz kemik iyileşmesinin bozulmasına bağlamaktayız. Bu sonucumuz Topping ve ark. (1994), Santana ve ark. (2003), Devlin ve ark. (1996), El-Hakim ve ark. (1999), Nevins ve ark. (1998) ile Alkan ve ark. (2002)'nin yaptıkları çalışmalarla paralellik göstermektedir.**

**Bu çalışmanın sonunda diabetli olan ratlardaki defektlere konulan TZF karıştırılmış greft grubunda iyileşme normal seviyelerde iken, diabetli olmayan TZF karıştırılmış greft grubunda ise bu iyileşmenin çok daha ideal olduğu tespit edilmiştir.**

*Bu sonuç diabet grubunda; dolaşım yetersizliği, enfeksiyona eğilim, bağışıklık sisteminde bozukluklar ve nöropatlere bağlı yumuşak ve sert doku iyileşmesindeki gecikme sebebiyle olduğunu düşünmekteyiz. Aynı zamanda sonradan diabet oluşturulmuş deney hayvanlarında metabolizma, diabet toleransını henüz gerçekleştiremediğinden doğuştan diabetiklerden farklı sonuçlar alınabilir. Bu durum osteogeneziste aynı sürelerde değişik gruplarda belirgin farklılıkların görülememesinin nedeni olarak yorumlanabilir.*

## 5.SONUÇ

Yaptığımız çalışmada, deneysel olarak oluşturulan diabetin, ratların tibialarında açtığımız defektlere greft materyali+ TZP+ rezorbe olabilen kollajen membranın, greft materyali + TZF+ rezorbe olabilen kollajen membranın ve sadece greft materyali rezorbe olabilen kollajen membranın defekt bölgesine uygulanması ile diabetin kemik iyileşmesine olan etkisi ve bunların sağlıklı grupta kıyaslanması için 1., 2. ve 7. haftalarda histopatolojik olarak değerlendirilmesi hedeflendi.

Bu çalışmanın sonunda;

1. Rat tibiasında açılan kaviteye uygulanan biomateryallerin (Graft, greft +TZP ve greft + TZF) yeni kemik oluşumunda erken dönemde etkisi daha az olup, geç dönemde daha çok etkili olduğu saptanmıştır.
2. Kontrol ve diabet grupları her üç inceleme döneminde (1. , 2. ve 7. haftalar) birbirleriyle karşılaştırıldığında mikroskopik düzeyde belirgin farklılıklar bulunmuştur. Osteogenezisin gerçekleşmesi ve daha ideal bir osteoblastik aktivitenin 7. haftada meydana geldiği saptandı.
3. Diabet grubundaki kemik iyileşme bulguları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, diabetik grupta kemik iyileşmesinin daha zayıf olduğu tespit edildi. Bunun nedeni, diabetin metabolizmadaki etkilerine bağlı olarak intramembranöz kemik iyileşmesinin bozulmasına bağlanılabilir.
4. Gerek kontrol gerekse diabetik grupta kaviteye uygulanan biomateryaller (Graft, greft +TZP ve greft + TZF), her üç inceleme döneminde (1. ,2. ve 7. haftalar) birbirleriyle kıyaslandığında kemik iyileşmesinde en uygun biomateryalin greft + TZF kombinasyonu olduğu kanaatine varıldı.
5. Deneysel olarak oluşturduğumuz defektlerin tümü greft materyali ile rekonstrükte edilmiş ve rezorbe olabilen kollajen membran ile defekt kapatılmıştır. Membranın bir bariyer görevi yaparak fibrotik iyileşmeye engel olması ve membran ile greft uygulamalarının defekt alanındaki kemik iyileşmelerinde etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

6. Deneysel çalışmada ratların tibialarında açılan defektlere mineralize kortikal ve kansellöz kemik grefti + rezorbe olabilen kollojen membran + TZF uygulanan gruptan aldığımız örneklerde histolojik olarak osteoid doku gelişiminin ve mineralizasyonun, mineralize kortikal ve kansellöz kemik grefti + rezorbe olabilen kollajen membran + TZP uyguladığımız gruba oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir.
7. Ayrıca TZF' nin hazırlanmasının TZP' ye oranla daha kolay ve daha pratik olduğunu da gözlemledik.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kemik iyileşmesinde rol alan birçok büyüme faktörü tanımlanmıştır. Son yıllarda rekombinant teknolojinin gelişmesi, bu yolla elde edilen büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin daha iyi ortaya konulmasına yardımcı olmuştur.

Oysa TZF' in uygulanma ve elde edilme yöntemlerinin kolay olmasının, klinisyenlere büyük faydalar sağlayabileceği ve TZF ile ilgili çalışmaların önümüzdeki günlerde büyük yoğunluk kazanacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak kaviteye uygulanan biyomateryaller içinde kemik oluşumu açısından en uygun materyalin TZF olduğu kanaatine varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Dambro M.R.: Griffith's 5 Minute Clinical Consultant. Williams&Wilkins, Rose Tree Corporate Center, USA, 1995.
2. Robbins S.L., Kumar V.: Basic Pathology, Fourth Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia PA 19105, 1987.
3. Schloot N.C., Hanifi-moghaddam P., Goebel C., Shatavi S.V., Flohe S., Kolb H., Rothe H.: Serum IFN- $\gamma$  and IL-10 levels are associated with disease progression in non-obese diabetic mice;Diabetes Metab. Res. Rev.,18,64-70, 2002.
4. Balsells M., Viade J., Millan M., Garcia J.R., Garcia-Pascual L., Del Pozo C.: Prevalence of osteomyelitis in non-healing diabetic foot ulcers:usefulness of radiologic and scintigraphic findings; Diabetes Research and Clinical Practice.,38,123-127, 1997.
5. Clarke M., Brayer J., Heintz K., Nagashima H., Cha S., Oxford G., Nanni J., Peck A., Zelles T., Humphreys-Beher M.: Differential absorption and distribution of epidermal growth factor in diabetic nod mice; Journal of Diabetes and Its complications.,15,103-111, 2001.
6. Kajstura J., Fiordaliso F., Andreoli A.M., Li B., Chimenti S., Medow M.S., Limana F., Ginard B.N., Leri A., Anversa P.: IGF-1 Overexpression Inhibits the Development of Diabetic Cardiomyopathy and Angiotensin II-Mediated Oxidative Stress: Diabetes.,50, 1414-1424, 2001.
7. Sobol A., Watala C.: The role of platelets in diabetes-related vascular complications; Diabetes Research and Clinical Practice.,50,1-16, 2000.
8. Vinik A., Flammer M.: Diabetes and macrovascular disease; Journal of Diabetes and Its complications., 16,235-245, 2002.
9. Frykberg R., Piaggese A., Donaghue V., Schipani E., Habershaw G., Navalesi R., Veves A.: Difference in treatment of foot ulcerations in Boston, USA and Pisa Italy; Diabetes Research and Clinical Practice.,35,21-26, 1997.



