

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**İMLANT ÇEVRESİNDE CERRAHİ YÖNTEMLE
OLUŞTURULAN DEFEKTLERDE PLATELETEN ZENGİN
FİBRİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK PROGRAMI

Dt. Erkan ARSLAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI

ADANA – 2017

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**İMLANT ÇEVRESİNDE CERRAHİ YÖNTEMLE
OLUŞTURULAN DEFEKTLERDE PLATELETEN ZENGİN
FİBRİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK PROGRAMI

Dt. Erkan ARSLAN
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI
Doç. M. Emre BENLİDAYI

Bu proje,
Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından
TDH-2015-4842 No'lu proje olarak desteklenmiştir.


ADANA – 2017


KABUL VE ONAY


Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Diş Hekimliğinde Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan
“İMLANT ÇEVRESİNDE CERRAHİ YÖNTEMLE OLUŞTURULAN DEFEKTLERDE PLATELETTEN ZENGİN FİBRİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

TARİHİ:28/04/2017

TEZ SINAV JÜRİSİ


Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI
Çukurova Üniversitesi
Başkan


Prof. Dr. Mehmet KÜRKCÜ
Çukurova Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Cenk HAYTAÇ
Çukurova Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Barış Altuğ AYDIL
İstanbul Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Ufuk TATLI
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun 03.05.2017 tarih ve 18/4... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıcından bitim aşamasına kadar beni destekleyen, değerli bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum tez danışmanım Sayın Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI başta olmak üzere,

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde önemli emeği bulunan sayın hocalarım Prof.Dr.Mehmet Kürkcü, Doç. Dr. Özgür ERDOĞAN, Doç. Dr. Ufuk TATLI'ya

Eğitimimde katkıları olan, kendilerinden çok şey öğrendiğim Öğr. Gör. Dr. Fariz SALİMOV'a, Uzman Dr. H. Can TÜKEL'e

Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının anestezi ve bakımındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Kenan Dağlıoğlu ve DETAUM personeline,

Çalışmamın bilimsel yayına dönüşmesine maddi destek sağlayan BAP birimine, İstatistiksel analizi titizlikle yapan ve bu konuda yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Yaşar SERTDEMİR'e

Laboratuvar aşamasındaki önemli katkılarından dolayı arkadaşım Hatice ULUSOY'a,

Doktora hayatım boyunca içtenlikle yanımda olan desteklerini hep hissettiğim bölümümüzün hemşireleri Selda EKER, Eda İRDAY, Nursel ŞAHİNOĞLU'na,

İhtiyacım olduğunda desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarım Dt. Revnak METİN, Dt. Tayfun TURNA, Dt. Sadi COŞKUN, Dt. Erol AYDIN, Dt. Eylem YORULMAZ, Dt. Duygu KARADUMAN, Dt. Ali ÇAVANA ve Dt. Parvin SAFARALİYEV'e,

Hayatıma girdiği andan bu yana her türlü desteği ve fedakarlığı benden esirgemeyen sevgili eşim Gökşin Gizem ARSLAN'a

Bugünlere gelmemde en büyük emeğin sahibi ve en büyük destekçilerim olan anneme, babama, kardeşime,

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kemik Yapısı	2
2.1.1. Kemik Hücreleri	2
2.1.2. Kemik Oluşum Modelleri	3
2.1.3. Kemik Tipleri	3
2.1.4. Kemik Bileşimi	4
2.1.5. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme	4
2.2. Kemik İyileşmesi	5
2.2.1. Kemik Oluşum Modeli	5
2.2.2. Kemik Oluşumundaki Önemli olaylar	6
2.2.2.1. Kan Pıhtısının Oluşumu	6
2.2.2.2. Yara Temizlenmesi	7
2.2.2.3. Doku Oluşumu	7
2.2.2.4. Doku Şekillenmesi ve Yeniden Şekillenmesi	8
2.3. Kemik Greftleri	9
2.3.1. Kemik Greftlerinin Biyolojisi	9
2.3.1.1. Osteogenezis	9
2.3.1.2. Osteokondüksiyon	9

2.3.1.3. Osteoindüksiyon	10
2.3.1.4. Osteointegrasyon	10
2.3.1.5. Onarım	10
2.4. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri	11
2.4.1. Otojen Kemik Greftleri	12
2.4.1.1. Ağız İçi Otojen Kemik Grefti Alınan Bölgeler	13
2.4.1.2. Ağız Dışı Otojen Kemik Grefti Alınan Bölgeler	14
2.4.2. Allojen Kemik Greftleri	15
2.4.3. Heterojen Kemik Greftleri (Ksenogreftler)	16
2.4.3.1. Sığır Kaynaklı Hidroksi Apatitin Klinik ve Deneysel İncelemesi	18
2.4.4. Alloplastlar	21
2.4.4.1. Seramikler	21
2.4.4.1.1. Sentetik HA	21
2.4.4.1.2. Trikalsiyum Fosfat (TCP)	22
2.4.4.1.3. Bioaktif Cam	23
2.4.4.2. Kalsiyum Karbonat	23
2.4.4.3. Kompozit Polimerler	24
2.4.4.3.1. Rezorbe Olanlar	24
2.4.4.3.2. Rezorbe Olmayanlar	24
2.4.4.4. Kalsiyum Sülfat	24
2.5. Greftleme İşleminin Başarısını Etkileyen Faktörler	25
2.6. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu	27
2.6.1. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Prensipleri	27
2.6.2. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyer Membranlar	28
2.6.2.1. Rezorbe Olmayan Bariyer Membranlar	28
2.6.2.2. Rezorbe Olan Bariyer Membranlar	29
2.6.2.2.1. Polimerik Membranlar	30
2.6.2.2.2. Kollajen Membranlar	30
2.7. Kemik Rejenerasyonunun Moleküler Mekanizması	31

2.7.1. Bone Morfojenik Protein	31
2.7.2. Transforming Growth Faktör- β	31
2.7.3. Fibroblast Growth Faktör	32
2.7.4. Platelet Derived Growth Faktör	32
2.8. Platelet Konsantreleri	32
2.8.1. Platelet Konsantrelerinin Sınıflandırılması	33
2.8.1.1. Saf Plateletten Zengin Plazma	33
2.8.1.2. Lökosit ve Plateletten Zengin Plazma	34
2.8.1.3. Saf Plateletten Zengin Fibrin	35
2.8.1.4. Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin (Choukroun'ın PRF'i)	35
2.8.1.4.1. Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin'in İçeriği	37
2.8.1.4.1.1. Trombositler	37
2.8.1.4.1.2. Trombosit Büyüme Faktörleri	38
2.8.1.4.1.2.1. Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β 1(TGF- β 1)	38
2.8.1.4.1.2.2. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)	38
2.8.1.4.1.2.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	39
2.8.1.4.1.2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	39
2.8.1.4.1.3. Lökositler	39
2.8.1.4.1.4. Sitokinler	40
2.8.1.4.1.5. Fibrin	42
2.8.1.4.1.6. Dolaşımdaki Kök Hücreler	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar	43
3.2. Anestezi ve Medikasyon	43
3.3. Plateletten Zengin Fibrinin Hazırlanması	43
3.4. Cerrahi Yöntem	48

3.5. Histomorfometri	56
3.6. İstatistiksel Analiz	61
4. BULGULAR	62
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇLAR	83
7. KAYNAKLAR	84
8. ÖZGEÇMİŞ	104



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.2.1: Çekim soketi iyileşmesi	6
Şekil 2.2: Saf PRP(P-PRP) ve Lökosit ve Plateletten Zengin Plazma (L-PRP) hazırlama aşamaları	34
Şekil 2.3: Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin (L-PRF) hazırlanması sırasında oluşan tabakalar	36
Şekil 3.1: Koyunlardan elde edilen kanın vakumlu tüplere enjekte edildikten sonraki görüntüsü	44
Şekil 3.2: Kan ile doldurulan tüplerin santrifüj cihazına simetrik olarak Yerleştirilmesi	45
Şekil 3.3: Santrifüj sonrası oluşan Plateletten fakir plazma (A), L-PRF pıhtısı (B), Kırmızı kan hücelerinin bulunduğu kısım (C)	46
Şekil 3.4: Santrifüj sonrası oluşan L-PRF pıhtısı (A) ve Kırmızı kan hücelerinin bulunduğu kısım (B) (plateletten fakir plazma kısmı çıkarılmış)	47
Şekil: 3.5: İşlemlerden sonra elde edilen L-PRF (plateletten fakir plazma ve kırmızı kan hücreleri çıkarılmış)	48
Şekil 3.6: Cilt insizyonunun ventro-dorsal yönde iliak krest çıkıntısını taklit eder tarzda eliptik bir hat izleyecek şekilde yapılması	49
Şekil 3.7: Yumuşak dokuların diseksiyonu sonrası ulaşılan iliak kemik	50
Şekil 3.8: İliak kemiğin lateral yüzeyinde standart boyuttaki trefan frez ile oluşturulan kemik defektleri	51
Şekil 3.9: Oluşturulan defektlere implantların yerleştirilmesi	51
Şekil 3.10: İmplant çevresinde oluşan boşlukların onarılması	53
Şekil 3.11: Uygulanan cerrahi yöntemin şematik görüntüsü	53
Şekil 3.12: Elde edilen L-PRF'nin greftle karıştırılmadan önce küçük parçalara ayrılması	54
Şekil 3.13: Defektlerin onarım işlemleri sonrası cerrahi alanın sığır kaynaklı kollajen membran ile örtülmesi	55
Şekil 3.14: Cerrahi alanın primer suturasyonu	56
Şekil 3.15: Vakumlu dehidratasyon ve infiltrasyon ünitesi	57

Şekil 3.16: Işıklı polimerizasyon ünitesi	58
Şekil 3.17: Pleksiglas yapıştırma ünitesi	58
Şekil 3.18: Exact 300 CP Hassas kesme ünitesi	59
Şekil 3.19: Exact 300 CS Mikroaşındırma ünitesi	60
Şekil 3.20: Histomorfometrik analiz istasyonu	61
Şekil 4.1: KİK yüzdesi değerlerinin gruptaki dağılımı	63
Şekil 4.2: Yeni kemik oluşumu yüzdesi değerlerinin gruptaki dağılımı	65
Şekil 4.3: Rezidüel kemik grefti yüzdesinin gruptaki dağılımı	66
Şekil 4.4: Yumuşak doku yüzdesinin gruptaki dağılımı	67
Şekil 4.5: Toplam sert doku yüzdesinin gruptaki dağılımı	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: Greft materyallerinin biyolojik özellikleri	12
Çizelge 2.2: Ağız içi donör alanların karşılaştırılması	14
Çizelge 2.3: Allogreftlerin avantaj ve dezavantajları	16
Çizelge 4.1: Her bir grupta ölçülen KİK (kemik implant kontakt) yüzdeleri	62
Çizelge 4.2: Her bir grupta ölçülen yeni kemik oluşumu, greft partikülü, yumuşak doku, toplam sert doku yüzdeleri.	64



KISALTMALAR DİZİNİ

ALP:	Alkalen fosfataz
BC:	Buffy coat (beyaz kan hücreleri ve plateletten zengin kısım)
BCP:	Bifazik kalsiyum fosfat
BMP :	Kemik morfojenik protein
BMP:	Bone morfojenik protein
β -TCP:	Beta trikalsiyum fosfat
cc:	Santimetre küp
DETAUM:	Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi
DDKKA:	Deminerale dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti
DKKA:	Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti
FGF:	Fibroblast growth faktör
g:	Gram
HA:	Hidroksiapatid
IFN:	İnterferon
Ig:	İmmün globülin
IGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL:	İnterlökin
İV:	İntra venöz
İM:	İntra muskuler
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
μ m:	Mikrometre
mm:	Milimetre
NK:	Naturel killer
PDGF:	Platelet derived growth faktör
PHEMA:	Polihidroksietil metakrilat
PMMA:	Polimetil metakrilat
PPP:	Plateletten fakir plazma
PRF:	Plateletten zengin fibrin

PRP:	Plateletten zengin plazma
RBC:	Kırmızı kan hücreleri
°C:	Santigrat derece
TCP:	Trikalsiyum fosfat
TGF- β :	Transforming growth faktör β
TNF:	Tümör nekrotize edici faktör
VEGF:	Vasküler endotelyal growth faktör
YKR:	Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu



ÖZET

İmplant Çevresinde Cerrahi Yöntemle Oluşturulan Defektlerde Plateletten Zengin Fibrinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Dental implantların kullanımı modern diş hekimliğinin önemli bir parçasıdır ve yaygın bir tedavi şekli haline gelmiştir. Protetik tedavi zamanını kısaltmak ve kemik kaybını en aza indirmek için yeni çekim soketlerine anında implant uygulaması önerilmektedir. Dental implantların etrafında cerrahi olarak yaratılan kemik defekti, deney hayvan modellerinde yeni çekim soketlerini simüle etmektedir. Bununla birlikte, implant boynu ve rezidüel kemik duvarları arasında kemik defektinin var olması nedeniyle bağ ve epitelyal dokudan defekt bölgesine hücre göçü meydana gelebilir ve bu durum muhtemelen osseointegrasyonu önler ve anında implant prosedürünün başarısını tehlikeye sokar. Çeşitli cerrahi tekniklerin, biyomalzemelerin ve anabolik ajanların etkinliği, bu tür defektlerin tedavisinde değerlendirilmektedir. Platelet konsantrasyonlarının ve ayrıca bu grubun içinde yer alan plateletten zengin fibrinin (PRF) kemik rejenerasyonunda kullanımı son zamanlarda popüler hale gelmiştir. Bununla birlikte, implant çevresi defektlerde PRF'nin etkinliği konusunda literatürde yeterli bilgi mevcut değildir.

Bu deneysel çalışmanın amacı PRF'nin ve sığır kaynaklı hidroksiapatit (HA) kemik greftinin tek başına veya karıştırılarak dental implantlar etrafında cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde kemik iyileşmesine katkılarını değerlendirmektir.

Deneysel çalışmamızda 5 koyun kullanıldı. Koyunların pelvisinde 10 mm çapında 4 mm derinliğinde 8 adet standart defekt oluşturuldu. Defektlerin tam merkezine olacak şekilde 40 adet dental implant yerleştirildi. Her bir hayvanda implant çevresinde oluşturulan iki defekt sadece PRF ile, iki defekt sadece 0,3 cc sığır kaynaklı HA kemik grefti ile, iki defekt PRF ve sığır kaynaklı HA kemik greftinin eşit karışımı ile dolduruldu ve iki defekt ise kontrol grubu olması için boş bırakıldı. Tüm defektler kollajen membranla örtüldü. Tüm hayvanlar 8 haftalık iyileşme periyodunun ardından sakrifiye edildi. İmplantlar çevrelerindeki

defektlerle birlikte *en bloc* şekilde çıkarıldı. Histomorfometrik analiz için undekalsifiye kesitler hazırlandı. Veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

Sonuç olarak PRF'nin tek başına veya sığır kaynaklı HA kemik grefti ile birlikte cerrahi olarak oluşturulan implant çevresi defektlerde kullanılmasının kemik rejenerasyonuna ve osseointegrasyona fazladan bir katkı sağlamadığı belirlendi.

Anahtar Sözcükler: İmplant, implant çevresi kemik defekti, PRF, trombosit konsantreleri, kemik rejenerasyonu, osseointegrasyon, histomorfometri



ABSTRACT

Evaluation of the Effects of Platelet Rich Fibrin on Bone Healing in Surgically Created Defects around Implants.

The use of a dental implant has become a common treatment and an important part of modern dentistry. Immediate implant placement into fresh extraction sockets has been recommended as a means to minimize bone loss and shorten the prosthetic treatment time. Surgically created bone defects around dental implants simulate fresh extraction sockets in experimental animal models. However, the residual bone defects, between the implant neck and the residual bone walls, may cause cell migration from the connective and epithelial tissue into the defect area, possibly preventing osseointegration and jeopardize the success of immediate implant procedures. For such defects, bone augmentation procedures in combination with the implant placement are necessary. Additional procedures can be used to shorten the bone healing period in bone augmentation and to strengthen the implant bone connection. The success of various surgical techniques, biomaterials and anabolic agents has been evaluated in treatment of such defects. The use of platelet rich fibrin (PRF) which is a platelet concentrate is recently popular in bone regeneration. However, there is a limited data in the literature about the effectiveness of PRF in periimplant defects.

The aim of this experimental study is to evaluate the contribution of PRF and bovine-derived hydroxyapatite (HA) graft to bone healing in surgically created bone defects around dental implants.

In this experimental study, 5 adult male sheep were used. Eight Standard bone defects 10 mm in diameter and 4 mm in depth were created in pelvis of the sheep. Fourty dental implants were placed at the center of the surgically created uniform defects. In each animal, two defects were filled only with PRF, two defects were filled per defect only 0,3 cc bovine derived HA bone graft, two defects were filled with equal volume of PRF and bovine derived HA bone graft mixture and two defect were left empty as a control group. All defects were covered with

collagen membranes. All animals were sacrificed after 8 weeks of healing period. The implants with surrounding bone defects were removed *en bloc*. Undecalcified sections were prepared for histomorphometric analysis. The data were analyzed statistically.

In conclusion, the use of PRF alone or with bovine derived HA bone graft in surgically created periimplant defects did not show an additional contribution to bone regeneration and osseointegration.

Key Words: Implant, periimplant bone defect, PRF, platelet concentrates, bone regeneration, osseointegration, histomorphometry



1. GİRİŞ

Modern implantlar Branemark ve ark. ile Schroeder ve ark. tarafından diş eksiklerinin tedavisi için kullanıma sunulmuştur^{1,2}. Yapılan deneysel çalışmalarda undekalsifiye kesitlerde histolojik olarak kemik implant kontağı gösterilmiştir¹. Bu histolojik preparatlarda kemik ile implant arasında gösterilen ilişki ile osseointegrasyon kavramı tanımlanmıştır³. Sonraki dönemde gerek implantların yüzey özellikleri geliştirilerek gerek implantın uygulandığı kemiğin rejenerasyon kapasitesi artırılmaya çalışılarak kemik ile implant arasındaki osseointegrasyon ilişkisi daha da iyileştirilmeye ve eksik diş için uygulanacak tedavi süresi kısaltılmaya çalışılmıştır.

Günümüzde diş kaybı yaşayan hastaların çoğu implant tedavisi ile eksik dişlerinin yerine konulmasını tercih etmektedirler. Diş çekimi sonrası hem protetik tedavi süresini kısaltmak hemde kemik kaybını azaltmak için yeni çekim soketine implant yerleştirilmesi son zamanlarda oldukça sık kullanılan bir tedavi yöntemidir⁴. Yeni çekim soketine implant yerleştirilmesi sırasında implant ile implantın yerleştirileceği kemik arasında boşluk oluşabilmektedir. Bu tür durumlarda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu teknikleri kullanılarak var olan boşlukta yumuşak doku oluşumunun engellenip sağlıklı kemik dokusunun oluşması için gerekli ortamın sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla bariyer membranlar, kemik greftleri ve kemik iyileşmesini etkilemek amacıyla çeşitli ürünler kullanılmaktadır⁵⁻⁹. Bu kullanılan materyallerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda, çekim soketini simüle etmek için deney hayvanlarında implantların yerleştirileceği kemikte defektler oluşturulup implantlar bu defektlerin içine yerleştirilmektedir¹⁰⁻¹³.

Son dönemlerde kemik rejenerasyonunu artırmak amacıyla platelet konsantreleri sıkça kullanılmaktadır¹⁴. Bu konsantrelerin içinde plateletten zengin fibrin (PRF) ve plateletten zengin plazma (PRP) önde gelen ürünler içinde yer almaktadır¹⁵.

Bu deneysel araştırmanın amacı dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan defektlerde PRF'nin ve sığır kaynaklı HA'nın kemik iyileşmesi ve osteointegrasyon üzerine etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Yapısı

Kemik insan iskeleti için sertlik, şekil verme, desteklik sağlama gibi fonksiyonları olan ve kalsiyum dengesi için büyük bir kalsiyum deposu olarak işlev gören mineralize ekstraselüler matriksi ile özelleşmiş bir bağ dokusudur¹⁶. Kemik organik matriksi; kollajen, kollejenöz olmayan proteinler ve proteoglikanlardan oluşur¹⁷. Bu matriksin içinde kalsiyum ve fosfat iyonları hidroksiapatit formunda bulunmaktadır¹⁷.

2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemiğin hücresel bileşimi osteojenik prekürsör (lining) (astar) hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositler olmak üzere dört kısımdan oluşmaktadır¹⁶.

Osteoprogenitör hücreler osteoblastların prekürsörü olduğu düşünülmektedir¹⁶. Bunlar tüm inaktif kemik yüzeylerinde bulunurlar ve kemiğin dış yüzeyini saran periosteumu ve kemiğin iç medullar yüzeylerini örten endosteumu oluştururlar¹⁸. Periosteum kemiğin artikülasyon yüzeyleri dışındaki kısmını örten bağ dokusunun dayanıklı vaskülarize tabakasıdır.

Osteoblastlar tamamen farklılaşmış, metabolik olarak aktif kemik üreten hücrelerdir. Tip 1 kollajen ve kemiğin organik matriksinin kollajenöz olmayan proteinlerinin sentezinden sorumludurlar¹⁶. Daha sonra bu matriksin mineralizasyonunu düzenlerler. Bazı osteoblastlar kemik üretme sürecinin sonuna doğru osteositlere dönüşürlerken diğerleri kemiğin endosteal veya periosteal yüzeylerinde yüzey hücreleri olarak kalırlar.

Osteositler olgun osteoblastların kemik matriksi içinde hapsolmuş halidir. Bu hücreler kalsiyum ve fosforun ekstraselüler konsantrasyonunu kontrol etmenin yanı sıra hücre hücre etkileşimi ile çevresel durumlara karşı adaptif yenilenme davranışı oluştururlar¹⁸.

Osteoklastlar hormonal ve hücresel mekanizmalar tarafından kontrol edilen çok çekirdekli kemiği rezorbe eden hücrelerdir. Rezorbsiyon işlevleri salgıladıkları hidrolitik enzimler aracılığıyla kemiğin organik ve inorganik kısmını çözerek gerçekleşmektedir.

2.1.2. Kemik Oluşum Modelleri

Embriyolojik olarak kemik oluşumu intramembranöz ve endokondral kemikleşme olmak üzere iki ayrı gelişim süreci şeklindedir¹⁶.

Kemikleşme direk olarak oluşursa bu intramembranöz olarak sınıflandırılır. Embriyonik mezenşimal hücreler bol kan desteği ile yoğunlaşır ve osteoblastlara farklılaşır ve bu osteoblastların organik matriks sentezlemesi ve bu matriksin mineralize olması ile direkt kemikleşme meydana gelir. Kemiklerin dış yüzeyini periosteum iç yüzeyini ise endosteum örter. Bu ikisinden ayrılan osteoblastlar kırıkta taslak olmaksızın doğrudan doğruya kemik dokusu meydana getirir. Bu intramembranöz kemikleşmedir. Kemikğin dış yüzeyinde yeni kemik periosteumdaki osteoblast faaliyeti ile oluşur ve buna periosteal veya apozisyonel büyüme adı verilir. Bu şekilde kemikleşen iskelet bileşenleri; kafatası, yüz iskeleti, mandibula, skapula ve klavikula parçalarıdır¹⁶.

Endokondral kemik oluşumu embriyonik mezenşimal kök hücrelerin primitif hiyalin kırıktağa farklılaştığı yerde bir kırıktağal faz içerir. Kan damarları ve kemik oluşum ünitesi kırıktağı rezorbe ederken bu matriks işgal edilen kemik ile yer değiştirir. Ağırılık taşıyan ve kemiklerin eklem yapan kısımları bu grubun içerisinde yer almaktadır. Kafa tabanının çoğu ve mandibulanın bir bölümünün endokondral kökene sahip olduğu düşünülmektedir¹⁶.

2.1.3. Kemik Tipleri

Kemikğin örgü kemik, kortikal kemik ve kansellöz kemik olmak üzere üç tipi vardır¹⁸. Örgü kemik embriyolojik gelişim sırasında, kırık sonrası iyileşme döneminde kallus oluşumu olarak ve paget hastalığı, hiperparatiroidizm gibi bazı patolojik durumlarda görülür¹⁸. Örgü kemik normal durumlarda yeniden şekillenerek kortikal veya kansellöz kemiğe dönüşür.

Kemik mimarisine bakıldığında dış kabuk kortikal veya kompakt kemik olarak adlandırılır ve mekanik destek sağlar¹⁶. Bu yapı ortak merkezli kollajen fibrillerin oluşturduğu lameller kemikten oluşmaktadır.

Kemikğin metabolik fonksiyonları iki kortikal tabaka arasında merkezi bir konumda bulunan kansellöz, trabeküler veya spongiöz kemik olarak adlandırılan yapı tarafından kontrol edilir. Kortikal kemikğin yoğun şekilde paketlenmiş fibrillerinin

aksine süngerimsi kemik matriksi gevşek düzenlenmiştir. Makroskopik olarak bu kemik hematopoetik elemanların yer aldığı bir petek kafes olarak görülür.

2.1.4. Kemik Bileşimi

Kemiğin bileşiminin ağırlık olarak %65-70'ini başlıca hidroksiapatit formundaki kristal tuzları oluşturmaktadır. Geriye kalan %30-35'lik kısmı ise organik matriksten oluşur. Organik matriksi başlıca tip 1 kollajen(%90-95) ve aralara dağılmış olan osteopontin, osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein ve çeşitli büyüme faktörleri gibi kollajenöz olmayan proteinler oluşturur¹⁶.

2.1.5. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme

Kemik bir kere oluştuktan sonra mineralize doku apozisyon ve rezorpsiyonu içeren bir süreç olan 'şekillenme ve yeniden şekillenme' olarak tanımlanan sürekli yenilenme döngüsüne girer¹⁷. Şekillenme başlangıç kemik yapısında oluşan değişikliği temsil eder. Bu değişikliği örneğin kuvvet gelmesi gibi dış faktörler başlatabilir. Diğer taraftan yeniden şekillenme ise doku mimarisinde herhangi bir değişiklik olmadan mineralize kemiğin içinde meydana gelen değişimi ifade etmektedir¹⁷. Yeniden şekillenme kemik oluşumu sırasında ve yaşlı kemiğin yeni kemiğe dönüşümü sırasında önemlidir. Kemik oluşumu sırasında ilk oluşan ve kuvvetlere dayanıksız olan örgü kemik yeniden şekillenme sayesinde, kuvvetlere karşı dayanıklı olan lameller kemiğe dönüşebilir. Yaşlı kemik yeni kemiğe yeniden şekillenme ile rezorpsiyon ve apozisyon süreçlerini içeren iki olay sayesinde dönüşür. Bu olaylar aynı anda gerçekleşmektedir ve kemik çok hücreli ünitesini oluşturmaktadırlar. Bu ünite önde osteoklastların yerleştiği yeni rezorbe olan kemik yüzeyi (rezorpsiyon kısmı), damar ve perisitleri içeren bir kompartman ve yeni oluşan organik matriksi üreten osteoblast tabakasından (depozisyon kısmı) oluşmaktadır. Lokal uyarılar ve paratiroid hormon, büyüme hormonu, leptin, kalsitonin gibi salınan hormonlar kemik yeniden şekillenmeini kontrol ederler. Bu süreç yaşam boyu gerçekleşir ve dış ve iç kaynaklı ihtiyaçlara adaptasyonu sağlar¹⁷.

2.2. Kemik İyileşmesi

Yaralanan dokunun iyileşmesine genellikle fonksiyon veya morfolojik olarak orijinal dokudan farklılaşan doku oluşumu öncülük eder¹⁷. Bu tip iyileşmeye tamir denir. Diğer taraftan doku rejenerasyonu ise morfoloji ve fonksiyonun tamamen restorasyonuna öncülük eden iyileşmeyi tanımlayan bir terimdir¹⁷.

Yaralanma şekline göre kemikteki iyileşme rejenerasyon ve tamir olmak üzere iki iyileşme fenomeni şeklinde ayrışır. Örneğin stabilize halde meydana gelen sınırlı bir alandaki kemik kırığında (yeşil ağaç kırığı gibi) iyileşme rejenerasyon şeklinde olurken, kemikteki daha büyük bir defekt tamir şeklinde iyileşecektir. Yaralanmayı takiben kemik dokusu oluşumunu engelleyen bazı faktörler vardır. Bunları sıralayacak olursak;

1. Yaranın içinde proliferen olan damarlardaki hasar
2. Defekt içinde pıhtı ve granülasyon dokusunun uygun olmayan stabilizasyonu

3. Yara bölgesinde osseoz olmayan dokuların yüksek proliferatif aktivitesi

4. Bakteriyel kontaminasyon

Yara iyileşmesi dört fazdan meydana gelir.

1. Kanın pıhtılaşması

2. Yaranın temizlenmesi

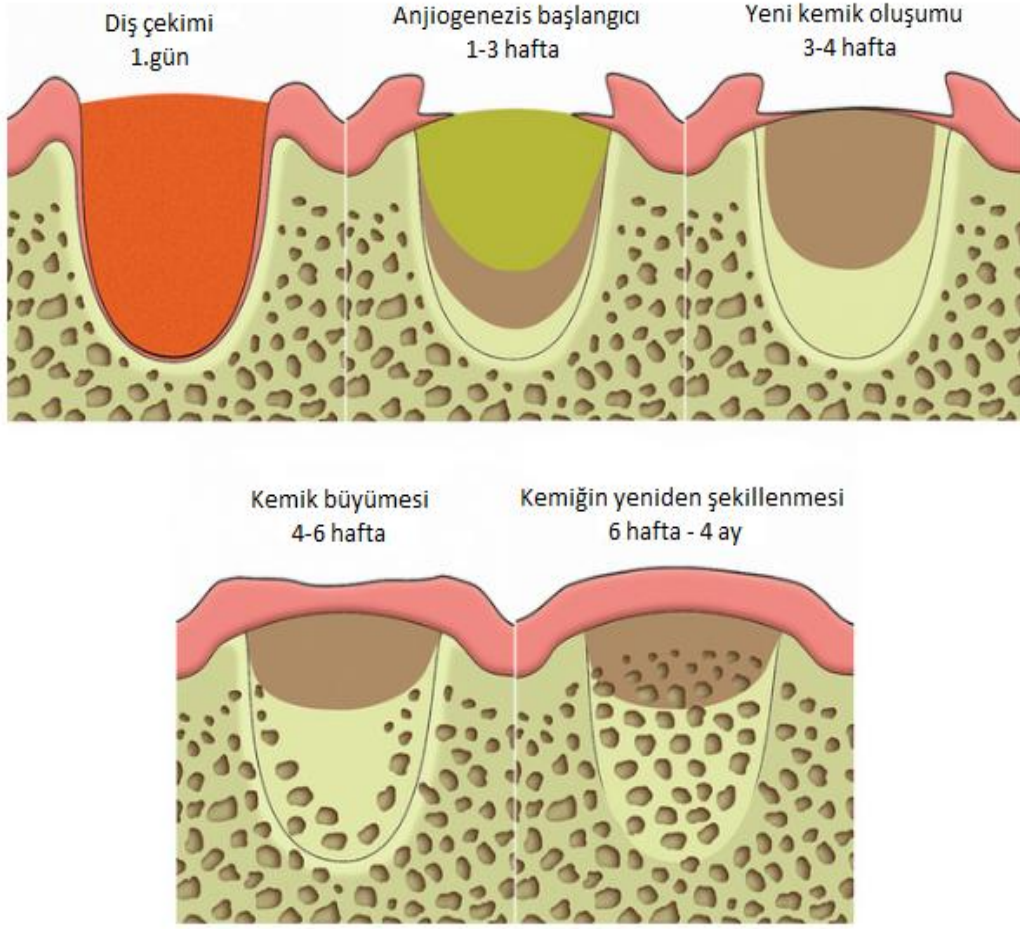
3. Doku oluşumu

4. Dokunun şekillenmesi ve yeniden şekillenmesi

Bu aşamalar düzenli bir sıra ile meydana gelir ancak bu fazlar üst üste gelerek, bazı bölgelerde doku oluşumu görülürken bazı bölgelerde şekillenme başlamış olabilir.

2.2.1. Kemik Oluşum Modeli

Kapatılmış bir çekim soketi dokudaki meydana gelen olayları anlamak için bir model olarak hizmet edebilir. Boş soket kanla dolar ve pıhtı meydana gelir. İnflamatuar hücreler pıhtı içine göç ederler ve doku temizlenme aşaması başlamış olur. Vasküler doku ve mezenşimal hücreler pıhtının içine girer ve granülasyon dokusu oluşmaya başlar. Bu granülasyon dokusu yavaş yavaş yerini geçici bağdokusuna bırakır ve yeni kemik (örgü kemik) oluşumu başlar. Soket aşamalı olarak örgü kemikle dolar ve daha sonra bu kemik şekillenme ve yeniden şekillenme ile lameller kemik ve kemik iliğine dönüşür (Şekil 2.1).



Şekil.2.1: Çekim soketi iyileşmesi.

2.2.2. Kemik Oluşumundaki Önemli Olaylar

2.2.2.1. Kan Pıhtısı Oluşumu

Diş çekiminden hemen sonra devamlılığı bozulan damarlardan oluşan kanama ile soket kanla dolar. Damarlar ve zarar görmüş hücrelerden kayaklanan proteinler bir seri olay sonucunda fibrin ağı oluşumuna neden olurlar. Tombositler kümeler oluşturur. Bu kümeler fibrin ağı ile etkileşim kurarak yaralanan damarları tıkarlar ve kanamayı durdururlar. Kan pıhtısı iyileşme sürecinin devam etmesi için önemli maddeleri içeren ve hücre hareketine yön veren fiziksel bir matris olarak rol oynar.

Pıhtının içerdiği maddeler mezenşimal (büyüme faktörleri gibi) ve inflamatuvar hücrelere etki eder. Bu maddeler çeşitli hücrelerin göçünü, bunun yanı sıra bu hücrelerin pıhtı içindeki çoğalmasını, farklılaşmasını ve sentetik aktivitelerini uyarır ve artırır.

Kan pıhtısı yara iyileşmesinin başlangıcında önemli rol oynamasına rağmen yeni doku oluşumu için pıhtının ortadan kaldırılması zorunludur. Bu nedenle dış çekimini takiben birkaç gün içinde ‘fibrinolizis’ denilen kan pıhtısının erimesi olayı başlangıç gösterir.

2.2.2.2. Yara Temizlenmesi

Nötrofiller ve makrofajlar bakteri ve zarar görmüş dokuları fagosite etmek için yaranın içine göç ederler. Böylece doku oluşumu başlamadan önce bölgeyi temizlemiş olurlar. Makrofajlar sadece yaranın temizlenmesinden değil aynı zamanda mezenşimal hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve göç etmesini sağlayan birkaç büyüme hormonu ve sitokinin ortama salınmasından da sorumludurlar¹⁷. Öncelikle debris ortadan kaldırılır ve yara steril hale getirilir.

Çekim soketlerinde trevmatize edilmiş kemik yüzeyleri nekroza giderler ve osteoklastik aktivite ile ortadan kalkarlar. Bu nedenle kemik iyileşmesinin fazlarına osteoklastlar da katılırlar.

2.2.2.3. Doku Oluşumu

Kemik iliğinden yara bölgesine göç eden fibroblast benzeri mezenşimal hücreler çoğalmaya ve hücre dışı lokasyonda matriks depolamaya başlarlar. Böylelikle yeni bir doku olan granülayon dokusu kan pıhtısı ile yer değiştirir.

Granülasyon dokusu erken granülasyon dokusu ve geç granülasyon dokusu olmak üzere ikiye ayrılır. Erken granülasyon dokusunu çok sayıda makrofaj, bir miktar mezenşimal hücreler, küçük boyutlarda kollajen lifleri ve yeni oluşan damarlardan meydana gelir. Geç granülasyon dokusu ise bir miktar makrofaj içerirken bağ doku matriksi içinde çok sayıda fibroblast benzeri hücreler ve yeni oluşan kan damarlarından oluşur.

Fibroblast benzeri hücreler ortama büyüme faktörlerini salmaya, dokunun daha fazla farklılaşabilmesine ve yeni hücrelerin içinde büyüebilmesine rehberlik eden yeni

ekstaselüler matriksi depolamaya ve üretmeye başlarlar. Yeni oluşan damarlar yeni doku içinde artmakta olan çok sayıda hücrenin oksijen besin ihtiyacını karşılarlar. Bu mezenşimal hücreler tarafından matriks bileşenlerinin yoğun sentezi fibroplazi olarak adlandırılırken, yeni damar oluşumu ise anjiogenezis olarak adlandırılır¹⁷. Anjiogenezis ve fibroplazi birleşimi yoluyla geçici bir bağ dokusu oluşumu meydana gelmiş olur.

Geçici bağ dokusunun kemik dokusuna dönüşümü vasküler yapılar boyunca meydana gelir. Böylece osteoprogenitör hücreler (perisitler gibi) damarların yakınına göç eder ve toplanırlar. Bu hücreler örgülü bir yapıyı üstlenecek kollajen liflerden bir matriksi üretecek osteoblastlara farklılaşırlar. Osteoid bu yolla oluşturulur ve mineralizasyon süreci bu alanın merkezinden başlar. Osteoblastlar osteoid sentezini gerçekleştirirken bazı hücreler matriks içinde sıkışır ve osteositler oluşur. Yeni oluşan kemik örgü kemik olarak adlandırılır¹⁷.

Örgü kemik kan damarlarının etrafında hızlı bir şekilde oluşması, iyi organize olamamış kollajen matriksi, mineralize matriksi içine sıkışmış çok sayıda osteoblast ve düşük yük taşıma kapasitesi ile karakterize ilk oluşan kemik tipidir¹⁷.

Örgü kemik yeni oluşan damarlar boyunca parmaklı uzantılar oluşturur. Örgü kemiğin trabekülleri damarların etrafını saracak şekilde oluşur. Trabeküller daha fazla oluşan örgü kemik sayesinde daha kalın hale gelir, osteositler sıkışır ve ilk osteon dizileri organize olurlar. Örgü kemik bazen kollajen liflerin örgü değil konsantrik desende yeniden şekillenmeleri ile paralel lifli kemik olarak adlandırılan forma dönüşür.

2.2.2.4. Doku Şekillenmesi ve Yeniden Şekillenmesi

Başlangıç kemik oluşumu hızlı bir süreçtir. Çekim soketi birkaç hafta içinde tamamen örgü kemik veya primer kemik spongiozasi olarak adlandırılan doku ile dolar.

Örgü kemik; stabil bir iskele olarak görev yapma, katı bir yüzey sağlama, osteoprogenitör hücre kaynağı olma ve hücre fonksiyonu ve matriks mineralizasyonu için yeterli kan temini gibi fonksiyonları sağlamaktadır. Şekillenme ve yeniden şekillenme sürecinde birincil osteonları ile birlikte örgü kemik yerini aşamalı olarak lameller kemik ve kemik iliğine bırakır. Remodeling sürecinde birincil osteonlar ikincil osteonlar ile yer değiştirir. Yeni kemik oluşumunun başlangıcı sekonder osteonlar etrafında meydana gelmektedir¹⁷. Kemikteki yaralanma alanında şekillenme ve yeniden

şekillenme erken başlar ve örgü kemik yerini lameller kemik ve kemik iliğine bırakana kadar birkaç hafta süresince devam eder.

2.3. Kemik Greftleri

Kemikte meydana gelen defektler her zaman tam olarak iyileşme göstermeyebilir. Bu durumda kemik defektinin iyileşmesini tam olarak gerçekleştirebilmesi ve defektin tamamen kemikle dolması için defekt bölgesinde kemik greftlerinin kullanılması iyileşmenin kemiğin eski haline yakın şekilde meydana gelebilmesine katkı sağlamaktadır.

2.3.1. Kemik Greftlerinin Biyolojisi

Kemik greftlerinin biyolojisini anlamak için osteogenezis, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon kavramlarının bilinmesi gerekmektedir¹⁹.

2.3.1.1. Osteogenezis

Osteogenezis verici greft içindeki hücresel elemanların transplantasyon sonrası hayatta kalarak nakledilen alanda yeni kemik oluşturabilmesidir²⁰. Osteogenezis iki yolla meydana gelebilir. Birincisinde transplant içindeki osteoblastlar alıcı kemikten difüzyon yoluyla beslenirler ve kemik dokusu oluşturmak üzere çoğalırlar¹⁹. İkincisi ise transplante edilen kemik iliği elemanları farklılaşarak kemik oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar. Bu tanıma uygun greftleme yöntemi otojen kemik ile greftlemedir.

2.3.1.2. Osteokondüksiyon

Osteokondüksiyon alıcı kemikten veya perivasküler alandan vasküler yapıların greftlenen alanın içine ilerleyip kemik oluşumunu başlatabilmesi için greft materyalinin iskele ve yer tutucu olarak görev yapmasıdır. Bu işlevin yerine gelebilmesi için kullanılan greft materyalinin yeni kemik oluşum hızı ile korele olacak şekilde rezorbe olması gerekmektedir. Hızlı rezorbe olan bir materyal kullanıldığında yeni kemik oluşumu için iskele ve yer tutucu özellik erken ortadan kalkacak ve kemik oluşumu meydana gelmeyecektir. Aynı şekilde geç rezorbe olan bir materyal kullanılırsa bölgede yeni kemik oluşumu için alan oluşmayacağından kemikleşme sekteye uğrayacaktır.

Osteokondüktif olarak otojen kortikal kemik, bankalanmış kemik allogreftleri, ksenogreftler ve alloplastlar örnek verilebilir.

2.3.1.3. Osteoindüksiyon

Osteoindüksiyon kemik matriksinden doğan primitif mezenşimal hücrelerden kökenli osteoprogenitör hücreler tarafından oluşan yeni kemik formasyonunu ifade etmektedir. Bone morfojenik protein (BMP) ve demineralize kemik matriksi bu özellikteki materyallere örnektir²¹⁻²³. İyileşme sırasında bazı uyarılar iyileşmeyi kondro-osteojenik yolağa yönlendirerek gerçekleştirmektedir. Uyarılar sayesinde farklılaşmamış hücreler osteojenik hücrelere dönüşeceği bir yol izlerler. Bir çok uyarı kemotaktik ve mitojenik uyarılar ile bu işlevi yerine getirirler. Bu faktörler dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2, plateletlerden elde edilen büyüme faktörü (PDGF) ve diğerleri şeklinde sıralanabilir¹⁹.

2.3.1.4. Osteointegrasyon

Osteointegrasyon terimi ise greftin arada fibröz doku oluşumuna yol açmayacak şekilde alıcı kemik yüzeyine kimyasal olarak tutunabilmesidir²⁰.

2.3.1.5. Onarım

Onarım (creeping substitution) greft ile greftlenen kemik birleşiminden başlayarak nekrotik olan greft materyalinin osteoklastlar tarafından rezorbe edilip, rezorbe olan alanın yeni kemik oluşumu ile doldurulmasına verilen isimdir.

Bu terimler greftleme yapıldığı durumlarda kemik rejenerasyonunun nasıl, hangi olaylar ile meydana geldiğini anlatmaktadır. Osteogenezis, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon özellikleri sağlanmadan tek başına gerçekleşmemektedir. Kemik rejenerasyonu için gerçekleşmesi gereken bazı durumlar şunlardır:

- ❖ Kemik oluşturma yeteneği olan veya kemik oluşturabilecek hücrelere dönüşebilecek hücrelerin ortamda bulunması veya ortama gelebilmesi ve bunların miktarı.
- ❖ Mezenşimal hücreleri osteoblastlara farklılaştıracak osteoindüktif uyarının varlığı.

❖ Doku proliferasyonuna ve osteoprogenitör hücrelerden osteoblastlara farklılaşarak kemik oluşturan osteokondüktif çevrenin varlığı^{24,25}.

2.4. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri

Kemik greftleri kemik oluşumunu kolaylaştırmak ve yara iyileşmesini teşvik etmek için bir dolgu maddesi ve iskele olarak kullanılır²⁶. Bu greftler biyoemilebilirdirler ve antijen-antikor reaksiyonuna neden olmazlar. Yeni kemik oluşumunu tetikleyen bir mineral deposu olarak işlev görürler.

Kemikte yapılan greftleme hastanın kendi vücudundan, yapay olarak , sentetik yolla veya doğal maddelerden elde edilen materyallerin kaybolan kemiğin yerine konması ile yapılan cerrahi bir işlemdir²⁶.

İdeal kemik grefti materyali osteojenik, osteokondüktif, osteoindüktif özellikler taşımalıdır. Ayrıca biyouyumlu olmalıdır, var olan mekanik özelliklerini koruyarak steril edilebilmelidir ve cerrahi sırasında manipülasyonu kolay olmalıdır²⁷.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik grefti materyalleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir²⁸.

- * Otojen kemik greftleri
- * Homojen kemik greftleri
 - Allogreftler
 - İzogreftler
- * Heterojen kemik greftler (Ksenogreftler)
- * Alloplastik kemik greftleri

Bu kemik grefti materyalleri arasında osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik biyolojik özellikler açısından farklılıklar vardır.

Çizelge 2.1: Greft materyallerinin biyolojik özellikleri

	Osteokondüktif özellik	Osteoindüktif özellik	Osteojenik özellik
Alloplast	Var	Yok	Yok
Ksenogreft	Var	Yok	Yok
Allogreft	Var	Yok	Yok
Otogreft	Var	Var	Var

2.4.1. Otojen Kemik Greftleri

Bir canlıdan alınan kemik doku parçasının yine aynı canlının vücudunun başka bir yerine yerleştirilmesidir. Osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona neden olmaması bu grubu en avantajlı greft materyali olarak göstermektedir^{29,30}. Diğer greft grupları ile karşılaştırıldığında altın standart olarak kabul edilir³¹. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç olması uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi ve bakım süresinin uzaması bu grubun dezavantajlarıdır³⁰. Diğer dezavantajlara bakacak olursak şu şekilde sıralanabilirler:

- Greftin elde edilmesi hastanın postoperatif dönemdeki rahatsızlığını arttıran ikinci bir cerrahi işlem gerektirir.
- Donör alanda, enfeksiyon veya morbidite riskini arttıran başka bir osseöz defekt oluşur.
- Özellikle iliak greftler ağız içi sahaya taşındığında, aşırı greft rezorpsiyonu gözlenebilir. Mandibuler greftlerde, alıcı yatak ile aynı embriyonik orjinden olduğundan daha az rezorpsiyon gözlenir.
- İntraoral donör alanlardan sadece kısıtlı miktarda greft materyali elde edilebilir,
- Çene ucu greftlerinde, apikal kök yaralanması ve duyusal sinir yaralanması riski vardır.

Bu grupta osteogenezis, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon mekanizmaları iyileşme sürecine katılır. Otojen kemik grefti cerrahi işlem yapıldıktan sonra 2 hafta süre ile osteojenik etkiye sahiptir. Greftlemeden 2-6 hafta sonra osteoindüktif etki başlar ve 6 ay kadar devam eder. Son olarak osteokondüktif etki ile apozisyonel kemik oluşumu meydana gelir.

Otojen kemik greftlerinden bahsederken kortikal ve kansellöz kemikler arasında ayırım yapmak doğru olacaktır. Kortikal greftler, form sağlayıp, dayanıklı ve sert bir yapı oluştururken, osteogenezisi artırıcı yetenekleri yoktur. Kansellöz kemik ve kemik iliğinin primer avantajı, belirgin şekilde osteogenezisi artırma yetenekleridir³⁰. Bu yetenekleri, osteojeniteyi indüklemeye kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Bu greftlerin bilinen tek dezavantajı; mekanik sağlamlığı sağlayamamalarıdır. Bu nedenlerden dolayı kortikokansellöz otojen kemik grefti kullanılması günümüzde popüler bir yaklaşımdır.

Otojen kemik greftlerinin elde edilebileceği bölgeleri ağız içi ve ağız dışı olarak sınıflandırmak mümkündür.

2.4.1.1. Ağız İçi Otojen Kemik Grefti Alınan Bölgeler

Ağız içi donör alanlar; mandibular simfiz, mandibular ramus ve retmolar alan, maksilla tüber bölgesi, koronoid proses, maksilla ve mandibuladaki torus alanları ve zigomatik kemiktir²⁹. Aşağıdaki tablo bu alanların farklı parametrelerde birbirleri ile karşılaştırılmasını göstermektedir. Greftlerin alınmasında kemik kazıyıcı, kemik toplayıcı, kemik pensi, frez, testere, lazer ve ultrasonik enstürümanlar kullanılabilir.

Çizelge 2.2: Ağız içi donör alanların karşılaştırılması²⁹.

	Kemik hacmi	Blok boyutu	Kemik kalitesi	Komplikasyonlar	Kullanıldığı operasyon
Mandibula simfiz	4-5 ml	21*10*7 mm (iki blok şeklinde)	Kortikal ve biraz kansellöz	Endodontik problem, mental sinir parestезisi, yara açılması	Sinüstabanı augmentasyonu, onley greftleme
Mandibula ramus ve retmolar alan	0,5-1,5 ml	16*9*4,5 mm	Kortikal	İnferior alveolar sinir parestезisi	Onley greftleme, sınırlı alanda sinüs tabanı augmentasyonu
Maksiller tüber bölgesi	0,2-0,5 ml	-	Kansellöz	Sinüs perforasyonu	Alveoler greftleme, sinüs tabanı augmentasyonu
Koronoid proses	0,7 ml	16*9*5 mm (üçgen blok)	Kortikal	İnferior alveolar sinir parestезisi	Onley greftleme
Maksilla ve mandibula toruslar	Torusun boyutuna bağlı	Torusun boyutuna bağlı	Kortikal	Mukozal açıklık, lingual sinir parestезisi	Diğer greftlere ekleme
Zigomatik kemik	0,5-1,5 ml	1,5*1*0,5	Kortikal ve kansellöz	Sinüs perforasyonu	Alveoler greftleme

2.4.1.2. Ağız Dışı Otojen Kemik Grefti Alınan Bölgeler

Ağız dışı donör alanlar, ihtiyaç duyulan kemik grefti miktarının ağız içi donör alanlardan sağlanamayacağı durumlarda tercih edilmektedir. Ancak ağız dışı otojen kemik grefti alınması işlemi genel anestezi gerektirmesi, maliyetin artması, sonrasında hastanede yatma gereksinimi, skar oluşumu ve donör alan morbiditesi gibi dezavantajlara sahiptir. Literatürde ağız dışı bazı alanlardan otojen kemik greftlerinin klinik şartlarda da alınabileceğini ve genel anestezi ihtiyacının ortadan kalkabileceğini öne süren çalışmalar da mevcuttur^{32,33}.

Bu amaçla kullanılan ekstraoral donör sahalar şunlardır³⁴:

- Kalvaryum

- İliak krest
- Tibia
- Kostalar
- Kranial kemik

2.4.2. Allojen Kemik Greftleri

Allogreft bir bireyden alınan dokunun işlemler sonucunda farklı şekil ve boyutlara sokularak aynı türün başka bir bireyine implante edilmesi olarak tanımlanır³¹. Tanım olarak kemik allogrefti nekrotik dokulardan oluşur ve canlı hücreleri içermez³¹.

Allojenik kemik greftlerinin konakta immün yanıtı azaltmak, sterilize etmek ve korunmasını sağlamak için kullanılan tekniklerden dolayı osteoindüktif özelliklerini tamamen kaybederler ve osteojenik özellik taşımazlar³¹. Bu hücresiz yapı greftleme yapılacak bölgenin doldurulması ve doldurulan alana mezenşimal hücrelerin gelmesi ve o bölgede büyümeleri için iskele görevini üstlenmektedir³⁵.

Allogreft çeşitleri aşağıdaki gibidir:

- Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
- Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)
- Işınlanmış kansellöz kemik allogrefti
- Demineralize Kemik Matriksi

Çizelge 2.3: Allogreftlerin avantaj ve dezavantajları³⁵.

Avantajları	Dezavantajları
Kaynak kısıtlamasının olmaması	Osteoindüktif ve osteojenik özelliğinin olmaması
Donör saha morbiditesinin olmaması	İmmünolojik etki oluşturabilmeleri
Ameliyat süresinin azalması	Yeni kemik oluşumu için uzun süre beklenmesi
Anestezi süresinin kısalması	Çapraz enfeksiyon ve bulaşıcı hastalıklar

2.4.3. Heterojen Kemik Greftleri (Ksenogreftler)

Heterojen tanımı farklı türlerden alınan dokular için kullanılır. Bu grup içinde doğal HA ve organize olmamış sığır kemiğinden bahsedilebilir. Doğal hidroksiapatit, mercanın kalsiyum karbonat iskeletinden sentezlenir. HA; ortalama 200 µm'lik por çapı ile doğal kemiğin üç boyutlu mikroyapısına sahiptir. Materyal yüksek derecede biyouyumludur³⁶.

Organize olmamış sığır kemiği inorganiktir. Bazı organik çözücüler ile hazırlanan ve bu sırada immünojenitesinin çoğunu kaybeden sığır kemiği en genel heterojen greft kaynağıdır³⁰. Greftin hazırlanması sürecinde materyale göre değişiklik göstermekle birlikte kimyasal ve ısıl işlemler uygulanmaktadır. Bu kemik etilen daimin ile 24 saat bekletilip organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra kalsiyum matriks sterilize edilerek greft kullanıma hazır hale getirilir. Yüksek ısı (1100 °C) ile sinterize olan materyalde kristallerinde füzyon oluşur, bu da porozite ve yüzey alanında azalmaya neden olur. Düşük ısı (300 °C) sürecinden geçirilen materyallerde, gerçek trabeküler yapı ve porozite korunur. Bu şekilde hazırlanan greft, alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmaz³⁰.

Sığır kaynaklı HA ihtiva ettiği kristalin ve morfolojik yapısı nedeniyle insandaki kansellöz kemikle benzerlik göstermektedir^{37,38}. Ayrıca elastisite modülü de doğal

kemiğe benzerdir³⁹. Osteokondüktif özelliklere sahip güvenli ve biyouyumlu bir kemik grefti materyalidir⁴⁰⁻⁴². Doğal yapısı, makropor ve mikroporların bağlantısı ve küçük kristal formasyonu ile sentetik HA'ya kıyasla daha geniş bir yüzey alanı sunar⁴³. Materyal yüksek biyouyumluluğa sahip olup komşu yumuşak ve sert dokulara sıkı bir şekilde bağlanır. Daha yavaş rezorbe olması nedeniyle iyileşme sırasında greftlenen bölgenin hacminde ciddi bir azalma olmaz³⁸. İyi organize, geçirgen pöröz yapısı ve iç içe geçmiş üç boyutlu yapısı sayesinde greft ve içine büyüyen kemik normal kemikle aynı kimyasal ve biyomekanik mekanizma ile tekrar şekillenir. İyileşme sonrası çığneme kuvvetlerini karşılayabilecek duruma gelir⁴⁴.

Sığır kaynaklı HA kullanımının bazı dezavantajları vardır. Bunları sıralayacak olursak;

- Poröz yapının artmasına bağlı olarak dayanıklılığın azalması
- Mekanik kuvvetlere maruz kaldığında yer değiştirmenin meydana gelmesi
- Uygulandığı alanda enfeksiyon varlığı olmamalıdır⁴⁵.
- Konak immün cevabı riski
- Kırılganlık ve kolay migrasyon
- Bazı durumlarda otojen greft ile kombine kullanım gerektirmesi, rezorbe olabilen veya olmayan membranlar ile kullanılmasının gerekmesi^{46,47}.
- Deli dana hastalığı (bovine spongiform ensefelopati) gibi bulaşıcı hastalıkların taşınmasına olanak sağlaması nedeniyle kullanımı sorgulanabilir^{38,48}.

Sığır kaynaklı HA'in etrafında yeni kemik oluşumunu inceleyecek olursak; başlangıçta osteokondüktif özelliği ile bulunduğu alanda iskele görevi görür ve oluşan pıhtı ile organize olarak biyomekanik destek sağlar. Bu iskele içerisinde bulunmaya başlayacak olan damarlar, perivasküler doku ve osteoindüksiyon özelliği taşıyan komşu kemikten gelen mezenşimal hücreler için gerekli alanı sağlar.

Yeni kemik oluşumu greftlenen bölgedeki kemikten gelen osteojenik hücrelerin rehberliğinde, greftlenen alanın etrafında bulunan alıcı kemikten greftlenen alanın merkezine doğru olacak şekildedir. Bu aşamada greft partikülleri osteoklastlar tarafından rezorbe edilirken diğer taraftan da yeni kemik oluşumu meydana gelir. Bu rezorptif aktivite greft partiküllerinin üzerinde bulunan girinti çıkıntılar ve çukurlarda çok çekirdekli dev hücrelerin varlığı ile ispatlanmıştır^{27,49}. Sığır kaynaklı HA inert ve stabil yapıda olması nedeniyle kemik, kemik iliği ve fibrovasküler yapıda 10 yıla kadar

varlığını sürdürmektedir^{27,50,51}. Artzi ve ark.⁵² köpeklerde yaptıkları bir çalışmada 24 ay sonunda defekt alanında sığır kaynaklı HA hala var olduğunu göstermişlerdir. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre rezorpsiyon süresi değişkenlik göstermektedir ancak yavaş rezorpsiyon kabul gören bir sonuçtur. Greft materyalinin rezorpsiyonu ile eş zamanlı olarak bu alanlarda yeni kemik oluşumu da meydana gelir. Yeni oluşan kemik örgü yapıda olup greft partiküllerinin arasında köprü şeklinde organize olmaktadır. Greft partikülleri arasında oluşan bu yeni kemik köprüleri ve ksenogreftten oluşan dokuya total mineralize doku denilmektedir. Şekillenme ve yeniden şekillenme olayları ile bu yeni kemik olgun lameller kemiğe dönüşür.

Sığır kaynaklı HA'nın rezorpsiyon zamanını anlamaya yönelik çalışmalara bakıldığında sonuçlar arasında farklılıklar görülmektedir. Bazı çalışmalarda rezorbe olduğuna dair sonuçlar mevcuttur^{41,53,54}. Ancak bu materyalin rezorpsiyon süresinin uzun olduğu kabul gören bir gerçekliktir^{51,55-57}.

2.4.3.1. Sığır Kaynaklı Hidroksi Apatitin Klinik ve Deneysel İncelemesi

Literatüre bakıldığında sığır kaynaklı HA'nın deneysel ve klinik çalışmalarda sıklıkla kullanıldığı görülmektedir²⁷. Sığır kaynaklı HA klinik⁵⁸⁻⁶⁰ ve deneysel⁶¹⁻⁶³ olarak bir çok çalışmada başarılı bulunmuştur. Ağız diş ve çene cerrahisindeki kullanım alanları içerisinde periyodontal rejenerasyon, soket hazırlama, peri implant rekonstrüksiyon ve alveolar kemik augmentasyonu yer almaktadır.

Klinge ve ark.⁵⁴ tavşanlar üzerinde yaptığı çalışmada sığır kaynaklı HA'nın morfolojisi ve içindeki makroporların yapısı ile doğal kansellöz kemiğe benzediğini ve yeni kemik oluşumu için ideal bir iskele görevini üstlendiğini belirtmiştir.

Alveolar kemik yetersizliğinde implant yerleştirilmesinden önce augmentasyon teknikleri kemiğe implantın yerleştirilebilmesi ve primer stabilizasyon amacıyla uygulanmaktadır. Ancak diğer taraftan eğer implantın yerleştirilmesi sırasında primer stabilizasyon sağlanabiliyorsa implantın kemikle temasta olmayan kısımları greftlenerek tek cerrahi aşama ile bu işlem gerçekleştirilebilir. Zitzmann ve ark.⁶⁴ yaptıkları klinik çalışmada alveolar sırt defektlerinin augmentasyonunda sığır kaynaklı HA kullanmışlar ve greftlemeden 6-7 ay sonra greftlenen bölgelerden biyopsi almışlardır. Biyopsiler histolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlara

göre %31 rezidüel greft miktarı ve %37 mineralize kemikle kotakta greft yüzey alanı bulunmuştur. Geriye kalan parçacıkların ise bağ doku ve kemik iliği ile yakın olduğu görülmüştür. Rezorpsiyon lakünlerinin rejenere olan kemik ve greft partikülleri arasında olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum remodeling sürecini belirtmektedir. Çalışmada varılan sonuç; sığır kaynaklı HA insanlarda lokalize alveoler kret augmentasyonunda kullanılabilir ve osteokondüksiyon ve yavaş rezorpsiyon özelliği bu duruma yardımcı olmaktadır.

Schmid ve ark⁶⁵. 20 tavşanın kalvaryumunda oluşturulan defektlerde sığır kaynaklı HA ve eriyebilen membranın kemikleşmeye etkisini birinci ve ikinci aylarda değerlendirmişlerdir. Kontrol grubunda defektler kan ile dolmuştur. Elde edilen sonuçlara göre sığır kaynaklı HA'nın başlangıç kemik neogenezini artırdığı ancak sonraki gözlem dönemlerinde kemik hacmi ve yüksekliğinde etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Hammerle ve ark⁶². buna benzer bir diğer çalışmada sığır kaynaklı HA'nın osteokondüktif özelliklerinin olduğunu ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu sırasında osteoblast işlevini artırarak başlangıç yeni kemik oluşumunu artırdığını vurgulamışlardır.

Ksenogreftler kullanılarak peri implant defektlerdeki kemik iyileşmesinin başarılı bulunduğunu destekleyen pek çok çalışma mevcuttur⁶⁶⁻⁶⁹. Abushahba ve ark⁶⁷. köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada implantlar etrafında 1,33 mm eninde ve 5 mm derinliğinde defektler oluşturup sığır kaynaklı HA greft materyalinin ve otojen kemiğin 3 aylık dönemdeki kemik iyileşmesine katkısına bakmışlar. Sonuç olarak her iki greft materyalinde başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir.

Berglundh ve Lindhe⁴¹ köpeklerde yaptıkları çalışmada çekim soketine yerleştirilip etrafı sığır kaynaklı HA ile doldurulan implant etrafındaki kemik iyileşmesi ile normal kemiğe yerleştirilen implantların etrafındaki kemik iyileşmesi arasında karşılaştırma yapmışlar ve sonuçların benzer olduğunu belirtmişlerdir.

Hockers ve ark⁷⁰ yaptıkları çalışmada köpeklerin premolar dişlerini çekip iyileşme döneminin ardından, çekim bölgelerine yerleştirilen implant alanlarında standardize defektler oluşturmuşlardır. Bu defektlerde sadece membran, membran ve sığır kaynaklı HA, membran ve otojen kemik kullanılmıştır. Greft materyali ve membranın kullanılmadığı defekt kontrol grubu olarak hazırlanmıştır. Yapılan incelemede kemik

oluşumuna katkı açısından otojen kemikle sığır kaynaklı HA arasında fark bulunamamıştır.

Hammerle ve ark⁷¹ yaptıkları klinik çalışmada hastalardan çekim yapıldıktan 8-14 hafta sonrasında çekim bölgelerine yerleştirilen implantlar etrafındaki dehisens tarzındaki defektlerde sığır kaynaklı HA ve rezorbe olan kollajen membranın etkinliğini incelemiştir. İşlem sonrası implantlar transmukozal şekilde ağız içi ile ilişkili halde bırakılmıştır. Çalışma sonucunda implantlar etrafına uygulanan greftleme ve membran uygulamasının peri implant kemik içine uzanan cep varlığına etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar; başlangıçta sondlama derinliği 0-3 mm için %62, 2-4 mm için %23, 6 mm ve daha fazlası için %15 iken; 6-7 ay sonraki ölçümlerde 3 mm ve daha az için %95, 4-6 mm için %5 olarak bulunmuştur. Yazarlar bu çalışmanın sonucunda rezorbe olabilen sığır kaynaklı HA ve membran uygulamasının peri implant kemik defektlerinin rejenerasyonunda başarılı olduğunu işaret etmişlerdir. Aynı grup tarafından 12 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada lateral kret augmentasyonunda sığır kaynaklı HA'nın etkinliği değerlendirilmiştir⁷². İmplant yerleştirilmeden önce lateral kret augmentasyonu gerekli olan 12 hastanın implant yerleştirilmesi planlanan bölgedeki defekt alanları sığır kaynaklı HA ve eriyebilen kollajen membran kullanımı ile augmente edilmiştir. Cerrahi alana 9-10 ay sonra girişim sağlanarak değerlendirilmiştir. Greft partiküllerinin yeni oluşan kemiğin içine ve yüzeyine integre olmuş durumda oldukları ve etraflarında yumuşak dokuya ait herhangi bir kapsül oluşumunun bulunmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak sığır kaynaklı HA ve eriyebilen kollajen membran uygulamasının lateral alveoler kret augmentasyonunda başarılı olduğu vurgulanmıştır.

Mardas ve ark⁷³. Yaptıkları randomize kontrollü klinik çalışmada 27 hasta üzerinde sentetik kemik grefti ile sığır kaynaklı HA'yı çekim soketinde kemik genişliği ve yüksekliğindeki değişiklikler açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda iki materyal arasında interproksimal kemik yüksekliği ve kemik genişliği açısından bir fark bulunamamıştır.

Peri implant defektlerde kemik iyileşmesine katkı sağlamak amacıyla ksenogreftlerin kullanımı güvenli bir yöntemdir⁶⁶⁻⁶⁹.