10. Syroid D.E., Zorick T.S., Engels C.A., Kilpatrick T.J., Eckhart W., Lemke G.: A Role for Insulin-Like Growth Factor-I in the Regulation of Schwann Cell Survival; *The Journal of Neuroscience.*, 19(6), 2059-2068, 1999.
11. Galiano R., Teper O., Pelo C, Bhatt K., Callaghan M, Bastidas N, Bunting S., Steinmetz H., Gurtner G.: Topical Vascular Endothelial Growth Factor Accelerates Diabetic Wound Healing through Increased Angiogenesis and by Mobilizing and Recruiting Bone Marrow-Derived Cells; *American Journal of Pathology.*, 164, 1935- 1947, 2004.
12. Gerritsen M., Lutterman J.A., Jansen J.A.: Wound healing around boneanchored percutaneous devices in experimental diabetes mellitus; *J Biomed. Mater. Res.*, 53, 702-709, 2000.
13. Goodson W.H., Hunt T.K.: Wound healing and diabetic patient; *Surgery, Gynecology Obstetrics.*, 149, 600-607, 1979.
14. Lobmann R., Pittasch D., Muhlen I., Lehnert H.: Autologous human keratinocytes cultured on membranes composed of benzyl ester of hyaluronic acid for grafting in nonhealing diabetic foot lesions: A pilot study; *Journal of Diabetes and Its complications.*, 17, 199-204, 2003.
15. Schwartz A.V.: Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone?; *Calcif. Tissue Int.*, 73, 515- 519, 2003.
16. Follak N., Kloting I., Wolf E., Merk H.: Histomorphometric evaluation of the influence of the diabetic metabolic state on bone defect healing depending on the defect size in spontaneously diabetic BB/OK rats; *Bone.*, 35, 144-152, 2004.
17. Follak N., Kloting I., Wolf E., Merk H.: Improving metabolic control reverses the histomorphometric and biomechanical abnormalities of an experimentally induced bone defect in spontaneously diabetic rats; *Calcif Tissue Int.*, 74, 551-556, 2004.
18. Lu H., Kraut D., Gerstenfeld L., Graves D.: Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors that Regulate Osteoblast Differentiation; *Endocrinology.*, 144(1), 346-352, 2003.
19. Santana R., Xu L., Chase H., Amar S., Graves D., Trackman P.: A Role for Advanced Glycation End Products in Diminished Bone Healing in Type 1 Diabetes; *Diabetes.*, 52, 1502-1510, 2003.

20. Leslie R.D.G., Pozilli P.: An introduction to new advances in diabetes; Diabetes Metab. Res. Rev.,18(suppl 1),1-6, 2002.
21. Lukic N.L., Stosic-Grujicic S., Ostojic N., Chan W.L., Liew F.Y.: Inhibition of nitric oxide generation affects the induction of diabetes by streptozocin in mice; Biochemical and Biophysical Research Communication.,178(3),913-919, 1991.
22. Turk J., Corbett J., Ramanadham S., Bohrer A., MCDaniel M.: Biocemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets; Biochemical and Biophysical Research Communication.,197(3),1458-1464, 1993.
23. Sepici A.: Türkiye’de Halk Arasında Diabetes Mellitus Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Mersin Uçucu Yağı (Myrtı Oleum) Üzerine Biyokimyasal Çalışmalar, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, 2000.
24. Beam H., Parsons R., Lin S.: The effect of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus; Journal of Orthopaedics Research., 20,1210-1216, 2002.
25. Spanheimer R.G., Ummierrez G.E., Stumpf V.: Decreased collagen production in diabetic rats; Diabetes.,37,371-76, 1988.
26. Tuskan C, Yalıtık M.: Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller, İstanbul 2002 İstanbul Üniv. Yayınları,1-60
27. Bloom W, Fawcett DA.: Textbook of Histology, Japan 1975 W. B. Saunders Company, 244-282
28. Garg A.: Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. Florida, 2004 Quintessence Publishing Co,3-56
29. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO.: Temel Histoloji, Aytekin Y, İstanbul, 1998 Barış Kitapevi, 132-146
30. Eşrefoğlu M.: Genel ve Özel Histoloji, Malatya, 2004 Pelikan Yayıncılık,110
31. Ackermann KL.: The Sinus Bone Graft, Jensen OT, Chicago,1999 Quintessence Publishing.1-45
32. Erdoğan D, Hatipoğlu M, Ilgaz C.: Genel Histoloji, Ankara, 1999 Hatipoğlu Yayınevi, 107-117

33. Türker M, Yücetaş Ş.: Ağız Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi, Ankara, 1999 Atlas Kitapçılık, 426-433
34. Caranza FA, Newman MG, Takei HH.: Carranza's Clinical Periodontology ,9. Edition, 2002 USA WB. Saunders Co.,812-819
35. Fonseca RJ.: Maxillary Sinus Grafts and İmplants, Ness G: Oral and Maxillofacial Surgery, First Edition, Volume 7, 2000 Pennsylvania, WB. Saunders Company 261-273
36. Grageda E. Platelet-Rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol, Implant Dentistry, 2004; 13 (4):301–308
37. Kierszenbaum A.L. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, Mosby Inc., St. Louis, Chapter 5, p:127, 2002.
38. Efeoğlu A, Periodontal Kemik Cerrahisi.  
[http://www.istanbul.edu.tr.dishekimligi/notlar/Periodontal\\_Kemik\\_Cerrahisi.pdf](http://www.istanbul.edu.tr.dishekimligi/notlar/Periodontal_Kemik_Cerrahisi.pdf), 24.3.2008
39. Marx ER, Garg AK.: Dental and Craniofacial Applications of Platelet-Rich Plasma, China, 2005 Quintessence Publishing Co.3-65
40. Junqueira L. C. Ve Carneiro J. Basic Histology, 10th ed., McGraw-Hill, New York, Chapter 8, p: 145-6 , 2003.
41. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Iezzi G, Piattelli A, Giardino R. Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in minipigs. J Clin Periodontol 2008; 35: 539–546
42. Moy P. K, Lundgren S, Holmers RE. Maxillary sinus augmentation : histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. Journal of oral and maxillofacial surgery, 1993;51:857-862
43. Gartner L.P., James L.H. Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chapter 4, p: 73, 2000
44. Abiraman S, Varma HK, Umashankar PR, John A: Fibrin glue as an osteoinductive protein in a mouse model. Biomaterials. 23: 3023-3031, 2002
45. Aspenberg P, Virchenko O: Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. Acta Orthop Scand 75(1): 93-99, 2004
46. Brond AR, Rubin TC: Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, page 93-114, 1990

47. Cruess RL. Healing of bone,tendon and ligament : Fractures. 2nd ed. Lippincott Co, Philadelphia, page 147-167, 198444 Hsu C, Alto P, Chang J: Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. J Hand Surg 29A(4): 551-563, 2004
48. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbin's pathologic basis of disease. 6th ed. WB Saunders Co, London, 199939 Green DM, Klink B: Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. Plast Reconstr Surg 101(4): 1161-1162, 1998
49. Akay C. " Çeneler Bölgesinde Meydana Gelen Kemik Defektlerinin Solvent Dehidrate Allojen Spongios Kemik Greftleri İle Tedavisi." Doktora Tezi .Ege Üniversitesi Diş Hek. Fak. Ağız,Diş,Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı,1998
50. Han B " Dondurulmuş Kurutulmuş Demineralize Kemik Greftlerinin Oral Cerrahide Uygulanması" Mezuniyet Tezi.
51. Samuel E, Lynch ,Robert J Genco,Robert E Marx " Tissue Engineering – Applications in Maxillofacial Surgery and Predontitis" 3-17,83-101
52. Hotz G, Herr G " Bone Substitutes With Osteoinductive Biomaterials- Current and Future Clinical Applications" Int J. Oral Maxillofacial Surg 1994 ;23:413-417
53. Albrektsson T., Johansson C.: Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration; Eur. Spine J., 10,96-101, 2001.
54. Burchardt H.: Biology of Bone Transplantation; Orthopedic Clinics of North America., 18(2), 187-96, 1987.
55. Scheliephake H., Lagner M.: Reconstruction of the mandible by prefabricated autogenous bone grafts; Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 26, 244-252, 1997.
56. "Bone Grafting Material (PepGen P-15)", "Bone – Grafting Material" JADA Vol. 133, August 2002, 1124-1126
57. Efeoğlu C. "Kemik Defektlerinin Otojen Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve  $\beta$ -Trikalsiyumfosfat Uygulanması, Deneysel Çalışma" Doktora Tezi E.Ü. Sağlık Bilimleri Ens. 2003
58. Çetin Ç., Kemik defektlerinin iyileşmesinde non-rezorbe biyomateryaller ile trombositten zengin plazma (PRP) ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

- (YDR)' nun etkilerinin Deneysel olarak araştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır,2008.
- 59.** Grant Da, Stern Ib, Listgarten Ma. Periodontics. Sixth Edition. 1988. St Louis: Mosby
- 60.** Eppley L., Pietrzak S., Blanton W. : Clinical Studies Allograft and Alloplastic Bone Substitutes: A Review of Science and Technology For the Craniomaxillofacial Surgeon. The Journal Of Craniofacial Surgery 2005; 16: 981-989.
- 61.** Karaca İ, Çılbrı Ö, Sabuncuoğlu B, Akbay C, Saft mineralize kemik grefti pyrostun membranlı ve membransız uygulamalarının kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Cumhuriyet Üni. Dişhek. Fak. Derg. 1999; 2(2): 91-97.
- 62.** Polson MA, Garrett S, Stoller NH, Greenstein G, Polson AP, Harrold CQ, Laster L, Guided tissue regeneration in human furcation defects after using a biodegradable barrier: A multicenter feasibility study. J. Periodontology. 1995; 377-385.
- 63.** Zellin G, Linde A, Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: An experimental study in rats, Biomaterials 1995; 16: 601-609.
- 64.** Sandberg E, Dahlin C, Linde A, Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: An experimental study in rats. J Oral Maxillofac. Surg. 1993; 51: 1106-1114.
- 65.** Fugazzoto AP, Maintenance of soft tissue closure following guided bone regeneration: Technical considerations and report of cases, J. Periodontol 1999; 1085-1097.
- 66.** Mundell RD, Money MP, Siegel MI, Losken A, Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane, J. Oral Maxillofac. Surg. 1993; 51: 1004-1012.
- 67.** Tanrıku R, Erol B, Büyükbayram H, Görgün B, Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda Tip I kollogen membran ve insan perikardı kullanımının histopatolojik olarak karşılaştırılması, Türkiye Klinikleri Dişhekimliği Bilimleri Dergisi 2001; 7(2): 59-64.