2.4.4. Alloplastlar

Sentetik olarak üretilen ve kemik rejenerasyonunda kullanılan greft materyalleridir. Allogreft ve ksenogreftlerin dezavantajlarından kaçınmak için kullanılmaya başlanmışlardır. Osteokondüktif özelliğe sahiptirler. Yapıları rezorbe olanlar, rezorbe olmayanlar veya pöröz yapıda olanlar; mikropöröz (350 µm'den küçük), makropöröz (350 µm'den büyük), pöröz yapıda olmayanlar şeklinde kategorize edilebilir.

Biyouyumlu olmaları, kolay üretilebilmeleri, çapraz enfeksiyon riskinin ortadan kalkması, steril edilebilme saklanabilme avantajları arasında yer almaktadır.

Alloplastik greft materyallerinin sınıflaması aşağıdaki şekildedir^{74,75}.

- Seramikler
 - Sentetik HA
 - Trikalsiyum fosfat (TCP)
 - Biyoaktif cam
- Kalsiyum karbonat
- Kompozit polimerler
 - Rezorbe olan
 - Rezorbe olmayan
- Kalsiyum sülfat

2.4.4.1. Seramikler

2.4.4.1.1. Sentetik HA

Hidroksiapatit kemiğin primer mineral komponentidir⁷⁶. Bu materyalin kullanım alanlarını etkileyen bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri vardır. Rezorbe olan veya olmayan form, blok veya partiküler yapıda olması ve pöröz yapının makro veya mikro yapıda olması fiziksel özelliklere aittir. Kalsiyum fosfat oranı, uygulandığı alanın pH'sı ve iyon değişimi kimyasal özellikleri belirler.

Greft materyalinin rezorbe olma özelliğini işlendiği sıcaklık belirlemektedir⁷⁶. Yüksek sıcaklıkta işlendiği zaman hidroksiapatit rezorbe olmayan, dens yapıda, pöröz yapının olmadığı ve partikül boyutunun arttığı bir materyal olmaktadır. Partikül boyutunun artması ve pöröz yapının olmayışı materyali rezorbe olmayan bir yapıya

dönüştürmektedir. Sentetik HA'in bu tipi kemik içi defektlerde doldurucu olarak görev almaktadır ve kemikleşmeye katkı sağlamamaktadır.

Pöröz yapı greft partiküllerinin içine kanın infiltre olmasını ve bu sayede anjiogenezin oluşması ile kemik rejenerasyonuna olanak sağlar ve yeni kemik oluşumuna destek olacak yapıyı ihtiva eder. Ancak bir dezavantaj olarak pörözite artışı materyalin dayanıklılığını azaltmaktadır. Düşük sıcaklıkta işlendiğinde poröz yapıda partiküler hidroksiapatit ve amorf hidroksiapatid oluşur ve bu materyal kemik içi greftleme işlemlerinde osteokondüktif özelliği ve rezorbe olabilen yapısı ile kemik oluşumunda mineral rezervuarı olarak görev alır⁷⁶.

Sentetik HA'in kullanımı ile donör alan morbiditesinin ortadan kalkması gibi bir avantaj sağlansada, materyalin uzayan rezorpsiyon süresi ve granüllerinin migrasyon göstermesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır^{77,16}.

2.4.4.1.2. Trikalsiyum Fosfat (TCP)

Kalsiyum fosfatın gözenekli yapıda olan halidir. HA ile benzer kimyasal yapıda olmasına rağmen doğal kemik ile benzer kimyasal özellik göstermemektedir. Sinterizasyon sıcaklığındaki değişiklikler farklı kristal fazlarının oluşmasını sağlamaktadır. TCP'nin kullanılabilir iki formu mevcuttur⁷⁸. Bunlardan birincisi olan α -TCP 1125 °C üzerindeki sıcaklıkta üretilir. İkinci form ise β -TCP'dir ve 1125 °C altındaki sıcaklıkta üretilmektedir. Bu iki form TCP kristallerinin yapısal konfigürasyonlarını ifade etmektedir. Bu durum rezorpsiyon hızını belirleyen bir özellik ortaya çıkarmaktadır. α -TCP rezorpsiyon süreci çok uzun olan bir materyaldir ve kullanıldığı alanda uzun zaman sonra bile rezorbe olmadan kalabilmektedir. Bu nedenle α -TCP kullanımı önerilmemektedir. β -TCP ise 8-12 ay içinde rezorbe olarak yeni oluşan kemiğe yerini bırakır.

Osteokondüksiyon özelliği sayesinde β -TCP kemik oluşumu için bir iskele oluşumu sağlar ve neredeyse kemik oluşum hızı ile aynı olan rezorpsiyon süresi sayesinde kemik oluşumuna katkıda bulunur. Osteoindüktif özelliği bulunmamaktadır. Ancak bu özelliğin eksikliği otojen kemik ve allogreftler ile karıştırılarak aşılabilmektedir.

2.4.4.1.3. Bioaktif Cam

Bioaktif camlar oksitbazlı biyouyumlu seramiklerin özel bir alt sınıfıdır. Yapılarında kalsiyum, sodyum, fosfor tuzlarını ve silikon ihtiva ederler (CaO , Na_2O , SiO_2 , P_2O_5)⁷⁶. Granülleri ortalama 300-355 μm boyutlarındadır.

Bu materyal sert ve yumuşak dokulara yapışıp ve çok uzun sürede çözünme göstererek yeni doku olumşumunu uyarmaktadır⁷⁹. Karbonatlanmış hidroksiapatitten oluşan bir yüzey tabakası gelişimi ile kemiğe yapışırlar. Bioaktif camlar doku sıvıları ile temas ettiklerinde kalsiyum-fosfordan zengin (apatit) ve silika jelden oluşan çift tabakalı bir yapı ile kaplanırlar⁷⁶. Kalsiyum fosfattan zengin tabaka osteoblastların protein konsantrasyonunu absorbe ederek mineralize ekstraselüler matriks oluşmasını teşvik etmektedir.

2.4.4.2. Kalsiyum Karbonat

Kalsiyum karbonat deniz mercanından elde edilip genelde kemik defektlerinin onarımında kullanılmaktadır. Mercan kaynaklı kemik grefti kullanımında; denizdeki ekolojik çevreden etkilenme, kirlilik ve fizikokimyasal özelliklerdeki çeşitlilikler gibi bazı problemlerden kaynaklı bazı limitasyonlar oluşmaktadır. Kalsiyum karbonatın kalsit, argonit ve vaterit olmak üzere üç farklı kristal yapısı bulunmaktadır⁸⁰. Esas olarak aragonit formu kullanılmaktadır. Greft materyali olarak rezorbe olabilme, biyouyumluluk ve osteokondüktif özelliklere sahiptir.

Bu materyalin rezorpsiyonu yavaştır. Ayrıca kemik formasyonu için yüzey transformasyonuna ihtiyaç duymaz böylece daha hızlı kemik formasyonu sağlar. Kalsiyum karbonat greftler, iyi derecede hemostatik özelliğe sahiptir ve ilgili alandan kolay uzaklaştırılmaz⁸¹. Diğer yandan bu materyal hassas yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında migrate olur³⁰.

2.4.4.3. Kompozit Polimerler

Doğal polimerler ve sentetik polimerler olarak ayrılabilirler. Ayrıca bir alt grup olarak da rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan olarak sınıflandırılabilirler²⁶. Doğaları gereği sayısız konfigürasyonda şekillendirilebilirler.

2.4.4.3.1. Rezorbe Olanlar

Polilaktik veya poliglikolik asitten oluşan ürünler sütür materyali, fiksasyon vidaları, kemik vidaları olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu materyaller yüksek molekül ağırlığına sahiptir ve 3 yıla varan yıkılma süreleri vardır. Polimerlerin biyolojik degradasyonunda hastanın yaşı, immün sistemin durumu, dokunun toleransı, defektin lokalizasyonu ve ekspoz olan yüzeyin konfigürasyonu gibi birçok faktör rol oynar.

Son yıllarda polilaktik asit ve poliglikolik asitin düşük dansiteli kopolimerleri üretilmiştir. Bu kopolimerler minimum 3-4 ay, maksimum 6-8 aylık degradasyon zamanına sahiptir. Toz formu üç duvarlı osseöz defektler için endikedir, sünger formu iki veya üç duvarlı defektler için endikedir. Jel formu, şırınga ile enjekte edilerek derin defektler için kullanılır.

2.4.4.3.2. Rezorbe Olmayanlar

Bu alloplastik materyal polimetil metakrilat (PMMA) ve polihidroksietil metakrilat (PHEMA) karışımıdır. Radyoopasite sağlaması için ufak miktarda baryum sülfat eklenmiştir. Mevcut kemik greft materyallerinin çoğunluğu uygun sonuçların elde edilebilmesi için yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) membranlarının kullanılmasını gerektirir. Fakat bu materyalin kullanılması ile membran gereksinimi elimine edilebilir, çünkü materyalin kendisinin membran görevi gördüğü belirtilmektedir⁸².

2.4.4.4. Kalsiyum Sülfat

Kalsiyum sülfat uzun yıllardır kemik defektlerini doldurmakta kullanılan paris alçısı olarak da bilinir. Kemik defektlerinde osteokondüktif doldurucu olarak rol alır fakat seramiklere benzemez ve rezorpsiyon süresi; konfigürasyon, formülasyon ve kullanılan materyalin miktarındaki çeşitliliklere bağlı olmakla birlikte kısadır⁸³. Pelet,

blok ve enjekte edilebilen formları mevcuttur. Bir yandan rezorpsiyon gerçekleşirken diğer yandan da kemik rezorbe olan materyelin yerini doldurur.

Kalsiyum sülfat tozu, sıvısı ile karıştırıldığında alçı formuna dönüşmekte ve kolaylıkla manipüle edilerek uygulanabilmektedir. Defekt bölgesinde matriks görevi görerek osteokondüktif etki gösterir ve yaklaşık 30 gün içinde rezorbe olur⁸⁴. Önemli avantajları enfeksiyon varlığında kullanılabilmesi ve ucuz olmasıdır. Biyoabsorbe olabildiği için polimetilmetakrilat gibi diğer taşıyıcılara kıyasla avantajlıdır. Buna karşın, nadir de olsa bu materyalin kullanımına bağlı alerjik reaksiyon ve inflamatuvar cevap rapor edilmiştir⁸⁵.

2.5. Greftleme İşleminin Başarısını Etkileyen Faktörler

İmplant tedavisi sırasında veya öncesinde yeterli kemik varlığı bulunmaması durumunda kemik greftleme işlemine sıklıkla başvurulmaktadır. Bu durumda doğru endikasyonun konulması, uygun greftleme tekniğinin ve materyalinin seçilmesi işlemin sonuçları ve başarısı açısından önem kazanmaktadır. İşlem sırasında bu noktalara dikkat edilmediğinde uygulanan kemik greftinin; istenenden erken rezorbe olması, alıcı kemik ile osteoentegrasyonunun yeterli düzeyde olmaması ve kemikleşme beklenen alanda fibröz iyileşme gibi olumsuz sonuçlarla karşılaşılabilir.

İmplant tedavisinin başarılı olması için kemiğin rejenerasyon ve tamir biyolojisi iyi bilinmelidir. Greftleme yöntemi belirlenirken bazı kriterleri uygulamak başarı oranını artırmaya yardımcı olmaktadır²⁴. Bu kriterleri sıralayacak olursak:

- ❖ Yeni canlı kemiğe dönüşme potansiyeli yüksek kemik greftinin seçilmesi
- ❖ Kemik greftlemesi için optimal cerrahi tekniğin belirlenmesi
- ❖ Kemik rejenerasyonunu sağlamak

Greftleme işleminin başarılı olması için ortamda sağlanması gereken bazı şartlar vardır⁸⁶. Bunları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- ❖ Alanda kemik yapımından sorumlu hücrelerin bulunması
- ❖ Alıcı sahanın greftin vaskülarizasyonunu sağlayabilmesi
- ❖ İşlem sonrası iyileşme döneminde greftin stabil olması
- ❖ Flebin gerilimsiz olarak suture edilmesi

Greftlenen alanda kemik oluşabilmesi için osteoblastların alanda bulunması ve bu hücreler tarafından kemik sentezlenmesi gerekir. Osteoblastlar olgunlaşmamış

mezenşimal hücrelerin farklılaşması ile meydana gelmektedir. Bu nedenle greftlenen alana çevre kemik, periost gibi kaynaklardan kan desteği sağlanmalıdır. Bu destek sayesinde mezenşimal hücre göçü sağlanacak ve sonuç olarak bu hücrelerden osteoblastların oluşabileceği bir ortam yaratılmış olacaktır^{87,88}.

Greftlenen alanda kemik rejenerasyonla iyileşmelidir ve tamir ile iyileşme hiç olmamalıdır. Tamir ile iyileşmede doku devamlılığı sağlanır ancak orijinal dokunun yapısı ve fonksiyonu oluşturulamaz. Rejenerasyon ise yaralanan bölgedeki dokunun yaralanmadan önceki işlev ve yapısına tekrar kavuşmasıdır. Greftlenen alanın kan desteğinin iyi olması önemlidir^{89,90}. Yeterli kan desteği olmaz ise rejeneratif iyileşme görülmez. Bu noktada en önemli durum pıhtı oluşumudur. Pıhtı oluşmaz ise rejeneratif iyileşme görülmez. Pıhtı formasyonunun, mezenşimal hücrelerin alana göçünü, çoğalmasını, osteoblastlara farklılaşmasını ve osteoblastların alana tutunmasını sağlamak gibi önemli bir fonksiyonu vardır^{88,91}.

Uygulanan kemik grefti alıcı yatakla tam kontak halinde olmalıdır ve iyileşme döneminde hareketlilik olmamalıdır. Bu şartların sağlanamaması durumunda rejeneratif iyileşme azalır tamir ile iyileşme miktarında artış görülür.

Greftlenen alanda primer kapanma ve bu şekilde iyileşme önemlidir. Primer kapanma için flebin üzerinin gerilimsiz suture edilmesi gereklidir. Primer kapanmanın sağlanması ile insizyon hattında devamlılık oluşturulur ve bu sayede insizyon hattı altında kalan alanın beslenmesi artırılmış olur. Ayrıca flep altındaki greft materyalinin ağız içi tükrük, plak, bakteri ve benzeri etkilerden uzak tutulması sağlanabilir.

Greftleme işlemi sırasında genellikle yumuşak dokunun adapte olduğu hacmi aşacak şekilde işlem yapılır. Bu durumda periost esnek olmaması nedeniyle gerilim oluşturur ve bu engelin aşılması amacıyla periostun devamlılığı bozulur ve flebin esnemesi sağlanır. Periostun çizilmesi sırasında yağ pedi, bağ dokusu ve kan damarlarının devamlılığının korunması önemlidir. Bu işlemin dezavantajı ise periostun koruyucu ve kemik yapımını kolaylaştırıcı etkisinin kaybolması nedeniyle greftlenen alana doğru fibrovasküler doku göçünün meydana gelmesidir. Bu durumu engellemek için greftlenen alanın üzeri yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kullanılan materyaller ile kaplanmalıdır⁹².

2.6. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu

Maksilla ve mandibulada alveoler krette yetersiz kemik varlığı ile sıklıkla karşılaşılmaktadır. Bu durumun nedenleri arasında travma, diş çekimi sırasında oluşan komplikasyonlar, diş ve çeneleri ilgilendiren patolojilerin eksizyonu sonucu oluşan defektler, uzun süre dişsiz kalınması, periapikal ve periodontal hastalıklara bağlı kemik rezorpsiyonu vb. nedenler sayılabilir.

Belirttiğimiz bu nedenlere bağlı implant yapılacak alanda yeterli kemik varlığı bulunmaması durumunda önemli klinik sorunlar oluşabilmektedir ve ilgili alanın implant yerleşimine uygun kemik yüksekliği ve genişliğini sağlayacak şekilde rekonstrükte edilip yeni kemik oluşumu sağlanması gerekmektedir⁹³. Yeni kemik oluşumunun sağlanması aşamasında karşımıza bazı zorluklar çıkmaktadır. Bu zorluklardan önemli olan bir tanesi yeni kemik oluşumu sağlanmak istenilen bölgeye yumuşak doku göçünün meydana gelmesi ve yeni kemik oluşumunun sekteye uğramasıdır. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu özel hücrelerin özel bir doku oluşumuna katkıda bulunması prensibine dayanır ve yeni kemik oluşturma sürecinde bu prensibe ihtiyaç duyulur⁹⁴.

2.6.1. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Prensibi

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu ile kemik defektine periost, alıcı kemik ve kemik iliğinden köken alan osteoblastlar gibi osteojenik ve pluripotent hücrelerin göçü sağlanırken, epitelyum ve fibroblast gibi kemik oluşumunu engelleyen hücrelerin kemik defektine ulaşımı önlenir^{5,95-97}. Bir kemik defektinde kenarlardan merkeze doğru oluşan osteogenezis olayının, yumuşak dokuda meydana gelen fibrogenezis olayını geçmesi gerekmektedir⁹⁸. Böylece kemik oluşumu sağlanana kadar alanda kemik oluşumu için uygun ortamın ihtiva edilmesi sağlanmalıdır.

Başarılı bir yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu sağlamak için dört prensibin sağlanması gerekmektedir⁹⁹.

❖ Epitelyum ve bağdokusu kemik defekti veya greflen alanın dışında tutulmalıdır

❖ Kemik oluşturulmak istenen miktarda alanın muhafaza edilmesi gerekmektedir

❖ Kan pıhtısının stabilizasyonu

- ❖ Yara alanının primer kapatılması

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda horizontal ve vertikal olarak kemik oluşumu için oluşturulan alana çevredeki yumuşak dokudan istenmeyen hücrelerin göçünü engelleyen bariyer membran yerleştirilir¹⁰⁰. Kullanılan greft materyali ve bariyer membran birlikte bir alan oluştururlar ve bu alan 24 saat sonunda kan pıhtısı ile dolar. Oluşan pıhtıdan büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınması ile ortama nötrofillerin ve makrofajların göçü sağlanmış olur. Pıhtı rezorbe edilir ve kan damarlarından zengin granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Bu damarlar yoluyla ortama besin ve farklılaşabilen ve kemik oluşturacak olan mezenkimal hücrelerin göçü sağlanır. Cerrahi sonrası 3-4 ay içinde önce örgü kemik sonrasında ise bu yapı olgunlaşarak lameller kemik meydana gelir^{101,102}.

2.6.2. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyer Membranlar

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun temelini bariyer membranlar oluşturmaktadır. Dahlin ve ark.¹⁰³ bariyer membranın kemik ile direkt kontak halinde olacak şekilde kemik defektine yerleştirildiğinde ve bu sayede bir alan oluşturulması durumunda; komşu kemikten kemik yapımından sorumlu hücrelerin alana göçünün sağlanabildiğini ve rakip yumuşak doku hücrelerinin engellenmesinin mümkün olduğunu göstermişlerdir. Membran kullanımının mekanik etkilerden ve tükürük kontaminasyonundan alanın korunması gibi ek faydaları da bulunmaktadır.

Bir bariyer membranda şu özellikler bulunmalıdır.

- ❖ Hareket göstermeksizin dokulara yapışabilmeli
- ❖ Yumuşak doku büyümesini durdurabilmeli
- ❖ Kullanımı kolay olmalı
- ❖ Alan yaratılabilmeli
- ❖ Biyouyumlu olmalı

Rezorbe olanlar ve olmayanlar olmak üzere bariyer membranlar ikiye ayrılabilir.

2.6.2.1. Rezorbe Olmayan Bariyer Membranlar

Rezorbe olmayan bariyer membran olarak lateks ve teflon içeren çeşitli materyaller kullanılmaktadır. Bu materyaller dişlerin etrafına uyum sağlayacak ve

kemik defektini örtebilecek çeşitli boyut ve şekillerde üretilebilmektedir. Rezorbe olmadıkları için buldukları bölgeden çıkarılması amacıyla ek bir cerrahi işleme ihtiyaç duyulmaktadır. Bu membranların avantajı uzun bir süre boyunca dokuların birbirinden ayrı tutulmasını sağlamasıdır ve ekspoz olmadıkları sürece birkaç aydan birkaç yıla kadar uygulandıkları bölgede kalabilirler. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda bu membranlar 6 ile 12 ay sonrasında çıkarılmaktadırlar.

Klinik ve deneysel bir çok çalışmada rezorbe olmayan membranların yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda kullanılmaları sırasında belirli bazı komplikasyonlarla karşılaştığı rapor edilmiştir¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Bunlardan birtanesi ekspoz olabilmeleridir^{107,108}. Ekspoz alanı kendiliğinden iyileşmez ve büyümeye devam eder. Ekspoz sonrası oral bakteriler ile kontaminasyon meydana gelir ve enfeksiyon olasılığı artar ve enfeksiyon nedeniyle kemik kaybı görülür. Böyle bir durum ile karşılaşılması sonrasında bariyer membran çıkarılmalıdır⁹⁴. Kontaminasyon veya membranın erken çıkarılması daha az kemik rejenerasyonu ile sonuçlanacaktır.

Bu materyallerin bazıları şunlardır;

- Genişletilmiş politetrafloroetilen
- Yüksek densiteli politetrafloroetilen
- Titanyum mesh
- Titanyumla güçlendirilmiş politetrafloroetilen

2.6.2.2.Rezorbe Olan Bariyer Membranlar

Rezorbe olan bariyer membran kullanımı ek bir cerrahi işlemini ortadan kaldırması nedeniyle yüksek ilgi görmektedir. Polilaktit ve poliglolid kopolimerleri biyolojik olarak çözünebilen membranları oluşturmak için kullanılmıştır⁹⁴. Bu gün kollajen bazlı rezorbe olan bariyer membranlar yaygın olarak kullanılmaktadır.

Rezorbe olan bariyer membranların kullanımının ek bir cerrahi işlem gerektirmemesinin yanı sıra bazı ek avantajlar da sağlamaktadır. Ekspoz olma olasılıklarının daha az olması ve ekspoz olduklarında ise daha az probleme yol açmaları önemli bir diğer avantajdır.

Rezorbe olan bariyer membranlar rezorbe olmayan güçlendirilmiş membranlarla karşılaştırıldıklarında boşluk oluşturma yeteneklerinin olmaması bir dezavantaj

oluşturmaktadır. Bu nedenle bu membranlar çökmenin engellenmesi amacıyla kemik grefti veya dolgu maddeleri gibi materyallerle birlikte kullanılmaktadır. Ayrıca stabilizasyon amacıyla plak, pin, vida kullanımı gerekli olabilmektedir. Poliglikolidler ve polilaktidler hidrolize olarak bozulmaktadır ve bu durum asidik bir çevrenin oluşmasına zemin hazırlayıp kemik oluşumunu negatif yönde etkilemektedir¹⁰⁹⁻¹¹¹. Bir diğer dezavantaj kemik oluşumundan önce rezorbe olmaları ve bu rezorbe olma sürecinde değişen derecelerde inflamasyon oluşturmalarıdır¹¹². Rezorbe olan membranların bazı çapraz bağlama (cross-linking) işlemlerine tabi tutulması ile rezorpsiyon süreleri uzatılabilmektedir¹¹³.

Sınıflandıracak olursak polimerik ve farklı hayvan türlerinden elde edilen kollajenden üretilenler olarak iki grupta toplanmaktadır¹¹⁴.

2.6.2.2.1. Polimerik Membranlar

Polimerik membranlar sentetik poliesterler, poliglikolidler, polilaktidler veya kopolimerlerden yapılmaktadır. Poliglikolidler ve polilaktidler krebs siklusu ile karbondioksit ve suya dönüşen ve tamamen biyolojik olarak rezorbe olabilen materyallerdir. Ancak vücutta inflamatuvar reaksiyona ve membran etrafında inflamatuvar hücrelerin infiltre olduğu fibröz enkapsülasyon durumunu oluşturabilmektedirler^{115,116}.

Erken membran ekspozu olduğu durumlarda yara bölgesinde kendiliğinden kapanma gözlemlenmektedir ancak membranın rezorpsiyon hızı artmaktadır ve bu durumun sonucu olarak membranın rejeneratif özelliğinde azalma meydana gelmektedir¹¹⁷.

2.6.2.2.2. Kollajen Membranlar

Ticari olarak temin edilebilen kollajen membranların çoğu tip 1 veya tip 1 ve tip 3 kollajen kombinasyonundan geliştirilmektedir. Kullanılan kollajenler insan, sığır veya domuzdan elde edilen tendon, dermis, cilt veya perikardiyumdan üretilmektedir¹⁰⁹.

Bariyer membran olarak kollajen materyalini kullanmanın bazı avantajları vardır;

- Hemostaz¹¹⁸
- Gingival ve periyodontal ligament fibroblastları için kemotaksis^{119,120}
- Zayıf immünojenik özellik¹²¹
- Kolay adaptasyon ve manipülasyon

- Kemik formasyonu üzerinde direk etki¹²²
- Doku kalınlığını artırma yeteneği¹²³

Bu özellikleri nedeniyle kollajen materyali rezorbe olabilen bariyer membranlar arasında yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu açısından iyi bir seçim olduğu görünmektedir.

Kollajen makrofajlar ve polimorfonükleer lökositlerin enzimatik aktiviteleri ile karbondioksit ve suya parçalanır^{124,125}.

2.7. Kemik Rejenerasyonunun Moleküler Mekanizması

Kemik rejenerasyonu mezenşimal kök hücrelerin hareketini, çoğalmasını ve farklılaşmasını uyararak moleküler süreçlerin karmaşık bir etkileşimiyle oluşur³⁵. Son zamanlarda kemik rejenerasyonunun moleküler mekanizması üzerine bir çok çalışma yapılmış ve bu moleküler süreçler daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Bu sayede bir çok önemli sinyal molekülünü tespit etmek mümkün olmuştur.

2.7.1. Bone Morfojenik Protein

Bone morfojenik proteinin (BMP) 20 izoformu mevcuttur. Transforming growth faktör β (TGF- β) ile sinerjistik etkiye sahiptir. BMP tek başına de novo kemik oluşumunu indükleyebilen tek moleküldür³⁵. BMP-2, -6, -9'da daha fazla ve -4, -7'de daha az olmak üzere önemli bir osteojenik potansiyele sahiptir.

2.7.2. Transforming Growth Faktör- β

TGF- β hücre döngüsü ayarlanması, yara iyileşmesi, anjiogenez ve skelotogenezde rol almaktadır. Üç farklı izoformu bulunmaktadır. Ancak bu izoformlar birbirlerinden farklı olsalarda osseoz iyileşme ve osteogenezin ayarlanmasında benzer fonksiyonlara sahiptirler.

TGF- β kollajen ve osteopontin üretimini uyarmaktadır³⁵. TGF- β osteoblastlar tarafından üretilmektedir ve osteoindüktif özelliğe sahiptir. TGF- β 1 osteoblast progenitörlerinin proliferasyonunu uyarır, osteoblast farklılaşmasında role sahiptir ve kemik oluşumunu artırıcı etki oluşturmaktadır³⁵. Ayrıca TGF- β 1 osteoklastogenezis ve kemik rezorpsiyonunu baskılamaktadır³⁵.

2.7.3. Fibroblast Growth Faktör

Fibroblast growth faktör (FGF) hücrel çoğalma, migrasyon ve çoğalmanın yanı sıra mitogenezis, anjiogenezis, embriyolojik gelişim ve yara iyileşmesi gibi olaylarla yapısal olarak ilişkili bir sitokin ailesinden oluşmaktadır³⁵. Bu ailenin bilinen 23 tane üyesi bulunmaktadır.

FGF çeşitli osteojenik mekanizmalarla ilişkilidir. FGF-2 endokondral kemik büyümesinde önemli role sahiptir. Ayrıca FGF-2 intramembranöz kemikleşmede hücre fonksiyonu üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir. FGF-2'nin sürekli uygulaması osteoblast oluşumunu uyarmasına rağmen, osteoblast farklılaşma mediatörlerini (örn, ALP) azaltmaktadır ve osteoklast oluşumunu artırarak kemikte rezorpsiyon oluşumuna neden olmaktadır. Tam tersine aralıklı FGF-2 uygulanması hem in vivo hem in vitro olarak kemik oluşumunu artırmaktadır³⁵.

2.7.4. Platelet Derived Growth Faktör

Platelet derived growth faktör (PDGF) enflamatuvar reaksiyonlarda, organogenezde, anjiogenezde ve yara iyileşmesinde önemli bir role sahiptir. PDGF 4 farklı izoforma sahiptir (PDGF-A, -B, -C, -D). PDGF mezenşimal kaynaklı hücreler ve dokular için kuvvetli bir kemotaktik ve mitojenik ajandır ve kemik homeostazisinde ve tamirinde önemlidir. PDGF granülasyon dokusu formasyonu ve doku onarımı için önemli olan bir çok hücre tipinin yaralanma alanına çekilmesinden sorumludur. PDGF özellikle kalvaryumdan, uzun kemiklerin periosteumundan, trabeküler kemikten ve kemik iliği kök hücrelerinden kaynaklanan osteojenik hücrelerin alana çekilmesinden sorumludur³⁵.

Kemik iyileşmesi için anjiogenezis önemlidir ve bu bağlamda PDGF direkt etki ile osteoblastlar üzerinde mitojenik etkiden ve indirekt etki ile de vasküler endotelial growth faktör (VEGF) gibi anjiogenezis faktörlere etki ederek kemik onarımında etki göstermektedir.

2.8. Platelet Konsantreleri

Genellikle plateletten zengin fibrin (PRF) ve plateletten zengin plazma (PRP) olarak adlandırılan platelet konsantreleri topikal ve infiltratif kullanım şekilleri ile cerrahi adjuvan olarak veya rejeneratif tıbbi işlemlerde bir çok alanda kullanılmaktadır.

Başlangıçta platelet konsantreleri sadece çeşitli hastalık ve durumlara bağlı oluşan hemorajilerin tedavisi ve önlenmesi amacıyla transfüzyon tıbbında kullanılmaktaydı. Standart platelet konsantresi PRP olarak adlandırılır ve birim başına $0,5 \times 10^{11}$ platelet içerir¹⁴.

Yaraları kapatmak ve iyileşmeyi teşvik etmek için kan kaynaklı ürünlerin kullanımı fibrin yapıştırıcı olarak ilk 47 yıl önce Matras¹²⁶ tarafından kalsiyum ve trombinin polimerizasyonu indüklemesi ile konsantre fibrinojen oluşturularak sıçan modellerinde 1970 yılında uygulanmıştır. Platelet konsantrelerinin iyileşmeyi artırmak için fibrin yapıştırıcı yerine kullanımı ve geliştirilmesi geçtiğimiz son on yılda Whitman¹²⁷ ve özellikle Marx¹²⁸ ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu geliştirdikleri ürünü PRP olarak tanımlamışlardır. Aynı dönemde platelet konsantrelerinin farklı bir formu olan 'plateletten zengin fibrin' olarak adlandırılan ürün Fransa'da geliştirilmiştir¹²⁹.

Plateletler PDGF-AB, TGF- β 1 ve VEGF gibi önemli büyüme faktörlerinden yüksek miktarda içermektedir. Bu büyüme faktörleri hücre çoğalması, matriks remodelingini ve anjiogenezisi uyarabilmektedir. İyileşmenin artırılması için bu faktörlerin kullanılması ilgi çekici bir yöntemdir.

2.8.1. Platelet Konsantrelerinin Sınıflandırılması

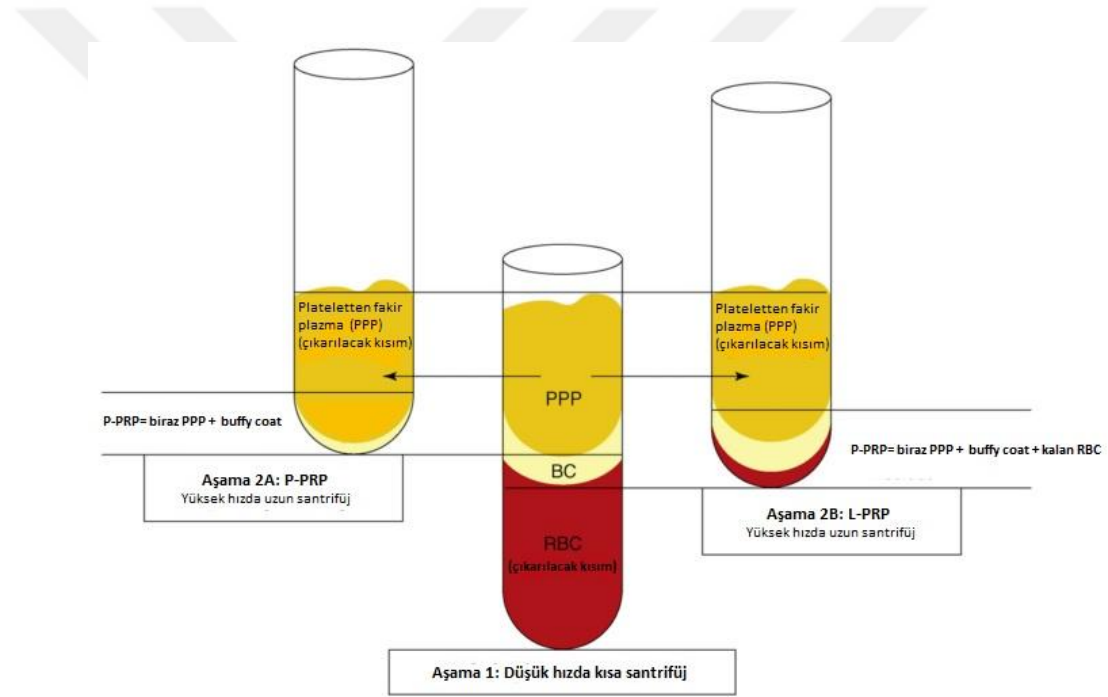
Platelet konsantrelerinin sınıflandırılmasında geçerli konsensüse göre bu ürünlerin fibrin yapısı ve hücre içeriğine göre 4 ana gruba ayrılmaktadır^{14,15}.