- 68.**Ogino Y., Ayukawa Y., Tsukiyama Y., Koyano K. The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 100: 302-7, 2005
- 69.**Lynch S.E., Colvin R.B., Antoniades H.N. Growth factors in wound healing. *J Clin Invest.* 84: 640- 646, 1989.
- 70.**Jakse N., Tangl S., Gilli R., Berghold A., Lorenzoni M., Eskici A., Haas R., Pertl C. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 14(5): 578-83, 2003.
- 71.**Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M., Schimmele S.R., Strauss J.E., Georgeff K.R. Platelet-Rich Plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 85: 638-46, 1998.
- 72.**Wikesjö M.E.U., Nilveusi E.R., Selvig A.K. Significance of Early Healing Events on Periodontal Repair: A Review. *J. Periodontol.* 63: 158-165, 1992.
- 73.**Sonnleitner D., Huemer P., Sullivan D.Y. A Simplified Technique for producing Platelet rich plasma and Platelet Concentrate for Intraoral Bone grafting Techniques: A technical Note. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 15: 879-882, 2000.
- 74.**Camargo P.M., Lekovic V., Weinlaender M., Vasilic N., Madzarevic M., Kenney E.B. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res.* 37(4): 300-6, 2002.
- 75.**Kassolis J.D., Rosen P.S., Reynolds M.A. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: Case series. *J. Periodontol.* 71: 1654- 1661, 2000.
- 76.**Lekovic V., Camargo P.M., Weinlaender M., Vasilic N., Kenney E.B. Comparison of Platelet-Rich Plasma, Bovine Porous Bone Mineral, and Guided Tissue Regeneration versus Platelet-Rich Plasma and Bovine Porous Bone Mineral in the Treatment of Intrabony Defects: A Reentry Study. *J Periodontol.* 73(2): 198-205, 2002.
- 77.**Martinez-Gonzales J.M., Sanchez J.C., La Fuente J.C.G., Trapero J.C., Gomez G.C.E., Leston J.M.S. Do ambulatory-use Platelet-rich plasma (PRP) concentrates present risks? *Medicina Oral.* 7: 375-90, 2002.

78. Anitua E. Plasma Rich in Growth Factors: Preliminary results of Use in the Preparation of Future Sites for Implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 14: 529-535, 1999.
79. Lozada J.L., Caplanis N., Proussaefs P., Willardsen J., Kammeyer G. Platelet-rich plasma application in sinus graft surgery: Part I--Background and processing techniques. *J. Oral Implantol.* 27(1): 38-42, 2001.
80. Whitman D.H., Berry R.L., Green D.M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 55(11): 1294-9, 1997.
81. Landesberg R., Roy M., Glickman R.S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 58(3): 297-300, 2000.
82. Robiony M., Polini F., Costa F., Politi M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg.* 60: 630- 635, 2002.
83. Weibrich G., Kleis W.K.G., Hafner G., Hitzler W.E. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 30: 97-102, 2002.
84. Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: back ground and process. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 22(6): 547-57, 2002.
85. Monov G., Fuerst G., Tepper G., Watzak G., Zechner W., Watzek G. The effect of platelet-rich plasma upon implant stability measured by resonance frequency analysis in the lower anterior mandibles. *Clin Oral Implants Res.* 16(4): 461-5, 2005.
86. Landesberg R., Moses M., Karpatkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg.* 56(9): 1116-1117, 1998.
87. Tsay R.C., Vo J., Burke A., Eisig S.B., Lu H.H., Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg.* 63: 521-8, 2005
88. Yazawa M., Ogata H., Kimura A., Nakajima T., Mori T., Watanabe N. Basic studies on the bone formation ability by platelet rich plasma in rabbits. *J Craniofac Surg.* 15(3): 439-46, 2004.

89. Weibrich G., Kleis W.K.G., Hafner G., Hitzler W.E., Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma. Prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Impl Res.* 14: 357-362, 2003.
90. Manolagas S.C. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr. Rev.* 21(2): 115-37, 2000.
91. Lynch S.E., Nixon J.C., Colvin R.B., Antoniades H.N. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: synergistic effects with other growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 7696-7700, 1987.
92. Stiles C.D., Capone G.T., Scher C.D., Antoniades H.N., Van Dyke J.J., Pledger W.J. Dual control of cell growth by somatomedins and platelet-derived growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76(3): 1279-1283, 1979.
93. Polson M.A. *Periodontal Regeneration; Current Status and Directions.* Quintessence Publishing Co, Inc., USA. 1994.
94. Ferreira F.C., Gomez M.C.C., Filho J.S., Granjeiro J.M., Simoes C.M.O., Magini R.S. Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clin Oral Implants Res.* 16: 456-460. 2005.
95. Kocazeybek B, Arabaci U, Akdur H, Sezgiç M, Erenturk S. Prospective evaluation of platelets prepared by single and random methods during 5 days of storage: aspects related to quality and quantity. *Transfus Apher Sci.* 26: 29-34, 2002.
96. Hatakeyama M., Beletti M.E., Zanetta-Barbosa D.Z., Dechichi P. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet-rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 105: e13-e18. 2008.
97. Butterfield K.J., Bennett J., Gronowicz G., Adams D. Effect Of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg.* 61: 97 (suppl), 2005.
98. Marx R.E. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implan Dent.* 10: 225, 2001.