- Saf plateletten zengin plazma (lökositten fakir)
- Lökosit ve plateletten zengin plazma
- Saf plateletten zengin fibrin (lökositten fakir)
- Lökosit ve plateletten zengin fibrin (Choukroun'un PRF'i)

2.8.1.1. Saf Plateletten Zengin Plazma

Saf PRP ürünü aktivasyon sonrası lökosit içermez ve düşük yoğunlukta fibrin ağ ihtiva eder. Bu ailedeki ürünler likit veya aktive edilmiş jel formunda kullanılmaktadır. Bu ürünün hazırlanması için laboratuvar hücre separatör ile plazmaferezis, Anitua's PRGF protokolü ve Vivostat PRF (ismi PRF gibi görünsede, bir PRP üretimidir) gibi birçok yöntem vardır¹⁴. Bu yöntemler otomatikleştirilmiş veya manuel protokoller ile uygulanmaktadır.

Bu sınıftaki ürünler kanın içinde antikoagülan olan bir tüpe konulması ve santrifüj edilmesi ile üretimleri başlatılmaktadır. Bu birinci santrifüj işlemi sonrası tüpün en altında kırmızı kan hücrelerinin bulunduğu RBC kısmı, ortada buffy coat (BC) denilen platelet ve lökositlerden zengin kısım ve üstte plateletten fakir plazma (PPP) kısmı bulunmaktadır. Saf PRP (P-PRP) elde etmek için PPP ve BC'nin üst kısmı başka bir tüpe alınmaktadır (şekil 2.2). İkinci tüpteki ürün uzun süre yüksek hızda santrifüj edilip, oluşan üründeki PPP'nın büyük kısmı çıkarılıp plateletlerin çok sayıda olduğu, çok az sayıda lökosit içeren saf PRP ürünü elde edilir. Bu işlemler ve kullanılan ilave maddeler kullanılan yöntem ve kite göre değişiklik göstermektedir.



Şekil 2.2: Saf PRP(P-PRP) ve Lökosit ve Plateletten Zengin Plazma (L-PRP) hazırlama aşamaları

2.8.1.2. Lökosit ve Plateletten Zengin Plazma

Bu gruptaki ürünün geliştirilmesindeki hedef laboratuvar desteği olmadan günlük kullanımda platelet konsantrilerini kullanabilmektir. Hücre separatörü kullanmadan lökositleri ayırmak zordur ve bunun sonucunda elde edilen ürünler yüksek miktarda lökosit ihtiva etmektedir. Bu grupta elde edilen ürünler lökosit ve düşük yoğunlukta

fibrin ağ içermektedir. Lökosit ve PRP yapımı saf PRP yapımı ile benzerdir. Farklılık ilk santrifüj işleminden sonra BC'nin üst kısmından itibaren ikinci tüpe alınması yerine RBC'nin az bir kısmını içerecek şekilde BC'nin tamamı ikinci tüpe aktarılır (şekil 2.2). Bu işlemler kullanılan kite ve protokole göre değişiklikler göstermektedir.

Bu sınıflamada da manuel veya otomatikleştirilmiş protokollerle ürün elde edilmektedir. Bu protokollerden bazıları Curasan, Friadent-Schutze, Regen, Plateltex, SmartPREP, PCCS, GPS ve Magellan'dır¹⁴. Protokole göre değişmekle birlikte sığır trombini, kalsiyum klorit ve kalsiyum glukonat gibi ek maddeler kullanılmaktadır.

2.8.1.3. Saf Plateletten Zengin Fibrin

Bu kategoride kullanılabilen sadece bir yöntem vardır. Bu yöntemin ismi Fibrinet PRFM kitidir. Bu yöntemde iki tüp kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi alınan kanı koymak, ikincisi ise PRFM pıhtısı oluşturmak içindir. Yaklaşık 9 ml kan antikoagülan olaraktrisodyumsitrat ve özel separatör jel içeren tüpe konulup 6 dakika yüksek hızda santrifüj edilir. İlk santrifüj sonrasında RBC, BC ve PPP katmanları oluşur. BC ve PPP kısımlarıkalsiyumklorit içeren ikinci tüpe alınır ve zaman kaybetmeden 15 dakika santrifüj edilir. En sonunda stabil yapıda olan PRFM pıhtısı oluşmuş olur.

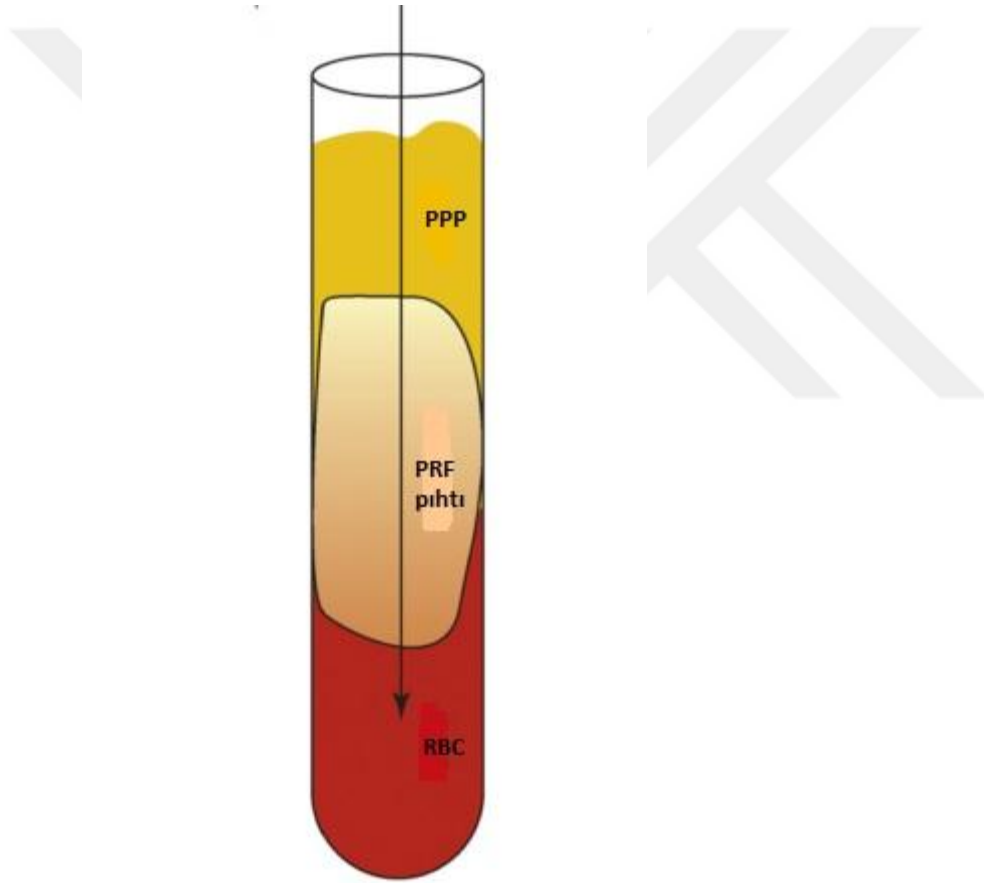
Üretici firma sığır trombini kullanılmadığı için doğal bir işlem olarak tanımlasada kan antikoagülan ve ayırıcı jel gibi doğal olmayan ajanlarla karışmaktadır. Bu yöntem günlük kullanım için zor ve pahalıdır. Ayrıca Fibrinet PRFM etkinliğini gösteren temel veya klinik çalışmalar henüz mevcut değildir.

2.8.1.4. Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin (Choukroun'ın PRF'i)

Choukroun'un PRF protokolü basit ve serbest bir tekniktir. Fransa'da Choukroun ve ark. tarafından geliştirilmiştir¹³⁰. Dohan ve ark. tarafından hazırlanan yayınlarla tanıtılmıştır¹³¹⁻¹³⁵. Antikoagülan ve jelleştirici ajanlar kullanılmadan doğal konsantre olarak üretildiği için ikinci jenerasyon platelet konsantresi olarak kabul görmektedir¹²⁹.

L-PRF (lökosit-plateletten zengin fibrin) elde edilmesi kolay ve maliyeti düşük bir yöntemdir. Santrifüj cihazı ve kuru vakumlu tüplere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu haliyle işlem basit ve uygulanabilir. Venöz kan kuru vakumlu tüplerde toplanır ve düşük hızda (3000rpm 10 dakika veya 2700 rpm 12 dakika) santrifüj edilir. Antikoagülan olmaması nedeniyle platelet aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu hızlı bir şekilde akmite edilir.

Trombositler teorik olarak fibrin ağ içinde hapsolmuştur. Santrifüj sonrası en altta RBC, en üstte hücreden fakir plazma ve ortada PRF pıhtısı bulunur (Şekil 2.3). PRF pıhtısı kuvvetli fibrin matrisi ile birlikte kandan gelen platelet ve lökositlerin konsantre halde bulunduğu üç boyutlu yapıya sahiptir^{134,135}. PRF pıhtısına iki gazlı bez arasında baskı uygulandığında bir membran haline gelmektedir ve bu otolog biyomateryalin kulak burun boğaz, plastik cerrahi, oral ve maksillofasiyal cerrahi gibi alanlarda tanımlanan birçok uygulaması vardır^{131,132,136-138}.



Şekil 2.3: Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin (L-PRF) hazırlanması sırasında oluşan tabakalar. (En üstte plateletten fakir plazma, ortada L-PRF pıhtısı, en altta kırmızı kan hücreleri)

PRP'lerin aksine Choukroun'ın PRF'i uygulama sonrası hızlı bir çözülme göstermez ve bunun yerine güçlü fibrin matrisi doğal kan pıhtısına benzer bir şekilde yavaş yavaş remodele olur. Plateletler ve lökositler bu işlemde yüksek verimlilikte

toplanır ve işlem sonunda lökositler korunur. İşlem sırasında plateletler aktive olur ve bu olay sayesinde plateletlerin ve lökositlerin büyüme faktörleri fibrin matiks içine hapsolurlar^{134,135}.

Bu metod sayesinde çok miktarda PRF pıhtısı elde edilebilmekte ve büyük cerrahilerde bu durum avantaj sağlamaktadır. Bu yöntemin diğer avantajı ise kimyasal yada doğal olmayan ek maddelere ihtiyaç duyulmadan düşük maliyetle, hızlı bir şekilde ve doğal yollarla istenilen miktarda konsantre hazırlanmasına olanak sağlanmasıdır. Bahsedilen bu avantajlarından dolayı bu teknik günlük pratikte yaygın kullanım için uygun görünmektedir.

2.8.1.4.1. Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin'in İçeriği

L-PRF hazırlandıktan sonra kanın tüm bileşenlerini içermektedir¹³⁹;

- Trombositler
- Trombosit büyüme faktörleri
- Lökositler
- Sitokinler
- Fibrin
- Dolaşımdaki kök hücreler şeklindedir.

2.8.1.4.1.1. Trombositler

Çekirdeksiz ve disk şeklinde hücelerdir. Sitoplazmaları aktifleştiklerinde ortama salacakları granülleri içermektedir. Bu granüller β - tromboglobulin, fibronektin, trombospondin, fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, büyüme faktörleri, fibrinolizis inhibitörleri, immünglobulinler olarak sayılabilir. Yara bölgesinde hemostazı başlatmak ve desteklemekte görevlidirler. Yara bölgesinde degranülasyonları ile iyileşmenin ilk aşamasında görevli olan sitokinleri ve büyüme faktörlerinin salarlar. L-PRF içerisinde tüpün en alt ve en üst kısmında en az sayıda olmak üzere en çok orta kısımda fibrin pıhtı içinde bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda trombositlerin en fazla kırmızı kan hücreleri ile fibrin pıhtının birleşim yerinde olduğu söylenmektedir¹⁴⁰.

L-PRF üretilmesinde kan tüpünün içinde antikoagülan olmaması nedeniyle trombositlerde yoğun bir aktivasyon süreci oluşur. Bu aktivasyon sonucu sitokin ve büyüme faktörlerinden zengin olan içeriklerini yavaş polimerize olan fibrin ağ içine

salarlar. L-PRF matriksinde glikozaminoglikanlar da bulunmaktadır. Glikozaminoglikanların dolaşımdaki peptidlere bağlanma gücü fazladır ve hücre göçünü ve iyileşme sürecini destekleyici etkileri fazladır¹⁴⁰.

2.8.1.4.1.2. Trombosit Büyüme Faktörleri

Kobayashi ve ark.¹⁴¹ yaptıkları çalışmada platelet konsantrlerinde trombosit sayısı ile PDGF-BB, VEGF, TGF- β 1 ve FGF-b gibi büyüme faktörleri arasında pozitif ilişki olduğunu ve hiçbir büyüme faktörü ile negatif ilişki bulunmadığını göstermişlerdir. L-PRF güçlü bir fibrin matriks içerir ve içerdiği büyüme faktörleri ortama yavaş salınım gösterirler¹⁴. Dohan ve ark.¹⁴² yaptıkları çalışmada TGF- β 1, VEGF ve PDGF-AB gibi büyüme faktörlerinin PRF membrandan 7 güne kadar anlamlı derecede yavaş salınım yaptıklarını göstermişlerdir. TGF- β 1 ve VEGF'nin yavaş salınımında lökositler anahtar role sahiptir. PRP ile karşılaştırıldığında TGF- β 1 ve PDGF-AB'nin PRF'den salınımları daha az görülmektedir ve bu durum trombosit sitokinlerinin fibrin ağ içine hapsoldüğünü ve matriks remodelingi sırasında salındığını işaret etmektedir¹³⁴. Doku mühendisliğinde fibrin bir dağıtım sistemi olarak kullanılmaktadır ve taşıyıcı olarak kullanıldığında BMP-2 salınımını uzattığı rapor edilmiştir¹⁴³.

2.8.1.4.1.2.1. Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β 1 (TGF- β 1)

Trombositlerin alfa granülleri içerisinde yoğun miktarda bulunmaktadırlar. Fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunu uyarır. Kollajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinir. Ayrıca kollajenazı aktive eden diğer faktörlerin uyarıcı etkisini azaltır. Tüm sitokinler arasında en kuvvetli fibrozis ajanıdır¹⁴⁴. Osteoblast ve fibroblastlarda kollajen-1 üretimini artırır (fibrozis). Fibröz iyileşmeyi tetikleme kapasitesi nedeniyle enflamatuvar düzenleyici olarak dikkate alınır.

2.8.1.4.1.2.2. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

Trombosit kökenli büyüme faktörleri mezenkimal hücrelerin göçü, çoğalması ve sağ kalımları için gereklidir^{145,146}. Embriyonik gelişim ve tüm doku yenilenme mekanizmalarında rol alırlar.

2.8.1.4.1.2.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

Hücre koruyucu özelliği vardır. Bu bağlamda apoptozu düzenleyen en önemli sitokindir¹⁴⁷. L-PRF'deki IGF'nin trombosit aktivasyonundan değil plazmadan kaynaklandığı gösterilmiştir¹⁴⁸.

2.8.1.4.1.2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperalesinin bir üyesidir ve endotel hücreleri için özgüdür ve önemli etkileri vardır. VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve Plasenta büyüme faktörü olmak üzere altı üyesi vardır. Ovaryum follikülleri, korpus luteum, akciğer alveolar hücreleri, renal glomerül visseral epitel hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arteriollerini çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitel hücreleri, hepatositler gibi bir çok hücreden sentezlenir.

VEGF yapımı trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) ve interlökin- β 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Böylece bu maddelerin mitojenik olmadığı, VEGF salgılanmasına yol açarak mitojeniteyi arttırdıkları gösterilmiştir¹⁴⁹. Ama bunların arasında hipoksi belki de, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyen en etkili stimullardan biridir. L-PRF içeriğinde VEGF salgılanmasına yol açan faktörler bulunmaktadır.

2.8.1.4.1.3. Lökositler

Platelet konsantrasyonlarının sınıflamasında iki parametreden biridir lökositler. Platelet konsantrasyonlarının sınıflamasında iki parametreden biridir lökositler. Lökositler kemik iliği, lenf bezleri, dalak ve timus bezinde üretilirler. Çapları 20 mikron olan bu hücreler vücudu bulaşıcı hastalıklara ve yabancı maddelere karşı koruyarak, bağışıklık sisteminin önemli bir bölümünü oluştururlar. Akyuvarlar iki gruba ayrılmaktadır çok çekirdekli granülositler, tek çekirdekli lenfositler ve monositler olarak tanımlanır. Her akyuvarın kendine özgü savunma mekanizması vardır.

Literatürde elinde kanıt olmamasına rağmen platelet konsantrasyonlarının hazırlanma aşamasında lökositlerin çıkarılmasını öneren yayınlar mevcuttur¹⁵⁰. Bazı çalışmalar ise antienfeksiyöz özellikleri ve immün düzenleme rollerinden dolayı platelet konsantrasyonlarında olmaları gerektiğini vurgulamaktadırlar^{135,151-154}. Antienfeksiyöz etkilerinin dışında lökositler büyük miktarlarda VEGF üretirler¹⁵⁵. Lökosit miktarı ile PDGF-BB ve VEGF arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir ve bu bağlamda lökosit konsantrasyonu, büyüme faktörleri üzerinde önemli bir etkidir¹⁴¹.

2.8.1.4.1.4. Sitokinler

Bir çok hücre tipi tarafından üretilen polipeptid yapıda maddelerdir. Enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşme ve yaralanmalara karşı sistemik cevap gibi bağışıklıkla ve enflamatuar olaylarla ilgili durumları düzenlemede görev alırlar.

Sınıflandırılmaları belirli görevleri aşağıdaki şekildedir¹⁵⁶;

i. Doğal immüniteye aracılık eden sitokinler

- Tip I interferonlar (IFN)
- Tümör nekrotizan faktör (TNF)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- İnterlökin-6 (IL-6)
- Kemokinler

ii. Lenfosit aktivasyonu, büyüme, diferansiyasyon regülatörleri olarak T lenfositlerinin özel antijen-leri tanımlarına yanıtı temin eden sitokinler.

- İnterlökin-2 (IL-2) (T-hücresi büyüme faktörü)
- İnterlökin-4 (IL-4) (IgE sentez regülatörü)
- Transforming büyüme faktörü-b (TGF-b)

iii. Bağışıklık aracılığıyla enflamasyonu düzenleyen sitokinler. Bu grup sitokinler antijenle uyarılmış CD4+ ve CD8+ T lenfositler tarafından uyarılırlar ve enflamatuar lökositleri aktive ederler. Bu hücrelerin T hücresi regülasyonuna girmesini sağlarlar.

- İnterferon γ (IFN- γ) (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)
- Lenfotoksin (LT) (Nötrofil aktivatörü)
- İnterlökin 10 (IL-10) (Mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)
- İnterlökin-5 (IL-5) (Eosinofil aktivatörü)
- İnterlökin-12 (IL-12) (Naturel Killer (NK) ve T hücre

stimülatörü)

iv. İmmatür lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden mediatörler.

- c-kit-ligand
- İnterlökin-3 (Koloni stimüle eden faktör)
- Granulosit-makrofaj koloni simulatör faktör (GM-CSF)
- Monosit-makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)
- Granulosit koloni stimülatör faktör (G-CSF)
- İnterlökin-7 (IL-7)
- İnterlökin-9 (IL-9)
- İnterlökin-11 (IL-11)

Bu sitokinlerden enflamasyonda önemli rol alanlar IL-1 β , IL-6 ve TNF α 'dır. IL-1 β enflamasyon kontrolünde kilit role sahiptir. IL-1, TNF ile birlikte kollagen doku üzerine etki ederek osteoklastik aktiviteyi artırır ve böylece kemik turnoverının artmasına neden olur. Osteoblastlarda ise alkalen fosfataz aktivitesini artırır. TNF α , enflamatuvar hücrelerin fagositoz ve sitotoksitesite kapasitesini ve IL-1 ve IL-6 sentezini artırır. IL-6, B lenfositler için farklılaşma faktörü, T lenfositler için aktivatördür. Antikor salınımını uyarır.

İyileşmede görev alan sitokinlerden IL-4 ve VEGF önemlidir. IL-4 enflamatuvar sinyal yolunu inhibe etmekten görevlidir. IL-4'ün en temel görevi iyileşmeyi desteklemektir. IL-1 β aracılı enflamatuvar yolları önler ve MMP-1 ve MMP-3'ün uyarılmasını önler^{157,158}. VEGF ise damarsal yapıların gelişimini düzenler ve artırır. VEGF, bilinen en güçlü ve yaygın vasküler büyüme tetikleyicisidir¹⁵⁹. Endotel hücre davranışlarında çoğalma, göç, özelleşme ve hücre sağ kalımı gibi önemli roller oynar^{160,161}. Bu sitokinin varlığı bile anjiogenezi başlatmak için yeterlidir.

Lökositlerden kaynaklanan bu sitokinler L-PRF'in fibrin ağına hapsolurlar ve yavaş salınım gösterirler. Yapılan bir çalışmada serum, TZF ve trombositten fakir plazmadaki IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α ve VEGF miktarlarına bakılmış ve TZF'de VEGF dışındaki maddelerin en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür¹³⁵. Bu sonuç lökositlerin L-PRF'de içerdikleri sitokinleri ortama bıraktıklarını anlamına gelmektedir. Bu bağlamda L-PRF içerdığı lenfosit ve sitokinler ile bağışıklığa katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

2.8.1.4.1.5. Fibrin

L-PRF'in fibrin yapısı bazı özellikleri ile önemli görevler üstlenmektedir. Bunlara bakacak olursak;

- Fibrin anjiogenez için doğal bir rehberdir.
- Fibrin bağışıklık için doğal bir destek sağlayıcısıdır.
- Fibrin yara kapanmasını destekler.

Yapılan bir çalışmada fibrin matriksin direkt olarak anjiogenezise öncülük ettiği gösterilmiştir¹⁶². Fibrin matriksin anjiogenez özelliği fibrin jelin üç boyutlu yapısına ve bu matrikste hapsolmuş sitokinlerin aktiviteleri ile açıklanmaktadır¹⁶³. Ayrıca FGFb, VEGF, PDGF gibi anjiogenezle ilişkili büyüme faktörleri de fibrinin yapısında bulunmaktadır. Anjiogenez sırasında endotel hücrelerinden $\alpha v \beta 3$ üretimi önemlidir. Bu molekül endotel hücrelerinin fibrin, fibronektin ve vitronektine bağlanmasını sağlar. Fibrin bu molekülün ekspresyonunu artırır¹⁶⁴.

Fibrin matriks epitel hücreleri ve fibroblastların metabolizmasını etkileyerek yaralanan dokunun kapanmasına rehberlik eder. Yara kenarlarında epitel hücreleri bazal ve apikal yüklerini kaybederler ve yara alanında bazal ve apikal yönde genişleyerek yarayı kaplarlar. Hücre göçü fibrinojen, fibronektin, tenascin ve vitronektin ile düzenlenir. İntegrin ekspresyonunu düzenlemek, fibroblast çoğalmasını ve yara alanına göçünü düzenlemek için fibrin, fibronektin, PDGF ve TGF- β varlığı gereklidir¹⁶⁵. L-PRF içerdiği fibrin yapısı ve PDGF, TGF- β gibi faktörlerle yara kapanmasını destekleyici bir üründür.

2.8.1.4.1.6. Dolaşımdaki Kök Hücreler

Kemik iliğinden köken alan hücreler dokuların rejenerasyonunda görev almaktadır. Rejenerasyondan sorumlu kök hücreler kan yolu ile yara alanına toplanır ve ilgili dokunun hücre tipine veya iyileşmeye katkıda bulunacak hücrelere dönüşerek rejenerasyonunu sağlarlar¹⁶⁶. Fibrin ve fibronektin daha sonra ortadan kalkacak bir yapı olan yara matriksini oluşturur. Bu matrikste kan yoluyla bölgeye gelen kök hücrelerin farklılaşması meydana gelir. Bu nedenle bu hücrelerin transplantasyonunda fibrin, destekleyici matriks olarak kullanılır¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar

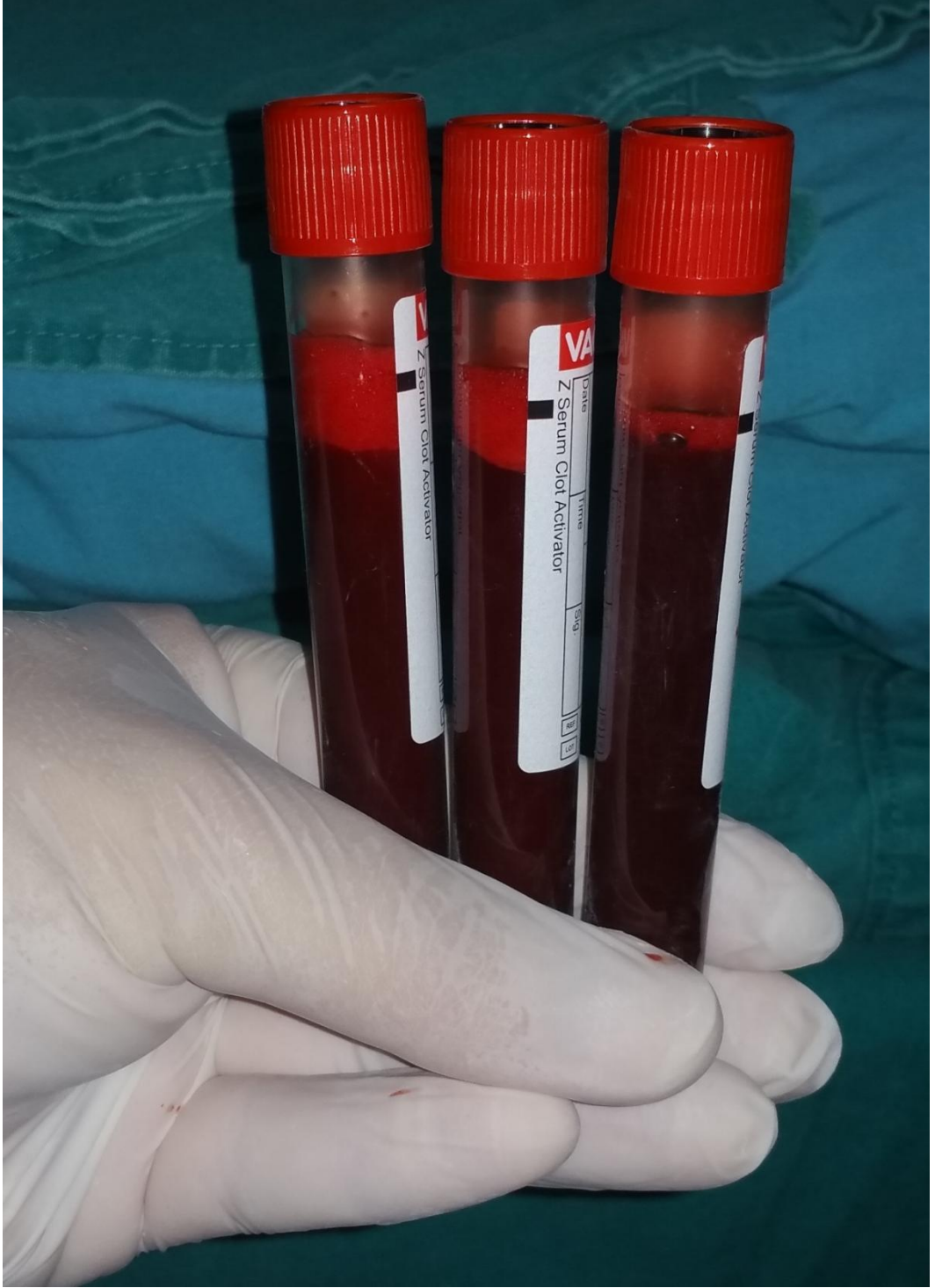
Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (ÇÜTF-DETAUM)'nde yetiştirilen 5 adet, ağırlıkları 50 ile 60 kilogram (ortalama 55 ± 3 kg) arasında değişen 18 aylık erişkin Merinos erkek koyun kullanıldı. Hayvanların cerrahi, bakım ve beslenme işlemleri ÇÜTF-DETAUM'da gerçekleştirildi. Bu araştırma için Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (Toplantı sayısı: 4, Toplantı tarihi: 27.05.2015, Karar No: 7).

3.2. Anestezi ve Medikasyon

Genel anestezi için intramüsküler (im) yolla 20 mg/kg ketamin (Alfamyne®, Egevet, İzmir, Türkiye) ve 2 mg/kg ksilazin (Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra intravenöz (iv) yoldan 5 mg/kg tiyopentol sodyum (Pental Sodyum®, İbrahim Etem, İstanbul, Türkiye) uygulanarak sedasyon derinleştirildi ve kontrollü infüzyon ile devam edildi. Buna ek olarak, cerrahi alana operasyon sırasında postoperatif analjezi için 4 ml lokal anestetik (Marcaine®, Astra Zeneca, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. Profilaktik antibiyotik olarak 1g sefazolin (Iespor®, İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye) im yol ile operasyon öncesi verildi.

3.3. Plateletten Zengin Fibrinin Hazırlanması

Her bir koyunun juguler veninden 30 ml alınan kan boş vakumlu 10 ml'lik üç adet kan tüpüne (Tıp Kim San 10 ml boş kırmızı kapaklı vakumlu tüp, ADR® Group, İstanbul, Türkiye) enjekte edildi (Şekil 3.1). Zaman kaybedilmeden tüpler masa üstü santrifüj cihazına (NF 200 masa üstü santrifüj, Nüve®, İstanbul, Türkiye) simetrik olarak yerleştirilip (Şekil 3.2) L-PRF elde etmek amacıyla 3000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen üründen tüpün en üstündeki plateletten fakir plazma kısmı ve en alttaki kırmızı kan hücrelerinin bulunduğu kısım ayrılarak L-PRF elde edildi (Şekil 3.3-3.5).



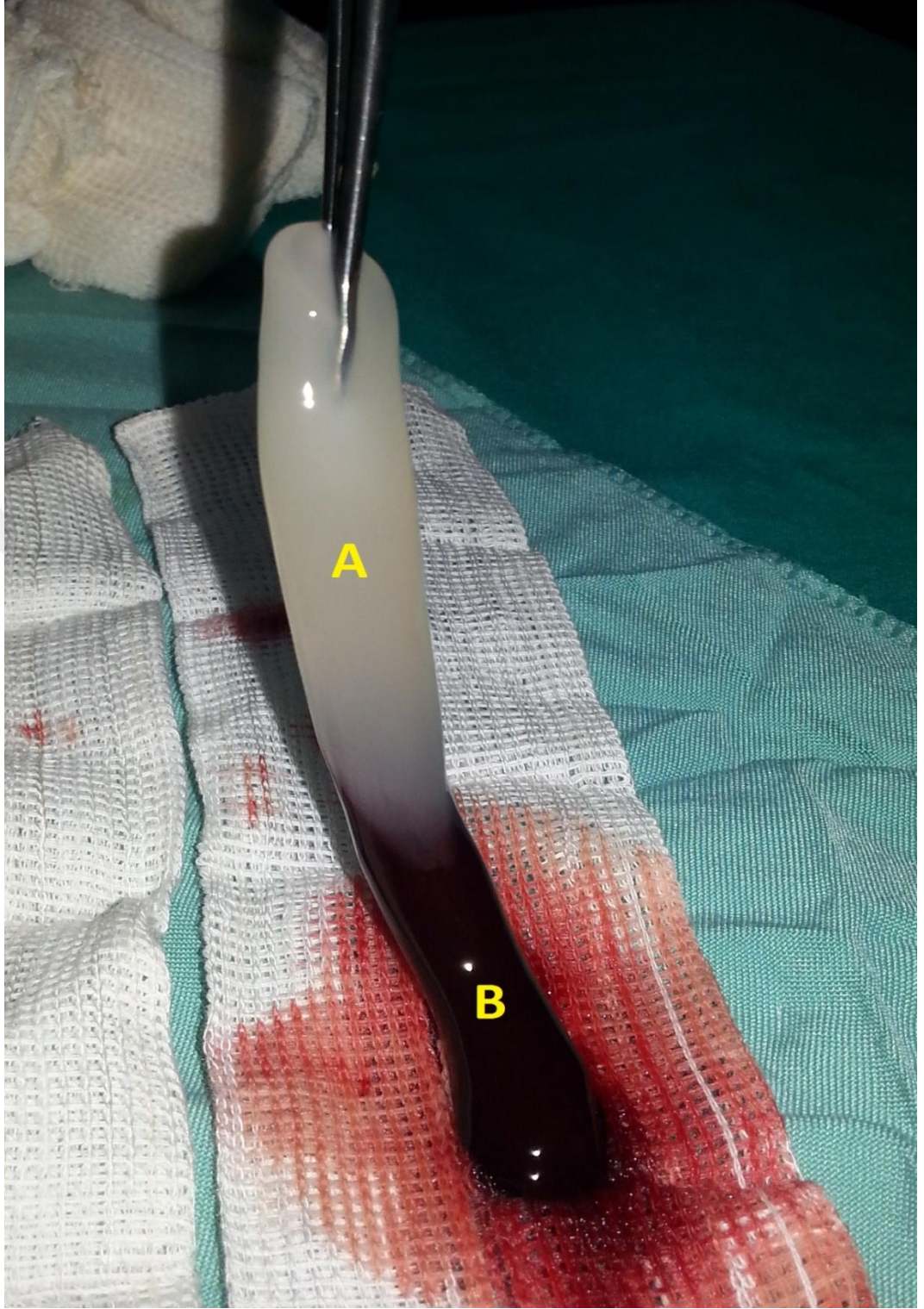
Şekil 3.1: Koyunlardan elde edilen kanın vakumlu tüplere enjekte edildikten sonraki görüntüsü.



Şekil 3.2: Kan ile doldurulan tüplerin santrifüj cihazına simetrik olarak yerleştirilmesi



Şekil 3.3: Santrifüj sonrası oluşan Plateletten fakir plazma (A) (en üstte), L-PRF pıhtısı (B) (ortada), Kırmızı kan hücrelerinin bulunduğu kısım (C) (en altta)



Şekil 3.4: Santrifüj sonrası oluşan L-PRF pıhtısı (A) ve Kırmızı kan hücrelerinin bulunduğu kısım (B) (plateletten fakir plazma kısmı çıkarılmış)

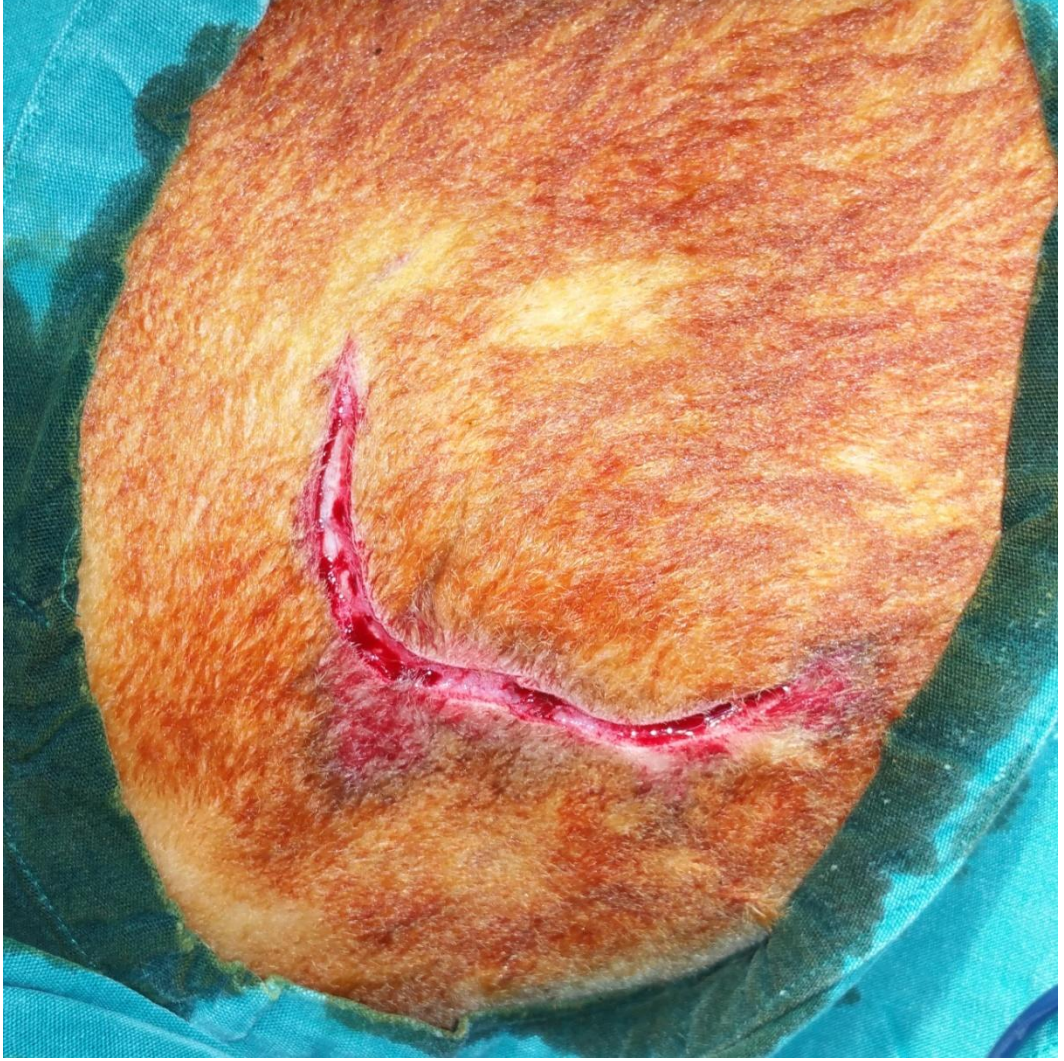


Şekil: 3.5: İşlemlerden sonra elde edilen L-PRF (plateletten fakir plazma ve kırmızı kan hücreleri çıkarılmış)

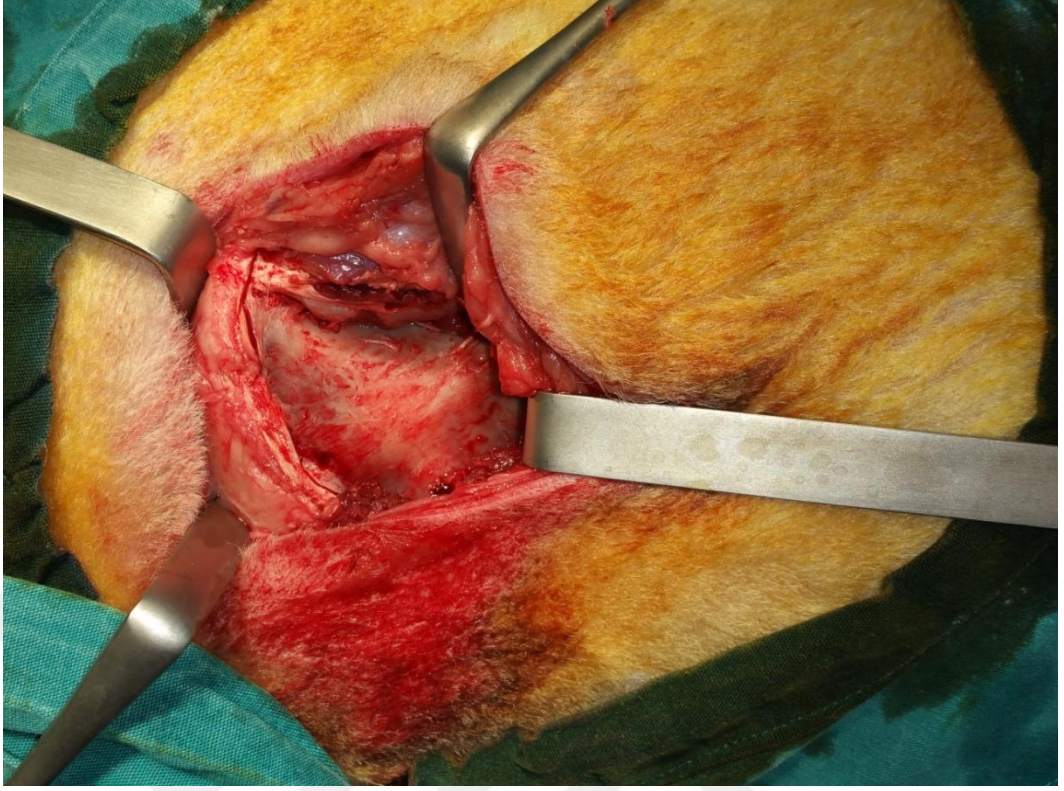
3.4. Cerrahi Yöntem

Operasyonun yapılacağı sağ pelvis bölgesi cerrahi öncesi traş edilerek uzun tüylerden arındırıldı. Koyunlar sol sternal ve pelvis bölgeleri üzerine yatacak şekilde konumlandırıldı. Sağ pelvis bölgesindeki ciltte batikon ile antisepsi sağlanıp iliak kreste dorsal yönden yaklaşımda bulunuldu. Cilt insizyonu ventro-dorsal yönde iliak krest çıkıntısını taklit eder tarzda eliptik bir hat izleyecek şekilde yapıldı (Şekil 3.6). Pelvik fasya koter kullanılarak kesildi. Sonrasında önümüze çıkan gluteal kasın derin ve orta

kısımları bağlı oldukları iliak krestten ayrıldı. İliak kemik üzerindeki periost ve filamentöz bağlantılar künt diseksiyonla ayrılıp cerrahi alan kranial ve kaudal yönde ekarte edilerek görüő sağlandı (Şekil 3.7).

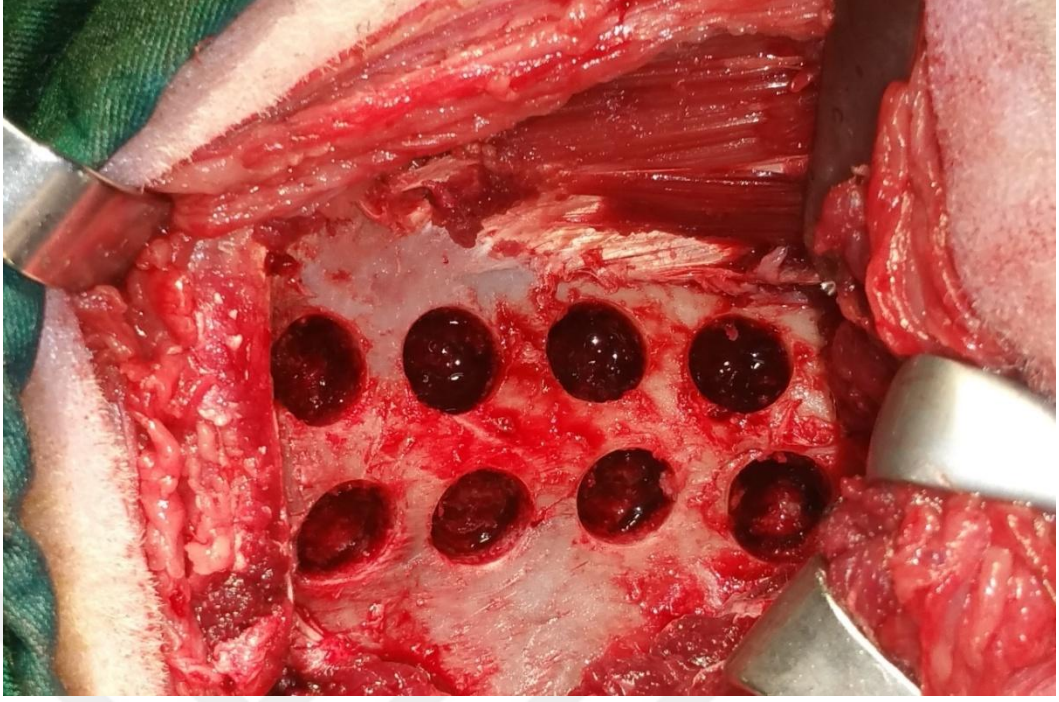


Şekil 3.6: Cilt insizyonunun ventro-dorsal yönde iliak krest çıkıntısını taklit eder tarzda eliptik bir hat izleyecek şekilde yapılması.

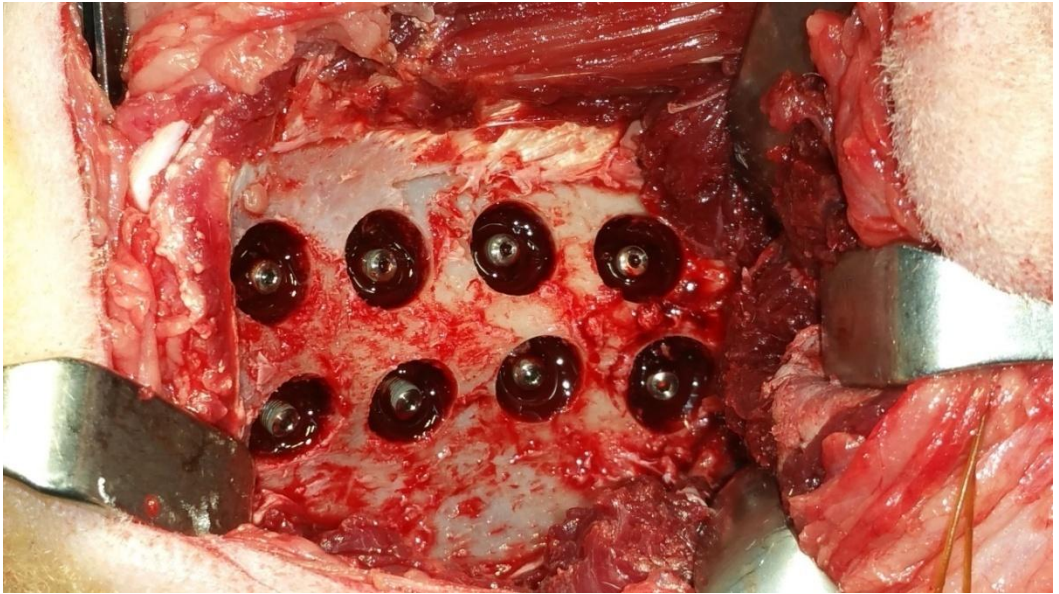


Şekil 3.7: Yumuşak dokuların diseksiyonu sonrası ulaşılan iliak kemik

İliak kemiğin lateral yüzeyinde kranio-kaudal yönde implantların yerleştirileceği merkezler belirlendi. İmplantların yerleştirileceği merkezleri belirlemek ve peri-implant defekt oluşturmak amacıyla dış çapı 10 mm olan trefan frez (Dentium® trephine bur kit:XIT) kullanıldı. İliak kemiğin lateral yüzeyinde trefan frez ile 10 mm çapında ve 4 mm derinliğinde 8 adet standart boyutta defekt oluşturuldu (Şekil 3.8). Defektler arasında 5 mm boşluk bırakıldı. Defektlerin merkezinde implant drilleme protokolü doğrultusunda implantların yerleştirileceği yuvalar oluşturuldu.



Şekil 3.8: İliak kemiğin lateral yüzeyinde standart boyuttaki trefan frez ile oluşturulan kemik defektleri.



Şekil 3.9: Oluşturulan defektlere implantların yerleştirilmesi

Oluşturulan yuvalara 3,5 mm çapında ve 8 mm uzunluğunda implantlar (NucleossTM® dental implant sistemleri, İzmir, Türkiye) yerleştirildi (Şekil 3.9). İmplantların koronal 4mm'lik kısmı defekt içerisinde, apikal 4mm'lik kısmı ise kemik içerisinde kaldı ve primer stabilizasyon sağlandı. Her bir implantın defekt içerisinde kalan 4mm'lik koronal kısmının çevresinde çevresel olarak 3,25 mm boşluk meydana geldi. Oluşan boşluğun onarımına bağlı olarak dört grup oluşturuldu (Şekil 3.10, Şekil: 3.11);

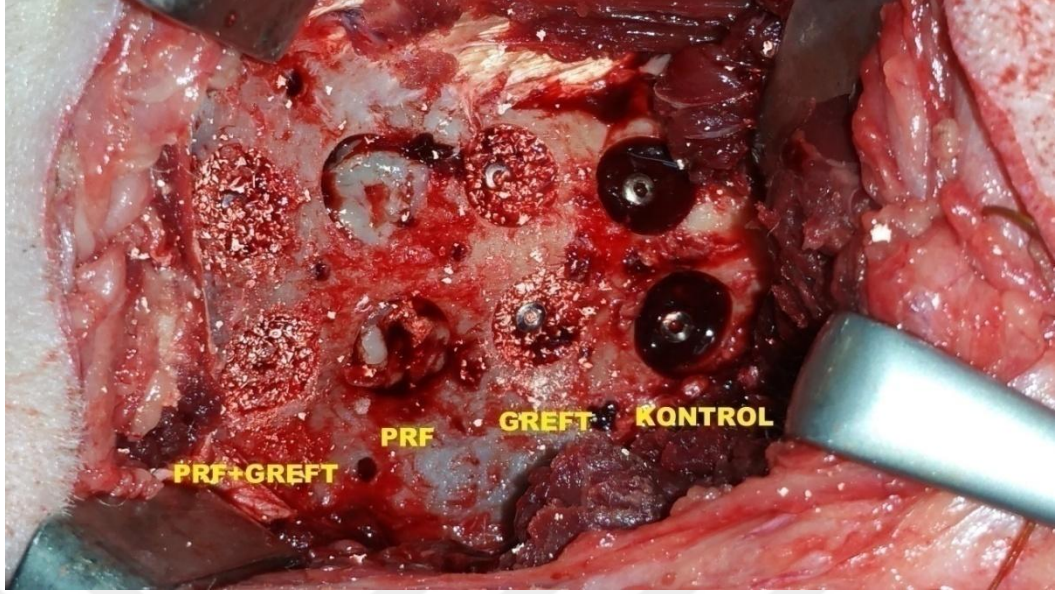
Grup 1: Sığır kaynaklı hidroksiapatit greft ile onarım

Grup 2: PRF ile onarım

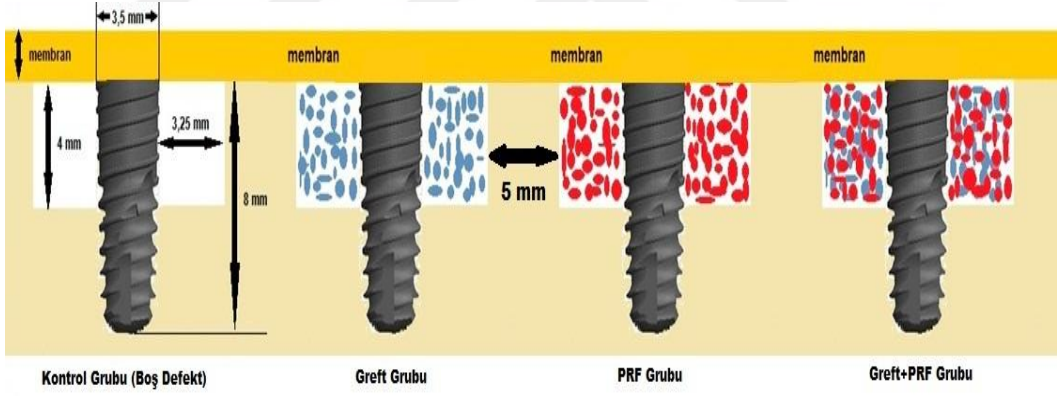
Grup 3: Sığır kaynaklı hidroksi apatit greft ve PRF karışımı ile onarım

Grup 4: Boş bırakılan defekt (kontrol)

Araştırmada, greft olarak sığır kaynaklı hidroksiapatit granül kemik grefti kullanıldı (İntegros® bone plus, Adana, Türkiye). Elde edilen L-PRF bistüri ve makas yardımıyla küçük parçalara ayrılarak implant çevresi defektlerde kullanılmak üzere hazırlandı (Şekil 3.12). Greft+PRF olan grupta (Grup 3) 1:1 oranında karışım hazırlanarak boşluk onarıldı. Sonuç olarak her bir hayvanda, her bir gruba iki implant dahil edildi. Defektlerin doldurulma işlemleri sonrası cerrahi alan sığır kaynaklı kollajen membranlar (Collagen AT[®], İtalya) ile örtüldü (Şekil 3.13).



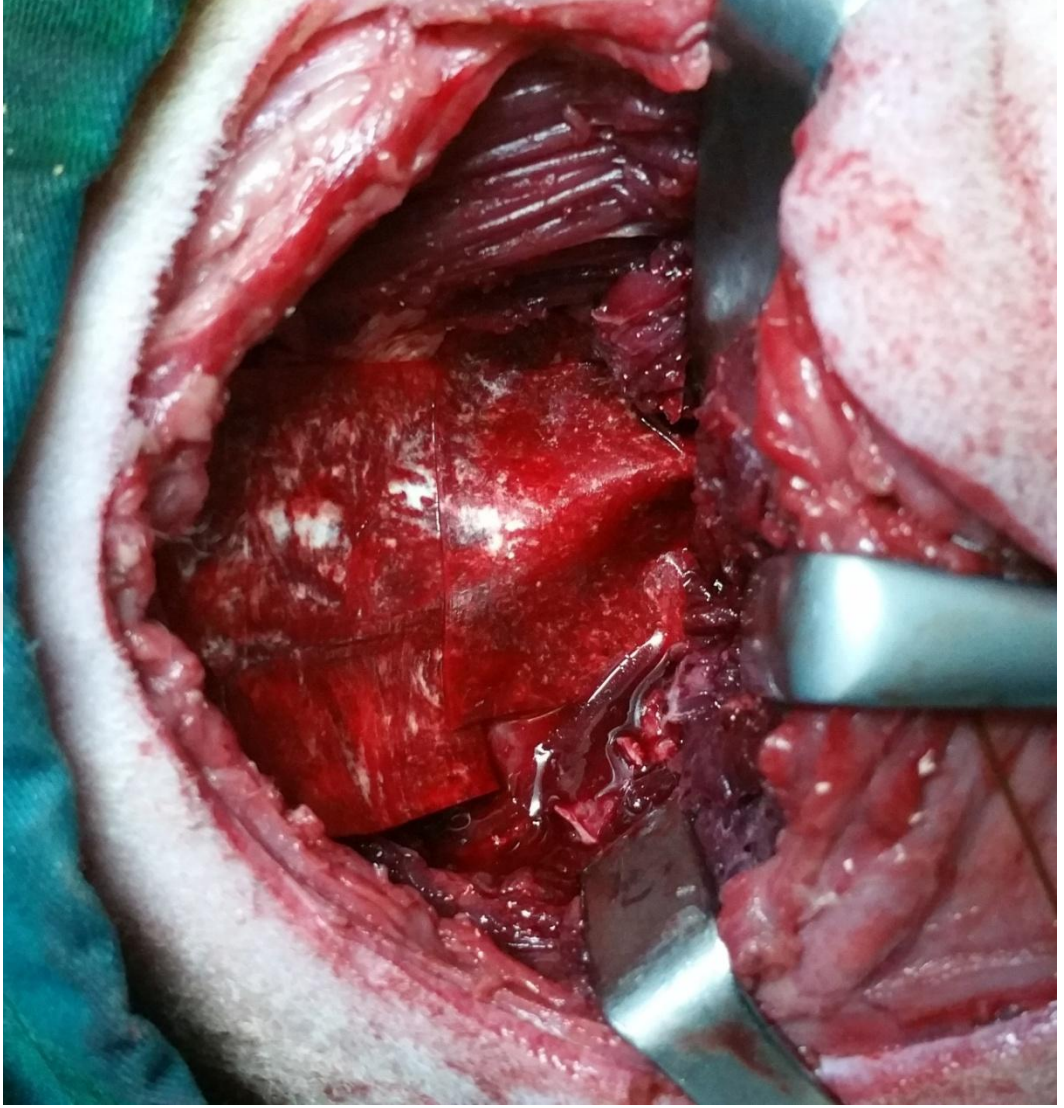
Şekil 3.10: İmplant çevresinde oluşan boşlukların onarılması



Şekil 3.11: Uygulanan cerrahi yöntemin şematik görüntüsü.



Şekil 3.12: Elde edilen L-PRF'nin greftle karıştırılmadan önce küçük parçalara ayrılması



Şekil 3.13: Defektlerin onarım işlemleri sonrası cerrahi alanın sığır kaynaklı kollajen membran ile örtülmesi.

Cerrahi alan en altta periost, kas ataçmanları, cilt altı dokular ve cilt olmak üzere 2.0 rezorbe olabilen suture ile primer olarak kapatıldı (Şekil 3.14).



Şekil 3.14: Cerrahi alanın primer suturasyonu

Operasyon sonrası enfeksiyon oluşumunu engellemek için tüm hayvanlara 1g sefazolin (Iespor[®], İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye) ve ağrıyı engellemek için 75 mg diklofenak sodyum (Dikloron[®], Deva, İstanbul, Türkiye) im yol ile günde iki kez 5 gün boyunca enjekte edildi.

Sekiz haftalık iyileşme periyodu sonunda hayvanlar yüksek dozda tiyopental sodyum iv enjeksiyonu (Pental Sodyum[®], İbrahim Etem, İstanbul, Türkiye) ile sakrifiye edildi.

3.5. Histomorfometri

İmplant ve çevresindeki kemik-greft dokusunu içeren dekalsifiye edilmemiş kesitler Donath ve Breuner'in¹⁷⁰ tanımladığı yöntemle göre hazırlandı. Histomorfometrik değerlendirme için implantlar, çevresindeki kemik-greft dokusu ile birlikte blok halinde çıkartıldı ve %4 nötral tamponlanmış formalin içeren solüsyonların içerisinde yerleştirildi. En az 24 saatlik fiksasyon süresinin ardından örnekler, %70, 80, 90, 96 ve 99 oranlarında etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süre ile tutularak dehidrate

edildi (Şekil 3.15). Dehidrate edilen örnekler, metil metakrilat rezin (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) içeren havuzda en az 24 saat bekletilerek vakum altında infiltre edildi. Daha sonra, örnekler metil metakrilat (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) içeren plastik kalıplar içerisine vakum altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde gömüldü. Örnekleri içeren bu kutucuklar 40°C’de, dalga boyu 450 nm olan ışık altında 8 saat süre ile polimerize edildi (Şekil 3.16). Tamamen sertleşmiş olan bloklar, ilk kesime hazırlamak ve paralel yüzey hazırlığını yapmak için şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı (Şekil 3.16).



Şekil 3.15: Vakumlu dehidratasyon ve infiltrasyon ünitesi



Şekil 3.16: Işıklı polimerizasyon ünitesi



Şekil 3.17: Pleksi-glas yapıştırma ünitesi

Pleksiglas lam üzerine yapıştırılmış bu örneklerden hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 300 μm kalınlığında kesitler elde edildi (Şekil 3.18). Bu kesitler, mikro aşındırma ünitesine (Exakt 400 CS, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 90 μm kalınlığına kadar inceltildi (Şekil 3.19). Her bir örnekten ikişer adet kesit elde edildi. Bu kesitler toluidine mavisi ile boyandıktan sonra kuruması için bir gece beklendi. Daha sonra, metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.



Şekil 3.18: Exakt 300 CP Hassas kesme ünitesi



Şekil 3.19: Exact 300 CS Mikroaşındırma ünitesi

Tüm kesitler histomorfometrik değerlendirme için kullanıldı. Işık mikroskopuna (Olympus® BX50, Tokyo, Japan) bağlı dijital kamera (Olympus® DP 70, Tokyo, Japan) yardımı ile kesitlerin dijital görüntüleri 4x büyütmede elde edildi. Görüntüler kişisel bilgisayara aktarıldı. Image J (National Institute of Mental Health, Washington, USA) programı ile kemik-implant kontakt (KİK) yüzdesi, WinTas (WinTAS Trabecular Analyze System, version 1.2.9) yazılım programı kullanılarak histomorfometrik analiz yapıldı (Şekil 3.20). KİK ve histomorfometrik analiz implantların çevresinde oluşturulan defekt bölgesinde gerçekleştirildi. Her bir defekt bölgesinde aşağıdaki histomorfometrik ölçümler yapıldı:

- 1) İmplantın etrafında oluşan yeni kemik alanının yüzdesi (yeni oluşan kemik alanının toplam ölçülmüş alana oranının yüzdesi)
- 2) İmplantın etrafında kalan greft partiküllerinin yüzdesi (greft partikül alanının toplam ölçülmüş alana oranının yüzdesi)
- 3) İmplantın etrafındaki yumuşak doku alanının yüzdesi (yumuşak doku alanının toplam ölçülmüş alana oranının yüzdesi)

4) İmpantın etrafındaki toplam sert doku yüzdesi (yeni oluşan kemik ve greft partikül alanının toplam ölçülmüş alana oranının yüzdesi)

5) İmplant yüzeyi boyunca mineralize kemik-implant kontakt (KİK) yüzdesi



Şekil 3.20: Histomorfometrik analiz istasyonu

3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programı kullanılarak analiz edildi. Ölçümler ortalama±standart sapma, medyan, minimum ve maksimum olarak verildi. İstatistiksel analiz için Anova kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda Tamhane düzeltmesi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

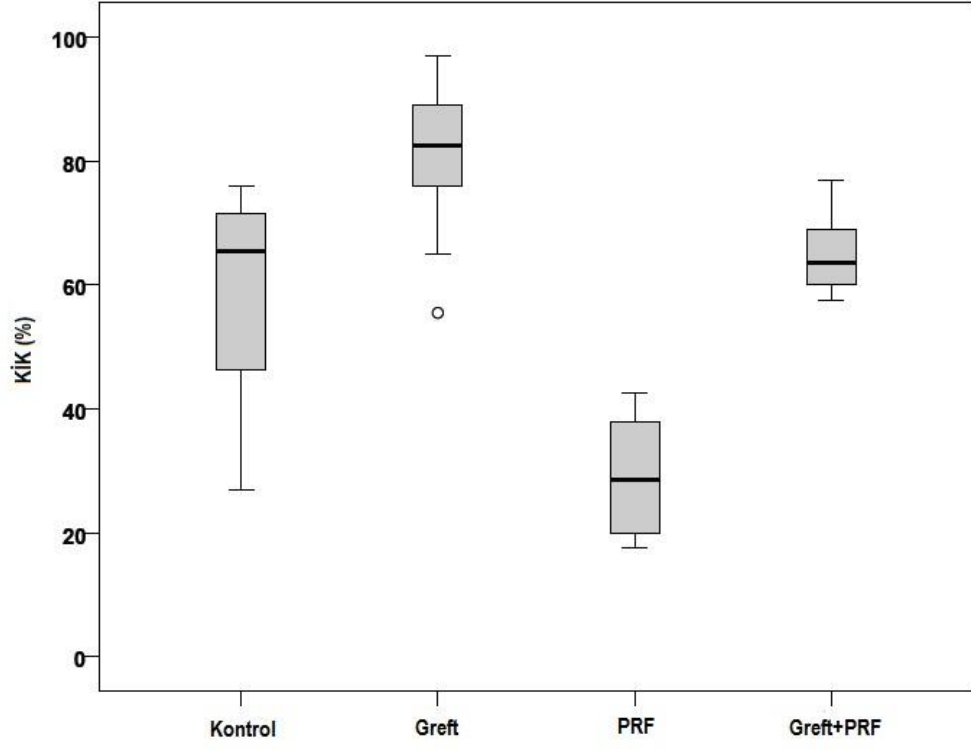
4. BULGULAR

Hiçbir hayvanda cerrahi işlem sırasında veya sonrasında herhangi bir komplikasyon yaşanmadı. Cerrahi operasyondan sonra tüm hayvanlar sorunsuz bir şekilde iyileşti.