- 99.** Aghaloo T. L., Moy P. K., Freymiller E. G. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 60(10): 1176-81, 2002.
- 100.** Fürst G., Gruber R., Tangl S., Zechner W., Haas R., Mailath G., Sanroman F., Watzek G. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 14(4): 500-8, 2003.
- 101.** Kim S.-G., Chung C., Kim K., Park J., Lim S. Use of Particulate Dentin-Plaster of Paris Combination with/without Platelet Rich Plasma in the Treatment of Bone Defects Around Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 17: 86-94, 2002.
- 102.** Kovacs K., Velich N., Huszar T., Szabo G., Semjen G., Reiczigel J., Suba Z. Comparative study of  $\beta$ -tricalcium phosphate mixed with platelet-rich plasma versus  $\beta$ -tricalcium phosphate, a bone substitute material in dentistry. *Acta Veterinaria Hungarica,* 51(4): 475-484, 2003.
- 103.** Kovacs K., Velich N., Huszar T., Fenyves B., Suba Z., Szabo G. Experimental design. Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of Platelet-Rich Plasma on the remodelling of  $\beta$ -tricalciumphosphate in beagle dogs. *J Craniofac Surg.* 16(1): 150-154, 2005.
- 104.** Tamura K., Sati S., Kishida M., Asano S., Murai M., Ito K. The use of porous  $\beta$ -Tricalcium phosphate blocks with platelet-rich plasma as an onlay bone graft biomaterial. *J Periodontol.* 78: 315- 321, 2007.
- 105.** Wiltfang J., Schlegel K.A., Schultze-Mosgau S., Nkenke E., Zimmermann R., Kessler P. Sinus floor augmentation with  $\beta$ -tricalciumphosphate ( $\beta$ -TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res.* 14: 213, 2003.
- 106.** Demiralp B., Keçeli G.H., Muhtarogullari M., Serper A., Eratalay K.: Treatment of periapical inflammatory lesion with the combination of platelet-rich plasma and Tricalcium Phosphate: A case report. *J Endod.* 30: 796-800, 2004.
- 107.** Velich N., Nemeth Z., Hrabak K., Suba Z., Szabo G. Repair of Bony Defect with Combination Biomaterials. *J Craniofac Surg.* 15(1):11-15, 2004.

- 108.** Harris D., Farrell B., Block M.S. Zygomatic arch defects grafted with mineralized bone with PRP or PPP in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 61: 42 (suppl), 2003.
- 109.** Pryor M.E., Polimeni G., Koo K.T., Hartman M.J., Gross H., April M., Safadi F.F., Wikesjö U.M. Analysis of rat calvaria defects implanted with a platelet-rich plasma preparation: histologic and histometric observations. *J Clin Periodontol.* 32(9): 966-72, 2005.
- 110.** Ilgenli T., Dündar N., Kal B.I. Demineralized freeze-dried bone allograft and platelet-rich plasma vs platelet-rich plasma alone in infrabony defects: a clinical and radiographic evaluation. *Clin Oral Invest.* 11: 51-59, 2007.
- 111.** Gurgel B.C.V., Gonçalves P.F., Pimentel S.P., Ambrosano G.M.B., Nociti Junior F.H., Sallum E.A., Casati M.Z. Platelet-rich plasma may not provide any additional effect when associated with guided bone regeneration around dental implants in dogs. *Clin Oral Impl Res.* 18:649-654, 2007.
- 112.** Yassibag-Berkman Z., Tuncer O., Subasioglu T., Kantarci A. Combined use of platelet-rich plasma and bone grafting with or without guided tissue regeneration in the treatment of anterior interproximal defects. *J Periodontol.* 78: 801-809, 2007.
- 113.** Fontana S., Olmedo D.G., Linares J.A., Guglielmotti M.B., Crosa M.E. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. *Implant Dent.* 13(1): 73-8, 2004.
- 114.** Mancuso J.D., Bennion J.W., Hull M.J., Winterholler B.W. Platelet-rich plasma: A Preliminary report in routine impacted mandibular third molar surgery and the prevention of alveolar osteitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 61: 40 (suppl), 2003.
- 115.** Jain S., Jin L.J., Corbet E.F. Platelet Rich Plasma Gel in the Treatment of Periodontal Defects. IADR/ AADR/ CADR 82nd General Session (March 10- 13, 2004) ,Hawaii Convention Center Exhibit Hall 1-2. Poster no: 1142, 2004.
- 116.** Sammartino G., Tia M., Marenzi G., Di Lauro A.E., D'agostino E., Claudio P.P. Use of autologous platelet- rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* 63:766-70, 2005.

117. Cieslik-Bielecka A., Bielecki T., Gazdzik T.S., Cieslik T., Szczepanski T. Improved treatment of mandibular odontogenic cysts with platelet-rich gel. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 105: 423-9, 2008
118. Keceli H.G., Sengun D., Berberoğlu A., Karabulut E. Use of platelet gel with connective tissue grafts for root coverage: a randomized-controlled trial. *J Clin Periodontol.* 35:255-262, 2008.
119. Choukroun J, A.F., Schoeffler C, Vervelle A. (2000) Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*, 42, 55--62.
120. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J. ve diğerleri. (2006) Platelet--rich fibrin (PRF): a second--generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (3), e37--44.
121. Dohan D, D.J. M., Navarro G, Gaultier F. (2003) Platelet concentrates. Part 1: Technologies. *Implantodontie*, 12, 5-16.
122. Dohan D, D.J.-M., Navarro G, Gaultier F. (2003) Platelet concentrates. Part 2: Associated biology. *Implantodontie*, 12, 17-25.
123. Mosesson, M.W., Siebenlist, K.R., Meh, D.A. (2001) The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci*, 936, 11-30.
124. Clark, R.A. (2001) Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci*, 936, 355-367.
125. Giannobile, W.V. (1996) Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone*, 19 (1 Suppl), 23S 37S.
126. Weibrich, G., Kleis, W.K., Kunz Kostomanolakis, M., Loos, A.H., Wagner, W. (2001) Correlation of platelet concentration in platelet rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 16 (5), 693-699.
127. Dinarello, C.A. (2002) The IL 1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol*, 20 (5 Suppl 27), S1-13.
128. Dinarello, C.A. (2004) Therapeutic strategies to reduce IL 1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, 4 (4), 378-385.

- 129.** Kwan Tat S, P.M., Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. (2004) IL 6, RANKL, TNF alpha/IL 1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev*, 15, 49-60.
- 130.** Tiggelman, A.M., Boers, W., Linthorst, C., Brand, H.S., Sala, M., Chamuleau, R.A. (1995) Interleukin 6 production by human liver (myo)fibroblasts in culture. Evidence for a regulatory role of LPS, IL-1 beta and TNF alpha. *J Hepatol*, 23 (3), 295-306.
- 131.** Kamimura, D., Ishihara, K., Hirano, T. (2003) IL 6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 149, 1-38.
- 132.** Heinrich PC, B.I., Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen, G, S.F. (2003) Principles of interleukin (IL) 6 type cytokine signaling and its regulation. *Biochem J*, 374(Pt 1), 1-20.
- 133.** Nishimoto, N., Kishimoto, T. (2004) Inhibition of IL 6 for the treatment of inflammatory diseases. *Curr Opin Pharmacol*, 4 (4), 386-391.
- 134.** Aggarwal, B.B., Shishodia, S., Ashikawa, K., Bharti, A.C. (2002) The role of TNF and its family members in inflammation and cancer: lessons from gene deletion. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 1 (4), 327-341.
- 135.** Aggarwal, B.B. (2003) Signalling pathways of the TNF superfamily: a double edged sword. *Nat Rev Immunol*, 3 (9), 745-756. 72
- 136.** Gaur, U., Aggarwal, B.B. (2003) Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol*, 66 (8), 1403-1408.
- 137.** Keegan, A.D., Zamorano, J. (1998) Regulation of gene expression, growth, and cell survival by IL 4: contribution of multiple signaling pathways. *Cell Res*, 8 (1), 1-13.
- 138.** Kay, N.E., Pittner, B.T. (2003) IL-4 biology: impact on normal and leukemic CLL B cells. *Leuk Lymphoma*, 44 (6), 897-903.
- 139.** Hayashi Y, K.M., Kuwata H, Atsumi G, Deguchi K, Feng Wei X, e.a. (2000) Interferon gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1 beta induced delayed prostaglandin E(2) generation through suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine* 12, 603-612.
- 140.** Zachary, I. (2003) VEGF signalling: integration and multi tasking in endothelial cell biology. *Biochem Soc Trans*, 31 (Pt 6), 1171- 1177.

141. Harry, L.E., Paleolog, E.M. (2003) From the cradle to the clinic: VEGF in developmental, physiological, and pathological angiogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 69 (4), 363-374.
142. Ruhrberg, C. (2003) Growing and shaping the vascular tree: multiple roles for VEGF. *Bioessays*, 25 (11), 1052-1060.
143. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J. ve diğeri. (2006) Platelet rich fibrin (PRF): a second--generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (3), e51-55.
144. Gaultier F, N.G., Donsimoni J-M, Dohan D. (2004) Platelet concentrates. Part 3: Clinical applications. *Implantodontie*, 13, 3-11.
145. Simonpieri A, C.J., Girard MO, Ouaknine T, Dohan D. (2004) Immediate post extraction implantation: interest of the PRF. *Implantodontie*, 13, 177-189.
146. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J. ve diğeri. (2006) Platelet rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate. Part II: platelet related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (3), e45 50.
147. Van Hinsbergh, V.W., Collen, A., Koolwijk, P. (2001) Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci*, 936, 426-437.
148. Feng, X., Clark, R.A., Galanakis, D., Tonnesen, M.G. (1999) Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of  $\alpha$ v/ $\beta$ 3 mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol*, 113 (6), 913- 919.
149. Sahni, A., Odrjijn, T., Francis, C.W. (1998) Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem*, 273 (13), 7554-7559.
150. Loike JD, S.B., Cao L, Leucona S, Weitz JI, Detmers PA, et al. . (1991) CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* (88), 1044---1048.
151. Lanir N, C.P., Van de Water L, McDonagh J, Dvorak AM, Dvorak HF. ;. (1988) Macrophage migration in fibrin gel matrices. II. Effects of clotting factor XIII, fibronectin, and glycosaminoglycan content on cell migration. *J Immunol*, 140, 2340-2349

- 152.** Hamaguchi, M., Morishita, Y., Takahashi, I., Ogura, M., Takamatsu, J., Saito, H. (1991) FDP D-dimer induces the secretion of interleukin-1, urokinase type plasminogen activator, and plasminogen activator inhibitor-2 in a human promonocytic leukemia cell line. *Blood*, 77 (1), 94-100.
- 153.** Brown, L.F., Lanir, N., McDonagh, J., Tognazzi, K., Dvorak, A.M., Dvorak, H.F. (1993) Fibroblast migration in fibrin gel matrices. *Am J Pathol*, 142 (1), 273-283.
- 154.** Tuan, T.L., Song, A., Chang, S., Younai, S., Nimni, M.E. (1996) In vitro fibroplasia: matrix contraction, cell growth, and collagen production of fibroblasts cultured in fibrin gels. *Exp Cell Res*, 223 (1), 127-134.
- 155.** Soffer, E., Ouhayoun, J.P., Anagnostou, F. (2003) Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 95 (5), 521-528.
- 156.** Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L. ve diğerleri. (2006) Platelet rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (3), e56-60.
- 157.** Kawamura M, U.M.,. (1988) Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop*, 235, 302-310. 63. Huang, F.M., Yang, S.F., Zhao, J.H., Chang, Y.C. (2010) Platelet rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *J Endod*, 36 (10), 1628-1632.
- 158.** Andreetti, C., Ibrahim, M., Ciccone, A., D'Andrilli, A., Poggi, C., Maurizi, G. ve diğerleri. (2010) Autologous platelet gel for the management of persistent alveolar fistula after lung resection. *Minerva Chir*, 65 (6), 695-699.
- 159.** Sarrafian, T.L., Wang, H., Hackett, E.S., Yao, J.Q., Shih, M.S., Ramsay, H.L. ve diğerleri. (2010) Comparison of Achilles tendon repair techniques in a sheep model using a cross linked acellular porcine dermal patch and platelet rich plasma fibrin matrix for augmentation. *J Foot Ankle Surg*, 49 (2), 128-134.
- 160.** Huang, F.M., Yang, S.F., Zhao, J.H., Chang, Y.C. (2010) Platelet rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *J Endod*, 36 (10), 1628-1632.