Histomorfometrik ölçümler incelendiğinde KİK yüzdesinin gruplardaki dağılımı tabloda gösterilmektedir. En yüksek KİK yüzdesinin greft grubunda (%80,15±12,26) ve en düşük KİK yüzdesinin ise PRF grubunda (%29,25±8,67) olduğu görülmüştür. KİK değerlerini sıraladığımızda ise en yüksekten düşüğe sırasıyla greft, greft+PRF, kontrol ve PRF grubu şeklindedir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1: Her bir grupta ölçülen KİK (kemik implant kontakt) yüzdeleri

	Kontrol Grubu (n:10)	Greft Grubu (n:10)	PRF Grubu (n:10)	Greft+PRF Grubu (n:10)
KİK(%)				
Ortalama±SS	57,98±17,91	80,15±12,26	29,25±8,67	64,4±5,99
Median	65,5	82,5	28,5	63,5
Minimum/Maksimum	27/76	55,5/97	17,5/42,5	57,5/77
p değeri				
Kontrol grubu		0,031	0,003	0,888
Greft grubu			<0,001	0,017
PRF grubu				<0,001



Şekil 4.1: KİK yüzdesi değerlerinin gruptaki dağılımı

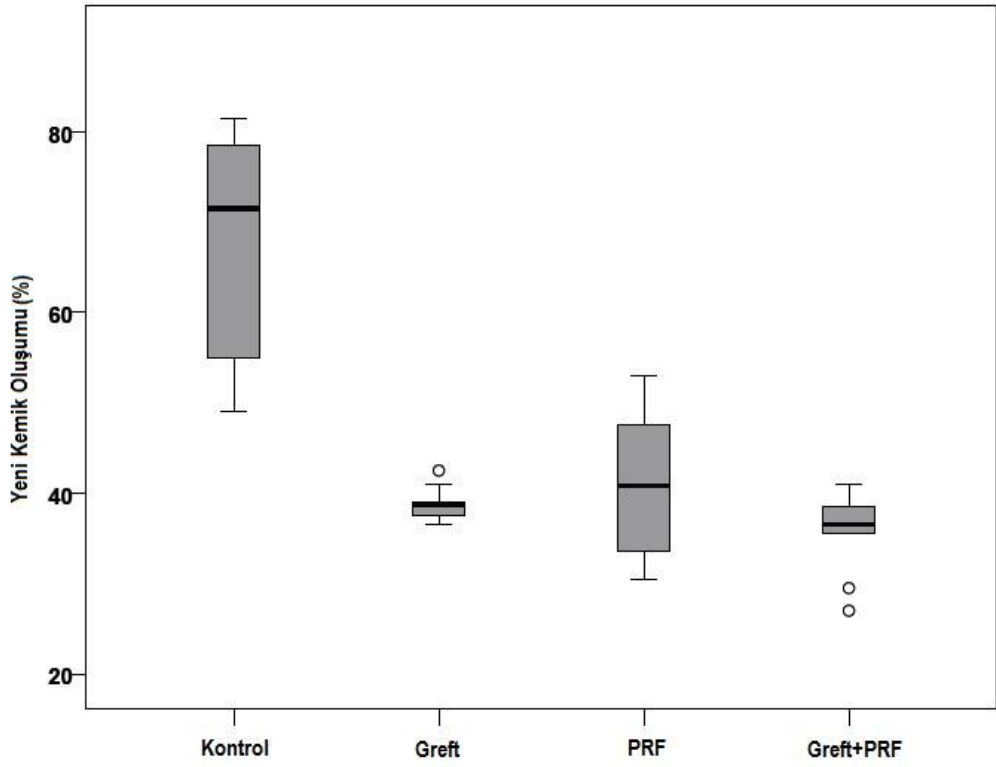
Gruplar arasındaki KİK yüzdesi karşılaştırıldığında sadece kontrol grubu ile greft+PRF grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($p=0,888$). Diğer gruplar arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Histomorfometrik analizin diğer sonuçları Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2: Her bir grupta ölçülen yeni kemik oluşumu, greft partikülü, yumuşak doku, toplam sert doku yüzdeleri.

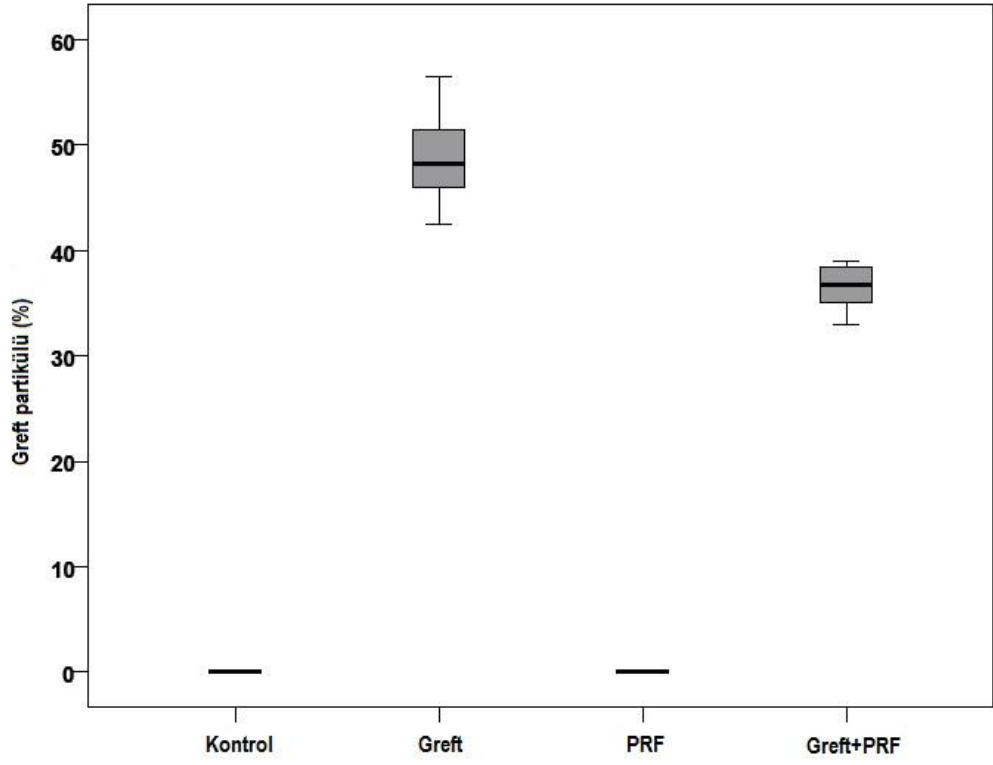
	Kontrol Grubu (n:10)	Greft Grubu (n:10)	PRF Grubu (n:10)	Greft+PRF Grubu (n:10)
Yeni kemik(%)				
Ortalama±SS	67,15±12,5	38,75±1,84	40,4±7,62	35,75±4,36
Median	71,50	38,75	40,75	36,5
Minimum/Maksimum	49/81,5	36,5/42,5	30,5/53	27/41
p değeri				
Kontrol grubu		<0,001	<0,001	<0,001
Greft grubu			0,988	0,345
PRF grubu				0,522
Greft partikülü(%)				
Ortalama±SS	---	48,85±4,08	---	36,6±1,98
Median	---	48,25	---	36,75
Minimum/Maksimum	---	42,5/56,5	---	33/39
p değeri				
Kontrol grubu		<0,001	---	<0,001
Greft grubu			<0,001	<0,001
PRF grubu				<0,001
Yumuşak doku(%)				
Ortalama±SS	32,85±12,5	12,4±4,55	59,6±7,62	27,65±3,7
Median	28,5	13,5	59,25	27,25
Minimum/Maksimum	18,5/51	6/18,5	47/69,5	22/35
p değeri				
Kontrol grubu		0,003	<0,001	0,799
Greft grubu			<0,001	<0,001
PRF grubu				<0,001
Toplam sert doku(%)				
Ortalama±SS	67,15±12,5	87,6±4,55	40,4±7,62	72,35±3,89
Median	71,5	86,5	40,75	73,75
Minimum/Maksimum	49/81,5	81,5/94	30,5/53	65/78,5
p değeri				
Kontrol grubu		0,003	<0,001	0,657
Greft grubu			<0,001	<0,001
PRF grubu				<0,001

Yeni kemik oluşumu en fazla kontrol grubunda (%67,15±12,5) ölçüldü. Bu değer diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edildi. Yeni kemik oluşumu açısından kontrol grubu dışındaki gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı (Şekil 4.2).



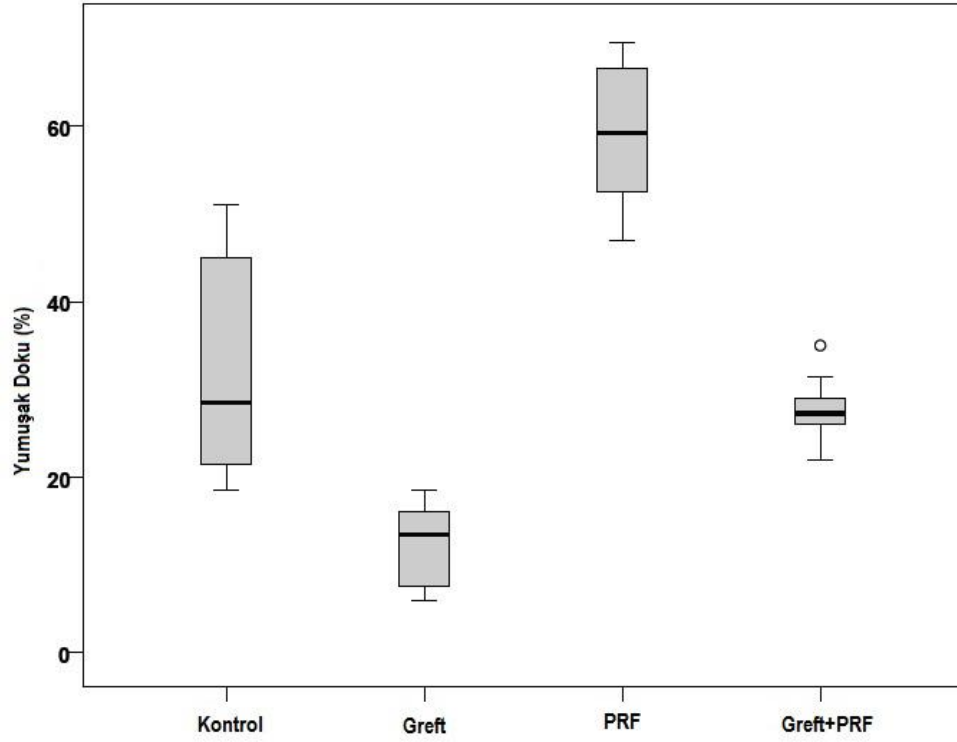
Şekil: 4.2: Yeni kemik oluşumu yüzdesi değerlerinin gruptaki dağılımı.

Greft partiküllerinin yüzdesi, greft grubunda greft+PRF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek oranda bulundu ($p < 0.001$) (Şekil 4.3).



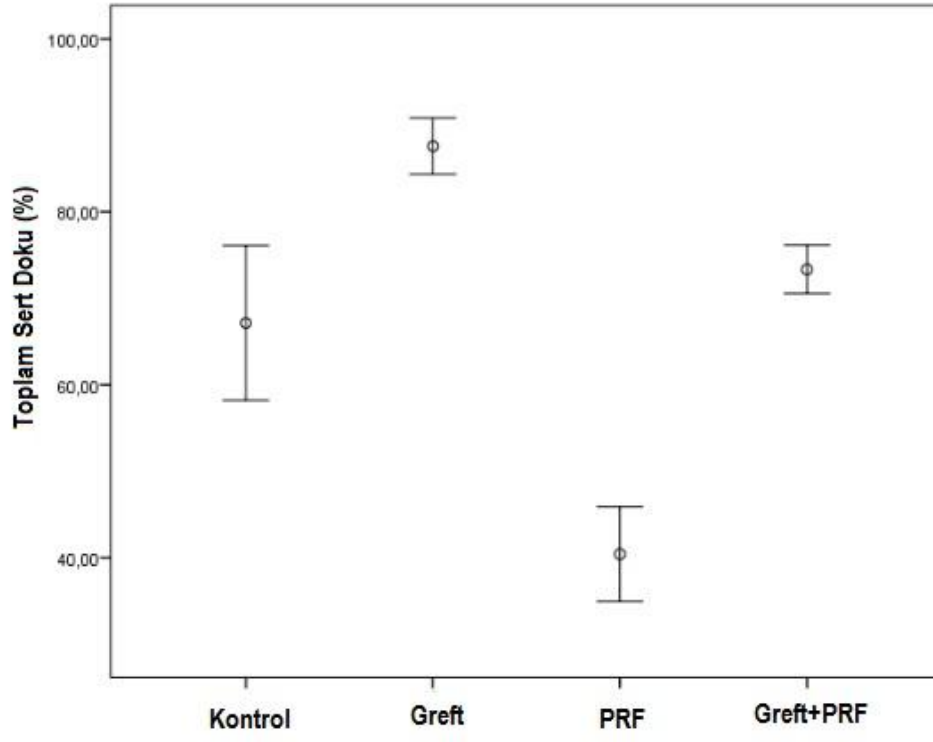
Şekil 4.3: Rezidüel kemik grefti yüzdesinin gruptaki dağılımı.

Yumuşak doku yüzdesi en fazla PRF grubunda bulundu. PRF grubu yumuşak doku yüzdesi açısından diğer gruplarla karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlıydı. Yumuşak doku yüzdesinin en az bulunduğu greft grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edildi. Kontrol grubu ile greft+PRF grubu arasında yumuşak doku yüzdesi açısından anlamlı farklılık belirlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Yumuşak doku yüzdesinin gruptaki dağılımı.

Toplam sert doku değeri en fazla greft grubunda ($87,6 \pm 4,55$), en az PRF ($40,4 \pm 7,62$) grubunda ölçüldü. Toplam sert doku değerleri sıralandığında ise en yüksekten düşüğe sırasıyla greft, greft+PRF, kontrol ve PRF grubu şeklinde bir sıralama elde edildi. Gruplar arasındaki toplam sert doku yüzdesi karşılaştırıldığında sadece kontrol grubu ile greft+PRF grubu arasında ($p=0,657$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemedi. Diğer gruplar arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Toplam sert doku yüzdesinin gruptaki dağılımı.

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada implant etrafında cerrahi olarak oluşturulan defektlerde PRF'nin tek başına veya greft materyali ile karıştırıldığında yeni kemik oluşumu ve implant osseoentegrasyonuna etkisi incelenmiştir.

Schulte ve Heimke¹⁷¹ yeni çekilen diş soketine implant yerleştirilmesini immediyat implantasyon olarak tanımlamışlardır. Bu işlem sırasında implant çapının çekim soketinden daha dar olmasına bağlı olarak implant yüzeyi ile kemik arasında boşluk oluşabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan model çekim soketine immediyat implant yerleşimi sırasında meydana gelen implant ile kemik arasında koronal bölgedeki boşluğu simüle etmek amacıyla seçilmiştir. Osseoentegrasyon implant boynu ile kemik arasında kalan boşluğun boyutuna bağlı olarak kemik greftleri kullanılarak veya kullanılmadan sağlanabilir. Bu bağlamda karşımıza kritik defekt boyutu kavramı çıkmaktadır. Bu kavram deney yapılan hayvandaki kemik defektinin o hayvanın hayatı boyunca tamamen iyileşmemesi olarak tanımlanır¹⁷². Literatüre bakıldığında bir çok çalışmada implant etrafındaki 2 mm'den küçük olan defektlerin herhangi bir kemik augmentasyon yöntemine ihtiyaç duyulmadan iyileşebildiği gösterilmiştir¹⁷³⁻¹⁷⁶. Fakat defekt boyutu 2 mm'den büyük ise tam bir kemik iyileşmesi için augmentasyon yapılması gerektiği tavsiye edilmektedir¹⁷⁷⁻¹⁸⁰. Çalışmamızdaki implant etrafındaki çevresel defekt genişliği 3,25 mm'dir ve literatürdeki bilgiler ışığında greftleme endikasyonu bulunmaktadır. Choo ve ark.'nın¹⁸¹ koyun pelvisinde yaptıkları çalışmada da defekt genişliği 3,25mm olacak şekilde oluşturulmuştur. Choo ve ark.¹⁸¹ yaptıkları bu çalışmada kontrol grubunda hiçbir defektin tamamen kemikle dolmaması ile bu defekt boyutunun kritik defekt boyutu kavramına uygun olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca araştırmamızda 8 mm uzunluğa sahip implantlar kullanılmıştır ve implantların 4 mm'sinin kemik içinde kalması sayesinde primer stabilite sağlanmıştır. İmplantın yarısının kemik ile direkt temasta olmasının primer stabilite için ön koşul olduğu bir çok araştırmada belirtilmiştir^{179,182,183}.

Çalışmamızda koyun modeli tercih edilmesi ile yeterli miktarda PRF elde edilebilmiştir. Ayrıca implantların çevresinde yeterli defekt boyutunu oluşturabilmek de mümkün olmuştur¹⁸⁴. Kemik rejenerasyonu ile ilgili araştırmalar için farklı hayvan modelleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada, yetişkin insanlar ile kıyaslanabilir vücut

ağırlığına ve uzun kemik boyutlarına sahip olduğu için koyun modeli seçilmiştir. Koyunlardaki kemik yapısı dental implantların kullanılmasına olanak sağlamakla birlikte implant ve çevresindeki yeterli kemik boyutu sayesinde istenilen büyüklükte histolojik kesitlerin oluşturulmasında da elverişlidir. Ravaglioli ve ark.¹⁸⁵ koyun ile insan kemiği arasında mineral kompozisyonu açısından önemli bir farklılık olmadığını ve hem metabolik hem de kemik yeniden şekillenme oranları açısından insan ile benzer olduğunu belirtmişlerdir. Anderson ve Newman, koyunların insan kemik döngüsü ve yeniden şekillenme aktivitesi için geçerli bir model olarak düşünülebileceğini gözlemlemiştir^{186,187}. Eitel ve ark.¹⁸⁸ koyunlar ile insanlar arasında kıyas götürür kemik iyileştirme potansiyeli ve kemik kan kaynağı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, koyun kemiklerinin insan kemik fizyolojisini ve anatomisini yetişkin hayvanlarda çok daha benzer şekilde temsil ettiği kanısına varılmıştır¹⁸⁹. Literatürde koyun pelvis modelinin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur^{181,190}.

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu implant çevresindeki defektlerde oldukça kabul gören ve literatürde vurgulanan bir konudur. Bariyer membran uygulamasının implant çevresi defektlerde kemik grefti olmaksızın kemik rejenerasyonunu artırdığı gösterilmiştir^{5,191}. Çalışmamızda tüm defektler rezorbe olan kollajen membran ile örtülmüştür ve membranlar defektler açıkta kalmayacak şekilde yerleştirilmiştir. Kohal ve ark.¹⁹² demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti ve ksenogreftin membran ile birlikte kullanımının daha iyi kemik implant kontağı (KİK) ve yeni kemik oluşumu sağladığını belirtmişlerdir. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensiplerine bağlı kalınmıştır. Rezorbe olmayan bariyer kullanımı klinik çalışmalarda ikinci bir cerrahi gerektirmesi nedeniyle tercih edilmemiştir. Kontrol grubunda yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu sayesinde yeni kemik oluşumu açısından olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Literatürde implant çevresi kemik defektlerinde yeterli oranda osseoentegrasyonu ve yeni kemik oluşumunu sağlamak amacıyla çeşitli materyaller kullanılarak kemik iyileşmesinin nasıl etkilendiğini incelemeye yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır^{11,13,193-198}. Bu amaçla otojen greft, sentetik greft materyalleri, ksenogreftler ve bariyer membranlar kullanılmış ve birbirleri ile karşılaştırmaları yapılmıştır. Ancak tek bir materyal veya teknik üzerinde fikir birliği bulunmamakla birlikte gün geçtikçe yeni yöntemler de araştırılmaktadır. Greft materyali olarak otojen

greft kullanmak osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri sağlamasından dolayı diğer greft materyalleri ile karşılaştırıldığında altın standart olarak kabul görmektedir^{30,31}. Otojen kemik greftlerinden bahsederken kortikal ve kansellöz kemikler arasında ayırım yapmak doğru olacaktır. Kortikal greftler, form sağlayıp, dayanıklı ve sert bir yapı oluştururken, osteogenezisi artırıcı yetenekleri yoktur¹⁹⁹. Kansellöz kemik ve kemik iliğinin primer avantajı, belirgin şekilde osteogenezisi artırma yetenekleridir. Bu yetenekleri, osteojeniteyi indükleme kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Bu greftlerin önemli bir dezavantajı; mekanik olarak sağlam olmamaları ve rezorpsiyona yatkın olmalarıdır¹⁹⁹. Buna ek olarak, elde edilebilecek greft miktarının sınırlı olması, donör alan morbiditesi ve greftin elde edilmesi sırasında ağız içi kontaminasyona bağlı meydana gelen potansiyel enfeksiyon riski gibi dezavantajları da bulunmaktadır²⁰⁰⁻²⁰⁴. Bu dezavantajlardan dolayı başka greft materyalleri ve ajanları alternatif olarak geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Ancak otojen greft kullanılmadan yapılan greftleme işlemlerinde osseoindüksiyon sağlanamamakta ve greft materyallerinin sadece osteokondüktif özelliklerinden faydalanmak durumunda kalınmaktadır.

Tavşan kafatasında yapılan araştırmalarda sığır kaynaklı HA'nın biyoyumluluğu gösterilmiştir^{205,206}. Klinge ve ark.²⁰⁷ tavşanlarda deneysel defektlere sığır kaynaklı HA greft materyalini implante etmişler ve doğal kansellöz kemiğe benzer iç makro gözenekli morfolojiye sahip olması nedeniyle yeni kemik oluşumu için ideal bir iskele görevi üstlendiğini raporlamışlardır. Hayvan modellerinde yapılan araştırmalardan elde edilen histolojik kesitlerde sığır kaynaklı HA parçacıkları kolaylıkla tespit edilebilmektedir ve genellikle kan damarları da dahil olmak üzere yeni oluşan kemik, osteoid doku ve kemik iliği ile çevrelendiği görülebilmektedir^{208,209}. Sığır kaynaklı HA'nın içeriğinde organik materyallerin olmamasına rağmen hidroksiapatit kristallerine sahip olması nedeniyle osteoblastların çabuk bağlanmasına ve daha sonra yeni kemik matrikslerinin biriktirilmesine olanak sağlar²¹⁰. Yıldırım ve ark.²¹¹ 11 hastada, 15 sinüs tabanı greftlemesi işlemini sığır kaynaklı granül HA kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Ortalama 6,8 aylık iyileşme döneminin ardından, implant yerleştirilme seansında greftlenen bölgelerden 22 adet kemik biyopsisi alınmış ve 38 adet Branemark[®] implant yerleştirilmiştir. Yapılan histomorfometrik analizler sonucunda, bu greft materyalinin implant osseoentegrasyonu için yeterli miktarda yeni kemik oluşturduğu belirlenmiştir.

Bu özellikleri nedeniyle sığır kaynaklı HA'nın araştırmamızda kullanılmasına karar verildi. Sığır kaynaklı HA sadece osteokondüktif özellik taşımaktadır²¹². Bu bağlamda osteojenik ve osteoindüktif etkisi olmayan greft materyallerinin kullanımına ek olarak kemik iyileşmesine katkısının artırılması amacıyla büyüme faktörleri ve sitokinlerden zengin olan platelet konsantrelerinin kullanımı ve etkinliği son zamanlarda ilgi gören araştırma konusudur.

Platelet konsantrelerine baktığımızda PRP ve PRF öne çıkan iki ürün olarak gözükmektedir. PRP ile PRF arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. PRP'nin büyüme faktörlerini ve sitokinlerin büyük bölümünü bir saat içerisinde ortama saldı ve 3 gün gibi kısa bir sürede tamamen çözündüğü, ancak PRF'nin 7 gün boyunca yavaş ve sürekli bir salınım gerçekleştirdiği ve 7 gün sonunda hala tamamen rezorbe olmadığı görülmüştür^{213,214}. PRF'nin bu farklılığa sahip olmasının nedeni ihtiva ettiği 3 boyutlu fibrin matriks yapısına bağlanmaktadır. Bu çabuk çözünmeyen fibrin matriks büyüme faktörleri ve sitokinlerin daha yavaş salınımına neden olmaktadır. PRP ile yapılan in vitro çalışmalar osteoblastlardaki osteojenik markerların proliferasyonunun ve ekspresyonunun arttığını göstermiştir^{215,216}. Ancak in vivo yapılan çalışmalarda yeni kemik oluşumu açısından tartışmalı sonuçların ortaya çıktığı gözlenmiştir²¹⁷⁻²¹⁹. Bunlar PRP'nin çalışmamızda kullanılmamasının nedenleridir. Ayrıca PRF kullanımının; işlemin basit ve tek aşamadan oluşması, otolog kandan elde edilmesi, tamamen doğal olması, ilave herhangi bir aktivatör veya antikoagülan kullanılmaması ve ucuz bir yöntem olması gibi avantajları bulunmaktadır¹³³. Ayrıca PRF ürünü kısa bir sürede ve büyük miktarlarda kolayca hazırlanabilmektedir.

PRF otojen fibrin matrikstir ve Choukroun ve ark. tarafından özellikle oral ve maksillofasiyal cerrahi çalışmaları için tanımlanmıştır²²⁰. Lökositleri içermesi ve antikoagülan veya ilave herhangi bir aktivatör madde içermemesi nedeniyle ikinci jenerasyon platelet konsantresi olarak tanımlanmaktadır^{14,134,135}. Yapılan çalışmalarda PRF'nin TGF- β 1, VEGF, PDGF- β gibi büyüme faktörleri ve bir çok sitokinin özellikle ilk 7 günde ortama yavaş salınımında etkili olduğu gösterilmiştir^{142,213}. Ayrıca Zumstein ve ark.²²¹ bu salınımın azalarak 28 gün devam ettiğini raporlamışlardır. Literatüre bakıldığında PRF'nin biyomateryal olarak tek başına²²²⁻²²⁶ veya farklı kemik grefti materyalleri ile birlikte kullanıldığı görülmektedir²²⁷⁻²²⁹. PRF'nin kemik greftleri ile birlikte kullanımı ile kemik rejenerasyonunun hızlanacağı ileri sürülmektedir. Ancak

bazı çalışmalarda bu durumun aksi gösterilmiştir²³⁰⁻²³². Bu bağlamda PRF'nin implant çevresi defektlerdeki kemik iyileşmesine etkisi tam olarak açıklığa kavuşmamış ve araştırılması gereken bir konu olduğu düşünülmüştür. Literatür incelendiğinde PRF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkileri hakkında çalışmaların olduğu görülmektedir^{131,233-235}. Bu çalışmaların bazılarında^{131,235,236} PRF'nin kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu sonucuna varılmış olsa da bazı çalışmalarda^{230,233,237} PRF'nin kemik iyileşmesi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bildirmiştir. Dolayısıyla PRF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkinliği konusunda literatürde halen bir fikirbirliği bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre PRF'nin implant çevresindeki kemik iyileşmesi üzerinde ilave bir etki yaratmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Yaptığımız araştırma literatürde kemik defektlerinin iyileşmesinde PRF'nin etkisini inceleyen diğer araştırmalardaki bazı eksiklikleri ve incelenmeyen yönleri aydınlatmak üzere tasarlanmıştır. Literatürdeki bir çok çalışmada implant çevresi kemik defekti modeli kullanılmadan sadece kemik defekti yaratılarak PRF'nin etkisi değerlendirilmiştir^{184,230,231,238,239}. Bu bağlamda bizim çalışmamız implant etrafındaki kemik defektlerinde PRF'nin etkisini değerlendirmesi açısından bu çalışmalardaki incelemeyi bir adım öteye taşımıştır. Lee ve ark.²²² 8 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada implant çevresi defektler kontrol (boş bırakılan) grubu ve PRF ile doldurulan grup olmak üzere iki grup şeklinde incelemeye tabi tutulmuştur. Araştırmacılar 3 mm çapında ve 8 mm boyundaki implantların çevresinde 3 mm genişliğinde ve 5 mm derinliğinde defekt oluşturmuşlardır. Görüntü analizi için implantların abutment bölümünden itibaren ilk üç yivlik bölümü kullanılmıştır. Yeni kemik oluşumunun toplam miktarı, yivler arasındaki toplam alanın yüzdesine göre hesaplanmıştır. Yeni kemik oluşumu kontrol grubunda %11,06±8,94 ve PRF grubunda %29,30±7,50 olarak bulunmuş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir (p<0,05). Defekt bölgesindeki kemik implant kontağı (KİK) kontrol grubunda %17,11±8,12 ve PRF grubunda %39,43±7,39 olarak bulunmuş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir (p<0,05). Çalışmanın sonucunda PRF'nin iyileşmeye olumlu katkısının olduğu ancak insanda kritik defekt boyutunda yeni çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada perimplant defektlerde sıklıkla kullanılan kemik greftlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi yapılmamıştır. Şimşek ve ark.¹³ tavşanların tibiasında implant çevresi defektler

oluşturarak bu defektleri üç farklı yöntemle doldurmuşlardır. Birinci grupta demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA), ikinci grupta DDKKA ve rifamisin karışımı ve üçüncü grupta DDKKA ve PRF karışımı kullanılmıştır. Araştırmada elde edilen KİK sonuçlarına baktığımızda DDKKA kullanılan grupta %50,94±4,39, DDKKA ve rifamisin karışımı kullanılan grupta %60,07±4,91 ve DDKKA ve PRF karışımı kullanılan grupta %73,43±3,86 olarak bulunmuştur. Yeni kemik oluşumu ise DDKKA kullanılan grupta %37,61±1,70, DDKKA ve rifamisin karışımı kullanılan grupta %48.51±2.80 ve DDKKA ve PRF karışımı kullanılan grupta %63,09±2,10 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak gruplar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu belirtilmiştir (p<0.05). Sonuç olarak PRF ve rifamisin kemik oluşumunu artırdığı ve/veya hızlandırdığı ve KİK ve yeni kemik oluşumu yüzdesini yükselttiği belirtilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu oluşturulmamıştır.

L-PRF'in kemik oluşumunu teşvik edici osteoblastlar üzerindeki etkisi, in vitro olarak araştırılmıştır ve sonuçlar ümit vaat etmektedir²⁴⁰⁻²⁴³. Ancak daha önce de belirttiğimiz gibi implant çevresi defektlerde L-PRF'nin kemik rejenerasyonu üzerindeki yararlı etkisi literatürde yeteri kadar araştırılmamıştır. Bu eksiklikler göz önüne alınarak yaptığımız çalışmanın sonuçları literatürde benzer çalışmaların sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir. Bölükbaşı ve ark.¹⁸⁴ yaptıkları çalışmada 6 adet koyunun iki tibiasında 5 mm çapında defektler oluşturmuşlardır. Defektler; boş, PRF, bifazik kalsiyum fosfat (BCP), BCP+PRF olacak şekilde doldurulmuştur. Hayvanlar 10, 20 ve 40. günlerde sakrifiye edilip histolojik ve histomorfometrik analiz yapılmıştır. Elde edilen yeni kemik oluşumu oranları 40. gün sonunda boş grup için %39,7, PRF grubu için %38,9, BCP grubu için %49,1 ve PRF+BCP grubu için %54,9'dur. Bu sonuçlar elde edilen yeni kemik oluşumu oranları açısından çalışmamızda elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermemektedir. Özdemir ve ark.²²⁶ 24 tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada tavşanları 4 gruba ayırmışlardır. Tüm tavşanların kalvaryumlarına 2'şer adet titanyum hemisferleri yerleştirmişlerdir. Her 6 hayvan için hemisferleri içi boş, PRF, sığır kaynaklı HA kemik grefti ve BCP ile doldurulmuştur. Hayvanların 3 tanesi 1 ay sonra diğer 3 tanesi 3 ay sonra sakrifiye edilmiştir. Histomorfometrik analiz ile gruplar arasında yeni kemik oluşumu değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçta, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda titanyum bariyer ile birlikte PRF membranının sığır kaynaklı HA

kemik grefti ve BCP kadar başarılı bir şekilde kullanılabilceği rapor edilmiştir. Ancak çalışmada grupların bir arada olmaması, farklı hayvanlarda olması çalışmanın sonuçları açısından bir limitasyon oluştursada sığır kaynaklı HA, PRF ve BCP arasında yeni kemik oluşumu açısından bir farklılık olmadığını ortaya koymuştur.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına baktığımızda yeni kemik oluşumu açısından kontrol grubu %67,15±12,5 oranla diğer gruplardan daha yüksek bir seviyeye sahiptir ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer gruplar azalan sırayla PRF grubu % 40,4±7,62, greft grubu % 38,75±1,84 ve greft+PRF grubu %35,75±4,36'lık değerlere sahiptir. Yeni kemik oluşumu açısından diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Çalışmamızda toplam sert doku yüzdesi değeri en düşük PRF grubunda bulundu (%40,4±7,62). PRF grubu toplam sert doku yüzdesi değeri açısından diğer gruplarla karşılaştırıldığında oluşan fark anlamlıdır (p<0,05). Kontrol grubu toplam sert doku yüzdesi değeri (%67,15±12,5) PRF grubu toplam sert doku yüzdesi değerinden (%40,4±7,62) yüksektir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,001). Bu sonuçlar bize PRF'nin yeni kemik oluşum sürecine herhangi bir katkısının olmadığını göstermektedir. Bu durumun izahı iki teoriye dayandırılabilir. Bunlardan birincisi L-PRF'nin bir alan kaplaması ve bu alanın fibrinden yoğun olması nedeniyle vaskülarize bağ dokusunun ve osteoblast öncülü hücrelerin alana ulaşımına izin vermemesi olabilir. Knapen ve ark.²³¹ yaptığı çalışmada 18 tavşanın kalvaryumuna toplamda 72 adet hemisfer implante edilmiştir. Bu hemisferlerin içi kontrol grubu (boş), L-PRF, L-PRF+greft ve greft olmak üzere doldurulup bu şekilde gruplandırılmıştır. Greft materyali olarak sığır kaynaklı HA kullanılmıştır. Tavşanlar 1., 5. ve 12. haftalarda 6'şar adet olmak üzere sakrifiye edilmiştir. Sonrasında histolojik ve histomorfometik analiz gerçekleştirilmiştir. Yeni kemik oluşumu 12. hafta sonunda boş grupta % 25,77, PRF grubunda % 24,11, greft grubu % 21,15 ve greft+PRF grubu % 21,42'dir. Elde ettikleri sonuca göre L-PRF'nin in vivo olarak yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun miktarı, kalitesi ve kinetiği üzerinde ek bir etki sağlamadığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar mevcut bulgulara göre, L-PRF'nin rejenerasyon odasındaki konnektif hücre çoğalması üzerinde herhangi bir olumlu etkisi olmadığını göstermişlerdir. Bu durumun nedeni olarak L-PRF'nin bir alan kapladığını ve bu alanın fibrinden yoğun olması nedeniyle vaskülarize bağ dokusunun ve osteoblast öncülü

hücrelerin alana ulaşımına izin vermediğini öne sürmektedirler. Bu çalışma sonucu itibariyle yaptığımız çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Elde edilen sonucun temelini dayandırıldığı ikinci teori ise, büyüme faktörlerinin belli kombinasyonlarda sinerjistik, antagonistik veya her iki etkiyi de oluşturabilmesidir²⁴³⁻²⁴⁵. Başarlı ve ark.²³² yaptıkları çalışmada PRF'nin çekim soketlerinde kemik iyileşmesindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuca göre PRF'nin çekim soketlerinde kullanılması ile kullanılmaması arasında operasyon sonrası 4. ve 12. haftalarda yapılan değerlendirmelerde fark bulunamamıştır. PRF'nin etkisiz olmasını büyüme faktörlerinin belli kombinasyonlarda sinerjistik, antagonistik veya her iki etkiyi de oluşturabilmesine bağlamışlardır. Karsperk ve ark.²⁴⁵ FGF, TGF- β ve PDGF'nin DNA sentezini artırdıklarını ancak birlikte kullanıldıklarında ALP sentezini azalttıklarını rapor etmişlerdir. Giannobile ve ark.²⁴⁴ IGF-1, FGF, TGF- β ve PDGF'nin kombinasyonlarının kemik remodelingi ve diferensiasyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmişler ve IGF-1 ve diğer büyüme faktörlerinin kombinasyonunun osteoblastların mitojenik aktivitesi ve protein sentezini artırdığını ancak ALP sentezini azalttığını belirtmişlerdir. Başarlı ve ark.²³² ALP sentezinin kemik mineralizasyonu ile pozitif korelasyona sahip olduğunu ve elde ettikleri sonucun ALP sentezinin azalması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda PRF ve PRF+greft gruplarında elde edilen sonuçların da bu durumla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Greft grubu (% 38,75 \pm 1,84) ile greft+PRF (%35,75 \pm 4,36) grubu yeni kemik oluşumu açısından benzer değerlere sahiptirler ve bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Toplam sert doku yüzdesi değerleri greft grubunda %87,6 \pm 4,55 iken greft+PRF grubunda %72,35 \pm 3,89'dur. Greft grubu ile greft+PRF grubu arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,001). Bu iki durum PRF'nin sığır kaynaklı HA ile birlikte kullanımının yeni kemik oluşumu açısından ilave bir katkısının olmadığını göstermektedir. Zhang ve ark.²³³ yaptıkları klinik çalışmada uygulanan sinüs augmentasyonu işlemlerinde sadece ksenogreft kullanılması ile ksenogreft ile birlikte PRF kullanımının yeni kemik oluşumuna etkisini histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirmişlerdir. Sonuçlarına baktığımızda yeni kemik oluşumunu ksenogreft kullanılan grupta %12,95 ve PRF ile greftin karıştırıldığı grupta %18,35 olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuca göre sığır kaynaklı HA kemik grefti ile birlikte PRF kullanmanın yeni kemik oluşumu açısından herhangi bir avantaj veya

dezavantaj oluşturmadığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonucu itibariyle çalışmamızla benzerdir. Ancak literatürde farklı sonuçlar da yer almaktadır. Pripatnanont ve ark.²³⁴ PRF'nin tek başına veya otojen kemik ile kombine edildiğinde kemik oluşumu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ancak sığır kaynaklı HA ile birlikte bu etkinin gözlemlenmediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun oluşmasını yaşayan osteojenik hücrelerin yokluğunda PRF'nin doğrudan hiçbir etkisinin olmamasına bağlamışlardır. Peker ve ark.²⁴⁶ yaptıkları çalışmanın sonucunda sinüs tabanı augmentasyonu işleminde demineralize kemik matriksinin veya kollajenize heterojen kemik greftinin PRF ile kombine edilmesinin kemik oluşumu açısından hiçbir yararlı etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Çalışmada PRF'nin kemik iyileşmesine katkı sağlamamasını yukarıda bahsedilen teori ile benzer şekilde osteojenik ortamda canlı hücrelerin bulunmaması ile ilişkilendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda otojen kemik grefti kullanılmamıştır. Bu bağlamda çalışmamızın eksik tarafı otojen kemik grefti ile PRF karışımının etkinliğini oluşturduğumuz diğer gruplar ile karşılaştırılmamasıdır.

Diğer yandan literatürde bazı çalışmalarda çeşitli greft materyalleri ile PRF'nin kombine edilmesi durumunda kemik rejenerasyonu üzerinde oluşacak etki ile ilgili tartışmalı sonuçlar bulunmaktadır. Choukroun ve ark.¹³¹ sinüs tabanı yükseltilmesinde dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA) ile PRF karışımı kullanmışlar ve PRF'nin kemik rejenerasyonunu artırmadaki potansiyelini değerlendirmişlerdir. Dokuz sinüs tabanı yükseltmesi yapılmış ve bunlardan 6 tanesinde DKKA ile PRF karışımı kullanılırken (deney grubu) diğer 3 tanesinde sadece DKKA kullanılmıştır(kontrol grubu). İmplant yerleştirme işlemleri sırasında deney grubunda 4 ay sonra ve kontrol grubunda 8 ay sonra kemik biyopsileri alınmış ve histolojik analiz yapılmıştır. Histolojik değerlendirmeler yeni oluşan kemik ve bağ dokusu ile çevrelenmiş rezidüel kemik varlığını ortaya koymaktadır. Dört aylık iyileşme süresinden sonra test grubunun histolojik maturasyonu, 8 aylık bir periyodun ardından kontrol grubunun histolojik maturasyonunun benzer olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar daha büyük bir örneklem grubu ile bu sonuçların teyit edilmesi gerektiğini belirterek, sinüs tabanı yükseltilmesinde DKKA ile birlikte PRF kullanımının implant yerleştirilmesi için iyileşme zamanını kısalttığını belirtmişlerdir. Zhang ve ark.²³³ yaptıkları çalışma ile PRF'nin sığır kaynaklı HA kemik grefti ile karışımının sinüs tabanı yükseltilmesinde kemik

rejenerasyonuna etkisini araştırmışlardır. On hasta üzerinde 11 sinüs tabanı yükseltme işlemi yapılmıştır. Deney grubunda altı sinüs tabanı yükseltmesi işlemi PRF ve sığır kaynaklı HA kemik grefti karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol gurubunda ise beş sinüs tabanı yükseltme işlemi sadece sığır kaynaklı HA kemik grefti kullanılarak yapılmıştır. Sinüs tabanı yükseltme işleminden altı ay sonra posterior maksilladan kemik biyopsileri alınmış ve undekalsifiye kesitler hazırlanmıştır. Kemik özellikleri histolojik gözlem ve histomorfometrik analizlerle değerlendirilmiştir. Histolojik incelemede iki grup arasında morfolojik özelliklerin aynı olduğu görölmüştür. Yeni kemik oluşumu PRF grubunda kontrol grubuna göre 1,4 kat daha fazla bulunmuştur (%18,35±5,62'ye karşı %12,95±5,33). Rezidüel kemik grefti miktarı ise kontrol grubunda PRF grubuna göre 1,5 kat daha fazla bulunmuştur (%28,54±12,01'e karşı %19,16±6,89). Yeni oluşan kemik ile greft partiküllerinin temas uzunluğu PRF grubunda %21,45±14,57 iken kontrol grubunda %18,57±5,39'dur. Bu değerlendirilen parametrelerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Sonuç olarak sinüs tabanı yükseltmesi işleminde sığır kaynaklı HA ile birlikte PRF kullanmanın yeni kemik oluşumu açısından herhangi bir avantajının veya dezavantajının bulunmadığı belirtilmiştir. Yılmaz ve ark.²³⁹ üç erişkin domuzun çift taraflı tibialarında oluşturdukları kemik defektlerinde PRF ve beta trikalsiyum fosfatın (β -TCP) tek başına veya kombinasyon halinde etkisini araştırmışlardır. Her tibia üzerinde dört defekt oluşturulmuştur. Bu defektlerden birincisi kontrol grubu olarak boş bırakılmış, diğerleri sırasıyla PRF, β -TCP ve PRF + β -TCP karışımı ile doldurulmuştur. Tüm hayvanlar cerrahi sonrası 12. haftada sakrifiye edilmiştir. Elde edilen kesitler mikroskopik ve stereolojik olarak incelenmiştir. Histolojik ve stereolojik değerlendirme sonucunda yeni kemik oluşumu açısından PRF + β -TCP karışımı ile doldurulan grubun diğer gruplardan üstün olduğu bulunmuştur. Abdullah ve ark.²⁴⁷ yaptıkları çalışmada rat kalvaryumunda oluşturulan defektleri PRF ve PRF+ β -TCP karışımı ile doldurup mikro bilgisayarlı tomografi ile oluşan kemiğin hacmini ve mineral densitesini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda ilk iki haftada PRF+ β -TCP grubunun anlamlı şekilde PRF grubundan fazla olduğu ancak 3., 4. ve 6. haftalarda bu farkın gözlemlenmediği belirtilmiştir. Çalışmamızda 8 haftalık iyileşme süresi sonunda hayvanların sakrifikasyonu yapılmıştır. Bu sürenin de elde edilen sonuçlarda etkili

olduğunu belirtmek gereklidir. Bu tür çalışmalarda greft materyalinin farklı biyoaktif özelliklerine bağlı olarak çeşitli sonuçların elde edilmesi mümkündür^{131,234,227,238}.

PRF'nin tek başına kemik rejenerasyonunu artırması amacıyla kullanılabilceği literatürde bazı çalışmalarda belirtilmiştir. Tajima ve ark.²⁵⁰ implant yerleşimi ile birlikte maksiller sinüs tabanını yükseltmek için PRF'nin tek başına kullanılmasının sinüs tabanı yüksekliğini cerrahi öncesi 4.28 ± 1.00 mm'den cerrahi sonrası 11.8 ± 1.67 mm'ye arttırılması ile önemli bir kazanç sağladığını göstermişlerdir. Ancak Jeong ve ark.²³⁷ yaptıkları çalışma ile sinüs lift ile birlikte implant yerleştirilmesi sırasında PRF'nin tek başına kullanılmasının öngörülebilir ve tekrarlanabilir bir işlem olmadığını belirtmektedirler. Li ve ark.²⁵¹ alveolar kemiğin mineralizasyonunun sadece PRF kullanılarak arttırılabileceğini ve fibrinin osteojenik farklılaşma üzerinde değerli bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ancak yaptığımız çalışmanın sonuçlarına baktığımızda implant çevresi defekti tek başına PRF ile doldurmanın % $40,4 \pm 7,62$ oranında yeni kemik oluşumu sağladığını ve bu oranın kontrol grubundaki % $67,15 \pm 12,5$ 'lik orandan daha az olduğunu ve bu sonucun istatistiksel olarak da anlamlı olduğunu görmekteyiz. Elde edilen bu sonuç bize PRF'nin kemik rejenerasyonu amacıyla tek başına kullanılmasının önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Diğer yandan PRF'nin tek başına kullanılmasının istenilen konturu sağlamakta yetersiz olabileceği düşünülmektedir.

Yeni kemik oluşumu PRF+greft grubunda % $35,75 \pm 4,36$ 'lık değer ile en az bulunmuştur. Bu durum daha önce belirttiğimiz yeni kemik oluşumunu engelleyebilecek iki teorinin bir arada olmasına bağlı olabilir. Bu teorileri;

- PRF'nin dens fibrin yapısının hücre göçünü engellemesi
- PRF'nin içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinlerin birbirlerinin etkilerini farklı kombinasyonlarda durdurabilmesi veya inhibe edebilmesi
- PRF'nin yukarıda saydığımız iki olaydan dolayı yeni kemik oluşumu sürecinde etkisiz olması
- Sığır kaynaklı inorganik kemik greftlerinin geç rezorbe olabilmesine bağlı yerini yeni oluşan kemiğe bırakmasındaki sürenin uzun olması şeklinde belirtebiliriz.

Sığır kaynaklı ksenogreftler, osteokondüktif yapı iskeleti ve insan kemiğiyle karşılaştırılabilir bir mineral içeriği sağlayabilen kaynağı fazla olan ve kolay işleme nedeniyle yaygın olarak bir kemik grefti malzemesi olarak kullanılmaktadır.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu ile kombinasyonu mümkün olan ve en iyi dökümente edilen kemik greftlerinden bir tanesidir²⁵². Sığır kaynaklı mineralize kemik greftlerinin yavaş rezorpsiyon özelliği gösterdiği bilinmektedir^{253,254}. Muhtemelen yavaş rezorpsiyon özelliği greft materyalinin yeni oluşan kemiğe yerini bırakmasını zorlaştırmakta ve sürenin uzamasına neden olmaktadır. Greft kullanılan gruplarda yeni kemik oluşumunun miktarının kontrol grubuna göre daha az olması bu durum ile açıklanabilir.

Rezidüel greft miktarına baktığımızda greft grubunda % 48,85±4,08'lik ve greft+PRF grubunda % 36,6±1,98'lik bir oran görünmektedir. Bu haliyle greft grubundaki rezidüel greft miktarı daha fazla gibi görünmektedir ancak greft grubunda defektin tamamı greft ile doldurulurken greft+PRF grubunda defektin hacmi hesaplanıp ona göre enjektör ile bu hacmin yarısı kadar greft PRF ile karıştırılarak defektin doldurulması işlemi gerçekleştirilmiştir. Özetle greft grubunda %100 olan greft miktarı % 48'e düşerken, greft+PRF grubunda %50 olan greft miktarı %36'ya düşmüştür. Bu durum bize greft+PRF grubunda rezorpsiyonun daha az olduğunu göstermektedir.

Dental implantların osseointegrasyonu uzun dönem başarı ve stabilite için kritik öneme sahiptir. Mekanik sonuçlardan ve doku entegrasyonundan ödün vermeksizin osseointegrasyon için gereken zamanı hızlandırmak için çeşitli stratejiler kullanılmıştır.^{255,256} İmplant yüzey topoğrafisi KİK'in erken evresinde anahtar rol oynar ve implant çevresi kemik oluşumu kemiğin iyileşme kapasitesine bağlıdır^{256,257}. İmplantların yüzey özelliklerinin titanyum oksit tabakası üzerine veya içine inorganik fazların dahil edilmesi gibi kimyasal yöntemlerle modifikasyonu ve malzemelerin pürüzlülük düzeyini arttırarak fiziksel olarak arttırılması KİK'i başarıyla arttırmıştır²⁵⁷. Diğer bir strateji ise implant yerleşimi sonrası iyileşme cevabını modüle ederek osseointegrasyon süresini kısaltmaktır. Bu osteoblastik farklılaşmayı ve implant çevresi kemiğinin iyileşmesini arttırarak osteokondüktiviteyi indüklemek için implant yerleşimi sırasında biyolojik olarak aktif moleküller kullanılarak başarılabılır.^{257,258} Literatüre baktığımızda büyüme faktörlerinin, bone spesifik proteinlerin ve bone morfojenetik proteinlerin osteoprogenitör hücrelerin replikasyonunu, farklılaşmasını ve ara yüzlerdeki doku olgunlaşmasını uyararak daha iyi osseointegrasyonu sağlayabilecekleri belirtilmiştir²⁵⁷⁻²⁶². Hastanın kendi kanından elde edilen trombosit esaslı müstahzarlar, piyasada bulunan biyoaktif maddelere ucuz ve güvenli bir alternatif

sunmaktadır. Aktive trombositler, içerdikleri Kemik Morfogenetik Protein (BMP), Trombosit Türevli Büyüme Faktörü (PDGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF), Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Dönüşen Büyüme Faktörü B1 (TGF- β 1) ve Transforme Büyüme Faktörü- β 2 (TGF- β 2) gibi büyüme faktörü ve proteinler ile kemik iyileşmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir^{132,259-262}. Yaralı bölgeye farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin çekilmesinden ve anjiyogenezden, kemotaksisten ve hücre proliferasyonunun kolaylaştırılmasından sorumludurlar. Büyüme faktörleri aynı zamanda hücre dışı matris proteinlerinin sentezini ve bozunumunu kontrol eder, osteogenezi artırır ve potansiyel olarak peri-implant yara iyileşmesi ve osteoentegrasyonu hızlandırabileceği belirtilmiştir.^{132,213,262,263}

Çalışmamızda PRF'nin literatürde yukarıda bahsedilen şekilde KİK'e etkisinin olup olmadığı incelenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; greft grubu %80,15±12,26 ile en yüksek değere sahiptir. Bu değer diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol grubu %64,4±5,99 ve PRF+greft grubu %57,98±17,91 olarak bulunup aralarında anlamlı farklılık görülmemektedir. PRF grubu ise %29,25±8,67 ile en düşük değere sahip olup diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olduğu görülmektedir. Lee ve ark.²²² yaptığı çalışmada implant çevresindeki defektlerde sadece PRF kullanılan grupta KİK değerini %39,43 ve boş bırakılan kontrol grubunda ise %17,11 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar itibariyle arada istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Şimşek ve ark. yaptıkları çalışma sonucunda implant çevresi defekt alanına demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA) ve PRF'nin birlikte uygulamasında elde ettikleri KİK değeri %73,43 ve DDKKA'nin tek başına uygulandığı grupta ise KİK değerini %50,94 olarak bulmuşlardır. Öncü ve ark.²⁶⁴ tavşanlarda yaptıkları çalışmada implant yerleştirilmesi için 3mm genişliğinde ve 5 mm uzunluğunda kavite hazırlayıp bunların yarısı test grubu olarak içleri PRF ile doldurulup implantlar yerleştirilmiştir. Diğer yarısı kontrol grubu olarak normal implantasyon işlemi yapılmıştır. Dört hafta sonunda elde ettikleri sonuçlar deney grubunda %54,61 kontrol grubunda ise %26,44'dür. Bu haliyle çalışmamızda elde edilen sonuçlarla zıt sonuçlar elde edilen çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızdaki diğer bir bulgu gruplar arasındaki sert doku hacmi yüzdesinin sıralaması ile KİK yüzdesi değerlerinin sıralamaları birbirleriyle korelidir. Bu açıdan baktığımızda yeterli KİK değerine yeni kemik oluşumunun ve yeni oluşan veya eski kemik ile sıkı kontakta olan

ve zamanla yerini yeni oluşan kemiğe bırakacak olan rezidüel greft partiküllerinin etkisi vardır denebilir. Ancak PRF'nin KİK değerine ilave bir katkısının olmadığı çalışmamız sonucunda bulunmuştur.

Otojen kemik greftinin kullanıldığı grubun olmaması ve farklı iyileşme periyotlarında inceleme yapılmaması araştırmamızın limitasyonlarıdır.



6. SONUÇLAR

- PRF'nin tek başına implant çevresi defektin onarımında kullanılması ile yeni kemik oluşumunda ve implant osseoentegrasyonunda olumlu bir katkı gözlemlenmemiştir.

- PRF'nin sığır kaynaklı HA greft materyali ile birlikte implant çevresi defektin onarımında kullanılmasının yeni kemik oluşumu ve osseoentegrasyona ilave bir katkı oluşturmadığı görülmüştür.

- Sığır kaynaklı HA greft materyali kullanılarak onarılan implant çevresi defektlerde osseoentegrasyonun olumlu etkilendiği belirlenmiştir.

- Yeni kemik oluşumunun en fazla kontrol grubunda görülmesi ve bu değerlerin greft grubundan fazla olması implant etrafındaki defektlerde tek başına bariyer membran kullanımının etkili olduğunu göstermiştir.

- Çalışmamızda oluşturulan gruplara otojen kemik grefti grubu da eklenerek farklı kombinasyonlarda yeni kemik oluşumuna ve osseoentegrasyona katkıları incelenebilir.

- İleride yapılacak çalışmalarda farklı iyileşme sürelerinde elde edilecek sonuçlara ihtiyaç duyulmaktadır.

- PRF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili daha fazla sayıda araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Schroeder A, Pohler O, Sutter F. [Tissue reaction to an implant of a titanium hollow cylinder with a titanium surface spray layer]. *Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkd = Rev Mens suisse d'odonto-stomatologie*. 1976;86(7):713-727. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/822512>. Accessed November 29, 2016.
2. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intraosseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1969;3(2):81-100. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4924041>. Accessed November 29, 2016.
3. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*. 1977;16:1-132. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/356184>. Accessed November 29, 2016.
4. Lang NP, Brägger U, Hämmerle CH, Sutter F. Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration. I. Rationale, clinical procedures and 30-month results. *Clin Oral Implants Res*. 1994;5(3):154-163. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7827230>. Accessed November 29, 2016.
5. Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1989;4(1):19-25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2599578>. Accessed August 24, 2016.
6. Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials. A histological study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 1995;6(3):155-163. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7578791>. Accessed November 29, 2016.
7. Schliephake H, Dard M, Planck H, Hierlemann H, Jakob A. Guided bone regeneration around endosseous implants using a resorbable membrane vs a PTFE membrane. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(3):230-241. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11168214>. Accessed November 29, 2016.
8. Jung RE, Cochran DL, Domken O, et al. The effect of matrix bound parathyroid hormone on bone regeneration. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(3):319-325. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01342.x.
9. Ito K, Yamada Y, Naiki T, Ueda M. Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(5):579-586. doi:10.1111/j.1600-0501.2006.01246.x.
10. Al-Sulaimani AF, Mokeem SA, Anil S. Peri-implant defect augmentation with autogenous bone: a study in beagle dogs. *J Oral Implantol*. 2013;39(1):30-36. doi:10.1563/AAID-JOI-D-10-00132.
11. Peng W, Kim I-K, Cho H-Y, et al. The healing effect of platelet-rich plasma on xenograft in peri-implant bone defects in rabbits. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 2016;38(1):16. doi:10.1186/s40902-016-0061-5.
12. Ribeiro F V., Suaid FF, Ruiz KGS, et al. Effect of autologous bone marrow-derived cells associated with guided bone regeneration or not in the treatment of peri-implant defects. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41(1):121-127.

- doi:10.1016/j.ijom.2011.06.025.
13. Şimşek S, Özeç İ, Kürkçü M, Benlidayı E. Histomorphometric Evaluation of Bone Formation in Peri-Implant Defects Treated With Different Regeneration Techniques: An Experimental Study in a Rabbit Model. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016;74(9):1757-1764. doi:10.1016/j.joms.2016.05.026.
 14. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009;27(3):158-167. doi:10.1016/j.tibtech.2008.11.009.
 15. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(1):3-9. doi:10.11138/mltj/2014.4.1.0013.
 16. Sandor GKB, Lindholm TC, Clokie CML. Bone Regeneration of the Cranio-maxillofacial and Dento-alveolar Skeletons in the Framework of Tissue Engineering. *Top Tissue Eng.* 2003;7:1-46.
 17. Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 5th Edition.* Vol 18.; 2009. doi:10.1097/ID.0b013e3181a0d4bf.
 18. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus.* 2001;10(4):E1. doi:10.3171/foc.2001.10.4.2.
 19. Kakar S, Einhorn TA. *Biology and Enhancement of Skeletal Repair.* Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2008. doi:10.1016/B978-1-4160-2220-6.10002-7.
 20. Aykın Ş, Çakmak G, Cila E. Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. 2004:3-4.
 21. Sigurdsson TJ, Hardwick R, Bogle GC, Wikesjö UM. Periodontal repair in dogs: space provision by reinforced ePTFE membranes enhances bone and cementum regeneration in large supraalveolar defects. *J Periodontol.* 1994;65(4):350-356. doi:10.1902/jop.1994.65.4.350.
 22. Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, et al. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part II. *J Periodontol.* 1989;60(12):675-682. doi:10.1902/jop.1989.60.12.675.
 23. Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, et al. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol.* 1989;60(12):683-693. doi:10.1902/jop.1989.60.12.683.
 24. Görmez U. Dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde sığır kaynaklı laktoferrinin kemik rejenerasyonuna etkisi. Doktora Tezi. *TC Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilim Enstitüsü Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana.* 2008.
 25. Boyne PJ. Autogenous cancellous bone and marrow transplants. *Clin Orthop Relat Res.* 73:199-209. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4920990>. Accessed August 17, 2016.
 26. Kumar P, Vinitha B, Fathima G. Bone grafts in dentistry. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013;5(Suppl 1):S125-7. doi:10.4103/0975-7406.113312.
 27. Baldini N, Sanctis M De, Ferrari M. Deproteinized bovine bone in periodontal and implant surgery. *Dent Mater.* 2010;27(1):61-70. doi:10.1016/j.dental.2010.10.017.
 28. Tuskan C, Yalçırık M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan

- Biyomateryaller. *İÜ Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul*. 2002:19-26.
29. Sándor GK, Kainulainen V, Oikarinen KS. Intraoral bone harvesting in oral and maxillofacial surgery . 2002;(January).
 30. Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *Cumhur Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Derg*. 1999.
 31. Lebow R, Stevenson CB. *Bone Graft Options , Bone Graft Substitutes , and Bone Harvest Techniques*. Sixth Edit. Elsevier Inc.; 2016. doi:10.1016/B978-1-4160-5316-3.00295-1.
 32. Freilich MM, Sandor GKB. Ambulatory in-office anterior iliac crest bone harvesting. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):291-298.
 33. Freilich MM, Sándor GK. In-office iliac crest bone harvesting for peri-implant jaw reconstruction. *J Can Dent Assoc*. 2006;72(6):543-547.
 34. Alfaro FH. Bone Grafting in Oral Implantology: Techniques and Clinical Applications. *Quintessence Publ Co*. 2006.
 35. Seitz IA, Teven CM, Reid RR. *21 - Repair and Grafting of Bone*. Third Edit. Elsevier Inc.; 2016. doi:10.1016/B978-1-4377-1733-4.00121-X.
 36. Denissen HW, de Groot K, Makkes PC, van den Hooff A, Klopper PJ. Tissue response to dense apatite implants in rats. *J Biomed Mater Res*. 1980;14(6):713-721. doi:10.1002/jbm.820140603.
 37. Benlidayi ME, Tatli U, Kurkcü M, Uzel A, Oztunc H. Comparison of bovine-derived hydroxyapatite and autogenous bone for secondary alveolar bone grafting in patients with alveolar clefts. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70(1):e95-e102. doi:10.1016/j.joms.2011.08.041.
 38. Wu J, Li B, Histological XL. Histological outcomes of sinus augmentation for dental implants with calcium phosphate or deproteinized bovine bone : a systematic review and meta-analysis. 2016;(April):1-7. doi:10.1016/j.ijom.2016.04.020.
 39. Kirsch A, Ackermann K, Hürzeler M, Hutmacher D. Sinus grafting with porous hydroxyapatite. *Jensen OT Ed Sinus Bone Graft, London Quintessence Publ Co*. 1999:79-94.
 40. Hämmerle C., Olah A., Schmid J. The biological effect of natural bone mineral on bone neoformation on the rabbit skull. *Clin Oral Implant Res*. 1997;8:198.
 41. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. *Clin Oral Implant Res*. 1997;8:117.
 42. Benlidayi ME, Kürkcü M, Oz I.A. Comparison of two different forms of bovine-derived hydroxyapatite in sinus augmentation and simultaneous implant placement: An experimental study. *Int J Oral Maxillofac Implant*. 2009;24(24):704.
 43. Peetz M. Characterization of xenogenic bone material. In: Boyne PJ, Evensen L. Eds. Osseous reconstruction of the maxilla and the mandible: surgical techniques using titanium mesh and bone mineral, Carol Stream. *Quintessence Publ*. 1997:87–100.
 44. Misch C, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent*. 1993;2:158-167.
 45. Turner C, Forwood M, Rho J, Yoshikawa T. Mechanical loading thresholds for lamellar and woven bone formation. *J Bone Min Res*. 1994;9:87-97.

46. Forwood M, Turner C. Response of rat tibiae to incremental loading: A quantum concept for bone formation. *Bone*. 1994;15:603-609.
47. Albrektsson T. Repair of bone grafts. A vital microscopic and histological investigation. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1980;14:1-12.
48. Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials*. 2001;22(12):1599-1606. doi:10.1016/S0142-9612(00)00312-4.
49. Tapety FI, Amizuka N, Uoshima K, Nomura S, Maeda TA. histological evaluation of the involvement of Bio-Oss in osteoblastic differentiation and matrix synthesis. *Clin Oral Implant Res*. 2014;15:315-324.
50. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro C, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using an organic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implant Res*. 2003;14:369-372.
51. Schlegel A, Donath K. BIO-OSS—a resorbable bone substitute? *J Long Term Eff Med Implant*. 1998;8(3-4):201-209.
52. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, et al. No Title. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(3):357-368.
53. Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials. A histological study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 1995;6(3):155-163. doi:10.1034/j.1600-0501.1995.060304.x.
54. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg*. 1992;50(3):241-249. doi:10.1016/0278-2391(92)90320-Y.
55. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(3):369-372. doi:10.1034/j.1600-0501.2003.140316.x.
56. Skoglund A, Hising P, Young C. A Clinical and Histologic Examination in Humans of the Osseous Response to Implanted Natural Bone Mineral. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(2):1-12.
57. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-OssR in combination with venous blood . A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(3):217-229. doi:10.1034/j.1600-0501.2000.011003217.x.
58. Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-OssR. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(2):137-143. doi:10.1034/j.1600-0501.2003.140201.x.
59. Norton MR, Odell EW, Thompson ID, Cook RJ. Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(6):775-783. doi:10.1046/j.0905-7161.2003.00952.x.
60. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol*. 2000;71(6):1015-1023.
61. Simon S. Entre les langues: Between de Christine Brooke-Rose. 1996;9(1):55-70.

- doi:10.7202/037238ar.
62. Hämmerle CHF, Olah AJ, Schmid OJ, et al. The biological effect of natural bone mineral on bone neoformation on the rabbit skull. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(3):198-207. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0031152206&partnerID=tZOtx3y1>.
 63. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-OssR. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):117-124. doi:10.1034/j.1600-0501.1997.080206.x.
 64. Zitzmann NU, Schärer P, Marinello CP, Schübach P, Berglundh T. Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans. *Int J Periodontics Restor Dent.* 2001;21(3):288-295.
 65. Schmid J, Hämmerle CHF, Flückiger L, et al. Blood-filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration: A comparative experimental study in the rabbit using bioresorbable membranes. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):75-81. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0031108104&partnerID=tZOtx3y1>.
 66. Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, et al. Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(5):535-547. doi:911 [pii].
 67. Abushahba F, Renvert S, Polyzois I, Claffey N. Effect of grafting materials on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(4):329-334. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01455.x.
 68. Becker W. Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *Periodontol 2000.* 2003;33:26-35. doi:10.1046/j.0906-6713.2003.03303.x.
 69. Polyzois I, Renvert S, Bosshardt DD, Lang NP, Claffey N. Effect of Bio-Oss?? on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects of different dimensions: An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(3):304-310. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01207.x.
 70. Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CHF. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants: A study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1999;10(6):487-498. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0033254567&partnerID=tZOtx3y1>.
 71. Hämmerle CHF, Lang NP. Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(1):9-18. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0035256341&partnerID=tZOtx3y1>.
 72. Hämmerle CHF, Jung RE, Yaman D, Lang NP. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(1):19-25. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01407.x.
 73. Mardas N, Chadha V, Donos N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(7):688-698. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.01918.x.