- 161.** Gassling, V., Douglas, T., Warnke, P.H., Acil, Y., Wiltfang, J., Becker, S.T. (2010) Platelet rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res*, 21 (5), 543-549.
- 162.** Toffler, M., Toscano, N., Holtzclaw, D. (2010) Osteotome mediated sinus floor elevation using only platelet rich fibrin: an early report on 110 patients. *Implant Dent*, 19 (5), 447-456.
- 163.** Jankovic, S., Aleksic, Z., Milinkovic, I., Dimitrijevic, B. (2010) The coronally advanced flap in combination with platelet rich fibrin (PRF) and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study. *Eur J Esthet Dent*, 5 (3), 260-273.
- 164.** Liao HT, C.C., Chen CH, Chen JP, Tsai JC. (2011) Combination of guided osteogenesis with autologous platelet rich fibrin glue and mesenchymal stem cell for mandibular reconstruction. *J Trauma*, 70 (1), 228-237.
- 165.** Jang, E.S., Park, J.W., Kweon, H., Lee, K.G., Kang, S.W., Baek, D.H. ve diğeri. (2010) Restoration of peri implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet rich fibrin and silk fibrin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 109 (6), 831-836.
- 166.** Horowitz, R.A., Mazor, Z., Miller, R.J., Krauser, J., Prasad, H.S., Rohrer, M.D. (2009) Clinical evaluation alveolar ridge preservation with a beta tricalcium phosphate socket graft. *Compend Contin Educ Dent*, 30 (9), 588-590, 592, 594 passim; quiz 604, 606.
- 167.** Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L. ve diğeri. (2006) Platelet rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (3), 299-303.
- 168.** Atılgan S, Kalsiyum Sülfat Partikülleri ile  $\beta$ -Trikalsiyumfosfat/Hidroksilapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitelelerinde Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.

169. Tomin E, Beksaç B, Lane JM, Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış, *J. Arthroplasty Arthroscopic Surg.* 2002; 13 (2) : 114-129.
170. Younger EM, Chapman MP, Morbidity at bone graft donor sites, *J. Orthop. Trauma* 1989; 3: 192-195.
171. Tomak T, Dabak N, Kokçu C et al. Allogreft kullanımı ve kemik bankası üzerinde deneylerimiz. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 200; 34: 139-146.
172. Lane JM, Tomin E., Bostrom MP. Biosynthetic bone grafting. *Clin. Orthop.*1999; 367:107-17.
173. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cTZP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 615–619
174. Huang LH, Neiva EF, Soehren SE, Giannobile WV, Wang HL: The effect of platelet-rich plasma on the coronally advanced flap root coverage procedure: a pilot human trial. *J Periodontol* 76: 1768-1777, 2005
175. Isogai N, Landis WJ, Mori R, Gotoh Y, Gerstenfeld LC, Upton J, Vacanti JP: Experimental use of fibrin glue to induce site-directed osteogenesis from cultured periosteal cells. *Plast Reconstr Surg.* 105: 953-963, 2000
176. Boden SD: Bioactive factors for the bone tissue engineering. *Clin Orthop.* 367: 84-94, 1999
177. Khan SN, Bostrom MP, Lane JM: Bone growth factors. *Orthop Clin North Am.* 31: 375-388, 2000
178. Mathes SJ: Repair and grafting of bone. In: *Plastic surgery.* 2nd ed. Saunders Elsevier Inc, Philadelphia, 639-718, 2006
179. Babbush CA, Kevy SV, Jacobson MS: An in vitro and in vivo evaluation of autologous platelet concentrate in oral reconstruction. *Implant Dent* 12: 24-34, 2003
180. Castro FP: Role of activated growth factors in lumbar spinal fusions. *J Spinal Disord Tech* 17: 380-384, 2004
181. Altmepfen J, Hansen E, Bonnländer GL, Horch RE, Jeschke MG: Composition and characteristics of an autologous thrombocyte gel. *J Surg Res* 117: 202-207, 2004



- 182.** Plachokovan AS, Nikolidakis D, Mulder J et al. Creugers Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin Oral Impl Res* 2008;19:539–545
- 183.** Kanno T, Takahashi T, Tsujisawa T, Ariyoshi W, Nishihara T: Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. *J Oral Maxillofac Surg* 63: 362-369, 2005
- 184.** Freymiller EG, Agbaloo TL: Platelet –Rich Plasma: Ready or not? *J Oral Maxillofac Surg* 62: 484-488, 2004
- 185.** Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT: Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 91: 4-15, 2004
- 186.** Kawase T, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H: Platelet-rich plasma-derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro. *J Periodontol* 74(6): 858-864, 2003
- 187.** Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Y, Suzuki H, Wolff LF, Yoshie H: Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol* 74(6): 849-857, 2003
- 188.** Siebrecht MA, De Rooij PP, Arm DM, Olsson ML, Aspenberg P: Platelet concentrate increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite. *Orthopedics* 25(2): 169-172, 2002
- 189.** Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, Mujika I: Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med Sci Sports Exerc* 35:1648-1652, 2003
- 190.** Jensen TB, Rahbek O, Overgaard S, Sraballe K. Platelet rich plasma and fresh frozen bone allografts enhancement of implant fixation an experimental study in dogs. *Journal of Orthopaedic Research* (2004); 22:653–658
- 191.** Eun-Seok K, Eun-Jin P, Pill-Hoon C. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: An experimental study in rabbits. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2001;86 (4):428–33