74. Askary AE. Reconstructive Aesthetic Implant Surgery. Wiley. 2003.
75. Garg ADMDA. Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. *Quintessence Publ Co.* 2004.
76. Yukna A. bone substitutes. *Periodontol 2000.* 1999;19(69):74-86.
77. Proussaefs P, Lozada J, Valencia G, Rohrer MD. Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: A clinical report. *J Prosthet Dent.* 2002;87(5):481-484. doi:10.1067/mpr.2002.122961.
78. Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb??) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35(8):708-713. doi:10.1016/j.ijom.2006.03.017.
79. Baino F, Fiorilli S, Vitale-Brovarone C. Bioactive glass-based materials with hierarchical porosity for medical applications: review of recent advances. *Acta Biomater.* 2016. doi:10.1016/j.actbio.2016.06.033.
80. He F, Zhang J, Tian X, Wu S, Chen X. A facile magnesium-containing calcium carbonate biomaterial as potential bone graft. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015;136:845-852. doi:10.1016/j.colsurfb.2015.10.027.
81. Anab C, Tez RME, Metin H, Dan B. Çene ler ve yüz bölgesinde kullanılan greft materyalleri. 2013.
82. Turunen T, Peltola J, Helenius H, Yli-urpo A, Happonen R-P. Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):96-102. doi:10.1034/j.1600-0501.1997.080204.x.
83. Hartigan BJ, Cohen MS. *Use of Bone Graft Substitutes and Bioactive Materials in Treatment of Distal Radius Fractures.* Vol 21. Elsevier Inc.; 2005. doi:10.1016/j.hcl.2005.02.006.
84. Garg, AK DMDA. Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. *Quintessence Publ Co.* 2004.
85. Parikh S. Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med.* 2002;48(2):142-148.
86. Smiler DG. Bone grafting: materials and modes of action. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1996;8(4):413-416. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028302>. Accessed August 22, 2016.
87. Lindhe J, Branemark P-I. Observations on vascular proliferation in a granulation tissue. *J Periodontal Res.* 1970;5(4):276-292. doi:10.1111/j.1600-0765.1970.tb00729.x.
88. Kawamura M, Urist MR. Induction of callus formation by implants of bone morphogenetic protein and associated bone matrix noncollagenous proteins. *Clin Orthop Relat Res.* 1988;(236):240-248. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3180578>. Accessed August 22, 2016.
89. Phillips GD, Whitehead RA, Knighton DR. Initiation and pattern of angiogenesis in wound healing in the rat. *Am J Anat.* 1991;192(3):257-262. doi:10.1002/aja.1001920305.
90. Brånemark PI. Capillary form and function. The microcirculation of granulation tissue. *Bibl Anat.* 1965;7:9-28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5860804>. Accessed August 22, 2016.
91. Bruce RA, Dziewiatkowski DD. Differentiation of the organic matrix in bone repair. *J Oral Maxillofac Surg.* 1987;45(11):939-944.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3478442>. Accessed August 22, 2016.
92. Bergmann JE, Kupfer a, Singer SJ. Membrane insertion at the leading edge of motile fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983;80(5):1367-1371. doi:10.1073/pnas.80.5.1367.
 93. Lekholm U, Adell R, Lindhe J, et al. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures. (II) A cross-sectional retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1986;15(1):53-61. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3083006>. Accessed August 24, 2016.
 94. Klokkevold PR. CHAPTER 76 Site Development. In: *Carranza's Clinical Periodontology Expert Consult*. Twelfth Ed. Elsevier Inc.; 2016:739-749.e2. doi:10.1016/B978-0-323-18824-1.00076-0.
 95. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81(5):672-676. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3362985>. Accessed August 24, 2016.
 96. Becker W, Becker BE, Handlesman M, et al. Bone formation at dehiscenced dental implant sites treated with implant augmentation material: a pilot study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1990;10(2):92-101. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2084059>. Accessed August 24, 2016.
 97. Becker W, Becker BE. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: surgical techniques and case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1990;10(5):376-391. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2098360>. Accessed August 24, 2016.
 98. Gher ME, Quintero G, Assad D, Monaco E, Richardson AC. Bone grafting and guided bone regeneration for immediate dental implants in humans. *J Periodontol*. 1994;65(9):881-891. doi:10.1902/jop.1994.65.9.881.
 99. Wang H-L, Boyapati L. "PASS" principles for predictable bone regeneration. *Implant Dent*. 2006;15(1):8-17. doi:10.1097/01.id.0000204762.39826.0f.
 100. Mittal Y, Jindal G, Garg S. Bone manipulation procedures in dental implants. *Indian J Dent*. 7(2):86-94. doi:10.4103/0975-962X.184650.
 101. Javed A, Chen H, Ghori FY. Genetic and transcriptional control of bone formation. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2010;22(3):283-93, v. doi:10.1016/j.coms.2010.05.001.
 102. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 9(1):13-29. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8150509>. Accessed August 24, 2016.
 103. Dahlin C, Buser D, Schenk R. Guided bone regeneration in implant dentistry. *Quintessence Publ*. 1994.
 104. Buser D, Dula K, Belser UC, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. Surgical procedure in the mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1995;15(1):10-29. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7591520>. Accessed September 28, 2016.
 105. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1990;24(1):13-19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2389116>. Accessed September 28, 2016.
 106. Buser D, Ruskin J, Higginbottom F, Hardwick R, Dahlin C, Schenk RK. Osseointegration of titanium implants in bone regenerated in membrane-

- protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 10(6):666-681. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8530169>. Accessed September 28, 2016.
107. Murphy KG. Postoperative healing complications associated with Gore-Tex Periodontal Material. Part II. Effect of complications on regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1995;15(6):548-561. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9601253>. Accessed September 28, 2016.
 108. Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis. *J Periodontol*. 2001;72(4):512-516. doi:10.1902/jop.2001.72.4.512.
 109. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *J Periodontol*. 2001;72(2):215-229. doi:10.1902/jop.2001.72.2.215.
 110. Lang NP, Hämmerle CH, Brägger U, Lehmann B, Nyman SR. Guided tissue regeneration in jawbone defects prior to implant placement. *Clin Oral Implants Res*. 1994;5(2):92-97. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7918914>. Accessed September 29, 2016.
 111. Wang HL, Carroll WJ. Using absorbable collagen membranes for guided tissue regeneration, guided bone regeneration, and to treat gingival recession. *Compend Contin Educ Dent*. 2000;21(5):399-402, 404, 406 passim; quiz 414. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11199674>. Accessed September 29, 2016.
 112. Zellin G, Gritli-linde A, Linde A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. *Biomaterials*. 1995;16(8):601-609. doi:10.1016/0142-9612(95)93857-A.
 113. Friedmann A, Strietzel FP, Marezki B, Pitaru S, Bernimoulin J-P. Histological assessment of augmented jaw bone utilizing a new collagen barrier membrane compared to a standard barrier membrane to protect a granular bone substitute material. A randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(6):587-594. doi:10.1034/j.1600-0501.2002.130603.x.
 114. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J*. 2014;8:56-65. doi:10.2174/1874210601408010056.
 115. Piattelli A, Scarano A, Coraggio F, Matarasso S. Early tissue reactions to polylactic acid resorbable membranes: a histological and histochemical study in rabbit. *Biomaterials*. 1998;19(10):889-896. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9690830>. Accessed September 28, 2016.
 116. von Arx T, Broggin N, Jensen SS, Bornstein MM, Schenk RK, Buser D. Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 20(6):843-853. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16392340>. Accessed September 28, 2016.
 117. Simion M, Maglione M, Iamoni F, Scarano A, Piattelli A, Salvato A. Bacterial penetration through Resolut resorbable membrane in vitro. An histological and scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res*. 1997;8(1):23-31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9586453>. Accessed September 28, 2016.
 118. Wang HL, Carroll MJ. Guided bone regeneration using bone grafts and collagen membranes. *Quintessence Int*. 32(7):504-515. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11495562>. Accessed September 29, 2016.
 119. Locci P, Calvitti M, Belcastro S, et al. Phenotype expression of gingival fibroblasts cultured on membranes used in guided tissue regeneration. *J*

- Periodontol.* 1997;68(9):857-863. doi:10.1902/jop.1997.68.9.857.
120. Postlethwaite AE, Seyer JM, Kang AH. Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75(2):871-875. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=411359&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed September 29, 2016.
 121. Schlegel AK, Möhler H, Busch F, Mehl A. Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide). *Biomaterials.* 1997;18(7):535-538. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9105592>. Accessed September 29, 2016.
 122. Rothamel D, Schwarz F, Sculean A, Hertzen M, Scherbaum W, Becker J. Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(4):443-449. doi:10.1111/j.1600-0501.2004.01039.x.
 123. Pitaru S, Tal H, Seldinger M, Noff M. Collagen membranes prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs. *J Periodontal Res.* 1989;24(4):247-253. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2528624>. Accessed September 29, 2016.
 124. Miller N, Penaud J, Foliguet B, Membre H, Ambrosini P, Plombas M. Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J Clin Periodontol.* 1996;23(12):1051-1059. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8997647>. Accessed September 29, 2016.
 125. Owens KW, Yukna RA. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent.* 2001;10(1):49-58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11307648>. Accessed September 29, 2016.
 126. Matras H. Die Wirkungen verschiedener Fibrinpräparate auf Kontinuitätsstörungen der Rattenhaut. *Osterr Z Stomatol.* 1970;67:338-359.
 127. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1294-1299. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9371122>. Accessed September 29, 2016.
 128. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(6):638-646. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9638695>. Accessed September 30, 2016.
 129. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e37-44. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.008.
 130. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: Le PRF. January 2001. <https://www.scienceopen.com/document?vid=a1a5f6be-e645-4718-8e53-dbb6870c25e0>. Accessed October 3, 2016.
 131. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2006;101(3):299-303. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.012.
 132. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-

- generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):e56-e60. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.011.
133. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):e37-e44. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.008.
 134. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):e45-e50. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.009.
 135. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):e51-e55. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.010.
 136. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2008;105(5):572-579. doi:10.1016/j.tripleo.2007.08.021.
 137. Choukroun JI, Braccini F, Diss A, Giordano G, Doglioli P, Dohan DM. [Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial lipostructure (Coleman's technique) and tympanoplasty?]. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*. 2007;128(1-2):27-32. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17633661>. Accessed October 4, 2016.
 138. Braccini F, Dohan DM. [The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): preliminary results]. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*. 2007;128(4):255-260. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18320933>. Accessed October 4, 2016.
 139. Balci H, Toker H. TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN: ÖZELLİKLERİ VE DİŞ HEKİMLİĞİNDE KULLANIMI. *GÜ Diş Hek Fak Derg*. 2012;29(3):183-192.
 140. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:355-367. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11460492>. Accessed October 20, 2016.
 141. Kobayashi Y, Saita Y, Nishio H, et al. Leukocyte concentration and composition in platelet-rich plasma (PRP) influences the growth factor and protease concentrations. *J Orthop Sci*. 2016;21(5):683-689. doi:10.1016/j.jos.2016.07.009.
 142. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*. 2009;27(1):63-69. doi:10.1080/08977190802636713.
 143. Schmoekel H, Schense JC, Weber FE, et al. Bone healing in the rat and dog with nonglycosylated BMP-2 demonstrating low solubility in fibrin matrices. *J Orthop Res*. 2004;22(2):376-381. doi:10.1016/S0736-0266(03)00188-8.
 144. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med*. 1994;331(19):1286-1292. doi:10.1056/NEJM199411103311907.
 145. Rosenkranz S, Kazlauskas A. Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor alpha and beta subtypes.

- Growth Factors*. 1999;16(3):201-216. doi:10.3109/08977199909002130.
146. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, et al. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials*. 2003;24(18):3095-3100. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12895582>. Accessed October 20, 2016.
 147. Butt AJ, Firth SM, Baxter RC. The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol*. 1999;77(3):256-262. doi:10.1046/j.1440-1711.1999.00822.x.
 148. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su C-H, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(1):56-61. doi:10.1016/j.tripleo.2009.02.004.
 149. Thomas KA. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *J Biol Chem*. 1996;271(2):603-606. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8557658>. Accessed October 23, 2016.
 150. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials*. 2007;28(31):4551-4560. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.06.037.
 151. Everts PAM, van Zundert A, Schönberger JPAM, Devilee RJJ, Knape JTA. What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A*. 2008;85(4):1135-1136. doi:10.1002/jbm.a.31570.
 152. Moojen DJF, Everts PAM, Schure R-M, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res*. 2008;26(3):404-410. doi:10.1002/jor.20519.
 153. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol*. 2007;78(4):661-669. doi:10.1902/jop.2007.060302.
 154. Cieslik-Bielecka A, Gazdzik TS, Bielecki TM, Cieslik T. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103(3):303-5-6. doi:10.1016/j.tripleo.2006.08.034.
 155. Werther K, Christensen IJ, Nielsen HJ. Determination of vascular endothelial growth factor (VEGF) in circulating blood: significance of VEGF in various leucocytes and platelets. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002;62(5):343-350. doi:10.1080/00365510260296492.
 156. Bayindir O. Sitokinlerin işlevleri ve sınıflandırılması. 1997.
 157. Tiggelman AM, Boers W, Linthorst C, Sala M, Chamuleau RA. Collagen synthesis by human liver (myo)fibroblasts in culture: evidence for a regulatory role of IL-1 beta, IL-4, TGF beta and IFN gamma. *J Hepatol*. 1995;23(3):307-317. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8550995>. Accessed October 23, 2016.
 158. Hayashi Y, Kobayashi M, Kuwata H, et al. Interferon-gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1beta-induced delayed prostaglandin E(2)generation through suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine*. 2000;12(6):603-612. doi:10.1006/cyto.1999.0622.
 159. Zachary I. VEGF signalling: integration and multi-tasking in endothelial cell biology. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:1171-1177.
 160. Harry LE, Paleolog EM. From the cradle to the clinic: VEGF in developmental, physiological, and pathological angiogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2003;69(4):363-374. doi:10.1002/bdrc.10024.
 161. Ruhrberg C. Growing and shaping the vascular tree: multiple roles for VEGF.

- Bioessays*. 2003;25(11):1052-1060. doi:10.1002/bies.10351.
162. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest*. 1987;57(6):673-686. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2447383>. Accessed October 23, 2016.
 163. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:426-437. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11460496>. Accessed October 23, 2016.
 164. Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of α v β 3 mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol*. 1999;113(6):913-919. doi:10.1046/j.1523-1747.1999.00786.x.
 165. Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, Laurent GJ. A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J Cell Sci*. 1993;104 (Pt 2):409-413. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8505369>. Accessed October 23, 2016.
 166. Badiavas E V, Abedi M, Butmarc J, Falanga V, Quesenberry P. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol*. 2003;196(2):245-250. doi:10.1002/jcp.10260.
 167. Bensaïd W, Triffitt JT, Blanchat C, Oudina K, Sedel L, Petite H. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials*. 2003;24(14):2497-2502. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12695076>. Accessed October 23, 2016.
 168. Boo JS, Yamada Y, Okazaki Y, et al. Tissue-engineered bone using mesenchymal stem cells and a biodegradable scaffold. *J Craniofac Surg*. 2002;13(2):231-9-3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12000879>. Accessed October 23, 2016.
 169. Yamada Y, Boo JS, Ozawa R, et al. Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *J Craniomaxillofac Surg*. 2003;31(1):27-33. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12553923>. Accessed October 23, 2016.
 170. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol*. 1982;11(4):318-326. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6809919>. Accessed October 31, 2016.
 171. Schulte W, Heimke G. [The Tübinger immediate implant]. *Quintessenz*. 1976;27(6):17-23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/802007>. Accessed November 1, 2016.
 172. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986;(205):299-308. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3084153>. Accessed November 2, 2016.
 173. Hammerle CHF, Jung RE, Feloutzis A. A systematic review of the survival of implants in bone sites augmented with barrier membranes (guided bone regeneration) in partially edentulous patients. *J Clin Periodontol*. 2002;29(s3):226-231. doi:10.1034/j.1600-051X.29.s3.14.x.
 174. Botticelli D, Berglundh T, Buser D, Lindhe J. The jumping distance revisited. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(1):35-42. doi:10.1034/j.1600-0501.2003.140105.x.

175. Covani U, Cornelini R, Barone A. Bucco-lingual bone remodeling around implants placed into immediate extraction sockets: a case series. *J Periodontol.* 2003;74(2):268-273. doi:10.1902/jop.2003.74.2.268.
176. Jung U-W, Kim C-S, Choi S-H, Cho K-S, Inoue T, Kim C-K. Healing of surgically created circumferential gap around non-submerged-type implants in dogs: a histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(2):171-178. doi:10.1111/j.1600-0501.2006.01310.x.
177. Cornelini R, Cangini F, Martuscelli G, Wennström J. Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membranes to support healing following immediate placement of transmucosal implants: a short-term controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2004;24(6):555-563. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15626318>. Accessed November 2, 2016.
178. Chen ST, Darby IB, Reynolds EC. A prospective clinical study of non-submerged immediate implants: clinical outcomes and esthetic results. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(5):552-562. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01388.x.
179. Polyzois I, Renvert S, Bosshardt DD, Lang NP, Claffey N. Effect of Bio-Oss on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects of different dimensions: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(3):304-310. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01207.x.
180. Chen ST, Buser D. Clinical and esthetic outcomes of implants placed in postextraction sites. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24 Suppl:186-217. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19885446>. Accessed November 2, 2016.
181. Choo T, Marino V, Bartold PM. Effect of PDGF-BB and beta-tricalcium phosphate (??-TCP) on bone formation around dental implants: A pilot study in sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(2):158-166. doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02345.x.
182. Veis AA, Papadimitriou S, Trisi P, Tsirlis AT, Parissis NA, Kenealy JN. Osseointegration of Osseotite and machined-surfaced titanium implants in membrane-covered critical-sized defects: a histologic and histometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(2):153-160. doi:10.1111/j.1600-0501.2006.01316.x.
183. Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. The influence of a biomaterial on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(3):285-292. doi:10.1046/j.1600-0501.2003.01008.x.
184. Bölükbaşı N, Yenyol S, Tekkesin MS, Altunatmaz K. The Use of Platelet-Rich Fibrin in Combination With Biphasic Calcium Phosphate in the Treatment of Bone Defects: A Histologic and Histomorphometric Study. *Curr Ther Res - Clin Exp.* 2013;75:15-21. doi:10.1016/j.curtheres.2013.05.002.
185. Ravaglioli A, Krajewski A, Celotti GC, et al. Mineral evolution of bone. *Biomaterials.* 1996;17(6):617-622. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8652780>. Accessed December 6, 2016.
186. Anderson ML, Dhert WJ, de Bruijn JD, et al. Critical size defect in the goat's os ilium. A model to evaluate bone grafts and substitutes. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;(364):231-239. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10416414>. Accessed December 6, 2016.
187. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone.*

- 1995;16(4 Suppl):277S-284S. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7626315>. Accessed December 6, 2016.
188. Eitel F, Klapp F, Jacobson W, Schweiberer L. Bone regeneration in animals and in man. A contribution to understanding the relative value of animal experiments to human pathophysiology. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1981;99(1):59-64. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7316703>. Accessed December 6, 2016.
 189. Pobloth A-M, Johnson KA, Schell H, et al. Establishment of a preclinical ovine screening model for the investigation of bone tissue engineering strategies in cancellous and cortical bone defects. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17:111. doi:10.1186/s12891-016-0964-4.
 190. Scarano A, Lorusso F, Ravera L, Mortellaro C, Piattelli A. Bone Regeneration in Iliac Crestal Defects: An Experimental Study on Sheep. *Biomed Res Int.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/4086870.
 191. Dahlin C, Lekholm U, Linde A. Membrane-induced bone augmentation at titanium implants. A report on ten fixtures followed from 1 to 3 years after loading. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1991;11(4):273-281. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1810890>. Accessed November 16, 2016.
 192. Kohal RJ, Mellas P, Hürzeler MB, Trejo PM, Morrison E, Caffesse RG. The effects of guided bone regeneration and grafting on implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *J Periodontol.* 1998;69(8):927-937. doi:10.1902/jop.1998.69.8.927.
 193. Naenni N, Schneider D, Jung RE, Hüsler J, Hämmerle CHF, Thoma DS. Randomized clinical study assessing two membranes for guided bone regeneration of peri-implant bone defects: clinical and histological outcomes at 6 months. *Clin Oral Implants Res.* 2016;1-9. doi:10.1111/clr.12977.
 194. Durmuşlar MC, Balli U, Dede FÖ, et al. Histological Evaluation of the Effect of Concentrated Growth Factor on Bone Healing. *J Craniofac Surg.* 2016;27(6):1494-1497. doi:10.1097/SCS.0000000000002873.
 195. dos Santos PL, de Molon RS, Queiroz TP, et al. Evaluation of bone substitutes for treatment of peri-implant bone defects: Biomechanical, histological, and immunohistochemical analyses in the rabbit tibia. *J Periodontal Implant Sci.* 2016;46(3):176-196. doi:10.5051/jpis.2016.46.3.176.
 196. Batas L, Stavropoulos A, Papadimitriou S, Nyengaard JR, Konstantinidis A. Evaluation of autogenous PRGF+ β -TCP with or without a collagen membrane on bone formation and implant osseointegration in large size bone defects. A preclinical *in vivo* study. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(8):981-987. doi:10.1111/clr.12742.
 197. Aloy-Prosper A, Penarrocha-Oltra D, Penarrocha-Diago M, Penarrocha-Diago M. Dental implants with versus without peri-implant bone defects treated with guided bone regeneration. *J Clin Exp Dent.* 2015;7(3):e361-8. doi:10.4317/jced.52292.
 198. Hao P-J, Wang Z-G, Xu Q-C, et al. Effect of umbilical cord mesenchymal stem cell in peri-implant bone defect after immediate implant: an experiment study in beagle dogs. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(11):4131-4138. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4276181&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
 199. Beumer J, Curtis T, Firteli D. *Maxillofacial Rehabilitation.* The CV Mos; 1979.
 200. Blay A, Tunchel S, Sendyk WR. Viability of autogenous bone grafts obtained by

- using bone collectors: histological and microbiological study. *Pesqui Odontol Bras.* 17(3):234-240. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14762501>. Accessed November 2, 2016.
201. Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington H V. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 21(5):696-710. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17066630>. Accessed November 2, 2016.
 202. Etcheson AW, Miley DD, Gillespie MJ. Osseous coagulum collected in bone traps: potential for bacterial contamination and methods for decontamination. *J Oral Implantol.* 2007;33(3):109-115. doi:10.1563/1548-1336(2007)33[109:OCCIBT]2.0.CO;2.
 203. Graziani F, Cei S, Ivanovski S, La Ferla F, Gabriele M. A systematic review of the effectiveness of bone collectors. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 22(5):729-735. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17974106>. Accessed November 2, 2016.
 204. Tezulas E, Dilek OC. Decontamination of autogenous bone grafts collected from dental implant sites via osteotomy: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(5):679-684. doi:10.1016/j.tripleo.2008.05.041.
 205. Fukuta K, Har-Shai Y, Collares M V, Lichten JB, Jackson IT. Comparison of inorganic bovine bone mineral particles with porous hydroxyapatite granules and cranial bone dust in the reconstruction of full-thickness skull defect. *J Craniofac Surg.* 1992;3(1):25-29. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1391244>. Accessed April 10, 2017.
 206. Isaksson S. Aspects of bone healing and bone substitute incorporation. An experimental study in rabbit skull bone defects. *Swed Dent J Suppl.* 1992;84:1-46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1334579>. Accessed April 10, 2017.
 207. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992;50(3):241-249. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1311759>. Accessed April 10, 2017.
 208. Araújo M, Linder E, Wennström J, Lindhe J. The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008;28(2):123-135. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18546808>. Accessed April 10, 2017.
 209. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):117-124. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9758962>. Accessed April 10, 2017.
 210. Tapety FI, Amizuka N, Uoshima K, Nomura S, Maeda T. A histological evaluation of the involvement of Bio-Oss in osteoblastic differentiation and matrix synthesis. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(3):315-324. doi:10.1111/j.1600-0501.2004.01012.x.
 211. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11(3):217-229. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11168213>. Accessed April 17, 2017.

212. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):117-124.
213. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, et al. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13(7):1145-1152. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21740377>. Accessed October 10, 2016.
214. Zumstein MA, Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. The Future of Platelet Concentrates in Sports Medicine: Platelet-Rich Plasma, Platelet-Rich Fibrin, and the Impact of Scaffolds and Cells on the Long-term Delivery of Growth Factors. *Oper Tech Sports Med.* 2011;19(3):190-197. doi:10.1053/j.otsm.2011.01.001.
215. Clausen C, Hermund NU, Donatsky O, Nielsen H, Osther K. Homologous activated platelets stimulate differentiation and proliferation of primary human bone cells. *Cells Tissues Organs.* 2006;184(2):68-75. doi:10.1159/000098948.
216. 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.* 2005;63(3):362-369. doi:10.1016/j.joms.2004.07.016.
217. El Backly RM, Zaky SH, Canciani B, et al. Platelet rich plasma enhances osteoconductive properties of a hydroxyapatite- β -tricalcium phosphate scaffold (Skelite) for late healing of critical size rabbit calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(5):e70-9. doi:10.1016/j.jcms.2013.06.012.
218. Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(2):187-193. doi:10.1111/j.1600-0501.2004.00980.x.
219. Gerard D, Carlson ER, Gotcher JE, Jacobs M. Effects of platelet-rich plasma on the healing of autologous bone grafted mandibular defects in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2006;64(3):443-451. doi:10.1016/j.joms.2005.11.016.
220. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. The opportunity in perio-implantology: The PRF. January 2001. <https://www.scienceopen.com/document?vid=38d30c61-808c-4355-bda4-1eb440085011>. Accessed November 16, 2016.
221. Zumstein MA, Berger S, Schober M, et al. Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13(7):1196-1206. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21740372>. Accessed November 16, 2016.
222. Lee JW, Kim SG, Kim JY, et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(4):459-463. doi:10.1016/j.tripleo.2011.03.043.
223. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol.* 2009;80(12):2056-2064. doi:10.1902/jop.2009.090252.
224. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D. Osteotome-mediated sinus floor elevation

- using only platelet-rich fibrin: an early report on 110 patients. *Implant Dent.* 2010;19(5):447-456. doi:10.1097/ID.0b013e3181f57288.
225. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent.* 2011;20(1):2-12. doi:10.1097/ID.0b013e3181faa8af.
 226. Ozdemir H, Ezirganli S, Isa Kara M, Mihmanli A, Baris E. Effects of platelet rich fibrin alone used with rigid titanium barrier. *Arch Oral Biol.* 2013;58(5):537-544. doi:10.1016/j.archoralbio.2012.09.018.
 227. Lekovic V, Milinkovic I, Aleksic Z, et al. Platelet-rich fibrin and bovine porous bone mineral vs. platelet-rich fibrin in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Periodontal Res.* 2012;47(4):409-417. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01446.x.
 228. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Med Sci.* 2012;9(10):872-880. doi:10.7150/ijms.5119.
 229. Jang E-S, Park J-W, Kweon H, et al. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(6):831-836. doi:10.1016/j.tripleo.2009.10.038.
 230. Yoon JS, Lee SH, Yoon HJ. The influence of platelet-rich fibrin on angiogenesis in guided bone regeneration using xenogenic bone substitutes: A study of rabbit cranial defects. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2014;42(7):1071-1077. doi:10.1016/j.jcms.2014.01.034.
 231. Knapen M, Gheldof D, Drion P, Layrolle P, Rompen E, Lambert F. Effect of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on bone regeneration: A study in rabbits. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;143-152. doi:10.1111/cid.12146.
 232. Baslarli O, Tumer C, Ugur O, Vatankulu B. Evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015;20(1):e111-e116. doi:10.4317/medoral.19999.
 233. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2012;40(4):321-328. doi:10.1016/j.jcms.2011.04.020.
 234. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2013;41(8):e191-e200. doi:10.1016/j.jcms.2013.01.018.
 235. Kim B, Kwon T, Baek H, Hwang D. A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2 – coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin – mixed tricalcium phosphate in. *OOOO.* 2012;113(5):583-592. doi:10.1016/j.tripleo.2011.04.029.
 236. Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, et al. Trial with Platelet-Rich Fibrin and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillar bone atrophy: clinical and radiological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2010;14(12):1075-1084. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21375140>. Accessed November 21, 2016.

237. Jeong S, Lee C, Son J, Oh J, Fang Y, Choi B. Simultaneous sinus lift and implantation using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *J Cranio-Maxillofacial Surg*. 2014;42(6):990-994. doi:10.1016/j.jcms.2014.01.021.
238. Oliveira MR, Silva A deC, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR, Mariano RC. Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(5):649-655. doi:10.1016/j.ijom.2014.12.005.
239. Yilmaz D, Dogan N, Ozkan A, Sencimen M, Ora BE, Mutlu I. Effect of platelet rich fibrin and beta tricalcium phosphate on bone healing. A histological study in pigs. *Acta Cir Bras*. 2014;29(1):59-65. doi:10.1590/S0102-86502014000100009.
240. Chang I-C, Tsai C-H, Chang Y-C. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(1):327-332. doi:10.1002/jbm.a.32839.
241. Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte M-P, Charrier J-B. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(3):341-352. doi:10.1016/j.tripleo.2009.04.020.
242. Clipet F, Tricot S, Alno N, et al. In vitro effects of Choukroun's platelet-rich fibrin conditioned medium on 3 different cell lines implicated in dental implantology. *Implant Dent*. 2012;21(1):51-56. doi:10.1097/ID.0b013e31822b9cb4.
243. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier J-B. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol*. 2010;55(3):185-194. doi:10.1016/j.archoralbio.2010.01.004.
244. Giannobile W V, Whitson SW, Lynch SE. Non-coordinate control of bone formation displayed by growth factor combinations with IGF-I. *J Dent Res*. 1997;76(9):1569-1578. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9294491>. Accessed November 14, 2016.
245. Kasperk CH, Wergedal JE, Mohan S, Long DL, Lau KH, Baylink DJ. Interactions of growth factors present in bone matrix with bone cells: effects on DNA synthesis and alkaline phosphatase. *Growth Factors*. 1990;3(2):147-158. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2206557>. Accessed November 14, 2016.
246. Peker E, Karaca I, Yildirim B. Experimental Evaluation of the Effectiveness of Demineralized Bone Matrix and Collagenated Heterologous Bone Grafts Used Alone or in Combination with Platelet-Rich Fibrin on Bone Healing in Sinus Floor Augmentation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016;31(2):e24-e31. doi:10.11607/jomi.4414.
247. Abdullah WA. Micro CT Evaluation of Bone regenerative capacity in rats claverial bone defect using platelet rich fibrin with and without beta tri calcium phosphate bone graft material. *Saudi Dent J*. 2016;28(3):109-117. doi:10.1016/j.sdentj.2015.09.003.
248. 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*. 2004;15(3):439-446. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111806>. Accessed

- November 18, 2016.
249. Szabó G, Suba Z, Hrabák K, Barabás J, Németh Z. Autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations (2- and 3-dimensional computed tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations): preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;16(5):681-692. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11669251>. Accessed November 18, 2016.
 250. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 28(1):77-83. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23377050>. Accessed November 18, 2016.
 251. Li Q, Pan S, Dangaria SJ, et al. Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *Biomed Res Int*. 2013;2013:638043. doi:10.1155/2013/638043.
 252. Retzepi M, Donos N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(6):567-576. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.01922.x.
 253. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol*. 2001;72(2):152-159. doi:10.1902/jop.2001.72.2.152.
 254. Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(5):620-629. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01389.x.
 255. Brånemark R, Öhrnell LO, Nilsson P, Thomsen P. Biomechanical characterization of osseointegration during healing: an experimental in vivo study in the rat. *Biomaterials*. 1997;18(14):969-978. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9212192>. Accessed November 22, 2016.
 256. Germanier Y, Tosatti S, Brogгинi N, Textor M, Buser D. Enhanced bone apposition around biofunctionalized sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces. A histomorphometric study in miniature pigs. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):251-257. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01222.x.
 257. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20 Suppl 4:172-184. doi:10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x.
 258. Sánchez-Ilárduya MB, Trouche E, Tejero R, Orive G, Reviakine I, Anitua E. Time-dependent release of growth factors from implant surfaces treated with plasma rich in growth factors. *J Biomed Mater Res A*. 2013;101(5):1478-1488. doi:10.1002/jbm.a.34428.
 259. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(4):529-535. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10453668>. Accessed November 22, 2016.
 260. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 2004;91(1):4-15. doi:10.1160/TH03-07-0440.
 261. Anitua E, Orive G, Pla R, Roman P, Serrano V, Andía I. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium implant osseointegration in goats: a histologic

- and histomorphometric study. *J Biomed Mater Res A*. 2009;91(1):158-165. doi:10.1002/jbm.a.32217.
262. Anitua EA. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. *J Oral Implantol*. 2006;32(2):72-76. doi:10.1563/736.1.
263. Fontana S, Olmedo DG, Linares JA, Guglielmotti MB, Crosa ME. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. *Implant Dent*. 2004;13(1):73-78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15017308>. Accessed November 22, 2016.
264. Oncu E, Bayram B, Kantarci A, Gulsever S, Alaaddinoglu E. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal*. 2016;21(5):0-0. doi:10.4317/medoral.21026.



8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Amasya’da doğdu. İlköğrenimini 2001 yılında İrfan Baştuğ İlköğretim Okulu’nda ve lise öğrenimini 2005 yılında Tuzluçayır Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi’nde tamamladı. 2011 yılında Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden mezun oldu. 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimine başladı. Uzmanlık eğitimi süresince Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundu.