- 192.** Dori F, Huszar T, Nikolidakis D, et al. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 254–26177
- 193.** Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects an animal experiment. *Clin Oral Impl Re* 2004; 15: 187–193
- 194.** Lekovic V, Camargo PM, Weinleander M., et al. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II furcations in humans. *J. Clin. Periodontol.* 2003; 30: 746-751.
- 195.** Gibble JW, Ness PM. Fibrin fibrin: a second- generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Transfusion* 1990; 30: 741-747.
- 196.** David M. Dohan, Lars Rasmusson, Tomas Albrektsson. Classification of platelet concentrates from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology* 2009; 27(3):158-167.
- 197.** P. Steenvoorde, L.P. van Doorn, C. Naves, J. Oskam,, Use of autologous platelet-rich fibrin on hard-to-heal wounds. *Journal of wound care* 2008; 17(2): 60-63
- 198.** He L., Lin Y., Hu X., Zhang Y., Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod* 2009;108(5):707-713
- 199.** Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *J. Foot Ankle Surg.* 1996; 35: 413–17.
- 200.** Ellis E, *Oral and Maxillofacial Surgery* 3rd Edition, 1998; Mosby, 680.
- 201.** Stanton DC, Fonseca, *Oral and Maxillofacial Surgery Volume:6*, W.B. Saunders Company, 2000; 513-521,
- 202.** Bloomquist DS, Turvey TA, *Modern Practice in Orthogantic and Reconstructive Surgery*, Saunders, Volume 2, 1992; 831-851.
- 203.** Moore WR, Graves SE, Bain GI, *Australian and New Zealand Journal of Surgery*; 2001, 71: 6, 354.

- 204.** Constantino PD, Freidman CD. Soft tissue augmentation and replacement in the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am.*1994; 27:1-12.
- 205.** Walsh WR, Morberg P, Yu Y, et al. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. *Clin Orthopedic.* 1995;406:228-36.
- 206.** Gülsün B, Erol B, Yılmaz F, Atay Ç. Sentetik bir kemik alloplastı ile ksenojenik kemik greftinin osteogenezis üzerine olan etkilerinin deneysel olarak araştırılması. *Türk Oral ve Maksillofasial Cerrahi Dergisi.*1997; 1:1-12.
- 207.** Tanrikulu R, Erol B, Büyükbayram H. Kemik defektlerinin rejenerasyonunda yalnızca allojenik kemik greftinin ve kollajen membran ile birlikte kullanımının deneysel olarak araştırılması. *Türkiye Klinikleri Dış Hekimliği Bilimleri Dergisi.* 2001; 7:65-70.
- 208.** Öz D. Demineralize kemik matriks partikülleri içeren kalsiyum sülfat esaslı putty ile  $\beta$ -trikalsiyum fosfat granüllerinin kemik içi kavitelere iyileşme üzerine etkilerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2005.
- 209.** Kavak G, Vural A, Us H. A histopathological comparison of the effects of demineralized bone-powder and natural coral implants on osteogenezis. *Tr J of Medical Sciences.* 1994; 21: 191-5.
- 210.** Agacayak S., Gulsun B., Ucan M.C., Karaoz E., Nergiz Y. Effects of mesenchymal stem cells in critical size bone defect *Eur Rev Med Pharmacol SCI* , 2012 Vol: N: 16 Pages: 679-686
- 211.** He H., Liu R., Desta T., Leone C., Gerstenfeld L., Graves D.: Diabetes Causes Decreased Osteoclastogenesis, Reduced Bone Formation, and Enhanced Apoptosis of Osteoblastic Cells in Bacteria Stimulated Bone Loss;*Endocrinology.*,145(1),447-452, 2004.
- 212.** Ivers R., Cumming R., Mitchell P., Peduto A.: Diabetes and Risk of Fracture *Diabetes Care.* 24,1198-1203, 2001.
- 213.** Krakauer J., Mckenna M., Burderer N., Rao D., Whitehouse F., Pafitt A.: Bone loss and bone turnover in diabetes.;*Diabetes.*, 44,775–782, 1995.
- 214.** Shyng Y.C., Devlin H., Sloan P.: The effect of streptozotosin induced experimental diabetes mellitus; *İnt. J. Oral and Maxillofac. Surg.*,30,70-74, 2001.

- 215.** Topping R., Bolander M., Balian G.: Type X collagen in fracture callus and the effects of experimental diabetes. *Clin Orthop.*, 308,220–228, 1994.
- 216.** Yu Z., Ramamurthy S., Leung M., Chang K.M., MCNamara T.F., Golub L.m.: Chemically-modified tetracycline normalizes collagen metabolism in diabetic rats:a dose response study; *J. Periodont. Res.*,28,420-428, 1993.
- 217.** Devlin H, Garland H, Sloan P: Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus; *J Oral and Maxillofac Surg*, 54(9), 1087-91, 1996.
- 218.** El-Hakim İ.E.: The effect of fibrin stabilizing factor (FXIII) on healing of bone defects in normal and uncontrolled diabetic rats: *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*,28,304-308, 1999.
- 219.** Goodman W., Hori M.: Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization.; *Diabetes.*, 33,825–831, 1984.
- 220.** Nevins M L, Karimbux N Y, Weber H P, Giannobile W v, Fiorellini J P: Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes; *Int J Oral Maxillofacial Implants*, 13(5), 620-629, 1998.
- 221.** Alkan A., Erdem E., Günhan Ö., Karasu C.: Histomorphometric evaluation of the effect of doxycycline on the healing of bone defects in experimental diabetes mellitus: a pilot study; *J Oral Maxillofacial Surg.*, 60(8),898-904, 2002.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Mardin' de doğdum. Kızıltepe 23 Nisan İlkokulu'ndan, 1991 yılında Kızıltepe Ortaokulu' ndan, Mardin Süper Lisesi' nden 1994 yılında mezun oldum. 2007 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi' nden mezun oldum. Aynı yıl Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı' nda doktora eğitimine başladım. Doktora eğitimim süresince Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi' nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundum.